



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



ภาคผนวก ก

ความหนาแน่นเซลล์ ความเป็นกรด-เป็นด่าง และอุณหภูมิ ตลอดการทดลอง

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางภาคผนวกที่ 1 ความหนาแน่นเซลล์เฉลี่ย (OD 560 nm) ของสไปรูลิน่า ที่เพาะเลี้ยงในสูตร Zarrouk ปกติ และสูตร Zarrouk ดัดแปลงผสมน้ำหมักเคยโนสในส่วนต่างกัน

ชุดการทดลอง	วันที่								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Zarrouk	0.614	0.808	1.018	1.240	1.519	1.624	1.883	2.019	2.225
mZM 100% + KF 0.5%	0.523	0.611	0.721	0.830	1.167	1.333	1.543	1.703	1.901
mZM 100% + KF 0.3%	0.535	0.581	0.758	1.011	1.489	1.404	1.547	1.680	1.885
mZM 100% + KF 0.1%	0.546	0.722	0.902	1.117	1.415	1.550	1.768	1.945	2.109
mZM 75% + KF 0.5%	0.535	0.615	0.711	1.158	1.188	1.289	1.514	1.723	1.948
mZM 75% + KF 0.3%	0.546	0.651	0.831	0.992	1.299	1.406	1.700	1.815	2.031
mZM 75% + KF 0.1%	0.512	0.745	0.901	1.344	1.463	1.541	1.744	1.834	2.097
mZM 50% + KF 0.5%	0.534	0.627	0.736	0.919	1.215	1.300	1.558	1.738	1.926
mZM 50% + KF 0.3%	0.534	0.656	0.824	1.043	1.367	1.416	1.646	1.803	1.984
mZM 50% + KF 0.1%	0.517	0.755	0.918	1.273	1.457	1.598	1.769	1.886	2.110
mZM 25% + KF 0.5%	0.498	0.590	0.728	0.844	1.154	1.244	1.503	1.689	1.845
mZM 25% + KF 0.3%	0.547	0.699	0.859	1.346	1.297	1.567	1.594	1.793	2.010
mZM 25% + KF 0.1%	0.634	0.735	0.950	1.203	1.540	1.564	1.754	1.897	2.127

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	วันที่								
	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Zarrouk	2.358	2.485	2.559	2.663	2.854	2.888	3.071	3.207	3.261
mZM 100% + KF 0.5%	2.090	2.165	2.264	2.415	2.568	2.561	2.832	2.978	3.133
mZM 100% + KF 0.3%	2.016	2.142	2.190	2.257	2.459	2.527	2.699	2.829	2.919
mZM 100% + KF 0.1%	2.235	2.355	2.428	2.551	2.701	2.764	2.902	3.094	3.190
mZM 75% + KF 0.5%	2.103	2.235	2.274	2.448	2.611	2.725	2.768	3.034	3.204
mZM 75% + KF 0.3%	2.165	2.301	2.371	2.502	2.646	2.783	2.915	3.088	3.194
mZM 75% + KF 0.1%	2.208	2.323	2.405	2.526	2.660	2.695	2.932	3.091	3.331
mZM 50% + KF 0.5%	2.076	2.171	2.245	2.347	2.505	2.575	2.752	2.870	2.946
mZM 50% + KF 0.3%	2.174	2.322	2.367	2.490	2.682	2.754	2.925	3.097	3.203
mZM 50% + KF 0.1%	2.194	2.338	2.392	2.524	2.607	2.806	2.734	2.741	2.886
mZM 25% + KF 0.5%	2.061	2.132	2.187	2.350	2.506	2.572	2.685	3.008	3.067
mZM 25% + KF 0.3%	2.213	2.338	2.365	2.499	2.690	2.769	2.945	3.064	3.247
mZM 25% + KF 0.1%	2.262	2.353	2.422	2.561	2.691	2.801	2.900	2.947	3.167

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	วันที่								
	19	20	21	22	23	24	25	26	27
Zarrouk	3.309	<b>3.314</b>	3.205	3.183					
mZM 100% + KF 0.5%	3.180	<b>3.319</b>	3.194	3.303					
mZM 100% + KF 0.3%	2.984	3.034	3.122	3.210	3.234	<b>3.242</b>	3.194	3.156	
mZM 100% + KF 0.1%	<b>3.227</b>	3.168	3.056						
mZM 75% + KF 0.5%	<b>3.228</b>	3.183	2.652						
mZM 75% + KF 0.3%	3.281	<b>3.420</b>	3.296	3.227					
mZM 75% + KF 0.1%	3.325	<b>3.365</b>	3.287	3.257					
mZM 50% + KF 0.5%	<b>2.950</b>	2.935	2.925						
mZM 50% + KF 0.3%	3.249	<b>3.251</b>	3.244	3.217					
mZM 50% + KF 0.1%	2.859	2.855							
mZM 25% + KF 0.5%	2.715	2.818							
mZM 25% + KF 0.3%	3.275	<b>3.308</b>	3.282	3.269					
mZM 25% + KF 0.1%	3.018	3.029							

ตารางภาคผนวกที่ 2 ความเป็นกรด-เป็นด่าง (pH) เฉลี่ยในสูตรอาหารต่าง ๆ ที่เพาะเลี้ยงสไปรูลิน่า ตลอดระยะเวลาการทดลอง

ชุดการทดลอง	วันที่								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Zarrouk	9.24	9.24	9.31	9.38	9.38	9.30	10.00	10.06	10.20
mZM 100% + KF 0.5%	9.04	9.29	9.38	9.45	9.51	9.65	10.02	10.10	10.23
mZM 100% + KF 0.3%	9.16	9.17	9.30	9.28	9.47	9.39	9.93	10.03	10.17
mZM 100% + KF 0.1%	9.27	9.28	9.30	9.26	9.36	9.44	9.99	10.06	10.20
mZM 75% + KF 0.5%	9.14	9.35	9.45	9.26	9.64	9.47	10.04	10.04	10.26
mZM 75% + KF 0.3%	9.25	9.34	9.47	9.51	9.44	9.46	10.09	10.15	10.24
mZM 75% + KF 0.1%	9.21	9.34	9.43	9.31	9.43	8.86	10.08	10.15	10.28
mZM 50% + KF 0.5%	9.33	9.44	9.46	9.51	9.57	9.52	10.08	10.40	10.29
mZM 50% + KF 0.3%	9.32	9.47	9.55	9.52	9.44	9.56	10.11	10.13	10.26
mZM 50% + KF 0.1%	9.51	9.39	9.45	9.49	9.67	9.52	10.14	10.26	10.44
mZM 25% + KF 0.5%	9.55	9.52	9.58	9.52	9.62	9.47	10.19	10.23	10.40
mZM 25% + KF 0.3%	9.54	9.67	9.64	9.67	9.79	9.63	10.22	10.22	10.30
mZM 25% + KF 0.1%	9.53	9.64	9.65	9.70	9.69	9.65	10.22	10.29	10.45

## ตารางภาคผนวกที่ 2 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	วันที่								
	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Zarrouk	10.24	10.31	10.31	10.37	10.47	10.56	10.56	10.62	10.67
mZM 100% + KF 0.5%	10.27	10.32	10.31	10.35	10.41	10.37	10.48	10.53	10.54
mZM 100% + KF 0.3%	10.24	10.27	10.28	10.32	10.37	10.39	10.47	10.55	10.60
mZM 100% + KF 0.1%	10.28	10.31	10.32	10.36	10.43	10.40	10.53	10.58	10.62
mZM 75% + KF 0.5%	10.28	10.31	10.29	10.33	10.38	10.36	10.43	10.48	10.51
mZM 75% + KF 0.3%	10.31	10.29	10.28	10.30	10.33	10.29	10.35	10.38	10.39
mZM 75% + KF 0.1%	10.34	10.36	10.34	10.35	10.39	10.35	10.45	10.46	10.51
mZM 50% + KF 0.5%	10.38	10.39	10.39	10.47	10.57	10.59	10.69	10.77	10.82
mZM 50% + KF 0.3%	10.27	10.27	10.22	10.24	10.24	10.21	10.24	10.26	10.28
mZM 50% + KF 0.1%	10.59	10.64	10.65	10.60	10.93	10.97	11.06	11.17	11.20
mZM 25% + KF 0.5%	10.50	10.52	10.47	10.54	10.65	10.65	10.72	10.76	10.78
mZM 25% + KF 0.3%	10.33	10.29	10.22	10.23	10.26	10.20	10.27	10.29	10.34
mZM 25% + KF 0.1%	10.55	10.57	10.51	10.57	10.60	10.58	10.69	10.69	10.69

## ตารางภาคผนวกที่ 2 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	วันที่								
	19	20	21	22	23	24	25	26	27
Zarrouk	10.65	10.36	10.21	10.2					
mZM 100% + KF 0.5%	10.52	10.50	10.49	10.45					
mZM 100% + KF 0.3%	10.59	10.58	10.59	10.56	10.47	10.65	10.73	10.70	
mZM 100% + KF 0.1%	10.60	10.51	10.46						
mZM 75% + KF 0.5%	10.49	10.46	10.49						
mZM 75% + KF 0.3%	10.34	10.31	10.32	10.26					
mZM 75% + KF 0.1%	10.46	10.44	10.39	10.43					
mZM 50% + KF 0.5%	10.80	10.80	10.45						
mZM 50% + KF 0.3%	10.26	10.22	10.20	10.15					
mZM 50% + KF 0.1%	11.18	11.17							
mZM 25% + KF 0.5%	10.73	10.67							
mZM 25% + KF 0.3%	10.32	10.28	10.26	10.18					
mZM 25% + KF 0.1%	10.62	10.52							

ตารางภาคผนวกที่ 3 อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) เฉลี่ยในสูตรอาหารต่าง ๆ ที่เพาะเลี้ยงสไปรูลิน่า  
ตลอดระยะเวลาการทดลอง

ชุดการทดลอง	วันที่								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Zarrouk	32.0	32.3	32.9	33.6	37.0	36.5	35.3	29.6	35.0
mZM 100% + KF 0.5%	32.2	32.6	33.2	34.4	37.5	36.0	34.5	29.2	34.7
mZM 100% + KF 0.3%	32.0	31.7	32.7	33.7	36.5	36.4	35.5	29.7	35.3
mZM 100% + KF 0.1%	31.8	32.0	32.2	32.7	36.0	36.9	36.2	30.3	36.0
mZM 75% + KF 0.5%	32.1	32.3	32.9	33.8	36.8	35.5	34.2	29.3	34.6
mZM 75% + KF 0.3%	31.7	31.9	32.2	32.9	36.1	36.7	35.8	30.0	35.7
mZM 75% + KF 0.1%	32.0	32.4	32.7	33.8	36.5	36.8	36.2	30.0	35.8
mZM 50% + KF 0.5%	31.9	32.2	32.7	33.6	36.8	36.8	36.0	29.9	35.8
mZM 50% + KF 0.3%	32.0	32.3	32.8	33.5	36.6	35.7	34.3	29.3	34.8
mZM 50% + KF 0.1%	31.8	31.9	32.4	33.1	36.4	36.7	36.0	30.0	35.7
mZM 25% + KF 0.5%	32.0	32.2	32.8	33.3	36.7	35.8	34.3	29.4	34.7
mZM 25% + KF 0.3%	32.0	32.1	32.8	33.8	36.7	36.2	35.2	29.5	35.1
mZM 25% + KF 0.1%	32.0	31.8	32.7	34.1	36.5	36.5	35.7	29.8	35.4

ตารางภาคผนวกที่ 3 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	วันที่								
	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Zarrouk	34.0	33.6	31.4	32.7	34.1	31.2	33.0	30.5	31.6
mZM 100% + KF 0.5%	33.5	33.0	30.9	32.7	33.6	30.9	32.3	30.0	31.1
mZM 100% + KF 0.3%	34.0	33.6	31.3	33.4	33.9	31.4	33.4	30.9	32.3
mZM 100% + KF 0.1%	34.7	34.2	32.1	34.0	34.7	32.1	34.4	31.8	33.4
mZM 75% + KF 0.5%	33.3	31.8	31.0	32.7	33.3	30.8	32.5	30.1	31.5
mZM 75% + KF 0.3%	34.5	34.0	31.9	33.7	34.5	31.9	34.3	31.5	33.1
mZM 75% + KF 0.1%	34.4	34.1	31.5	33.7	34.5	31.6	33.8	31.3	32.6
mZM 50% + KF 0.5%	34.4	34.1	31.6	33.5	34.6	31.4	33.8	31.2	32.9
mZM 50% + KF 0.3%	33.5	33.0	31.2	32.8	33.5	31.0	32.7	30.4	31.7
mZM 50% + KF 0.1%	34.5	34.0	31.8	33.6	34.5	31.7	34.0	31.3	32.7
mZM 25% + KF 0.5%	33.6	33.0	31.3	32.8	33.6	31.1	32.7	30.3	31.5
mZM 25% + KF 0.3%	33.8	33.4	31.2	33.0	33.8	31.1	33.0	30.6	31.9
mZM 25% + KF 0.1%	34.2	33.8	31.4	33.5	34.0	31.4	33.3	30.9	32.4



## ตารางภาคผนวกที่ 3 (ต่อ)

ชุดการทดลอง	วันที่								
	19	20	21	22	23	24	25	26	27
Zarrouk	34.4	32.4	31.4	33.9					
mZM 100% + KF 0.5%	33.9	32.1	29.5	31.2					
mZM 100% + KF 0.3%	34.4	32.5	30.2	31.4	28.8	33.5	32.2	32.0	
mZM 100% + KF 0.1%	35.1	33.1	30.2						
mZM 75% + KF 0.5%	33.9	32.1	30.3						
mZM 75% + KF 0.3%	34.8	32.9	30.6	32.4					
mZM 75% + KF 0.1%	34.6	32.6	29.7	32.7					
mZM 50% + KF 0.5%	34.7	32.7	30.2						
mZM 50% + KF 0.3%	34.0	32.2	29.9						
mZM 50% + KF 0.1%	34.8	32.8							
mZM 25% + KF 0.5%	34.1	32.5							
mZM 25% + KF 0.3%	34.2	32.3	30.0	31.6					
mZM 25% + KF 0.1%	34.4	32.4							

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางภาคผนวกที่ 4 ความเข้มแสง (Lux) และอุณหภูมิอากาศ (°C) ตลอดการทดลอง

วันที่ทำการทดลอง	ความเข้มแสง (lux)	อุณหภูมิอากาศ (°C)
1	5,810	25.7
2	28,930	30.4
3	14,670	27.5
4	18,350	28.5
5	26,600	30.5
6	>50,000	31.6
7	32,000	31.8
8	>50,000	32.4
9	24,200	27.4
10	39,900	31.7
11	25,000	29.9
12	8,450	29.9
13	11,310	30.4
14	15,340	27.5
15	19,600	31.8
16	>50,000	31.4
17	15,300	31.9
18	>50,000	33.7
19	>50,000	34.1
20	35,700	33.4
21	24,200	31.0
22	11,300	26.9
23	21,700	31.4
24	14,670	30.1





ภาคผนวก ข  
การเตรียมอาหารและวิธีวิเคราะห์

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

### อาหารสูตร Zarrouk 100%

อาหารสูตร Zarrouk 100% ประกอบด้วย

1. NaHCO <sub>3</sub>	16.80 g/l
2. NaNO <sub>3</sub>	2.50 g/l
3. K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.50 g/l
4. K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1.00 g/l
5. MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.20 g/l
6. NaCl	1.00 g/l
7. CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.04 g/l
8. FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.01 g/l
9. Na <sub>2</sub> EDTA.2H <sub>2</sub> O	0.08 g/l
10. สารละลาย A5 (ใช้ 1 ml/l)	
- H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2.86 g/l
- MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	1.80 g/l
- ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.22 g/l
- CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.08 g/l
- MoO <sub>3</sub>	0.01 g/l
- น้ำกลั่น	1000 ml
11. สารละลาย B6 (ใช้ 1 ml/l)	
- NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>	22.9 g/l
- K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ).24H <sub>2</sub> O	96.0 g/l
- NiSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	47.8 g/l
- Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	17.9 g/l
- Ti(SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	40.0 g/l
- Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	4.40 g/l
- น้ำกลั่น	1000 ml

### การวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง

1. อบกระดาษกรอง GF/C ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ด้วยตู้อบลมร้อน (hot air oven)
2. ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น นำมาชั่งหาน้ำหนักคงที่ของกระดาษกรอง (A)
3. นำกระดาษกรอง GF/C ไปกรองตัวอย่างสาหร่าย ชั่งน้ำหนัก
4. นำกระดาษกรองที่มีตัวอย่างสาหร่ายไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง
5. นำกระดาษกรองออกจากตู้อบ แล้วนำมาใส่ไว้ในโถดูดความชื้น
6. ชั่งน้ำหนักกระดาษกรองที่มีตัวอย่างสาหร่าย (B)
7. คำนวณน้ำหนักแห้ง ตามสูตร

$$DW \text{ (mg/l)} = \frac{(B-A) \times 1000 \times 1000}{V}$$

- A = น้ำหนักกระดาษกรอง  
 B = น้ำหนักของกระดาษกรองและสาหร่าย  
 V = ปริมาตรของสาหร่ายที่กรอง (มิลลิลิตร)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

### การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ เอ

วิเคราะห์คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) ตามวิธีการของ สุวรรณิ ไทยอุดมทรัพย์ (2553) อ้างถึง Parsons et al. (1984) โดย

1. กรองตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร
2. นำกระดาษกรองใส่ใน Homogenizer
3. เติม acetone ความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ 2 มิลลิลิตร บดให้ละเอียด
4. เติม acetone ความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ เพิ่ม 8 มิลลิลิตร
5. นำไป Centrifuge ที่ความเร็วสูงสุด 5 นาที
6. นำไปวัดค่า OD ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 664, 647 และ 630 จากนั้นนำมาคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ จากสูตร

$$\text{Chlorophyll a} = (11.85 \times \text{OD}_{665}) - (1.54 \times \text{OD}_{645}) - (0.08 \times \text{OD}_{630})$$

โดย

$\text{OD}_{664}$  = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 665 นาโนเมตร

$\text{OD}_{647}$  = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 645 นาโนเมตร

$\text{OD}_{630}$  = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 630 นาโนเมตร

### การวิเคราะห์แคโรทีนอยด์

วิเคราะห์แคโรทีนอยด์ (carotenoid) ตามวิธีการของ สุวรรณิ ไทยอุดมทรัพย์ (2553) อ้างถึง Parsons et al. (1984) โดย

1. กรองสาหร่ายสไปรูลิน่าที่เพาะเลี้ยงปริมาตร 10 มิลลิลิตร (เติม  $\text{MgCO}_3$  เล็กน้อย)
2. เติม acetone ความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ 2 มิลลิลิตร บดให้ละเอียด
3. เติม acetone ความเข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ เพิ่ม 8 มิลลิลิตร
4. นำไป centrifuge 3000 รอบ/นาที (rpm) เป็นเวลา 5 นาที
5. นำตัวอย่างส่วนใสที่ได้ไปหาปริมาณแคโรทีนอยด์ โดยวัดค่า OD ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร (nm) จากนั้นคำนวณตามสูตร

$$\text{Total carotenoids} = \text{OD}_{480} \times 3.68 \times [\text{V.extract (ml)/V.sample (ml).}]$$

โดย

$\text{OD}_{480}$  = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 480 นาโนเมตร

V.extract = ปริมาตรสารที่สกัดจากตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

V.sample = ปริมาตรของตัวอย่างที่นำมาสกัด (มิลลิลิตร)

## การวิเคราะห์ไฟโคไซยานิน

วิเคราะห์ phycoyanin ตามวิธีการของ สุวรรณี ไทยอุดมทรัพย์ (2553) อ้างถึง Evans (1988) โดย

1. กรองสาหร่ายสไปรูลิน่าที่เพาะเลี้ยงปริมาณ 10 มิลลิลิตร
2. เติม phosphate pH buffer 7.0 ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 2 มิลลิลิตร บดให้ละเอียด
3. เติม phosphate pH buffer 7.0 ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 8 มิลลิลิตร นำไปปั่นแยกเซลล์ด้วยเครื่อง Centrifuge ที่อุณหภูมิห้อง 25 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 10,000 รอบ/นาที (rpm) เป็นเวลา 20 นาที
4. นำของเหลวใสที่ได้ไปวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 652 และ 620 นาโนเมตร จากนั้นคำนวณตามสูตร

$$C-PC \text{ (mg/ml)} = [OD_{620} - 0.474 OD_{652}] / 5.34$$

โดย

$OD_{652}$  = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 652 นาโนเมตร

$OD_{620}$  = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 620 นาโนเมตร

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี