ระดับโครงการ

กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

รายงานผลสัมฤทธิ์สำหรับทุนสนับสนุนงานพื้นฐาน (Fundamental Fund)

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2564

หน่วยงาน กรมวิชาการเกษตร

รายงานโครงการวิจัย

การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

Research and development products form microalgae

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย

นราทร สุขวิเสส

Narathorn Sukwises

ปี 2565

กรมวิชาการเกษตร

บทสรุปผู้บริหาร

1. รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย

1.1 โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายขนาดเล็ก
Research and development products form microalgae

1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ	1. นายนราทร สุขวิเสส	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
ผู้ร่วมโครงการ	2. นางสาวสุรีย์รัตน์ รักเหลือ	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
	3. นางสาวจารุวรรณ์ รัตนสกุลธรรม	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
	4. นางสาวอกนิษฐ์ พิศาลวัชรินทร์	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
	5. นางสาววิมลวรรณ วัฒนวิจิตร	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
	6. นางสาวปาริชาติ อยู่แพทย์	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
	7. นางสาวศิริพร เต็งรัง	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
	8. นายกนกศักดิ์ ลอยเลิศ	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
	9. นางสาวสุปรียา ศุขเกษม	กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร
	10.นายวุฒิพล จันทร์สระคู	สถาบันวิจัยเกษตรวิศวกรรม

1.3 งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 - 2564 งบประมาณที่ได้รับ 3,761,820 บาท

ระยะเวลาทำวิจัย ตั้งแต่ ตุลาคม 2559 ถึง ธันวาคม 2564

2. สรุปโครงการวิจัย

สาระสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) เป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำที่มีคลอโรฟิลล์ที่มีลักษณะเซลล์เดียวหรือกลุ่มโคโลนี สามารถสร้างอาหารได้เองโดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการสังเคราะห์แสงเช่นเดียวกับพืชทั่วไปแต่มีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็วกว่า และสามารถเจริญได้ในทุกพื้นที่ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย หรือน้ำเค็ม โครงสร้างภายในเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็ก มีอาหารสะสมเป็นสารประกอบในรูปแบบต่างๆ เช่น คาร์โบไฮเดรตซที่อยู่ในรูปของพอลิแซ็กคาร์ไรด์หรือแป้ง สารสีหรือรงควัตถุ (Pigment) เป็นองค์ประกอบ เช่น คลอโรฟิลด์ แคโรทีนอยด์ และไฟโคบิลิน เป็นต้น ใยอาหาร ไขมันหรือน้ำมันในรูปของไตรกลีเซอไรด์ และสารพอลิเมอร์ชีวภาพ นอกจากนี้ยังพบว่า สารพอลิแซ็กคาไรด์และสารพฤกษเคมีในกลุ่มของโพลีฟีนอลโทโคฟีรอล สารแคโรทีนอยด์ ยังมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพในด้านการป้องกันการเกิดโรคและการช่วยดูแลผิวพรรณอีกด้วย จากข้อมูลดังกล่าวจึงเป็นแนวทางในการพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กให้ได้ผลผลิตชีวมวลสูงๆ เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดสารสำคัญต่างๆ มาใช้ประโยชน์

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อจำแนกและระบุชนิดของสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสำคัญชนิดต่างๆ
2. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายและอิทธิพลในการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญไว้ในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาด

กรมวิชาการเกษตร

3. เพื่อศึกษาวิธีการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์จากชีวมวลหรือสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก ได้แก่ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารสี โพลีแซคคาไรด์ ไขมัน และโพลิเมอร์ เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพหรือเวชสำอาง พลังงานทดแทน และพลาสติกชีวภาพ

ระเบียบวิธีวิจัย

จำแนกชนิดของสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจนได้เซลล์บริสุทธิ์ ศึกษาสายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสำคัญได้แก่ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ สารสี (คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และไฟโคบิลิน) พอลิแซ็กคาไรด์ ไขมัน และพอลิเมอร์ชีวภาพ โดยทำการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงและการชักนำการสะสมสารสำคัญไว้ในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการและบ่อเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิดระดับขยายขนาด จากนั้นนำผลผลิตชีวมวลสาหร่ายไปศึกษาวิธีการสกัดสารสำคัญและนำประยุกต์ใช้งานในด้านต่างๆ ได้แก่ ศึกษาวิธีการสกัดสารแคโรทีนอยด์และสารพอลิแซ็กคาไรด์ เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพและเวชสำอาง ศึกษาวิธีการสกัดไขมันเพื่อผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก ศึกษาวิธีการสกัดและวิธีการขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์พลาสติกชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก

ผลการวิจัย

1. ได้สายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 6 สายพันธุ์ ที่สามารถนำไปผลิตสารสำคัญได้แตกต่างกันคือ สายพันธุ์ที่ผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้แก่ *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6) และ *Coelastrum* sp. (SK-KhY6) สายพันธุ์ที่ผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ได้คือ *Coelastrum microporum* (A052) สายพันธุ์ที่ผลิตไขมันได้คือ *Botryococcus* sp. (CM01-4) และ *Desmodesmus* sp. (KK20) และสายพันธุ์ที่ผลิตพอลิเมอร์ชีวภาพได้คือ *Nostoc* sp. (Sm6-3)

2. ได้สูตรอาหารมาตรฐานและการชักนำการสะสมสารสำคัญ ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง ได้แก่ สูตรอาหาร Modified Chu-13 และการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ 0.3 โมลาร์ เหมาะสมกับสาหร่าย SK-QSGMF6 ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ เหมาะสมกับสาหร่าย CM01-4 และ KK20 การเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร BG-11 และการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ 0.3 โมลาร์ เหมาะสมกับสาหร่าย SK-KhY6 และ A052 และการเพาะเลี้ยงด้วยสูตร BG-11 (N-free) และการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sm6-3

3. ได้สูตรอาหารจากปุ๋ยเคมีเพื่อทดแทนสูตรอาหารมาตรฐานในการเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิดขยายขนาด ได้แก่ ปุ๋ย 16-8-8 เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-QSGMF6, SK-KhY6 และ A052 ปุ๋ย 15-15-15 เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย CM01-4 และ KK20 และปุ๋ย 8-24-24 เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sm6-3

4. ได้สภาวะในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ ด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เหนือจุดวิกฤต (SFE) วิธีการใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า และการทดสอบเพื่อประเมินความพึงพอใจ

5. ได้วิธีการสกัดสารสี (คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และไฟโคบิลิน) จากชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก วิธีการทำสีผงด้วยวิธีการทำแห้งแบบสเปรย์ดาย จากอัตราส่วนของสารสีและมอลโตเด็กซ์ทรินที่เหมาะสม ข้อมูลผลิตภัณฑ์สีผง อายุการเก็บรักษาสีผง และการประยุกต์ใช้เป็นสีผสมอาหารเช่น ไอศกรีม เป็นต้น

6. ได้วิธีการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์และใยอาหารจากชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก วิธีการใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เพื่อเป็นสารให้ความข้นหนืดที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพด อายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และปริมาณสารสกัดใยอาหารที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้า

7. ได้วิธีการสกัดไขมันด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม และวิธีการผลิตไบโอดีเซล

8. ได้วิธีการสกัดสารพอลิเมอร์ชีวภาพจากชีวมวลสาหร่ายสด และอัตราส่วนการใช้ชีวมวลเป็นส่วนผสมร่วมกับสารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และแป้งสตาร์ช ที่สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มที่สามารพับขึ้นรูปและซีลด้วยความร้อนทำเป็นถุงเพาะชำได้

ข้อมูลใหม่ที่ค้นพบจากงานวิจัย

ข้อมูลวิธีการสกัดสารแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเทคนิค Supercritical fluid extraction (SFE) ที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลายภายใต้สภาวะวิกฤติยิ่งยวด ที่อุณหภูมิและความดันในการสกัดที่เหมาะสม เพื่อให้ได้กลุ่มสารแคโรทีนอยด์ที่ประกอบด้วยสาร เบต้าแคโรทีน ไลโคปีน ลูทีน ซีแซนธิน และ แอสตาแซนธิน สูง

ประโยชน์ที่ได้รับจากผลงานวิจัย

1. ได้หัวเชื้อสายพันธุ์สาหร่ายที่มีศักยภาพในการผลิตสารสี พอลิแซ็กคาไรด์ ไขมัน และพอลิเมอร์ชีวภาพ ที่สามารถนำไปผลิตทางการค้าได้

กรมวิชาการเกษตร

2. ได้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบบ่อเปิด อัตราการให้อาหารและเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อน้ำเพาะเลี้ยง เพื่อให้ได้มีอัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่ายสูงสุด เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดสารสำคัญ

3. ได้วิธีการสกัดสารสารออกฤทธิ์ชีวภาพ สารสีรงควัตถุ และพอลิแซ็กคาไรด์ จากชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก ที่เหมาะสมต่อการถ่ายทอดให้อุตสาหกรรมอาหารที่สนใจการผลิตผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและเวชสำอาง

4. ได้ข้อมูลด้านวิธีการสกัดไขมันและพอลิเมอร์ชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก สำหรับกลุ่มเป้าหมายที่สนใจด้านอุตสาหกรรมพลังงานทดแทนและพลาสติกชีวภาพ

ข้อเสนอแนะที่ได้จากการวิจัย

ควรมีการวิจัยต่อไปดังนี้

1. ศึกษาข้อมูลลักษณะทางพันธุกรรม (Genetic profile) ของสาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 6 สายพันธุ์ และไพรเมอร์ เพื่อนำมาใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลตัวตรวจสอบในการจำแนกสายพันธุ์

2. พัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงแบบระบบปิดหรือถังปฏิกรณ์ กับสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจำแนกไว้ทั้ง 6 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นแนวทางในการเพิ่มอัตราการให้ผลิตหรือลดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง และะช่วยป้องกันการปลอมปนจากสายพันธุ์อื่นได้

3. การพัฒนาและดัดแปลงสูตรอาหารด้วยการปรับอัตราส่วนฐานอาหารเฉพาะบางตัวเช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแตสเซียม หรือธาตุอาหารเสริมที่สำคัญ รวมทั้งระบบการเพาะเลี้ยงที่มีการกระตุ้นแสงสีต่าง ๆ และก๊าซคาร์บอนไดร์ออกไซด์ เป็นต้น เพื่อกระตุ้นให้เซลล์สาหร่ายขนาดเล็กมีการสังเคราะห์สาระสำคัญบางตัวที่นักวิจัยสนใจ

กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) เป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำที่ภายในเซลล์มีการสะสมสารสำคัญที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ พอลิแซ็กคาไรด์ ไขมัน และพลาสติกชีวภาพ จากผลการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 6 สายพันธุ์ ที่สามารถนำไปผลิตสารสำคัญได้แตกต่างกันคือ สายพันธุ์ที่ผลิตสารแคโรทีนอยด์ได้แก่ *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6) และ *Coelastrum* sp. (SK-KhY6) สายพันธุ์ที่ผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ได้คือ *Coelastrum microporum* (A052) สายพันธุ์ที่ผลิตไขมันได้คือ *Botryococcus* sp. (CM01-4) และ *Desmodesmus* sp. (KK20) และสายพันธุ์ที่ผลิตพอลิเมอร์ชีวภาพได้คือ *Nostoc* sp. (Sm6-3) ผลการศึกษาสูตรอาหารมาตรฐานที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงและผลการชักนำการสะสมสารสำคัญด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร Modified Chu-13 และการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ 0.3 โมลาร์ เหมาะสมกับสาหร่าย SK-QSGMF6 แต่ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ จะเหมาะสมกับสาหร่าย CM01-4 และ KK20 การเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร BG-11 และการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ 0.3 โมลาร์ เหมาะสมกับสาหร่าย SK-KhY6 และ A052 และการเพาะเลี้ยงด้วยสูตร BG-11 (N-free) และการชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sm6-3 ผลการใช้ปุ๋ยเคมีเพื่อทดแทนสูตรอาหารมาตรฐานในการเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิดขยายขนาด พบว่าปุ๋ย 16-8-8 เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-QSGMF6, SK-KhY6 และ A052 ปุ๋ย 15-15-15 เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย CM01-4 และ KK20 และปุ๋ย 8-24-24 เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sm6-3 ผลการศึกษาวิธีการสกัดสารจากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์มีดังนี้ การสกัดสาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 ด้วยเทคนิค SFE ความดัน 500 บาร์ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ได้ SK-QSGMF6 ที่มีสารแอสตาแซนทินสูงที่สามารถใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวได้ 0.02เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย SK-KhY6 ที่มีสารไลโคปีนเป็นองค์ประกอบที่สามารถใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้าที่ใช้เจลว่านหางจระเข้เป็นเบสในปริมาณ 0.015 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษาการผลิตสีผงจากเซลล์สาหร่ายเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจำนวน 3 สารสีได้แก่ สารสีคลอโรฟิลล์ (เขียว) และสารสีไฟโคบิลิน (ฟ้า) จากสาหร่าย A052 และสารสีแคโรทีนอยด์ (ส้ม) จากสาหร่าย SK-QSGMF6 ได้วิธีการสกัดสารสีและวิธีผสมกับมอลโตเด็กซ์ทรินและการทำแห้งแบบพ่นฝอยในสภาวะที่เหมาะสม จนได้สีผงแต่ละชนิดที่มีปริมาณสารคลอโรฟิลล์ 38.75 mg/100g สารแคโรทีนอยด์ 19.39 mg/100g และสารไฟโคบิลิน 36.96 mg/100g ตามลำดับ ผลการศึกษาวิธีการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์และใยอาหารจากสาหร่าย A052 ที่เหมาะสมจนได้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ 3.97 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก สามารถใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดเพื่อเพิ่มความข้นหนืดได้ 1.5 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณใยอาหารทั้งหมดที่สกัดได้ 82.16 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง หลังการใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้า 3 เปอร์เซ็นต์ ทำให้มีปริมาณใยอาหารเพิ่มขึ้น 0.84 % ผลการศึกษาวิธีการผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่าย CM01-4 และ KK20 พบว่าการสกัดชีวมวลสาหร่ายแห้งด้วยตัวทำละลายอะซีโตนสามารถสกัดไขมันได้ 0.1034 และ 0.0942 กรัมต่อกรัมแห้ง ตามลำดับ หลังการทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นได้ความบริสุทธิ์ของไบโอดีเซล 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความบริสุทธิ์มากกว่าการทำปฏิกิริยาโดยตรงกับชีวมวลสาหร่ายสด ผลการศึกษาการผลิตพลาสติกชีวภาพจากสาหร่าย Sm6-3 พบว่าหลังการพรีทรีตเมนต์สามารถนำชีวมวลสาหร่ายดังกล่าว มาใช้เป็นส่วนผสมหลักร่วมกับสารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 30-40 และแป้งสตาร์ชร้อยละ 20 ในการขึ้นรูปเป็นแผ่นพลาสติกชีวภาพที่สามารถพับและซีลด้วยความร้อนทำเป็นถุงเพาะชำได้

ลิขสิทธิ์การเกษตร

Abstract

Microalgae are low-level organisms in which the cells accumulate important useful substances. From the selection of 6 microalgae strains, the microalgae with identified as follow by bioactive substances *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6) and *Coelastrum* sp. (SK-KhY6), polysaccharides from *Coelastrum* sp. (A052), lipid from *Botryococcus* sp. (CM01-4) and *Desmodesmus* sp. (KK20) and biopolymer from *Nostoc* sp. (Sm6-3). The results of the study of culture media formulas suitable and induction of active metabolites by sodium chloride salt at laboratory scale. Cultured with Modified Chu-13 formula and induction with NaCl 0.3 molar were suitable for SK-QSGMF6, but at NaCl 0.2 molar were appropriated for CM01-4 and KK20. CM01-4 and KK20. Cultured with BG-11 formula and induction with NaCl 0.3 molar were suitable for SK-KhY6 and A052. Cultured with BG-11 (N-free) formula and induction with NaCl 0.1 molar were suitable for Sm6-3. The results of the use of fertilizers to replace the standard formula in the open pond cultivation showed that fertilizer 16-8-8 was suitable for cultivating SK-QSGMF6, SK-KhY6 and A052. Fertilizer 15-15-15 was suitable for cultivating CM01-4 and KK20. Fertilizer 8-24-24 was suitable for cultivating Sm6-3. The application of important substances extracted from each of microalgae are as follows: The extraction of SK-QSGMF6 and SK-KhY6 by SFE technique, pressure 500 bar, temperature 60 °C obtained carotenoids at 5.2 and 4.28 mg/g DW, respectively. Application of carotenoid extract form SK-QSGMF6 with high astaxanthin can be added at 0.02% in skin care serum products. Carotenoid extract form SK-KhY6 with lycopene was used as an ingredient in a 0.015% of mask sheet. Production of powder paints for use in the food industry total of 3 pigments were studied: chlorophyll (green) and phycobilin (blue) from A052, carotenoid pigment (orange) from SK-QSGMF6. Extraction of chlorophyll or carotenoid used 95% ethanol, the extract was mixed with maltodextrin and water at a ratio of 1:1:1 (v/w/w). After drying, the pigment powder content chlorophyll 38.75 mg/100g and carotenoid 19.39 mg/100g, respectively. Phycobilin was extracted by mixing microalgae with water at ration of 1:1 (w/w). After drying, the pigment powder content Phycobilin 36.96 mg/100g. The extraction of polysaccharides and dietary fibers from A052 and using them as ingredients in food products. It was found that the extraction of microalgae in solid insoluble in alcohol with water in ratio of 1: 1 at 70°C for 70 min yielded of polysaccharides at 3.97 % (dry basis). It can be used as a thickening agent in corn soup products at 1.5 percent. Dietary fiber content from microalgae extracted by alcohol yielded 89.35 % (dry basis). The total dietary fiber content was 82.16 % (dry basis). After adding 3% of dietary fiber in pasta products, the fiber content was increased by 0.84%. The results of the study on biodiesel production from microalgae CM01-4 and KK20 showed that extraction from dried algae with acetone was extracted lipids at 0.1034 and 0.0942 g/g DW, respectively. After the transesterification reaction, the purity of biodiesel was 80 percent, which was higher than the direct reaction with fresh algae biomass. A study on the production of bioplastics from algae Sm6-3 showed that wet biomass was pretreated using the main ingredient in mixing with 30-40% polyvinyl alcohol and 20% starch to form a bio-plastic sheet. It can be folded, molded and heat sealed to make a planting bag.

กรมวิทยาศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความร่วมมือของคณะผู้วิจัย การบริหารจัดการ การจัดสรรงบประมาณ การให้คำแนะนำ กลั่นกรอง และช่วยเหลือแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ จากคณะกรรมการที่ปรึกษาวิชาการ คณะกรรมการบริหารงานวิจัย กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร คณะกรรมการที่ปรึกษาด้านวิชาการกรมวิชาการเกษตร คณะกรรมการบริหารงานวิจัยและพัฒนากรมวิชาการเกษตร และการสนับสนุนให้ดำเนินการจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ(วช.) และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) จึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณหัวหน้าการทดลองและผู้ร่วมดำเนินงานวิจัยทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและทำงานวิจัยอย่างมุ่งมั่น ดำเนินงานวิจัยให้บรรลุวัตถุประสงค์ สนับสนุนให้งานวิจัยสามารถถ่ายทอดองค์ความรู้ และนำไปใช้ประโยชน์ได้ ตลอดจนรวบรวมและจัดทำรายงานผลการทดลองเสร็จสิ้นภายในระยะเวลาที่กำหนด

ขอขอบคุณกลุ่มวิจัยและวิเคราะห์ทางสถิติงานวิจัยเกษตร กองแผนงานและวิชาการ กรมวิชาการเกษตร ที่ได้ให้ความรู้ทางสถิติ ทำให้ผู้วิจัยสามารถนำความรู้ที่ได้รับมาใช้ในการวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลทางสถิติของการทดลองในโครงการวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณบุคลากรภายในกองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตรที่ช่วยเหลือสนับสนุน ทั้งกำลังกายและกำลังใจ และหน่วยงานภายนอกทุกหน่วยงาน ที่มีส่วนช่วยในสนับสนุนการดำเนินงานโครงการวิจัยฯ นี้ให้เป็นผลสำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดียิ่ง

นราทร สุขวิเสส

กุมภาพันธ์ 2565

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทสรุปผู้บริหาร	ก
บทคัดย่อ	ง
Abstract	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญภาพ	ซ
สารบัญตาราง	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน	3
บทที่ 3 ผลการศึกษา	16
บทที่ 4 สรุปผลและอภิปรายผล	54
เอกสารอ้างอิง	59
ภาคผนวก ก	65
ภาคผนวก ข	69
ภาคผนวก ค	71

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การตัดแผ่นมาร์กหน้าสำหรับทดสอบทางประสาทสัมผัส	9
2	แผ่นมาร์กสำหรับการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส (บริเวณท้องแขน)	9
3	ตัวอย่างการทดสอบทางประสาทสัมผัส	9
4	ลักษณะสรีระวิทยาของเซลล์สาหร่าย a) SK-QSGMF6 b) NM-PM1-3 c) SK-KhY6 และ d) CM01-4	16
5	ลักษณะสรีระวิทยาของเซลล์สาหร่าย A052	16
6	สรีระวิทยาของเซลล์สาหร่ายก่อนและหลังการย้อมสีซูดาน แบล็กบี ของแต่ละสายพันธุ์	17
7	(a) ชีวมวลของสาหร่ายที่ปั่นแยกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (b) ลักษณะชั้นน้ำมันและเซลล์ของสาหร่ายหลังจากการสกัดน้ำมันด้วยกรดซัลฟูริค (c) โครมาโตแกรมของกรดไขมันจากสาหร่าย BR52-1 KK20 และ CM01-4	17
8	สรีระวิทยาของเซลล์สาหร่าย Sm6-3 (a) เซลล์ปกติ และ (b) การย้อมเซลล์ด้วยสีซูดาน แบล็กบี	18
9	แสดงอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายไอโซเลท SK-QSGMF6 ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรต่าง ๆ	19
10	ลักษณะเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กไอโซเลท SK-QSGMF6 ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Modified Chu 13	19
11	แสดงอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายไอโซเลท SK-Khy6 ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรต่าง ๆ	20
12	แสดงอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายไอโซเลท A052 ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรต่าง ๆ	20
13	แสดงอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายไอโซเลท CM01-4 ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรต่าง ๆ	21
14	แสดงอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายไอโซเลท SM6-3 ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรต่าง ๆ	21
15	บ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบเปิด (Raceway open pond)	23
16	เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย SK-QSGMF6 ด้วยสูตรอาหารปุ๋ยและอัตราส่วนการใช้	24
17	เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย CM01-4 ด้วยสูตรอาหารปุ๋ยและอัตราส่วนการใช้	24
18	อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย SK-QSGMF6 โดยใช้อาหาร Modified Chu 13	26
19	เซรั่มผสมสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสารสกัดขนาดเล็ก	29
20	เนื้อเบสเจลว่านหางจระเข้	30
21	(ซ้าย) ลักษณะเนื้อเจลสาหร่ายสำหรับแผ่นมาร์กหน้า (ขวา) ตัวอย่างแผ่นมาร์กหน้า	31
22	การสกัดสาหร่ายขนาดเล็กด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 10-95% (ระดับความเข้มข้นเรียงจากซ้ายไปขวาตามลำดับ)	33
23	สีผงคลอโรฟิลล์หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 2 4 และ 6 เดือน ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง	35
24	ลักษณะของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงคลอโรฟิลล์ 0 - 4%	36
25	สาหร่าย SK-QSGMF6 และการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น 0, 60, 70, 80, 90 และ 95%	36
26	การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบบ่อเปิดและสารสกัดจากสาหร่าย	37
27	สีผงแคโรทีนอยด์หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 2 และ 4 เดือน ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง	37
28	ลักษณะของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงแคโรทีนอยด์ 0 - 4%	38
29	สารสกัดไฟโคบิลินจากเซลล์สาหร่ายด้วยน้ำ	39
30	สีผงไฟโคบิลินที่เตรียมจากปริมาณมอลโตเด็กซ์ทริน 10 – 30 %	39
31	ลักษณะของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงไฟโคบิลิน 0 - 4%	40
32	เซลล์สาหร่ายขนาดเล็กหลังแยกน้ำเพาะเลี้ยงสำหรับใช้สกัดพอลิแซ็กคาไรด์	41
33	สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก	41
34	ผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดที่เติมพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก และแซนแทนกัม	43
35	ใยอาหารที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก	44
36	ผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าไม่เติมใยอาหาร เติมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก เติมใยอาหารจากบุกเส้นดิบและเส้นพาสต้าที่ผ่านการลวก	44

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ **หน้า**

37 ลักษณะเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็ก (ซ้าย) CM01-4 (ขวา) KK20 45

38 ชีวมวลสาหร่ายแห้งของสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์ a) CM01-4 และ b) KK20 45

39 ลักษณะของไขมันที่สกัดจากชีวมวลสาหร่ายแห้งด้วยตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิด 46

40 a) สารสกัดไขมันจากชีวมวลสาหร่าย b) ส่วนผสมของไขมัน เมทานอล และด่าง จากปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่น c) ไบโอดีเซล 46

41 a) ชุดทำปฏิกิริยา acidic transesterification จากชีวมวลสาหร่ายสด b) สารสกัดจากการทำปฏิกิริยาของสาหร่าย CM01-4 และ KK20 c) ผลทดสอบเมทิลเอสเตอร์ในสารสกัดของสาหร่าย CM01-4 และ KK20 ด้วยแผ่น TLC 47

42 ชีวมวลสาหร่ายหลังการพรีทรีตเมนท์ด้วยสารละลาย SDS 5% และ NaOCl 6% a) ชีวมวลสาหร่ายจากสูตรอาหาร BG-11 (N-Free) b) ชีวมวลสาหร่ายจากสูตรอาหารปุ๋ย 8-24-24 47

43 แผ่นฟิล์มจากส่วนผสมระหว่างชีวมวลสาหร่ายกับสารก่อฟิล์มแต่ละชนิด a) ชีวมวลสาหร่าย 100% b) PVA 10% c) สตาร์ช 10% d) กลีเซอรอล 10% และ e) แป้งมันสำปะหลัง 10% 48

44 แผ่นฟิล์มสาหร่ายผสมกับสาร PVA ในสัดส่วน a) 10% b) 20% และ c) 30% 48

45 แผ่นฟิล์มสาหร่ายผสมสาร PVA PVA ร้อยละ 20 และแป้งสตาร์ชร้อยละ 5 49

46 อัตราการย่อยสลายทางธรรมชาติของแผ่นฟิล์มผสม (สาหร่าย:PVA:แป้งสตาร์ช) ในวันที่ 7 50

47 แผ่นฟิล์มผสม (สาหร่าย:PVA:แป้งสตาร์ช) และการซีลขึ้นรูปถุงเพาะชำ 51

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวสูตรพื้นฐานและสูตรประยุกต์เพิ่มสารสกัดจากสาหร่าย	1
2	ส่วนผสมในการเตรียมเนื้อเจลสำหรับทำแผ่นมาร์กหน้าในแต่ละกรรมวิธี	2
3	ชนิดสายพันธุ์สาหร่าย ภาพถ่ายเซลล์ และสถานที่เก็บตัวอย่าง	3
4	ปริมาณสารสกัดแคโรทีนอยด์ทั้งหมดจากชีวมวลสาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 หลังการเติมเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	4
5	ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากชีวมวลสาหร่าย A052 หลังการเติมเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	5
6	ปริมาณสารสกัดไขมันจากชีวมวลสาหร่าย CM01-4 หลังการเติมเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	6
7	ปริมาณสารสกัดพอลิเมอร์ชีวภาพจากชีวมวลสาหร่าย SM6-3 หลังการเติมเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	7
8	ผลการเจริญเติบโตของสาหร่าย SK-KhY6 และ A052 ที่เพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร BG-11 ปุ๋ย 16-8-8 และ 15-15-15	8
9	ปริมาณสาหร่าย Sm6-3 และสารสกัดพอลิเมอร์ชีวภาพ จากแต่ละสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 15 วัน	9
10	ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง) จากสาหร่าย SK-QSGMF6 ที่สกัดด้วยเทคนิค SFE	10
11	ปริมาณสารสำคัญ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสารสกัด) จากสารสกัดแคโรทีนอยด์ที่สกัดจากสาหร่าย SK-QSGMF6 สกัดด้วยเทคนิค SFE	11
12	ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากสาหร่าย SK-KhY6 ด้วยเทคนิค SFE ความดัน 500 บาร์	12
13	สมบัติเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวจากสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก	13
14	ผลการทดสอบความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวจากสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก	14
15	ผลการเก็บรักษาเซรั่มผสมสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสหร่ายขนาดเล็ก	15
16	สมบัติของเนื้อเจลและลักษณะของแผ่นมาร์กหน้า	16
17	ผลทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของแผ่นมาร์กหน้า	17
18	ผลการเก็บรักษาแผ่นมาส์กหน้าผสมสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก	18
19	ต้นทุนของการผลิตของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว และแผ่นมาร์กหน้า	19
20	ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอลความเข้มข้นต่าง ๆ	20
21	ปริมาณคลอโรฟิลล์บีของสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอลความเข้มข้นต่าง ๆ	21
22	คุณภาพของสีผงคลอโรฟิลล์หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 2 4 และ 6 เดือน ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง	22
23	คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงคลอโรฟิลล์ 0 - 4%	23
24	ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยเอทานอลความเข้มข้น 60-95%	24
25	คุณภาพของสีแคโรทีนอยด์หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 2 และ 4 เดือน ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง	25
26	คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงแคโรทีนอยด์ 0 - 4%	26
27	คุณภาพของสีผงไฟโคบิลินที่เตรียมจากปริมาณมอลโตเด็กซ์ทริน 10 – 30 %	27
28	คุณภาพของสีผงไฟโคบิลินที่เตรียมจากมอลโตเด็กซ์ทริน 10 %	28
29	คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงไฟโคบิลิน 0 – 4 %	29
30	ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กที่ได้จากแต่ละสภาวะการสกัด	30
31	คุณสมบัติทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก	31
32	ค่าความยาวคลื่นของหมู่ฟังก์ชั่นต่างๆ ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก	32
33	ผลของความเข้มข้นของสารละลายพอลีแซคคาไรด์ต่อค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจล	33

กรมวิทยาศาสตร์

ตารางที่ **หน้า**

34 ผลของ pH ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 1.0 (%w/v) ต่อค่าความหนืดและความเข็งแรงของเจล 34

35 ค่าความข้นหนืดและการแยกชั้นของตัวอย่างซุปข้าวโพดที่เติมพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก และแซนแทนกัม ระหว่างการเก็บรักษาในตู้เย็น (4±2°C) เป็นเวลา 90 วัน 35

36 ปริมาณใยอาหารในผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าไม่เติมใยอาหาร เติมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก และเติมใยอาหารจากบุก 36

37 ปริมาณไขมันที่สกัดได้จากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 37

38 ปริมาณเซลล์สาหร่ายพรีทรีตเมนต์ (วิธีการที่ 1 และ 2) และสารสกัดที่ได้ (วิธีการที่ 3 และ 4) จากแต่ละสูตรอาหาร 38

39 คุณสมบัติของแผ่นฟิล์มสาหร่ายผสมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และสตาร์ช 39

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 1 บทนำ

1. วิสัยทัศน์ และพันธกิจของหน่วยงาน

<u>วิสัยทัศน์</u> กรมวิชาการเกษตรเป็นองค์กรที่เป็นเลิศด้านการวิจัยและพัฒนาด้านพืช เครื่องจักรกลการเกษตร และเป็นศูนย์กลางรับรองมาตรฐานสินค้าเกษตรด้านพืชในระดับสากล บนพื้นฐานการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

<u>พันธกิจ</u>

1. สร้างและถ่ายทอดองค์ความรู้จากงานวิจัยด้านพืชและเครื่องจักรกลการเกษตร สู่กลุ่มเป้าหมาย
2. กำหนดและกำกับดูแลมาตรฐานระบบการผลิตและผลิตพันธุ์พืชและปัจจัยการผลิต พัฒนาระบบตรวจรับรองสินค้าการเกษตรด้านพืชให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล
3. อนุรักษ์และพัฒนาการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพด้านพืช แมลง และจุลินทรีย์
4. กำกับ ดูแล และพัฒนากฎหมายที่กรมวิชาการเกษตรรับผิดชอบ

2. ยุทธศาสตร์ชาติที่สอดคล้องกับแผนปฏิบัติงานด้าน ววน. ของหน่วยงาน (โปรดเลือกเฉพาะยุทธศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับหน่วยงานของท่าน)

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 1 ด้านความมั่นคง
เพื่อบริหารจัดการสภาวะแวดล้อมของประเทศให้มีความมั่นคง ปลอดภัย และมีความสงบเรียบร้อยในทุกระดับและทุกมิติ

☑ ยุทธศาสตร์ที่ 2 ด้านการสร้างความสามารถในการแข่งขัน
เน้นการยกระดับศักยภาพในหลากหลายมิติควบคู่กับการขยายโอกาสของประเทศไทยในเวทีโลก

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 3 ด้านพัฒนาและเสริมสร้างศักยภาพทรัพยากรมนุษย์
คนไทยในอนาคต มีความพร้อมทั้งกาย ใจ สติปัญญา มีทักษะที่จำเป็นในศตวรรษที่ 21 มีทักษะสื่อสารภาษาอังกฤษและภาษาที่ 3 และมีคุณธรรม

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 4 ด้านการสร้างโอกาสและความเสมอภาคทางสังคม
สร้างความเป็นธรรม และลดความเหลื่อมล้ำในทุกมิติ กระจายศูนย์กลางความเจริญทางเศรษฐกิจและสังคม เพิ่มโอกาสให้ทุกภาคส่วนเข้ามาเป็นกำลังของการพัฒนาประเทศในทุกระดับ

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 5 ด้านการสร้างการเติบโตบนคุณภาพชีวิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม
คำนึงถึงความยั่งยืนของฐานทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ปรับเปลี่ยนพฤติกรรมของประชาชนให้เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ผ่านมาตรการต่างๆ ที่มุ่งเน้นให้เกิดผลลัพธ์ต่อความยั่งยืน

❑ ยุทธศาสตร์ที่ 6 ด้านการปรับสมดุลและพัฒนาระบบการบริหารจัดการภาครัฐ
การปรับเปลี่ยนภาครัฐ ยึดหลัก “ภาครัฐของประชาชนเพื่อประชาชนและประโยชน์ส่วนรวม”

3. วงเงินงบประมาณกองทุน ววน. ที่ได้รับจัดสรรในปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 และโปรดระบุแผนงาน/โครงการให้สอดคล้องกับโปรแกรมของแผน ววน.

โปรแกรมตามแผน ววน.	งบประมาณ (บาท)
P7. โจทย์ท้าทายด้านทรัพยากรสิ่งแวดล้อม และการเกษตร	873,120

4. รายละเอียดโครงการ

สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) เป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำที่มีคลอโรฟิลล์ที่มีลักษณะเซลล์เดียวหรือกลุ่มโคโลนี สามารถสร้างอาหารได้เองโดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการสังเคราะห์แสงเช่นเดียวกับพืชทั่วไปแต่มีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็วกว่า และสามารถเจริญได้ในทุกพื้นที่ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย หรือน้ำเค็ม โครงสร้างภายในเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็ก มีอาหารสะสมเป็นสารประกอบในรูปแบบต่างๆ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรตซึ่งจะอยู่ในรูปของพอลิแซ็กคาร์ไรด์หรือแป้ง ไขมันหรือน้ำมันในรูปของไตรกลี

กรมวิชาการเกษตร

เซอไรด์ รวมทั้งมีสารสีหรือรงควัตถุ (Pigment) เป็นองค์ประกอบ เช่น คลอโรฟิลด์ แคโรทีนอยด์ และไฟโคบิลินเป็นต้น มีกรดไขมันที่เป็นประโยชน์ และใยอาหาร นอกจากนี้ยังพบว่า สารพอลิแซ็กคาไรด์และสารพฤกษเคมีในกลุ่มของโพลีฟีนอลโทโคฟีรอล สารแคโรทีนอยด์ยังมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพในด้านการป้องกันการเกิดโรคและการช่วยดูแลผิวพรรณอีกด้วย จากข้อมูลดังกล่าวจึงเป็นแนวทางในการพัฒนากระบวนการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กให้ได้ผลผลิตชีวมวลสูงๆ เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดสารสำคัญต่างๆ มาใช้ประโยชน์ อีกทั้งการเพิ่มศักยภาพด้านผลผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กให้สูงมากขึ้น ยังสามารถนำไปใช้เป็นวัตถดิบในอุตสาหกรรมพลังงานทดแทนและผลิตพลาสติกชีวภาพได้ เพราะสาหร่ายขนาดเล็กบางสายพันธุ์มีการสะสมไขมันไว้ค่อนข้างสูง ยกตัวอย่างเช่น สาหร่าย *Botryococcus braunii* (Chisti, 2007) และยังมีสาหร่ายขนาดเล็กอีกชนิดที่รู้จักกันในชื่อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) หรือไซยาโนแบคทีเรียนั้น สามารถสะสมสารบางชนิดในกลุ่มพอลิเมอร์ชีวภาพไว้ภายในเซลล์ชั้นใน ที่สามารถสกัดนำมาใช้ประโยชน์ได้ ยกตัวอย่างเช่น poly-3-hydroxybutyrate (PHB) (ศิริวิมลและวสุ, 2555) โดยคุณสมบัติที่สำคัญของ PHB คือมีความสามารถทนความร้อนได้สูงไม่ละลายน้ำและสามารถย่อยสลายได้ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการพัฒนาการผลิตชีวมวลเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ พลังงานทดแทน และพลาสติกชีวภาพ เพื่อผลักดันให้มีการประโยชน์สารสำคัญที่ได้จากสาหร่ายอีกทางหนึ่ง

ดังนั้นในโครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก จึงมุ่งพัฒนาต้นแบบเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับขยายขนาด และวิธีการสกัดสาระสำคัญที่มีประโยชน์ เพื่อใช้ในการผลิตสารสี แคโรทีนอยด์ กรดไขมัน พอลิแซ็กคาไรด์ และพอลิเมอร์ชีวภาพ และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก เป็นเทคโนโลยีที่ง่ายและเหมาะสมตลอดจนต้องมีการจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายให้มีศักยภาพในการเจริญเติบโตที่ดี และมีการสะสมสารชนิดต่างๆ ที่ต้องการในระดับที่สูงขึ้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อจำแนกและระบุชนิดของสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสำคัญชนิดต่างๆ
2. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายและอิทธิพลในการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญไว้ในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาด
3. เพื่อศึกษาวิธีการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์จากชีวมวลหรือสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก ได้แก่ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารสี พอลีแซคคาไรด์ ไขมัน และโพลีเมอร์ เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพหรือเวชสำอาง พลังงานทดแทน และพลาสติกชีวภาพ

ขอบเขตการศึกษา

จำแนกชนิดของสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจนได้เซลล์บริสุทธิ์ ศึกษาสายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสำคัญได้แก่ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ สารสี (คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และไฟโคบิลิน) พอลิแซ็กคาไรด์ ไขมัน และพอลิเมอร์ชีวภาพ โดยทำการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงและการชักนำการสะสมสารสำคัญไว้ในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการและบ่อเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิดระดับขยายขนาด จากนั้นนำผลผลิตชีวมวลสาหร่ายไปศึกษาวิธีการสกัดสารสำคัญและนำประยุกต์ใช้งานในด้านต่างๆ ได้แก่ ศึกษาวิธีการสกัดสารแคโรทีนอยด์และสารพอลิแซ็กคาไรด์ เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพและเวชสำอาง ศึกษาวิธีการสกัดไขมันเพื่อผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็ก ศึกษาวิธีการสกัดและวิธีการขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์พลาสติกชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก

นิยามศัพท์

1. สารสีหรือรงควัตถุ หมายถึง สีที่ผลิตขึ้นจากสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ยกตัวอย่างเช่น คลอโรฟิลล์เป็นสารสีเขียว แคโรทีนอยด์เป็นสารสีส้ม และไฟโคบิลินเป็นสารสีน้ำเงินหรือฟ้า
2. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ หมายถึงสารประกอบที่มี biological activity หรือมีกิจกรรม (activity) ต่อสิ่งที่มีชีวิต การออกฤทธิ์อาจให้ผลดี (beneficial) หรือให้ผลเสีย (adverse) ขึ้นอยู่กับชนิดของสารและปริมาณสารที่ได้รับ เช่น สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงจช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้
3. พอลิแซ็กคาไรด์ หมายถึง สารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตชนิดหนึ่ง ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวมาเรียงต่อกันมากกว่า 2 โมเลกุลขึ้นไป เช่น แป้ง ไกลโคเจน เซลลูโลส เป็นต้น
4. ไบโอดีเซล หมายถึง เชื้อเพลิงดีเซลที่ผลิตจากแหล่งทรัพยากรหมุนเวียน เช่น น้ำมันพืช ไขมันสัตว์ หรือสาหร่าย
5. พลาสติกชีวภาพ หมายถึง พลาสติกที่ผลิตขึ้นจากวัสดุธรรมชาติและสามารถย่อยสลายได้ด้วยกระบวนการทางชีวภาพ

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน

1.วิธีการดำเนินการวิจัย

กิจกรรมที่ 1 การพัฒนาสาหร่ายขนาดเล็กที่มีสารสำคัญสูง

1.1 การคัดเลือกสาหร่ายขนาดเล็กที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสำคัญ และการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญ

1.1.1 การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่มีการสะสมสารสำคัญชนิดต่าง ๆ

นำหัวเชื้อสาหร่ายบริสุทธิ์จากหลอดอาหารเหลวกลุ่มสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กทั้งหมด 7 สายพันธุ์ ได้แก่ SK-QSGMF6, NM-PM1-3, SK-KhY6, A052, CM01-4, KK20 และ BR52-1 มาเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวสูตร Modified Chu 13 และสาหร่ายไซยาโนแบคทีเรีย 1 สายพันธุ์ ได้แก่ Sm6-3 มาเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณในอาหารเหลวสูตร BG-11 ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีปริมาณอาหารเหลว 250 มิลลิลิตร บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง และให้แสงต่อเนื่องด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่ความเข้มแสง 2,500 ลักซ์ เป็นเวลา 30 วัน เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อสาหร่ายในการทดลองขั้นต่อไป ดังนี้

1) การตรวจสอบการสะสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ที่มีอยู่ในเซลล์สาหร่าย

นำเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กมาตรวจสอบลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงสีของเซลล์จากสีเขียวจนเป็นสีส้มหรือแดง และการสกัดสารแคโรทีนอยด์ทั้งหมดออกจากชีวมวลแห้งของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเทคนิค Supercritical fluid extraction (SFE) ด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะวิกฤติยิ่งยวด ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความดัน 300 บาร์ มาวิเคราะห์หาค่าความเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) โดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH assay) ดัดแปลงจากวิธีของ Kim and Lee (2002) ด้วยการปิเปตสารละลายตัวอย่าง 0.2 มิลลิลิตร และสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลต่อลิตร ปริมาตร 5.8 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองแล้วผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในที่มืด 30 นาที จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร คำนวณค่าการจับกับอนุมูล DPPH มาคำนวณค่าความสามารถต้านอนุมูลอิสระโดยสมมูลกับสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox)

2) การตรวจสอบการสะสมสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่อยู่ในเซลล์สาหร่าย

นำเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กมาตรวจสอบลักษณะทางสรีระวิทยาของเซลล์สาหร่าย เพื่อดูลักษณะวงใส (capsule) ที่เกิดจากการสะสมสารพอลิแซ็กคาไรด์อยู่รอบนอกของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย และยืนยันผลดังกล่าวด้วยวิธีการย้อมสีเซลล์สาหร่ายแบบเนกาทีฟ โดยใช้สีไนโกรซิน เพื่อดูลักษณะวงใสรอบนอกของเซลล์

3) การตรวจสอบการสะสมไขมันที่อยู่ในเซลล์สาหร่าย

นำเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กมาตรวจสอบการสะสมไขมันภายในเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเซลล์สาหร่าย ด้วยสีซูดาน แบล็กบี เพื่อดูการย้อมติดสีของหยดไขมันที่มีอยู่ภายในเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และทดลองนำไปสกัดน้ำมันด้วยวิธี *In-situ* acidic transesterification จากเซลล์สาหร่ายแบบเปียก (wet algal biomass) โดยดัดแปลงจากวิธีของ Liu *et al*. (2008) แล้วนำมาศึกษาลักษณะโครมาโตแกรมของไขมันที่สกัดได้ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบแผ่นบาง (Thin-Layer Chromatography, TLC)

4) การตรวจสอบการสะสมสารพอลิเมอร์ชีวภาพที่อยู่ในเซลล์สาหร่าย

นำเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กกลุ่มไซยาโนแบคทีเรีย ได้แก่ Sm6-3 มาตรวจสอบการสะสมสารพอลิเมอร์ชีวภาพภายในเซลล์ด้วยวิธีการย้อมสีเซลล์สาหร่าย ด้วยการย้อมสีซูดาน แบล็กบี ดัดแปลงจากวิธีของ Burdon (1946)

5) การระบุชนิดของสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก

นำโคโลนีของสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่คัดเลือกได้จากข้อ 1.1 ถึง 1.4 สายพันธุ์ละ 1 โคโลนี มาเพาะเลี้ยงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีปริมาณอาหารเหลว 250 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้หัวเชื้อสาหร่ายบริสุทธิ์ส่งตรวจวิเคราะห์ที่ ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย สำหรับสกัดดีเอ็นเอและทำการวิเคราะห์ลำดับเบสของดีเอ็นเอ 18S rDNA แล้วนำไปเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GenBank ของ National Center for Biotechnology Information โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (NCBI BLAST)

1.1.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

สงวนลิขสิทธิ์

ทำการคัดเลือกสูตรอาหาร (ภาคผนวก ก) ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก โดยนำหัวเชื้อสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่ผ่านการคัดเลือกการสะสมสารสำคัญชนิดต่าง ๆ จากข้อ 1 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวทั้งหมด 4 ชนิด โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 4 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหารมาตรฐาน Modified Chu-13

กรรมวิธีที่ 2 สูตรอาหารมาตรฐาน BG-11 (หรือ BG-11 N Free สำหรับสาหร่าย SM6-3)

กรรมวิธีที่ 3 สูตรอาหารมาตรฐาน BBM

กรรมวิธีที่ 4 สูตรอาหารมาตรฐาน C-Medium

โดยทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะแบบออโตโทรฟิค ที่มีอัตราการให้แสงต่อไม่ให้แสง 16 ต่อ 8 ชั่วโมง ความเข้มแสงประมาณ 2,500 ลักซ์ อุณหภูมิห้องเฉลี่ยประมาณ 28-29 องศาเซลเซียส โดยทุกกรรมวิธีจะเก็บตัวอย่างเพื่อติดตามการเจริญเติบโตทุก 2 วัน นำไปวิเคราะห์การเจริญโดยการนับจำนวนเซลล์ด้วยสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Heamacytometer) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยาย 400 เท่า (ภาคผนวก ข) แล้วคำนวณจำนวนเซลล์ของสาหร่าย (ยุวดีและฉมาภรณ์, 2546) จนกระทั่งสาหร่ายเจริญเข้าสู่ระยะคงที่ (stationary phase) เพื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง

1.1.3 การศึกษาอิทธิพลในการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญภายในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

ทำการคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์จากข้อ 2 มาใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อศึกษาอิทธิพลในการสะสมสารสำคัญภายในเซลล์ โดยการกระตุ้นด้วยสภาวะความเค็มของน้ำเพาะเลี้ยงสาหร่ายจากการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เพื่อดูผลการสะสมสารสำคัญ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์

กรรมวิธีที่ 2 เติมโซเดียมคลอไรด์ในน้ำเพาะเลี้ยงให้มีความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

กรรมวิธีที่ 3 เติมโซเดียมคลอไรด์ในน้ำเพาะเลี้ยงให้มีความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

กรรมวิธีที่ 4 เติมโซเดียมคลอไรด์ในน้ำเพาะเลี้ยงให้มีความเข้มข้น 0.3 โมลาร์

โดยทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กด้วยสูตรอาหารที่เหมาะสมและจำนวนวันในการเพาะเลี้ยงที่ทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตสูงสุดจากผลข้อ 2 จากนั้นเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์เพื่อปรับสภาพความเค็มของน้ำเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นของเกลือตามกรรมวิธีข้างต้น ติดตามผลการเพาะเลี้ยงต่อเนื่องจนครบ 15 วัน โดยมีการเก็บตัวอย่างทุก 5 วัน นำมาปั่นแยกเก็บตัวอย่างสาหร่ายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และทำการวัดปริมาณสาระสำคัญชนิดต่าง ๆ ที่สกัดได้จากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์

การสกัดสาระสำคัญชนิดต่าง ๆ จากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์ มีดังนี้

- ปริมาณสารสกัดแคโรทีนอยด์ทั้งหมด ใช้เซลล์สาหร่ายแห้ง 1 กรัม มาสกัดด้วยเทคนิค Supercritical fluid extraction (SFE) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความดัน 300 บาร์
- ปริมาณไขมัน ดัดแปลงจากวิธีการของ Liu *et al.* (2008) ใช้เซลล์สาหร่ายสด 10 กรัม เติมเมทานอล 30 มิลลิลิตร และกรดซัลฟูริก 1 กรัม ทำปฏิกิริยาที่ 60 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง นำสารละลายไประเหยเมทานอลออก ชั่งน้ำหนักปริมาณสารที่ได้
- ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด ดัดแปลงจากวิธีการของ Kuda *et al.* (2005) และ Qi *et al.* (2005) ใช้เซลล์สาหร่ายแห้ง 1 กรัม เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เพื่อทำการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยน้ำร่วมกับการใช้ autoclave (assisted by autoclaving) ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แยกเอาส่วนสารละลายใส มาตกตะกอนด้วยเอทานอล จะได้ตะกอนของพอลิแซ็กคาไรด์ (Total polysaccharides extract, TPE)
- ปริมาณพอลิเมอร์ชีวภาพทั้งหมด ดัดแปลงจากของ John and Ralph (1960) ใช้เซลล์สาหร่ายแห้ง 1 กรัม เติมคลอโรฟอร์ม 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมกรดซัลฟิวริคเข้มข้น 10 มิลลิลิตร แล้วนำมาบ่มอีกครั้งในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 235 นาโนเมตร และคำนวณหาปริมาณของพอลิเมอร์ด้วยกราฟมาตรฐาน (Calibration curve)

1.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาด

1.2.1 การออกแบบบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

กรมวิชาการเกษตร

ออกแบบบ่อเพาะเลี้ยงแบบเปิดนอกห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาด (ดัดแปลงจาก Karthikeyan *et al.*, 2016) ได้แก่ บ่อปริมาตร 500 ลิตร จำนวน 6 บ่อ ปริมาตร 5,000 ลิตร จำนวน 2 บ่อ และปริมาตร 10,000 ลิตร จำนวน 1 บ่อ มีรายละเอียดดังนี้

1) บ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดความจุ 500 ลิตร มีรายละเอียดดังนี้
   - บ่อคอนกรีตเสริมเหล็ก ขนาด 1.3 x 2.8 x 0.6 เมตร จำนวน 6 บ่อ
   - ใบพัดสแตนเลส (Paddle Wheel) จำนวน 6 ชุด
   - มอเตอร์ไฟฟ้าขนาด 1.5 kw. ทดรอบเฟืองโซ่ 30-50 rpm. จำนวน 6 ชุด
2) บ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดความจุ 5,000 ลิตร มีรายละเอียดดังนี้
   - บ่อคอนกรีตเสริมเหล็ก ขนาด 2.4 x 6.9 x 0.6 เมตร จำนวน 2 บ่อ
   - ใบพัดสแตนเลส (Paddle Wheel) จำนวน 2 ชุด
   - มอเตอร์ไฟฟ้าขนาด 1.5 kw. ทดรอบเฟืองโซ่ 30-50 rpm. จำนวน 2 ชุด
3) บ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดความจุ 10,000 ลิตร มีรายละเอียดดังนี้
   - บ่อคอนกรีตเสริมเหล็ก ขนาด 2.4 x 13.0 x 0.6 เมตร จำนวน 1 บ่อ
   - ใบพัดสแตนเลส (Paddle Wheel) จำนวน 2 ชุด
   - มอเตอร์ไฟฟ้าขนาด 1.5 kw. ทดรอบเฟืองโซ่ 30-50 rpm. จำนวน 2 ชุด

1.2.2 พัฒนาการใช้ปุ๋ยแทนสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการ

นำสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์มาเพียง 1 โคโลนี มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรมาตรฐานในการเพาะเลี้ยงแบบออโตโทรฟิค ที่มีอัตราการให้แสงต่อไม่ให้แสง 16 ต่อ 8 ชั่วโมง ความเข้มแสงประมาณ 2,500 ลักซ์ เพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์สาหร่ายจนได้หัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 1 ลิตร จึงนำมาวัดการเจริญเติบโตสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร เมื่อมีค่าความขุ่นเท่ากับ 0.3 สำหรับใช้หัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็ก

1) การหาอัตราการใช้ปุ๋ยเคมีต่อน้ำเพาะเลี้ยงเพื่อทดแทนสูตรอาหารมาตรฐาน

นำหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กสาหร่ายไอโซเลท SK-QSGMF6 และ CM01-4 มาศึกษาอัตราการใช้ปุ๋ยเคมีต่อน้ำเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตกับสาหร่ายแต่ละไอโซเลท โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 5 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหารมาตรฐาน Modified Chu-13
กรรมวิธีที่ 2 สูตรอาหารปุ๋ย 16-8-8 อัตราส่วนปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยง 1/100
กรรมวิธีที่ 3 สูตรอาหารปุ๋ย 16-8-8 อัตราส่วนปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยง 1/500
กรรมวิธีที่ 4 สูตรอาหารปุ๋ย 15-15-15 อัตราส่วนปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยง 1/100
กรรมวิธีที่ 5 สูตรอาหารปุ๋ย 15-15-15 อัตราส่วนปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยง 1/500

โดยทำการเพาะเลี้ยงในระดับฟลาสก์ขนาด 2 ลิตร ในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแบบออโตโทรฟิค ที่มีอัตราการให้แสงต่อไม่ให้แสง 16 ต่อ 8 ชั่วโมง ที่มีความเข้มแสงขนาดประมาณ 2,500 ลักซ์ อุณหภูมิห้องเฉลี่ยประมาณ 28-29 องศาเซลเซียส โดยทุกกรรมวิธีจะเก็บตัวอย่างเพื่อติดตามการเจริญเติบโตต่อเนื่องเป็นเวลา 30 วัน แล้วเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายในแต่ละกรรมวิธี เพื่อหาอัตราส่วนการใช้ปุ๋ยเคมีต่อน้ำเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก

2) การพัฒนาสูตรอาหารจากปุ๋ยเคมีที่เหมาะสมการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็ก

คัดเลือกอัตราการใช้ปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 2.1 เพื่อนำไปพัฒนาการใช้อาหารจากปุ๋ยเคมีที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและเปรียบเทียบกับสูตรอาหารมาตรฐานที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไอโซเลท SK-KhY6 และ A052 โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ 3 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหารมาตรฐาน BG-11
กรรมวิธีที่ 2 สูตรอาหารปุ๋ย 16-8-8 โดยคัดเลือกอัตราส่วนปุ๋ยต่อน้ำจากข้อ 2.1
กรรมวิธีที่ 3 สูตรอาหารปุ๋ย 15-15-15 โดยคัดเลือกอัตราส่วนปุ๋ยต่อน้ำจากข้อ 2.1

และพัฒนาการใช้อาหารจากปุ๋ยเคมีที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย Sm6-3 และใช้อัตราส่วนปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยงที่คัดเลือกจากการทดลองข้อ 2.1 โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 5 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 สูตรอาหารมาตรฐาน BG-11 N Free
กรรมวิธีที่ 2 สูตรอาหารปุ๋ย 15-15-15
กรรมวิธีที่ 3 สูตรอาหารปุ๋ย 12-6-30

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 4 สูตรอาหารปุ๋ย 12-24-12

กรรมวิธีที่ 5 สูตรอาหารปุ๋ย 8-24-24

1.2.3 การทดสอบขยายผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในบ่อขยายขนาดแบบบ่อเปิด

1) ขยายหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์ต่อน้ำเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์สาหร่ายในอัตราส่วน 1 ต่อ 100 (ประยูร และคณะ, 2557) ในถังเพาะเลี้ยงขนาด 100 ลิตร และวัดการเจริญเติบโตสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร เมื่อมีค่าความขุ่นเท่ากับ 0.3 สำหรับใช้เลี้ยงในบ่อขยายขนาด

2) เติมน้ำประปาลงในบ่อเพาะเลี้ยงขยายขนาดแบบบ่อเปิดกลางแจ้ง (Raceway ponds) ให้ได้ปริมาตร 500 ลิตร ที่ได้จากการออกแบบในข้อ 1.1

3) เติมอาหารปุ๋ยเคมีและอัตราการใช้ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้จากการทดลองในข้อ 2 และปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยสารละลายโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ของน้ำเพาะเลี้ยงให้อยู่ในช่วง 6.8 – 7.0

4) เติมหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กที่เตรียมไว้ ในอัตราส่วน 1 ลิตรต่อน้ำเพาะเลี้ยง 100 ลิตร เพาะเลี้ยงโดยใช้แสงจากธรรมชาติ ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ และมีการใช้ใบพัดในการหมุนเวียนการไหลของน้ำและให้น้ำสัมผัสอากาศ

5) หลังครบกำหนดตามจำนวนวันที่สาหร่ายมีการเจริญเติบโตสูงสุดในการเพาะเลี้ยงของแต่ละสายพันธุ์แล้ว (ผลจากข้อ 2) ให้เติมโซเดียมคลอไรด์ลงในน้ำเพาะเลี้ยง ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อสายพันธุ์ที่ได้ทำการศึกษาจากการทดลองที่ 1.1 คือที่ระดับความเข้มข้น 0.1 0.2 และ 0.3 โมลาร์

6) หลังครบกำหนดการเพาะเลี้ยงจึงทำการเก็บเกี่ยวด้วยเครื่องปั่นแยกกากเซลล์จุลินทรีย์อัตโนมัติ

กิจกรรมที่ 2 การใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.1 การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำหรับผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.1.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก (Biomass production)

นำสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6) และ *Coelastrum* sp. (SK-KhY6) ซึ่งมีศักยภาพสูงในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (นราทร และคณะ, 2562) มาเพาะเลี้ยงในระดับขยายขนาดแบบบ่อเปิด (Raceway pond) ขนาด 10,000 ลิตร ใช้สูตรปุ๋ย 16-8-8 อัตราส่วน 1/500 สำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย โดยตลอดระยะเวลาการเลี้ยงมีปริมาณความเข้มของแสงแดดอยู่ในช่วง 10-17 klx และอุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ในช่วง 28-37 องศาเซลเซียส ทำการเพาะเลี้ยงจนสาหร่ายเจริญเข้าสู่ช่วงแรกของระยะพักตัว (Early stationary phase) จากนั้นทำการชักนำให้เซลล์สาหร่ายเกิดการสะสมสารสำคัญในเซลล์โดยการเติมโซเดียมคลอไรด์ 0.3 โมลาร์ เลี้ยงต่อเป็นเวลา 15 วัน โดยใช้ใบพัดมอเตอร์ (paddle wheel) ที่มีความเร็วรอบในการหมุน 30-50 rpm เพื่อให้เกิดการไหลเวียนน้ำบ่อเพื่อให้สาหร่ายได้รับแสงและอากาศอย่างสม่ำเสมอ และป้องกันการตกตะกอนของเซลล์สาหร่ายในระหว่างการเพาะเลี้ยง เมื่อครบกำหนดจึงเก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแยกกากเซลล์จุลินทรีย์แบบอัตโนมัติและอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์เพื่อนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตเครื่องสำอาง

2.1.2 การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีมูลค่าสูงจากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

ศึกษาวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกจากเซลล์สาหร่าย โดยใช้วิธีการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะยิ่งยวด ที่ความดันและอุณหภูมิต่างๆ โดยใช้ตัวอย่างสาหร่ายแห้งจำนวน 40 กรัม บดพอหยาบ เข้าเครื่องสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่อัตราการไหล 3 ลิตร/นาที ระยะเวลาในการสกัด 3 ชั่วโมง วิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารสำคัญที่สกัดได้ด้วยการวิเคราะห์ปริมาณและองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS) โดยคอลัมน์ VertiSepTM Bio C30, 4.6 x 250 mm, 5 µm ใช้เฟสเคลื่อนที่ A = methanol:methyl tert-butyl ether:1.5% ammonium acetate ในน้ำอัตราส่วน 95:3:2 (v/v/v) B = methanol:methyl tert-butyl ether:1.0% ammonium acetate ในน้ำอัตราส่วน 8:90:2 (v/v/v) ที่อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ 1.0 mL/min เทียบกับของสารมาตรฐาน 5 ชนิด คือ เบต้าแคโรทีน ไลโคปีน ลูทีน ซีแซนธิน และแอสตาแซนธิน

วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ 3x3 Factorial in Randomized Complete Block Design จำนวน 3 ซ้ำ

ปัจจัยที่ 1 ได้แก่ ความดันในการสกัดสารที่ระดับ 300 400 และ 500 บาร์

ปัจจัยที่ 2 ได้แก่ อุณหภูมิในการสกัดสารที่ระดับ 40 50 และ 60 องศาเซลเซียส

2.1.3 การศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสำคัญที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก

1) ศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีววิทยาหรือฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ดัดแปลงตามวิธีของ Cotelle *et al.* (1996))

โดยเตรียมสารสกัด 100 ไมโครลิตร เติมลงในหลอด microcentrifuge tube ขนาด 1.5 mL ที่มีสารละลายอนุมูล DPPH ปริมาตร 900 µL ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 nm โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอลเป็นแบลงค์จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณ % Free radical scavenging activity เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่าย กับ % FRSA เทียบกับวิตามินซี

2) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลอง โดยใช้ Kojic acid เป็นสารมาตรฐาน (ดัดแปลงวิธีของ Kubo *et al.* (2000) และ Saewan *et al.* (2011))

โดยผสมสาร L-DOPA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมล กับโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมล (pH 6.8) บ่มเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลายตัวอย่าง เติมเอนไซม์ไทโรซิเนส (138 units) บ่มไว้นาน 10 นาที วัดปฏิกิริยาโดยวัดการเกิดสาร dopachrome วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า % Tyrosinase inhibition

2.1.4 การศึกษาการนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็กไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

2.1.4.1 ศึกษาการประยุกต์ใช้สารสำคัญที่สกัดจากสาหร่ายในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว

1) นำสารสกัดสาหร่ายจากสาหร่าย SK-QSGMF6 ที่สกัดได้ ละลายในน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์ ที่ความเข้มข้นสารสกัดสาหร่าย 2% โดยน้ำหนัก ปั่นกวนผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนผสมกระแสน้ำวน (vortex mixer)

2) นำเซรั่มบำรุงผิวสูตรพื้นฐานที่ขายทั่วไปมาประยุกต์โดยการปรับลักษณะเนื้อสัมผัสของเซรั่มเพื่อให้ค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 3.5-5.5 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะกับผิว แปรปริมาณของไฮดรอกซี่เอธิลเซลลูโลสเป็น 4 ระดับ คือ 0.6 0.8 1.0 และ 1.2% ร่วมกับการใช้ทวีน 80 จำนวน 2 ระดับ คือ 2.0 และ 4.0% เติมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็กที่ละลายในน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์ ดังตารางที่ 1 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ Randomized Complete Block Design 8 กรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำ และมีกรรมวิธีที่ 1 เป็นกรรมวิธีควบคุม

ตารางที่ 1 ส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวสูตรพื้นฐานและสูตรประยุกต์เพิ่มสารสกัดจากสาหร่าย

กรรมวิธี	รหัสตัวอย่าง	ส่วนผสมที่ 1 (%) (สารสกัด 2%wt. ในน้ำมันหอมระเหยคาโมมาย)	ส่วนผสมที่ 2				ทวีน 80 (%)
			HEC	กลีเซอรีน (%)	ไกลเดนท์ (%)	น้ำ (%)	
1	Serum base	0	1.2	3	0.5	95.3	0
2	H0.6T2	1	0.6	3	0.5	92.9	2
3	H0.6T4	1	0.6	3	0.5	90.9	4
4	H0.8T2	1	0.8	3	0.5	92.7	2
5	H0.8T4	1	0.8	3	0.5	90.7	4
6	H1.0T2	1	1.0	3	0.5	92.5	2
7	H1.0T4	1	1.0	3	0.5	90.5	4
8	H1.2T2	1	1.2	3	0.5	92.3	2
9	H1.2T4	1	1.2	3	0.5	90.3	4

การเตรียมผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวจะแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การเตรียมส่วนที่ 1 โดยผสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็กละลายในน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์ที่ความเข้มข้น 2 % โดยน้ำหนัก กวนให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องกวนผสมกระแสน้ำวน

ขั้นตอนที่ 2 การเตรียมส่วนที่ 2 เป็นส่วนของเบสเซรั่ม เตรียมโดยละลายไฮดรอกซี่เอธิลเซลลูโลสในน้ำกลั่น ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส กวนผสมจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน 30 นาที จะได้เป็นสารละลายลักษณะข้นหนืดและใส จากนั้นทิ้งไว้จนมีอุณหภูมิห้อง เติมกลีเซอรีน และ ไกลแดนท์ กวนผสมต่อจนได้สารละลายที่เป็นเนื้อเดียวกัน

ขั้นตอนที่ 3 เติมทวีน 80 และสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์ลงในเบสเซรั่ม กวนผสมต่อจนเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้ผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว

3) วิเคราะห์สมบัติเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวผสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก โดยวิเคราะห์ค่าสี ความเป็นกรดด่าง ความหนืด ความคงตัวหลังการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 4000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที (Farahin *et al.*, 2018)

กรมวิชาการเกษตร

4) ทดสอบความชอบทางด้านประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวหลังการทาเซรั่ม ได้แก่ สี ความหนืด การซึมสู่ผิว ความเหนียว กลิ่นหลังทา และความชุ่มชื่นหลังทาโดย ผู้ทดสอบจำนวน 27 คน โดยให้ผู้ทดสอบแบ่งช่องที่ท้องแขน และทาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวใต้ท้องแขนแต่ละกรรมวิธีลงในช่องที่แบ่งไว้ที่ละกรรมวิธี และให้คะแนนความชอบในด้านต่างๆที่ระดับคะแนน 1-7 คะแนน และคัดเลือกสูตรกรรมวิธีที่ได้คะแนนความชอบสูงสุด

5) ศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวที่ระยะเวลา 3 เดือน โดยวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพทุกเดือน

- ข้อมูลทางกายภาพของเซรั่มบำรุงผิวในแต่ละกรรมวิธี ได้แก่ ค่าสี ความเป็นกรดด่าง ความหนืดความคงตัวหลังการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 4000 รอบ/นาที
- ข้อมูลด้านประสาทสัมผัสของเซรั่มบำรุงผิวในแต่ละกรรมวิธี ได้แก่ สี ความหนืด การซึมสู่ผิว ความเหนียว กลิ่นหลังทา และความชุ่มชื่นหลังทา
- ข้อมูลการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ค่าสี ความเป็นกรดด่าง ความหนืด ที่ระยะเวลา 1 2 และ 3 เดือน

2.2 4.2. ศึกษาการประยุกต์ใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสกัดจากสาหร่ายในผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า

1) เตรียมสารสกัดจากสาหร่าย SK-KhY6 ละลายในน้ำมันหอมระเหยกุหลาบความเข้มข้น 5% จากนั้นแช่ทิ้งไว้ 1 คืน เพื่อให้สารสกัดละลายในน้ำมันหอมระเหย หลังจากนั้นนำมากวนผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องกวนผสมกระแสน้ำวน จนสารสกัดละลายหมด

2) เตรียมเนื้อเจลสำหรับแผ่นมาส์กหน้า โดยใช้เบสเจลว่านหางจระเข้มาปรับปรุงสูตร โดยแปรปริมาณของเบสเจลว่านหางจระเข้ เป็น 2 ระดับ คือ 80 และ 90% และแปรปริมาณสารสกัดจากสาหร่ายในน้ำมันหอมระเหยกุหลาบ เป็น 2 ระดับ คือ 0.3 และ 0.6%

การเตรียมเบสเจลว่านหางจระเข้สำหรับผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า

ส่วนประกอบของเบสว่านหางจระเข้ปริมาณ 1,000 กรัม

- สารสกัดว่านหางจระเข้เข้มข้นแบบผง จำนวน 10 กรัม
- คาร์โบพอล 940 จำนวน 5 กรัม
- ไตรเอททาโนลาไมล์ จำนวน 20 กรัม
- ยูนิเจิร์ม จีทู จำนวน 10 กรัม
- น้ำสะอาด จำนวน 955 กรัม

ขั้นตอนการผลิต:

- เติมยูนิเจิร์ม จีทู ในน้ำสะอาด 855 กรัม คนให้เข้ากัน จากนั้นค่อยๆ เติมคาร์โบพอล คนให้กระจายตัว ปิดฝาให้สนิท พักไว้ 1 คืนเพื่อให้คาร์โบพอลพองตัว
- ละลายสารสกัดว่านหางจระเข้เข้มข้นแบบผง 10 กรัม ในน้ำสะอาด 100 กรัม คนให้ละลายจนใส
- เทสารละลายว่านหางจระเข้ลงในสารละลายคาร์โบพอลที่พักค้างคืนไว้ กวนผสมให้เข้ากัน
- ค่อยๆ หยดไตรเอททาโนลาไมล์ทีละน้อยๆ และคนผสมเรื่อยๆ สารละลายจะเริ่มหนืดมากขึ้น ผสมให้เข้ากันจะได้เบสเจลว่านหางจระเข้ที่มีลักษณะหนืดใส

3) วิธีเตรียมแผ่นมาส์กหน้าจากสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ Completely Randomized Design 4 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ส่วนผสมในการเตรียมเนื้อเจลสำหรับทำแผ่นมาร์กหน้าในแต่ละกรรมวิธี

กรรมวิธีที่	กลีเซอรีน (%)	วิตามินอี (%)	เบสว่านหางจระเข้ (%)	ปริมาณสารสกัดในน้ำมันหอมระเหย (%)	กรดมาลิก (%)	น้ำกลั่น (%)
1	5	2	80	0.3	0.4	12.3
2	5	2	80	0.6	0.4	12
3	5	2	90	0.3	0.4	2.3
4	5	2	90	0.6	0.4	2

i. ชั่งเบสว่านหางจระเข้ตามกรรมวิธีต่างๆ

ii. เติมกลีเซอรีน วิตามินอี และสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำมันหอมระเหยกุหลาบความเข้มข้น 5 % ตามกรรมวิธี และกวนผสมให้ทุกอย่างเข้ากัน

iii. เติมน้ำกลั่นตามกรรมวิธี กวนผสมจนส่วนผสมทั้งหมดกลายเป็นเนื้อเจล

กรมวิชาการเกษตร

iv. เติมกรดมาลิกลงในเนื้อเจล และกวนผสมให้เข้ากัน เนื้อเจลจะหนืดน้อยลง สาเหตุที่ต้องเติมกรดมาลิก เนื่องจากเบสเจลว่านจระเข้เป็นมีค่าความเป็นด่าง จึงไม่เหมาะกับผิว

v. ชั่งเนื้อเจลสำหรับแผ่นมาส์กหน้าจำนวน 30 กรัม นำแผ่นมาส์กหน้าใส่ในถุงอลูมิเนียมจากนั้นนำเนื้อเจลมาส์กหน้าใส่ลงไป ค่อยๆไล่ให้เจลไหลเต็มแผ่นมาส์กหน้า

vi. ทิ้งไว้ 1 คืน เพื่อให้เจลซึมเคลือบแผ่นมาส์กหน้า

vii. ทดสอบสมบัติทางกายภาพของเนื้อเจลและลักษณะของแผ่นมาส์กหน้า ได้แก่ ค่าสี ค่าความเป็นกรดด่าง ความหนืด และลักษณะการซึมสู่แผ่นมาส์กหน้า

4) ทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส เพื่อทดสอบสมบัติด้านกายภาพ ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น ความชุ่มชื้นหลังมาส์ก ความเหนียวเหนอะหนะ การซึมสู่ผิว โดยเตรียมแผ่นมาส์กดังนี้

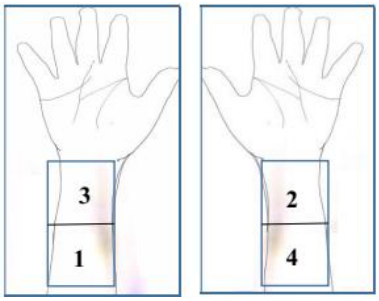
i. เตรียมตัดแผ่นมาส์กหน้าเป็นชิ้น ที่มีขนาดเท่ากัน ดังภาพที่ 1 โดยคำนวณมาจากน้ำหนักแผ่นมาส์กหน้าแผ่นใหญ่ จะได้แผ่นมาส์กหน้าขนาดเล็กสำหรับการทดสอบ โดยจะทดสอบที่ท้องแขน

ภาพที่ 1 การตัดแผ่นมาร์กหน้าสำหรับทดสอบทางประสาทสัมผัส

ii. เตรียมเนื้อเจลสำหรับแผ่นมาส์กหน้าทั้ง 4 กรรมวิธี โดยใส่เนื้อเจลจำนวน 5 มิลลิลิตร ลงในแผ่นมาส์กหน้าที่ตัดสำหรับการทดสอบ (ภาพที่ 2)

ภาพที่ 2 แผ่นมาร์กสำหรับการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส (บริเวณท้องแขน)

iii. ใช้ผู้ทดสอบจำนวน 20 คน โดยให้ผู้ทดสอบล้างท้องแขนทั้ง 2 ข้าง ให้สะอาดและเช็ดให้แห้ง จากนั้นแบ่งท้องแขน 2 ข้างเป็น 4 ช่อง และเขียนหมายเลขผลิตภัณฑ์ แปะไว้ทั้ง 4 ช่อง โดยการสุ่ม แปะแผ่นมาส์กลงในช่องที่เลือกไว้ ทิ้งไว้นิ่งๆ 15 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาด ติดตามการแพ้หลังจากผ่านไป 1 ชั่วโมง ดัง ภาพที่ 3 โดยทดสอบความชอบด้านสี การซึมสู่ผิว ความเหนียวเหนอหนะ กลิ่นหลังมาส์ก ความชุ่มชื่นหลังมาส์ก และความชอบโดยรวม



ภาพที่ 3 ตัวอย่างการทดสอบทางประสาทสัมผัส

iv. ทดสอบชนิดสารที่แพ้ในแผ่นมาส์กหน้าผสมสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก โดยทดสอบการแพ้โดยใช้แผ่นมาส์กหน้าจำนวน 4 สูตรแปะที่ท้องแขน เป็นเวลา 15 นาที แล้วล้างออก ประกอบด้วย

- แผ่นมาส์กหน้าเคลือบเบสว่านหางจระเข้ เพื่อทดสอบการแพ้เบสว่านหางจระเข้

กรมวิทยาศาสตร์

- แผ่นมาส์กหน้าเคลือบเบสว่านหางจระเข้และปรับกรดด้วย AHAs คือกรดมาลิก เพื่อทดสอบการแพ้กรดมาลิก
- แผ่นมาส์กหน้าเคลือบเบสว่านหางจระเข้ผสมน้ำมันหอมระเหยกุหลาบ (ไม่ใส่สารสกัดและกรดมาลิก) เพื่อทดสอบการแพ้น้ำมันหอมระเหยกุหลาบ
- แผ่นมาส์กหน้าเคลือบเบสว่านหางจระเข้ผสมสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์ในน้ำมันหอมระเหยกุหลาบ (ไม่ปรับกรดมาลิก) เพื่อทดสอบการแพ้สารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก ซึ่งต้องวิเคราะห์ร่วมกับข้อ 1. 2. และ 3.

5) เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 3 เดือน ศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้าที่ระยะเวลา 3 เดือน โดยเก็บรักษามาส์กหน้าในถุงอลูมิเนียม วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพทุกเดือน โดยสุ่มวิเคราะห์ ค่าสี ค่าความเป็นกรดด่าง

2.1.5 ต้นทุนการผลิตของผลิตภัณฑ์

คำนวณต้นทุนการผลิตของผลิตภัณฑ์ที่ได้ทั้ง 2 ผลิตภัณฑ์ คือ เซรั่มบำรุงผิวและแผ่นมาส์กหน้าผสมสารสกัด

2.2 การผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

2.2.1 ศึกษาการผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กสีเขียว (สารสี chlorophyll)

1) ศึกษาการสกัดสารสีเขียว (chlorophyll) จากสาหร่ายขนาดเล็ก โดยนำสาหร่ายขนาดเล็กสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 0-95% อัตราส่วน 1:25 (w/v) นำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงแยกของเหลว สกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้วิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญได้แก่ ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ปริมาณคลอโรฟิลล์บี เพื่อเลือกความเข้มข้นของเอทานอลที่เหมาะสมในการสกัด วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ มี 11 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 เอทานอลความเข้มข้น 0 % (น้ำ)
กรรมวิธีที่ 2 เอทานอลความเข้มข้น 10 %
กรรมวิธีที่ 3 เอทานอลความเข้มข้น 20 %
กรรมวิธีที่ 4 เอทานอลความเข้มข้น 30 %
กรรมวิธีที่ 5 เอทานอลความเข้มข้น 40 %
กรรมวิธีที่ 6 เอทานอลความเข้มข้น 50 %
กรรมวิธีที่ 7 เอทานอลความเข้มข้น 60 %
กรรมวิธีที่ 8 เอทานอลความเข้มข้น 70 %
กรรมวิธีที่ 9 เอทานอลความเข้มข้น 80 %
กรรมวิธีที่ 10 เอทานอลความเข้มข้น 90 %
กรรมวิธีที่ 11 เอทานอลความเข้มข้น 95 %

2) ศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอยและอายุการเก็บรักษาของสีผง ทำการระเหยสารสกัดให้มีความเข้มข้นมากขึ้น จากนั้นผสมมอลโตเด็กซ์ทรินอัตราส่วน สารสกัด:มอลโตเด็กซ์ทริน:น้ำ เป็น 1:1:1 (v/w/w) นำเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนเข้า 130 องศาเซลเซียส และเปิดแก๊สไนโตรเจนให้ไหลผ่านระบบการทำแห้งแบบพ่นฝอย ตรวจคุณภาพของสีผง ได้แก่ ความชื้น ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี ค่าสี การละลาย ปริมาณคลอโรฟิลล์ นำตัวอย่างสีผงศึกษาอายุการเก็บรักษา โดยบรรจุสีผงในถุงพลาสติกซิปและบรรจุลงในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน สุ่มเก็บตัวอย่างทุก 2 เดือน เพื่อวิเคราะห์คุณภาพ ได้แก่ ความชื้น ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี ค่าสี การละลาย ปริมาณคลอโรฟิลล์ (คำนวณตามสมการของ Lichtenthaler and Buschmann, 2005) และคุณภาพด้านจุลินทรีย์ วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ มี 4 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 อายุการเก็บรักษา 0 เดือน
กรรมวิธีที่ 2 อายุการเก็บรักษา 2 เดือน
กรรมวิธีที่ 3 อายุการเก็บรักษา 4 เดือน
กรรมวิธีที่ 4 อายุการเก็บรักษา 6 เดือน

3) ศึกษาการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม โดยแปรระดับปริมาณสีผง 5 ระดับ วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ปริมาณสีผง 0 %
กรรมวิธีที่ 2 ปริมาณสีผง 1 %

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธีที่ 3 ปริมาณสีผง 2 %
กรรมวิธีที่ 4 ปริมาณสีผง 3 %
กรรมวิธีที่ 5 ปริมาณสีผง 4 %

ตรวจคุณภาพผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ค่าสี ค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ และปริมาณคลอโรฟิลล์

2.2.2 ศึกษาการผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กสีเหลือง (สารสี carotenoid)

1) ศึกษาการสกัดสารสีเหลือง (carotenoid) จากสาหร่ายขนาดเล็ก โดยนำสาหร่ายขนาดเล็กสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 60-95% อัตราส่วน 1:25 (w/v) นำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงแยกของเหลว จากนั้นนำสารสกัดที่ได้วิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ ปริมาณแคโรทีนอยด์ เพื่อเลือกความเข้มข้นเอทานอลที่เหมาะสมในการสกัด วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ มี 6 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 เอทานอลความเข้มข้น 0 % (น้ำ)
กรรมวิธีที่ 2 เอทานอลความเข้มข้น 60 %
กรรมวิธีที่ 3 เอทานอลความเข้มข้น 70 %
กรรมวิธีที่ 4 เอทานอลความเข้มข้น 80 %
กรรมวิธีที่ 5 เอทานอลความเข้มข้น 90 %
กรรมวิธีที่ 6 เอทานอลความเข้มข้น 95 %

2) ศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอย ระเหยสารสกัดให้มีความเข้มข้นมากขึ้น จากนั้นผสมมอลโตเด็กซ์ทรินในอัตราส่วนสารสกัด:มอลโตเด็กซ์ทริน:น้ำ เป็น 1:1:1 (v/w/w) จากนั้นนำเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนเข้า 130 องศาเซลเซียส และเปิดแก๊สไนโตรเจนให้ไหลผ่านระบบการทำแห้งแบบพ่นฝอย ตรวจคุณภาพของสีผง ได้แก่ ความชื้น ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี ค่าสี การละลาย ปริมาณแคโรทีนอยด์ และทำการศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์สีผง โดยบรรจุสีผงในพลาสติกซิปและบรรจุลงในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 เดือน สุ่มเก็บตัวอย่างทุก 2 เดือน เพื่อวิเคราะห์คุณภาพ ได้แก่ ความชื้น ค่าสี ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี การละลาย ปริมาณแคโรทีนอยด์ (คำนวณตามสมการของ Lichtenthaler and Buschmann, 2005) และคุณภาพด้านจุลินทรีย์ วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ มี 3 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 อายุการเก็บรักษา 0 เดือน
กรรมวิธีที่ 2 อายุการเก็บรักษา 2 เดือน
กรรมวิธีที่ 3 อายุการเก็บรักษา 4 เดือน

3) ศึกษาการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม โดยแปรระดับปริมาณสีผง 5 ระดับ วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ปริมาณสีผง 0 %
กรรมวิธีที่ 2 ปริมาณสีผง 1 %
กรรมวิธีที่ 3 ปริมาณสีผง 2 %
กรรมวิธีที่ 4 ปริมาณสีผง 3 %
กรรมวิธีที่ 5 ปริมาณสีผง 4 %

ตรวจคุณภาพผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ค่าสี ค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ ปริมาณแคโรทีนอยด์

2.2.3 ศึกษาการผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กที่ให้สีฟ้า (สารสี phycobilin)

1) ศึกษาการสกัดสารสีฟ้า (phycobilin) จากสาหร่ายขนาดเล็ก ทำการสกัดสารสีจากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยวิธีทางกายภาพ คือ นำเซลล์สาหร่ายผสมกับน้ำ อัตราส่วน 1:1 นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ประมาณ 16 ชั่วโมง นำออกมาละลายที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปปั่นแยกเซลล์สาหร่าย เก็บสารละลายส่วนใสสีน้ำเงินวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ (สุริยา และคณะ, 2543)

2) ศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยแปรระดับปริมาณมอลโตเด็กซ์ทริน 3 ระดับ วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ปริมาณมอลโตเด็กซ์ทริน 10 % โดยน้ำหนัก
กรรมวิธีที่ 2 ปริมาณมอลโตเด็กซ์ทริน 20 % โดยน้ำหนัก
กรรมวิธีที่ 3 ปริมาณมอลโตเด็กซ์ทริน 30 % โดยน้ำหนัก

กรมวิชาการเกษตร

โดยผสมสารสกัดกับมอลโตเด็กซ์ทรินให้เข้ากัน นำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนเข้า 110 องศาเซลเซียส (Purnamayati *et al*., 2017) ตรวจคุณภาพของสีผง ได้แก่ ความชื้น ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี ค่าสี การละลาย ปริมาณไฟโคบิลิน (คำนวณตามสมการของ Bennett and Bogorad, 1973)

3) ศึกษาการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม โดยแปรระดับปริมาณสีผง 5 ระดับ วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ปริมาณสีผง 0 %
กรรมวิธีที่ 2 ปริมาณสีผง 1 %
กรรมวิธีที่ 3 ปริมาณสีผง 2 %
กรรมวิธีที่ 4 ปริมาณสีผง 3 %
กรรมวิธีที่ 5 ปริมาณสีผง 4 %

ตรวจคุณภาพผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ค่าสี ค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ และปริมาณไฟโคบิลิน

2.3 การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์และใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.3.1 ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่นำมาเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตพอลิแซ็กคาไรด์คือ สาหร่าย *Coelastrum microporum* (A052) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์

2.3.2 การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก มีขั้นตอนดังนี้

1) นำสาหร่ายขนาดเล็กปั่นผสมกับเอทานอลความเข้มข้น 95% ปริมาตร 2 เท่าของน้ำหนักสาหร่ายด้วยเครื่องปั่นผสม จากนั้นให้ความร้อนส่วนผสมที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส กวนส่วนผสมด้วยใบพัดกวนที่ความเร็ว 400 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นบีบแยกเอทานอลออก ได้ส่วนของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ (alcohol-insoluble solid, AIS)

2) นำ AIS ที่ได้มาสกัดด้วยน้ำ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี กำหนดปัจจัยที่ศึกษา 2 ปัจจัย คือ

ปัจจัยที่ 1 คือ อัตราส่วน AIS: น้ำ 2 ระดับ คือ 1:1 และ 1:1.5 (w/v)

ปัจจัยที่ 2 คือ ระยะเวลาในการสกัด 2 ระดับ คือ 50 และ 70 นาที

3) นำสารสกัดที่ได้ไปแยกกากโดยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (centrifuge) ที่ความเร็ว 9,500 rpm. เป็นเวลา 45 นาที เก็บส่วนใสไประเหยน้ำออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศและนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer) หลังจากนั้นนำผงสารสกัดที่ได้ไปบดให้ละเอียดจะได้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กในรูปของแห้ง

4) หาปริมาณผลผลิต (Yield) ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้

2.3.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก ดังนี้

1) ปริมาณความชื้น คาร์โบไฮเดรต ตามวิธีของ AOAC (2005)

2) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) ด้วยวิธีของ Dubois et al. (1956)

3) ปริมาณกรดยูโรนิก (Uronic acid) ด้วยวิธีของ Melton and Smith (2001)

2.3.4 การศึกษาโครงสร้างของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเครื่อง (Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectrometer)

2.3.5 การศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก ดังนี้

1) ความหนืด ด้วยเครื่องวัดความหนืด (Brookfield Viscometer)

2) ความแข็งแรงของเจล (gel strength) ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer) โดยพิจารณาปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้อง คือ ความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์และความเป็นกรด-ด่าง (pH)

2.3.6 การประยุกต์ใช้พอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กในผลิตภัณฑ์อาหาร

ศึกษาการใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กเป็นสารให้ความหนืดในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพด โดยเปรียบเทียบกับสารให้ความหนืดที่ใช้ในอุตสาหกรรม คือ แซนแทนกัม วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 7 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 คือ ไม่เติมสารให้ความหนืด
กรรมวิธีที่ 2 คือ พอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก 0.5 %
กรรมวิธีที่ 3 คือ พอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก 1.0 %
กรรมวิธีที่ 4 คือ พอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก 1.5 %
กรรมวิธีที่ 5 คือ แซนแทนกัม 0.5 %

กรมวิทยาศาสตร์

กรรมวิธีที่ 6 คือ แซนแทนกัม 1.0 %

กรรมวิธีที่ 7 คือ แซนแทนกัม 1.5 %

วิเคราะห์คุณภาพทางด้านความคงตัวโดยวัดการแยกชั้น (percent serum loss, SL) ตามวิธีของ Hardeep *et al.* (2002) และความข้นหนืดของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer) ทุก 30 วัน เป็นระยะเวลาการเก็บรักษา 3 เดือน

2.3.7 การผลิตใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก

1) นำเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กมาสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 เท่าของน้ำหนักสาหร่ายด้วยเครื่องปั่นผสม จากนั้นให้ความร้อนส่วนผสมที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส กวนส่วนผสมด้วยใบพัดกวนที่ความเร็ว 400 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นบีบแยกเอทานอลออก วางทิ้งไว้เพื่อให้เอทานอลระเหยเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อสารสกัดแห้งแล้วบดละเอียดด้วยเครื่องบดและบรรจุในถุงปิดสนิท

2) วิเคราะห์คุณสมบัติของใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก ดังนี้ ปริมาณกากใย (crude fiber) ปริมาณใยอาหารทั้งหมด (total dietary fiber) โดยวิธี AOAC Official Method (AOAC, 2000)

2.3.8 การผลิตผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก

ศึกษาการผลิตผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 7 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 คือ ไม่เติมใยอาหาร

กรรมวิธีที่ 2 คือ ใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก 1 %

กรรมวิธีที่ 3 คือ ใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก 2 %

กรรมวิธีที่ 4 คือ ใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก 3 %

กรรมวิธีที่ 5 คือ ใยอาหารจากบุก 1 %

กรรมวิธีที่ 6 คือ ใยอาหารจากบุก 2 %

กรรมวิธีที่ 7 คือ ใยอาหารจากบุก 3 %

วิเคราะห์ปริมาณใยอาหารในผลิตภัณฑ์พาสต้าเสริมใยอาหาร โดยวิธี AOAC Official Method

2.4 การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็กแบบระบบเปิดในระดับขยายขนาด

2.4.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กแบบบ่อเปิด (open raceway pond)

1) ขยายหัวเชื้อสาหร่ายตั้งต้น (Starter culture) นำสาหร่ายขนาดเล็กที่คัดเลือกได้มาเพาะเลี้ยงมาเพาะเลี้ยงในระดับห้องปฏิบัติการด้วยอาหารเหลวสูตรมาตรฐาน Modified Chu-13 ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เขย่าด้วยความเร็วรอบ 180 รอบต่อนาที

2) ปรับปริมาตรอาหารเหลวเป็น 5 ลิตร เพื่อเพิ่มปริมาณหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กและให้อากาศด้วยปั๊มอากาศ ภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ชนิด cool white ในอัตรา 12 ชั่วโมงต่อวัน โดยมีระดับความเข้มแสงประมาณ 3,000 ลักซ์ และอุณหภูมิห้องเฉลี่ย 27 องศาเซลเซียส

3) วัดการเจริญเติบโตสาหร่ายขนาดเล็กต่อเนื่องทุกวันด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร จนได้ค่าความขุ่นเท่ากับ 0.3 จะได้หัวเชื้อสาหร่ายสำหรับการเพาะเลี้ยงในบ่อ

4) เตรียมน้ำอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Modified Chu-13 (เกรดอุตสากรรม) ในบ่อเปิดปริมาตร 500 ลิตร ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ในช่วง 6.8-7

5) หลังการเพาะเลี้ยงครบ 22 วัน เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ในน้ำเพาะเลี้ยงให้มีค่าความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ และเพาะเลี้ยงต่อเนื่องอีก 10 วัน

6) เก็บเกี่ยวชีวมวลสาหร่ายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงโดยปั่นตกตะกอนตัวอย่างสาหร่ายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงแยกกากที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที ด้วยอัตราการไหล 500 ลิตร/ชั่วโมง

2.4.2 การผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก

2.4.2.1 วิธีการผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่าย

1) นำชีวมวลสาหร่ายจากขั้นตอนที่ 1 มาศึกษาวิธีการสกัดไขมันจากชีวมวลสาหร่ายสดและแห้ง ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 4 ชนิด ได้แก่ เอทานอล เมทานอล อะซิโตน และเฮกเซน โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ

กรมวิชาการเกษตร

2) ทำการแช่ชีวมวลสาหร่ายแห้งทิ้งไว้ในตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

3) กรองส่วนที่เป็นของเหลวและนำไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสารแบบหมุนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

4) นำไขมันที่สกัดได้มาทำปฏิกิริยาทรานเอสเทอริฟิเคชันกับเมทานอล 25 % และใช้โพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ 1 % เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 60 นาที

5) จากนั้นทำการล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆ เพื่อทำความสะอาด

6) เติมโซเดียมไบคาบอเนต 10% แล้วผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที

7) ปั่นให้แยกชั้นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

8) ดูดสารละลายชั้นบนซึ่งจะเป็นส่วนที่มีไบโอดีเซล (FAME) ละลายอยู่ไปวิเคราะห์องค์ประกอบและคุณสมบัติเบื้องต้นของน้ำมันไบโอดีเซล

2.4.2.2 วิธีการผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่ายสด ดัดแปลงจากวิธีของ Panida (2015)

1) นำชีวมวลสาหร่ายสดมาสกัดน้ำมันด้วยวิธี acidic transesterification กับเมทานอลในอัตราส่วน สาหร่าย 1 กรัม ต่อเมทานอล 3 มิลลิลิตร และใช้กรดซัลฟูริค 10 % เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 1 ชั่วโมง

2) ทำการกรองและนำส่วนที่เป็นของเหลวไประเหย

3) จากนั้นทำการล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆ เพื่อทำความสะอาด

4) เติมโซเดียมไบคาบอเนต 10 % แล้วผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที

5) ปั่นให้แยกชั้นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

6) ดูดสารละลายชั้นบน (Organic layer) ซึ่งจะเป็นส่วนที่มีไบโอดีเซล (FAME) ละลายอยู่ไปวิเคราะห์องค์ประกอบและคุณสมบัติเบื้องต้นของน้ำมันไบโอดีเซล

2.5 การผลิตพลาสติกชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.5.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กแบบบ่อเปิด (open raceway pond)

1) เพาะขยายหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็ก Sm6-3 ที่เก็บรักษาไว้ในห้องปฏิบัติการสาหร่ายในอัตราส่วนหัวเชื้อต่อน้ำอาหาร 1:100 ในขวดปริมาตร 5 ลิตร และวัดการเจริญเติบโตสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ให้มีค่าความขุ่นเท่ากับ 0.3

2) เตรียมน้ำเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กที่คัดเลือกสูตรอาหารปุ๋ยและอัตราการใช้ และปรับค่ากรด-ด่าง ด้วยสารละลายโพแตสเซียมไฮดรอกไซด์ของน้ำเพาะเลี้ยงให้อยู่ในช่วง 6.8 – 7.0 ในบ่อเพาะเลี้ยงขยายขนาดแบบบ่อเปิดกลางแจ้งด้วยน้ำประปาปริมาตร 500 ลิตร

3) เติมหัวเชื้อสาหร่ายขนาดเล็กที่เตรียมไว้ในอัตราส่วน 1 ลิตรต่อน้ำเพาะเลี้ยง 100 ลิตร เพาะเลี้ยงโดยใช้แสงจากธรรมชาติ ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ และมีการใช้ใบพัดในการหมุนเวียนการไหลของน้ำและให้น้ำสัมผัสอากาศ

4) เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์หลังวันที่สาหร่ายแต่ละสายพันธุ์มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 15 ของการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และเพาะเลี้ยงต่ออีก 10 วัน

5) หลังครบกำหนดการเพาะเลี้ยง ทำการเก็บเกี่ยวด้วยเครื่องปั่นแยกกากเซลล์จุลินทรีย์อัตโนมัติ ด้วยอัตราการไหล 500–700 ลิตรต่อชั่วโมง

2.5.2 การสกัดพอลิเมอร์ชีวภาพออกจากชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก

นำผลิตผลเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กจากขั้นตอนที่ 1 มาทำการพรีทรีตเมนต์ด้วยสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 0.5 % และโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 6 % จากนั้นสกัดสารพอลิเมอร์ชีวภาพออกจากเซลล์และหาปริมาณพอลิเบต้าไฮดรอกซีบิวไทเรต (PHB) โดยนำชีวมวลสาหร่ายที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ 1 กรัม เติมคลอโรฟอร์ม 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มในน้ำเดือดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมกรดซัลฟูริคเข้มข้น 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มในน้ำเดือดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 235 นาโนเมตร และนำชีวมวลสาหร่ายที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ และสารสกัดที่ได้ไปศึกษาคุณสมบัติของพอลิเมอร์ชีวภาพ

2.5.3 การเตรียมแผ่นฟิล์มเบื้องต้นโดยใช้เซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

ในการทดสอบการขึ้นรูปแผ่นฟิล์มด้วยสารก่อฟิล์มชนิดต่างๆ จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ สารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) สตาร์ช แป้งมันสำปะหลัง และกลีเซอรอล (ประยูร และคณะ, 2558) เพื่อหาสารก่อฟิล์มที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปแผ่นฟิล์ม โดยนำ

กรมวิชาการเกษตร

เซลล์ของสาหร่าย Sm6-3 9 กรัม มาเติมสารก่อฟิล์มแต่ละชนิด 10 % โดยน้ำหนัก ต้มกับน้ำสะอาดปริมาตร 300 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที เทส่วนผสมลงในแผ่นเพลทแก้วแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบแผ่นฟิล์มที่ผลิตได้

2.5.4 การเตรียมฟิล์มและทดสอบคุณสมบัติของฟิล์มเซลล์สาหร่าย

ศึกษาอัตราส่วนระหว่างเซลล์ชีวมวลสาหร่ายกับสารพลาสติไซเซอร์ โดยนำชีวมวลสาหร่ายที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ 12 กรัม มาเติมสารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) และสตาร์ช ปริมาณตามกรรมวิธี โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ จำนวน 12 กรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 2.4 กรัม แป้ง 0.6 กรัม ($AP_{2.4}S_{0.6}$)
กรรมวิธีที่ 2 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 2.4 กรัม แป้ง 1.2 กรัม ($AP_{2.4}S_{1.2.}$)
กรรมวิธีที่ 3 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 3.0 กรัม แป้ง 0.6 กรัม ($AP_{3.0}S_{0.6}$)
กรรมวิธีที่ 4 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 3.0 กรัม แป้ง 1.2 กรัม ($AP_{3.0}S_{1.2}$)
กรรมวิธีที่ 5 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 3.6 กรัม แป้ง 0.6 กรัม ($AP_{3.6}S_{0.6}$)
กรรมวิธีที่ 6 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 3.6 กรัม แป้ง 1.2 กรัม ($AP_{3.6}S_{1.2}$)
กรรมวิธีที่ 7 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.2 กรัม แป้ง 0.6 กรัม ($AP_{4.2}S_{0.6}$)
กรรมวิธีที่ 8 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.2 กรัม แป้ง 1.2 กรัม ($AP_{4.2}S_{1.2}$)
กรรมวิธีที่ 9 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.2 กรัม แป้ง 1.8 กรัม ($AP_{4.2}S_{1.8}$)
กรรมวิธีที่ 10 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.8 กรัม แป้ง 1.2 กรัม ($AP_{4.8}S_{1.2}$)
กรรมวิธีที่ 11 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.8 กรัม แป้ง 1.8 กรัม ($AP_{4.2}S_{1.8}$)
กรรมวิธีที่ 12 คือ เซลล์สาหร่าย 12 กรัม ต่อสาร PVA 4.8 กรัม แป้ง 2.4 กรัม ($AP_{4.2}S_{2.4}$)

เตรียมสารละลาย PVA ด้วยการต้มน้ำกลั่นให้เดือด จากนั้นค่อยๆ เติมสาร PVA กวนจนละลาย ค่อยๆเติมแป้งและกวนจนแป้งสุกเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติมเซลล์สาหร่ายที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์จากขั้นตอนที่ 1 ลงในสารละลายปริมาณตามกรรมวิธี กวนจนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน เทส่วนผสมลงบนแบบอะคริลิคเพื่อขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม อบให้แห้งในตู้อบอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 12 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นจึงแกะแผ่นฟิล์มออก ดึงแผ่นฟิล์มที่ผลิตได้ออกจากแผ่นเพลทแล้วนำไปทดสอบคุณสมบัติต่างๆของแผ่นฟิล์มที่ผลิตได้ ตามมาตรฐานดังนี้

1) ความหนา (Thickness) วัดด้วยเครื่องวัดความหนา
2) ปริมาณความชื้น (Moisture Content) วัดด้วยเครื่องวัดความชื้น
3) การละลายน้ำ (Water solubility) ตามวิธีของ Su, J., et al.(2010) และ Tongdeesoontorn, W., et al. (2011) ดังนี้ ตัดแผ่นฟิล์มขนาด 50x50 ตร.มม. ตัวอย่างละ 3 ชิ้น อบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักก่อนการละลาย (W_0) แช่ในบีกเกอร์ที่มีน้ำปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปิดปากบีกเกอร์ด้วยพาราฟิล์ม วางที่ RT เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 (ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง) นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักหลังการละลาย (W_1) นำไปคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การละลายน้ำ ดังนี้

$$\%\, Solubility = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \times 100$$

4) อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ: ทดสอบโดยศูนย์การบรรจุหีบห่อไทย วว. ตาม ASTM E 96-00 Water Vapor transmission of Materials
5) อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพ ตามวิธีของ กนกศักดิ์ และคณะ (2556)

2. การปรับแผนงบประมาณระหว่างปี

❑ ไม่มี ❑ มี ได้รับอนุมัติเมื่อวันที่..... (โปรดแสดงหลักฐานในภาคผนวก)

❑ เปลี่ยนแปลงงบประมาณ โปรดอธิบายการเปลี่ยนแปลง.....

❑ เปลี่ยนแปลงวัตถุประสงค์/ผลผลิต โปรดอธิบายการเปลี่ยนแปลง.....

กรมวิทยาศาสตร์

บทที่ 3 ผลการศึกษา

3.1 ผลการดำเนินงานของโครงการ

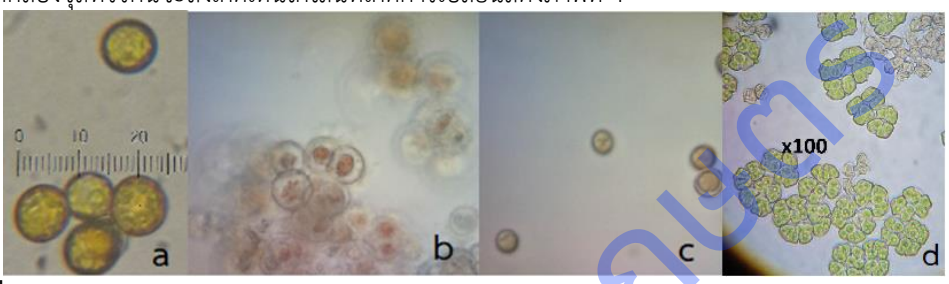
กิจกรรมที่ 1 การพัฒนาสาหร่ายขนาดเล็กที่มีสารสำคัญสูง

1.1 การคัดเลือกสาหร่ายขนาดเล็กที่มีศักยภาพสูงในการผลิตสารสำคัญ และการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญ

1.1.1 การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่มีการสะสมสารสำคัญชนิดต่าง ๆ

1) การตรวจสอบการสะสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ที่มีอยู่ในเซลล์สาหร่าย

จากนำเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กที่ได้คัดแยกสายพันธุ์บริสุทธิ์จากทั้งหมด 8 สายพันธุ์ พบสาหร่าย 4 สายพันธุ์ ที่เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงสีได้แก่ SK-QSGMF6, NM-PM1-3, SK-KhY6 และ CM01-4 ภายหลังการเพาะเลี้ยงไว้ระยะเวลาหนึ่งเซลล์สาหร่ายจะมีการสะสมสารแคโรทีนอยด์ไว้ภายในเซลล์มากขึ้น ทำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีส้มหรือแดง โดยการส่องดูสรีระวิทยาของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะสังเกตเห็นโคโลนีที่เกิดการเปลี่ยนสีดังภาพที่ 4

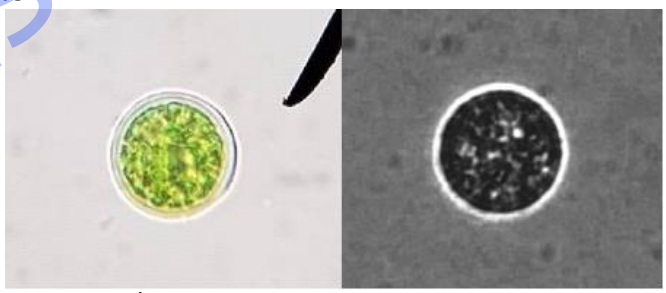


ภาพที่ 4 ลักษณะสรีระวิทยาของเซลล์สาหร่าย a) SK-QSGMF6 b) NM-PM1-3 c) SK-KhY6 และ d) CM01-4

หลังการนำชีวมวลแห้งของสาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 4 สายพันธุ์ มาทำการสกัดสารแคทีนอยด์ทั้งหมด ด้วยเครื่องสกัด SFE และนำสารสกัดไปทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) โดยวิธี DPPH assay โดยใช้โทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน พบว่าสาหร่าย SK-QSGMF6, NM-PM1-3, SK-KhY6 และ CM01-4 มีค่าการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 10.60, 9.63, 13.78 และ 5.00 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอกซ์ต่อ 100 กรัม ตามลำดับ ดังนั้นจึงคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 จึงคัดเลือกสายพันธุ์นี้ไปศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเพื่อใช้ผลิตสารแคโรทีนอยด์ต่อไป

2) การตรวจสอบการสะสมสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่อยู่ในเซลล์สาหร่าย

ผลการตรวจสอบลักษณะทางสรีระวิทยาของเซลล์สาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่ภายนอกเซลล์มีลักษณะวงใสๆ (capsule) ที่เกิดจากการสะสมสารพอลิแซ็กคาไรด์อยู่รอบนอกของเซลล์ และผลการยืนยันด้วยวิธีการย้อมสีเซลล์สาหร่ายแบบเนกาทีฟ โดยใช้สีไนโกรซิน ผลการย้อมสีเซลล์สาหร่าย พบว่ามีเพียงสาหร่าย A052 มีลักษณะของวงใส อยู่รอบเซลล์ในปริมาณสูงแสดงดังภาพที่ 5 จึงคัดเลือกสายพันธุ์นี้ไปศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเพื่อใช้ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ต่อไป

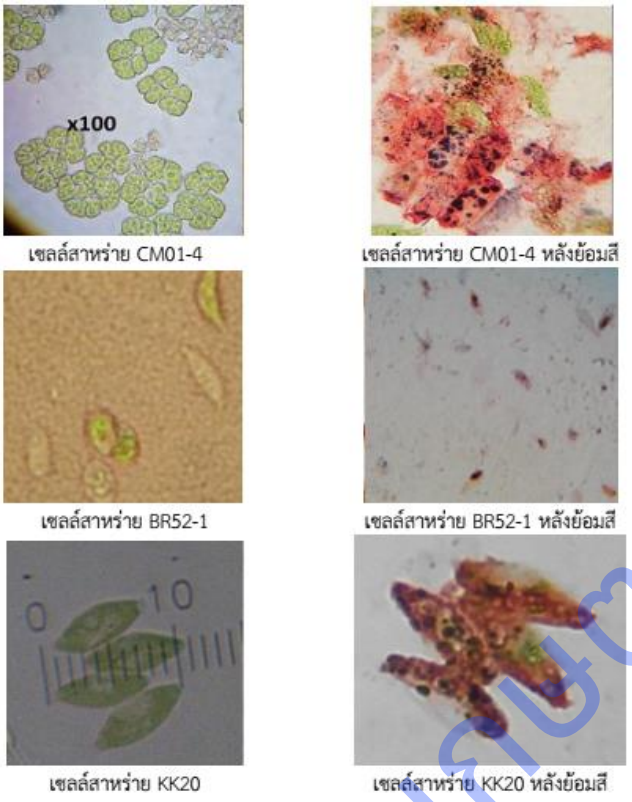


ภาพที่ 5 ลักษณะสรีระวิทยาของเซลล์สาหร่าย A052

3) การตรวจสอบการสะสมไขมันที่อยู่ในเซลล์สาหร่าย

ผลการตรวจสอบลักษณะทางสรีระวิทยาของเซลล์สาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่เม็ดไขมันสะสมไว้ภายในเซลล์พบว่ามีสาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 3 สายพันธุ์ได้แก่ CM01-4 KK20 และ BR52-1 ที่เห็นลักษณะของเม็ดไขมันภายในเซลล์และผลการยืนยันด้วยวิธีการย้อมสีเซลล์สาหร่ายด้วยสีซูดาน แบล็กบี เพื่อดูปริมาณหยดไขมันภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบจุดสีดำอยู่ภายในเซลล์ของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ แสดงดังภาพที่ 6

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 6 สรีระวิทยาของเซลล์สาหร่ายก่อนและหลังการย้อมสีซูดาน แบล็กบี ของแต่ละสายพันธุ์

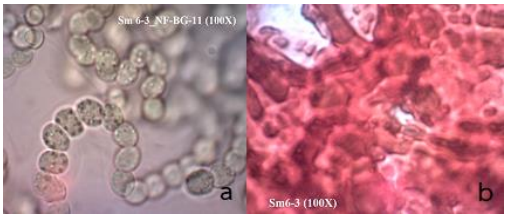
หลังทำการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณชีวมวลภายใต้สภาวะแบบออโตโทรปิกและนำไปสกัดน้ำมันด้วยวิธี *In-situ* acidic transesterification จากเซลล์สาหร่ายแบบเปียก แล้วนำมาศึกษาลักษณะของโครมาโตแกรมของไขมันที่สกัดได้ด้วยแผ่น TLC แสดงดังภาพที่ 7 7 ผลการวิเคราะห์พบว่าน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่าย CM01-4 และ KK20 มีค่าใกล้เคียงกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน FAME (Fatty acid methylester) จากข้อมูลดังกล่าวจึงคัดเลือกสาหร่าย CM01-4 เป็นตัวแทนในการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเพื่อใช้ผลิตไขมันต่อไป

ภาพที่ 7 (a) ชีวมวลของสาหร่ายที่ปั่นแยกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง
(b) ลักษณะชั้นน้ำมันและเซลล์ของสาหร่ายหลังจากการสกัดน้ำมันด้วยกรดซัลฟูริค
(c) โครมาโตแกรมของกรดไขมันจากสาหร่าย BR52-1 KK20 และ CM01-4

4) การตรวจสอบการสะสมสารพอลิเมอร์ชีวภาพที่อยู่ในเซลล์สาหร่าย

ผลการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเซลล์สาหร่าย Sm6-3 ที่ได้จากรากคอรัลลอยด์ของปรง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า พบว่าเซลล์มีการเรียงต่อกันเป็นเส้นสาย trichome ประกอบด้วย vegetative cell และ heterocyst cell เรียงสลับหรืออยู่ปลายสุดของเส้นสาย ซึ่งเป็นลักษณะของไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์ *Nostoc* sp. หลังการย้อมด้วยสีซูดาน แบล็กบี และดูลักษณะเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าภายในเซลล์มีเม็ดสีน้ำเงินเข้มหรือสีดำภายในเซลล์เป็นจำนวนมากแสดงดังภาพที่ 8 จึงนำสายพันธุ์นี้มาศึกษาขยายผลด้วยสูตรอาหารอื่นที่มีความเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเพื่อใชผลิตสารพอลิเมอร์ชีวภาพต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

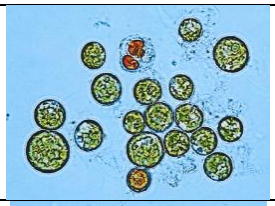
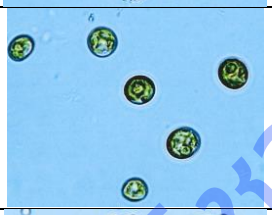
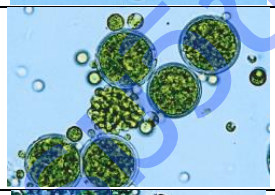
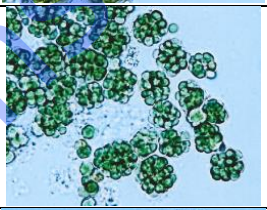
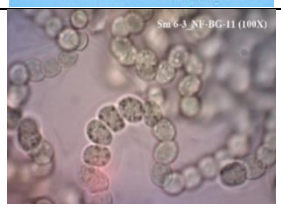


ภาพที่ 8 สรีระวิทยาของเซลล์สาหร่าย Sm6-3 (a) เซลล์ปกติ และ (b) การย้อมเซลล์ด้วยสีซูดาน แบล็กบี

5) การจัดจำแนกสายพันธุ์สาหร่าย

ผลจากการนำสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 6 สายพันธุ์ ส่งตรวจวิเคราะห์ลำดับเบส 18S rRNA SEQUENCING โดยศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย และเมื่อทำการเปรียบเทียบลำดับของนิวคริโอไทด์กับฐานข้อมูลใน Gen Bank ด้วยโปรแกรม NCBI Blast ร่วมกับภาพถ่ายทางสรีระวิทยาของเซลล์สาหร่าย สามารถระบุสายพันธุ์ของสาหร่ายขนาดเล็ก พบว่าสาหร่าย SK-QSGMF6 มีลำดับเบสที่ใกล้เคียงกับ *Coelastrella* sp. สาหร่าย SK-KhY6 มีลำดับเบสใกล้เคียงกับ *Coelastrum* sp. สาหร่าย A052 มีลำดับเบสที่ใกล้เคียงกับ *Coelastrum microporum*, สาหร่าย CM01-4 มีลำดับเบสที่ใกล้เคียงกับ *Botryococcus* sp. สาหร่าย KK20 มีลำดับเบสที่ใกล้เคียงกับ *Desmodesmus* sp. และสายพันธ์สุดท้ายสาหร่าย Sm6-3 ที่มีลำดับเบสที่ใกล้เคียงกับ *Nostoc* sp. ดังรายละเอียดในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ชนิดสายพันธุ์สาหร่าย ภาพถ่ายเซลล์ และสถานที่เก็บตัวอย่าง

ไอโซเลท	สรีระวิทยาของเซลล์	รายละเอียด
SK-QSGMF6		สถานที่เก็บตัวอย่าง : ป่าชายเลนของศูนย์สิริกิติ์ จ.สมุทรสงคราม กลุ่มสาหร่ายสีเขียว Division: Chlorophyta Family: *Coelastrella* sp. ขนาดเซลล์ : 5 – 10 µm
SK-KhY6		สถานที่เก็บตัวอย่าง : อ่างเก็บน้ำคลองยาง จ.สระแก้ว กลุ่มสาหร่ายสีเขียว Division: Chlorophyta Family: *Coelastrum* sp. ขนาดเซลล์ : 5 µm
A052		สถานที่เก็บตัวอย่าง : อ่างเก็บน้ำบึงเสือไฟ จังหวัดพิจิตร กลุ่มสาหร่ายสีเขียว Division: Chlorophyta Family : *Coelastrum microporum* Size of cell: 10-20 µm
CM01-4		สถานที่เก็บตัวอย่าง : อ่างเก็บน้ำแม่เหียะ จ.เชียงใหม่ กลุ่มสาหร่ายสีเขียว Division: Chlorophyta Family: *Botryococcus* sp. เซลล์เกาะเป็นกลุ่มขนาด : 20 – 30 µm
KK20		สถานที่เก็บตัวอย่าง : อ่างเก็บน้ำแก่งละว้า จังหวัดขอนแก่น กลุ่มสาหร่ายสีเขียว Division: Chlorophyta Family: *Desmodesmus* sp. เซลล์เกาะเป็นกลุ่มขนาด : 10 - 20 µm
SM6-3		สถานที่เก็บตัวอย่าง : รากอากาศของปรง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน Division: Cyanophyta Family: *Nostoc* sp. เซลล์เรียงต่อกันเป็นเส้นสาย

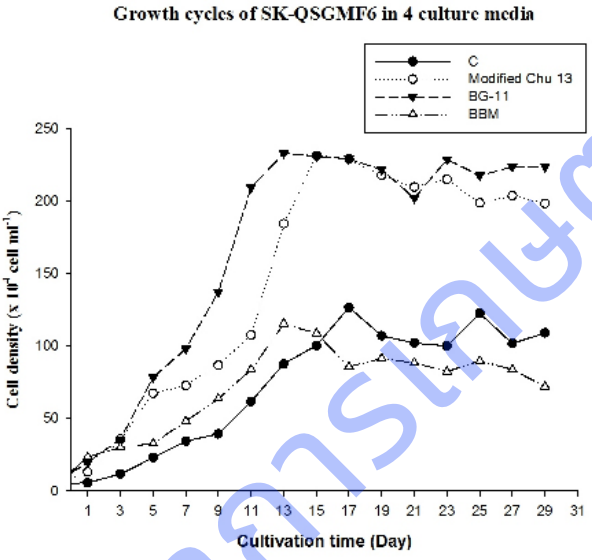
ตัวอย่างรายงาน

1.1.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

ผลการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายกลุ่มที่มีการสะสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พอลิแซ็กคาไรด์ ไขมัน และพอลิเมอร์ชีวภาพ ด้วยสูตรอาหารมาตรฐาน 4 สูตรได้แก่ Modified chu 13, BG-11, BBM และ C medium ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะแบบออโตโทรปิกที่มีอัตราการให้แสง : ไม่ให้แสง เป็น 16: 8 ชั่วโมงต่อวัน โดยแบ่งตามกลุ่มสายพันธุ์สาหร่ายที่ผลิตสารสำคัญ ดังนี้

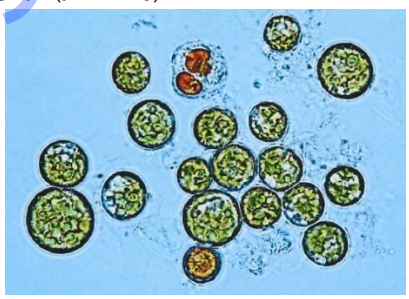
1) สาหร่ายขนาดเล็กกลุ่มที่มีการสะสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์

ผลจากการเพาะเลี้ยงสาหร่าย 2 สายพันธุ์ ได้แก่ SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 พบว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย SK-QSGMF6 (ภาพที่ 9) มี 2 สูตรด้วยกันคือสูตร BG-11 และ Modified Chu 13 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดใกล้เคียงกันเท่ากับ $2.33x10^6$ และ $2.31x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 13 และ 15 วัน ตามลำดับ ในขณะที่ C medium และ BBM มีอัตราการเจริญเติบโตลดลงมาคือ $1.27 x10^6$ และ $1.15 x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาเวลา 17 วัน และ 13 วันตามลำดับ



ภาพที่ 9 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายไอโซเลท SK-QSGMF6 ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรต่าง ๆ

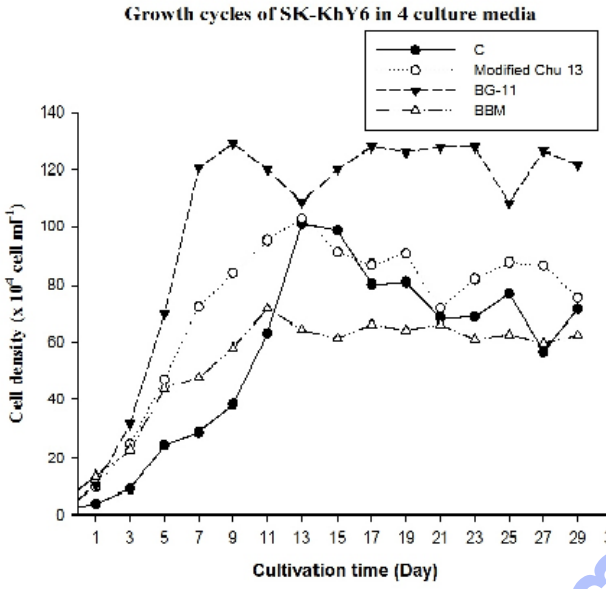
ทั้งนี้จากการสังเกตสีของเซลล์สาหร่ายสีเขียวตลอดระยะการเพาะเลี้ยง 30 วันพบว่า สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงด้วยสูตร BG-11 เซลล์สาหร่ายไม่มีการเปลี่ยนแปลงสี ซึ่งต่างกับเซลล์สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงด้วยสูตร Modified Chu 13 ที่สีของเซลล์เริ่มมีการเปลี่ยนเป็นสีส้มที่บ่งบอกถึงการสะสมของสารแคโรทีนอยด์ได้ (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 ลักษณะเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กไอโซเลท SK-QSGMF6 ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Modified Chu 13

ส่วนผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไอโซเลท SK-KhY6 (ภาพที่ 11) พบว่าสูตรที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายมากที่สุดคือ BG-11 มีอัตราการเจริญที่สูงที่สุดคือ $1.29x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 9 วัน ส่วนอาหารสูตร Modified Chu 13 และ C medium สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตที่ใกล้เคียงกันที่ประมาณ $1.03x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในระยะเวลาเพาะเลี้ยง 13 วันเท่ากัน ในขณะที่อาหารสูตร BBM มีอัตราการเจริญต่ำที่สุดคือ $0.72x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 11 วัน ส่วนผลการตรวจสอบสีของเซลล์หลังการเลี้ยง 30 วัน พบว่าเซลล์สาหร่ายยังมีการเปลี่ยนแปลงสีไม่มาก จึงนำผลการเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร BG-11 ไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

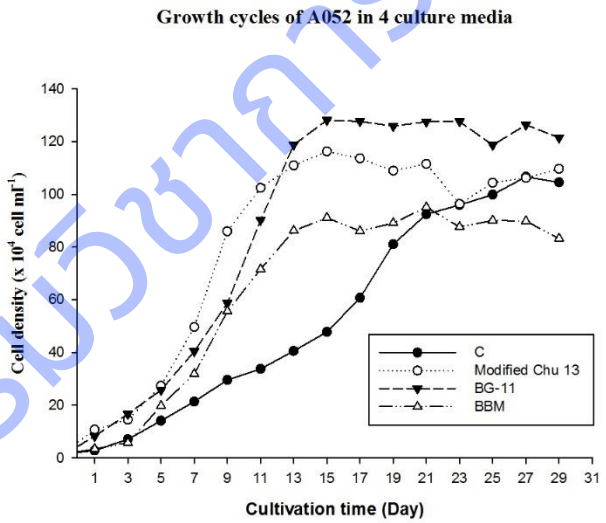
กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 11 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายไอโซเลท SK-Khy6 ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรต่าง ๆ

2) สาหร่ายขนาดเล็กที่มีการสะสมสารพอลิแซ็กคาไรด์

ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไอโซเลท A052 แสดงดังภาพที่ 12 พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงคือ BG-11 มีอัตราการเจริญที่สูงที่สุดคือ $1.28x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ใช้ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 15 วัน ในขณะที่ Modified Chu 13, BBM และ C medium มีอัตราการเจริญที่สูงที่สุดคือ $1.18x10^6$, $0.97x10^6$ และ $1.08x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 15, 21 และ 27 วันตามลำดับ

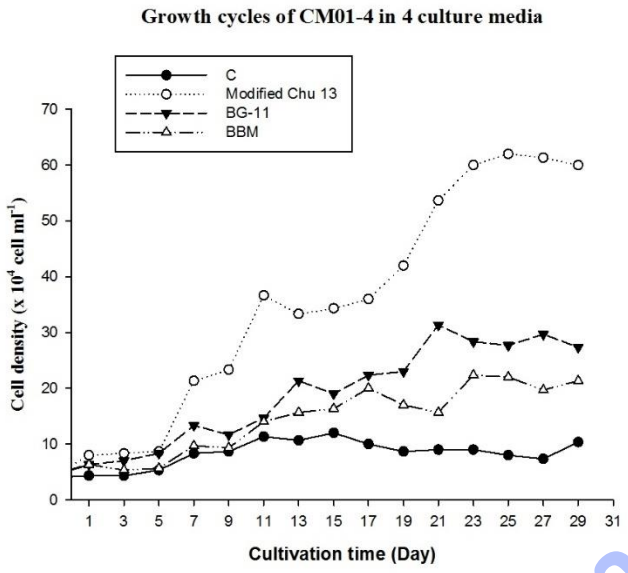


ภาพที่ 12 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายไอโซเลท A052 ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรต่าง ๆ

3) สาหร่ายขนาดเล็กกลุ่มที่มีการสะสมไขมัน

ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไอโซเลท CM01-4 แสดงดังภาพที่ 13 พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงคือ Modified Chu 13 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ $6.02x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 25 วัน รองลงมาคือสูตร BG-11 และ BBM มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ $3.13 x10^5$ และ $2.23 x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 21 และ 23 วันตามลำดับ ในขณะที่สูตรC medium มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด

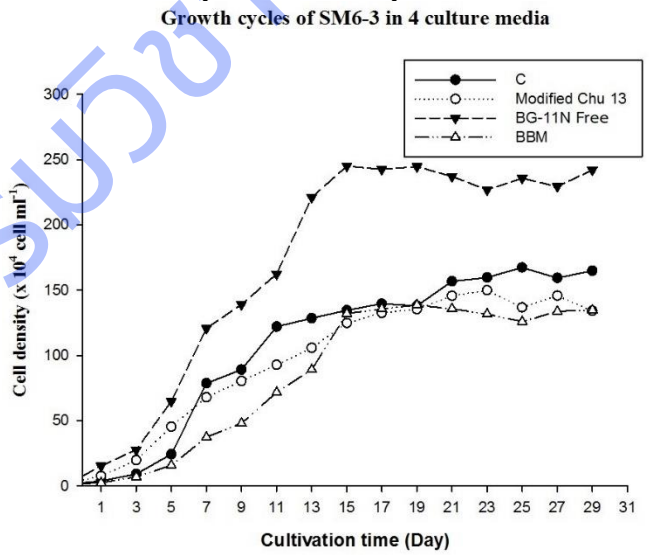
กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 13 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายไอโซเลท CM01-4 ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรต่าง ๆ

4) สาหร่ายขนาดเล็กกลุ่มที่มีการสะสมสารพอลิเมอร์ชีวภาพ

จากลักษณะเซลล์ของสาหร่ายในกลุ่มไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์นี้เป็นชนิดที่อาศัยอยู่ร่วมกันในรากปรงแบบเอนโดไฟต์ (endophyte) ทำให้สามารถตรึงไนโตรเจนได้ (N_2-fixation) (Tikhonovich and Provorov, 2007) และผลการศึกษาของประยูรและคณะ (2558) ที่มีการเปรียบเทียบผลการเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร BG-11 เปรียบเทียบสูตรอาหาร BG-11 N Free จากการปรับปรุงสูตรด้วยการไม่เติมธาตุอาหารไนโตรเจนลงไป พบว่าสาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตที่ใกล้เคียงกันเท่ากับ 1.03×10^7 และ 9.96×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากปัจจัยด้านต้นทุนอาหารในการเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการเติมธาตุอาหารไนโตรเจนสามารถลดต้นทุนค่าอาหารเพาะเลี้ยงลงได้มากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในการทดลองจึงเปลี่ยนสูตรอาหารในกรรมวิธีเปรียบเทียบจาก BG-11 เป็น BG-11 N Free ร่วมกับสูตรอาหารอีก 3 สูตรได้แก่ Modified Chu 13, BBM และ C medium ที่มีธาตุไนโตรเจนเป็นส่วนผสมในปริมาณน้อยกว่าจากสูตรอาหาร BG-11 สูตรปกติ



ภาพที่ 14 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายไอโซเลท SM6-3 ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรต่าง ๆ

ผลการทดลองดังภาพที่ 14 พบว่า สูตรอาหาร BG-11 N-Free สามารถทำให้สาหร่ายขนาดเล็กไอโซเลท SM6-3 มีอัตราการเจริญที่สูงที่สุดคือ 2.45×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร หลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 15 วัน ในขณะที่ BBM, C medium และ Modified Chu 13 มีอัตราการเจริญสูงสุดที่น้อยกว่าคือ 1.75×10^6, 1.67×10^6 และ 1.50×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 19, 25 และ 23 วันตามลำดับ แสดงว่าธาตุไนโตรเจนที่มีอยู่ในสูตรอาหารไม่มีความจำเป็นต่อการเจริญของสาหร่ายกลุ่มไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ เพราะในสูตรอาหารทั้ง 3 สูตรที่อัตราการเจริญเติบโตมีค่าน้อยกว่าสูตรอาหารที่ไม่มีไนโตรเจน

กรมวิชาการเกษตร

1.1.3 การศึกษาอิทธิพลในการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญภายในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

ผลการศึกษาการกระตุ้นเซลล์สาหร่ายให้มีการสะสมสารแต่ละชนิดไว้ภายในเซลล์ ด้วยการเติมโซเดียมคลอไรด์ลงในน้ำเพาะเลี้ยงหลังจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตรต่าง ๆ ในวันที่สาหร่ายมีการเจริญเติบโตสูงสุดแล้วหรือเข้าสู่ช่วงแรกของระยะพักตัว (Early stationary phase) โดยการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 0.2 และ 0.3 โมลาร์ ในสูตรอาหารที่เหมาะสมกับสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ โดยสูตรอาหาร Modified chu 13 เหมาะสมกับสาหร่าย SK-QSGMF6 และ CM01-4 ส่วนสูตรอาหาร BG-11 เหมาะสมกับสาหร่าย SK-KhY6 และ A052 และ BG-11 N Free เหมาะสมกับสาหร่าย Sm6-3 ได้ผลดังนี้

1) การกระตุ้นการสะสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์

ผลการนำชีวมวลสาหร่าย SK-QSGMF6 หลังการเพาะเลี้ยงครบ 15 วัน และสาหร่าย SK-KhY6 หลังการเพาะเลี้ยงครบ 9 วัน มาสกัดสารแคโรทีนอยด์ที่เซลล์สาหร่ายมีการสะสมไว้ก่อนการเติมเกลือ NaCl พบว่าสาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 มีปริมาณสารแคโรทีนอยด์สะสมเท่ากับ 2.62 และ 2.86 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ ภายหลังการชักนำด้วยสภาวะความเค็มของน้ำเพาะเลี้ยงจากการเติมเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และเพาะเลี้ยงต่อเนื่องอีก 15 วัน พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ สามารถกระตุ้นให้สาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ มีการสะสมแคโรทีนอยด์ภายในเซลล์ได้สูงสุด 3.45 และ 3.56 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ หรือเพิ่มขึ้นมากกว่า 31 และ 24 % ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารสกัดที่ได้ก่อนการเติมเกลือและมีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ ของแต่ละสายพันธุ์ดังตารางที่ 4 ทั้งนี้ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาณสารสกัดที่ได้ยังมากกว่า 13 และ 10 % ตามลำดับ เมื่อเทียบกับปริมาณสารที่สกัดได้จากชีวมวลสาหร่ายก่อนเติมเกลือ NaCl

ตารางที่ 4 ปริมาณสารสกัดแคโรทีนอยด์ทั้งหมดจากชีวมวลสาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 หลังการเติมเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของ NaCl	สารสกัดแคโรทีนอยด์ทั้งหมด (mg/g_{dried})	
	SK-QSGMF6	SK-KhY6
0 โมลาร์	1.89d	2.55d
0.1 โมลาร์	2.63c	2.81c
0.2 โมลาร์	2.97b	3.18b
0.3 โมลาร์	3.45a	3.56a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

2) การกระตุ้นการสะสมสารพอลิแซ็กคาไรด์

ผลการนำชีวมวลสาหร่าย A052 หลังการเพาะเลี้ยงครบ 15 วัน มาสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด (Total polysaccharides extract, TPE) ที่เซลล์สาหร่ายมีการสะสมไว้ก่อนการเติมเกลือ NaCl พบว่าสาหร่ายสายพันธุ์นี้มีปริมาณ TPE เท่ากับ 4.12 % ต่อน้ำหนักแห้ง ภายหลังการชักนำด้วยสภาวะความเค็มของน้ำเพาะเลี้ยงจากการเติมเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และเพาะเลี้ยงต่อเนื่องอีก 15 วัน พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ สามารถกระตุ้นให้สาหร่ายมีการสะสม TPE ได้สูงสุด 6.51 % ต่อน้ำหนักแห้ง ดังตารางที่ 5 และที่ระดับความเข้มข้น 0.2 และ 0.1 โมลาร์ ยังมีการสะสมสารเพิ่มขึ้น 5.02 และ 4.75 % ตามลำดับ หรือเพิ่มขึ้นมากกว่า 58 %เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับปริมาณสารที่ได้จากชีวมวลสาหร่ายก่อนเติมเกลือ

ตารางที่ 5 ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากชีวมวลสาหร่าย A052 หลังการเติมเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของ NaCl	สารพอลิแซ็กคาไรด์ (TPE, %DCW)
0 โมลาร์	4.11d
0.1 โมลาร์	4.75c
0.2 โมลาร์	5.02b
0.3 โมลาร์	6.51a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

3) การกระตุ้นการสะสมไขมัน

ผลการนำชีวมวลสาหร่าย CM01-4 หลังการเพาะเลี้ยงครบ 25 วัน มาทำการสกัดไขมันจากเซลล์สาหร่ายแบบเปียกด้วยวิธี *In-situ* acidic transesterification ก่อนการเติม NaCl พบว่าได้ปริมาณไขมันเท่ากับ 23 % โดยน้ำหนัก ภายหลังการชักนำด้วยสภาวะความเค็มของน้ำเพาะเลี้ยงจากการเติมเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ และเพาะเลี้ยงต่อเนื่องอีก 15 วัน พบว่าที่ระดับความเข้มข้น NaCl 0.2 โมลาร์ สามารถกระตุ้นให้สาหร่ายมีการสะสมไขมันไว้ภายในเซลล์ได้สูงสุด 39 % โดยน้ำหนัก ดังแสดงใน

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 6 ซึ่งมีค่าแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ รองลงมาคือกรรมวิธีที่เติม NaCl ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และที่ไม่เติม NaCl สามารถสกัดไขมันได้ 31 และ 29 % ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ปริมาณสารสกัดไขมันจากชีวมวลสาหร่าย CM01-4 หลังการเติมเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของ NaCl	สารสกัดไขมัน (%wt)
0 โมลาร์	29bc
0.1 โมลาร์	31b
0.2 โมลาร์	39a
0.3 โมลาร์	25c

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

4) การกระตุ้นการสะสมสารพอลิเมอร์ชีวภาพ

เมื่อศึกษาการกระตุ้นการเพิ่มพอลิเมอร์ชีวภาพในสาหร่ายสายพันธุ์ SM6-3 หลังจากเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร BG-11 N-Free เป็นเวลา 15 วัน โดยการเติมเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตลดลงจนไม่สามารถเก็บผลการทดลองได้ที่ระยะเวลา 15 วัน จึงได้ลดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเป็น 10 วัน หลังการเติมเกลือ ผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของ NaCl 0.1 โมลาร์ สาหร่ายมีการเจริญเติบโตต่อเนื่องได้ดีกว่าความเข้มข้นอื่น ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 วัน สามารถสกัดสารพอลิเมอร์ชีวภาพได้ปริมาณสูงสุดที่ 1.62 % โดยน้ำหนักสด ดังตารางที่ 7 ซึ่งสูงกว่าปริมาณที่สกัดได้จากชีวมวลสาหร่ายก่อนการเติม NaCl ที่สามารถสกัดได้เพียง 1.13 % โดยน้ำหนักสด หรือเพิ่มขึ้น 43.36 % รวมทั้งมีปริมาณพอลิเมอร์ที่สูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่ได้เติม NaCl และเติมที่ความเข้มข้น 0.2 และ 0.3 โมลาร์ ที่ได้ปริมาณสารสกัด 1.50 1.23 และ 1.34 % โดยน้ำหนักสด ตามลำดับ

ตารางที่ 7 ปริมาณสารสกัดพอลิเมอร์ชีวภาพจากชีวมวลสาหร่าย SM6-3 หลังการเติมเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ระดับความเข้มข้นของ NaCl	สารสกัดพอลิเมอร์ (%wt)
0 โมลาร์	1.50b
0.1 โมลาร์	1.62a
0.2 โมลาร์	1.23d
0.3 โมลาร์	1.34c

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

1.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาด

1.2.1 รูปแบบบ่อเพาะเลี้ยงขยายขนาดแบบเปิดนอกห้องปฏิบัติการ

รูปแบบบ่อเพาะเลี้ยงแบบเปิดนอกห้องปฏิบัติการ (Raceway pond) และใบพัดมอเตอร์ (paddle wheel) ที่มีความเร็วรอบในการหมุน 30-50 rpm เพื่อให้เกิดการไหลเวียนน้ำบ่อเพื่อให้สาหร่ายได้รับแสงและอากาศอย่างสม่ำเสมอ และป้องกันการตกตะกอนของเซลล์สาหร่ายในระหว่างการเพาะเลี้ยง และเนื่องจากวัสดุผิวของบ่อซีเมนต์จะมีรูพรุนอาจทำให้การเพาะเลี้ยงเกิดการปนเปื้อนของสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์ จึงแก้ไขด้วยการเคลือบไฟเบอร์กลาสที่ผิวบ่อด้านในเพิ่มเติม พร้อมทั้งติดตั้งวัสดุคลุมบ่อชนิดโปร่งแสง (ภาพที่ 15) เพื่อหลีกเลี่ยงปริมาณน้ำฝนซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญที่เป็นอุปสรรคต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

ภาพที่ 15 บ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบเปิด (Raceway open pond)

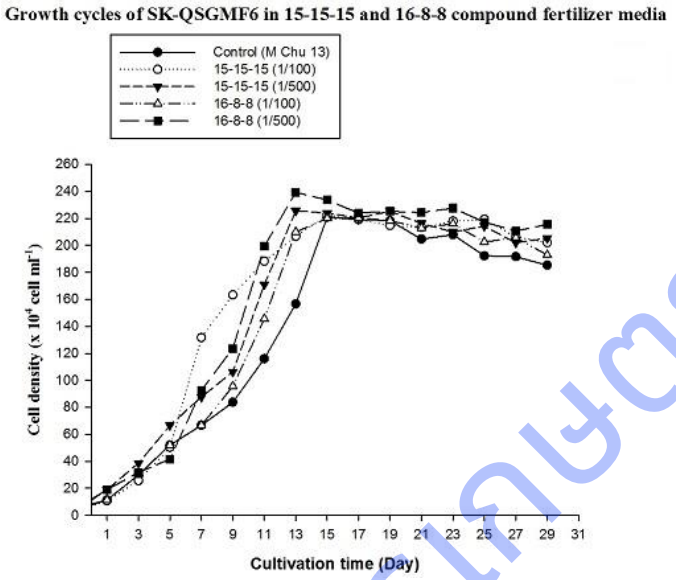
1.2.2 การพัฒนาสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการ

1) การพัฒนาสูตรอาหารจากปุ๋ยเคมีและอัตราการใช้เพื่อทดแทนสูตรอาหารมาตรฐาน

ผลการทดลองใช้ปุ๋ยเคมีทั่วไป 2 สูตร คือ 16-8-8 และ 15-15-15 เป็นอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายและปรับอัตราส่วนการให้ปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยงคือ 1/100 และ 1/500 เพื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตกับสูตรอาหารมาตรฐาน Modified Chu 13 ที่

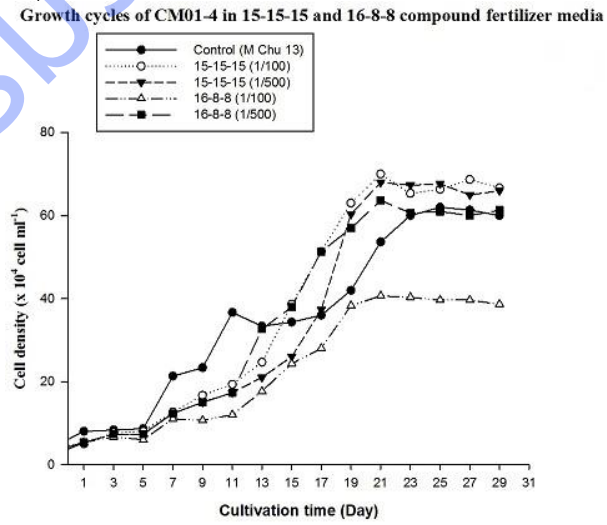
กรมวิชาการเกษตร

เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-QSGMF6 โดยหลังการเก็บตัวอย่างเพื่อติดตามการเจริญเติบโตต่อเนื่องตลอด 30 วัน ได้กราฟแสดงการเจริญเติบโตของสาหร่ายดัง ภาพที่ 16 พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารปุ๋ยสูตร 16-8-8 และสูตร 15-15-15 ที่อัตราการใช้ปุ๋ยต่อน้ำเลี้ยง 1/500 สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากันในวันที่ 13 ของการเพาะเลี้ยง สามารถตรวจนับจำนวนเซลล์ได้ 2.39x10^6 และ 2.26x10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารมาตรฐาน Modified Chu 13 พบว่าการเพาะเลี้ยงด้วยปุ๋ยทั้ง 2 สูตรในอัตราส่วนการให้ปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยง 1/500 เซลล์สาหร่ายมีการเจริญเติบโตมากกว่าในจำนวนวันของการเพาะเลี้ยงที่น้อยกกว่า



ภาพที่ 16 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย SK-QSGMF6 ด้วยสูตรอาหารปุ๋ยและอัตราส่วนการใช้

ส่วนผลการศึกษาการเจริญเติบโตกับสาหร่าย CM01-4 ด้วยกรรมวิธีเดียวกันได้กราฟแสดงการเจริญเติบโตของสาหร่ายดังภาพที่ 17 พบว่าในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยงการให้อาหารปุ๋ยสูตร 15-15-15 ทั้งอัตราการใช้ปุ๋ยต่อน้ำเลี้ยง 1/100 และ 1/500 มีค่าใกล้เคียงกันสามารถตรวจนับจำนวนเซลล์ได้ 7.0x10^5 และ 6.68 x10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารมาตรฐาน Modified Chu 13 และปุ๋ยสูตร 16-8-8 ทั้ง 2 อัตราส่วนให้ปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยง เซลล์สาหร่ายมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าในจำนวนของการเพาะเลี้ยงที่ 21 วันเท่ากัน โดยจากผลการศึกษาอัตราส่วนการให้ปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยงสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ข้างต้น จึงเลือกอัตราส่วนอัตราการใช้ปุ๋ยต่อน้ำเลี้ยง 1/500 เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการใช้ปุ๋ยเคมีสำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์อื่นต่อไป



ภาพที่ 17 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย CM01-4 ด้วยสูตรอาหารปุ๋ยและอัตราส่วนการใช้

2) การพัฒนาสูตรอาหารจากปุ๋ยเคมีที่เหมาะสมการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็กอัตราส่วนอัตราการใช้ปุ๋ยต่อน้ำเลี้ยง 1/500

กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองจากการใช้ปุ๋ยเคมี 2 สูตร คือ 16-8-8 และ 15-15-15 ด้วยอัตราส่วนการใช้ปุ๋ยต่อน้ำเลี้ยง 1/500 มาศึกษาการเพาะเลี้ยงกับสาหร่าย SK-KhY6 และ A052 เพื่อเปรียบเทียบค่าการเจริญเติบโตกับสูตรอาหารมาตรฐาน BG-11 ที่เหมาะสมกับสาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 2 สายพันธุ์นี้ โดยผลการเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 8) พบว่าการใช้ปุ๋ยเคมี 16-8-8 ที่อัตราส่วนอัตราการใช้ปุ๋ยต่อน้ำเลี้ยง 1/500 ให้ผลการเจริญเติบโตได้ดีทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยสาหร่าย SK-KhY6 เซลล์มีค่าการเจริญเติบโตของเซลล์สูงสุดสามารถตรวจนับเซลล์สาหร่ายได้ $1.26x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร หลังทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 11 วัน ในขณะที่สาหร่าย A052 มีการเจริญเติบโตสูงที่สุดเช่นเดียวกัน คือ $2.54x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร หลังทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 17 วัน

ตารางที่ 8 ผลการเจริญเติบโตของสาหร่าย SK-KhY6 และ A052 ที่เพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร BG-11 ปุ๋ย 16-8-8 และ 15-15-15

สายพันธุ์สาหร่าย	สูตรอาหารเพาะเลี้ยง	จำนวนวันเพาะเลี้ยง	ความหนาแน่นเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)
SK-KhY6	BG-11	9	$1.29x10^6$a
	16-8-8	13	$1.26x10^6$a
	15-15-15	15	$1.05x10^6$b
A052	BG-11	15	$1.28x10^6$a
	16-8-8	17	$1.24x10^6$a
	15-15-15	17	$0.98x10^6$b

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไอโซเลท SM6-3 (ตารางที่ 9) ด้วยการใช้สูตรอาหารจากปุ๋ยเคมีทั้งหมด 4 สูตร ได้แก่ 12-6-30, 15-15-15, 8-24-24 และ 12-24-12 เปรียบเทียบกับสูตรอาหารมาตรฐาน BG-11 N Free ที่เหมาะสมกับสาหร่ายสายพันธุ์นี้ โดยใช้ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 15 วัน ซึ่งผลของการให้อาหารปุ๋ยแต่ละสูตรได้ปริมาณเซลล์สาหร่ายสดไม่แตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) อยู่ในช่วง 5.45-6.19 กรัมต่อลิตร โดยที่การเพาะเลี้ยงด้วยปุ๋ย 8-24-24 ให้ผลผลิตสาหร่ายสดสูงสุดเท่ากับ 6.19 กรัมต่อลิตร และจากการสกัดสารโพลิเมอร์ชีวภาพจากสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี 3 สูตร ได้แก่ 8-24-24, 12-6-30 และ BG-11 N Free ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) อยู่ในช่วง 1.46-1.84 %wt. ดังนั้นจึงเลือกการเพาะเลี้ยงอาหารปุ๋ย 8-24-24 เพราะให้ผลผลิตสาหร่ายสดสูงสุดเท่ากับ 6.19 กรัมต่อลิตร และได้สารพอลิเมอร์ชีวภาพสูงสุด 1.84 %wt. ไปทดลองในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 9 ปริมาณสาหร่าย Sm6-3 และสารสกัดพอลิเมอร์ชีวภาพ จากแต่ละสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 15 วัน

สูตรอาหาร	ชีวมวลสดสาหร่ายสด (กรัม/ลิตร)	สารสกัดพอลิเมอร์ชีวภาพ (%wt.)
BG-11 N Free	3.62b	1.46ab
15-15-15	5.45a	0.97b
12-24-12	5.47a	0.88b
12-6-30	6.01a	1.50ab
8-24-24	6.19a	1.84a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

1.2.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาดแบบบ่อเปิด (Open raceway pond)

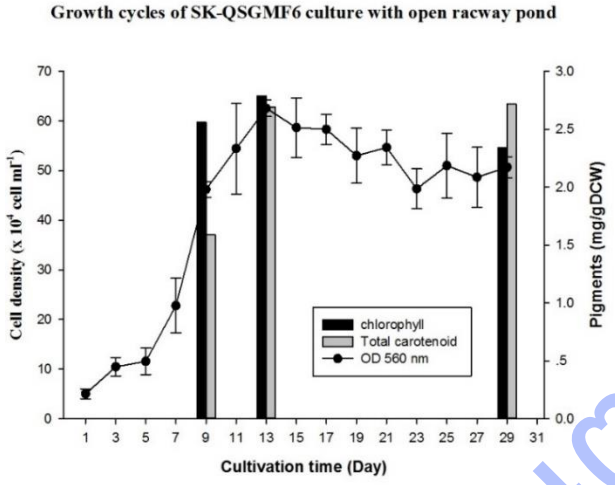
จากผลการเพาะเลี้ยงด้วยการให้อาหารปุ๋ยต่อน้ำเพาะเลี้ยง 1 ต่อ 500 และใช้หัวเชื้อสาหร่ายเริ่มต้นที่ระดับค่าความขุ่น 0.3 ปริมาณการใช้ 1 เปอร์เซ็นต์ ต่อปริมาตรน้ำเพาะเลี้ยง 100 ลิตร ในบ่อเพาะเลี้ยงแบบเปิดขนาด 500 ลิตร โดยตลอดระยะเวลาในการศึกษาในครั้งนี้ มีปริมาณความเข้มของแสงแดดอยู่ในช่วง 10-17 klx และอุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ในช่วง 28-37 องศาเซลเซียส เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของสาหร่ายระหว่างสูตรมาตรฐานและปุ๋ยเคมีสูตรที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยง ดังนี้

1) ผลการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-QSGMF6 เพื่อผลิตสารคลอโรฟิลด์และสารแคโรทีนอยด์

เนื่องจากสารสีคลอโรฟิลล์จะเป็นลักษณะสีของเซลล์สารสาหร่ายโดยปกติและสารแคโรทีนอยด์จะมีการสะสมในระหว่างการเจริญเติบโต 3 ช่วงระยะ คือระยะเพิ่มจำนวน (log phase), ระยะเริ่มคงที่หรือหลังการเพิ่มจำนวน (late log phase) และระยะสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง (late stationary phase) โดยผลการเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหาร Modified Chu 13 พบว่าสาหร่ายมีอัตราการเจริญที่สูงที่สุดในวันที่ 13 ของการเพาะเลี้ยง มีความหนาแน่นของเซลล์ $6.26x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และได้ผลผลิตชีวมวล 2.05 กรัมต่อลิตร ซึ่งในระหว่างการเพาะเลี้ยงได้วิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ตามวิธีการของ Porra (2002) พบว่าเมื่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายอยู่ในระยะ log phase และ late log phase เซลล์จะมีสีเขียวเข้มมีค่าปริมาณคลอโรฟิลด์ 2.56 และ 2.79 mg/g_{dried} ตามลำดับ ในขณะที่ระยะ late stationary phase มีปริมาณเพียงคลอโรฟิลด์ 2.34 mg/g_{dried} (ภาพที่ 18) ดังนั้นในการเพาเลี้ยง

ศูนย์วิทยทรัพยากร

สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อการผลิตสารคลอโรฟิลล์สามารถทำการเก็บชีวมวลสาหร่ายได้ภายในวันที่ 13 ของการเพาะเลี้ยง และจากการหาปริมาณแคโรทีนอยด์ (ดัดแปลงจากวิธีของ de Quiros and Costa, 2006) ในระหว่างการเพาะเลี้ยงสาหร่ายชุดเดียวกัน โดยพบว่าในระยะ log phase มีปริมาณแคโรทีนอยด์ 1.59 mg/g_{dried} ส่วนในระยะ late log phase และระยะ late stationary phase มีปริมาณแคโรทีนอยด์ 2.69 และ 2.72 mg/g_{dried}



ภาพที่ 18 อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย SK-QSGMF6 โดยใช้อาหาร Modified Chu 13

ส่วนการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารปุ๋ยสูตร 16-8-8 จะเน้นไปในการสะสมสารแคโรทีนอยด์หรือสารออกฤทธิ์ชีวภาพ ผลการทดลองพบว่าสาหร่ายสายพันธุ์ SK-QSGMF6 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดที่ 7.12 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จึงทำการชักนำให้เซลล์สาหร่ายด้วยการเติมโซเดียมคลอไรด์ให้มีความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงต่อเนื่องอีก 15 วัน หลังการเก็บเกี่ยวได้อัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.95 กรัมต่อลิตร สามารถสกัดสารจากเซลล์สาหร่ายได้ปริมาณสารแคโรทีนอยด์สูงสุด 5.20 mg/g_{dried}

2) การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไอโซเลท SK-KhY6 ด้วยสูตรอาหารปุ๋ย 16-8-8 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดที่ 5.37 x 105 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ได้อัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.75 กรัมต่อลิตร และเลี้ยงต่อเนื่องหลังเติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ อีก 15 วัน หลังการเก็บเกี่ยวได้อัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.75 กรัมต่อลิตร ได้ปริมาณสารแคโรทีนอยด์สูงสุด 4.28 mg/gdried

3) การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไอโซเลท A052 ด้วยสูตรอาหารปุ๋ย 16-8-8 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 17 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดที่ 7.03x105 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงหลังชักนำด้วยโซเดียมคลอไรด์ 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 15 วัน หลังการเก็บเกี่ยวได้อัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.69 กรัมต่อลิตร ทำการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (total polysaccharides extract, TPE) ได้สูงสุด 3.97 %wt.

4) การเพาะเลี้ยงสาหร่าย CM01-4 ด้วยสูตรอาหารปุ๋ย 15-15-อัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 20 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดที่ 6.76x105 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นจึงทำการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญด้วยการเติมโซเดียมคลอไรด์ลงในน้ำเพาะเลี้ยงให้มีความเข้มข้น 0.2 โมลาร์และเพาะเลี้ยงต่อเนื่อง 10 วัน หลังการเก็บเกี่ยวได้อัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.05 กรัมต่อลิตร มีการสะสมไขมันไว้ภายในเซลล์ได้สูงสุด 5.65 %wt.

5) การเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sm6-3 ด้วยสูตรอาหารจากปุ๋ยเคมี 8-24-24 ทำการเพาะเลี้ยงจนสาหร่ายเจริญเข้าสู่ช่วงแรกของระยะพักตัว (Early stationary phase) ใช้ระยะเวลาเพาะเลี้ยง 15 วัน หลังการกระตุ้นด้วยการเติมโซเดียมคลอไรด์ 0.1 โมลาร์ และเพาะเลี้ยงต่อเนื่อง 10 วัน หลังการเก็บเกี่ยวได้อัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.22 กรัมต่อลิตร และผลการสกัดสารโพลิเมอร์ชีวภาพได้ 0.33 % โดยน้ำหนักสด

กิจกรรมที่ 2 การใช้ประโยชน์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.1 การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำหรับผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.1.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก (Biomass production)

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6) ในบ่อเปิด ด้วยอาหารปุ๋ยสูตร 16-8-8 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 15 ของการเพาะเลี้ยง (Early stationary phase) โดยมีความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดที่ 7.12 x 10^5 เซลล์

กรมวิชาการเกษตร

ต่อมิลลิลิตร หลังการชักนำด้วยการเติมโซเดียมคลอไรด์ 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 15 วัน เก็บเกี่ยวได้อัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.95 กรัมต่อลิตร และเมื่อนำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลแดง

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสายพันธุ์ *Coelastrum* sp. (SK-KhY6) ในบ่อเปิด ด้วยสูตรอาหารปุ๋ย 16-8-8 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดในวันที่ 15 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีความหนาแน่นของเซลล์สูงสุดที่ 5.37 x 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร หลังการชักนำด้วยการเติมโซเดียมคลอไรด์ 0.3 โมลาร์ เป็นเวลา 15 วัน หลังการเก็บเกี่ยวได้อัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.75 กรัมต่อลิตร และเมื่อนำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีลักษณะเป็นสีเขียวเข้มออกน้ำตาล

2.1.2 การผลิตสารสำคัญที่มีมูลค่าสูงจากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

ผลการสกัดด้วยเทคนิค Supercritical fluid extraction (SFE) ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลายภายใต้สภาวะวิกฤติยิ่งยวด ที่ความดัน 300 400 และ 500 บาร์ ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ปริมาณแคโรทีนอยด์ (มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง) จากสาหร่าย SK-QSGMF6 ที่สกัดด้วยเทคนิค SFE

อุณหภูมิ (°C)	ความดัน (Bar)		
	300	400	500
40	2.89d	2.84d	3.28c
50	3.37c	3.55c	3.97b
60	3.15cd	4.21b	5.20a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

หลังการสกัดด้วยเทคนิค SFE ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลายภายใต้สภาวะวิกฤติยิ่งยวด พบว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 40 50 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยในแต่ละอุณหภูมิศึกษาผลของความดันในการสกัดที่ 300 400 และ 500 บาร์ พบว่าการสกัดที่ความดัน 500 บาร์ ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงกว่าที่ 300 และ 400 บาร์ โดยได้สารสกัดคือ 3.28-5.2 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง สารสกัดที่ได้มีสีเหลืองเข้มไปทางน้ำตาล และเมื่อเทียบกับการสกัดของ ประยูรและคณะ (2558) ซึ่งใช้ตัวทำละลาย Dimethyl Sulfoxide (DMSO) ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟ ที่กำลังไฟฟ้า 50 วัตต์ เวลา 5 นาที และสกัดด้วยซอกเลทที่ระยะเวลา 60 นาที เมื่อแยกสารให้บริสุทธิ์แล้วได้สารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์ 2.72 และ 2.45 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ ซึ่งการสกัดด้วย SFE ที่ความดัน 500 บาร์ ได้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงกว่าการใช้ตัวทำละลาย DMSO ร่วมกับการใช้คลื่นไมโครเวฟและซอกเลท การสกัดด้วย SFE ได้สารสกัดที่เป็นแคโรทีนอยด์บริสุทธิ์ เทคนิคที่ต้องใช้ตัวทำละลายจะต้องผ่านการแยกสารให้บริสุทธิ์ซึ่งใช้เวลานานและยุ่งยากกว่า เทคนิค SFE จึงได้เปรียบวิธีการอื่นเพราะสามารถสกัดสารได้ง่าย มีปริมาณและความบริสุทธิ์สูง สามารถนำสารสกัดไปประยุกต์ใช้ได้ทั้งในอาหาร และผลิตภัณฑ์บำรุงผิว ดังนั้นจึงเลือกการสกัดด้วย SFE ที่ความดัน 500 บาร์ ในการสกัดสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ จากนั้นแปรระดับอุณหภูมิในการสกัดเป็น 3 ระดับ คือ 40 50 และ 60 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์ โดยวิเคราะห์หาองค์ประกอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้ เพื่อศึกษาอิทธิพลของการใช้อุณหภูมิในการสกัดต่อปริมาณสารสำคัญที่ได้ โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography - Mass Spectrometry (HPLC-MS) พบว่าปริมาณสารสำคัญสูงสุดในสารสกัดแคโรทีนอยด์ประกอบด้วย เบต้าแคโรทีน (Beta-carotene) ลูทีน (Lutein) ซีแซนธิน (Zeaxanthin) และ แอสตาแซนธิน (Astaxanthin) ดังตารางที่ 11 โดยได้ปริมาณแอสตราแซนธินสูงสุดเท่ากับ 265.77 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสารสกัด คิดเป็น 0.027 % เมื่อสกัดในขณะที่สาหร่ายมีสีเขียวที่อุณหภูมิสกัด 40 องศาเซลเซียส แต่ปริมาณสารสำคัญแต่ละชนิดจะมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้น

ตารางที่ 11 ปริมาณสารสำคัญ (มก./กก. สารสกัด) ของสารแคโรทีนอยด์ที่สกัดจากสาหร่าย SK-QSGMF6 สกัดด้วยเทคนิค SFE

สารแคโรทีนอยด์	อุณหภูมิในการสกัด (°C) ที่ความดัน 500 บาร์		
	40	50	60
เบต้าแคโรทีน	132.44	107.77	92.60
ลูทีน	178.01	134.16	131.88
ซีแซนธิน	252.84	212.84	188.32
แอสตาแซนธิน	265.77	205.14	202.33

เมื่อคำนวณเป็นปริมาณแอสตราแซนธินที่ผลิตได้ในแต่ละสภาวะของการสกัด แม้ว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จะสกัดแอสตาแซนธินได้สูงถึง 265.77 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสารสกัด แต่ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้ คือ 3.28 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง คิดเป็นปริมาณแอสตาแซนธินทั้งหมด 0.872 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ในขณะที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สกัด

กรมวิทยาศาสตร์

แอสตาแซนธินได้ต่ำกว่าคือ 202.33 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสารสกัด และได้ปริมาณแคโรทีนอยด์ 5.2 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง คิดเป็นปริมาณแอสตาแซนธินทั้งหมด 1.052 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ดังนั้นการสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจึงได้ปริมาณแอสตาแซนธินในการสกัดแต่ละครั้งสูงกว่า จึงเลือกการสกัดด้วย SFE ที่ความดัน 500 บาร์ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในการสกัดสารสำคัญกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อทำการทดลองต่อไป

ผลการสกัดที่ความดัน 500 บาร์ โดยใช้อุณหภูมิในการสกัด 40 50 และ 60 องศาเซลเซียส กับสาหร่าย SK-KhY6 ด้วยเทคนิค SFE โดยเลือกใช้ความดัน 500 บาร์ ซึ่งเป็นสภาวะเดียวกับสาหร่าย SK-QSGMF6 แสดงดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากสาหร่าย SK-KhY6 ด้วยเทคนิค SFE ความดัน 500 บาร์

อุณหภูมิ (°C)	ปริมาณแคโรทีนอยด์	ปริมาณสารประกอบแคโรทีนอยด์ (mg/g $_{\text{dried solid}}$)				
	(mg/g $_{\text{dried solid}}$)	เบต้าแคโรทีน	ไลโคปีน	ลูทีน	ซีแซนธิน	แอสตาแซนธิน
40	2.38	30.56	44.24	24.32	118.67	54.23
50	3.60	34.24	24.76	88.32	106.77	88.37
60	4.28	27.74	32.77	84.47	266.37	137.22

จากสภาวะการสกัดแคโรทีนอยด์จากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กด้วยเทคนิค SFE ที่ความดัน 500 บาร์ พบว่าที่สภาวะอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สามารถสกัดแคโรทีนอยด์ได้ปริมาณสูงสุดเท่ากับ 4.28 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้มีปริมาณสารสำคัญประกอบด้วย เบต้าแคโรทีน ไลโคปีน ลูทีน ซีแซนธิน และแอสตาแซนธิน โดยได้ปริมาณซีแซนธิน สูงสุดเท่ากับ 266.37 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสารสกัด และแอสตราแซนธิน สูงสุดเท่ากับ 137.22 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสารสกัด นอกจากนี้ยังพบไลโคปีน 32.77 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสารสกัด ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระที่สำคัญด้วย จึงเลือกใช้การสกัดด้วย SFE ที่ความดัน 500 บาร์ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในการสกัดสารสำคัญเพื่อทำการทดลองต่อไป

2.1.3 การศึกษาการออกฤทธิ์ของสารสำคัญที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก

1) ศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีววิทยาเบื้องต้นหรือฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

นำสารสกัดในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่ได้ไปศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยการวิเคราะห์ค่าความสามารถในการเป็นสารต้านการออกซิเดชัน (antioxidant) โดยใช้วิธี DPPH assay พบว่าสาหร่าย SK-QSGMF6 มีค่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ IC_{50} = 0.01035 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสาหร่าย SK-KhY6 มีค่า IC_{50} = 0.01364 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสาหร่าย SK-QSGMF6 มีค่าความสามารถในการเป็นสารต้านการออกซิเดชันสูงกว่า SK-KhY6 เล็กน้อย สาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ยังมีค่าความสามารถในการเป็นสารต้านการออกซิเดชันสูงกว่าวิตามินซี ที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน มีค่า IC_{50} = 0.02315 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง จึงเหมาะที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อไป

2) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลอง

นำสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย SK-QSGMF6 ที่สกัดได้จาก SFE ละลายในตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรเอทานอล ศึกษาฤทธิ์การต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลอง โดยฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลองของสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย SK-QSGMF6 มีค่า IC_{50} = 16.706 mg/ml โดยใช้กรดโคจิกเป็นสารละลายมาตรฐาน มีค่า IC_{50} = 0.187 mg/ml ซึ่งสารสกัดกลุ่มแคโรมีนอยด์จากสาหร่าย SK-QSGMF6 แม้มีฤทธิ์การต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสในหลอดทดลองน้อยกว่ากรดโคจิก แต่ยังมีฤทธิ์การต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ดี โดยเมื่อเทียบกับสารสกัดมะเม่ามีค่า IC_{50} = 0.65 mg/ml ซึ่งกรดโคจิก มีค่า IC_{50} = 0.029 mg/ml (ประไพพิศ, 2561)

2.1.4 การศึกษาการนำสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

1) ศึกษาการประยุกต์ใช้สารสำคัญที่สกัดจากสาหร่ายในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว

โดยเลือกใช้สารสกัดจากสาหร่ายสายพันธุ์ SK-QSGMF6 ซึ่งมีปริมาณแอสตาแซนธินในปริมาณสูง จึงเหมาะกับการนำมาผลิตเซรั่มบำรุงผิวหน้า เนื่องจากคุณสมบัติในการลดเลือนริ้วรอยได้ทั้งริ้วรอยลึกและตื้น ลดจุดด่างดำ ทำให้ผิวเรียบเนียนเต่งตึงและผิวกระชับ ให้ความชุ่มชื่นแก่ผิว นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่มีส่วนช่วยกระตุ้นการผลิตเม็ดสีด้วย โดยนำเซรั่มบำรุงผิวสูตรพื้นฐานทั่วไปมาประยุกต์ เนื่องจากเบสเซรั่มมีค่าความเป็นกรดด่าง 6.0 จึงไม่เหมาะกับผิว ซึ่งค่าความเป็นกรดด่าง ที่เหมาะกับผิวคือ 3.5-5.5 จึงปรับลักษณะของเซรั่ม และเติมสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กที่ละลายในน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์ที่ความเข้มข้น 2% เนื่องจากแคโรทีนอยด์จาก SK-QSGMF6 สามารถละลายได้ดีในน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์ เมื่อวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ด้านสี และความเป็นกรดด่างของสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์ในน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์ความเข้มข้น 2% พบว่า มีค่าความสว่าง (L*) 27.82 ค่าความเป็นสีแดง (+a*) 3.20 และค่าความเป็นสีน้ำเงิน (-b*) -3.02 สาร

กรมวิทยาศาสตร์

สกัดสาหร่ายในน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์จึงมีสีน้ำตาลเข้มออกแดง มีค่าความเป็นกรดด่าง 5.68 อัตราการเติมสารสกัดในน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์คือ 1% ผลิตเซรั่มบำรุงผิวผสมสารสกัดจากสาหร่ายตามกรรมวิธี จากนั้นวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของเซรั่มทั้ง 9 กรรมวิธี ได้แก่ ค่าสี ความเป็นกรดด่าง ความหนืด และวิเคราะห์ค่าความคงตัวของเซรั่มโดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4000 รอบ/นาที ระยะเวลา 15 นาที เพื่อดูความคงตัวของเนื้อเซรั่ม

ตารางที่ 13 สมบัติเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวจากสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก

กรรมวิธี	รหัสตัวอย่าง	ค่าสี			pH	ความหนืด (cP)	ความคงตัว*
		L*	a*	b*			
1	Serum base	30.40a	4.71b	-5.66	6.03b	60.50e	√
2	H0.6T2	28.14ab	5.44ab	-6.24	5.17a	16.67a	x
3	H0.6T4	28.69ab	5.17b	-5.93	5.29a	18.03a	x
4	H0.8T2	29.76a	5.88a	-5.67	5.12a	23.40b	x
5	H0.8T4	27.98b	5.31b	-6.27	5.25a	40.47c	x
6	H1.0T2	27.87b	5.28b	-6.45	5.09a	39.28c	x
7	H1.0T4	27.60b	5.44ab	-6.38	5.23a	51.37d	√
8	H1.2T2	27.00b	5.50ab	-6.70	5.11a	62.33e	√
9	H1.2T4	27.19b	5.47ab	-6.43	5.21a	77.63f	√

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

* เครื่องหมาย √ แสดงถึงความคงตัวของเซรั่มบำรุงผิว และเครื่องหมาย x แสดงถึงเซรั่มมีการแยกชั้น ไม่มีความคงตัว

จากตารางที่ 13 ลักษณะเซรั่มบำรุงผิวที่ได้เป็นของเหลวสีเหลืองอ่อนจากสีของสารสกัดดังภาพที่ 19 มีความหนืดที่แตกต่างกันไปตามกรรมวิธี ค่าความเป็นกรดด่าง ของเซรั่มบำรุงผิวอยู่ในช่วง 5.09 – 5.29 ซึ่งเป็นค่าความเป็นกรดด่าง ที่เหมาะกับผิวหนังซึ่งอยู่ในช่วง 3.5 - 5.5 (กองเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย, 2551) โดยค่าความเป็นกรดด่าง ที่เหมาะสมจะช่วยรักษาความอ่อนนุ่มชุ่มชื่นให้ผิว ลดปัญหาหน้ามัน ปกป้องผิวจากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา สาเหตุของการเกิดสิว หากค่าความเป็นกรดด่างสูงเกินไปทำให้เกราะปกป้องผิวตามธรรมชาติจะถูกทำลาย สูญเสียน้ำและผิวแห้งเสีย เพราะชั้นผิวที่ปกคลุมด้านนอกไม่สามารถทำงานเป็นเกราะปกป้องผิวได้ ทำให้ผิวบอบบาง แพ้ง่าย

การทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที พบว่า กรรมวิธี 2-6 มีการแยกชั้นของสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์ออกเป็นหยดเล็กๆ กระจายในเนื้อเซรั่ม จึงคัดเลือกกรรมวิธีที่มีความคงตัวหลังการปั่นเหวี่ยง ได้แก่กรรมวิธี 7-9 เพื่อทดสอบความชอบด้านประสาทสัมผัสหลังการทาเซรั่ม เพื่อคัดเลือกสูตรและความหนืดที่เหมาะสมต่อไป

ภาพที่ 19 เซรั่มผสมสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสารสกัดขนาดเล็ก

การทดสอบความชอบทางด้านประสาทสัมผัส ด้วย 7-point hedonic scale โดยนำผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว ทดสอบความชอบด้านประสาทสัมผัสหลังการทาเซรั่ม ได้แก่ สี ความหนืด การซึมสู่ผิว ความเหนียว กลิ่นหลังทา และความชุ่มชื่นหลังทา โดยผู้ทดสอบจำนวน 27 คน โดยให้ผู้ทดสอบแบ่งท้องแขนเป็น 3 ช่อง และทาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวแต่ละกรรมวิธีลงในช่องที่แบ่งไว้ที่ใต้ท้องแขน และให้คะแนนความชอบในด้านต่าง ๆ ที่ระดับคะแนน 1-7 คะแนน และให้ผู้ทดสอบเลือกสูตรที่ชอบที่สุดจำนวน 1 สูตร ทำการคัดเลือกสูตรกรรมวิธีที่ได้คะแนนความชอบสูงสุด และเป็นที่นิยมของผู้ทดสอบมากที่สุด

กรมวิทยาศาสตร์

ตารางที่ 14 ผลการทดสอบความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวจากสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก

กรรมวิธี	ตัวอย่าง	สี	ความหนืด	การซึมสู่ผิว	ความเหนอะหนะ	กลิ่น	ความชุ่มชื่น	ความพึงพอใจ (%)
7	H1.0T4	4.74 c	3.81 c	3.89 c	3.59 c	3.78 a	4.19 b	14.8
8	H1.2T2	4.89 b	4.44 a	4.41 a	3.96 b	3.67 b	4.67 a	63.0
9	H1.2T4	5.07 a	4.08 b	4.11 b	4.04 a	3.78 a	4.19 b	22.2

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

จากผลการทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัสในตารางที่ 14 โดยการให้คะแนนความชอบในด้านต่าง ๆ ที่ระดับคะแนนความชอบ 1-7 คะแนน และให้ผู้ทดสอบเลือกกรรมวิธีที่ชอบมากที่สุดจำนวน 1 สูตร พบว่า กรรมวิธีที่ 8 H1.2T2 เป็นที่ชื่นชอบมากที่สุด โดยมีผู้ทดสอบเลือกกรรมวิธีที่ 8 เป็นที่ชื่นชอบมากที่สุดจำนวน 63% มีคะแนนความชอบด้านสี 4.89 คะแนน ความหนืด 4.44 คะแนน การซึมสู่ผิว 4.41 คะแนน ความเหนอะหนะ 3.96 คะแนน กลิ่น 3.67 คะแนน และความชุ่มชื่นหลังทา 4.67 คะแนน จะเห็นได้ว่าความชอบด้านกลิ่นมีค่าน้อยที่สุด เนื่องจากสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์มีกลิ่นฉุน

ศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวที่ระยะเวลา 3 เดือน โดยวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพทุกเดือน วิเคราะห์ ค่าสี ค่าความเป็นกรดด่าง ค่าความหนืด ดังตารางที่ 15 พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นเซรั่มบำรุงผิวจะมีค่าความสว่าง (L*) สูงขึ้น ค่าความเป็นสีน้ำเงิน (-b*) และค่าความเป็นสีแดง (+a*) มีค่าไม่เปลี่ยนแปลง ทำให้เซรั่มมีสีดูซีดลง เนื่องจากการเก็บรักษานี้ต้องการเห็นความเปลี่ยนแปลงของเซรั่มจึงเก็บในขวดแก้วใส ซึ่งได้รับแสงและความร้อนจากอุณภูมิห้องปกติ ทำให้สีเปลี่ยนไป ซึ่งการเก็บรักษาเซรั่มบำรุงผิวควรเก็บในบรรจุภัณฑ์ป้องกันแสงเพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยากับความร้อนและแสงแดด สำหรับค่าความเป็นกรดด่างของเซรั่มเมื่อระยะการเก็บนานขึ้น เซรั่มมีค่าความเป็นกรดมากขึ้น เมื่อเก็บรักษานานขึ้นที่ระยะเวลา 9 เดือน เซรั่มบำรุงผิวยังคงมีสมบัติที่ดี คือ มีค่าความสว่าง (L*) 28.35 ค่าความเป็นสีแดง (+a*) 3.64 และค่าความเป็นสีน้ำเงิน (-b*) 3.95 ค่าความเป็นกรดด่าง 3.98 ยังอยู่ในช่วงที่สามารถใช้กับผิวหน้าได้และยังอยู่ในลักษณะปกติไม่มีการแยกชั้น จากผลของข้อมูลการเก็บรักษาที่ได้สามารถสรุปได้ว่าเซรั่มบำรุงผิวที่ผสมสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็กมีอายุการเก็บรักษาอย่างน้อย 9 เดือน

ตารางที่ 15 ผลการเก็บรักษาเซรั่มผสมสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสหร่ายขนาดเล็ก

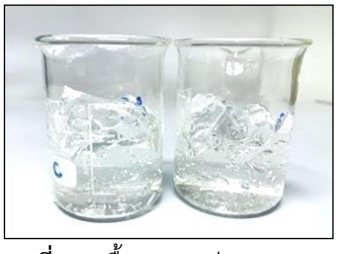
ตัวอย่าง	ระยะเวลา (เดือน)	ค่าสี			ค่า pH	ความหนืด (cP)
		L*	a*	b*		
กรรมวิธีที่ 8	0	26.90c	3.54	-4.09	4.59a	95.16
H1.2T2	1	26.73c	3.76	-4.29	4.16b	94.36
	2	27.36b	3.60	-4.23	4.05b	94.47
	3	28.01a	3.75	-4.41	3.87b	94.69

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

2) ศึกษาการประยุกต์ใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสกัดจากสาหร่ายในผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า

โดยเลือกใช้สารสกัดจากสาหร่ายสายพันธุ์ *Coelastrum* sp. (SK-KhY6) ซึ่งนอกจากจะมีแอสตาแซนธินแล้วยังมีไลโคปีนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งไลโคปีนมีสมบัติช่วยลดการอักเสบของผิวหนัง ลดผื่นแดง ทำให้ผิวแข็งแรงขึ้น ไม่แพ้ง่าย ผิวเรียบเนียน และเปล่งปลั่ง ช่วยในการสร้างเซลล์ผิวใหม่แทนผิวหนังชั้นเดิมที่เสื่อมแล้ว (มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, 2564) จึงเหมาะกับการประยุกต์ใช้ในแผ่นมาส์กหน้า เพื่อลดการอักเสบและลดผื่นแดงของผิวหน้าอย่างรวดเร็ว

นำสารสกัดที่ได้จากสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Coelastrum* sp. (SK-KhY6) มาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า โดยใช้เบสเจลว่านหางจระเข้ตามวิธีปฏิบัติเป็นเนื้อน้ำเคลือบแผ่นมาส์กหน้าดังภาพที่ 20



ภาพที่ 20 เนื้อเบสเจลว่านหางจระเข้

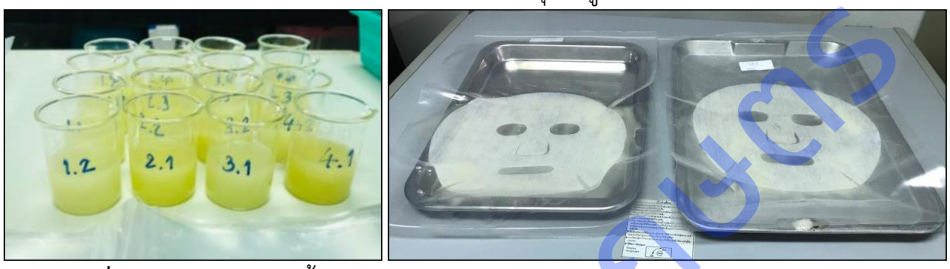
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัย

สมบัติเบื้องต้นของสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำมันหอมระเหยกุหลาบ

เมื่อนำสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กมาละลายในน้ำมันหอมระเหยกลิ่นกุหลาบที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักแล้วพบว่า มีสีน้ำตาลเข้มออกแดงเล็กน้อย มีค่าความสว่าง (L*) อยู่ที่ 27.18 ค่าความเป็นสีแดง (+a*) อยู่ที่ 4.35 และค่าความเป็นสีเหลือง (+b*) อยู่ที่ 0.93 มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ที่ 6.46 เมื่อทดสอบสมบัติทางกายภาพของเบสว่านหางจระเข้ พบว่า มีลักษณะใสและหนืด มีค่าสี ดังนี้ ค่าความสว่าง (L*) 27.24 ค่าความเป็นสีแดง (+a*) 3.05 ค่าความเป็นน้ำเงิน (-b*) -2.92 และค่าความเป็นกรดด่าง 8.24 ซึ่งมีความเป็นด่างสูงไปไม่เหมาะกับผิวหน้า จึงต้องพิจารณาการปรับกรดให้อยู่ในช่วงที่เหมาะกับผิวหน้า

สมบัติของแผ่นมาส์กหน้าเคลือบสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก

เตรียมเนื้อเจลสำหรับผลิตแผ่นมาส์กหน้าที่เติมสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กในน้ำมันหอมระเหยกุหลาบความเข้มข้น 5 % ได้เนื้อเจลมาส์กหน้ามีลักษณะเป็นเจลสีเหลืองสว่าง จากนั้นเตรียมแผ่นมาส์กหน้าใส่ลงในถุงอลูมิเนียม เติมเจลมาส์กหน้าผสมสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็กลงในถุง จำนวน 30 กรัม ค่อยๆ เกลี่ยเนื้อเจลให้เต็มแผ่นมาส์กหน้า ทิ้งไว้ 1 คืน เพื่อให้เนื้อเจลซึมลงสู่แผ่นมาส์กหน้าดังภาพที่ 21 การใส่เนื้อเจลเต็มแผ่นและใส่ถุงซิบล็อคใส เพื่อสังเกตุลักษณะการซึม สี และลักษณะของแผ่นมาส์กหน้า ในการเก็บรักษาพับแผ่นมาส์กหน้าและใส่ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ซีลปิดสนิทซึ่งกันแสงและออกซิเจนได้



ภาพที่ 21 (ซ้าย) ลักษณะเนื้อเจลสาหร่ายสำหรับแผ่นมาร์กหน้า (ขวา) ตัวอย่างแผ่นมาร์กหน้า

ผลการทดสอบสมบัติทางกายภาพของเนื้อเจลและลักษณะของแผ่นมาส์กหน้าจากตารางที่ 16 พบว่าทุกกรรมวิธีเนื้อเจลสามารถซึมเข้าสู่แผ่นมาส์กหน้าได้ โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ 3 และ 4 ที่มีส่วนประกอบของเบสว่านหางจระเข้มากที่สุด โดยค่าความสว่างของเนื้อเจลมีความสว่างในช่วง 30.0 – 31.77 ส่วนค่าความเป็นสีแดง (+a*) มีค่าอยู่ในช่วง 2.44 – 3.0 ซึ่งมีค่าลดลงเมื่อใส่เบสว่านหางจระเข้เพิ่มขึ้น ในส่วนค่าความเป็นสีน้ำเงิน (-b*) นั้น มีค่าในช่วง -1.71 ถึง - 2.4 โดยมีความเป็นสีน้ำเงินเพิ่มขึ้น เมื่อเติมเบสว่านหางจระเข้ที่มากขึ้นตามสูตร ค่าความเป็นกรดด่างของทุกกรรมวิธี มีค่า 5.79-6.11 แม้จะเกินค่าความเป็นกรดด่าง ที่เหมาะกับผิวหนังมากที่สุดคือ 3.5-5.5 แต่ยังคงอยู่ในมาตรฐาน มอก เอส 15-2561 คือค่าความเป็นกรดด่าง ในช่วง 3.5-7.5 เป็นค่าที่เข้ากับผิวได้

ตารางที่ 16 สมบัติของเนื้อเจลและลักษณะของแผ่นมาร์กหน้า

ตัวอย่าง	ค่าสี			ค่า pH	ความหนืด	ลักษณะแผ่นมาร์กหน้า
	L*	a*	b*		(cP)	
1	30.00b	3.00c	-2.14b	5.71a	13.68b	เนื้อเจลซึมกระจายตัวดี มีลักษณะค่อนข้างเหลว เมื่อดึงแผ่นมาร์กหน้าออกมามีน้ำเจลหยดเล็กน้อย
2	30.75ab	2.68ab	-0.92a	5.76a	14.54b	เนื้อเจลซึมกระจายตัวดี มีลักษณะค่อนข้างเหลว เมื่อดึงแผ่นมาร์กหน้าออกมามีน้ำเจลหยดเล็กน้อย
3	30.81ab	2.84bc	-1.71b	6.10b	32.03a	เนื้อเจลซึมกระจายตัวดีกว่าตัวอย่างที่ 1 และ 2 เมื่อดึงแผ่นมาร์กหน้าออกมา เจลยังคงเคลือบบนหน้ากากอย่างสม่ำเสมอ
4	31.77a	2.44a	-0.30a	6.11b	32.10a	เนื้อเจลซึมกระจายตัวดีกว่าตัวอย่างที่ 1 และ 2 เมื่อดึงแผ่นมาร์กหน้าออกมา เจลยังคงเคลือบบนหน้ากากอย่างสม่ำเสมอ

หมายเหตุ: วัดความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield โดยใช้ spindle#3 ที่ความเร็วรอบ 100 rpm

ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 20 คน เพื่อทดสอบสมบัติด้านกายภาพ ด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น ความชุ่มชื้นหลังมาส์ก ความเหนียวเหนอะหนะ การซึมสู่ผิว ความชอบโดยรวม โดยให้ผู้ทดสอบเลือกสูตรที่ชอบมากที่สุด จำนวน 1 สูตร คัดเลือกกรรมวิธีที่ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ชอบที่สุด ได้ผลดังตารางที่ 17

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

ตารางที่ 17 ผลทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของแผ่นมาร์กหน้า

กรรมวิธี	สี	การซึมสู่ผิว	ความเหนียวเหนอะหนะ	กลิ่นหลังมาร์ก	ความชุ่มชื่นหลังมาร์ก	ความชอบโดยรวม	ความพึงพอใจ (%)
1	5.62a	4.81ab	4.57a	4.33a	5.19ab	4.81b	35
2	4.95b	4.05b	4.00b	4.10b	5.24a	4.81b	5
3	**5.57a**	**5.48a**	**4.86a**	**4.38a**	**5.48a**	**5.38a**	**40**
4	5.00b	5.00a	4.48a	4.19b	4.71b	4.81b	20

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

จากการทดสอบด้านความชอบในทุกด้านของแผ่นมาส์กหน้า พบว่าผู้ทดสอบชอบกรรมวิธีที่ 3 มากที่สุดคิดเป็นจำนวน 40 % และชอบกรรมวิธีที่ 1 รองลงมาคิดเป็น 35 % ซึ่งคะแนนความชอบในด้านสี การซึมสู่ผิว ความเหนียวเหนอะหนะ กลิ่นความชุ่มชื้น ของกรรมวิธีที่ 3 และ กรรมวิธีที่ 1 มีค่าใกล้เคียงกัน แต่กรรมวิธีที่ 3 มีคะแนนความชอบโดยรวมสูงกว่า โดยความชอบด้านต่าง ๆ ของกรรมวิธีที่ 3 ดังนี้ ด้านสี การซึมสู่ผิว ความเหนอะหนะ กลิ่น ความชุ่มชื่น และความชอบโดยรวม คือ 5.57 5.48 4.86 5.48 และ 5.38 ซึ่งคะแนนความชอบโดยรวมอยู่ในช่วงชอบเล็กน้อยถึงปานกลาง ดังนั้นจึงเลือกกรรมวิธีที่ 3 เป็นกรรมวิธีในการผลิตแผ่นมาส์กหน้าผสมสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก แต่สำหรับการทดสอบผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้าจากสารสกัดขนาดเล็กนี้มีจำนวนผู้แพ้มีอาการแดงและคันเล็กน้อย จำนวน 4 คน จากผู้ทดสอบ 20 คน จึงทำการทดสอบชนิดสารที่อาจก่อให้เกิดการแพ้ได้แก่ เบสว่านหางจระเข้ กรดมาลิก น้ำมันหอมระเหยกุหลาบ และสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก โดยให้ผู้ที่เกิดอาการแพ้ทดสอบกับแผ่นมาส์กหน้า 4 สูตร คือ แผ่นมาส์กหน้าเคลือบเบสว่านหางจระเข้ แผ่นมาส์กหน้าเคลือบเบสว่านหางจระเข้ผสมกรดมาลิก แผ่นมาส์กหน้าเคลือบเบสว่านหางจระเข้ผสมน้ำมันหอมระเหยกุหลาบ และแผ่นมาส์กหน้าเคลือบเบสว่านหางจระเข้ผสมสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์ในน้ำมันหอมระเหยกุหลาบ ได้ผลการทดสอบดังนี้

ผู้ทดสอบคนที่ 1 มีอาการระคายเคืองเล็กน้อยทุกกรรมวิธี อาจเนื่องมาจากส่วนประกอบของเบสเจลว่านหางจระเข้ เช่น สารก่อเจลคาร์โบพอล ด่างไตรเอทาโนลาไมน์ หรือสารกันเสีย แต่มีอาการแพ้เป็นรอยแดงจุดเล็กๆ ในแผ่นมาส์กหน้าเคลือบเบสว่านหางจระเข้ผสมกรดมาลิกมากที่สุด ซึ่งเป็นการแพ้กรดมาลิกซึ่งเป็น AHAs มากกว่าตัวอย่างอื่นๆ

ผู้ทดสอบคนที่ 2 มีอาการแพ้ มีรอยแดงเป็นจุดเล็กๆ ในแผ่นมาส์กหน้าเคลือบเบสว่านหางจระเข้ผสมกรดมาลิกเพียงชนิดเดียว ซึ่งอาการแพ้มาจากกรดมาลิกซึ่งเป็น AHAs ตามธรรมชาติ

ผู้ทดสอบคนที่ 3 มีอาการแพ้ เป็นรอยแดง และมีจุดแดงเล็กๆ มีอาการแสบเล็กน้อย ในแผ่นมาส์กหน้าเคลือบเบสว่านหางจระเข้ผสมกรดมาลิกเพียงชนิดเดียวซึ่งอาการแพ้มาจากกรดมาลิกซึ่งเป็น AHAs ตามธรรมชาติ

ผู้ทดสอบคนที่ 4 มีอาการแพ้เป็นรอยแดงเล็กๆ ในแผ่นมาส์กหน้าเคลือบเบสว่านหางจระเข้ผสมกรดมาลิก และอาการแพ้มีรอยแดงเล็กน้อย ในแผ่นมาส์กหน้าเคลือบเบสว่านหางจระเข้ผสมสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์ในน้ำมันหอมระเหยกุหลาบ (ไม่ปรับกรดมาลิก) ซึ่งเป็นอาการแพ้ AHAs คือ กรดมาลิก และสารสกัดสาหร่ายกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

สรุปผลการทดสอบการแพ้แผ่นมาส์กชีทจากผู้ทดสอบ 20 คน มีผู้แพ้จำนวน 1 คน

ศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้าที่ระยะเวลา 3 เดือน โดยเก็บรักษามาส์กหน้าในถุงอลูมิเนียม วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพทุกเดือน โดยสุ่มวิเคราะห์ ค่าสี ค่าความเป็นกรดด่าง ดังตารางที่ 18

ตารางที่ 18 ผลการเก็บรักษาแผ่นมาส์กหน้าผสมสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก

ตัวอย่าง	ระยะเวลา (เดือน)	ค่าสี			ค่า pH
		L*	a*	b*	
กรรมวิธีที่ 3	0	30.81b	2.84	-1.71	6.10
	1	31.02b	2.91	-1.79	6.06
	2	32.17a	3.13	-2.03	5.87
	3	32.63a	3.15	-2.11	5.61

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

จากตาราง พบว่า แผ่นมาส์กหน้าจะมีค่าความสว่าง (L*) สูงขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น ค่าความเป็นสีน้ำเงิน (-b*) และค่าความเป็นสีแดง (-a*) มีค่าไม่เปลี่ยนแปลง ทำให้เซรั่มแผ่นมาส์กหน้ามีสีดูซีดลง เนื่องจากสีของสารสกัดเปลี่ยนแปลงไป สำหรับค่าความเป็นกรดด่างของแผ่นมาส์กหน้าที่ระยะเวลาเก็บ 3 เดือน ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ค่าความเป็นกรดยังอยู่ในช่วงที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สามารถใช้กับผิวหน้าได้และยังอยู่ในลักษณะปกติ ไม่มีการแยกชั้น จากผลของข้อมูลการเก็บรักษาที่ได้สามารถสรุปได้ว่าแผ่นมาส์กหน้าที่ผสมสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็กมีอายุการเก็บรักษาอย่างน้อย 3 เดือน

2.1.5 ต้นทุนการผลิตของผลิตภัณฑ์

คำนวณต้นทุนการผลิตของผลิตภัณฑ์ที่ได้ทั้ง 2 ชนิดคือ เซรั่มบำรุงผิวผสมสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก และแผ่นมาส์กหน้าผสมสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก โดยไม่คิดค่าไฟฟ้าและค่าบรรจุภัณฑ์ พบว่าผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวขนาด 300 กรัม มีต้นทุนรวม 269.30 บาท เนื่องจากใช้น้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์ซึ่งมีราคาสูง หากเปลี่ยนเป็นน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นจะทำให้เซรั่มบำรุงผิวมีราคาถูกลง สำหรับผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า จำนวน 10 แผ่น คิดเป็นปริมาณน้ำเคลือบแผ่นมาส์กหน้า 300 กรัม มีต้นทุนอยู่ที่ 127.81 บาท คิดเป็น 12.78 บาทต่อแผ่น ซึ่งเป็นราคาที่ไม่สูงเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายในปัจจุบัน (ตารางที่ 19)

ตารางที่ 19 ต้นทุนของการผลิตของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว และแผ่นมาร์กหน้า

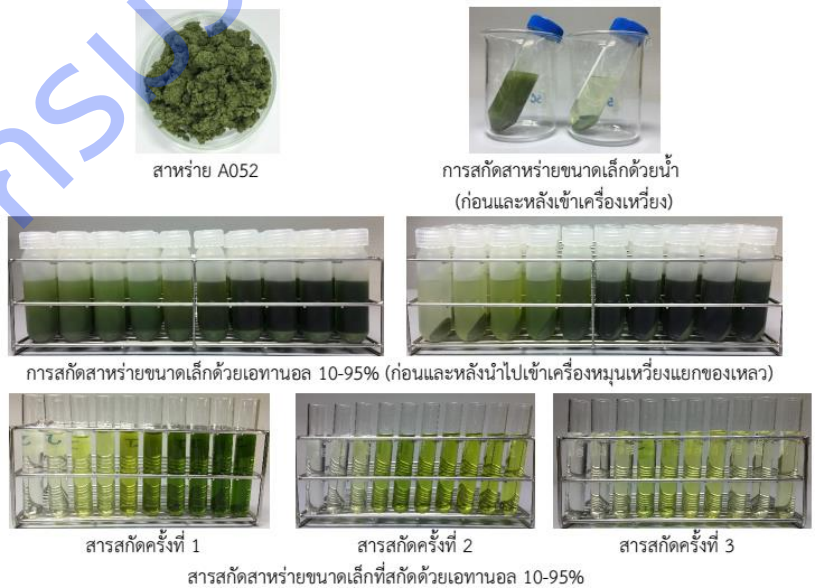
ลำดับ	เซรั่มบำรุงผิว 300 กรัม		แผ่นมาร์กหน้า 10 แผ่น (300 กรัม)	
	ส่วนประกอบ	ราคา (บาท)	ส่วนประกอบ	ราคา (บาท)
1	สาหร่ายแห้ง	0.80	สาหร่ายแห้ง	4.50
2	คาร์บอนไดออกไซด์	80.10	คาร์บอนไดออกไซด์	73.00
3	คาโมมาย	176.16	น้ำมันหอมระเหยกุหลาบ	0.86
4	HEC	2.67	กลีเซอรีน	2.70
5	กลีเซอรีน	1.44	วิตามินอี	21.60
6	ไกลเดนท์	0.36	เบสว่านหางจระเข้	5.46
7	ทวีน 80	2.04	กรดมาลิก	0.18
8	น้ำกลั่น	5.73	น้ำกลั่น	0.01
9	-	-	แผ่นมาร์กหน้า 10 แผ่น	19.50
	รวมราคา	269.30	รวมราคา	127.81
			ราคาต่อแผ่น	12.78

2.2 การผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

2.2.1 การผลิตสีผงคลอโรฟิลล์ (สีเขียว) จากสาหร่ายขนาดเล็ก

การผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กที่ให้สีเขียว ใช้สาหร่ายสายพันธุ์ A052 (*Coelastrum microporum*) เลี้ยงในอาหารคือปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ทำการเพาะเลี้ยงในบ่อเปิดขยายขนาดได้สาหร่ายที่มีสีเขียวเพื่อนำมาศึกษาการสกัดสารสีคลอโรฟิลล์

1) การศึกษาความเข้มข้นของเอทานอลในการสกัดสารสีจากสาหร่าย (ภาพที่ 22)



ภาพที่ 22 การสกัดสาหร่ายขนาดเล็กด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 10-95% (ระดับความเข้มข้นเรียงจากซ้ายไปขวาตามลำดับ)

กรมวิชาการเกษตร

ผลการสกัดด้วยเอทานอล 95% (ตารางที่ 20 และ 21) พบว่า สารสกัดที่ได้มีปริมาณคลอโรฟิลล์มากที่สุด ($p \leq 0.05$) โดยการสกัดสาหร่ายขนาดเล็กด้วยน้ำ สังเกตได้ว่าสารสกัดมีลักษณะสีใสและเมื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ พบว่ามีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ 0.769 ug/g และปริมาณคลอโรฟิลล์บี 0.883 ug/g ซึ่งมีปริมาณสารสำคัญน้อยจึงไม่ได้ทำการสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง การสกัดสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอลความเข้มข้น 10-95% พบว่า การสกัดครั้งที่ 1 ด้วยเอทานอล 95% สารสกัดมีปริมาณสารสำคัญมากที่สุด คือ มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ 53.211 ug/g ปริมาณคลอโรฟิลล์บี 21.346 ug/g สำหรับการสกัดครั้งที่ 2 พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล 50% มีปริมาณสารสำคัญมากที่สุด คือ มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ 16.879 ug/g ปริมาณคลอโรฟิลล์บี 7.523 ug/g สำหรับการสกัดครั้งที่ 3 ได้ปริมาณสารสำคัญน้อยเมื่อเทียบกับครั้งที่ 1 และ

ตารางที่ 20 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอของสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอลความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นเอทานอล (%)	คลอโรฟิลล์เอ (ug/g)			
	สกัดครั้งที่ 1	สกัดครั้งที่ 2	สกัดครั้งที่ 3	รวม
0	0.769 f	-	-	0.769 g
10	1.576 f	0.355 e	0.423 g	2.354 fg
20	1.594 f	0.648 e	0.657 fg	2.899 fg
30	3.230 f	1.647 e	1.437 d	6.315 f
40	4.658 f	7.703 cd	4.932 a	17.293 e
50	10.558 e	16.879 a	5.237 a	32.675 d
60	25.444 d	12.684 b	2.519 b	40.647 c
70	37.465 c	12.277 b	1.822 c	51.564 b
80	44.595 b	8.035 c	0.975 ef	53.605 b
90	48.026 b	6.206 d	1.100 de	55.332 b
95	53.211 a	7.456 cd	0.804 ef	61.470 a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

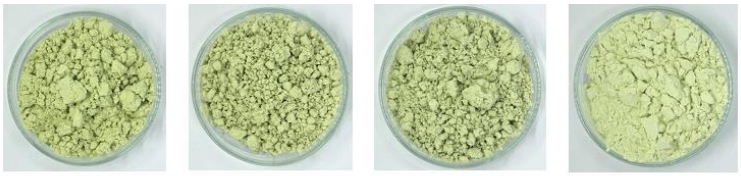
ตารางที่ 21 ปริมาณคลอโรฟิลล์บีของสารสกัดสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอลความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นเอทานอล (%)	คลอโรฟิลล์บี (ug/g)			
	สกัดครั้งที่ 1	สกัดครั้งที่ 2	สกัดครั้งที่ 3	รวม
0	0.883 g	-	-	0.883 g
10	2.700 f	0.429 g	0.569 f	3.698 f
20	1.557 gf	0.586 g	0.667 ef	2.810 fg
30	2.231 gf	1.484 f	1.241 c	4.956 f
40	2.917 f	4.598 c	2.591 a	10.105 e
50	6.079 e	7.523 a	2.430 a	16.032 d
60	12.330 d	5.660 b	1.646 b	19.636 c
70	15.842 c	6.041 b	1.250 c	23.133 b
80	18.119 b	4.350 cd	0.899 de	23.368 b
90	18.920 b	3.077 e	1.051 cd	23.048 b
95	21.346 a	3.752 de	0.801 def	25.898 a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

2) การศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอยและอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์สีผง โดยนำสารสกัดที่ได้จากการสกัดสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอล 95% ระเหยภายใต้ความดันเพื่อลดปริมาตร ปริมาณคลอโรฟิลล์ของสารสกัดมีค่า 5.43 mg/ml นำสารสกัดที่ได้ผสมมอลโตเด็กซ์ทริน พบว่ามอลโตเด็กซ์ทรินไม่ละลายในสารสกัดเอทานอล จึงทดลองหาวิธีการละลายมอลโตเด็กซ์ทรินเพื่อนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยพบว่ามอลโตเด็กซ์ทรินสามารถละลายในสารสกัดเอทานอลได้ในอัตราส่วนสารสกัดต่อมอลโตเด็กซ์ทรินต่อน้ำเป็น 1:1:1 จากนั้นนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 130°C จากการทำแห้งแบบพ่นฝอยได้สีผงที่มีสีเขียวอ่อน และยังคงมีกลิ่นไม่พึงประสงค์ ผลผลิตสีผงที่ได้ (yield) เท่ากับ 15.72% ทำการเก็บรักษาสีผงเป็นเวลา 6 เดือน ตรวจคุณภาพได้ผลดัง ภาพที่ 23 และ ตารางที่ 22

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 23 สีผงคลอโรฟิลล์หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 2 4 และ 6 เดือน ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 22 คุณภาพของสีผงคลอโรฟิลล์หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 2 4 และ 6 เดือน ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง

คุณภาพ	อายุการเก็บรักษา (เดือน)				ข้อกำหนด*
	0	2	4	6	
ค่าสี L*	52.21	55.32	57.01	57.48	
a*	-1.28	-1.20	-1.18	-0.96	
b*	8.16	8.93	7.07	7.22	
ΔE	0.00	3.20	4.92	5.36	
ความชื้น (%)	3.66 a	3.98 a	4.37 a	6.59 b	
ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี	0.205 a	0.215 a	0.229 a	0.237 a	
ค่าการละลายน้ำ (%)	89.07 a	91.00 a	88.48 a	90.36 a	
คลอโรฟิลล์ (mg /100 g)	38.75 a	26.64 b	15.26 c	10.52 c	
สารหนู (mg/kg)	ND	-	-	-	<2.0
ตะกั่ว (mg/kg)	ND	-	-	-	<1.0
ปรอท (mg/kg)	0.01	-	-	-	-
Salmonella spp. (per 25 g)	ND	ND	ND	ND	ND
Clostridium perfringen (per 0.01 g)	ND	ND	ND	ND	ND
Escherichia coli (MPN/g)	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0
Staphylococcus aureus (CFU/g)	<10	<10	<10	<10	<100

หมายเหตุ; ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ND = Not Detected

* กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานของสารสกัดให้สีจากส่วนของพืชหรือสัตว์

จากการพิจารณาค่าความแตกต่างของค่าสีโดยรวมระหว่างตัวอย่างกับตัวอย่างมาตรฐาน (ΔE) ถ้า ΔE มีค่าเท่ากับหรือมากกว่า 2.3 ถือว่าตัวอย่างมีความแตกต่างกับตัวอย่างมาตรฐาน (Sharma, 2003) พบว่า การเก็บรักษาสีผงที่อายุการเก็บรักษา 2 4 และ 6 เดือน มีค่า ΔE มากกว่า 2.3 แสดงว่า ค่าสีของสีผงที่เก็บรักษาเป็นเวลา 2 4 และ 6 เดือน มีความแตกต่างจากสีผงเริ่มต้น (0 เดือน) การเปลี่ยนแปลงของความชื้น พบว่า เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้นสีผงมีความชื้นเพิ่มขึ้น โดยสีผงที่เก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน มีความชื้นเพิ่มขึ้นแตกต่างกับสีผงเริ่มต้น ในขณะที่ค่าวอเตอร์แอกทิวิตีของสีผงที่อายุการเก็บบรักษา 0 2 4 และ 6 มีค่าเพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) การละลายของสีผงที่อายุการเก็บรักษา 0 2 4 และ 6 เดือน มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) สำหรับปริมาณคลอโรฟิลล์ของสีผง พบว่า การเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น มีผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง โดยสีผงที่อายุการเก็บรักษา 2 เดือน มีปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลงแตกต่างจากสีผงเริ่มต้น สีผงที่ผลิตได้ไม่พบ สารหนู และตะกั่ว ตลอดอายุการเก็บรักษา 6 เดือน สีผงมีคุณภาพด้านจุลินทรีย์อยู่ในเกณฑ์ข้อกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานสำหรับสารสกัดให้สีจากส่วนของพืชหรือสัตว์ (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, ม.ป.ป.)

3) การประยุกต์ใช้สีผงคลอโรฟิลล์ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ได้มีลักษณะดังภาพที่ 24 มีคุณภาพดังตารางที่ 23 พบว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำและค่า pH ของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผง 0 1 2 3 และ 4% มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำอยู่ในช่วง 25.60 ถึง 26.73 และ ค่า pH อยู่ในช่วง 6.62 ถึง 6.67 การใส่สีผงปริมาณที่ต่างกันมีผลทำให้ค่าสีและปริมาณสารคลอโรฟิลล์ของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมีค่าแตกต่างกัน โดยค่าสีของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงปริมาณ 1 2 3 และ 4% มีค่า ΔE มากกว่า 2.3 แสดงว่าผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงมีสีแตกต่างกับผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ไม่ใส่สีผง และผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงปริมาณ 4% มีปริมาณคลอโรฟิลล์มากที่สุด แตกต่างกับไอศกรีมที่ใส่สีผง 3 2 และ 1%

กรมวิชาการเกษตร

0 1 2 3 4

ภาพที่ 24 ลักษณะของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงคลอโรฟิลล์ 0 - 4%

ตารางที่ 23 คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงคลอโรฟิลล์ 0 - 4%

คุณภาพ	สีผงคลอโรฟิลล์ (%)				
	0	1	2	3	4
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (°B)	25.73	25.60	26.73	26.67	26.63
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	6.67	6.66	6.66	6.67	6.62
ค่าสี L*	50.18	46.53	44.71	43.10	41.99
a*	-0.75	-2.84	-3.44	-3.49	-3.76
b*	5.57	9.16	10.26	10.73	10.91
ΔE	0.00	5.55	7.70	9.17	10.21
คลอโรฟิลล์ A (mg/100g)	0.00	2.99	6.08	9.41	13.13
คลอโรฟิลล์ B (mg/100g)	0.00	0.09	0.24	0.42	0.59
คลอโรฟิลล์ทั้งหมด (mg/100 g)	0.00 e	3.08 d	6.32 c	9.83 b	13.72 a

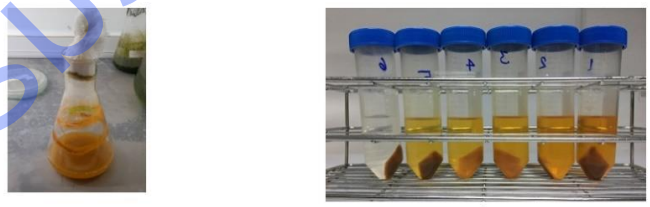
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

จากการทดลองไม่ได้ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสเนื่องจากผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมีกลิ่นไม่พึงประสงค์ของสาหร่าย ถึงแม้ว่าผลิตภัณฑ์ไอศกรีมจะมีกลิ่นนมและเติมกลิ่นวานิลลาแล้วก็ตาม

2.2.2 การผลิตสีผงแคโรทีนอยด์ (สีเหลือง) จากสาหร่ายขนาดเล็ก

ทำการทดลองเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กที่ให้สีส้ม คือ สาหร่าย SK-QSGMF6 (*Coelastrella* sp.) โดยทำการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ใช้อาหาร Modified Chu 13 เป็นระยะเวลา 15 วัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เซลล์สาหร่ายมีการสะสมสารแคโรทีนอยด์ไว้ภายในเซลล์จนเซลล์เปลี่ยนเป็นสีส้ม (ภาพที่ 25) นำสาหร่ายเข้าเครื่องเหวี่ยงแยกกากเพื่อให้ได้เซลล์สาหร่ายสำหรับนำไปสกัดสารสี

1) การศึกษาความเข้มข้นของเอทานอลในการสกัดสารสีจากสาหร่าย (ภาพที่ 25 และตารางที่ 24) โดยนำสาหร่ายขนาดเล็กที่เลี้ยงได้ในระดับห้องปฏิบัติการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 60-95% พบว่า การสกัดด้วยเอทานอล 95% สารสกัดที่ได้มีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุด 6.93 ug/ml และสารสกัดมีสีแตกต่างกัน โดยสารสกัดจากเอทานอล 95% มีสีเข้มมากที่สุด



สาหร่าย SK-QSGMF6 สารสกัดสาหร่ายที่สกัดด้วยเอทานอล

ภาพที่ 25 สาหร่าย SK-QSGMF6 และการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น 0, 60, 70, 80, 90 และ 95%

ตารางที่ 24 ปริมาณแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายด้วยเอทานอลความเข้มข้น 60-95%

คุณภาพ		ความเข้มข้นของเอทานอล (%)					
		0	60	70	80	90	95
แคโรทีนอยด์ (ug/ml)		0.02 f	1.66 e	2.02 d	3.05 c	4.97 b	6.93 a
ค่าสี	L*	29.91	29.87	29.83	29.55	29.38	28.96
	a*	2.70	2.42	2.48	2.76	3.20	3.50
	b*	-2.15	0.58	1.43	2.20	3.21	3.73
	ΔE	0.00	2.74	3.59	4.37	5.41	6.01

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

กรมวิทยาศาสตร์

จากการเลี้ยงสาหร่ายในระดับห้องปฏิบัติการได้สาหร่ายปริมาณน้อย จึงทำการเพาะเลี้ยงขยายขนาดจากระดับห้องปฏิบัติการขยายสู่บ่อแบบเปิด โดยใช้อัตราหัวเชื้อสาหร่าย 1 ต่อ 100 และอาหารมาตรฐาน Modified Chu 13 (เกรดอุตสาหกรรม) ต่อน้ำเพาะเลี้ยงสาหร่าย 1:500 ผลจากการเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระบบเปิด พบว่า สาหร่ายที่ได้มีสีน้ำตาลและมีกลิ่นไม่พึงประสงค์ (น้อยกว่าสาหร่ายสีเขียว) เมื่อนำไปสกัดด้วยเอทานอล 95% ได้สารสกัดสีน้ำตาล มีกลิ่นไม่พึงประสงค์ลดลง (ภาพที่ 26)

การเพาะเลี้ยงในบ่อเปิด ลักษณะเซลล์สาหร่าย สารสกัดสาหร่าย

ภาพที่ 26 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบบ่อเปิดและสารสกัดจากสาหร่าย

2) การศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอยและอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์สีผง โดยนำสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล 95% ระเหยภายใต้ความดันเพื่อลดปริมาตร ปริมาณแคโรทีนอยด์ของสารสกัดมีค่า 43.19 ug/ml เนื่องจากมอลโตเด็กซ์ทรินไม่ละลายในสารสกัดเอทานอล จึงทำการผสมสารสกัดต่อมอลโตเด็กซ์ทรินต่อน้ำ อัตราส่วน 1:1:1 เช่นเดียวกับการผสมสารสกัดคลอโรฟิลล์ และนำไปทำแห้งที่สภาวะเดียวกัน จากการทำแห้งแบบพ่นฝอยได้สีผงสีเหลืองอ่อน มีกลิ่นไม่พึงประสงค์เล็กน้อย ผลผลิตสีผงที่ได้ (yield) เท่ากับ 15.88% ทำการเก็บรักษาสีผงเป็นเวลา 4 เดือน ตรวจคุณภาพได้ผลดังภาพที่ 27 และตารางที่ 25 และ พบว่า สีผงที่เก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือน มีค่าสีไม่แตกต่างกับสีผงเริ่มต้น (0 เดือน) (ค่า ΔE น้อยกว่า 2.3) แต่สีผงที่เก็บรักษาเป็นเวลา 4 เดือน มีค่าสีแตกต่างกับสีผงเริ่มต้น (ค่า ΔE มากกว่า 2.3) สีผงที่อายุการเก็บรักษา 0 2 และ 4 เดือน มีความชื้นและค่าวอเตอร์แอกทิวิตีเพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) สำหรับปริมาณแคโรทีนอยด์ของสีผง พบว่า การเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น มีผลทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลง โดยสีผงที่อายุการเก็บรักษา 2 และ 4 เดือน มีปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลงแตกต่างจากสีผงเริ่มต้น สีผงที่ผลิตได้ไม่พบสารตะกั่ว และตลอดอายุการเก็บรักษา 4 เดือน สีผงมีคุณภาพด้านจุลินทรีย์อยู่ในเกณฑ์ข้อกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานสำหรับสารสกัดให้สีจากส่วนของพืชหรือสัตว์ (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, ม.ป.ป.)

0 2 4

ภาพที่ 27 สีผงแคโรทีนอยด์หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 2 และ 4 เดือน ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 25 คุณภาพของสีแคโรทีนอยด์หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 2 และ 4 เดือน ตามลำดับ ที่อุณหภูมิห้อง

คุณภาพ	อายุการเก็บรักษา (เดือน)			ข้อกำหนด*
	0	2	4	
ค่าสี L*	57.89	58.43	60.26	
a*	0.10	-0.01	0.11	
b*	12.76	10.83	10.48	
ΔE	0.00	2.01	3.29	
ความชื้น (%)	3.83 a	4.02 a	4.48 a	
ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี	0.202 a	0.216 a	0.222 a	
ค่าการละลายน้ำ (%)	87.31 a	85.90 a	86.50 a	
carotenoid (mg /100 g)	19.39 a	15.32 b	12.64 c	

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

คุณภาพ	อายุการเก็บรักษา (เดือน)			ข้อกำหนด*
	0	2	4	
สารหนู (mg/kg)	0.05	-	-	<2.0
ตะกั่ว (mg/kg)	ND	-	-	<1.0
ปรอท (mg/kg)	0.01	-	-	-
Salmonella spp. (per 25 g)	ND	ND	ND	ND
Clostridium perfringen (per 0.01 g)	ND	ND	ND	ND
Escherichia coli (MPN/g)	<3.0	<3.0	<3.0	<3.0
Staphylococcus aureus (CFU/g)	<10	<10	<10	<100

หมายเหตุ; ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

ND = Not Detected

* กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานของสารสกัดให้สีจากส่วนของพืชหรือสัตว์

3) การประยุกต์ใช้สีผงแคโรทีนอยด์ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม ได้ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่มีลักษณะดังภาพที่ 28 มีคุณภาพดังตารางที่ 26 พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำและค่า pH ของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผง 0 1 2 3 และ 4% มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำอยู่ในช่วง 25.73 ถึง 26.73 และ ค่า pH อยู่ในช่วง 6.63 ถึง 6.77 การใส่สีผงปริมาณที่ต่างกันมีผลทำให้ค่าสีและปริมาณแคโรทีนอยด์ของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมีค่าแตกต่างกัน โดยค่าสีของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงปริมาณ 1 2 3 และ 4% มีค่า ΔE มากกว่า 2.3 แสดงว่าผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงมีสีแตกต่างกับผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ไม่ใส่สีผง และผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงปริมาณ 4% มีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุดแตกต่าง ($p \leq 0.05$) กับไอศกรีมที่ใส่สีผง 3 2 และ 1% สำหรับผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ไม่ใส่สีผงแต่ตรวจพบแคโรทีนอยด์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมีไข่เป็นส่วนประก อบด้วย นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ได้ไม่มีกลิ่นไม่พึงประสงค์ อาจเป็นเพราะกลิ่นนมและกลิ่นวานิลลาช่วยลดกลิ่นไม่พึงประสงค์นั้น

0 1 2 3 4

ภาพที่ 28 ลักษณะของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงแคโรทีนอยด์ 0 - 4%

ตารางที่ 26 คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงแคโรทีนอยด์ 0 - 4%

คุณภาพ	สีผงแคโรทีนอยด์ (%)				
	0	1	2	3	4
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (°B)	25.73	25.87	26.43	26.23	26.73
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	6.67	6.77	6.63	6.71	6.70
ค่าสี L*	50.07	48.28	46.81	46.16	45.44
a*	-0.81	-0.90	-0.47	-0.31	0.22
b*	5.40	13.34	16.84	18.60	19.60
ΔE	0.00	8.14	11.90	13.79	14.97
แคโรทีนอยด์ (ug/100 g)	59.11 e	74.95 d	82.90 c	94.82 b	102.08 a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

จากการทดลองไม่ได้ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสเนื่องจากมีตัวอย่างสาหร่ายจำนวนจำกัด จึงทำให้ผลิตสีผงได้ในปริมาณที่ไม่เพียงพอต่อการทดลอง

2.2.3 การผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็ก (สีฟ้า phycobilin)

การผลิตสีผงจากสาหร่ายขนาดเล็กที่ให้สีฟ้า ใช้สาหร่ายสายพันธุ์ A052 (*Coelastrum microporum*) เลี้ยงในอาหาร BG-11 ได้สาหร่ายที่มีสีเขียว

กรมวิชาการเกษตร

1) การสกัดสารสีฟ้า (phycobilin) จากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยวิธีทางกายภาพ ได้สารสกัดสีฟ้า มีปริมาณไฟโคบิลิน 1.24 ug/ml (ภาพที่ 29) และมีกลิ่นไม่พึงประสงค์เล็กน้อย

การสกัดจากเซลล์สาหร่าย สารสกัดไฟโคบิลิน

ภาพที่ 29 สารสกัดจากเซลล์สาหร่ายด้วยน้ำ

2) การศึกษาปริมาณมอลโตเด็กซ์ทรินที่เหมาะสมสำหรับการทำแห้งแบบพ่นฝอย จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย ได้ผงสีฟ้า มีกลิ่นไม่พึงประสงค์เล็กน้อย ลักษณะดัง ภาพที่ 30 และมีคุณภาพ ตารางที่ 27

10 20 30

ภาพที่ 30 สีผงไฟโคบิลินที่เตรียมจากปริมาณมอลโตเด็กซ์ทริน 10 – 30 %

ตารางที่ 27 คุณภาพของสีผงไฟโคบิลินที่เตรียมจากปริมาณมอลโตเด็กซ์ทริน 10 – 30 %

คุณภาพ	มอลโตเด็กซ์ทริน (%)		
	10	20	30
ความชื้น (%)	4.28 b	3.66 a	3.63 a
ค่าวอเตอร์แอกทิวิตี	0.208	0.181	0.163
yield (%)	6.89	12.16	17.42
ค่าสี L*	46.68	48.75	50.78
a*	-4.40	-4.44	-4.68
b*	-8.08	-7.50	-7.57
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	5.99	5.87	5.76
ค่าการละลายน้ำ (%)	84.49 a	85.83 a	87.21 a
ไฟโคไซยานิน (mg/100 g)	25.68	10.67	7.78
อัลโลไฟโคไซยานิน (mg/100 g)	9.24	3.57	2.57
ไฟโคเออริธริน (mg/100 g)	2.04	0.96	0.62
ไฟโคบิลิน (mg/100 g)	36.96 a	15.20 b	10.97 c

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

สีผงที่ผสมมอลโตเด็กซ์ทริน 10% มีความชื้นมากที่สุด ($p \leq 0.05$) แตกต่างกับสีผงที่ผสมมอลโตเด็กซ์ทริน 20 และ 30% โดยค่าสีของสีผงที่ผสมมอลโตเด็กซ์ทริน 10% มีสีเข้มกว่า สังเกตได้จากค่าสี L* (ความสว่าง) ของสีผงที่ผสมมอลโตเด็กซ์ทริน 10% มีค่าต่ำที่สุด และค่าสี b* (เหลือง-น้ำเงิน) มีค่าน้อยที่สุด นั่นคือแสดงความเป็นสีน้ำเงินเข้มมากกว่าสีผงที่ผสมมอลโตเด็กซ์ทริน 20 และ 30% การละลายน้ำของสีผงที่ผสมมอลโตเด็กซ์ทริน 10 20 และ 30% ไม่มีความแตกต่างกัน สำหรับปริมาณสารไฟโคบิลินพบว่า สีผงที่ผสมมอลโตเด็กซ์ทริน 10% มีปริมาณสารไฟโคบิลินมากที่สุด ($p \leq 0.05$) ถึงแม้ว่าสีผงที่ผสมมอลโตเด็กซ์ทริน 10% จะมีความชื้นมากที่สุด แต่มีค่าไม่เกิน 5.0% ซึ่งโดยทั่วไปผลิตภัณฑ์ผง เช่น นมผง (กระทรวงสาธารณสุข, 2556) กาแฟสำเร็จรูป (กระทรวงสาธารณสุข, 2543) กำหนดให้มีความชื้นไม่เกิน 5.0% ดังนั้นจึงเลือกปริมาณมอลโตเด็กซ์ทริน 10% เป็นปริมาณที่เหมาะสมสำหรับการทำแห้งแบบพ่นฝอย สารสกัดไฟโคบิลิน จากการตรวจสอบสารปนเปื้อนของสีผง (ตารางที่ 28) ไม่พบสารตะกั่ว และสีผงที่ผลิตได้มีคุณภาพด้านจุลินทรีย์ของสีผงอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 28 คุณภาพของสีผงไฟโคบิลินที่เตรียมจากมอลโตเด็กซ์ทริน 10 %

คุณภาพ	สีผงไฟโคบิลิน	ข้อกำหนด*
สารหนู (mg/kg)	<0.025	<2.0
ตะกั่ว (mg/kg)	ND	<1.0
ปรอท (mg/kg)	0.01	-
Salmonella spp. (per 25 g)	ND	ND
Clostridium perfringen (per 0.01 g)	ND	ND
Escherichia coli (MPN/g)	<3.0	<3.0
Staphylococcus aureus (CFU/g)	<10	<100

หมายเหตุ; ND = Not Detected

* กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานของสารสกัดให้สีจากส่วนของพืชหรือสัตว์

3) การประยุกต์ใช้สีผงไฟโคบิลินในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนม ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ได้มีลักษณะดัง ภาพที่ 31 มีคุณภาพดังตารางที่ 29 พบว่า ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำและค่า pH ของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผง 0 1 2 3 และ 4% มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำอยู่ในช่วง 25.73 ถึง 26.93 และ ค่า pH อยู่ในช่วง 6.61 ถึง 6.67 การใส่สีผงปริมาณที่ต่างกันมีผลทำให้ค่าสีและปริมาณไฟโคบิลินของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมีค่าแตกต่างกัน โดยค่าสีของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงปริมาณ 1 2 3 และ 4% มีค่า ΔE มากกว่า 2.3 แสดงว่าผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงมีสีแตกต่างกับผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ไม่ใส่สีผง และผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงปริมาณ 4% มีปริมาณไฟโคบิลินมากที่สุดแต่ไม่แตกต่าง ($p>0.05$) กับไอศกรีมที่ใส่สีผง 3% ในขณะที่ ไอศกรีมที่ใส่สีผง 1% พบปริมาณไฟโคบิลินปริมาณน้อยมากไม่แตกต่างกับไอศกรีมที่ไม่ใส่สีผง นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ได้ไม่มีกลิ่นไม่พึงประสงค์ อาจเป็นเพราะกลิ่นนมและกลิ่นวานิลลาช่วยลดกลิ่นไม่พึงประสงค์นั้น

0 1 2 3 4

ภาพที่ 31 ลักษณะของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงไฟโคบิลิน 0 - 4%

ตารางที่ 29 คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงไฟโคบิลิน 0 – 4 %

คุณภาพ	สีผงไฟโคบิลิน (%)				
	0	1	2	3	4
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (°B)	25.73	26.90	26.87	26.10	26.93
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	6.67	6.61	6.62	6.63	6.62
ค่าสี L*	49.95	48.06	45.96	44.87	43.85
a*	-0.88	-0.82	-0.95	-0.84	-0.91
b*	5.20	3.56	1.60	0..34	-0.50
ΔE	0.00	2.73	5.60	7.26	8.57
ไฟโคไซยานิน (mg/100 g)	0.00	0.22	0.45	0.82	0.80
อัลโลไฟโคไซยานิน (mg/100 g)	0.00	0.11	0.27	0.52	0.58
ไฟโคเออริธริน (mg/100 g)	0.00	0.08	0.19	0.23	0.27
ไฟโคบิลิน (mg/100 g)	0.00 c	0.41 c	0.91 b	1.57 a	1.65 a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

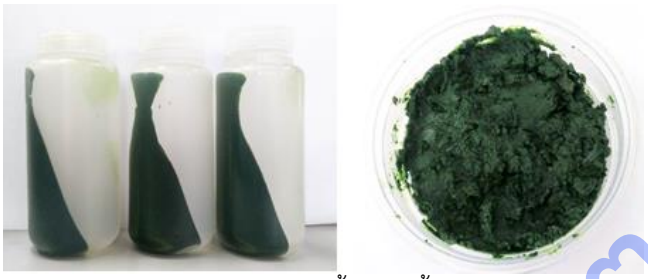
จากการทดลองไม่ได้ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสเนื่องจากมีตัวอย่างสาหร่ายจำนวนจำกัด จึงทำให้ผลิตสีผงได้ในปริมาณที่ไม่เพียงพอต่อการทดลอง

2.3 การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์และใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก

กรมวิชาการเกษตร

2.3.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กและวิธีการเตรียมเซลล์เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบ

สาหร่ายที่นำมาเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตพอลิแซ็กคาไรด์คือ สาหร่าย A052 โดยทำการเพาะเลี้ยงด้วยแม่ปุ๋ยเคมีผสม 16-8-8 ให้ผลการเจริญเติบโตสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 17 วัน มีปริมาณความหนาแน่นของเซลล์ 7.03×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายโดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยงแยกกากเซลล์จุลินทรีย์อัตโนมัติ สามารถแยกเซลล์สาหร่ายออกจากน้ำที่เพาะเลี้ยงได้ปริมาณผลได้ 0.45 % Solid (สาหร่าย) ของปริมาตรน้ำเพาะเลี้ยงเริ่มต้นก่อนแยกเซลล์ แต่เซลล์สาหร่ายยังคงแขวนลอยอยู่ในของเหลวอยู่ จึงทำการแยกเซลล์สาหร่ายออกจากของเหลวโดยการนำมาปั่นเหวี่ยงแยกเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงที่ความเร็วรอบ 6,000 rpm เวลาหมุนเหวี่ยง 30 นาที ที่สภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ได้เซลล์สาหร่ายที่มีลักษณะปรากฏเป็นสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 32)



ภาพที่ 32 เซลล์สาหร่ายขนาดเล็กหลังแยกน้ำเพาะเลี้ยงสำหรับใช้สกัดพอลิแซ็กคาไรด์

2.3.2 การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

การสกัดสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95 % เพื่อกำจัดรงควัตถุและไขมันต่างๆ ออกจากสาหร่ายจะได้ของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ (alcohol insoluble solid (AIS)) ของแข็งที่แยกได้มีลักษณะปรากฏเป็นผงสีน้ำตาลอ่อน ขั้นตอนต่อไปทำการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จาก alcohol insoluble solid ด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส พบว่าการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ใช้อัตราส่วน AIS : น้ำ เท่ากับ 1:1 และ 1:1.5 (w/v) ที่ระยะเวลาในการสกัดเท่ากันให้ปริมาณผลได้ของพอลิแซ็กคาไรด์ไม่แตกต่างกัน พอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้มีลักษณะเป็นผงสีเหลืองอมน้ำตาล (ภาพที่ 33) โดยการสกัดที่ใช้อัตราส่วน AIS : น้ำ เท่ากับ 1:1 เวลาสกัด 70 นาที ให้ปริมาณผลผลิตของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายสูงสุดเท่ากับ 3.97 % (ตารางที่ 30)

ภาพที่ 33 สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

ตารางที่ 30 ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กที่ได้จากแต่ละสภาวะการสกัด

อัตราส่วนของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ : น้ำ (w/v)	ระยะเวลา (นาที)	ปริมาณผลได้ (เปอร์เซ็นต์)
1:1	50	2.93b
1:1	70	3.97a
1:1.5	50	2.86b
1:1.5	70	3.90a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

2.3.3 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กมีปริมาณความชื้น 7.59 % คาร์โบไฮเดรต 87.50 % ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 82.19 และมีปริมาณกรดยูโรนิคหรือน้ำตาลที่อยู่ในรูปของกรดซึ่งเป็นโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ 5.82 % (ตารางที่ 31) ซึ่งพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากสาหร่าย

กรมวิชาการเกษตร

ขนาดเล็กในงานวิจัยนี้มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดใกล้เคียงกับการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายสีแดง (Gracilaria fisheri) ด้วยน้ำของ ศิริลักษณ์ และคณะ (2557) ที่ได้พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 86.79 %

ตารางที่ 31 คุณสมบัติทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (% โดยน้ำหนัก)
ความชื้น	7.59
คาร์โบไฮเดรต	87.50
น้ำตาลทั้งหมด	82.19
กรดยูโรนิค	5.82

2.3.4 การศึกษาโครงสร้างของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

การศึกษาโครงสร้างของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเครื่อง (Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectrometer) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารตัวอย่างเพื่อยืนยันโครงสร้างของตัวอย่างว่ามีโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์เป็นองค์ประกอบ ผลการตรวจสอบพบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กมีพีคเกิดขึ้นที่ช่วงความยาวคลื่น 860.25-3,232.70 cm^{-1} (ภาพที่ 4) โดยมีพีคที่บ่งบอกโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ (ตารางที่ 32) ได้แก่ หมู่ฟังก์ชั่น C-O ที่ความยาวคลื่นช่วง 1,041.50 และพันธะ O-H ของหมู่ไฮดรอกซิล ซึ่งบ่งบอกถึงพันธะไกลโคซิดิกซึ่งเป็นพันธะที่เป็นโครงสร้างทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์ ที่ช่วงความยาวคลื่น 3,232.70 cm^{-1} และยังมีโครงสร้างของหมู่เมทิล (C-H) ช่วง 2,970.38 และ 2,920.23 cm^{-1} เป็นองค์ประกอบด้วยแสดงว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กที่สกัดได้มีโครงสร้างทางเคมีเป็นสารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์

ตารางที่ 32 ค่าความยาวคลื่นของหมู่ฟังก์ชั่นต่างๆ ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

ค่าความยาวคลื่น (cm^{-1})	หมู่ฟังก์ชั่น
3232.70	O-H stretching
2970.38, 2920.23	C-H stretching
1579.70	C-C stretching
1398.39	CH_2 Bending
1041.56	C-O stretching
860.25	CH_2 Rocking

2.3.5 การศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

การศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กโดยการวิเคราะห์คุณสมบัติด้านความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืด และความแข็งแรงของเจลด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส พิจารณาปัจจัยที่มีผลเกี่ยวข้อง คือ ความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์ และความเป็นกรด-ด่าง (pH) พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กมีผลให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 33)

ตารางที่ 33 ผลของความเข้มข้นของสารละลายพอลีแซคคาไรด์ต่อค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจล

ความเข้มข้นของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ (%w/v)	ความหนืด (cPs)	ความแข็งแรงของเจล (N)
0.5	5.2d	0.035d
1.0	8.3c	0.063c
1.5	12.6b	0.092b
2.0	16.4a	0.129a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

เนื่องจากเมื่อความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กเพิ่มมากขึ้นทำให้พอลิแซ็กคาไรด์สามารถจับกับน้ำได้มากขึ้น ปริมาณน้ำอิสระจึงลดลงส่งผลให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น ส่วนผลของค่า pH ของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายต่อค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจล พบว่าสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายที่ความเข้มข้น 1 % มีค่า pH เท่ากับ 6.4 เมื่อทำการลด pH ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จาก 6.4 เป็น 6.0 และ 4.5 ทำให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น ในขณะที่การเพิ่มค่า pH สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จาก 6.4 เป็น 7.0 และ 7.5 ทำให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจล ลดลง (ตารางที่ 34)

ลิขสิทธิ์การเกษตร

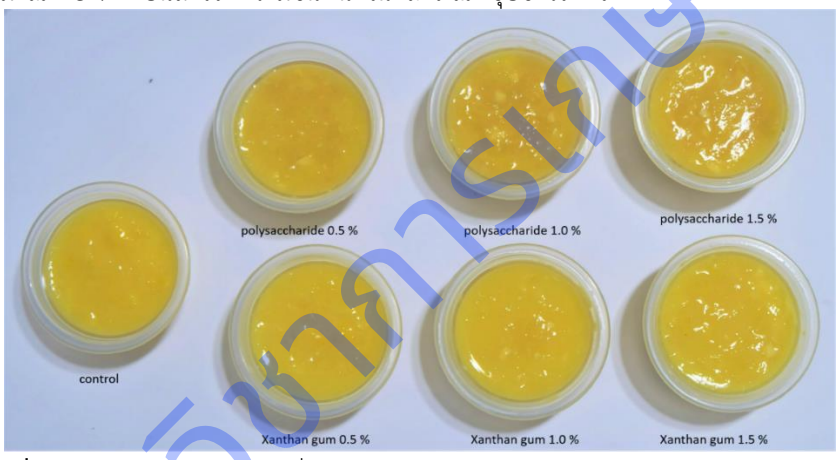
ตารางที่ 34 ผลของ pH ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 1.0 (%w/v) ต่อค่าความหนืดและความเข็งแรงของเจล

pH ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์	ความหนืด (cPs)	ความแข็งแรงของเจล (N)
4.5	14.6a	0.125a
6.0	11.5b	0.098b
6.4	8.4c	0.067c
7.0	5.5d	0.053d
7.5	4.8e	0.046e

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

2.3.6 การประยุกต์ใช้พอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กในผลิตภัณฑ์อาหาร

การใช้พอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กเป็นสารให้ความข้นหนืดในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดเปรียบเทียบกับสารให้ความหนืดทางการค้า คือ แซนแทนกัม (ภาพที่ 34) โดยวิเคราะห์ค่าความข้นหนืด (consistency) และการแยกชั้นของตัวอย่างซุปข้าวโพด (%Serum Loss) ซึ่งบ่งบอกความคงตัวของตัวอย่างซุป ถ้า % serum Loss มีค่าสูงแสดงว่าซุปมีความคงตัวต่ำ ผลการศึกษาพบว่าการเติมพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก และแซนแทนกัมในตัวอย่างซุปข้าวโพด มีผลทำให้ค่าความข้นหนืดของซุปเพิ่มขึ้นและ % serum Loss ลดลง โดยตัวอย่างซุปข้าวโพดที่เติมพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก ปริมาณ 1.5 % มีค่าความข้นหนืด และ % serum Loss ใกล้เคียงกับตัวอย่างซุปที่เติมแซนแทนกัม 1.0 % จึงสามารถใช้พอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กปริมาณ 1.5 % เป็นสารให้ความข้นหนืดในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดได้



ภาพที่ 34 ผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดที่เติมพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก และแซนแทนกัม

ตารางที่ 35 ค่าความข้นหนืดและการแยกชั้นของตัวอย่างซุปข้าวโพดที่เติมพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก และแซนแทนกัม ระหว่างการเก็บรักษาในตู้เย็น (4±2°C) เป็นเวลา 90 วัน

ตัวอย่างซุปข้าวโพด	ค่าความข้นหนืด (g)				การแยกชั้น (%)			
	0 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน	0 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
ชุดควบคุม	๖,๒๔๕.๒๙e	๖,๑๓๙.๖๔e	๖,๐๕๔.๔๘f	๖,๐๑๑.๘๖f	๖๒.๘๑ a	๖๕.๗๓ a	๖๗.๔๒ a	๖๘.๕๙ a
สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ 0.5%	๘,๕๑๗.๕๒ d	๘,๔๑๙.๕๔ d	๘,๓๘๑.๒๕e	๘,๓๗๖.๔๒e	๔๕.๗๔ b	๔๘.๕๔ b	๔๙.๐๘ b	๔๙.๙๒ b
สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ 1.0%	๑๑,๐๔๖.๘ oc	๑๑,๐๑๖.๕ ๔c	๑๐,๕๔๕.๓ ๘d	๑๐,๐๓๗.๔ ๙d	๒๓.๒๗ d	๒๔.๓๖ d	๒๔.๘๕ d	๒๕.๑๗ d
สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ 1.5%	๑๔,๕๒๘.๔ ๘b	๑๔,๑๖๕.๓ ๗b	๑๓,๗๒๘.๔ ๙b	๑๓,๑๖๘.๖ ๒b	๙.๕๓e	๙.๙๔e	๑๐.๒๒ e	๑๐.๖๕ e
แซนแทนกัม 0.5%	๑๑,๘๔๐.๕ ๖c	๑๑,๖๔๙.๔ ๒c	๑๑,๔๗๕.๘ ๒c	๑๑,๑๑๒.๖ ๓c	๒๗.๓๔ c	๒๗.๙๘ c	๒๘.๕๒ c	๒๙.๙๓ c
แซนแทนกัม 1.0%	๑๔,๙๔๗.๓ ๒b	๑๔,๖๙๕.๗ ๔b	๑๔,๔๙๗.๒ ๘b	๑๔,๒๑๙.๓ ๘b	๖.๒๕f	๖.๓๖f	๖.๔๘f	๖.๕๙f

กรมวิชาการเกษตร

แซนแทนกัม 1.5%	๑๗,๘๓๒.๗๔a	๑๗,๗๑๘.๒๙a	๑๗,๕๙๔.๔๒a	๑๗,๔๘๒.๘๓a	๒.๓๘ฐ	๒.๔๑ฐ	๒.๕๔ฐ	๒.๕๙ฐ

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

เมื่อพิจารณาคุณสมบัติของซุปข้าวโพดที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน (ตารางที่ 35) พบว่าซุปข้าวโพดที่เติมพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กปริมาณ 1.5 % มีค่าความข้นหนืดลดลง 9.36 % และมีค่าการแยกชั้นของซุปข้าวโพดเพิ่มขึ้น 11.84 % ใกล้เคียงกับซุปข้าวโพดที่เติมแซนแทนกัม 1.0 % ที่มีค่าความข้นหนืดลดลง 4.87 % และมีค่าการแยกชั้นเพิ่มขึ้น 5.44 % ตามลำดับ

2.3.7 การผลิตใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก

การสกัดใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ได้ใยอาหารที่มีสีน้ำตาล (ภาพที่ 35) มีปริมาณผลได้เท่ากับ 89.35 % มีปริมาณใยอาหารรวม 82.16 % ของน้ำหนักแห้ง

ภาพที่ 35 ใยอาหารที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.3.8 การผลิตผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก

การนำใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กเติมในเส้นพาสต้าเพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหารเปรียบเทียบกับใยอาหารทางการค้าคือ บุก (ภาพที่ 36)

ภาพที่ 36 ผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าไม่เติมใยอาหาร เติมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก และเติมใยอาหารจากบุกเส้นดิบ และเส้นพาสต้าที่ผ่านการลวก

โดยปริมาณที่เหมาะสมของใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กในเส้นพาสต้า คือ 3 % เมื่อเปรียบเทียบกับใยอาหารทางการค้า คือ บุก พบว่าผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก มีปริมาณใยอาหารรวม 0.84 % ของน้ำหนักแห้ง

กรมวิชาการเกษตร

ซึ่งใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหารจากบุก 3 % ที่มีปริมาณใยอาหารรวม 1.05 % ของน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 36) ดังนั้นใยอาหารที่สกัดจากพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กสามารถนำมาใช้เพื่อเพิ่มใยอาหารในผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าได้

ตารางที่ 36 ปริมาณใยอาหารในผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าไม่เติมใยอาหาร เติมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก และเติมใยอาหารจากบุก

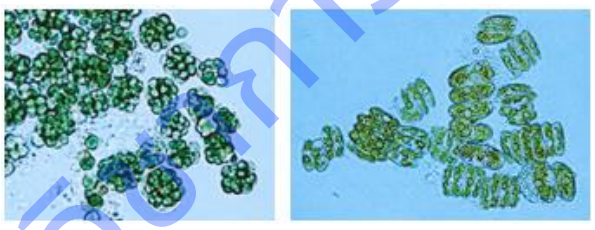
ตัวอย่างเส้นพาสต้า	ปริมาณใยอาหาร (% ของน้ำหนักแห้ง)
ไม่เติมใยอาหาร	0f
ใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก 1 %	0.37e
ใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก 2 %	0.62c
ใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก 3 %	0.84b
ใยอาหารจากบุก 1 %	0.45d
ใยอาหารจากบุก 2 %	0.76b
ใยอาหารจากบุก 3 %	1.05a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

2.4 การผลิตไบโอดีเซลจากสาหร่ายขนาดเล็กแบบระบบเปิดในระดับขยายขนาด

2.4.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็กแบบบ่อเปิด (open raceway pond)

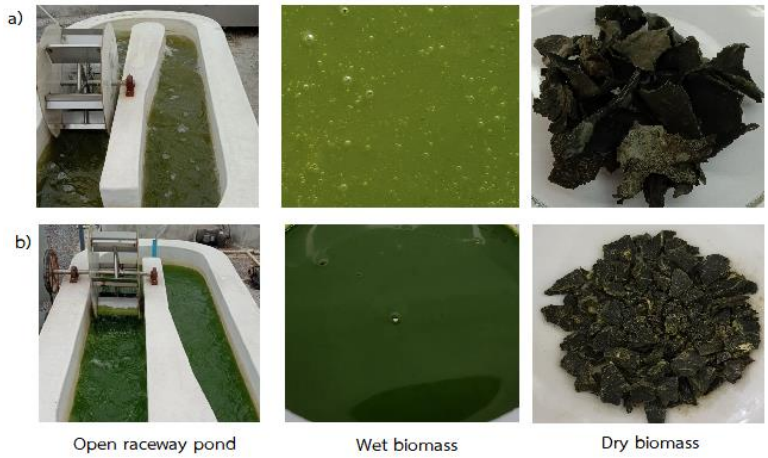
ผลการเตรียมหัวเชื้อสาหร่ายตั้งต้น (Starter culture) โดยทำการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อสาหร่าย CM01-4 และ KK20 ในอาหารสูตรมาตรฐาน Modified Chu 13 เพื่อเพิ่มปริมาณจนได้ปริมาตร 5 ลิตร หลังการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์ พบว่าสาหร่าย CM01-4 เป็นสายพันธุ์ *Botryococcus* sp. ส่วนสาหร่าย KK20 เป็นสายพันธุ์ *Desmodesmus* sp. (จำแนกและระบุชนิดของสายพันธุ์: ทดสอบโดย ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ (ศคช.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)) โดยลักษณะเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็กแสดงดังภาพที่ 37



ภาพที่ 37 ลักษณะเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็ก (ซ้าย) CM01-4 (ขวา) KK20

จากนั้นขยายการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ ในบ่อเปิดขนาด 500 ลิตร พร้อมกับการใช้ใบพัดเติมอากาศ ด้วยสูตรอาหาร Modified Chu 13 (เกรดการค้า) และปุ๋ยเคมี 15-15-15 ในอัตราส่วนอาหารต่อน้ำเลี้ยง 1/500 เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 21 วัน และเพาะเลี้ยงต่อเนื่องหลังการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ อีก 10 วัน หลังการเก็บเกี่ยวได้อัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่ายสด CM01-4 1.85 และ 1.16 กรัมต่อลิตร สาหร่าย KK20 ได้ 1.95 และ 1.08 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 38) จากปริมาณชีวมวลสาหร่ายที่ได้จึงใช้ชีวมวลสาหร่ายจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหาร Modified Chu 13 (เกรดการค้า) ในการศึกษาวิธีการสกัดและผลิตไบโอดีเซล

ศูนย์วิทยทรัพยากร



ภาพที่ 38 ชีวมวลสาหร่ายแห้งของสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์ a) CM01-4 และ b) KK20

2.4.2 การผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่ายขนาดเล็ก

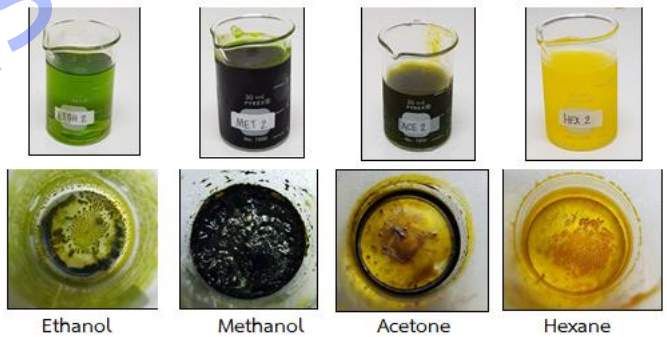
2.4.2.1 วิธีการผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่ายแห้ง

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิดคือ เอทานอล (Ethanol) เมทานอล (Methanol) อะซิโตน (Acetone) และเฮกเซน (Hexane) ออกจากชีวมวลสาหร่ายแห้ง CM01-4 และ KK20 (ตารางที่ 37)

ตารางที่ 37 ปริมาณไขมันที่สกัดได้จากเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กแต่ละสายพันธุ์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

ตัวทำละลายอินทรีย์	ไขมัน (กรัมต่อกรัมสาหร่ายแห้ง)	
	สาหร่าย CM01-4	สาหร่าย KK20
เอทานอล	0.0782b	0.0763b
เมทานอล	0.0829b	0.0785b
อะซิโตน	0.1034a	0.0942a
เฮกเซน	0.0637c	0.0515c

ผลจากด้วยตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิด พบว่าอะซีโตนสามารถสกัดได้ไขมันจากชีวมวลสาหร่ายทั้ง 2 สายพันธุ์ ได้ปริมาณสูงสุดที่ 0.1034 และ 0.0942 กรัมต่อกรัมแห้ง ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ลักษณะไขมันที่ได้มีสีดำ (ภาพที่ 39) รองลงมาคือเมทานอลสกัดไขมันได้ 0.0829 และ 0.0785 กรัมต่อกรัมแห้ง ตามลำดับ ส่วนเอทานอลนั้นสกัดได้ปริมาณใกล้เคียงกับเมทานอล โดยลักษณะไขมันที่ได้จะออกสีเขียวเนื่องจากตัวทำละลายกลุ่มแอลกอฮอล์จะสามารถสกัดสารคลอโรฟิล์ลออกมาจากชีวมวลสาหร่ายได้ด้วย และเฮกเซนนั้นมีความสามารถสกัดไขมันจากชีวมวลสาหร่ายได้น้อยสุดเท่ากับ 0.0637 และ 0.0515 กรัมต่อกรัมแห้ง ตามลำดับ แต่ลักษณะไขมันมีสีเหลืองใสมากกว่า



ภาพที่ 39 ลักษณะของไขมันที่สกัดจากชีวมวลสาหร่ายแห้งด้วยตัวทำละลายอินทรีย์แต่ละชนิด

จากไขมันที่สกัดได้จากชีวมวลแห้งนำมาทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่น หลังการทำปฏิริยากับเมทานอล และมีด่างเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (ภาพที่ 40) ได้น้ำมันหลังการล้างด้วยน้ำเพื่อทำความสะอาด 53.10 % จากการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์เมทิลเอสเตอร์ (FAME) ได้ประมาณ 80 %

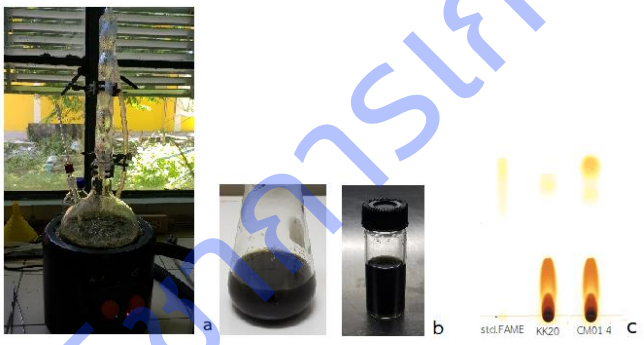
กรมวิทยาศาสตร์

a b c

ภาพที่ 40 a) สารสกัดไขมันจากชีวมวลสาหร่าย
b) ส่วนผสมของไขมัน เมทานอล และด่าง จากปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่น
c) ไบโอดีเซล

2.4.2.2 วิธีการผลิตไบโอดีเซลจากชีวมวลสาหร่ายเปียก

ผลการทำปฏิกิริยา acidic transesterification ของชีวมวลสาหร่ายสด CM01-4 และ KK20 กับเมทานอลในอัตราส่วน 1:3 โดยใช้กรดซัลฟิวริก 10 % เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่าหลังการทำปฏิกิริยาและนำส่วนของเหลวมาระเหยเมทานอลออกเหลือปริมาณสารสกัด 29.17 % และ 28.08 % ตามลำดับ เป็นของเหลวสีดำ ผลการทดสอบสารสกัดเพื่อหาเมทิลเอสเทอร์ด้วยแผ่น TLC ได้ลักษณะของโครมาโตแกรมแสดงดังภาพที่ 41 ผลการวิเคราะห์พบว่าน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่าย CM01-4 มีค่าใกล้เคียงกับโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน FAME (Fatty acid methylester) และจากการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์เมทิลเอสเตอร์ (FAME) ได้เมทิลเอสเตอร์ที่ระดับ 40.52 % จากผลทดสอบค่าความบริสุทธิ์ที่ได้มีค่าต่ำเมื่อเทียบกับค่ามาตรฐานคุณภาพของไบโอดีเซลที่ควรมีค่าเมทิลเอสเตอร์มากกว่า 96.5 %



a b c

ภาพที่ 41 a) ชุดทำปฏิกิริยา acidic transesterification จากชีวมวลสาหร่ายสด
b) สารสกัดจากการทำปฏิกิริยาของสาหร่าย CM01-4 และ KK20
c) ผลทดสอบเมทิลเอสเตอร์ในสารสกัดของสาหร่าย CM01-4 และ KK20 ด้วยแผ่น TLC

2.5 การผลิตพลาสติกชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก

2.5.1 การผลิตชีวมวลสาหร่ายในบ่อเพาะเลี้ยงแบบเปิด

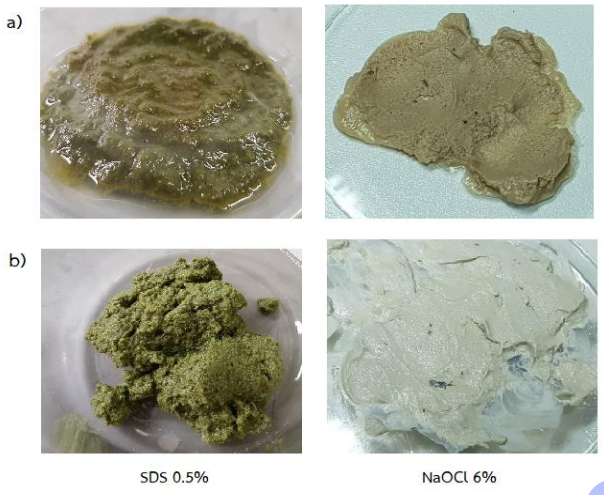
การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก Sm6-3 ด้วยหัวเชื้อสาหร่าย 5 ลิตร ด้วยสูตรอาหาร BG-11 (N-Free) (เกรดการค้า) และปุ๋ยสูตร 8-24-24 ในบ่อเพาะเลี้ยงขนาด 500 ลิตร แบบเปิดนอกห้องปฏิบัติการ (Raceway pond) ที่มีใบพัดกวนเพื่อให้เกิดการไหลเวียนน้ำเพาะเลี้ยงในบ่อเป็นระยะเวลา 15 วัน ทำการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และเพาะเลี้ยงต่อเนื่องอีก 10 วัน หลังการเก็บเกี่ยวได้อัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.54 และ 1.24 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

2.5.2 การสกัดพอลิเมอร์ชีวภาพจากชีวมวลสาหร่าย

จากการศึกษาการใช้สารละลายด้วยสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (SDS) ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 % เพื่อการทำความสะอาดพรีทรีตเมนต์ชีวมวลเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กขั้นต้นก่อนการนำไปสกัดสารบริสุทธิ์โดยใช้อัตราส่วน สาหร่าย : SDS เท่ากับ 1 : 2 พบว่าที่ความเข้มข้น 0.5 % เหมาะสมต่อการการใช้ทำความสะอาดเซลล์สาหร่าย จึงเลือกใช้สาร SDS ที่ความเข้มข้นดังกล่าวร่วมกับการใช้สารละลายสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaOCl) 6 % ผลการศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการทำความสะอาดและฟอกสีเซลล์สาหร่ายที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร BG-11 N-Free และปุ๋ย พบว่าการใช้สารละลาย SDS 0.5 % และ NaOCl 6 % (ภาพที่ 42) ได้ปริมาณชีวมวลเซลล์สาหร่าย 6.13 และ 10.50 % ตามลำดับ ส่วนวิธีการสกัดบริสุทธิ์ด้วยคลอโรฟอร์มหลังการพรีทรีตเมนต์นั้น ได้ปริมาณสารสกัดสูงสุด 0.029 และ 0.012 % ตามลำดับ (ตารางที่ 38) จากปริมาณสารหลังการสกัดด้วย

กรมวิชาการเกษตร

คลอโรฟอร์มที่ได้น้อยมาก จึงปรับวิธีการนำสารสกัดไปใช้ด้วยการนำชีวมวลเซลล์สาหร่ายที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ขั้นต้นเป็นส่วนผสมหลักในการพัฒนาสูตรส่วนผสมในการเตรียมแผ่นฟิล์มชีวภาพต่อไป



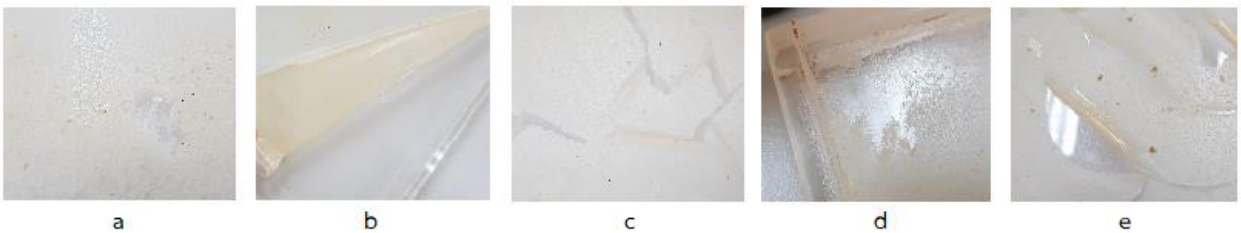
ภาพที่ 42 ชีวมวลสาหร่ายหลังการพรีทรีตเมนท์ด้วยสารละลาย SDS 5% และ NaOCl 6%
a) ชีวมวลสาหร่ายจากสูตรอาหาร BG-11 (N-Free)
b) ชีวมวลสาหร่ายจากสูตรอาหารปุ๋ย 8-24-24

ตารางที่ 38 ปริมาณเซลล์สาหร่ายหลังพรีทรีตเมนต์ (วิธีการที่ 1 และ 2) และสารสกัดที่ได้ (วิธีการที่ 3 และ 4) จากแต่ละสูตรอาหาร

วิธีการ	อาหาร BG-11 (N-Free), %	อาหารปุ๋ย (8-24-24), %
1) โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต และโซเดียมไฮโปคลอไรต์	6.13	10.50
2) โซเดียมไฮโปคลอไรต์	3.04	10.26
3) โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต โซเดียมไฮโปคลอไรต์ และสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม	0.029	0.012
4) โซเดียมไฮโปคลอไรต์ และสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม	0.028	0.010

2.5.3 การเตรียมแผ่นฟิล์มเบื้องต้นโดยใช้เซลล์สาหร่าย

แผ่นฟิล์มที่เตรียมจากชีวมวลสาหร่าย SM6-3 ที่ผ่านพรีทรีตเมนต์ด้วยสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 0.5 % และการสกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 6 % นั้นมีลักษณะแข็งเปราะและฉีกขาดง่าย ไม่สามารถแกะออกจากแผ่นเพลตที่ใช้ในการขึ้นรูปได้ ทำให้ต้องมีการผสมสารเติมแต่งที่เหมาะสมอื่นๆ เข้าไปเพื่อเพิ่มคุณสมบัติของฟิล์มให้มีความแข็งแรงและยืดหยุ่นมากขึ้น จากการทดสอบการขึ้นรูปแผ่นฟิล์มสารหร่ายด้วยสารก่อฟิล์มจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ สารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (PVA) สตาร์ช (Starch) กลีเซอรอล (Glycerol) และแป้งมันสำปะหลัง เพื่อหาสารก่อฟิล์มที่เหมาะสมต่อการขึ้นรูปแผ่นฟิล์ม โดยทดลองใช้ในอัตราส่วน 10 % ได้สารก่อฟิล์มที่เหมาะสมเพียง 1 ชนิดคือ สาร PVA ที่แผ่นฟิล์มมีความสมบูรณ์ที่สุดและสามารถลอกออกจากเพลตที่ใช้ขึ้นรูปได้ แต่แผ่นฟิล์มที่ได้ค่อนข้างบาง ส่วนแผ่นฟิล์มที่เตรียมด้วยแป้งสตาร์ชไม่สามารถขึ้นรูปแผ่นฟิล์มได้ เนื่องจากแผ่นฟิล์มมีลักษณะแข็งเปราะ แตกง่าย และมีการยึดติดกับแบบอะคริลิคที่ใช้ขึ้นรูปดังภาพที่ 43 แผ่นฟิล์มที่เตรียมด้วยกลีเซอรอล พบว่าแผ่นฟิล์มจะมีลักษณะเปื่อยยุ่ยและเยิ้มที่ผิว ไม่สามารถดึงออกมาเป็นแผ่นฟิล์มได้ และแผ่นฟิล์มที่เตรียมด้วยแป้งมันสำปะหลังสารละลายมีความข้นหนืดจนไม่สามารถขึ้นรูปให้เป็นแผ่นได้



กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 43 แผ่นฟิล์มจากส่วนผสมระหว่างชีวมวลสาหร่ายกับสารก่อฟิล์มแต่ละชนิด a) ชีวมวลสาหร่าย 100% b) PVA 10% c) สตาร์ช 10% d) กลีเซอรอล 10% และ e) แป้งมันสำปะหลัง 10%

การเลือกใช้สาร PVA เป็นสารพลาติไซเซอร์ในการเตรียมแผ่นฟิล์มและปรับสูตรเติม PVA ในอัตราส่วน 20 30 และ 40 % พบว่าหลังการอบแผ่นฟิล์มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แผ่นฟิล์มเซลล์สาหร่ายผสม PVA เกิดการย่นจนหลุดออกจากแบบอะคริลิคที่ใช้ในการขึ้นรูปแผ่น แต่แผ่นฟิล์มที่ได้มีความแข็งกรอบและขาดความยืดหยุ่น (ภาพที่ 44)

ภาพที่ 44 แผ่นฟิล์มสาหร่ายผสมกับสาร PVA ในสัดส่วน a) 10% b) 20% และ c) 30%

หลังการปรับใช้เซลล์สาหร่ายที่ใช้ผสมเป็นชีวมวลที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ด้วยสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 0.5 % เพียงขั้นตอนเดียวผสมกับสาร PVA 20 % และแป้งสตาร์ช 5 % พบว่าแผ่นฟิล์มสามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นเรียบได้ ไม่หดย่นหลุดจากแบบอะคริลิค (ภาพที่ 45) อย่างไรก็ตามลักษณะของแผ่นฟิล์มที่ได้ยังมีคุณสมบัติในการยืดหยุ่นมากเท่าที่ควร ทำให้ไม่มีแรงต้านในการดึงฉีกขาดได้ง่าย จะต้องปรับอัตราส่วนของสาร PVA และแป้งสตาร์ชเพิ่มเติม เพื่อนำแผ่นฟิล์มไปทดสอบคุณสมบัติต่างๆ เช่น ความหนา ความชื้น การละลายน้ำ ความต้านทานแรงดึงขาด เปอร์เซ็นต์การยืดตัว และอัตราการซึม-ผ่านของไอน้ำ (WVTR) ในลำดับต่อไป ตลอดจนการขึ้นรูปเป็นถุงเพาะชำและศึกษากระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพต่อไป

ภาพที่ 45 แผ่นฟิล์มสาหร่ายผสมสาร PVA 20 % และแป้งสตาร์ช 5 %

2.5.4 การเตรียมฟิล์มและทดสอบคุณสมบัติของฟิล์มเซลล์สาหร่าย

ผลการเตรียมฟิล์มจากเซลล์สาหร่ายด้วยการเพิ่มส่วนผสม PVA และแป้งสตาร์ชที่อัตราส่วนต่างๆ ตามสูตรดังตารางที่ 39

ตารางที่ 39 คุณสมบัติของแผ่นฟิล์มสาหร่ายผสมพอลิไวนิลแอลกอฮอล์และสตาร์ช

ตัวอย่าง	ความหนา (mm.)	ความชื้น (%)	ค่าการละลายน้ำ (%)	TS kF/cm^2	E (%)	WVTR $g/m^2/day$	DWL (%)
AP2.4S0.6	0.05f	7.97a	2.00bcde	119.09bcd	1.78e	1,770bc	-
AP2.4S1.2	0.05f	7.31ab	2.68bc	131.17b	2.33de	2,063a	-
AP3.0S0.6	0.05f	6.80bc	0.25f	157.72a	5.26cde	1,856ab	-
AP3.0S1.2	0.07e	6.66bc	0.62ef	124.23bc	4.33cde	1,809ab	-
AP3.6S0.6	0.06f	6.58bcd	1.24cdef	159.26a	4.61cde	1,893ab	16.46
AP3.6S1.2	0.09cd	6.16cd	2.34bcd	172.86a	5.71cde	1,863ab	23.66
AP4.2S0.6	0.08d	6.91bc	1.59cdef	105.27de	15.13ab	1,817ab	15.13
AP4.2S1.2	0.08d	6.38bcd	2.22bcd	107.17cd	10.04bc	1,701ab	23.97
AP4.2S1.8	0.09cd	7.00bc	3.19b	127.10b	19.59a	1,664b	27.19
AP4.8S1.2	0.10c	7.02bc	0.85def	116.35bcd	8.03cd	1,805ab	27.06
AP4.8S1.8	0.11b	5.63d	1.67cdef	129.99b	15.76a	1,653b	28.82
AP4.8S2.4	0.13a	6.24cd	4.62a	88.95e	8.64c	1,885ab	30.51

กรมวิชาการเกษตร

หมายเหตุ - ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในด้านสดมภ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี DMRT

- TS = ความต้านทานแรงดึงขาด (Tensile strength)
- E = เปอร์เซ็นต์การยืดตัว (Elongation)
- WVTR = อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (Water Vapor Transmission Rate)
- DWL = อัตราการย่อยสลายทางธรรมชาติ (Dry Weight Loss)

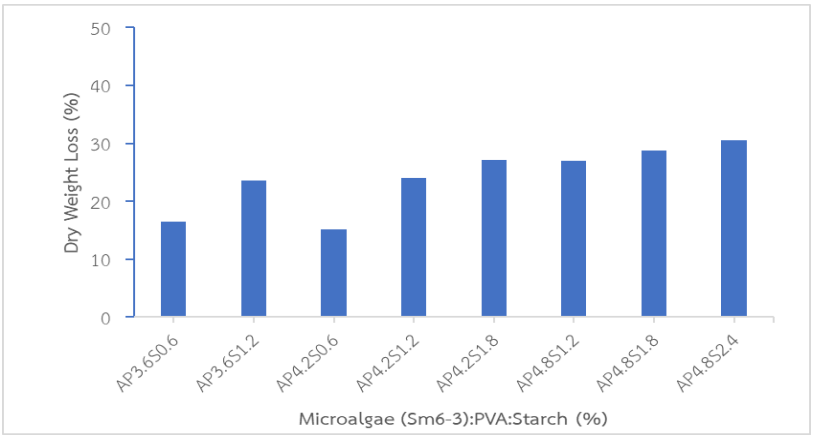
จากผลทดสอบแผ่นฟิล์มสาหร่ายในตารางที่ 2 พบว่าทุกกรรมวิธีสามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มได้ดี มีความยืดหยุ่น แกะออกจากแผ่นอะคริลิคได้ง่าย มีลักษณะโปร่งแสง มีสีเขียวตามสีของเซลล์สาหร่าย โดยผลทดสอบของแผ่นฟิล์มสาหร่ายมีดังนี้ ความหนาของฟิล์มอยู่ในช่วง 0.05-0.13 มม. แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณส่วนผสมเพิ่มขึ้น โดยสูตร $AP_{4.2}S_{2.4}$ มีค่าความหนาของฟิล์มสูงสุด ค่าความชื้นของฟิล์มอยู่ในช่วง 5.63-7.97 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) มีค่าสูงสุดในสูตร $AP_{2.4}S_{0.6}$ และลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณ PVA เพิ่มขึ้น โดยในสูตร $AP_{4.8}S_{1.2}$ มีค่าน้อยที่สุด ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์ม เป็นค่าที่บอกถึงความสามารถในการต้านทานน้ำ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของพลาสติกชีวภาพที่จะนำมาประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ได้ ซึ่งหากมีค่าสูงแสดงว่าฟิล์มมีความสามารถในการต้านทานน้ำต่ำ (Bourtoom *et al.,* 2008) ผลการทดลองพบว่าฟิล์มมีความสามารถในการละลายน้ำต่ำอยู่ในช่วง 0.25-4.62% แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และมีค่าสูงขึ้นเมื่ออัตราส่วนของสาร PVA กับแป้งสตาร์ชเพิ่มขึ้น โดยสูตร $AP_{3.0}S_{0.6}$ มีค่าความสามารถในการละลายน้ำต่ำที่สุด แสดงให้เห็นว่าแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของ PVA และแป้งสตาร์ชต่อเซลล์สาหร่ายแข็งแรงมากขึ้น ซึ่งเกิดจากพันธะไฮโดรเจนที่เกิดแรงกระทำกันทั้งภายในและภายนอกของโมเลกุล

คุณสมบัติเชิงกล เป็นค่าที่แสดงถึงความแข็งแรงและความยืดหยุ่นของของฟิล์มซึ่งหากมีค่าสูงก็สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ได้ดี โดยความแข็งแรงของฟิล์มเกิดขึ้นจากแรงกระทำทั้งภายในและภายนอกโมเลกุลผ่านพันธะไฮโดรเจนของหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) จากทั้งโมเลกุลของ PVA และแป้ง (Adriana *et al.,* 2015) ซึ่งผลการทดสอบความต้านทานแรงดึงขาด (Tensile Strength; TS) ของฟิล์มอยู่ในช่วง 88.95-172.86 kF/cm^2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยมีค่าสูงสุดในสูตร $AP_{3.6}S_{1.2}$ ที่ส่วนผสม PVA 30 % และแป้ง 10 % จากนั้นค่า TS จะลดลงเมื่อปริมาณ PVA มากกว่า 30 % (ภาพที่ 8) เปอร์เซ็นต์การยืดตัว (Elongation; E) ของฟิล์มอยู่ในช่วง 1.78-19.59 % แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยแผ่นฟิล์มสาหร่ายสามารถยืดตัวได้สูงสุดในสูตร $AP_{4.8}S_{1.2}$ หรือเมื่อเพิ่มปริมาณสาร PVA เพิ่มขึ้นที่ 40 % ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะของสาร PVA ในการเพิ่มความยืดหยุ่นของฟิล์มมากขึ้น ส่วนการเพิ่มปริมาณแป้งนั้นจะทำให้แผ่นฟิล์มมีความแข็งมากขึ้นเกิดการยืดตัวน้อยลงสอดคล้องกับค่าความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์ม คือแผ่นฟิล์มมีค่า TS มากขึ้นเมื่อเปรียบกับแผ่นฟิล์มที่มีปริมาณสาร PVA เท่ากัน

อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (WVTR) อีกคุณสมบัติที่สำคัญของแผ่นฟิล์มที่จะสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ได้เนื่องจากมีผลต่อการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ โดยผลการทดลองพบว่า ค่า WVTR ของแผ่นฟิล์มสาหร่ายอยู่ในช่วง 1,664-2,063 g/m^2/day ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยเมื่อเปรียบเทียบสัดส่วนของแป้งต่อสาร PVA มีค่ามากกว่า พบว่าในสูตร $AP_{2.4}S_{1.2}$ แผ่นฟิล์มที่มีแป้ง 10 % กับ PVA 20 % มีค่า WVTR สูงสุดเท่ากับ 2,063 g/m^2/day และมีค่าลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณ PVA และมีค่าต่ำสุดเมื่อมีส่วนผสมของ PVA 40 % ซึ่งสอดคล้องกับคุณสมบัติของสาร PVA ที่ชอบน้ำ (hydrophilic polymer) จึงละลายน้ำได้ส่งผลให้ค่า WVTR ลดลง

ผลการนำแผ่นฟิล์มสาหร่ายมาทดสอบการพับเป็นถุงเพาะชำและทำการซีลด้วยเครื่องซีลถุง พบว่าแผ่นฟิล์มสาหร่ายทั้ง 12 สูตรสามารถพับและซีลเป็นถุงเพาะชำได้ แต่เนื่องจากแผ่นฟิล์มที่ได้จากสูตร $AP_{2.4}S_{0.6}$ $AP_{2.4}S_{1.2.}$ $AP_{3.0}S_{0.6}$ และ $AP_{3.0}S_{1.2}$ ที่เติมสาร PVA 20 และ 25 % จำนวน 4 สูตรนั้น ค่อนข้างบางและเปราะทำให้สภาพถุงที่ขึ้นรูปได้ไม่เหมาะสมต่อการใช้งาน ภายหลังการนำแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้จาก 8 สูตร คือสูตร $AP_{3.6}S_{0.6}$, $AP_{3.6}S_{1.2}$, $AP_{4.2}S_{0.6}$, $AP_{4.2}S_{1.2}$, $AP_{4.2}S_{1.8}$, $AP_{4.8}S_{1.2}$, $AP_{4.8}S_{1.8}$ และ $AP_{4.8}S_{2.4}$ ที่เติมสาร PVA 30 35 และ 40 % นำไปทดสอบหาอัตราการย่อยสลายทางธรรมชาติ พบว่าหลังการทดสอบเป็นเวลา 7 วัน อัตราการย่อยสลายทางชีวภาพของแผ่นฟิล์มอยู่ในช่วง 15.13-30.51 % ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยสูตร $AP_{4.2}S_{0.6}$ มีการสูญเสียน้ำหนักของแผ่นฟิล์มน้อยที่สุดและเมื่อเพิ่มปริมาณของ PVA และแป้งมากขึ้น อัตราการย่อยสลายก็จะมีค่าสูงขึ้นตามลำดับ (ภาพที่ 46, ภาพที่ 47)

ศูนย์วิทยทรัพยากร



ภาพที่ 46 อัตราการย่อยสลายทางธรรมชาติของแผ่นฟิล์มผสม (สาหร่าย:PVA:แป้งสตาร์ช) ในวันที่ 7

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 47 แผ่นฟิล์มผสม (สาหร่าย:PVA:แป้งสตาร์ช) และการซีลขึ้นรูปถุงเพาะชำ

กรมวิชาการเกษตร

3.2 ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง (Output) (ภาพประกอบดัง ภาคผนวก ค)

ผลผลิตตามคำรับรอง	จำนวน	หน่วยนับ	ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง	จำนวน	หน่วยนับ	รายละเอียดผลผลิต (พร้อมแนบหลักฐาน)	เชิงคุณภาพ
1. องค์ความรู้	2	เรื่อง	**1. องค์ความรู้**	2	เรื่อง	1. เรื่อง สาหร่ายขนาดเล็กที่มีศักยภาพสูงในการนำไปใช้ประโยชน์ 2. เรื่อง เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระบบเปิดและการนำไปประยุกต์ใช้	องค์ความรู้ “รู้จริงเรื่องพืชกับกรมวิชาการเกษตร”เพื่อเผยแพร่สู่เกษตรกร ผ่านช่องทาง Smart box
2. ต้นแบบผลิตภัณฑ์		เรื่อง	**2. ต้นแบบผลิตภัณฑ์**				
- ระดับห้องปฏิบัติการ	6	ต้นแบบ	- ระดับห้องปฏิบัติการ	10	ต้นแบบ	1. สาหร่ายขนาดเล็กจำนวน 6 สายพันธุ์ - สายพันธุ์ที่ผลิตสารแคโรทีนอยด์คือ SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 - สายพันธุ์ที่ผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ได้คือ A052 - สายพันธุ์ที่ผลิตไขมันได้คือ CM01-4 และ KK20 - สายพันธุ์ที่ผลิตพอลิเมอร์ชีวภาพได้คือ Sm6-3 2. ผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวผสมสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก 3. ผลิตภัณฑ์แผ่นมาร์กหน้าผสมสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก 4. สีผงคลอโรฟิลล์ 5. สีผงแคโรทีนอยด์ 6. สีผงไฟโคบิลิน 7. ผลิตภัณฑ์ซุปที่ใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กเป็นสารให้ความหนืด 8. ผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าเสริมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก 9. ผลิตภัณฑ์ไบโอดีเซลจากไขมันของสาหร่ายขนาดเล็ก 10. ผลิตภัณฑ์พลาสติกชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก	1. หัวเชื้อเซลล์สาหร่ายบริสุทธิ์ที่เก็บอยู่ในอาหารแข็งที่พร้อมสำหรับนำมาเพาะเลี้ยง 2. ได้สูตรการผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางโดยใช้สารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กเป็นวัตถุดิบ 3. สีผงที่ผลิตได้ทั้ง 3 สี มีค่าความชื้นไม่เกิน 5.0% ซึ่งต่ำกว่าค่ามาตรฐานของผลิตภัณฑ์ผง และมีคุณภาพด้านสารปนเปื้อนและด้านจุลินทรีย์อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน 4. ได้พอลิแซ็กคาไรด์ที่สามารถใช้เป็นสารให้ความข้นหนืดในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดและใยอาหารที่ใช้เพื่อเพิ่มใยอาหารในผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้า 5. - ความบริสุทธิ์ของไบโอดีเซล 80 % ซึ่งมีค่าต่ำค่ามาตรฐานคุณภาพของไบโอดีเซลที่ควรมีค่าเมทิลเอสเตอร์มากกว่า 96.5% - ได้สูตรการเตรียมแผ่นฟิล์มที่มีลักษณะโปร่งแสง มีสีเขียวตามสีเซลล์สาหร่าย และสามารพับขึ้นรูปและซีลด้วยความร้อนทำเป็นถุงเพาะชำได้

กรมวิชาการเกษตร

ผลผลิตตามคำรับรอง	จำนวน	หน่วยนับ	ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง	จำนวน	หน่วยนับ	รายละเอียดผลผลิต (พร้อมแนบหลักฐาน)	เชิงคุณภาพ
3. ต้นแบบเทคโนโลยี			**3. ต้นแบบเทคโนโลยี**				
- ระดับห้องปฏิบัติการ		ต้นแบบ	- ระดับห้องปฏิบัติการ	1	ต้นแบบ	1.เทคโนโลยีการสกัดสารแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเทคนิค SFE	ได้สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดที่อุณหภูมิ 60°C ความดัน 500 บาร์
- ระดับภาคสนาม		ต้นแบบ	- ระดับภาคสนาม	1	ต้นแบบ	1. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบบ่อเปิด	ได้แบบบ่อเพาะเลี้ยงแบบเปิดนอกห้องปฏิบัติการและติดตั้งใบพัดมอเตอร์เพื่อให้เกิดการไหลเวียนน้ำ
4. กระบวนการใหม่			**4. กระบวนการใหม่**				
- ระดับห้องปฏิบัติการ	1	กระบวนการ	- ระดับห้องปฏิบัติการ	1	กระบวนการ	กระบวนการสกัดสารแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเทคนิค SFE	เป็นกระบวนการสกัดที่ไม่มีการใช้สารเคมี จึงวิธีที่ปลอดภัยกับผู้บริโภค
5. การประชุมเผยแพร่ผลงาน/สัมมนา			**5. การประชุมเผยแพร่ผลงาน/สัมมนา**				
- นำเสนอแบบโปสเตอร์	1	เรื่อง	- นำเสนอแบบโปสเตอร์	1	เรื่อง	เรื่อง การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Coelastrella* sp. แบบบ่อเปิดเพื่อการผลิตสารแคโรทีนอยด์	บทคัดย่อเพื่อนำเสนอในรูปแบบโปสเตอร์ต่อไป

3.3 ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง (Outcome) (ถ้ามี)

ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง	ปีที่เกิดผลลัพธ์
ผู้ประกอบการจดทะเบียนชื่อ PNG มีความประสงค์รับเทคโนโลยีสารสกัดแคโรทีนอยด์ ไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางขยายผลสู่เชิงพาณิชย์	2567

3.4 ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง (Impact) (ถ้ามี)

ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง	ปีที่เกิดผลกระทบ
ด้านเศรษฐกิจ : ผู้ประกอบการสามารถผลิตสารสำคัญใช้เองทดแทนการนำเข้าสารสำคัญจากต่างประเทศได้	2568
ด้านสังคม : กลุ่มเกษตรกรที่ไม่มีพื้นที่ทำการเกษตร สามารถใช้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบบ่อเปิด เพื่อผลิตชีวมวลสาหร่ายให้ผู้ประกอบการเพื่อสกัดสารสำคัญนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป	2569
ด้านสิ่งแวดล้อม :	

3.5 การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

วิธีการ/กระบวนการผลักดันงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ถ่ายทอดเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบบ่อเปิด ด้วยหัวเชื้อสายพันธุ์สาหร่ายที่มีศักยภาพในการผลิตสารสีและสารออกฤทธิ์ชีวภาพ และวิธีการสกัดสารด้วยสภาวะที่เหมาะสม เพื่อที่ผู้รับการถ่ายทอดสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพและเวชสำอาง และสีผงจากสารสีของสาหร่าย เพื่อทดลองหาความคุ้มค่าในการลงทุนได้

ด้านเศรษฐกิจ โดย ผู้ประกอบการจดทะเบียนชื่อ PNG

มีความสนใจสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็กที่เป็นสารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์นำไปทำเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เนื่องจากปัจจุบันได้ทดลองนำเข้าสารจากต่างประเทศมาทดลองทำเป็นผลิตภัณฑ์บ้าง เพื่อนำไปจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ เพื่อเปรียบเทียบความคุ้มค่าในการที่จะทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์ทดแทนการนำเข้า

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 4 สรุปผลและอภิปรายผล

สรุปผล

1. การคัดเลือกสาหร่ายขนาดเล็ก ได้สายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารสำคัญจำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6) *Coelastrum* sp. สายพันธุ์ (SK-KhY6) สายพันธุ์ *Coelastrella microporum* (A052) สายพันธุ์ *Botryococcus* sp. (CM01-4) สายพันธุ์ *Desmodesmus* sp. (KK20) และสายพันธุ์ *Nostoc* sp. (SM6-3) โดยแต่ละสายพันธุ์มีการเจริญเติบโตในอาหาร จำนวนวันในการเพาะเลี้ยง และศักยภาพในการผลิตสารสำคัญได้แตกต่างกัน ดังนี้

สาระสำคัญ	สายพันธุ์	สูตรอาหาร	จำนวนวันเพาะเลี้ยง	ความเข้มข้น NaCl (โมลาร์)	จำนวนวันเพาะเลี้ยงรวม
สารแคโรทีนอยด์	SK-QSGMF6	Modified Chu 13	15	0.3	30 วัน
	SK-KhY6	BG-11	9	0.3	24 วัน
พอลิแซ็กคาไรด์	A052	BG-11	15	0.3	30 วัน
ไขมัน	CM01-4	Modified Chu 13	25	0.2	35 วัน
	KK20	Modified Chu 13	25	0.2	35 วัน
พอลิเมอร์ชีวภาพ	SM6-3	BG-11 N Free	15	0.1	25 วัน

2. การใช้ปุ๋ยเคมีเพื่อทดแทนสูตรอาหารมาตรฐานในการเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิดขยายขนาด พบว่าปุ๋ย 16-8-8 เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SK-QSGMF6, SK-KhY6 และ A052 ปุ๋ย 15-15-15 เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย CM01-4 และ KK20 และปุ๋ย 8-24-24 เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sm6-3 แม้ว่าการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารจากปุ๋ยเคมีเพื่อเป็นทางเลือกในการลดต้นทุนค่าอาหาร าสาหร่ายมีการเจริญได้ดีและได้ปริมาณสารสกัดที่ต้องการ แต่ปริมาณผลผลิตชีวมวลที่ได้ยังน้อยกว่าการใช้สูตรอาหารมาตรฐาน

3. สารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย SK-QSGMF6 มีองค์ประกอบคือ เบต้าแคโรทีน ลูทีน ซีแซนธิน และแอสตาแซนธิน ปริมาณ 92.60 131.88 188.32 และ 202.33 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด และสาหร่าย SK-KhY6 มีองค์ประกอบคือ เบต้าแคโรทีน ไลโคปีน ลูทีน ซีแซนธิน และแอสตาแซนธิน ปริมาณ 27.74 32.77 84.47 266.37 และ 137.22 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด โดยสารสกัดที่ได้นั้นมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง จึงเหมาะสมกับการใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยการเลือกใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย SK-QSGMF6 ในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวเนื่องจากสารสกัดมีองค์ประกอบของสารแอสตราแซนธินสูง ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยในการลดริ้วรอยเมื่อใช้เป็นประจำต่อเนื่อง และการเลือกใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย SK-KhY6 ในผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า เนื่องจากสารสกัดมีองค์ประกอบของสารไลโคปีนที่ช่วยลดการอักเสบได้อย่างรวดเร็ว

4. การผลิตสีผงคลอโรฟิลล์ และสีผงแคโรทีนอยด์ ทำการสกัดสารสีจากเซลล์สาหร่ายด้วยเอทานอล 95% หลังการผสมสารสกัดเข้มข้นต่อมอลโตเด็กซ์ทรินต่อน้ำ อัตราส่วน 1:1:1 นำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนเข้า 130 °C สีเขียวผงที่ได้มีปริมาณคลอโรฟิลล์ 38.75 mg/100g และมีกลิ่นไม่พึงประสงค์ เมื่อนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมในปริมาณ 4% ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมยังคงมีกลิ่นไม่พึงประสงค์ สำหรับสีเหลืองผงที่ได้ มีปริมาณแคโรทีนอยด์ 19.39 mg/100g และมีกลิ่นไม่พึงประสงค์เล็กน้อย เมื่อนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมในปริมาณ 4% โดยที่กลิ่นนมและกลิ่นวานิลลาสามารช่วยกลบกลิ่นไม่พึงประสงค์ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมได้ การผลิตสีผงไฟโคบิลิน ทำการสกัดด้วยวิธีทางกายภาพคือ ผสมเซลล์สาหร่ายกับน้ำ อัตราส่วน 1:1 นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C ระยะเวลา 16 ชั่วโมง นำออกมาละลายที่อุณหภูมิห้อง ปั่นเหวี่ยงแยกส่วนใสนำไปผสมกับมอลโตเด็กซ์ทริน 10% โดยน้ำหนักและนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 110 °C สีฟ้าผงที่ได้มีปริมาณไฟโคบิลิน 36.96 mg/100g มีกลิ่นไม่พึงประสงค์เล็กน้อย เมื่อนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีม ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมไม่มีกลิ่นไม่พึงประสงค์

5. การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก ได้วิธีการสกัดที่ให้ปริมาณผลผลิตของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายสูงสุดเท่ากับ 3.97 % สามารถใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณ 1.5 % เป็นสารให้ความข้นหนืดในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดได้ และวิธีการสกัดใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอล 95 % ได้ปริมาณใยอาหารรวม 82.16 % ของน้ำหนักแห้ง หลังพัฒนาสูตรทำผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าที่เสริมใยอาหารจากสาหร่าย 3 % ทำให้มีปริมาณใยอาหารรวม 0.84 % ของน้ำหนักแห้ง

6. โดยการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ : น้ำ เท่ากับ 1 : 1 เวลาสกัด 70 นาที ให้ปริมาณผลผลิตของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายสูงสุดเท่ากับ 3.97 % การศึกษาองค์ประกอบมีปริมาณความชื้น 7.59 % คาร์โบไฮเดรต 87.50 % ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 82.19 และมีปริมาณกรดยูโรนิคทั้งหมด 5.82 % การศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กมีผลทำให้

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น และผลของ pH ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จะมีค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลจะเพิ่มขึ้นเมื่อ pH น้อยกว่า 6.4 จากวิธีการสกัดดังกล่าว ให้ปริมาณผลผลิตของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายสูงสุด 3.97% สามารถใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณ 1.5 % เป็นสารให้ความข้นหนืดในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดได้ และวิธีการสกัดใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอล 95 % ได้ปริมาณใยอาหารรวม 82.16 % ของน้ำหนักแห้ง หลังพัฒนาสูตรทำผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าที่เสริมใยอาหารจากสาหร่าย 3 % ทำให้มีปริมาณใยอาหารรวม 0.84 % ของน้ำหนักแห้ง

7. การสกัดไขมันจากชีวมวลสาหร่ายแห้งของสาหร่าย CM01-4 และ KK20 ด้วยตัวทำละลายอะซีโตนสามารถสกัดได้เปอร์เซ็นต์ไขมันสูงสุด เมื่อทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นแล้วได้ความบริสุทธิ์ของไบโอดีเซล 80 เปอร์เซ็นต์

8. การพัฒนาผลิตภัณฑ์พลาสติกชีวภาพจากชีวมวลสาหร่าย Sm6-3 ที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ด้วยสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 0.5 % ผสมกับสารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 30-40 % และแป้งสตาร์ช 5-20 % สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มมีลักษณะโปร่งแสง มีสีเขียวตามสีเซลล์สาหร่าย และสามารพับขึ้นรูปและซีลด้วยความร้อนทำเป็นถุงเพาะชำได้

อภิปรายผล

1. การศึกษาการสะสมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มสารแคโรทีนอยด์นั้นของสาหร่ายขนาดเล็กทั้ง 2 สายพันธุ์ คือ SK-QSGMF6 (*Coelastrella* sp.) และ SK-Khy6 (*Coelastrum* sp.) เป็นสายพันธุ์ที่สามารถให้ปริมาณสารสกัดแคโรทีนอยด์และค่าความเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สูง โดยศักยภาพในการผลิตสารแคโรทีนอยด์ทั้งสองสายพันธุ์ดังกล่าวให้ผลสอดคล้องกับผลของ Ganesh *et al.* (2015) พบว่าสายพันธุ์ *Coelastrella oocystiformis* ที่เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร BG11 และกระตุ้นการเพาะเลี้ยงด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 10 วัน สามารถสกัดสารแคโรทีนอยด์จากชีวมวลสาหร่ายได้ 1.97 % ต่อน้ำหนักแห้ง โดยองค์ประกอบของสารแคโรทีนอยด์นั้นประกอบด้วย เบต้าแคโรทีน, ลิวทีน, แอสตาแซนธิน, แคนทาแซนธิน และไฟโตฟลูอีน และองค์ประกอบของสารแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสายพันธุ์ *Coelastrum* sp. ของ Monrawat *et. al.* (2019) พบว่าหลังการเพาะเลี้ยงในอาหารวุ้นสูตร BG-11 เป็นเวลา 14 วัน ภายใต้สภาวะความเค็มของเกลือ NaCl ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิโมล สารแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้มีแอสตาแซนธิน แคนทาแซนธิน และลูทีน เป็นส่วนประกอบหลัก ผลการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่าย A052 สายพันธุ์ *Coelastrella* sp. พบว่าปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดที่สกัดได้นั้นยังมีปริมาณน้อยกว่าที่ได้จากสายพันธุ์ *Chlorococcum* sp. และ *Chlorella* sp. ในการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายน้ำจืดที่มีศักยภาพในการผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ของทวีทรัพย์ และคณะ (2559) พบว่าหลังการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอาหาร N-8 สาหร่าย *Chlorococcum* sp. AB1 เป็นเวลา 8 วัน ได้ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำที่เป็นสารสกัดหยาบสูงที่สุดเท่ากับ 29.18±1.65 % และสาหร่าย *Chlorella* sp. A หลังเพาะเลี้ยง 6 วัน มีปริมาณสารสกัดหยาบสูงที่สุดเท่ากับ 26.39±9.19 % ผลการสกัดไขมันได้จากชีวมวลสาหร่าย CM01-4 และKK20 พบว่าสาหร่ายมีการสะสมไขมันเพิ่มขึ้นมากกว่า 69 % และมากกว่าสาหร่าย *Botryococcus* sp. (25.8 %) ของ Chittra and Benjamas (2010) ที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำในภาคใต้ของประเทศไทย และมากกว่า *Chlorella* sp. (25 %) ของ ภัทระ และคณะ (2555) ที่ศึกษาการเพาะเลี้ยงด้วยการให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เวลาในการเพาะเลี้ยง 11วัน และการเพาะเลี้ยงสาหร่าย SM6-3 (*Nostoc* sp.) สอดคล้องกับผลการทดลองในสายพันธุ์ *Nostoc muscorum* NCCU-442 ของ Sabbir and Tasneem (2016) พบว่าสายพันธุ์นี้ให้พอลิเมอร์ชนิด PHB โดยเซลล์จะมีการสะสม PHB ตลอดระยะการเจริญเติบโตและมีปริมาณการสะสมสูงสุดเท่ากับ 6.44 % ในวันที่ 21 ของการเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นปริมาณ PHB ที่สะสมไว้จะมีปริมาณลดลงเนื่องจากถูกนำมาใช้ในการทำงานของเซลล์ และผลการกระตุ้นภายใต้ความเครียดจากการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 1 กรัมต่อลิตร หลังการเพาะเลี้ยงครบ 7 วันสามารถเพิ่มการชักนำให้มีการสะสมสารเพิ่มขึ้นมากกว่า 7 %

2. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาดแบบบ่อเปิด (open raceway pond) ปริมาตร 500 ลิตร เพื่อผลิตสารสำคัญด้วยการพัฒนาสูตรอาหารจากปุ๋ยเคมีทางการเกษตรทดแทนสูตรอาหารมาตรฐาน และการกระตุ้นการสะสมสารสำคัญด้วยสภาวะความเค็มจากเกลือโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.1 0.2 และ 0.3 โมลาร์ โดยตลอดระยะเวลาในการศึกษาในครั้งนี้มีปริมาณความเข้มของแสงแดดอยู่ในช่วง 10-17 kLux และอุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ในช่วง 28-37 องศาเซลเซียส โดยสูตรปุ๋ย 16-8-8 ให้ผลการเจริญเติบโตได้ดีกับสาหร่าย SK-QSGMF6, SK-KhY6 และ A052 สาหร่ายมีการเจริญเติบโตสูงสุด $7.13x10^5$ $1.26x10^6$ และ $1.24x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยหลังการเติมโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ ได้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.95 1.75 และ 1.69 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลการสกัดชีวมวลสาหร่าย SK-QSGMF6 และ SK-KhY6 ให้ปริมาณสารสกัดแคโรทีนอยด์ 3.65 และ 3.56 mg/g_{dried} ตามลำดับ ส่วนไอโซเลท A052 ให้สารพอลิแซ็กคาไรด์ 6.51 %wt. สาหร่ายไอโซเลท CM01-4 เจริญเติบโตได้ดีด้วยอาหารปุ๋ย 15-15-15 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ 6.755×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.05 กรัมต่อลิตร หลังการเติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ สกัดไขมันได้ 5.65%wt. และสาหร่ายไอโซเลท Sm6-3 เจริญเติบโตได้ดีด้วยอาหาร

กรมวิชาการเกษตร

ปุ๋ย 8-24-24 มีอัตราการให้ผลผลิตเท่ากับ 1.22 กรัมต่อลิตร หลังการเติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ได้ปริมาณสารสกัดพอลิเมอร์ชีวภาพ 0.33 กรัมต่อกรัมสาหร่ายสด แม้ว่าการทดสอบการเพาะเลี้ยงขยายขนาดด้วยสูตรอาหารจากปุ๋ยเคมีเพื่อเป็นทางเลือกในการลดต้นทุนค่าอาหาร พบว่าสาหร่ายมีการเจริญได้ดีและได้ปริมาณสารสกัดที่ต้องการ แต่ปริมาณผลผลิตชีวมวลที่ได้ยังน้อยกว่าการใช้สูตรอาหารมาตรฐาน

3. สารสกัดกลุ่มแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายสายพันธุ์ *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6) มีองค์ประกอบคือ เบต้าแคโรทีน ลูทีน ซีแซนธิน และแอสตาแซนธิน ปริมาณ 92.60 131.88 188.32 และ 202.33 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด และสาหร่าย *Coelastrum* sp. (SK-KhY6) มีองค์ประกอบคือ เบต้าแคโรทีน ไลโคปีน ลูทีน ซีแซนธิน และแอสตาแซนธิน ปริมาณ 27.74 32.77 84.47 266.37 และ 137.22 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด โดยสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่สกัดได้เมื่อเทียบกับ วรภา (2540) ซึ่งเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กสายพันธุ์ *Haematococcus pluvialis* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ผลิตแอสตาแซนธินสูงสุด ภายใต้สภาวะควบคุม ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส โดยให้แสงสว่าง 24 ชั่วโมง ภายใต้ความเข้มแสง 100 kLux และบังคับให้สะสมแอสตาแซนธิน โดยเติมโซเดียมอะซิเตต 21.9 มิลลิโมลาร์ ซึ่งสกัดแอสตาแซนธินในช่วงสาหร่ายสีแดงและสีเขียวได้ 1.27% และ 0.7% มากกว่าสายพันธุ์ *Coelastrella* sp. ถึง 47 และ 25.9 เท่า ตามลำดับ แต่เป็นการเลี้ยงภายในห้องปฏิบัติการในระบบปิดต้องควบคุมอุณหภูมิ สภาวะความเข้มของแสง จึงไม่สามารถเลี้ยงได้ทั่วไป เนื่องจากต้องลงทุนโรงเรือนราคาสูง และหากต้องการเลี้ยงปริมาณมาก ต้องใช้พื้นที่มาก ประกอบกับสูตรอาหาร และการบังคับให้สะสมแอสตาแซนธินด้วยโซเดียมอะซิเตตมีต้นทุนสูงกว่ามาก แต่สาหร่ายสีเขียวสายพันธุ์ *Coelastrella* sp. สามารถเลี้ยงได้ในระบบเปิด และกระจายพื้นที่เลี้ยงได้กว้างขวาง ด้วยต้นทุนโรงเรือนและการดูแลรักษาที่ถูกกว่า เพียงใช้ปุ๋ยเป็นอาหาร ในสภาวะแสงและอุณหภูมิตามธรรมชาติ และบังคับให้สาหร่ายสะสมแอสตาแซนธินด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ (เกลือแกง) เพียง 0.3 mol/L (0.012 kg/L) จึงสะดวกต่อการเลี้ยงและมีต้นทุนในการเลี้ยงต่ำกว่า

โดยสารสกัดที่ได้นั้นมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง จึงเหมาะสมกับการใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยการเลือกใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย SK-QSGMF6 ในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวเนื่องจากสารสกัดมีองค์ประกอบของสารแอสตราแซนธินสูง โดยสารสกัดละลายได้ดีในน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์ที่ความเข้มข้น 2 % ประกอบกับน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์ยังใช้แต่งกลิ่นอาหาร เครื่องดื่ม และผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่างๆ รวมถึงใช้ในสุคนธบำบัดด้วย (ณัฏฐินี, 2559) เพราะมีสรรพคุณช่วยผ่อนคลายความเครียด ปวดศรีษะ หรือไมเกรน มีความอ่อนโยนกับผิวหนัง ช่วยในการบรรเทาอาการอักเสบ แพ้และระคายเคืองผิวหนัง นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัสก่อโรคหลายชนิด เช่น ไวรัสเริม (herpes simplex virus) *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* และยังไม่พบรายงานผู้แพ้น้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์ในอัตราการใช้ 1-30 % (ฐาปนีย์, 2550) และการเลือกใช้สารสกัดแคโรทีนอยด์จากสาหร่าย SK-KhY6 ในผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า เนื่องจากสารสกัดมีองค์ประกอบของสารไลโคปีนที่ช่วยลดการอักเสบได้อย่างรวดเร็ว โดยนำสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กมาละลายในน้ำมันหอมระเหยกลิ่นกุหลาบที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักแล้ว สาเหตุที่เลือกใช้น้ำมันหอมระเหยกุหลาบ เนื่องจากสารสกัดสามารถละลายได้ แม้จะช้ากว่าน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์ แต่น้ำมันหอมระเหยกุหลาบมีกลิ่นหอมหวานละมุนในระดับ Middle note มากกว่าน้ำมันหอมระเหยคาโมมายล์ จึงเหมาะกับแผ่นมาส์กหน้ามากกว่า เนื่องจากจะต้องสัมผัสกับผิวเป็นเวลานาน นอกจากนั้นน้ำมันหอมระเหยกุหลาบยังมีสรรพคุณทางสุคนธบำบัดช่วยผ่อนคลายความเครียด กังวล ทำให้โลหิตไหลเวียนดีขึ้น ช่วยกระชับรูขุมขน ลดอาการระคายเคืองและต้านการอักเสบจากการติดเชื้อที่ผิวหนังได้อย่างดีเยี่ยม และยังไม่พบรายงานว่ามีผู้แพ้น้ำมันหอมระเหยกุหลาบในอัตราการใช้ 1-30 % ซึ่งสามารถเสริมฤทธิ์กับไลโคปีนได้อย่างดี เมื่อผสมสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กกับเบสเจลว่านหางจระเข้แล้วทำให้ได้เนื้อเจลที่มีค่าเป็นด่าง จึงต้องเติมกรดมาลิกซึ่งเป็น AHAs ธรรมชาติในการช่วยปรับกรดในเครื่องสำอางเพื่อให้เหมาะกับผิว โดยกรดมาลิกสามารถใส่ในเครื่องสำอางได้ปริมาณ 1 % (CIR, 2001)

4. การสกัดสารสีคลอโรฟิลล์จากเซลล์สาหร่ายด้วยเอทานอล 95 % ครั้งที่ 1 สารสกัดมีปริมาณสารสำคัญมากที่สุด คือ มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ 53.211 ug/g ปริมาณคลอโรฟิลล์บี 21.346 ug/g จากการสกัดทั้งหมด 3 ครั้งได้ปริมาณสารคลอโรฟิลล์มากกว่า 80 % ของปริมาณสารที่ได้รวมกัน 3 ครั้ง ดังนั้น จึงพิจารณาเลือกสภาวะการสกัดด้วยเอทานอล 95 % และทำการสกัด 1 ครั้ง หลังการระเหยภายใต้ความดันเพื่อลดปริมาตร ผสมสารสกัดต่อมอลโตเด็กซ์ทรินต่อน้ำ อัตราส่วน 1:1:1 นำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนเข้า 130 องศาเซลเซียส สีเขียวผงที่ได้มีปริมาณคลอโรฟิลล์ 38.75 mg/100g ผลผลิตสีผงที่ได้ (yield) เท่ากับ 15.72% การเก็บรักษาสีผงที่อายุการเก็บรักษาต่างๆ โดยพิจารณาค่าความแตกต่างของค่าสีโดยรวมระหว่างตัวอย่างกับตัวอย่างมาตรฐาน (ΔE) ถ้า ΔE มีค่าเท่ากับหรือมากกว่า 2.3 ถือว่าตัวอย่างมีความแตกต่างกับตัวอย่างมาตรฐาน (Sharma, 2003) พบว่า ค่าสีของสีผงที่เก็บรักษาเป็นเวลา 2 4 และ 6 เดือน มีค่า ΔE มากกว่า 2.3 ซึ่งแตกต่างจากสีผงเริ่มต้น (0 เดือน) การเปลี่ยนแปลงของความชื้น พบว่า เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้นสีผงมีความชื้นเพิ่มขึ้น โดยสีผงที่เก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน

กรมวิทยาศาสตร์

มีความชื้นเพิ่มขึ้นแตกต่างกับสีผงเริ่มต้น ในขณะที่ค่าวอเตอร์แอกทิวิตีและการละลายของสีผงที่อายุการเก็บบรักษา 0 2 4 และ 6 มีค่าเพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) สำหรับปริมาณคลอโรฟิลล์ของสีผง พบว่า การเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น มีผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง เมื่อนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโดยใส่สีผงปริมาณ 1 2 3 และ 4 % ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงมีสีแตกต่างกับผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ไม่ใส่สีผง และผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงปริมาณ 4 % มีปริมาณคลอโรฟิลล์มากที่สุด

การสกัดสารแคโรทีนอยด์ด้วยเอทานอล 95 % สารสกัดที่ได้มีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุด 6.93 ug/ml และสารสกัดมีสีแตกต่างกัน โดยสารสกัดจากเอทานอล 95 % มีสีเข้มมากที่สุด ดังนั้นจึงเลือกเอทานอลความเข้มข้น 95 % หลังการระเหยภายใต้ความดันเพื่อลดปริมาตร ผสมสารสกัดต่อมอลโตเด็กซ์ทรินต่อน้ำ อัตราส่วน 1:1:1 นำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมร้อนเข้า 130 องศาเซลเซียส สีเขียวผงที่ได้มีปริมาณแคโรทีนอยด์ 19.39 mg/100g ผลผลิตสีผงที่ได้ (yield) เท่ากับ 15.88 % ค่าสีไม่แตกต่างกับสีผงเริ่มต้น (0 เดือน) (ค่า ΔE น้อยกว่า 2.3) แต่สีผงที่เก็บรักษาเป็นเวลา 4 เดือน มีค่าสีแตกต่างกับสีผงเริ่มต้น (ค่า ΔE มากกว่า 2.3) สีผงที่อายุการเก็บรักษา 0 2 และ 4 เดือน มีความชื้นและค่าวอเตอร์แอกทิวิตีเพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) สำหรับปริมาณแคโรทีนอยด์ของสีผง พบว่า การเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น มีผลทำให้ปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลง โดยสีผงที่อายุการเก็บรักษา 2 และ 4 เดือน มีปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลงแตกต่างจากสีผงเริ่มต้น เมื่อนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมในปริมาณ 4 % มีปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุดแตกต่าง ($p\leq0.05$) กับไอศกรีมที่ใส่สีผง 3 2 และ 1 % สำหรับผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ไม่ใส่สีผงแต่ตรวจพบแคโรทีนอยด์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมีไข่เป็นส่วนประกอบด้วย นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ได้ไม่มีกลิ่นไม่พึงประสงค์ อาจเป็นเพราะกลิ่นนมและกลิ่นวานิลลาช่วยลดกลิ่นไม่พึงประสงค์นั้น

การสักดสารสีไฟโคบิลินวิธีทางกายภาพคือ ผสมเซลล์สาหร่ายกับน้ำ อัตราส่วน 1:1 นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 16 ชั่วโมง นำออกมาละลายที่อุณหภูมิห้องและแยกส่วนของของเหลวนำไปผสมกับมอลโตเด็กซ์ทริน 10-30 % โดยน้ำหนัก และนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ได้ผงสีจากการผสมมอลโตเด็กซ์ทริน 10 % มีความชื้นมากที่สุด ($p\leq0.05$) แต่ค่าสีของสีผงมีสีเข้มที่สุดกว่า สังเกตได้จากค่าสี L* (ความสว่าง) ของสีผงที่ผสมมอลโตเด็กซ์ทริน 10% มีค่าต่ำที่สุด และค่าสี b* (เหลือง-น้ำเงิน) มีค่าน้อยที่สุด นั่นคือแสดงความเป็นสีน้ำเงินเข้มมากกว่าสีผงที่ผสมมอลโตเด็กซ์ทริน 20 และ 30 % การละลายน้ำของสีผงที่ผสมมอลโตเด็กซ์ทริน 10 20 และ 30 % ไม่มีความแตกต่างกัน สำหรับปริมาณสารไฟโคบิลินพบว่า สีผงที่ผสมมอลโตเด็กซ์ทริน 10% มีปริมาณสารไฟโคบิลินมากที่สุด ($p\leq0.05$) ถึงแม้ว่าสีผงที่ผสมมอลโตเด็กซ์ทริน 10 % จะมีความชื้นมากที่สุด แต่มีค่าไม่เกิน 5.0% ซึ่งโดยทั่วไปผลิตภัณฑ์ผง เช่น นมผง (กระทรวงสาธารณสุข, 2556) กาแฟสำเร็จรูป (กระทรวงสาธารณสุข, 2543) ดังนั้นจึงเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการทำแห้งแบบพ่นฝอย สีฟ้าผงที่ได้มีปริมาณไฟโคบิลิน 36.96 mg/100g มีกลิ่นไม่พึงประสงค์เล็กน้อย เมื่อนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีม ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมไม่มีกลิ่นไม่พึงประสงค์ การประยุกต์ใช้สีผงไฟโคบิลินในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมนมในปริมาณ 0 1 2 3 และ 4 % ค่าสีของผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมีค่า ΔE มากกว่า 2.3 แสดงว่าผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงมีสีแตกต่างกับผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ไม่ใส่สีผง และผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ใส่สีผงปริมาณ 4 % มีปริมาณไฟโคบิลินมากที่สุดแต่ไม่แตกต่าง ($p>0.05$) กับไอศกรีมที่ใส่สีผง 3 % นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่ได้ไม่มีกลิ่นไม่พึงประสงค์ อาจเป็นเพราะกลิ่นนมและกลิ่นวานิลลาช่วยลดกลิ่นไม่พึงประสงค์นั้น

5. การผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กโดยการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส อัตราส่วนของแข็งที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์ : น้ำ เท่ากับ 1 : 1 เวลาสกัด 70 นาที ให้ปริมาณผลผลิตของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายสูงสุดเท่ากับ 3.97 % ซึ่งวิธีการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยน้ำนี้สอดคล้องกับวิธีการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายของ นพรัตน์ และคณะ (2553) ซึ่งทำการสกัดสาหร่ายผมนาง สาหร่ายผักกาดทะเล และสาหร่ายขนนกด้วยน้ำและเอทานอล พบว่าการสกัดสาหร่ายผมนางและสาหร่ายผักกาดทะเลด้วยน้ำต้มเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์มากกว่าการสกัดด้วยเอทานอลในทุกชนิดของสาหร่าย ซึ่งอาจเนื่องจากน้ำตาลอิสระที่มีอยู่ในสาหร่ายสามารถละลายน้ำได้ดีกว่าเอทานอล การศึกษาองค์ประกอบมีปริมาณความชื้น 7.59 % คาร์โบไฮเดรต 87.50 % ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 82.19 และมีปริมาณกรดยูโรนิคทั้งหมด 5.82 % การศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็กมีผลทำให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้น และผลของ pH ของสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์จะมีค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลจะเพิ่มขึ้นเมื่อ pH น้อยกว่า 6.4 ซึ่งเกิดจากในสภาวะที่เป็นด่าง $[OH]^-$ จะไปลดพันธะไฮโดรเจนภายในและระหว่างโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์ ทำให้การขยายตัวระหว่างโมเลกุลเกิดได้น้อยลง ส่งผลให้ค่าความหนืดและความแข็งแรงของเจลลดลง (จิตรา และคณะ, 2550) จากวิธีการสกัดดังกล่าว ให้ปริมาณผลผลิตของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายสูงสุด 3.97 % สามารถใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณ 1.5 % เป็นสารให้ความข้นหนืดในผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดได้ และคุณสมบัติของซุปข้าวโพดที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าซุปข้าวโพดที่เติมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ 1.5 % มีค่าความข้นหนืดลดลง

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

และมีค่าการแยกชั้นของซุปข้าวโพดเพิ่มขึ้น ใกล้เคียงกับซุปข้าวโพดที่เติมแซนแทนกัม 1 % (สารทางการค้า) และวิธีการสกัดใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยเอทานอล 95 % ได้ปริมาณใยอาหารรวม 82.16 % ของน้ำหนักแห้ง หลังพัฒนาสูตรทำผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าที่เสริมใยอาหารจากสาหร่าย 3 % ทำให้มีปริมาณใยอาหารรวม 0.84 % ของน้ำหนักแห้ง

6. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย CM01-4 และ KK20 ด้วยสูตรอาหาร Modified Chu 13 ที่เลือกใช้สารเคมีเกรดอุตสาหกรรม (เกรดการค้า) ในแบบบ่อเปิดและกระตุ้นด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์ สามารถให้ผลการเจริญเติบโตได้ดีกว่าปุ๋ยเคมีโดยมีอัตราการให้ผลผลิตชีวมวลสาหร่ายสเท่ากับ 1.85 และ 1.95 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และการสกัดไขมันด้วยตัวทำละลายอะซิโตนสามารถสกัดเปอร์เซ็นต์ไขมันสูงสุด เมื่อทำปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชั่นแล้วได้ความบริสุทธิ์ของไบโอดีเซล 80 % ซึ่งมีความบริสุทธิ์มากกว่าการทำปฏิกิริยากับชีวมวลสาหร่ายสดโดยตรง เพราะชีวมวลสาหร่ายสดนั้นมีส่วนของโปรตีนและคลอโรฟิลล์ที่จะถูกสกัดออกมาด้วยระหว่างการทำปฏิกิริยา

7. การพัฒนาผลิตภัณฑ์พลาสติกชีวภาพจากชีวมวลสาหร่าย Sm6-3 ที่ผ่านการพรีทรีตเมนต์ด้วยสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต 0.5 % ผสมกับสารพอลิไวนิลแอลกอฮอล์ 30-40 % และแป้งสตาร์ช 5-20 % สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มมีลักษณะโปร่งแสง มีสีเขียวตามสีเซลล์สาหร่าย และสามารพับขึ้นรูปและซีลด้วยความร้อนทำเป็นถุงเพาะชำได้ โดยแผ่นฟิล์มมีความสามารถในการละลายน้ำต่ำอยู่ในช่วง 0.25-4.62 % และมีค่าสูงขึ้นเมื่ออัตราส่วนของสาร PVA กับแป้งสตาร์ชเพิ่มขึ้น ซึ่งความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มที่บอกถึงความสามารถในการต้านทานน้ำของพลาสติกชีวภาพที่จะนำมาประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ได้ เนื่องจากแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของ PVA และแป้งสตาร์ชต่อเซลล์สาหร่ายแข็งแรงมากขึ้น ซึ่งเกิดจากพันธะไฮโดรเจนที่เกิดแรงกระทำกันทั้งภายในและภายนอกของโมเลกุล

ข้อเสนอแนะต่อผู้เกี่ยวข้องสำหรับการดำเนินงานในระยะต่อไป

สามารถนำสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่คัดแยกเซลล์บริสุทธิ์ไว้ นำไปศึกษาการเพาะเลี้ยงระบบปิดแบบถังปฏิกรณ์ เพื่อเพิ่มอัตราการให้ผลิตผลชีวมวลสาหร่ายเพิ่มขึ้นได้

ปัญหาและอุปสรรคในการทำงาน

1. เนื่องจากวัตถุประสงค์ของโครงการเป็นการเพาะเลี้ยงในบ่อเพาะเลี้ยงแบบเปิด ดังนั้นปัจจัยแวดล้อมภายนอกทั้งสภาพอากาศและสิ่งปนเปื้อน มีผลให้การเพาะเลี้ยงสาหร่ายบางครั้งไม่ได้ผลการทดลองที่เป็นไปตามสมมุติฐานที่ตั้งไว้
2. จากภาวะเกิดโรคระบาดโควิด-19 ทำให้การเผยแพร่ผลงานและการถ่ายทอดผลงานวิยแก่กลุ่มเป้าหมาย จึงต้องเลื่อนระยะเวลาออกไปจากแผนที่วางไว้

กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

กัญญา บุตราช. 2560. แอสตราแซนธินสารต้านอนุมูลอิสระสีแดงจากธรรมชาติ. รายการบทความการแลกเปลี่ยนเรียนรู้ทั้งหมดของ Blog : วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 14/1/2560. สืบค้นจาก: https://erp.mju.ac.th/acticleDetail.aspx?qid=611. [ต.ค. 2564].

กนกศักดิ์ ลอยเลิศ และ ศิริพร เต็งรัง. 2556. การเตรียมแผ่นฟิล์มชีวภาพจากแป้งของพืชที่มีศักยภาพ. ใน: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2556. สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ. หน้า 312-328.

กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 197) พ.ศ. 2543. เรื่องกาแฟ.

กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 350) พ.ศ. 2556. เรื่องนมโค. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 130, ตอนพิเศษ 87 ง (ลงวันที่ 24 กรกฎาคม 2556).

กลอยใจ เชยกลิ่นเทศ. ม.ป.ป. สาหร่ายขนาดเล็ก Schizochytrium sp. แห้ง และน้ำมันที่สกัดจาก. สืบค้นจาก: http://fic.nfi.or.th/futurefood/upload/research_article/file13.pdf [ก.พ. 2564].

กองเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย. 2551. ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสาร Alpha hydroxyl acids (AHAs). กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข กรุงเทพ.

กฤติยา ไชยนอก. 2018. ดาวเรือง ดอกไม้สีเหลืองที่ดีต่อดวงตา. Med Hurb Guru รอบรู้เรื่องสมุนไพร สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 02 CED 2018ขนิจศากรณ์ เสรีสงแสง. 2553. การผลิตสีธรรมชาติจากใบข้าอ่อนและการใช้ประโยชน์. ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จิตรา สิงห์ทอง สุเวทย์ นิงสานนท์ และ Steve W. Cui. 2550. การศึกษาการสกัดองค์ประกอบและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดใบย่านาง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, อุบลราชธานี.

ฐาปนีย์ หงส์รัตนาวรกิจ. 2550. น้ำมันหอมระเหยและการใช้ในสุคนธบำบัด. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทร์วิโรฒ. โรงพิมพ์วิฑูรณ์การปก กรุงเทพมหานคร. 240 หน้า.

ณัฏฐินี อนันตโชค. 2559. ดอกคาโมมายล์. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. สืบค้นจาก: https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/321/ดอกคาโมมายล์/. [พ.ย. 2564].

นราทร สุขวิเสส. จารุวรรณ์ รัตนสกุลธรรม. และวุฒิพล จันทร์สระคู. 2562. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในระดับขยายขนาด. รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2562. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร: 492-507.

ทวีทรัพย์ แสงนุภาพ ทุติยาพร อู่เจริญ และบุษกร เจริญสุข. 2559. การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายน้ำจืดที่มีศักยภาพในการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิตสาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.), กรุงเทพฯ. 150 หน้า.

นพรัตน์ มะเห, ปิยรัตน์ ศิริวงษ์ไพศาล และอุไรวรรณ วัฒนกล. 2553. การสกัดและคุณสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายผมนาง สาหร่ายผักกาดทะเล และสาหร่ายขนนก. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

นุชนาถ แชมช่อย. 2557. สาหร่ายขนาดเล็ก: การเพาะเลี้ยงและการนำมาใช้ประโยชน (Microalgae: Cultivation and Utilization). วารสาร มฉก.วิชาการ. 17(34). 169-183.

บ้านจอมยุทธ. ม.ป.ป. ซีไฟโคไซยานิน. สืบค้นจาก: https://www.baanjomyut.com/ [ม.ค. 2565].

ประไพพิศ อินเสน. 2561. การยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินจากพืชกลุ่มเบอร์รีไทย. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 12 ฉบับที่ 2 ประจำเดือน พฤษภาคม-สิงหาคม 2561: 69-82.

กรมวิชาการเกษตร

ประยูร เอ็นมาก วิมลวรรณ วัฒนวิจิตร และศุภมาศ กลิ่นขจร. 2558. การวิจัยและพัฒนาการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายกลุ่ม Chlorophyta. หน้า 302-322. ใน: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2557. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร. กรมวิชาการเกษตร.

ประยูร เอ็นมาก ศิริพร เต็งรัง โกเมศ สัตยาวุธ ศุภมาศ กลิ่นขจร และกนกศักดิ์ ลอยเลิศ. 2559. การผลิตพอลิเมอร์ชีวภาพจากจุลินทรีย์. หน้า 637-651. ใน: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2558. กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร. กรมวิชาการเกษตร.

ประเวศน์ ชำนาญ. 2553. สาหร่าย พลังงานใหม่จากโลกใต้น้ำ. สำนักงานสิ่งแวดล้อม ภาคที่ 6. นนทบุรี.

ผกามาศ เจษฎ์พัฒนานนท์, เบญจมาส เชียรศิลป์ และสินินาฏ จงคง. 2559. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorella* sp. และกระบวนการผลิตไบโอดีเซล. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา. สืบค้นจาก: https://kb.psu.ac.th/psukb/handle/2016/12678. [ม.ค. 2565].

ภัทระ ทรวงสุรัตนกุล ณัฐภาส ผู้พัฒน์ สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล วิรัตน์ วาณิชย์ศรีรัตนา และประมุข ภระกูลสุขสถิตย์. 2556. การคัดเลือกสาหร่าย Chlorella spp. สายพันธุ์ที่มีปริมาณลิพิดสูงเพื่อผลิตไบโอดีเซล. หน้า 207-215. ใน : เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50: สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 31 ม.ค.-2 ก.พ. 2555. กรุงเทพฯ.

มนัสนันท์ นพรัตน์ไมตรี อณัญญา ปานทอง และวรางคณา กิจพิพิธ. 2558. ผลของการเสริมสาหร่าย *Schizochytrium* sp. ในอาหารไก่ไข่ต่อการย่อยได้ปรากฏของโภชนะ สมรรถภาพการผลิตและคุณภาพของไข่ไก่. วารสารเกษตร 31(2): 107-120.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ. 2564. บทที่ 53 รายละเอียดข้อมูลยาทางชีวภาพ: ไลโคปีน (Lycopene). โครงการเพิ่มศักยภาพฐานข้อมูลอุตสาหกรรมยาทางชีวภาพและเชื้อเพลิงชีวภาพ : 53.1-53.8. สืบค้นจาก: http://asp.plastics.or.th:8001/files/article_file/20181016081600u.pdf. [ต.ค. 2564].

มอก เอส 15-2561.2561. ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวผสมสมุนไพร. มาตรฐานอุตสาหกรรมเอส สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม.

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

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. สาหร่ายวิทยา (Phycology). ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ลิ่วมโนมนต์ กาญจนภาชน์. 2527. สาหร่าย. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 343 หน้า.

วงศ์เทวัญ แสนไชย สมเกียรติ จตุรงค์ล้ำเลิศ ชนวัฒน์ นิทัศน์วิจิตร และจตุรภัทร วาฤทธิ์. 2559. การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารโพลีแซคคาไรด์จากสาหร่ายเตาโดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคร่วม. เอกสารการประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่: 40

วิทวัส แจ้งเอี่ยม. 2553. กระบวนการผลิตแก๊สไฮโดรเจนโดยจุลสาหร่าย. บทความทางวิชาการ: วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ ปีที่ 13 (1): 68-77.

วันเพ็ญ ภูติจันทร์. 2549. วิทยาสาหร่าย (Phycology). พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

แวมารือนี มะดีเยาะ. 2561. ศักยภาพการผลิตสาหร่ายไส้ไก่ Ulva intestinalis เชิงพาณิชย์จากโรงเรือนเลี้ยง สาหรับผลผลิตสาหร่ายเกล็ดและสาหร่ายผง. สืบค้นจาก: http://www.bims.buu.ac.th/backoffice/DocLib3/...2059.pdf [ก.พ. 2563].

วรภา หีบจันทร์ตรี. 2540. ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยง *Haematococcus pluvialis* NIES 144 เพื่อผลิตแอสตราแซนธิน. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. วิทยาศาสตร์ (เทคโนโลยีทางชีวภาพ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 129 หน้า.

กรมวิชาการเกษตร

วรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์ และ มารุจ ลิมปะวัฒนะ. 2552. แอสตราแซนธิน: คุณค่าที่มากกว่าความเป็นสี. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม ปีที่ 5 ฉบับที่ 1 มิถุนายน 2552-พฤษภาคม 2553:7-12.

ศิริลักษณ์ อิ่มจงใจรัก จักรกฤษณ์ เตชะอภัยคุณ ภัทรา ผาสอน รัตตยิา แววนุกูล ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ และกนก รัตนะกนกชัย. 2557. สารสกัดซัลเฟตพอลิแซ็คคาไรด์จากสาหร่ายสีแดง (*Gracilaria fisheri*) ที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ. ว. วิทย์. กษ. 45(2) (พิเศษ): 325-328.

ศิริวิมล สุขสวัสดิ์ และ วสุ ปฐมอารีย์. 2555. บทบาทของแบคทีเรียต่อพลาสติกชีวภาพ. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 28(2): 285-304.

สุริยา สาสนรักกิจ และคณะ. 2543. การผลิตสารสีธรรมชาติจากสาหร่ายเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. ม.ป.ป. ข้อกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานสำหรับสารสกัดให้สีจากส่วนของพืชหรือสัตว์. สืบค้นจาก: http://www.fda.moph.go.th/sites/food/FoodAdditives/Extract-from-the-Plant-or-Animal.pdf [ม.ค. 2562].

อานนท์ ทัศยานนท์ชัย และ ธงชัย มาลา. 2558. การคัดเลือกไซยาโนแบคทีเรียสร้างเฮทเทอโรซีสต์บางชนิดเพื่อเป็นแหล่งในโตรเจนสำหรับปลูกข้าว. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 4(3). หน้า 1-12. ISSN 2286-6558. สืบค้นจาก: https://kuojs.lib.ku.ac.th/index.php/jstku/article/view/3412. [ม.ค. 2565].

อุรัจฉวี อุณหเลขกะ. 2555. สาหร่าย sustainable energy เพื่อโลก. วารสารธุรกิจสีเขียว. 6(3): 7-8. สืบค้นจาก: http://www.tei.or.th/publications/2013-download/2013-TBCSD-Greenbusiness-y6-3.pdf. [ม.ค. 2565].

Abe, K., H. Hattori and M. Hirono. 2007. Accumulation and antioxidant activity of secondary carotenoids in the aerial microalgae Coelastrella striolata var. multistriata. *Food Chemistry*. 100:656-661.

Adriana N. F., Cristian A. N., Raluca A. G., and Denis M. P. 2015. Thermal properties of water-resistant starch – polyvinyl alcohol films modified with cellulose nanofibers. *Polymer Degradation and Stability*. 121:385-397.

AOAC. 2000. Official methods of analysis. Gaithersburgs, MD: Association of Official Analytical Chemists.

AOAC. 2005. In Association of Official Analytical Chemists, 17th ed. A.O.A.C. Inc. Arlington, Virginia, USA.

Becker, E.W. 1994. Microalgae: Biotechnology and Microbiology. Cambridge University Press, Cambridge. 293 p.

Bennett, A. and L. Bogorad. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *The Journal of Cell Biology*. 58:419-435.

Bourtoom, T. 2008. Plasticizer effect on the properties of biodegradable blend film from rice starch-chitosan. *Songklanakarin Journal of Science and Technology.* 30(1):149-165.

Bourtoom, T. and Chinan M.S. 2008. Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. *LWT-Food Science and Technology*. 41:1633-1641.

Britton, G., R., Powls and R.M. Schulze. 1977. The Effect of Illumination on the Pigment Composition of Carotenic Mutant PG1 of *Scenedesmus obliquus*. *Arch Microbiol*. 113:61-68.

Burdon, K.L. 1946. Fatty Material in Bacteria and Fungi Revealed by Staining Dried, Fixed Slide Preparations. *Journal of Bacteriology*. 52:665-678.

Burtin, P. 2003. Nutritional value of seaweeds. Electronic *Journal of Environmental, Agricultural and Chemistry*. 2(4). 498-503.

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

Chillo, S., Flores, S., Mastromatteo, M., Conte, A., Gerschenson, Lia. And Del Nobile, M.A. 2008. *Journal of Food Engineering*. 88:159-168.

Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advance*. 25:294-306.

Chittra, Y. and C. Benjamas. 2010. Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand. *J. Bioresource Technology.* 102:3034-3040.

Ciegler, A. 1965. Microbial Carotenogenesis. *Adv Appl Microbiol*. 7:1-29.

CIR. 2001. Cosmetic Ingredient Review Expert Panel: 2001. Final Report on the Safety Assessment of Malic Acid and Sodium Malate. *International Journal of Toxicology.* 20(1):47–55.

Cotelle, N., J.L. Bernier, J.P. Catteau, J. Pommery, J.C. Wallet and E.M. Gaydou. 1996. Antioxidant properties of hydroxy-flavones. *Free Radical Biology and Medicine.* 20(1):35-43.

Dayananda, C., R. Sarada, V. Kumar and G. A. Ravishankar. 2007. Isolation and characterization of hydrocarbon producing green alga Botryococcus braunii from Indian freshwater bodies. *Electronic Journal of Biotechnology*. ISSN: 0717-3458. 10(1):14.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry.* 28:350-356.

Farahin, A.W., F.M. Yusoff, M. Basri, N. Nagao, and M. Shariff. 2018. Use of microalgae: Tetraselmis tetrathele extract in formulation of nanoemulsions for cosmeceutical application. *Journal of Applied Phycology Springer Nature* B.V.

Ganesh, I., N. Vinod, V. G. Yash, D. Swapnil, I. Mitali, M. Nimish and S. Vallari. 2015. Characterization of High Carotenoid Producing *Coelastrella oocystiformis* and its Anti-Cancer Potential. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 4(10):527-536.

Goodwin, A.L. 2012. Teaching as a profession: Are we there yet? In C. Day (Ed.), the Routledge *International Handbook of Teacher and School Developmen*t (pp. 44-56). Abingdon, UK: Taylor & Francis.

Hardeep Singh Gujral, Abhishek Sharma and Narpinder Singh. 2002. Effect of Hyprocolloids, storage temperature, and duration on the consistency of tomato ketchup. *International Journal of Food Properties.* 5(1):179–191.

Hossain, S. A.B.M., A. Salleh, A. N. Boyce, P. Chowdhury and M. Naqiuddin. 2008. Biodiesel fuel production from algae as renewable energy. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 4(3): 250-254.

John, H. and A. Ralph. 1960. Assay of poly-β-hydroxybutyrate acid. *Biol. Sci*. 31:33-36.

Karthikeyan D., Muthukumaran M. and Balakumar B.S. 2016. Mass Cultivation of Microalgae in Open Raceway Pond for Biomass and Biochemicals Production. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.* 3(2):247-260.

Kim, D. O. and C. Y. Lee. 2002. Extraction and isolation of polyphenolics. Current protocols Food Analytical Chemistry. R.E. Wrolsted, New York.

Kim, J. H., M. J. Chang and H. D. Choi. 2011. Protective effects of Haematococcus astaxanthin on oxidative stress in healthy smokers. *J. Med. Food*. 14(11):1469-1475.

Krinsky, N. I. 1989. Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radic Biol Med.* 7(6):617-35. doi: 10.1016/0891-5849(89)90143-3.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Kubo, I., I. Kinst-Hori, S.K. Chaudhuri, Y. Kubo, Y. Sánchez, T. Ogura. 2000. Flavones from Heterotheca inuloides: tyrosinase inhibitory activity and structural criteria. *Bioorg. Med. Chem.* 8:1749–1755.

Kuda, T., M. Tsunekana, H. Goto and Y. Araki. 2005. Antioxidant properties of four edible algae harvested in the Noto Peninsula, Japan. *Journal of Food Composition and Analysis.* 18:625-633.

Li, P., C. Luo, W. Sun, S. Lu, Y. Mou, Y. Peng and L. Zhou. 2011. In vitro antioxidant activities of polysaccharides from endophytic fungus *Fusarium oxysporum* Dzf17. *Afr. J. Microbiol. Res.* 5 (32):990-5993.

Lichtenthaler, K. and C. Buschmann. 2005. Chlorophyll and carotenoids: measurement and characterization by UV-Visible spectroscopoy, pp. 171-178. In R.E. Wrolstad, T.E. Acree, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwartz, C.F. Shoemaker, D. Smith and P. Sporns, eds. Handbook of Food Analytical Chemistry. Wiley-Interscience, Hoboken, New Jersey.

Liu, Z. Y., G. C. Wang and B. C. Zhou. 2008. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology.* 99(11):4717-4722.

MacArtain, P., PhD, Gill, C.I.R., Brooks, M., Campbell, R. and Rowland, I.R., PhD. 2007. Nutritional Value of Edible Seaweeds. *Nutrition Reviews*. 65(12):535-543.

Maria, B.A., M.C. Thalita, L.M.J. Ana, V.R.V. Maria, C. Joao, and B.B. Andre. 2017. Cosmetic attributes of algae- A review. *Algal Research.* 25: 483-487

Marinho-Soriano E. 2001. Agar Polysaccharides from *Gracilaria* Species (Rhodophyta, *Gracilariaceae*), *Journal of Biotechnology.* 89:81–84.

Mata, T.M., Martins, A.A., and Caetano, N.S. 2010. Microalgae fo biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14:217-232.

Mauseth, J. D. 1991. Botany: A Introduction to Plant Biology. Philadelphia: Sauders College Publishing Co., Inc

Melton, L.D. and B.G. Smith. 2001. Determination of the uronic acid content of plant cell walls using a colorimetric assay, pp. E3.3.1-E3.3.4. In R.E. Wrolstad, T.E. Acree, H. An, E.A. Decker, M.H. Penner, D.S. Reid, S.J. Schwartz, C.F. Shoemaker, D.M. Smith and P. Sporns, eds. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.

Miao, X. and Q. Wu. 2006. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. *Bioresource Technology*. 97(6):841-846.

Microalgae biotechnology. 2014. Microalgae and its metabolites. Retrieved February 24, 2020, form https://w3.ual.es/~jfernand/MBio70411204/Lesson1/Indice.html

Monrawat, R., J. Kantima, K. Pokchut, S. Sophon, W. Rungaroon and P. Thanit. 2019. Nutrient Deprivation-Associated Changes in Green Microalga *Coelastrum* sp. TISTR 9501RE Enhanced Potent Antioxidant Carotenoids. *Mar Drugs*. 17(6):328.

Panida Rattanapoltee. 2015. Upstream to downstream process for biodiesel production from extracted microalgae oil. Thesis for the degree of doctor of philosophy. Khon Kean University: Khon Kean.

Purnamayati, L., E.N. Dewi and R.A. Kurniasih. 2017. Phycocyanin stability in microcapsules processed by spray drying metho using different inlet temperature. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 116. (2018) 012076.

Qi, H., Q. Zhang, T. Zhao, R. Chen, H. Zhang, X. Nin and Z. Li. 2005. Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from Ulva pertusa (Chlorophyta) in vitro. *Int. J. Biol. Macromol.* 37(4):195-199.

Qin, J. 2005. Bio-hydrocarbons from algae: impacts of temperature, light and salinity on algae growth. Retrieved January 10, 2020, from https://rirdc.infoservices.com.au/downloads /05-025

Qin, S., G. X. Liu and Z. Y. Hu. 2008. The accumulation and metabolism of astaxanthin in Scenedesmus obliquus (Chlorophyceae). *Process Biochemistry*. 43(8):795–802.

Rao, R., A. R. Sarada and G. A. Ravishankar. 2007. Influence of CO_2 on growth and hydrocarbon productions *in Botryococcus braunii*. *J. Microbiol.Biotechnol.* 17(3):414-419.

Sabbir, A. and F. Tasneem. 2016. Cyanobacterial Polyhydroxybutyrate (PHB): Screening Optimization and Characterization. *PLoS One.* 11(6): e0158168.

Saewan, N., S. Koysomboon, and K. Chantrapromma. 2011. Anti-tyrosinase and anti-cancer activities of flavonoids from Blumea balsamifera DC. *Journal of Medicinal Plants Research.* 5(6):1018-1025.

Shankha K., Thangavel M., Sourav K.B., Sashi S., and Nirupama M. 2019. Microalgal biodiesel production at outdoor open and polyhouse raceway pond cultivations: A case study with *Scenedesmus accuminatus* using low-cost farm fertilizer medium. *Biomass and Bioenergy*. 120:156-165

Schaeffer, D. J. and V. S. Krylov. 2000. Anti-HIV Activity of Extracts and Compounds from Algae and Cyanobacteria. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 45(3): 208-227.

Sharma, G. 2003. Digital color imaging. CRC Press, New York.

Su, J.F., Huang, Z., Yuan, X.Y., Wang, X.Y. and Li, M. 2010. Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions. *Carbohydrate Polymers*. 79:145-153.

Sui, Z., Y. Gizaw and J.N. BeMiller. 2012. Extraction of polysaccharides from a species of *Chlorella*. *Carbohydrate Polymers.*90 (1):1-7.

Takaichi, S. 2011. Carotenoids in Algae: Distributions, Biosyntheses and Functions. *Mar. Drugs 2011, 9,* 1101-1118; doi: 10.3390/md906110.

Tongdeesoontorn, W., Mauer, L.J., Wongruong, S., Sriburi, P. and Rachtanapun, P. 2011. Effect of carboxymethyl cellulose concentration on physical properties of biodegradable cassava starch-based films. *Chemistry Central Journal*. 5:6.

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่าย

1. อาหารสูตร Modified Chu 13 medium (ยุวดีและฉมาภรณ์, 2547) มีองค์ประกอบหลักดังต่อไปนี้

องค์ประกอบหลัก	เตรียมเป็นสารละลาย 200 มิลลิลิตร	ปริมาตรสารละลายในสูตรอาหาร 1 ลิตร
$CaCl_2.2H_2O$	2.16 กรัม	5 มิลลิลิตร
Citric acid	4 กรัม	5 มิลลิลิตร
K_2HPO_4	1.6 กรัม	5 มิลลิลิตร
ferric citrate	0.4 กรัม	5 มิลลิลิตร
$MgSO_4.7H_2O$	4 กรัม	5 มิลลิลิตร
KNO_3	8 กรัม	5 มิลลิลิตร
Trace metals		1 มิลลิลิตร

โดยสูตรของ Trace metals เตรียมเป็นสารละลายจากปริมาณสารเคมีดังตารางนี้

องค์ประกอบ	เตรียมเป็นสารละลาย 100 มิลลิลิตร
$CoCl_2.6H_2O$	2.16 กรัม
H_3BO_3	4 กรัม
$MnCl_2.4H_2O$	1.6 กรัม
$Na_2MoO_4.6H_2O$	0.4 กรัม
$CuSO_4.5H_2O$	4 กรัม
$ZnSO_4.7H_2O$	1 กรัม

เมื่อผสมสูตรอาหารได้ในปริมาตร 1 ลิตร แล้วปรับ pH ให้ได้ 6.7 โดยใช้ 1 N KOH ร่วมกับ HCl จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

กรมวิชาการเกษตร

2. อาหารสูตร BG-11 medium มีองค์ประกอบหลักดังต่อไปนี้

องค์ประกอบหลัก	เตรียมเป็นสารละลาย 1 ลิตร	ปริมาตรสารละลายในสูตรอาหาร 1 ลิตร
$NaNO_3$	150 กรัม	10 มิลลิลิตร
K_2HPO_4	30 กรัม	1 มิลลิลิตร
$MgSO_4.7H_2O$	75 กรัม	1 มิลลิลิตร
$CaCl_2.2H_2O$	36 กรัม	1 มิลลิลิตร
citric acid	6 กรัม	1 มิลลิลิตร
ferric citrate	6 กรัม	1 มิลลิลิตร
$Na_2EDTA.2H_2O$	1 กรัม	1 มิลลิลิตร
Na_2CO_3	20 กรัม	1 มิลลิลิตร
Trace metals		1 มิลลิลิตร
F/2 vitamins		1 มิลลิลิตร

โดยสูตรของ Trace metals เตรียมเป็นสารละลายจากปริมาณสารเคมีดังตารางนี้

องค์ประกอบ	เตรียมเป็นสารละลาย 100 มิลลิลิตร
H_3BO_3	2.86 กรัม
$MnCl_2.4H_2O$	1.81 กรัม
$ZnSO_4.7H_2O$	0.222 กรัม
$Na_2MoO_4.6H_2O$	0.39 กรัม
$CuSO_4.5H_2O$	0.079 กรัม
$Co(NO_3)_2.6H_2O$	0.494 กรัม

เมื่อผสมสูตรอาหารได้ในปริมาตร 1 ลิตร แล้วปรับ pH ให้ได้ 6.7 โดยใช้ 1 N KOH ร่วมกับ HCl จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

กรมวิชาการเกษตร

3. อาหารสูตร BBM medium มีองค์ประกอบหลักดังต่อไปนี้

องค์ประกอบหลัก	เตรียมเป็นสารละลาย 400 มิลลิลิตร	ปริมาตรสารละลายในสูตรอาหาร 1 ลิตร
$NaNO_3$	10 กรัม	10 มิลลิลิตร
K_2HPO_4	1 กรัม	10 มิลลิลิตร
$MgSO_4.7H_2O$	3 กรัม	10 มิลลิลิตร
$CaCl_2.2H_2O$	1 กรัม	10 มิลลิลิตร
NaCl	1 กรัม	10 มิลลิลิตร
EDTA Solution	EDTA 5 กรัม/KOH 3.1 กรัม	1 มิลลิลิตร
H_3BO_3	1.142 กรัม/100 มิลลิลิตร	1 มิลลิลิตร
Trace metals		1 มิลลิลิตร

โดยสูตรของ Trace metals เตรียมเป็นสารละลายจากปริมาณสารเคมีดังตารางนี้

องค์ประกอบ	เตรียมเป็นสารละลาย 100 มิลลิลิตร
$ZnSO_4.7H_2O$	2.205 กรัม
$MnCl_2.4H_2O$	0.36 กรัม
MoO_3	0.1775 กรัม
$CuSO_4.5H_2O$	0.3925 กรัม
$Co(NO_3)_2.6H_2O$	0.1225 กรัม

เมื่อผสมสูตรอาหารได้ในปริมาตร 1 ลิตร แล้วปรับ pH ให้ได้ 6.7 โดยใช้ 1 N KOH ร่วมกับ HCl จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

กรมวิทยาศาสตร์

4. อาหารสูตร C medium มีองค์ประกอบหลักดังต่อไปนี้

องค์ประกอบหลัก	เตรียมเป็นสารละลาย	ปริมาตรสารละลายในสูตรอาหาร 1 ลิตร
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	3.75 กรัม/250 มิลลิลิตร	10 มิลลิลิตร
Biotin	0.005 กรัม/ 50 มิลลิลิตร	10 มิลลิลิตร
b-glycerophodphate.$5H_2O$	1.25 กรัม/250 มิลลิลิตร	10 มิลลิลิตร
Tris buffer	12.5 กรัม/250 มิลลิลิตร	10 มิลลิลิตร
$MgSO_4.7H_2O$	1 กรัม/250 มิลลิลิตร	10 มิลลิลิตร
KNO_3	2.5 กรัม/250 มิลลิลิตร	10 มิลลิลิตร
vitamin B_1		10 มิลลิลิตร
vitamin B_{12} *(Thiamine)*		10 มิลลิลิตร
PIV metal		3 มิลลิลิตร
Agar		15 กรัม

โดยสูตรของ PIV metal เตรียมเป็นสารละลายจากปริมาณสารเคมีดังตารางนี้

องค์ประกอบ	เตรียมเป็นสารละลาย 100 มิลลิลิตร
$CoCl_2.6H_2O$	0.004 กรัม
H_3BO_3	0.0196 กรัม
$MnCl_2.4H_2O$	0.0036 กรัม
$Na_2MoO_4.6H_2O$	0.0003 กรัม
$CuSO_4.5H_2O$	0.1 กรัม
$ZnSO_4.7H_2O$	0.022 กรัม

เมื่อผสมสูตรอาหารได้ในปริมาตร 1 ลิตร แล้วปรับ pH ให้ได้ 6.7 โดยใช้ 1 N KOH ร่วมกับ HCl จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวก ข

การศึกษาการเจริญของเซลล์สาหร่ายขนาดเล็ก

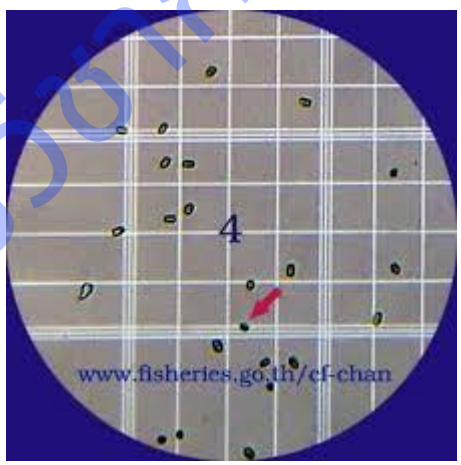
การติดตามการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก มีวิธีการดังนี้

1. วิธีการนับจำนวนเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็ก

ในการทดลองในครั้งนี้ใช้วิธีการนับจำนวนเซลล์ของสาหร่ายขนาดเล็กโดยใช้ Heamacytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยาย 400 เท่า แล้วคำนวณจำนวนเซลล์ของสาหร่าย (ยุวดี, 2546) ซึ่งการนับความหนาแน่นของสาหร่ายจำนวนเซลล์/ปริมาตรน้ำ จะมีตาราง 2 ตาราง (ลูกศรชี้ลง) โดยมีรายละเอียดบอกระดับความลึก โดยทั่วไปจะใช้ 0.1 มิลลิเมตร และบอกขนาดของช่องเล็กที่สุดที่ตีตารางไว้ (ลูกศรชี้ขึ้น)

รูปที่ 1 แสดงรายละเอียดของแผ่น Heamacytometer

เส้นขอบช่องสี่เหลี่ยมที่นับจะมี 3 เส้น ซึ่งตาราง Heamacytometer ที่ผู้ผลิตแนะนำให้ใช้นับสาหร่ายหรือแพลงก์ตอนได้ เส้นขอบสี่เหลี่ยมนั้นจะมี 3 เส้น โดยเส้นตรงกลางเป็นเส้นของพื้นที่ตารางส่วนเส้นนอกและเส้นใน มีไว้เพื่อให้ง่ายต่อการตัดสินใจว่าเซลล์ของสาหร่ายจะอยู่นอกหรือในพื้นที่ช่องนับ (ลูกศรชี้)



รูปที่ 2 ลักษณะของเส้นขอบตารางของแผ่น Heamacytometer

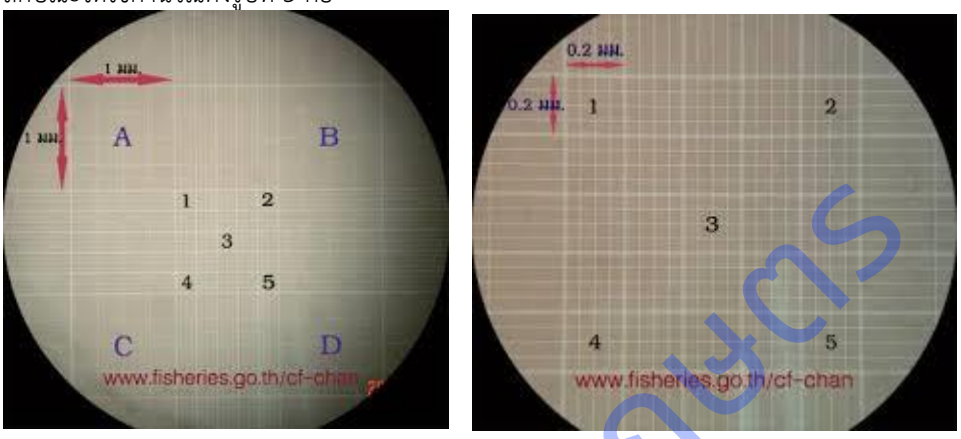
1.1 ขั้นตอนการใช้งาน Heamacytometer

1) วางกระจกปิดสไลด์ (Cover Glass) บน Hemacytometer ซึ่งแผ่นกระจกปิดสไลด์จะอยู่เหนือผิวตาราง 0.1 มิลลิเมตร
2) ใช้ไมโครปิเปตดูดนำตัวอย่างมา 9-10 ไมโครลิตร วางปลายปิเปตใกล้ขอบกระจกปิดสไลด์ จากนั้นค่อยๆ หยดน้ำตัวอย่างลงไป ซึ่งน้ำจะไหลเข้าใต้กระจกปิดสไลด์เองจนเต็มพื้นที่ตาราง (หยดทั้ง 2 ตาราง) หากหยดน้ำตัวอย่างมากเกินไปจะเลอะล้นกระจกปิดสไลด์ แต่ถ้าหากหยดน้อยเกินไปน้ำก็จะไหลเข้าไม่เต็มพื้นที่ตาราง ต้องล้างและหยดใหม่

กรมวิชาการเกษตร

1.2 วิธีการนับปริมาณเซลล์สาหร่าย

1) เมื่อน้ำตัวอย่างไหลเข้าใต้กระจกปิดสไลด์จนเต็มพื้นที่ตาราง จะสามารถคำนวณปริมาตรน้ำได้จาก พื้นที่ตาราง x ความลึก
2) เมื่อนับจำนวนสาหร่ายในตารางภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะได้จำนวนเซลล์ต่อปริมาตรน้ำของตารางนั้น
3) นำมาคำนวณเป็นจำนวนสาหร่ายต่อปริมาตรน้ำ 1 มิลลิลิตร โดยมีลักษณะของตารางภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 2 ลักษณะให้ใช้คำนวณดังรูปที่ 3 คือ



รูปที่ 3 ตารางบนผิว Heamacytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
กำลังขยาย (ซ้าย) 40 เท่า (ขวา) 100 เท่า

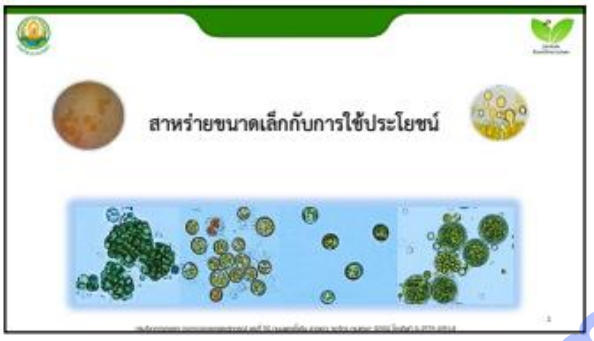
- รูปที่ 3 (ซ้าย) ตารางบนผิว Heamacytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า ช่อง A B C และ D แต่ละช่องมีความกว้างและยาวด้านละ 1 มิลลิเมตร ดังนั้นปริมาตรน้ำของแต่ละช่องเมื่อคูณกับความลึกของ Heamacytometer 0.1 มม. แล้วจะเท่ากับ 0.1 ลบ.มม. หรือ 0.0001 มล. (10^{-4}) ดังนั้นหากเลือกนับเซลล์สาหร่ายที่ช่อง A B C และ D ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายจะเท่ากับ ค่าเฉลี่ยเซลล์สาหร่ายในช่อง A B C D x 10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร
- รูปที่ 3 (ขวา) ตารางบนผิว Heamacytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า ช่อง 1 2 3 4 และ 5 แต่ละช่องมีความกว้างและยาวด้านละ 0.2 มิลลิเมตร ดังนั้นปริมาตรน้ำของแต่ละช่องเมื่อคูณกับความลึกของ Heamacytometer 0.1 มม. แล้วจะเท่ากับ 0.004 ลบ.มม. หรือ 0.000001 มล. (10^{-6}) ดังนั้นหากเลือกนับเซลล์สาหร่ายที่ช่อง ช่อง 1 2 3 4 และ 5 ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายจะเท่ากับ ค่าเฉลี่ยเซลล์สาหร่าย 5 ช่อง x 1/4 x 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ถ้าน้ำตัวอย่างมีการทำให้เจือจางต้องนำค่า Dilution factor เข้ามาคูณด้วย)

กรมประมง

ภาคผนวก ค

1. องค์ความรู้

1.1 เรื่อง สาหร่ายขนาดเล็กที่มีศักยภาพสูงในการนำไปใช้ประโยชน์
ผ่านคณะทำงานจัดการองค์ความรู้ ครั้งที่ 2/2564 เมื่อวันที่ 7 กันยายน 2564 เผยแพร่สู่เกษตรกรผ่านช่องทาง Smart box “รู้จริงเรื่องพืชกับกรมวิชาการเกษตร”



1.2 เรื่อง เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบบ่อเปิด เพื่อผลิตสารแคโรทีนอยด์และวิธีการสกัดสาร จำทำไฟล์เพื่อเผยแพร่สู่เกษตรกรผ่านช่องทาง Smart box “รู้จริงเรื่องพืชกับกรมวิชาการเกษตร”

2. ต้นแบบเทคโนโลยี

ต้นแบบบ่อเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กแบบบ่อเปิด

กรมวิชาการเกษตร

3. ต้นแบบผลิตภัณฑ์

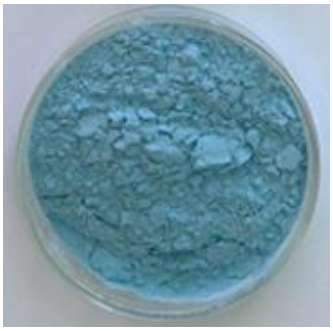
ต้นแบบผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวผสมสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก

ต้นแบบผลิตภัณฑ์แผ่นมาร์กหน้าผสมสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก

ต้นแบบผลิตภัณฑ์สีผงคลอโรฟิลล์และไอศกรีมนมผสมสีคลอโรฟิลล์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

ต้นแบบผลิตภัณฑ์สีผงแคโรทีนอยด์และไอศกรีมนมผสมสีแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

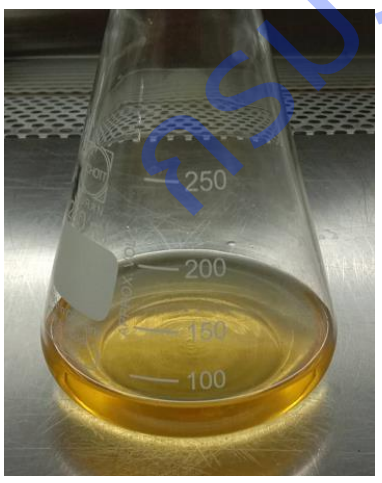
กรมวิชาการเกษตร

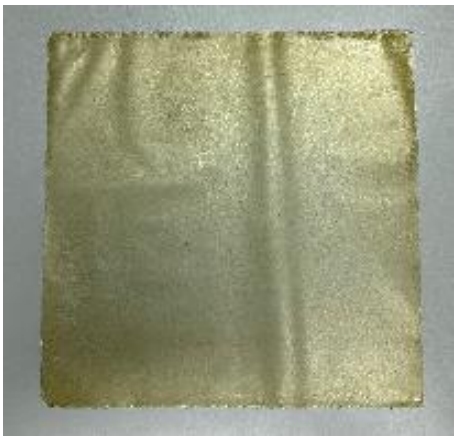


ต้นแบบผลิตภัณฑ์สีผงไฟโคบิลินและไอศกรีมนมผสมไฟโคบิลินจากสาหร่ายขนาดเล็ก

ต้นแบบสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และผลิตภัณฑ์ซุปข้าวโพดผสมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก

ต้นแบบใยอาหารและผลิตภัณฑ์เส้นพาสต้าผสมใยอาหารจากสาหร่ายขนาดเล็ก





ต้นแบบผลิตภัณฑ์ไบโอดีเซล ต้นแบบแผ่นฟิล์มสาหร่ายและผลิตภัณฑ์ถุงเพาะชำ

กรมวิชาการเกษตร

4. **การประชุมเผยแพร่ผลงาน/สัมมนา**

บทคัดย่อเพื่อนำเสนอในรูปแบบโปสเตอร์ในงานประชุม/สัมมนา สาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 10

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Coelastrella* sp. แบบบ่อเปิดเพื่อการผลิตสารแคโรทีนอยด์

นราทร สุขวิเสส[1], **ศศิธร พจนะแก้ว**[1] **และ ประยูร เอ็นมาก**[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในผลิตสารแคโรทีนอยด์จากสาหร่ายขนาดเล็ก *Coelastrella* sp. (SK-QSGMF6) จากการชักนำการสะสมสารด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์หลังการเพาะเลี้ยงด้วยสูตรอาหารมาตรฐาน Modified Chu-13 โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 กรรมวิธี ได้แก่ ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 0 0.1 0.2 และ 0.3 M จากนั้นศึกษาผลการใช้ปุ๋ยเคมีทางการเกษตรเพื่อทดแทนสูตรอาหารมาตรฐาน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 5 กรรมวิธี คือ 1) สูตรอาหาร Modified Chu-13 (กรรมวิธีควบคุม) กรรมวิธีที่ 2) และ 3) ปุ๋ยเคมี 16-8-8 โดยแปรผันอัตราส่วน 1/100 และ 1/500 ตามลำดับ และกรรมวิธีที่ 4) และ 5) ปุ๋ยเคมี 15-15-15 โดยแปรผันอัตราส่วน 1/100 และ 1/500 ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่า การชักนำด้วยเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0.3 M หลังจากสาหร่ายขนาดเล็กมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด ทำให้สาหร่ายมีการสะสมแคโรทีนอยด์ภายในเซลล์ได้สูงสุด 3.45 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ผลการเพาะเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี 16-8-8 อัตราส่วน 1/500 สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ 2.39×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 13 ของการเพาะเลี้ยง และผลทดสอบการเพาะเลี้ยงในบ่อเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิด (open raceway pond) ได้ผลผลิตชีวมวลสาหร่าย 1.95 กรัมต่อลิตร สามารถสกัดสารจากเซลล์สาหร่ายได้ปริมาณสารแคโรทีนอยด์สูงสุด 5.20 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะที่มีอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความดัน 500 บาร์ เหนือจุดวิกฤต โดยสารสำคัญในสารสกัดแคโรทีนอยด์ที่ได้ประกอบด้วย เบต้าแคโรทีน ลูทีน ซีแซนธินและแอสตาแซนธิน

คำสำคัญ: สาหร่ายขนาดเล็ก, *Coelastrella* sp., การเพาะเลี้ยงแบบบ่อเปิด, แคโรทีนอยด์

* ผู้ประพันธ์บรรณกิจ: nara_tor@hotmail.com

[1]กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900, ประเทศไทย

กรมวิชาการเกษตร