การทดสอบการผลิตแอสตาแซนธินจากเชื้อยีสต์เพื่อทดแทนแอสตาแซนธินจากเปลือกกุ้ง

Investigation of Astaxanthin Production from Yeast for Replacing Astaxanthin from Shrimp Shells

ประภา ชินไธสง [1], อังคณา วัฒนาสมบุญดี [1], พักตร์นิศา ศิริมนตรี [2], อัษฎาวุธ อารีสิริสุข [3], สุจยา ฤทธิศร [3]
สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
39 หมู่ 1 ถนนรังสิต – นครนายก อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110

สถานที่ปฏิบัติงานปฏิบัติสหกิจศึกษา : บริษัท ซีพีเอฟ (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน) โรงงานอาหารสำเร็จรูป ฉะเชิงเทรา 24000

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบการผลิตแอสตาแซนธินจากเชื้อยีสต์ สำหรับผลิตอาหารสัตว์ทดแทนแอสตาแซนธินจากเปลือกกุ้ง ที่จะนำไปพัฒนาเป็นสูตรอาหารในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ของสถานประกอบการโดยสารดังกล่าวจะช่วยให้สัตว์เจริญเติบโตได้ดี เพิ่มผลผลิต เพิ่มสีสันให้กับผลิตภัณฑ์จากสัตว์ทางการค้า รวมทั้งลดภาวะความเสี่ยงจากการติดเชื้อในสัตว์ได้ โดยผลการศึกษาพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงยีสต์ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ที่อัตราการเขย่าอยู่ที่ 200 รอบต่อนาที ค่าความเป็นกรด-ด่าง เริ่มต้นเท่ากับ 5 เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า ยีสต์จะเริ่มผลิตรงควัตถุที่มีสีส้ม เนื่องจากแอสตาแซนธินนั้นเป็นอนุพันธ์ของสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ และการเลี้ยงยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YMB ปริมาณ 1 ลิตร จะได้น้ำหนักเซลล์สดของยีสต์เท่ากับ 14.8 กรัม คิดเป็นน้ำหนักแห้งเท่ากับ 4.34 กรัม และเมื่อนำเซลล์ยีสต์มาสกัดแอสตาแซนธินด้วยกรดอินทรีย์ พบว่าสามารถสกัดแอสตาแซนธินออกมาได้ เท่ากับ 3.6 มิลลิกรัม โดยเมื่อปรียบทียบกับงานวิจัยของสถานประกอบการที่ผ่านมาสกัดแอสตาแซนธินจากเปลือกกุ้ง พบว่า ยีสต์ที่ใช้ในการทดลองนี้สามารถให้ปริมาณแอสตาแซนธินสูงกว่าเปลือกกุ้งถึง 4.5 เท่า ดังนั้นทางสถานประกอบการจึงมีแนวคิดในการนำยีสต์มาใช้ในการผลิตแอสตาแซนธินทดแทนการสกัดจากเปลือกกุ้ง เพื่อให้มีปริมาณเพียงพอต่อความต้องการอุตสาหกรรมอาหารสัตว์

คำสำคัญ : แอสตาแซนธิน, เปลือกกุ้ง, ยีสต์

1. คำนำ

บริษัท ซีพีเอฟ (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน) เป็นหนึ่งในบริษัทจดทะเบียนซึ่งเป็นผู้นำในธุรกิจเกษตรอุตสาหกรรมและอาหารที่มีการดำเนินธุรกิจในลักษณะครบวงจร ตั้งแต่การคัดสรรวัตถุดิบสำหรับการผลิตอาหารสัตว์ การผลิตและจำหน่ายอาหารสัตว์ การเลี้ยงสัตว์ เนื้อสัตว์แปรรูป ไปจนถึงการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูปจากเนื้อไก่ เนื้อเป็ด เนื้อสุกร และเนื้อปลา โดยมีการวางจำหน่ายทั้งในประเทศ และส่งออกต่างประเทศ โดยในระหว่างกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูปนั้นจะมีของเสีย หรือวัตถุดิบที่ไม่ได้นำมาใช้ประโยชน์จำนวนมาก เช่น แป้งซึ่งเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิต ซึ่งวัตถุดิบเหลือใช้เหล่านี้จะสะสมเป็นของเสียที่ไม่มีมูลค่าหรือมีมูลค่าต่ำในโรงงานอุตสาหกรรม และยังก่อให้เกิดมลภาวะทางสิ่งแวดล้อมตามแหล่งอุตสาหกรรมต่างๆเป็นอันมาก สถานประกอบการจึงได้สนใจที่จะนำวัตถุดิบเหลือใช้จากโรงงานมาใช้ประโยชน์เพื่อเพิ่มมูลค่า โดยการนำแป้งที่เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตมาใช้เป็นอาหารในการเลี้ยงเชื้อยีสต์ เพื่อผลิตแอสตาแซนธินและนำแอสตาแซนธินไปพัฒนาเป็นสูตรอาหารในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ซึ่งแอสตาแซนธินนั้นมีประโยชน์ในการต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อเทียบกับแคโรทีนอย์กลุ่มอื่นๆ ที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคต่างๆ นอกจากนี้แล้วแอสตาแซนธินยังมีคุณสมบัติที่สามารถช่วยเพิ่มสีสันให้กับสัตว์น้ำ สัตว์ปีก รวมทั้งลดภาวะความเสี่ยงจากการติดเชื้อในสัตว์และมนุษย์ได้ [1]

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตแอสตาแซนธินจากเชื้อยีสต์ และเปรียบเทียบปริมาณแอสตาแซนธินที่ผลิตได้จากยีสต์และเปลือกกุ้งและยังตรวจสอบคุณสมบัติของแอสตาแซนธินจากเชื้อยีสต์โดยเทียบกับแอสตาแซนธินมาตรฐาน

---

1. ประภา ชินไธสง และอังคณา วัฒนาสมบุญดี สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
2. ดร.พักตร์นิศา ศิริมนตรี ผู้จัดการฝ่ายวิจัยผลิตภัณฑ์อาหาร บริษัท ซีพีเอฟ (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน)
3. ดร.อัษฎาวุธ อารีสิริสุข และ ผศ.สุจยา ฤทธิศร ตำแหน่งอาจารย์ สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

2. ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 แอสตาแซนธิน (Astaxanthin)

แอสตาแซนธินเป็นสารแคโรทีนอยด์สีแดงที่จัดอยู่ในกลุ่มเทอร์พีน และอยู่ในกลุ่มของสารไฟโตเคมิคอล (Phytochemicals) เป็นรงควัตถุที่มีคุณสมบัติละลายได้ในไขมันเพราะโมเลกุลของแอสตาแซนธินมีอะตอมของออกซิเจนเป็นส่วนประกอบอยู่ จึงละลายน้ำได้น้อย สามารถพบได้ทั่วไปในสาหร่าย ยีสต์ ปลาแซลมอน ปลาเรนโบว์เทราช์ กุ้ง ปู สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในกลุ่มครัสเตเชียน และขนของสัตว์ปีก เมื่ออยู่ในร่างกายของมนุษย์แอสตาแซนธินจะไม่เปลี่ยนเป็นวิตามินเอเหมือนกับแคโรทีนอยด์ตัวอื่นๆ ซึ่งเป็นข้อดีของสารนี้ เพราะถ้าหากมีวิตามินเอมากเกินไปก็จะก่อให้เกิดโรค Hypervitamineusis A และการแท้งลูกหรือพิการในหญิงตั้งครรภ์ได้ นอกจากนี้แอสตาแซนธินยังมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเหมือนแคโรทีนอยด์ชนิดอื่นๆ และจากการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ต่างๆ พบว่าแอสตาแซนธินมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงกว่ากลุ่มแคโรทีนอยด์ชนิดอื่นๆ เช่น ซีแซนธิน ลูทิน แคทธาแซนธิน และเบตาแคโรธีนถึง 10 เท่า และสูงกว่าวิตามินอีถึง 100 เท่า โดยแอสตาแซนธินเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ใช้ในการป้องกันมะเร็ง โรคหัวใจ ยับยั้งการทำลายผิวหนัง และแมคคูลาของตาจากแสงแดดได้ นอกจากนี้แอสตาแซนธินยังมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยจะช่วยในการกักเก็บแอนติบอดี ควบคุมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในอยู่ในระดับปกติ [2]

2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ

โดยทั่วไปในสิ่งที่มีชีวิตการสันดาปโดยการใช้ออกซิเจน (aerobic methabolism) จะมีอนุมูลอิสระที่มีอิเลคตรอนไม่ครบคู่ (Free radical) รวมทั้งอนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไว (Reactive oxygen species, ROS) เกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา เช่น ไฮดรอกซิล (Hydroxyl) และเพอร์รอกไซด์ (Peroxides) ซึ่งโดยปกติสารเหล่านี้มีความจำเป็นสำหรับปฏิกิริยาของร่างกายในการดำรงชีวิต อย่างไรก็ตามถ้ามีปริมาณของอนุมูลอิสระดังกล่าวมากเกินไปก็อาจเป็นอันตราย เนื่องจากอนุมูลอิสระสามารถทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบของเซลล์ในร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต หรือดีเอ็นเอ โดยการดึงหรือรับออกซิเจนจากสารชีวโมเลกุลนั้นๆ ซึ่งสภาวะเช่นนี้เป็นสาเหตุทำให้เซลล์ต่างๆในร่างกายเกิดการเสื่อมสภาพที่เรียกว่า “Oxidative damage” ซึ่งลักษณะนี้จะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเกิดโรคต่างๆหลายโรคตามมา เช่น มะเร็ง ระบบไหลเวียนโลหิต ระบบสมอง สายตา ดังนั้นเพื่อเป็นการลดการเกิดออกซิเดชันดังกล่าวในร่างกายมนุษย์จะสร้างเอนไซม์ต่างๆ เช่น Superoxide dismutase, Catalase และ Peroxidase และโมเลกุลอื่นๆ ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาเพื่อป้องกันแต่อย่างไรก็ตาม ในหลายๆสภาวะ การสร้างเอนไซม์ดังกล่าวในร่างกายอาจมีไม่เพียงพอที่จะป้องกันการเกิดออกซิเดชันได้ ในหลายงานวิจัยได้เสนอแนะว่า การป้องกันการเกิดออกซิเดชันสามารถทำได้โดยการรับประทานอาหารที่มีองค์ประกอบ หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณที่เพียงพอ สารต้านอนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระออกจากระบบโดยการทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรงเพื่อให้เกิดเป็นสารประกอบที่ไม่อันตราย หรือทำลายปฏิกิริยาออกซิเดชันอย่างไรก็ตามสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มเบตาแคโรทีนนั้นยังเป็นสารโปรออกซิแดนท์ที่มีสมบัติเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเครียดจากการออกซิเดชัน (Oxidative stress) ได้ด้วย ในขณะที่ยังไม่มีรายงานความเป็นสารโปรออกซิแดนท์ของแอสตาแซนธิน [3]

3. วิธีการทดลอง

3.1 การทดสอบเบื้องต้นเลี้ยงเชื้อยีสต์เพื่อผลิตแอสตาแซนธิน

นำเชื้อยีสต์จาก 30% glycerol stock มาขีด (streak) ลงบนอาหาร Yeast malt extract agar (YMA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 22 ℃ เป็นเวลา 7 วัน โคโลนีของยีสต์จะเริ่มเป็นสีส้ม เขี่ยโคโลนีลงในอาหาร Yeast malt extract broth (YMB) 60 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 22 ℃ เขย่าความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นวัดค่า OD ที่ 600 นาโนเมตร เก็บตัวอย่างมาวัดปริมาณเซลล์ที่ได้โดยปั่นแยกเซลล์ออกจากของเหลว นำเซลล์ยีสต์ไปอบแห้ง ชั่งน้ำหนักเซลล์ที่แน่นอน และนำไปสกัดแอสตาแซนธินด้วยกรดอินทรีย์และตัวทำละลายอินทรีย์

3.2 ขยายขนาดการเลี้ยงเชื้อยีสต์ลงอาหาร YMB ปริมาณ 1 ลิตร

เตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น ปิเปตเชื้อลงในอาหาร YMB 1 ลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 22 ℃ เขย่า 200 rpm เวลา 7 วัน และทำการวัดค่าความขุ่น (Optical density OD) ที่ 600 นาโนเมตร แบ่งเชื้อยีสต์ใส่ขวดเซนทริฟิวจ์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,500 rpm อุณหภูมิ 4 ℃ นาน 20 นาที

จากนั้นส่วนใสที่เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อออก เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร สมดุลน้ำหนักและนำไปปั่นเหวี่ยงอีกหนึ่งรอบเพื่อล้างอาหารเลี้ยงเชื้อออกให้หมด เมื่อทำการปั่นเหวี่ยงเสร็จแล้วเทส่วนใสออก นำเซลล์ยีสต์ที่ได้มาชั่งน้ำหนัก (บันทึกน้ำหนักเซลล์สด) ห่อด้วยอะลูมิเนียมฟรอยด์ก่อนนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 ℃ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักเซลล์อบแห้งที่ได้นำเชื้อยีสต์อบแห้งมาสกัดแอสตาแซนธินด้วยกรดอินทรีย์อัตราส่วน 1:10 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง กวนให้เซลล์ยีสต์ละลายเข้ากับกรดอินทรีย์ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที นำไปปั่นเหวี่ยง ที่ 6500 rpm อุณหภูมิ 4℃ เวลา 10 นาที เพื่อแยกกรดออกจากการเซลล์ ล้างด้วยน้ำกลั่นและนำไปปั่นเหวี่ยงซ้ำอีก 2 รอบ

เติมตัวทำละลายอินทรีย์ อัตราส่วน 1:50 ของน้ำหนักเซลล์แห้งกวนเป็นเวลา 5 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 15000 rpm อุณหภูมิ 4℃ เวลา 30 นาที เก็บเฉพาะสารละลายส่วนใสนำไประเหยตัวทำละลายออก ออกเพื่อเพิ่มความเข้มข้นให้กับสารละลายแอสตาแซนธิน ด้วยเครื่อง Evaporator นำแอสตาแซนธินเข้มข้นที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณแอสตาแซนธิน ที่ค่าการดูดกลืนแสง 474 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer

นำปริมาณแอสตาแซนธินที่สกัดจากยีสต์เปรียบเทียบกับปริมาณแอสตาแซธินที่สกัดได้จากเปลือกกุ้ง (การสกัดแอสตาแซนธินจากเปลือกกุ้งอบแห้งโดยวิธี Supercritical Fluid Extraction)

3.3 ตรวจสอบแอสตาแซนธินที่สกัดได้จากเชื้อยีสต์โดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) โดยเทียบกับสารมาตรฐานแอสตาแซนธินที่สกัดจากสาหร่ายแดงชนิด *Heamatococcus pluvialis*

กรองสารละลายที่ใช้เป็นวัฏภาคไหล (mobile phase) ได้แก่ เมทานอล น้ำ และตัวอย่าง คือ แอสตาแซนธินจากยีสต์ เปลือกกุ้ง และสาหร่ายแดงด้วยกระดาษกรองไนลอน ขนาด 0.45 ไมครอน เพื่อป้องกันตะกอนจากตัวอย่างเข้าไปอุดตันในคอลัมน์วิเคราะห์ ทำ Standard ที่ความเข้มข้นต่างๆ และฉีดตัวอย่างแอสตาแซนธินที่กรอง

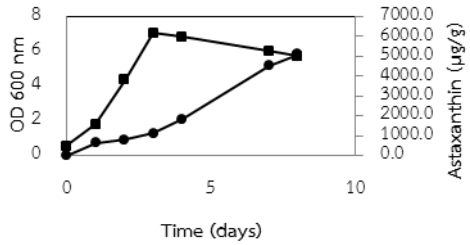
แล้วเข้าเครื่อง HPLC เพื่อวิเคราะห์สาร โดยมีสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

อุปกรณ์/สารเคมีที่ใช้	สภาวะการวิเคราะห์
Column	Shim-pack GIST C18 (4.6× 150 nm, 5µm)
Mobile phase A	Methanol
Mobile phase B	Water
Gradient	0 -3 นาที 80% phase A
	5 -8 นาที 100% phase A
	9 นาที 80% phase A
Flow rate	1ml/min
Temperature	40 °C
Detection	474 นาโนเมตร

4. ผลการทดลอง

4.1 การทดสอบเบื้องต้นเลี้ยงเชื้อยีสต์เพื่อผลิตแอสตาแซนธิน



รูปที่ 1 การเจริญและการสร้างแอสตาแซนธินของเชื้อยีสต์

ยีสต์เริ่มเข้าสู่ช่วง Stationary phase ในวันที่ 3-7 และเริ่มมีการสร้างแอสตาแซนธินในอัตราที่สูงขึ้น หลังจากวันที่ 8 เชื้อยีสต์เริ่มเข้าสู่ death phase มีอัตราการสร้างแอสตาแซนธินลดลง ดังนั้นจากการทดลองเบื้องต้นจึงเลือกทำการทดลองในระยะเวลา 7 วัน

4.2 ขยายขนาดการเลี้ยงเชื้อยีสต์ลงอาหาร YMB ปริมาณ 1 ลิตร

เมื่อทำการเลี้ยงเอยีสต์ลงในอาหาร YMB ขนาด 1 ลิตร ได้นำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 4.34 กรัม และนำมาสกัดแอสตาแซนธิน ได้ปริมาณแอสตาแซนธินเท่ากับ 3.6 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักกรัมแห้ง เมื่อเทียบกับเปลือกกุ้งแล้วยีสต์ให้แอสตาแซนธินสูงกว่าถึง 4.5 เท่า

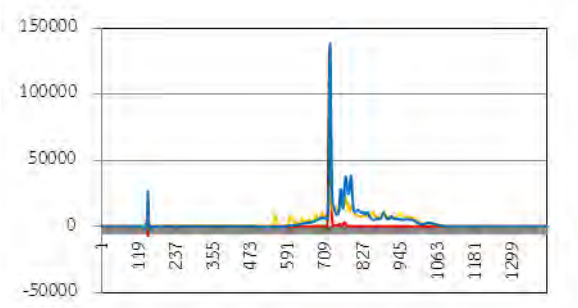
ตารางที่ 2 ปริมาณแอสตาแซนธินจากยีสต์ ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร

ความเข้มข้นแอสตาแซนธิน (mg/ml)	ปริมาณแอสตาแซนธินทั้งหมด (mg)	ปริมาณแอสตาแซนธินต่อกรัมแห้ง (mg/g)
0.6	15.8	3.6

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณแอสตาแซนธินที่ผลิตจากยีสต์และเปลือกกุ้ง

ตัวอย่าง	ปริมาณแอสตาแซนธิน (mg/g)
แอสตาแซนธินจากยีสต์	3.6
แอสตาแซนธินจากเปลือกกุ้ง	0.6

4.3 ตรวจสอบแอสตาแซนธินที่สกัดได้จากเชื้อยีสต์โดยใช้เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)



รูปที่ 2 HPLC chromatogram ของแอสตาแซนธินที่สกัดจากยีสต์เปลือกกุ้ง เทียบกับสารละลายมาตรฐานแอสตาแซนธินจากสาหร่ายแดง *H. pluvialis*

5. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการทดสอบเบื้องต้นพบว่า ระยะเวลาที่เหมาะสม คือ 7 วันในการเลี้ยงยีสต์เพื่อให้สามารถผลิตแอสตาแซนธิน และพบว่ายีสต์สามารถผลิตแอสตาแซนธินสูงกว่าเปลือกกุ้ง 4.5 เท่า โดยแอสตาแซนธินที่ผลิตได้มีคุณลักษณะคล้ายคลึงกับสารแอสตาแซนธินมาตรฐานจากสาหร่ายแดงชนิด *Heamatococcus pluvialis*

ดังนั้นยีสต์จึงเป็นแหล่งผลิตแอสตาแซนธินอีกแหล่งหนึ่งที่มีประสิทธิภาพทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ สำหรับนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์ได้

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ บริษัท ซีพีเอฟ (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน) (ฉะเชิงเทรา) ฝ่ายวิจัย คุณจุไรลักษณ์ เจียมวงษา คุณน้ำทิพย์ ชุมพลกุลวงศ์ และคุณปาริฉัตร เหลืองทองคำ ทำให้การปฏิบัติสหกิจศึกษาประสบความสำเร็จลงได้อย่างดี

ขอขอบคุณผู้นิเทศงาน นางสาวพักตร์นิศา ศิริมนตรี นางสาวณัฐสุดา ปรีชาธรรมวงศ์ นางสาวณัฐนรี ลอพันธุ์ไพบูลย์ และนายสุริยพงศ์ ประเสริฐสิริพันธ์ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและดูแลมาโดยตลอดในการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

ขอขอบคุณ ดร.อัษฎาวุธ อารีสิริสุข และ ผศ. สุจยา ฤทธิศร อาจารย์นิเทศสหกิจศึกษา ขอขอบพระคุณทุกท่านไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

[1] Mortensen, A., Skibsted, L.H., Truscott, T.G., 2001. The interaction of dietary carotenoids with radical species. Arch. Biochem. Biophys. 385, 13–19. doi:10.1006/abbi.2000.2172

[2] Dore, J.E., Cysewski, G.R., 2003. Haematococcus algae meal as a source of natural astaxanthin for aquaculture feeds. Cyanotech Corp. Hawaii USA

[3] Kobayashi, M., Kakizono, T., Nishio, N., Nagai, S., Kurimura, Y., Tsuji, Y., 1997. Antioxidant role of astaxanthin in the green alga *Haematococcus pluvialis*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 48: 351–356.

นางสาวประภา ชินไธสง
สาขาวิชาชีววิทยา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ที่อยู่ 382/35 หมู่ 2 ตำบลอ้อมน้อย อำเภอกระทุ่มแบน จังหวัดสมุทรสาคร 74130
เบอร์โทรศัพท์ 098-872-4062
E-mail papraice009@Outlook.co.th

นางสาวอังคณา วัฒนาสมบุญดี
สาขาวิชาชีววิทยา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ที่อยู่ 36 หมู่ 9 ตำบลบุฝ้าย อำเภอประจันตคาม จังหวัดปราจีนบุรี 25130
เบอร์โทรศัพท์ 082-214-7191
E-mail joyaungkana27@gmail.com