

ผลผลิตชีวมวลและสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายทะเลขนาดเล็ก *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 ภายใต้การเพาะเลี้ยงกลางแจ้ง

นารินทร์ จันทรสว่าง* เบญจวรรณ ประไพโร และ พลช อาจสามารถ

ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

35 หมู่ 3 เทคโนโลยีธานี ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

รับบทความ 22 ตุลาคม 2568 แก้ไขบทความ 7 พฤษภาคม 2569 ตอรับบทความ 11 มิถุนายน 2569

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการเจริญเติบโตและองค์ประกอบทางชีวเคมีของสาหร่ายขนาดเล็ก *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 ภายใต้การเพาะเลี้ยงกลางแจ้ง ด้วยถังพลาสติกสีขาวทรงสี่เหลี่ยมปริมาตร 600 ลิตร ระยะเวลา 9 วัน ผลการทดลองพบว่าความหนาแน่นของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร เพิ่มขึ้นจาก 0.10 ในวันแรกเป็น 0.50 ในวันที่ 9 ซึ่งสอดคล้องกับการเจริญเติบโตอย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีอัตราการเติบโตจำเพาะสูงสุดที่ 0.58 ต่อวันในวันที่ 1 ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นจาก 8.54 เป็น 9.33 และความเค็มเพิ่มขึ้นจาก 15 เป็น 19 ppt ซึ่งสัมพันธ์กับกิจกรรมการสังเคราะห์ด้วยแสงและการระเหยของน้ำในสภาวะกลางแจ้ง ผลผลิตชีวมวลอยู่ที่ 1,275 กรัมสด หรือ 24.84 กรัมแห้ง คิดเป็นผลผลิตเฉลี่ย 0.81 กรัม/น้ำหนักระยะการเพาะเลี้ยงต่อตารางเมตรต่อวัน จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมีพบว่าสาหร่ายมีปริมาณคลอโรฟิลล์ *a* 2.47 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง และแคโรทีนอยด์รวม 1.90 ± 0.23 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ปริมาณโปรตีน 11.48 ± 0.95 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง และคาร์โบไฮเดรต 127.46 ± 17.41 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง นอกจากนี้พบปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด 5.29 ± 0.02 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัม น้ำหนักแห้ง และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 16.66 ± 2.17 มิลลิกรัม เควอเซตินต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยง *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 ในระบบกลางแจ้ง อย่างไรก็ตามในการศึกษาต่อไปยังมีความจำเป็นต้องศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมเพิ่มเติม เช่น ความเข้มแสง อุณหภูมิ และองค์ประกอบของสารอาหาร เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ความสม่ำเสมอของผลผลิต และศักยภาพในการประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรม

คำสำคัญ : สาหร่ายขนาดเล็ก; สาหร่าย *Tisochrysis*; การเพาะเลี้ยงกลางแจ้ง; สารต้านอนุมูลอิสระ

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทร: +668 5159 9854, ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์: narin_c@tistr.or.th

Biomass Productivity and Antioxidant Composition of Marine Microalga *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 Under Outdoor Cultivation Condition

Narin Chansawang* Benjawan Praprai and Palod Artsamart

Biodiversity Research Centre, Thailand Institute of Scientific and Technological Research
35 Mu 3 Technopolis, Khlong 5, Khlong Luang, Pathum Thani 12120, Thailand

Received 22 October 2025; Revised 7 May 2026; Accepted 11 June 2026

Abstract

This study aimed to evaluate the growth performance and biochemical composition of the marine microalga *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 cultivated under outdoor cultivation using white rectangular plastic tanks with a volume of 600 L over a 9-day period. The results revealed a continuous increase in cell density, as indicated by the optical density at 750 nm (OD_{750}), which rose from 0.10 on day 1 to 0.50 on day 9. The culture exhibited a highest specific growth rate of 0.58 day^{-1} at day 1, reflecting efficient photosynthetic adaptation under outdoor conditions. The pH increased from 8.54 to 9.33, while salinity rose from 15 to 19 ppt, which was associated with photosynthetic activity and water evaporation under outdoor conditions. The total biomass yield reached 1,275 g (fresh weight) or 24.84 g (dry weight; DW.), with an average productivity of $0.81 \text{ g DW m}^{-2}\text{day}^{-1}$. Biochemical analysis revealed that the microalgal biomass contained chlorophyll *a* at $2.47 \pm 0.03 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$ and total carotenoids at $1.90 \pm 0.23 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$. The protein content was $11.48 \pm 0.95 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$ and carbohydrate content was $127.46 \pm 17.41 \text{ mg g}^{-1} \text{ DW}$. Additionally, total phenolic content was $5.29 \pm 0.02 \text{ mg gallic acid equivalent (GAE) g}^{-1} \text{ DW}$, and total flavonoid content was $16.66 \pm 2.17 \text{ mg quercetin equivalent (QE) g}^{-1} \text{ DW}$, indicating a high level of antioxidant potential. The results of this study indicate the feasibility of cultivating *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 in outdoor systems. However, further investigations are required to optimize key cultivation parameters, such as light intensity, temperature, and nutrient composition, in order to enhance growth performance, ensure production consistency, and improve its potential for industrial-scale applications.

Keywords : Microalgae; *Tisochrysis*; Outdoor Cultivation; Aquaculture; Antioxidants

* Corresponding Author. Tel.: +668 5159 9854, E-mail Address: narin_c@tistr.or.th

1. บทนำ

ปัจจุบันอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Aquaculture) มีบทบาทสำคัญอย่างมากต่อความมั่นคงทางอาหารของโลก โดยมีแนวโน้มการขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ส่งผลให้ความต้องการวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์น้ำเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย วัตถุดิบหลักที่นิยมใช้ เช่น ปลาป่น (Fish Meal) และน้ำมันปลา (Fish Oil) มีข้อจำกัดในด้านความยั่งยืนของทรัพยากรทางทะเล ต้นทุนการผลิตที่สูง และความผันผวนของราคา ทำให้เกิดความจำเป็นในการแสวงหาแหล่งวัตถุดิบทางเลือกที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม [1] สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) ได้รับความสนใจอย่างมากในฐานะวัตถุดิบทดแทนหรือเสริมในสูตรอาหารสัตว์น้ำ เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็กมีการเจริญเติบโตเร็ว สามารถเพาะเลี้ยงได้ในสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย และเป็นแหล่งของสารอาหารที่สำคัญ เช่น โปรตีน ไขมัน กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated Fatty Acids; PUFAs) วิตามิน แร่ธาตุ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive Compounds) หลายชนิดที่มีคุณสมบัติส่งเสริมสุขภาพสัตว์น้ำ [2] ในกลุ่มสาหร่ายน้ำเค็มที่มีศักยภาพสูง สกุล *Tisochrysis* หรือ *Isochrysis* (รวมถึงชนิดที่เคยถูกจัดเรียกว่า *Tisochrysis lutea* หรือ “*T-iso*”) เป็นสาหร่ายสีทอง (Haptophyte) ที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยเฉพาะในการเลี้ยงระยะตัวอ่อนของหอย กุ้ง และลูกปลา เนื่องจากมีโครงสร้างเซลล์ขนาดเล็ก เหมาะสมต่อการย่อย มีองค์ประกอบทางเคมีที่ครบถ้วน เช่น กรดไขมันโดโคซาเฮกซาอีโนอิก (Docosahexaenoic Acid; DHA) และสารสีแคโรทีนอยด์ (Carotenoids) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ [2] สาหร่าย *Tisochrysis lutea* เพาะเลี้ยงถึงปฏิกรณ์ขนาด 500 ลิตร นำไปเป็นอาหารให้กับลูกหอยนางรม [3] *T. lutea* ที่อุดมด้วย DHA อาจมีศักยภาพในการช่วยป้องกันโรคอ้วน และปรับปรุงการเผาผลาญไขมันและน้ำตาลในร่างกายได้เนื่องจากพบว่า

การเสริม *T. lutea* ให้กับหนูที่กระตุ้นให้เป็นโรคอ้วนนั้นช่วยลดน้ำหนักตัว ระดับน้ำตาล และอินซูลินในเลือด พร้อมทั้งลดปริมาณไขมันในร่างกายและไขมันสะสมในตับ อีกทั้งยังช่วยปรับปรุงระดับไขมันในเลือดบางชนิดและลดสารก่อการอักเสบ [4] นอกจากนี้องค์ประกอบทางโภชนาการแล้ว สาหร่ายในสกุล *Isochrysis* หรือ *Tisochrysis* ยังพบว่ามีสารฟีนอล (Polyphenols) และสารกลุ่มฟีนอลิก (Phenolic Compounds) ซึ่งเป็นสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary Metabolites) ที่มีบทบาทสำคัญในการปกป้องเซลล์จากความเครียดออกซิเดชัน (Oxidative Stress) และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่โดดเด่น [5] การศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายทะเลหลายชนิด เช่น *Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis* sp. และ *Tetraselmis* sp. พบว่าสาหร่ายนั้นสามารถสะสมสารฟีนอลิกได้ในระดับที่มีนัยสำคัญต่อการใช้ประโยชน์เชิงโภชนาการและชีวเวชภัณฑ์ [5], [6] อย่างไรก็ตาม การศึกษาที่มุ่งเน้นการเพาะเลี้ยง *Tisochrysis* sp. ใน การเพาะเลี้ยงกลางแจ้ง (Outdoor Cultivation) เพื่อประเมินองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณสารฟีนอลิก/ฟลาโวนอยด์ ยังมีอยู่อย่างจำกัด ระบบกลางแจ้งมีความท้าทายด้านการควบคุมปัจจัยแวดล้อม เช่น ความเข้มแสง อุณหภูมิ ปริมาณสารอาหารและความเค็ม ซึ่งส่งผลต่อการสังเคราะห์สารชีวโมเลกุลและเมแทบอไลต์ทุติยภูมิภายในเซลล์สาหร่ายโดยตรง การทำความเข้าใจความสัมพันธ์ระหว่างสภาพการเพาะเลี้ยงกับองค์ประกอบทางเคมีและสารต้านอนุมูลอิสระ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการพัฒนารูปแบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับอุตสาหกรรมที่ให้ผลผลิตทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพ ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำเค็มขนาดเล็ก *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 ในระบบกลางแจ้งขนาด 600 ลิตร เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของชีวมวล (เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต) รวมถึงปริมาณสารฟีนอลิก

และฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้จะประเมินศักยภาพของสาหร่ายชนิดนี้ ในฐานะวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และอาจส่งเสริมสุขภาพของสัตว์น้ำในระบบการเพาะเลี้ยงได้อย่างยั่งยืน

2. ระเบียบวิธีวิจัย

2.1 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

นำสายพันธุ์สาหร่ายน้ำเค็มขนาดเล็ก *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 จากศูนย์ความเป็นเลิศทางด้านสาหร่าย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร F/2 [7] ในขวดรูปชมพูนขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีปริมาตรอาหาร 150 มิลลิลิตร ให้ความเข้มแสงที่ 50 ± 10 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส เขย่าต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง ที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ระยะเวลา 5-7 วัน จากนั้นขยายหัวเชื้อเพื่อเพิ่มปริมาณโดยเพาะเลี้ยงสาหร่ายในถังคาร์บอยขนาด 10 ลิตร ที่มีปริมาตรอาหาร 7 ลิตร ด้วยอาหารสูตรดัดแปลงของ F/2 ที่ใช้น้ำทะเลเทียมโดยเติมเกลือ (NaCl) 19.957 กรัมต่อลิตร มีความเค็มที่ 15 ppt เพาะเลี้ยงนาน 5-7 วัน ได้ระยะแบ่งตัวทวีคูณ (Exponential Phase) สำหรับเป็นหัวเชื้อ (Stock Culture) ก่อนนำมาศึกษาต่อไป

2.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายกลางแจ้ง

เพาะเลี้ยงสาหร่ายในถังพลาสติกสีขาวทรงสี่เหลี่ยม ขนาดกว้าง 100 เซนติเมตร ยาว 120 เซนติเมตร สูง 116 เซนติเมตร (รูปที่ 1) ด้วยอาหารดัดแปลงสูตร F/2 ที่ใช้น้ำทะเลเทียมโดยเติมเกลือ 19.957 กรัมต่อลิตร ค่าความเค็มที่ 15 ppt เพาะเลี้ยงจำนวน 2 ถึง ปริมาตรอาหารถังละ 600 ลิตร เติมหหัวเชื้อสาหร่ายโดยใช้ปริมาณตั้งต้น 7 เปอร์เซ็นต์ของ

อาหาร ถึงเพาะเลี้ยงสาหร่ายวางกลางแจ้งที่มีหลังคาคลุมด้วยตาข่ายกรองแสง 60 เปอร์เซ็นต์ ความสว่าง:มีดของแสงอาทิตย์เป็น 12:12 ชั่วโมง มีการให้อากาศตลอดเวลาเพื่อไม่ให้สาหร่ายตกตะกอน เก็บสถิติอุณหภูมิของอากาศและอาหารเพาะเลี้ยงในถังด้วยเทอร์โมมิเตอร์ 2 ช่วงเวลา ได้แก่ 9.00 และ 16.00 นาฬิกา เก็บตัวอย่าง 3 จุดของถัง จุดละ 100 มิลลิลิตร เพื่อทำการเจริญเติบโตด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร (Hitachi, U-2900, Japan) เมื่อสิ้นสุดการทดลองเก็บเซลล์สาหร่ายด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000-7,000 รอบต่อนาที (Evodos, Type 10, Germany) จากนั้นซังน้ำหนักราบแห้งสด และนำไปอบในตู้อบ (Mettler, UF 450, Germany) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 7-8 ชั่วโมงหรือจนกระทั่งแห้งเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป



รูปที่ 1 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 ในถังพลาสติกสีขาวทรงสี่เหลี่ยม ขนาดปริมาตรอาหาร 600 ลิตร ให้อากาศตลอด 24 ชม. และลักษณะสีของอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายอายุ 9 วัน (บนซ้ายมือ)

2.3 การวัดการเจริญเติบโต

วัดค่าความหนาแน่นของเซลล์สาหร่าย โดยเก็บตัวอย่าง 3 จุดของแต่ละถังเพาะเลี้ยงสาหร่าย แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density; OD) ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Hitachi, U-2900, Japan) ที่ความยาวคลื่นแสง 750 นาโนเมตร คำนวณประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของสาหร่าย ด้วยอัตรา

การเติบโตจำเพาะ (Specific Growth Rate: μ) [8]
การผลิ ต ชีวมวล (Biomass) และ ผลผลิต (Productivity) [9] คำนวณดังสมการ (1), (2), (3)

$$\mu = \ln(OD_1/OD_0) / (t_1 - t_0) \quad (1)$$

$$\text{Biomass per Unit Area} = (X_1 - X_0) / \text{Area} \quad (2)$$

$$\text{Productivity} = \text{Biomass per Unit Area} / \text{Culture time} \quad (3)$$

โดยที่

μ = อัตราการเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)

OD_0 = ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่ายในวันเริ่มต้น

OD_1 = ค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่ายในวันสุดท้าย

t_0 = เวลาของวันเริ่มต้นที่เก็บเซลล์สาหร่าย (วัน)

t_1 = เวลาของวันสุดท้ายที่เก็บเซลล์สาหร่าย (วัน)

X_0 = น้ำหนักสาหร่ายเริ่มต้น (กรัมแห้ง)

X_1 = น้ำหนักสาหร่ายสุดท้าย (กรัมแห้ง)

Biomass per Unit Area = ชีวมวลสาหร่าย (กรัมแห้ง
สาหร่ายต่อตารางเมตร)

DW = น้ำหนักแห้งสาหร่าย (กรัม)

Productivity = ผลผลิต (กรัมแห้งสาหร่ายต่อตาราง
เมตรต่อวัน)

Area = พื้นที่ผิวของถังเพาะเลี้ยง (ตารางเมตร)

Culture time = จำนวนวันที่เพาะเลี้ยง (วัน)

2.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

2.4.1 การหาปริมาณสารสี

การหาปริมาณสารสี [10] โดยชั่งสาหร่ายแห้ง บดละเอียด 0.05 กรัม ลงในหลอดสกัดตัวอย่างที่มีเม็ด ปิดขนาด 1-2 มิลลิเมตร เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำหลอดตัวอย่างเข้าเครื่องทำให้ เซลล์แตก (Bead-beater, Biospec Product, USA) ที่ความเร็วรอบ 2,400 รอบต่อนาที นาน 20 วินาที แล้ว ปั่นเหวี่ยงที่ 8,000 รอบต่อนาที (Prism R™, Labnet International Inc., USA) นาน 6 นาที เก็บของเหลว

ส่วนบน ทำการสกัดซ้ำ 3 ครั้ง แล้วเก็บของเหลวส่วนบน มารวมกัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470, 648 และ 664 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการ ดูดกลืนแสง (Hitachi, U-2900, Japan) ปริมาณ คลอโรฟิลล์ เอ บี และแคโรทีนอยด์รวม คำนวณดัง สมการ (4, 5, 6)

$$\text{Chl } a = 13.36 \times A_{664} - 5.19 \times A_{648} \quad (4)$$

$$\text{Chl } b = 27.43 \times A_{648} - 8.12 \times A_{664} \quad (5)$$

$$\text{Total-car} = (1000 \times A_{470} - 1.63 \times \text{chl } a - 104.96 \times \text{chl } b) / 221 \quad (6)$$

โดยที่

Chl *a* = คลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง)

Chl *b* = คลอโรฟิลล์ บี (มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง)

Total-car = แคโรทีนอยด์ทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อกรัมแห้ง)

2.4.2 การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรต

การหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตด้วยวิธี Phenol-sulfuric acid [11] โดยชั่งสาหร่าย 1 กรัม เติมน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที (TOMY Autoclaves, SX-700, Japan) วางไว้ให้เย็น ที่ อุณหภูมิห้องแล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที (Prism R™, Labnet International Inc., USA) เป็น เวลา 10 นาที แยกสารสกัดส่วนใสไปวิเคราะห์ โดยปิ เปตต์สารสกัด 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร วางไว้ 2-3 นาที แล้วผสมให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่น 96 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้ววางไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที ผสมให้เข้ากัน จากนั้นวางที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วดูดสาร 200 ไมโครลิตร ลงในจานหลุม (96 well plate) ทำ 6 ซ้ำ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโน เมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทแบบหลาย โหมด (Multimode Microplate Reader; Infinite 200 PRO, Tecan Plate Readers, Switzerland)

จากนั้นคำนวณหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตเทียบกับสารมาตรฐานกลูโคส ความเข้มข้น 0-80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรต ดังสมการ

$$C = cV / (g \times 1000) \quad (7)$$

โดยที่

C = ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ต่อน้ำหนักแห้งสาหร่าย 1 กรัม)

c = ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

V = ปริมาตรของสารสกัด (มิลลิลิตร)

g = น้ำหนักของสาหร่ายที่นำมาสกัด (กรัม)

2.4.3 การหาปริมาณโปรตีน

การหาปริมาณโปรตีนดัดแปลงจากวิธีโลว์รี (Lowry Method) [12] ซึ่งสาหร่าย 0.02 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองแล้วเติมกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารเป็นเวลา 5 นาที วางไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิ 4-7 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างวางที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath, Vision Scientific Co. LTD, South Korea) เป็นเวลา 60 นาที แล้วปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เพื่อแยกตะกอนตัวอย่างกับสารละลายออกจากกัน เก็บส่วนสารละลายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมด โดยปิเปตต์สารสกัด 200 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย Lowry's reagent 2.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้ววางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที เติมสาร Folin-Ciocalteu Reagent 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันทันที พักไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นดูดสารตัวอย่าง 200 ไมโครลิตร (ทำ 6 ซ้ำ) ใส่ลงจาน 96 หลุม วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทแบบหลายโหมด (Multimode Microplate Reader; Infinite 200 PRO, Tecan Plate Readers,

Switzerland) คำนวณปริมาณโปรตีนเทียบกับสารมาตรฐาน Bovine serum albumin (BSA) ความเข้มข้น 0-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและคำนวณปริมาณโปรตีน ดังสมการ

$$C = cV / (g \times 1000) \quad (8)$$

โดยที่

C = ปริมาณโปรตีน (ต่อน้ำหนักแห้งสาหร่าย 1 กรัม)

c = ปริมาณโปรตีนที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

V = ปริมาตรของสารสกัด (มิลลิลิตร)

g = น้ำหนักของสาหร่ายที่นำมาสกัด (กรัม)

2.4.4 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยวิธี Potassium Acetate Colori-metric Method [13] นำสาหร่ายแห้ง 0.02-0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดสกัดตัวอย่าง แล้วเติมเมตทีดขนาด 1-2 มิลลิเมตร เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นบ่มไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง แล้วนำเข้าเครื่องทำให้เซลล์แตก (Bead-beater, Biospec Product, USA) ที่ความเร็ว 2,400 รอบต่อนาที นาน 20 วินาที (ซ้ำ 3 ครั้ง) นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเซลล์ ที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที (Prism R™, Labnet International Inc., USA) [14] เก็บส่วนใสใช้สำหรับวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกต่อไป โดยปิเปตต์สารสกัดสาหร่าย 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ (เข้มข้นร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตร) 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมสารละลายโพแทสเซียมแอสซิเตด (เข้มข้น 1 โมลาร์) 0.1 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 2.8 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันอีกครั้ง วางที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Hitachi, U-2900, Japan) คำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์ของตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐานเคอซีตินที่ความเข้มข้น

0-160 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและคำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ดังสมการ

$$C = cV / (g \times 1000) \quad (9)$$

โดยที่

C = ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (มิลลิกรัมเคอซิตินต่อกรัม)

c = ความเข้มข้นของเคอซิตินที่เทียบจากกราฟ

มาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

V = ปริมาตรของสารสกัด (มิลลิลิตร)

g = น้ำหนักแห้งของสาหร่าย (กรัม)

2.4.5 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด [15] โดยปิเปตต์สารสกัดสาหร่าย (ข้อ 2.4.4) 0.2 มิลลิลิตร เติมน้ำที่ผ่านการกำจัดไอออน 0.6 มิลลิลิตร และเติมสาร Folin-Ciocalteu's Phenol Reagent ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เพื่อให้สารทำปฏิกิริยากัน จากนั้นเติม 8 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้เป็น 3 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที วางในที่มืด จากนั้นปิเปตต์สารตัวอย่างดังกล่าวปริมาตร 200 ไมโครลิตร (ทำ 6 ซ้ำ) ลงในจานหลุม วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลทแบบหลายโหมด (Multimode Microplate Reader; Infinite 200 PRO, Tecan Plate Readers, Switzerland) คำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 25-250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และคำนวณปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ดังสมการ

$$C = cV / (g \times 1000) \quad (10)$$

โดยที่

C = ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัม)

c = ความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่เทียบจากกราฟมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

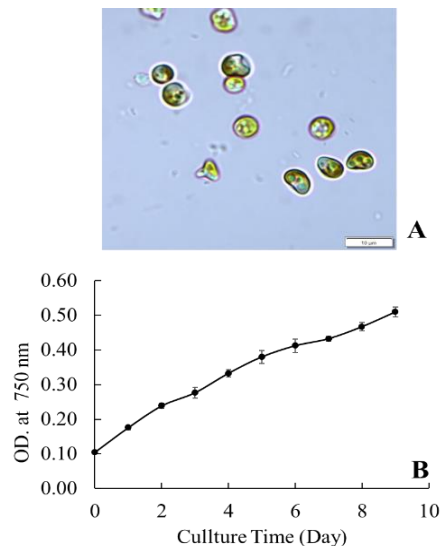
V = ปริมาตรของสารสกัด (มิลลิลิตร)

g = น้ำหนักแห้งของสาหร่าย (กรัม)

3. ผลการศึกษาและอภิปรายผล

3.1 การเจริญเติบโตของสาหร่าย

สาหร่าย *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 ระยะแบ่งตัวทวีคูณ (Exponential Growth Phase) เป็นหัวข้อสำหรับเพาะเลี้ยงระดับขยายกลางแจ้ง ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเมื่อทำการส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ *Tisochrysis* sp. เป็นเซลล์เดี่ยวที่มีลักษณะกลม-รี เซลล์มีสีเหลืองทอง-สีน้ำตาล เส้นผ่านศูนย์กลางยาวประมาณ 4-8 ไมโครเมตร (รูปที่ 2 A)



รูปที่ 2 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่าของการเพาะเลี้ยงกลางแจ้งวันที่ 9 (A) และค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density, OD) ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (B) ของการเพาะเลี้ยงสาหร่ายระยะเวลา 9 วัน

จากการวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD₇₅₀) ของสาหร่าย *Tisochrysis* sp. ในถังระดับขยาย 600 ลิตร บริเวณกลางถัง ระยะเวลา 9 วัน (รูปที่ 2 B) พบว่าค่า OD. เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่วันเริ่มต้นถึงวันสุดท้ายของการทดลอง แสดงถึงการเพิ่มขึ้นของมวลชีวภาพของการเพาะเลี้ยงกลางถัง โดยค่า OD. เริ่มต้นที่ประมาณ 0.10 ในวันแรก และเพิ่มขึ้นเป็นประมาณ 0.50 ในวันที่ 9 ของการเพาะเลี้ยง และมีค่าอัตราการเติบโตจำเพาะ 0.58 ต่อวัน อัตราการเพิ่มของค่า OD. มีความชันสูงในช่วงวันแรกถึงวันที่ 6 ซึ่งบ่งชี้ว่าเซลล์อยู่ในช่วง Exponential Growth Phase หลังจากนั้นกราฟเริ่มมีความชันลดลงในช่วงวันที่ 6-9 ซึ่งอาจเข้าสู่ระยะ Late Log หรือ Early Stationary Phase เมื่อสารอาหารหรือสภาวะแวดล้อมเริ่มเป็นปัจจัยจำกัด ลักษณะการเจริญดังกล่าวสอดคล้องกับแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงค่า pH และความเค็มที่เพิ่มขึ้นตามตารางที่ 1 โดยค่า pH สูงขึ้นจาก 8.54 เป็น 9.33 และความเค็มเพิ่มจาก 15 เป็น 19 ppt ซึ่งสัมพันธ์กับกิจกรรมการสังเคราะห์ด้วยแสงและการระเหยของน้ำในระบบกลางถัง ซึ่งมีอุณหภูมิกลางถังที่ประมาณ 27.5-34.5 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 2) การที่สาหร่าย *Tisochrysis* สามารถเจริญเติบโตได้ภายใต้ความเค็ม 15 ppt ซึ่งต่ำกว่าช่วงความเค็มของน้ำทะเลปกติ (ประมาณ 30-35 ppt) ที่มีรายงานว่าเหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายกลุ่มนี้ [17] ผลดังกล่าวสะท้อนถึงความสามารถของสาหร่าย *Tisochrysis* ในการปรับตัวต่อสภาวะแวดล้อม (Physiological Plasticity) ที่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะความเค็มที่ลดลง

จากการเพิ่มขึ้นของค่า OD. สะท้อนถึงการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Tisochrysis* sp. อย่าง

ต่อเนื่องในระบบเพาะเลี้ยงขนาด 600 ลิตร ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Tato และ Beiras [16] รายงานว่า *Tisochrysis lutea* มีอัตราการเจริญเติบโตสูงในระบบเปิดเมื่อได้รับแสงเพียงพอและมีการผสมที่ดีต่อเนื่อง นอกจากนี้ Almutairi และคณะ [17] รายงานว่าการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็กในช่วง Log Phase ค่า OD. และความหนาแน่นของเซลล์จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญภายใน 5-7 วันแรกของการเพาะเลี้ยง ซึ่งใกล้เคียงกับผลในงานวิจัยนี้ การที่ค่า OD. เริ่มมีแนวโน้มคงที่หลังวันที่ 6 อาจเกิดจากการที่สารอาหารหลัก เช่น ไนโตรเจนหรือฟอสฟอรัสเริ่มลดลง รวมทั้งการเพิ่มขึ้นของค่า pH (>9.0) ที่อาจส่งผลให้การละลายของ CO₂ ที่ได้จากบรรยากาศลดลง ทำให้การสังเคราะห์แสงลดประสิทธิภาพลง [18], [19] ซึ่งสาเหตุให้การเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะชะลอตัว อีกทั้งสภาวะความเค็มที่เพิ่มขึ้น (จาก 15 เป็น 19 ppt) ยังอาจมีผลกระทบต่อสมดุลออสโมซิสของเซลล์ โดยเฉพาะในระบบกลางถังที่มีการระเหยของน้ำอย่างต่อเนื่อง [20], [21] ถึงแม้ *Tisochrysis* sp. จะเป็นสาหร่ายทะเลที่ทนต่อช่วงความเค็มกว้าง แต่การเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วอาจทำให้การแบ่งเซลล์ลดลงชั่วคราว ซึ่งเป็นอีกปัจจัยที่ส่งผลให้ OD. เพิ่มขึ้นช้าช่วงท้ายของการทดลอง อย่างไรก็ตามการที่ค่า OD. เพิ่มขึ้นต่อเนื่องตลอด 9 วัน บ่งชี้ว่ามีความเป็นไปได้ที่จะเพาะเลี้ยงสาหร่ายนี้กลางถัง และสามารถที่จะเก็บชีวมวลได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลผลิตมวลชีวมวลสุดท้าย (24.84 กรัมแห้ง) และผลผลิตเฉลี่ย (Productivity) 0.81 กรัมแห้งต่อตารางเมตรต่อวัน (ตารางที่ 3) โดยสามารถนำข้อมูลนี้ไปใช้เป็นพื้นฐานในการปรับปรุงกระบวนการผลิตชีวมวลของสาหร่าย *Tisochrysis* sp. ในระดับกึ่งอุตสาหกรรมต่อไป

ตารางที่ 1 ค่าความเค็ม (Salinity) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 ระดับขยายขนาด 600 ลิตร กลางแจ้ง ระยะเวลา 9 วัน

Culture Time (Day)	Salinity (ppt)	pH
0	15.0±0.00	8.54±0.07
3	16.0±0.00	9.11±0.10
6	17.5±0.70	9.34±0.12
9	19.5±0.70	9.33±0.10

ตารางที่ 2 อุณหภูมิของอาหารและบรรยากาศ (องศาเซลเซียส) ที่เวลา 9.00 น. และ 16.00 น. ของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 ระดับขยายขนาด 600 ลิตร กลางแจ้ง ระยะเวลา 9 วัน

Culture time (Day)	The period of temperature (°C) data collection			
	9.00 AM		4.00 PM	
	media	atmosphere	media	atmosphere
0	24.2±0.2	27.8	27.6±0.2	33.6
1	24.3±0.4	28.0	28.5±0.4	34.1
2	24.2±0.5	28.0	28.5±0.7	33.2
3	23.5±0.2	27.5	28.2±0.9	33.5
4	24.0±0.4	28.0	28.6±1.1	34.5
5	23.5±0.7	27.5	28.5±0.5	33.7
6	23.5±0.2	27.5	28.7±0.4	33.5
7	24.2±0.7	28.0	29.0±0.7	33.5
8	24.0±0.2	27.5	28.5±0.7	34.1
9	24.1±0.2	27.5	28.5±0.8	33.8

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยชีวมวลและผลผลิตของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 ระดับขยายขนาด 600 ลิตร กลางแจ้ง ระยะเวลา 9 วัน

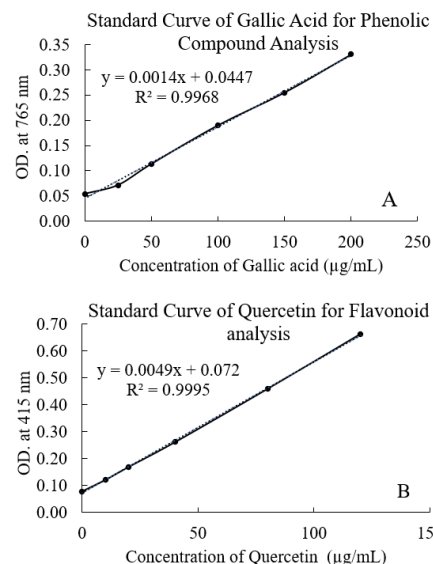
Parameters	<i>Tisochrysis</i> sp.
Specific Growth Rate (per day)	0.58±0.01
Fresh Weight (g FW)	1275±127
Dry Weight (g DW)	24.84±1.13
Biomass per Area (g DW m ⁻²)	7.31±0.33
Productivity (g DW m ⁻² day ⁻¹)	0.81±0.03

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 เพาะเลี้ยงขนาด 600 ลิตร กลางแจ้งระยะเวลา 9 วัน

Parameter	<i>Tisochrysis</i> sp.
Chl <i>a</i> (mg g ⁻¹ DW)	2.47±0.03
Total carotenoid (mg g ⁻¹ DW)	1.90±0.23
Protein (mg g ⁻¹ DW)	11.48±0.95
Carbohydrate (mg g ⁻¹ DW)	127.46±17.41
Phenolic (mg GAE* g ⁻¹ DW)	5.29±0.02
Flavonoid (mg QE** g ⁻¹ DW)	16.66±2.17

* Gallic Acid Equivalent (GAE)

** Quercetin Equivalent (QE)



รูปที่ 3 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Gallic Acid ที่ความเข้มข้น 0-200 µg mL⁻¹ (A) และกราฟมาตรฐานของสารละลาย Quercetin ที่ความเข้มข้น 0-120 µg mL⁻¹ (B)

องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายขนาดเล็ก *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 ที่เพาะเลี้ยงขนาด 600 ลิตร บริเวณกลางแจ้งเป็นเวลา 9 วัน พบว่าสาหร่ายมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 2.47±0.03 มิลลิกรัมต่อ

กรัมของน้ำหนักแห้ง และแคโรทีนอยด์รวม 1.90 ± 0.23 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 4) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการคงอยู่ของระบบสังเคราะห์แสงที่มีประสิทธิภาพ และการปรับตัวของเซลล์ต่อสภาวะแสงแดดธรรมชาติภายนอก เนื่องจากภายใต้ความเข้มแสงสูงในระบบกลางแจ้ง สาหร่ายมีกลดปริมาณคลอโรฟิลล์และเพิ่มสารป้องกันแสง ซึ่งเป็นกลไก photoacclimation ที่ช่วยให้เซลล์สามารถดำรงประสิทธิภาพการสังเคราะห์ด้วยแสงได้ [21]

สาหร่าย *Tisochrysis* sp. มีปริมาณโปรตีน 11.48 ± 0.95 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และคาร์โบไฮเดรต 127.46 ± 17.41 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณโปรตีนที่ไม่สูงมากบ่งชี้ว่าสาหร่ายอาจอยู่ในระยะที่มีการจำกัดไนโตรเจน (Nitrogen Limitation) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการใช้เมแทบอลิซึมจากการสังเคราะห์โปรตีนไปสู่การสะสมคาร์โบไฮเดรตหรือลิพิด เนื่องจากไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหลักของโปรตีนและคลอโรฟิลล์ เมื่อเกิดการขาดแคลนไนโตรเจน เซลล์สาหร่ายมีกลดการสังเคราะห์โปรตีนและเปลี่ยนเส้นทางเมแทบอลิซึมไปสู่การสะสมคาร์โบไฮเดรตหรือไขมัน [22], [23] ดังนั้นผลที่ได้จึงสะท้อนถึงการปรับตัวของสาหร่ายต่อสภาวะสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะในระบบเพาะเลี้ยงกลางแจ้งที่อาจมีข้อจำกัดด้านสารอาหาร ขณะที่ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในสาหร่ายโดยทั่วไปอยู่ในช่วงประมาณ 100–400 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เช่น *Chlorella vulgaris*, *Tisochrysis lutea* และ *Porphyridium* sp. มีคาร์โบไฮเดรตประมาณ 170, 55–150 และ 400–570 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ [24], [25] และสามารถเพิ่มสูงขึ้นได้ภายใต้สภาวะความเครียด เช่น การจำกัดไนโตรเจน ซึ่งกระตุ้นให้สาหร่ายเปลี่ยนการใช้เมแทบอลิซึมจากการสังเคราะห์โปรตีนไปสู่การสะสมสารสำรองพลังงานประเภทคาร์โบไฮเดรต และการเพิ่มขึ้นของค่า pH ในช่วงปลายการเพาะเลี้ยงสอดคล้องกับการ

เปลี่ยนแปลงดังกล่าว การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตโปรตีนใน *Tisochrysis* อาจเพิ่มความเข้มข้นของไนโตรเจนในอาหารเลี้ยง ซึ่งสามารถช่วยเพิ่มการสะสมโปรตีนได้อย่างมีนัยสำคัญ [26] รวมถึงการควบคุมความเข้มแสง เช่น การใช้วัสดุบังแสงและการกำหนดระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม โดยเฉพาะในช่วง Exponential Phase ซึ่งเป็นช่วงที่สาหร่ายมีการสังเคราะห์โปรตีนสูง

นอกจากนี้สาหร่าย *Tisochrysis* sp. ยังมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด 5.29 ± 0.02 มิลลิกรัมกรดแกลลิกสมมูลต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 16.66 ± 2.17 มิลลิกรัมเคอเซทินสมมูลต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic Acid) และเคอเซทิน (Quercetin) ตามลำดับ (รูปที่ 3) ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีบทบาทในการต้านอนุมูลอิสระและการป้องกันความเครียดออกซิเดชัน [15], [27] ขณะที่สาหร่ายขนาดเล็กชนิดอื่นๆ เช่น สาหร่าย *Tetraselmis* sp. *Nannochloropsis* sp. *Chaetoceros* sp. *Thalassiosira* sp. ที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 19.87 ± 1.50 10.04 ± 0.79 5.86 ± 0.26 และ 2.98 ± 0.2 มิลลิกรัมกรดแกลลิกสมมูลต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ [28] และ *Tisochrysis lutea* ที่สกัดด้วยน้ำและเมทานอลมีค่าฟีนอลิกทั้งหมด 4.43 ± 0.57 และ 2.32 ± 0.36 มิลลิกรัมกรดแกลลิกสมมูลต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ [29] สำหรับปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่พบในสาหร่าย *Tetraselmis* sp. *Nannochloropsis* sp. *Chaetoceros* sp. *Thalassiosira* sp. มีค่า 37.49 ± 1.53 31.48 ± 0.86 17.82 ± 1.16 8.42 ± 0.78 มิลลิกรัมเคอเซทินสมมูลต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ [28] อย่างไรก็ตามปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากงานวิจัยนี้ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในระดับกลางแจ้งถือว่าอยู่ในระดับปานกลางและสอดคล้องกับรายงานของสาหร่ายชนิดอื่น ๆ [27], [28], [29]

การที่สาหร่ายสร้างสารต้านอนุมูลอิสระดังกล่าว ในสภาวะเพาะเลี้ยงกลางแจ้งอาจเกิดจากการตอบสนองของสาหร่ายต่อความเข้มแสงและการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม ซึ่งกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์สารทุติยภูมิเพื่อการปกป้องเซลล์ [27] ดังนั้นสาหร่าย *Tisochrysis* sp. ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะกลางแจ้งสามารถสร้างสารเมแทบอไลต์ทั้งขั้นต้นและขั้นทุติยภูมิได้ถึงแม้จะไม่ได้มีปริมาณสูง ซึ่งแสดงถึงศักยภาพในการใช้ประโยชน์เป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ชีวภาพสำหรับอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและการประยุกต์ใช้ทางชีวเทคโนโลยีในอนาคต อย่างไรก็ตามสาหร่ายทะเลขนาดเล็กมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่แตกต่างกันไปในนั้นขึ้นกับความจำเพาะในชนิดพันธุ์ (Species-specific Differences) สภาวะการเพาะเลี้ยงสารสกัดที่ใช้ในการสกัด วิธีการสกัด [27]

4. สรุป

การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 ขนาด 600 ลิตร บริเวณกลางแจ้งเป็นระยะเวลา 9 วัน แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมภายนอกได้ การวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมีและสารออกฤทธิ์ชีวภาพ ได้แก่ สารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแคโรทีนอยด์ ซึ่งมีบทบาทในการต้านอนุมูลอิสระและส่งเสริมสุขภาพคุณสมบัติดังกล่าวสะท้อนถึงศักยภาพของ *Tisochrysis* sp. TISTR 11470 ในการนำไปใช้ประโยชน์ในหลากหลายด้าน โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งสามารถใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อเพิ่มคุณภาพของอาหารและเสริมสร้างภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำ รวมถึงการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมชีวเทคโนโลยี เช่น การผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำหรับผลิตภัณฑ์สุขภาพ เครื่องสำอาง หรือเวชภัณฑ์ ถึงแม้ว่าองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายนี้อยู่ในระดับต่ำถึงปานกลางซึ่งสะท้อนถึงการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมภายใต้สภาวะ

เพาะเลี้ยงกลางแจ้ง และสาหร่ายสามารถเจริญได้ที่ความเค็ม 15 ppt มีนัยสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงในระดับขยาย เนื่องจากสามารถลดการพึ่งพาน้ำทะเลหรือเกลือสังเคราะห์ ซึ่งเป็นหนึ่งในต้นทุนหลักของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย โดยเฉพาะในพื้นที่ที่เข้าถึงน้ำทะเลได้จำกัด นอกจากนี้ยังเพิ่มความยืดหยุ่นในการเลือกแหล่งน้ำสำหรับการเพาะเลี้ยง เช่น น้ำกร่อย หรือการปรับความเค็มจากน้ำจืด ซึ่งอาจช่วยลดค่าใช้จ่ายในการผลิตโดยรวมได้ อย่างไรก็ตามเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตในระดับกึ่งอุตสาหกรรมอย่างยั่งยืน ควรมีการศึกษาปัจจัยแวดล้อมเพิ่มเติม เช่น ความเข้มแสง อุณหภูมิ และองค์ประกอบของสารอาหารในน้ำเพาะเลี้ยง เป็นต้น ซึ่งอาจส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและการสะสมสารชีวโมเลกุลในสาหร่าย ทั้งนี้การพัฒนาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมจะเป็นกุญแจสำคัญในการต่อยอดการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายชนิดนี้ในเชิงพาณิชย์และอุตสาหกรรมในอนาคต

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศทางด้านสาหร่าย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) และเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่สนับสนุนสถานที่และการดำเนินงานวิจัยทั้งในห้องปฏิบัติการและกลางแจ้ง

6. เอกสารอ้างอิง

- [1] M. Ma and Q. Hu, "Microalgae as feed sources and feed additives for sustainable aquaculture: Prospects and challenges," *Reviews in Aquaculture*, vol. 16, no. 2, pp. 818-835, 2024.
- [2] M. Rizwan, G. Mujtaba, S. A. Memon, K. Lee, and N. Rashid, "Exploring the potential of microalgae for new

- biotechnology applications and beyond: A review,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 92, pp. 394-404, 2018.
- [3] E. Leal, L. de Beyer, W. O'Connor, M. Dove, P. J. Ralph, and M. Pernice, “Production optimisation of *Tisochrysis lutea* as a live feed for juvenile Sydney rock oysters, *Saccostrea glomerata*, using large-scale photobioreactors,” *Aquaculture*, vol. 533, pp. 736077, 2021.
- [4] C. Mayer, L. Richard, M. Côme, L. Ulmann, H. Nazih, B. Chénais, K. Ouguerram, and V. Mimouni, “The marine microalga, *Tisochrysis lutea*, protects against metabolic disorders associated with metabolic syndrome and obesity,” *Nutrients*, vol. 13, no. 2, pp. 430-447, 2021.
- [5] J. Cichoński and G. Chrzanowski, “Microalgae as a source of valuable phenolic compounds and carotenoids,” *Molecules*, vol. 27, no. 24, pp. 1-21, 2022.
- [6] J. A. M. Prates, “Applications of Bioactive Compounds from Marine Microalgae in Health, Cosmetics, and Functional Foods,” *Applied Sciences*, vol. 15, no.11, pp. 1-26, 2025.
- [7] R. R. L. Guillard and J. H. Ryther, “Studies of marine planktonic diatoms: I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran,” *Canadian journal of microbiology*, vol. 1, no. 8, pp. 229-239, Apr. 1962.
- [8] R. C. Anyanwu, C. Rodriguez, A. Durrant, and A. G. Olabi, “Evaluation of growth rate and biomass productivity of *Scenedesmus quadricauda* and *Chlorella vulgaris* under different LED wavelengths and photoperiods,” *Sustainability*, vol.14, no. 10, pp. 6108-6121, 2022.
- [9] *Technical report*, Use of cultivation data from the algae testbed public private partnership as utilized in NREL's algae state of technology assessments, National Renewable Energy Lab. (NREL), 2016.
- [10] A. Maadane, N. Merghoub, T. Ainane, H. El Arroussi, R. Benhima, S. Amzazi, Y. Bakri, and I. Wahby. “Antioxidant activity of some Moroccan marine microalgae: Pufa profiles, carotenoids and phenolic content,” *Journal of biotechnology*, vol. 215, pp. 13-19, 2015.
- [11] M. DuBois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and F. Smith, “Colorimetric method for determination of sugars and related substances,” *Analytical chemistry*, vol. 28, pp. 350-356, 1956.
- [12] O. Lowry, N. Rosebrough, A. L. Farr, and R. Randall, “Protein measurement with the folin phenol reagent,” *Journal Biology Chemistry*, vol. 193, no. 1, pp. 265–275, 1951.
- [13] S. Aryal, M. K. Baniya, K. Danekhu, P. Kunwar, R. Gurung, and N. Koirala, “Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables

- from Western Nepal,” *Plants*, vol. 8, no. 4, pp. 96-105, 2019.
- [14] L. Zhou, X. Duan, K. Li, D. R. A. Hill, G. J. O. Martin, and H. A. R. Suleria, “Extraction and characterization of bioactive compounds from diverse marine microalgae and their potential antioxidant activities,” *Chemistry & Biodiversity*, vol. 20, no. 11, pp. E202300602, 2023.
- [15] S. Chandra, S. Khan, B. Avula, H. Lata, M. H. Yang, M. A. ElSohly, and I. A. Khan, “Assessment of total phenolic and flavonoid content, antioxidant properties, and yield of aeroponically and conventionally grown leafy vegetables and fruit crops: A comparative study,” *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2014, pp. 1-9, 2014.
- [16] T. Tato and R. Beiras, “The use of the marine microalga *Tisochrysis lutea* (T-iso) in standard toxicity tests; comparative sensitivity with other test species,” *Frontiers in marine science*, vol. 6, pp. 488-498, 2019.
- [17] A. W. Almutairi, A. E. K. B. El-Sayed, and M. M. Reda, “Combined effect of salinity and pH on lipid content and fatty acid composition of *Tisochrysis lutea*,” *Saudi Journal of Biological Sciences*, vol. 27, pp. 3553-3558, 2020.
- [18] J. Masojídek, C. Gómez-Serrano, K. Ranglová, B. Cicchi, Á. E. Bogeat, J. A. C. Manoel, A. S. Zurano, A. M. Silva Benavides, M. Barceló-Villalobos, V. A. R. Carnero, and V. Ördög, “Photosynthesis monitoring in microalgae cultures grown on municipal wastewater as a nutrient source in large-scale outdoor bioreactors,” *Biology*, vol. 11, no. 10, pp. 1380-1398, 2022.
- [19] J. Cvjetinovic, Y. D. Bedoshvili, N. A. Davidovich, E. G. Maksimov, E. S. Prikhozhenko, D. A. Todorenko, D. V. Bodunova, O. I. Davidovich, I. S. Sergeev, and D. A. Gorin, “Exploring salinity induced adaptations in marine diatoms using advanced photonic techniques,” *Scientific Reports*, vol. 14, pp. 32007-32014, 2024.
- [20] J. Scofield, S. Shi, E. L. Prime, S. E. Kentish, G. G. Qiao, and G. J. Martin. “Evaporation reduction and salinity control in microalgae production ponds using chemical monolayers,” *Algal Research*, vol. 66, 2022.
- [21] G. Perin, F. Gambaro, and T. Morosinotto, “Knowledge of regulation of photosynthesis in outdoor microalgae cultures is essential for the optimization of biomass productivity,” *Frontiers in plant science*, vol.13, 2022.
- [22] P. J. Harrison, P. A. Thompson, and G. S. Calderwood, “Effects of nutrient and light limitation on the biochemical composition of phytoplankton,” *Journal of Applied Phycology*, vol. 2, pp. 45-56, 1990.

- [23] M. A. Borowitzka, "Microalgae for aquaculture: opportunities and constraints," *Journal of applied phycology*, vol. 9, no. 5, pp. 393-401, 1997.
- [24] A. Andreeva, E. Budenkova, O. Babich, S. Sukhikh, V. Dolganyuk, P. Michaud, and S. Ivanova, "Influence of carbohydrate additives on the growth rate of microalgae biomass with an increased carbohydrate content," *Marine drugs*, vol. 19, no. 7, pp. 381-409, 2021.
- [25] K. I. Reitan, G. Øie, H. Jørgensen, and X. Wang, "Chemical composition of selected marine microalgae, with emphasis on lipid and carbohydrate production for potential use as feed resources," *Journal of Applied Phycology*, vol. 33, no. 6, pp. 3831-3842, 2021.
- [26] E. W. Becker, "Micro-algae as a source of protein," *Biotechnology advances*, vol. 25, no. 2, pp. 207-210, 2007.
- [27] D. Petrova, L. Yocheva, M. Petrova, Z. Georgieva, Z. Karcheva, T. Toshkova-Yotova, P. Pilarski, and G. Chaneva, "Antimicrobial and antioxidant activities of microalgal extracts," *Oxidation Communication*, vol. 43, no. 1, pp. 103-116, 2020.
- [28] U. T. Ferdous, A. Nurdin, S. Ismail, K. Shaari, and Z. N. B. Yusof, "A comparative study on antioxidant properties, total phenolics, total flavonoid contents, and cytotoxic properties of marine green microalgae and diatoms," *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, vol. 23, no. 1, 2025.
- [29] V. Andriopoulos, M. D. Gkioni, E. Koutra, S. G. Mastropetros, F. N. Lamari, S. Hatziantoniou, and M. Kornaros, "Total phenolic content, biomass composition, and antioxidant activity of selected marine microalgal species with potential as aquaculture feed," *Antioxidants*, vol. 11, no. 7, 2022.