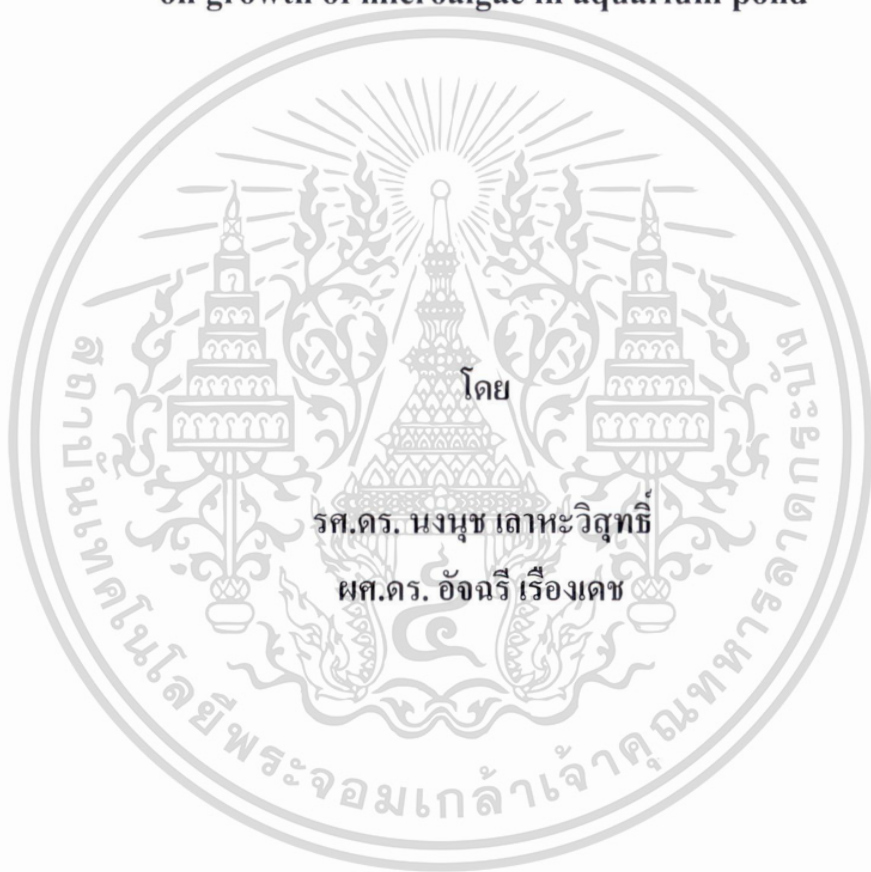


รายงานการวิจัย

เรื่อง

การผลิตสารสกัดจากสาหร่ายทะเลเพื่อควบคุมการเจริญของ
สาหร่ายเซลล์เดียวในบ่อเลี้ยงปลาสวยงาม

Seaweed extraction as algicidal of sea grape (*Caulerpa* sp.)
on growth of microalgae in aquarium pond



ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

RCH

QK

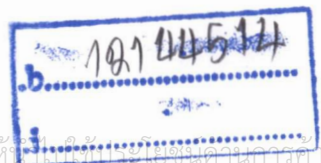
๕๗๐.๒

๗๑๓๙๗

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน 106008

วัน,เดือน,ปี 5 สิงหาคม 2553



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้ใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การผลิตสารสกัดจากสาหร่ายทะเลเพื่อควบคุมการเจริญของสาหร่ายเซลล์เดียวในบ่อเลี้ยง
ปลาสวยงาม

นางนุช เกาหะวิสุทธิ และ อัจฉรี เรืองเดช

บทคัดย่อ

สาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*) ที่อบแห้งและสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนและเมทานอลโดยใช้ทุกส่วนของสาหร่ายสกัดรวมกัน พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวสกัด ไดคลอโรมีเทน (ความเข้มข้น 100, 200 และ 400 ppm) ที่ระดับความเข้มข้นที่มากกว่า 200 ppm แสดงผลในการยับยั้งสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Oscillatoria* sp. และ *Microcystis* sp. แต่ความเข้มข้นของสารที่สกัดด้วยตัวสกัดเมทานอล (ความเข้มข้น 100, 300 และ 500 ppm) จะแสดงผลในการยับยั้งสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Microcystis* sp. ได้อย่างเด่นชัดที่ระดับความเข้มข้นที่ 500 ppm แต่ไม่สามารถยับยั้ง *Oscillatoria* sp. ในความเข้มข้นเดียวกัน เมื่อนำมาทดสอบถึงผลของสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายในตู้เลี้ยงปลา โดยใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดร่วมกับชุดควบคุมที่ใส่เฉพาะตัวทำละลาย (เอทานอล) ลงในตู้ปลา พบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 100 ppm สามารถยับยั้งปริมาณสาหร่ายในตู้ได้ดีที่สุด ซึ่งจะมีปริมาณแพลงก์ตอนลดลงเท่ากับ 5.17×10^6 cell/ml รองลงมาคือสารสกัดที่ความเข้มข้น 50 และ 10 ppm จะมีปริมาณแพลงก์ตอนลดลงเท่ากับ 1.15×10^6 cell/ml และ 0.55×10^6 cell/ml ตามลำดับและสามารถยับยั้งปริมาณของแพลงก์ตอนได้เป็นเวลา 4 วัน และไม่ส่งผลกระทบต่อปลาทองที่เลี้ยงในตู้แสดงว่าสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้น 100 ppm สามารถใช้ในการยับยั้งปริมาณสาหร่ายได้ในขณะที่ทำการเลี้ยงปลาทองอยู่ด้วยรวมถึงคุณภาพน้ำในตู้เลี้ยงปลาทองในแต่ละชุดการทดลองจะไม่แตกต่างกัน มีเพียงปริมาณออกซิเจนละลายในกลุ่มที่เติมสารสกัดทั้งที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm จะลดลง เล็กน้อย จากผลการศึกษานี้ สามารถนำไปใช้เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาสารสกัดจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* เพื่อใช้ทดแทนสารเคมีที่มีการตกค้างในบ่อเลี้ยงปลา

คำสำคัญ : สาหร่ายพวงองุ่น สารสกัดจากสาหร่าย สาหร่ายเซลล์เดียว

Seaweed extraction as algicidal of sea grape (*Caulerpa* sp.) on growth of microalgae in aquarium pond

Nongnuch Laohavisuti and Uscharee Ruangdej

Abstract

The dry seaweed (*Caulerpa lentilifera*) was extracted by using dichloromethane and methanol. The crude dichloromethane extracted of 200 ppm concentration showed inhibiting effect on both blue green algae (*Oscillatoria* sp. and *Microcystis* sp.), while the crude methanol extracted of 500 ppm concentration showed inhibiting effect on blue green algae only *Microcystis* sp. but no effect on *Oscillatoria* sp.

The test in aquarium tank of ethanolic crude extracted of 0, 10, 50, 100 ppm and ethanol control on the inhibition growth of phytoplankton showed that 100 ppm, 50 ppm, and 10 ppm could decrease 5.17×10^6 cell/ml, 1.15×10^6 cell/ml and 0.55×10^6 cell/ml, respectively. The inhibition effect could last for 4 days and no effect to goldfish which implied that 100 ppm of seaweed crude ethanolic extracted is safe. There were no differences on water quality in all test concentrations and slightly decrease on dissolved oxygen when increasing the extracted.

This study showed the potential to use bioactive compounds from seaweed extracted instead of using chemical reagent to control micro-algal bloom in aquarium pond.

Key words : *Caulerpa* sp., seaweed extract, microalgae

สารบัญ

| | หน้า |
|--------------------------------|------|
| สารบัญ | III |
| สารบัญตาราง | IV |
| สารบัญภาพ | V |
| บทที่ 1 คำนำ | 1 |
| บทที่ 2 ตรวจเอกสาร | 2 |
| บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง | 10 |
| บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ | 13 |
| บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง | 30 |
| เอกสารอ้างอิง | 31 |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และ III อ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | | หน้า |
|----------|---|------|
| 1 | กิจกรรม antiviral ของสารสกัดร้อนที่แยกออกมาจาก <i>C. racemosa</i> ต่อการยับยั้ง herpes virus | 7 |
| 2 | ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ <i>Microcystis</i> sp. ต่อมิลลิลิตร จากการทดลองใส่สารสกัดด้วยตัวสกัดไดคลอโรมีเทน (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | 15 |
| 3 | ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ <i>Microcystis</i> sp. ต่อมิลลิลิตร จากการทดลองใส่สารสกัดด้วยตัวสกัดเมธานอล (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | 16 |
| 4 | ค่าเฉลี่ยของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ <i>Oscillatoria</i> sp. จากการทดลองใส่สารสกัด ที่สกัดด้วยตัวสกัดไดคลอโรมีเทน | 20 |
| 5 | ค่าเฉลี่ยของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ <i>Oscillatoria</i> sp. จากการทดลองใส่สารสกัด ที่สกัดด้วยตัวสกัดเมธานอล | 21 |

สารบัญภาพ

| ภาพที่ | | หน้า |
|--------|--|------|
| 1 | ปลาทอง (goldfish) | 2 |
| 2 | สาหร่ายพวงองุ่น (<i>Caulerpa lentillifera</i>) | 5 |
| 3 | โครงสร้างทางเคมีของ Caulerpal A ($2 R^1 = H, R^2 = Ac$), Caulerpal B ($3 R^1 = CH_3, R^2 = H$) และ Caulerpin (4) | 6 |
| 4 | ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ <i>Microcystis</i> sp. ต่อมิลลิลิตร จากการทดลองใส่สารสกัดด้วยตัวสกัดไดคลอโรมีเทน (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | 17 |
| 5 | ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ <i>Microcystis</i> sp. ต่อมิลลิลิตร จากการทดลองใส่สารสกัดด้วยตัวสกัดเมธานอล (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) | 17 |
| 6 | ค่าเฉลี่ยปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ <i>Oscillatoria</i> sp. จากการทดลองใส่สารสกัดด้วยตัวสกัดไดคลอโรมีเทน | 19 |
| 7 | ค่าเฉลี่ยปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ <i>Oscillatoria</i> sp. จากการทดลองใส่สารสกัดด้วยตัวสกัดเมธานอล | 19 |
| 8 | ปริมาณไนโตรเจน (a), ไนเตรต (b), และแอมโมเนีย (c) ในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัด | 22 |
| 9 | ปริมาณแพลงก์ตอนในน้ำก่อนใส่สารสกัด ในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัด เป็นระยะเวลา 28 วัน | 23 |
| 10 | สาหร่ายสีเขียว <i>Scenedesmus</i> sp. ที่พบในตู้ปลาจากการทดลอง | 24 |

สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่ | | หน้า |
|--------|--|------|
| 11 | ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำก่อนใส่สารสกัด ในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัด เป็นระยะเวลา 63 วัน | 24 |
| 12 | ค่าความเป็นกรด-ด่างก่อนใส่สารสกัด ในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัด เป็นระยะเวลา 63 วัน | 25 |
| 13 | อุณหภูมิก่อนใส่สารสกัด ในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัดเป็นระยะเวลา 63 วัน | 26 |
| 14 | ปริมาณแพลงก์ตอนในน้ำก่อนใส่สารสกัด ในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัด เป็นระยะเวลา 7 วัน | 26 |
| 15 | ปริมาณแพลงก์ตอนที่เปลี่ยนแปลงหลังเติมสารสกัดในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัด เป็นระยะเวลา 4 วัน | 27 |
| 16 | ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหลังใส่สารสกัด ในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัด เป็นระยะเวลา 7 วัน | 28 |

สารบัญภาพ (ต่อ)

| ภาพที่ | | หน้า |
|--------|--|------|
| 17 | ค่าความเป็นกรด-ด่างหลังใส่สารสกัด ในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัด เป็นระยะเวลา 6 วัน | 28 |
| 18 | อุณหภูมิหลังใส่สารสกัด ในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัด เป็นระยะเวลา 7 วัน | 29 |



บทที่ 1 คำนำ

สาหร่ายสีเขียวสกุล *Caulerpa* หรือสาหร่ายพวงองุ่น เป็นสาหร่ายที่มีการเจริญเติบโตได้ง่าย และเป็นสาหร่ายที่รุกรานพืชน้ำอื่นๆ สามารถพบได้ทั่วไปในบริเวณชายฝั่งทะเลเขตร้อน ได้มีการนำสาหร่ายชนิดนี้มาใช้เพื่อการบำบัดน้ำเสียภายในฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์ทะเล โดยใช้เป็นตัวดูดซับสารอาหารที่มากเกินไปในน้ำ จึงทำให้สาหร่าย *Caulerpa* มีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว ปัจจุบันได้มีการศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติของสารสกัดจากสาหร่าย *Caulerpa* ทั้งทาง การแพทย์และทางสิ่งแวดล้อม โดยทางการแพทย์จะนำสารสกัดมาขยับยั้งโรคมะเร็งในมนุษย์ ส่วนทาง สิ่งแวดล้อมได้ทำการศึกษาลักษณะของสาหร่ายที่มีอิทธิพลต่อสิ่งมีชีวิตอื่นๆด้วย จึงมี แนวคิดที่จะนำสาหร่ายชนิดนี้มาใช้ประโยชน์อย่างอื่นนอกเหนือจากการนำมาบริโภค

การเลี้ยงปลาสวยงามในปัจจุบันเป็นที่นิยมเลี้ยงเพิ่มมากขึ้น ทั้งเพื่อความเพลิดเพลิน จนกระทั่งการเลี้ยงเพื่อการค้าทั้งภายในและภายนอกประเทศ ซึ่งมักจะมีปัญหาของการเกิดตะไคร่น้ำหรือแพลงก์ตอนภายในบ่อเลี้ยงปลา ซึ่งทำให้น้ำและข้างตู้หรือบ่อเลี้ยงเกิดเป็นสีเขียวดูไม่ สวยงามทำให้มองไม่เห็นตัวปลา ซึ่งอาจจะมีปลาที่ป่วยอยู่มีผลให้แก้ไขไม่ทัน ซึ่งบางครั้งแพลงก์ ตอนที่เกิดขึ้นมากเกินไปอาจส่งผลถึงปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ โดยลดปริมาณออกซิเจน อย่างฉับพลันในตอนกลางคืนเพราะตอนกลางวันแพลงก์ตอนพืชในน้ำ จะทำการสังเคราะห์แสงใช้ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และผลิตก๊าซออกซิเจนออกมา แต่กลางคืนแพลงก์ตอนพืชเหล่านี้กลับ ต้องใช้ออกซิเจนในการหายใจและคายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาแทน ทำให้ปริมาณ ออกซิเจนในน้ำลดลงอย่างรวดเร็ว หากผู้เลี้ยงใช้น้ำยาหรือสารเคมีเติมในน้ำเพื่อกำจัดแพลงก์ตอน เหล่านี้ อาจต้องพบกับปัญหาปลาตายอย่างฉับพลัน ซึ่งอาจเกิดจากสารเคมีที่เป็นพิษ หรือปริมาณ ออกซิเจนในน้ำที่ลดลงอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้การจับถ่ายของเสียของสัตว์น้ำก็ยิ่งส่งผลถึงคุณภาพ น้ำภายในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำและต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชได้อีกด้วย

งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาเกี่ยวกับผลของระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* หรือสาหร่ายพวงองุ่นด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของ แพลงก์ตอนพืช และทำการทดสอบในบ่อเลี้ยงปลาทองร่วมกับตรวจสอบคุณภาพน้ำทั้งก่อนและ หลังใส่สารสกัดจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*

บทที่ 2 ตรวจเอกสาร

2.1 ลักษณะทั่วไปของปลาทอง



ภาพที่ 1 ปลาทอง (goldfish)

ที่มา : www.ninekaow.com/wbs/view.php?sub=04&id=320

ปลาทองมีชื่อไทย ชื่อสามัญ Goldfish และชื่อวิทยาศาสตร์ *Carassius auratus* ซึ่งจัดเป็นปลาสวยงามชนิดหนึ่งที่รู้จักกันดีและเป็นที่ยอมรับอันดับต้นๆของคนไทยมาเป็นเวลานานแล้ว มีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมในประเทศจีนตอนใต้ ในธรรมชาติชอบอาศัยตามหนองน้ำและลำคลองที่ติดกับแม่น้ำ ในสภาพแวดล้อมที่ดีปลาทองอาจมีชีวิตยืนยาวอยู่ได้ 20-30 ปี แต่ปลาทองที่เลี้ยงไว้ดูเล่นจะมีช่วงชีวิตประมาณ 7-8 ปี พบจำนวนมากที่มีอายุถึง 20 ปี ซึ่งเดิมเป็นปลาที่เลี้ยงไว้เป็นอาหาร ต่อมาได้มีการคัดพันธุ์มาเลี้ยงเป็นปลาสวยงาม ปลาทองเป็นปลาที่มีความทนทานต่ออุณหภูมิในช่วงกว้าง จึงเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย มีหลากหลายสายพันธุ์ ซึ่งแตกต่างกันทั้งรูปร่าง ลักษณะและสีสันทัน เช่น ออเรนดา ออเรนดาหัววุ้น ริวกิ้น เกล็ดแก้วเล่ห์ ตาโปน หัวสิงห์ปัจจุบัน ประเทศจีน ฮองกง สิงคโปร์ และญี่ปุ่น เป็นศูนย์กลางการส่งออกปลาทองที่ใหญ่ที่สุด ประเทศไทยมีการเพาะเลี้ยงปลาทองกันมากในแถบจังหวัดราชบุรี นครปฐมและกรุงเทพฯ สำหรับประเทศไทยผลผลิตปลาทองส่วนมากมีการจำหน่ายภายในประเทศ การส่งออกมีจำนวนน้อย การส่งออกจะแบ่งเป็น 2 ประเภท คือการส่งปลาที่มีคุณภาพดี เช่น สายพันธุ์หัวสิงห์ ตลาดส่วนใหญ่จะอยู่ที่ประเทศสิงคโปร์ ยุโรป อังกฤษและฝรั่งเศส ส่วนปลาทองที่มีคุณภาพรองลงมา เช่น ออเรนดา จะมีตลาดอยู่ที่สหรัฐอเมริกาขณะเดียวกันก็มีการนำเข้าปลาทองสายพันธุ์สิงห์ญี่ปุ่น (รันชู) จากประเทศญี่ปุ่นมาเป็นพ่อแม่พันธุ์เพื่อการเพาะเลี้ยงและปรับปรุงพันธุ์

ปัญหาที่มักพบเมื่อทำการเลี้ยงปลา คือ น้ำภายในบ่อเลี้ยงจะเกิดสีเขียวทำให้มองไม่เห็นตัวปลา ซึ่งอาจจะมีปลาที่ป่วยอยู่ ทำให้ช่วยไม่ได้ ซึ่งน้ำเขียวนั้นเกิดจากแพลงก์ตอนพืชซึ่งมีขนาดรูปร่างเล็กมาก มองไม่เห็นด้วยตาเปล่าต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ส่องดู ตะไคร่ที่เกาะข้างผนังบ่อก็

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จัดเป็นพืชกลุ่มเดียวกันแต่มีหลายหลายสายพันธุ์ มีทั้งสีอื่นๆ เช่น น้ำตาล สีแดง เหลือง พืชกลุ่มนี้ขยายพันธุ์โดยอาศัยสปอร์แพร่กระจายล่องลอยไปตามลม และน้ำเขียวยังมีผลต่อการลดปริมาณออกซิเจนอย่างฉับพลันในตอนกลางคืนเพราะตอนกลางวันแพลงก์ตอนพืชในน้ำจะทำการสังเคราะห์แสงใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และผลิตก๊าซออกซิเจนออกมา แต่กลางคืนแพลงก์ตอนพืชเหล่านี้กลับต้องใช้ออกซิเจนในการหายใจและคายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาแทน ทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำลดลงอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เมื่อมีปริมาณมากรวมกับน้ำจะมีฤทธิ์เป็นกรด แต่โชคดีความเป็นกรดมักจะถูกสะเทินทำให้เป็นกลางโดยปะการังในบ่อกรอง หรือหากคนเลี้ยงใช้น้ำ ยาหรือสารเคมีเติมในน้ำเพื่อกำจัดแพลงก์ตอนเหล่านี้ อาจต้องพบกับปัญหาปลาตายอย่างฉับพลัน ซึ่งอาจเกิดจากสารเคมีที่เป็นพิษ หรือปริมาณออกซิเจนในน้ำที่ลดลงอย่างรวดเร็ว เพราะแบคทีเรียต้องใช้เพื่อย่อยสลายแพลงก์ตอนเหล่านี้

2.2 ปัจจัยที่ทำให้เกิดน้ำเขียว

2.2.1 อาหาร สารอาหารหลักของพืช ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโปแตสเซียมนั่นเอง โดยไนโตรเจนจะเป็นสารอาหารที่พบมากในน้ำในรูปของไนเตรท (NO_3) ที่พืชนำไปใช้ได้ ไนเตรทเกิดจากการย่อยสลายสารอินทรีย์โดยแบคทีเรีย ฟอสฟอรัสในน้ำปกติเรามักพบในรูปของสารประกอบฟอสเฟตซึ่งก็มาจากการย่อยสลายสารอาหารและของเสียที่ปลาขับถ่ายออกมาเช่นกัน ส่วนโปแตสเซียมพบบ้างแต่ไม่มากเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณไนเตรทและฟอสเฟต

2.2.2 อุณหภูมิ ปัญหาน้ำเขียวมักจะรุนแรงในฤดูร้อนมากกว่าฤดูหนาว อุณหภูมิเป็นปัจจัยในการเร่งอัตราการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนเหล่านี้ให้สูงขึ้น

2.2.3 แสงสว่าง แพลงก์ตอนพืชต้องการใช้แสงสว่างเพื่อการเจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ ยิ่งแสงสว่างมีปริมาณมากส่องลงผิวน้ำเท่าไร ก็ช่วยเพิ่มปริมาณการสังเคราะห์แสงของแพลงก์ตอนมากเท่านั้น

2.3 วิธีการควบคุมน้ำเขียว

2.3.1 การลดปริมาณสารอาหารภายในบ่อ ระดับไนเตรทที่ปลอดภัยสำหรับปลาไม่ได้มีความสัมพันธ์กับระดับไนเตรทที่เหมาะสมในการเกิดน้ำเขียวแต่อย่างใด แม้ว่ามีระดับไนเตรทที่ต่ำแต่ใคร่พืชในกลุ่มเดียวกันข้างผนังบ่อก็ยังคงเติบโตได้ไม่มีปัญหา ในขณะที่เดียวกันบางครั้งไนเตรทมีค่าค่อนข้างสูง แต่น้ำก็ไม่เขียว แสดงว่ามีปัจจัยอื่นร่วมด้วย การลดปริมาณสารอาหารทำได้หลายวิธีควบคู่กันไปได้แก่

2.3.1.1 การถ่ายน้ำออกบางส่วนหรือให้มีระบบน้ำล้นเพื่อลดปริมาณไนเตรทสะสม อาจเป็นวันละ 5-10% ของปริมาณน้ำทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ลักษณะทั่วไปของสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*)



ภาพที่ 2 สาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*)

ที่มา: www.siamensis.org/board/7958.html

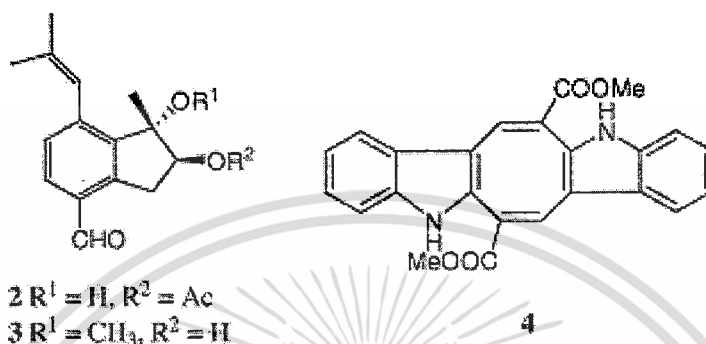
สาหร่ายพวงองุ่น อยู่ใน Family: Caulerpaceae Order: Caulerpales ลักษณะเป็นสาหร่ายสีเขียวที่มีรูปร่างหลากหลายมาก มีทั้งแบบเป็นเม็ดสีเขียวกลมๆ เล็กๆ บนก้านคล้ายช่อพริกไทย หรือเป็นแขนง ๒ ข้างเหมือนขนนก หรือเป็นแผ่นกลมมีก้านตรงกลางคล้ายใบบัว หรืออาจเป็นวงเรียงกัน ๒-๘ ชั้นคล้ายฉัตรหรือหางกระรอก บริเวณที่พบ ขึ้นบนก้อนหิน หรือซากปะการัง หรือพื้นที่ชายเลนโคลนในเขตชายฝั่ง สาหร่ายพวงองุ่นเจริญเติบโตได้ดีในน้ำทะเลที่มีความเค็ม ในช่วง 25-30 ส่วนในพัน เป็นสาหร่ายทะเลที่ขึ้นอยู่ในบริเวณเขตร้อน ทลัสประกอบด้วยท่อติดต่อกันตลอด มีไรโซอิดเป็นฝอยทำหน้าที่ยึดเกาะกับพื้น ส่วนที่มีลักษณะเหมือนใบ ซึ่งทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แสง เรียกว่า รามูลัส (ramulus) มีรูปร่างต่างกัน อาจจะเป็นก้านยาวรี กลม แบน หรือเป็นเส้นเหมือนขนนก ส่วนนี้มีสีเขียว สาหร่ายชนิดนี้มองคล้ายพวงองุ่นที่ขึ้นเป็นกระจุกจึงมีชื่อเรียกว่า สาหร่ายพวงองุ่น (sea grape)

2.5 โครงสร้างของสารประกอบของสาหร่ายพวงองุ่น

จากการศึกษาของ Chun et al. (2006) พบว่าโครงสร้างของสารประกอบที่พบในสาหร่าย *Caulerpa* ได้แก่ Caulerpal A และ Caulerpal B จะมีกิจกรรมซึ่งยับยั้ง Human protein tyrosine phosphatase 1B (hPTP1B) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดโรคเบาหวานและโรคอ้วน โดยการสกัดสาหร่ายด้วย อะซิโตน มาทำการแยกโดยใช้ ซิลิกาเจลและโครมาโทกราฟี โดยสารประกอบทั้งสองชนิดจะต่างกันตรงที่ คาร์บอนตัวที่ 2 และ 3 ของ Caulerpal A จะเป็นเอคดิเนียมและไฮโดรเจนตามลำดับ ในขณะที่คาร์บอนตัวที่ 2 และ 3 ของ Caulerpal B จะเป็นไฮโดรเจนและ CH_3 ตามลำดับ โดยมีสูตรโครงสร้างเป็น $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_4$ และ $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_3$ ตามลำดับ (ภาพที่ 3) และสารประกอบต่างๆใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายจะประกอบด้วย caulerpin, caulerpicin, palmitic acid, taraxerol, caulerpol, flexilin และ trifarin (อ้างตาม Vidal et al., 1984) ซึ่ง caulerpin (dimethyl 6,13-dihydrodibenzo[b,i]phenazine-5,12-dicarboxylate) มีสูตรโครงสร้างเป็น $C_{24}H_{18}N_2O_4$ (Parvez et al., 2000)



ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของ Caulerpal A (2 $R^1 = H, R^2 = Ac$), Caulerpal B (3 $R^1 = CH_3, R^2 = H$) และ Caulerpin (4)

ที่มา : Chun et al. (2006)

2.6 ผลกระทบของสารประกอบจากสาหร่าย Caulerpa

2.6.1 ผลกระทบของสารประกอบที่พบในสาหร่าย Caulerpa ต่อเชื้อไวรัส

Ghosh et al. (2004) ได้ศึกษาเกี่ยวกับสารประกอบที่ยับยั้ง Herpesvirus จากคุณสมบัติในการยับยั้งไวรัสของ sulfated polysaccharide มีการรายงานการมีอยู่ของโพลีแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ใน *Caulerpa racemosa* ดังนั้นจึงทำการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติในการยับยั้งไวรัสของสาหร่าย *Caulerpa racemosa* ส่วนของ sulfated polysaccharide จะได้จากสารสกัดร้อนของ *Caulerpa racemosa* เป็น โพลีเมอร์ซึ่งประกอบด้วย galactose, glucose, arabinose และ xylose สำหรับการวิเคราะห์ antiviral ค่า EC_{50} สำหรับ herpes simplex virus type (HSV-1), TK⁻ HSV-1 (B2006), TK⁻ HSV-1 (field) และ HSV-2 ใน Vero cell จะมีความเข้มข้นของ สารสกัดร้อนของ *C. racemosa* เป็น $4.2 \pm 1.5 \mu\text{g/ml}$, $2.4 \pm 0.7 \mu\text{g/ml}$, $2.2 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$ และ $3.0 \pm 1.0 \mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 กิจกรรม antiviral ของสารสกัดร่อนที่แยกออกมาจาก *C. racemosa* ต่อการยับยั้ง herpes virus

| Virus | EC ₅₀ (µg/ml) ^a | SI ^b |
|-------------------------------|---------------------------------------|-----------------|
| HSV-1 (F) | 4.2 ± 1.5 | >238 |
| TK ⁻ HSV-1 (B2006) | 2.4 ± 0.7 | >417 |
| TK ⁻ HSV-1 (field) | 2.2 ± 0.1 | >454 |
| HSV-2 (G) | 3.0 ± 1.0 | >333 |

^aEC₅₀ (ความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพ 50%) : ความเข้มข้นที่ทำให้จำนวน vero cell ลดจำนวนลง 50%

CC₅₀ (ความเข้มข้นที่มีพิษต่อเซลล์ 50% : ความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ที่ใช้การได้ลดลง 50%) คือ >1000 µg/ml

^b SI : อัตราส่วนของ CC₅₀/EC₅₀

ที่มา : Ghost et al. (2004)

2.6.2 ผลกระทบของสารประกอบ Caulerpa ต่อพืชและสัตว์ทะเลชนิดอื่นๆ

2.6.2.1 ผลกระทบจากสารประกอบ Caulerpa ต่อพืช

ความเข้มข้นของสารประกอบ phenolic ในหญ้าทะเล *Posidonia oceanica* ภายใต้สภาพของการแข่งขันที่มีผลกระทบซึ่งกันและกันกับ *Caulerpa taxifolia* และ *Caulerpa racemosa* โดยสารประกอบ phenolic ทำหน้าที่เป็นสารที่ใช้ในการป้องกันตัวเอง จะมีการสร้างชนิดนี้ขึ้นมาเมื่อมีสารพิษของพืชอื่นๆมารบกวน ซึ่งจะทำการวัดใน ใบเต็มวัย เนื้อหุ้มของใบเต็มวัย และใบระยะกลาง ของหญ้าทะเล ซึ่งความเข้มข้นของสารประกอบ phenolic สำหรับหญ้าทะเล มีแนวโน้มขึ้นอยู่กับฤดูกาล ที่ Cap Martin (ผลกระทบซึ่งกันและกันกับ *C. taxifolia*) ความเข้มข้นจะสูงที่สุดในเดือน พฤศจิกายน และต่ำที่สุดในเดือนกันยายนและมีนาคม ขณะที่ Antignano (ผลกระทบซึ่งกันและกันกับ *C. racemosa*) ความเข้มข้นสูงที่สุดในเดือนพฤษภาคมและต่ำที่สุดในเดือนมกราคมและมีนาคม โดยที่ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารประกอบ phenolic วัดในใบเต็มวัยของ *P. oceanica* มีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นด้วยระดับของ interaction ที่เพิ่มขึ้นของ *C. taxifolia* และ *C. racemosa* สารประกอบ phenolic ในหญ้าทะเลส่วนใหญ่จะเป็น P1 (ประกอบด้วยกรด ferulic) ความเข้มข้นเฉลี่ย ที่เพิ่มขึ้นในรอบปีด้วยระดับของ interaction ที่ 0 Ct ความเข้มข้นของ P1 เป็น $55.5 \pm 14.1 \mu\text{g g}^{-1} \text{dm}$ และที่ 2Ct ความเข้มข้นของ P1 เป็น $94.4 \pm 23.4 \mu\text{g g}^{-1} \text{dm}$ มีการเพิ่มขึ้น 70% และ P2 (ester, methyl 12-acetoxyrici- nolate) มีความเข้มข้นเฉลี่ยที่ 0 Ct เป็น 16.7 ± 3.4 และที่ 2Ct เป็น $28.9 \pm 7.9 \mu\text{g g}^{-1} \text{dm}$ มีการเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับ P1 จำนวนที่ tannin cell ที่ Antignano (ที่ 0 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cr) ที่ 90 mm จากฐานใบ มีค่าเฉลี่ยเป็น 96.0 ± 12.4 cell/cm ขณะที่เมื่อมีเพียง 52.5 ± 10.8 และ 64.9 ± 24.6 cell/cm ที่ 0 และ 240 mm จากฐานใบตามลำดับ ใน sheath จำนวนจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญกับ ส่วนปลาย (0 mm) และส่วนอื่นๆของเนื้อเยื่อ (20 และ 40 mm) ที่ Cap Martin และ Antignano นอกจากนี้จำนวน tannin cell ต่อระดับ ที่เพิ่มขึ้นของผลกระทบซึ่งกันและกันกับ *C. taxifolia* เช่น ที่ 90 mm ที่ 0Ct เป็น 16.7 ± 10.6 cell/cm ที่ 1Ct เป็น 31.1 ± 15.5 cell/cm และ 2Ct เป็น 57.8 ± 21.2 cell/cm (Dumay et al., 2004)

2.6.2.2 ผลกระทบของสารประกอบ Caulerpa ต่อสัตว์

ได้ทำการทดลองในฟองน้ำทะเล ต่อผลกระทบของ dose ที่ต่างกันของ Tributyltin และ สารสกัด Caulerpa (Schroder et al., 1998) โดยฟองน้ำจะทำลายเซลล์ของตัวเองเมื่อมีพิษอื่นๆเข้าไปในเซลล์ของมัน จึงทำให้เกิดการแตกหักใน DNA ของฟองน้ำ ซึ่งเคยมีการศึกษาให้เห็นว่ามลภาวะทางน้ำ Tributyltin มีอิทธิพลต่อการทำลายเซลล์ตัวเองของฟองน้ำ ซึ่งในสาหร่าย Caulerpa ก็มีการพบผลกระทบจากความเป็นพิษของมันต่อพืชและสัตว์ทะเลชนิดอื่นๆ จึงทำการศึกษเกี่ยวกับผลกระทบของสารสกัดจาก *C. taxifolia* และพิษของ *C. racemosa* ที่ยับยั้ง การสกัดกั้นสารที่เป็นพิษหลายๆตัวในฟองน้ำ *Geodia cydonium* ซึ่งในการเพาะเชื้อจะแบ่งเป็น เพาะเชื้อใน tributyltin 0, 1 หรือ 3 μM ที่มีหรือไม่มี 10 หรือ 50 $\mu\text{g/ml}$ ของสารสกัด *C. taxifolia* หรือ 10 $\mu\text{g/ml}$ ของ Caulerpin เป็นเวลา 24 หรือ 72 ชั่วโมง โดยที่ความเข้มข้นของ Tributyltin 1 μM และสารสกัด *C. taxifolia* หรือ Caulerpin 10 $\mu\text{g/ml}$ ทำให้เกิดการเพิ่มของ DNA ที่แตกหักในการปลดปล่อย mono somal และ oligonucleo somal เข้าไปใน cytoplasm ซึ่งสารประกอบนี้จะส่งเสริมความเป็นพิษซึ่งกันและกันกับ tributyltin (tributyltin 1 μM + สารสกัด Caulerpa 10 $\mu\text{g/ml}$) ทำให้ฟองน้ำเกิดกระบวนการที่เซลล์สลายตัวเองเมื่อมีสารพิษเข้ามาในเซลล์เพิ่มขึ้น มีผลต่อการแตกหักของ DNA แต่เราสามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ในการทำลายเซลล์ที่เราไม่ต้องการได้เช่น เซลล์มะเร็ง

Pesando et al. (1996) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับ Caulerpenyne ที่เป็นผลผลิตของการสังดาป ซึ่งสังเคราะห์โดยสาหร่าย *Caulerpa taxifolia* จะสามารถยับยั้ง cleavage ระยะแรกของไข่เม่นทะเล โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการสืบพันธุ์ ซึ่ง dose ที่มีผลต่อการยับยั้งระยะ cleavage ได้ 50% (IC_{50}) คือ dose ที่ 33 μM ที่ 15 นาทีหลังการฟัก แต่เมื่อฉีด Caulerpenyne ที่เวลา 40 นาทีหลังการฟัก พบว่าไม่สามารถยับยั้งระยะ cleavage ของเม่นทะเลได้

2.6.2.3 ผลของสารประกอบ Caulerpa ต่อสาหร่าย แบคทีเรียและกุ้ง

โสมลดาและคณะ (2550) ได้ทำการศึกษถึงผลของสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่นพบว่าสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera* J. Agardh) ที่อบแห้งและสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนต่อการยับยั้งแบคทีเรีย 2 ชนิดคือ *Vibrio* sp. และ *Bacillus* sp. พบว่า เมื่อความเข้มข้น 4,000 ppm ขึ้นไปสามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดได้ และเมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษต่อกุ้งขาว (*Penaeus vannamei*) ระยะโพสลาวา 15 โดยใช้สารสกัดที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทนที่ความเข้มข้น 5,000 ppm ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของกุ้งขาวมีเพียง 25 เปอร์เซ็นต์ จากผลการศึกษานี้สามารถนำไปใช้เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาสารสกัดจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* J. Agardh เพื่อใช้ทดแทนสารเคมีที่มีการตกค้างในบ่อเลี้ยงกุ้งรวมทั้งสัตว์น้ำอื่น ๆ

2.7 การเปรียบเทียบระบบ antioxidant ของสาหร่าย *Caulerpa* กับพืชชนิดอื่นๆ

ระบบ antioxidant ของสิ่งมีชีวิตที่ใช้ออกซิเจนมีความสำคัญและใช้ในการประเมินความสามารถในการขจัดขางความเครียดของสภาพแวดล้อม ซึ่งสาหร่าย *Caulerpa* ก็เป็นสายพันธุ์ที่รุกรานพืชสายพันธุ์อื่นๆ โดยตัวสาหร่ายมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วกว่าพืชประจำถิ่นชนิดอื่นๆ จึงทำการวิเคราะห์เกี่ยวกับระบบ antioxidant ในสาหร่าย *Caulerpa racemosa* เปรียบเทียบกับพืชชนิดอื่นๆ ซึ่งกระทำการเปรียบเทียบกับ *Padina pavonica*, *Cystoseira barbata* และ *Enteromorpha* sp. ที่เป็นพืชประจำถิ่นในแถบชายฝั่งเมดิเตอร์เรเนียน โดยทำการเปรียบเทียบ lipid peroxidation (LPO), Superoxide dismutase (SOD), Catalase activity (CAT) และ Glutathione peroxidase (GSH-Px) ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ SOD, CAT, GSH-Px ใน *C.racemosa* จะสูงกว่าพืชทะเลชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ แต่ระดับของ lipid peroxide จะต่ำกว่าพืชทะเลชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งเราจะพบว่า *C.racemosa* มีระบบ antioxidant ที่ดีกว่าพืชทะเลชนิดอื่นๆ จึงทำให้ *Caulerpa* สามารถเจริญเติบโตและไปรุกรานพืชสายพันธุ์อื่นได้ดี (Cavas and Yurdakoc, 2005)

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดลองประกอบด้วย 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ทดสอบระดับความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดต่อการเพิ่มจำนวนของสาหร่ายเซลล์เดียว และการทดลองที่ 2 ทดสอบระดับความเข้มข้นของสารสกัดในบ่อเลี้ยงปลาทองเพื่อหาความสามารถในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของสาหร่ายเซลล์เดียว พร้อมศึกษาผลต่อคุณภาพน้ำ

3.1 การทดลองที่ 1 สกัดสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* อบแห้งเพื่อทดสอบการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 2 ชนิดคือ *Microcystis* sp. และ *Oscillatoria* sp. โดยใช้ความเข้มข้นและชนิดของสารสกัด ดังนี้

การทดลองย่อยที่ 1 ความเข้มข้นของสารสกัดที่สกัดในไดคอลลอโรมีเทน ดังนี้ 0 (ชุดควบคุม) 100, 200, 400 ppm และไดคอลลอโรมีเทน 400 ppm

การทดลองย่อยที่ 2 ความเข้มข้นของสารสกัดที่สกัดในเมธานอล ดังนี้ 0 (ชุดควบคุม) 100, 300, 500 ppm และเมธานอล 500 ppm

3.1.1 การเตรียมสารสกัด

การเตรียมสารสกัด (Crude extract) นำสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ที่รวบรวมจากฟาร์มเลี้ยงกุ้ง ล้างทำความสะอาดและคัดแยกวัตถุปะปน นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปปั่นละเอียดนำมาชั่งน้ำหนักประมาณ 100 กรัม แล้วนำไปสกัดด้วยสารอินทรีย์ที่มีความเป็นขั้วแตกต่างกัน 2 ชนิด คือ ไดคอลลอโรมีเทน และเมธานอล ปริมาตรอย่างละ 1 ลิตร แช่ทิ้งไว้ 36 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง กรองสาหร่ายออก นำของเหลวที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกจนแห้งด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศ โดยส่วนที่เหลืออยู่ในน้ำหนักประมาณ 0.3-3.1 มิลลิกรัม แล้วใช้ตัวทำละลายเติมเต็มลงไปให้มีความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 100,000 ppm เก็บเป็น stock solution ที่ 20 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการใช้ก็จะนำมาปรับให้ได้ความเข้มข้นเท่าที่ต้องการ

3.1.2 การทดสอบกับสาหร่ายเซลล์เดียว

การยับยั้งการเพิ่มจำนวนสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 2 ชนิด คือ *Microcystis* sp. และ *Oscillatoria* sp. โดยนำสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั้งสองชนิดแยกเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ที่มีปริมาตรน้ำและสาหร่าย 100 มิลลิลิตร นำสารสกัดความเข้มข้นต่าง ๆ ในแต่ละตัวสกัดเติมลงไป ปริมาตรสุทธิ 1 มิลลิลิตร โดยการปรับด้วยตัวสกัดและน้ำกลั่น กำหนดความเข้มข้นไว้ โดยสารสกัดในตัวสกัดไดคอลลอโรมีเทน ใช้ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 100 200 และ 400 ppm และสารสกัดในตัวสกัดเมธานอล ใช้ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 100 300 และ 500 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3 การตรวจวัดการเจริญของสาหร่าย *Microcystis* sp. ทำโดยการประเมินจำนวนเซลล์จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เนื่องจากเซลล์สาหร่ายมีขนาดเล็กและรวมเป็นกลุ่มทำให้การตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์จะใช้เวลานาน จึงประยุกต์โดยนำเซลล์สาหร่าย *Microcystis* sp. มาทำการตรวจนับเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตรและเขียนกราฟมาตรฐานไว้ สำหรับการตรวจวัดการเจริญของสาหร่าย *Oscillatoria* sp. เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้เป็นเส้นสาย การตรวจนับทำได้ลำบากเนื่องจากบางสายมีขนาดสั้น บางสายมีขนาดยาวจึงทำการประเมินการเจริญของสาหร่ายโดยการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (ไมโครกรัมต่อลิตร) ด้วยการสกัดด้วยอะซิโตน 90% และวัดค่าดูดกลืนแสงและคำนวณด้วยวิธี spectrophotometer ทำการวัดทุก 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 5 วัน

3.1.4 นำข้อมูลในการทดลองการยับยั้งสาหร่าย *Microcystis* sp. และ *Oscillatoria* sp. คือข้อมูลปริมาณเซลล์ของ *Microcystis* sp. คลอโรฟิลล์ เอ ของ *Oscillatoria* sp. มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple's Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

3.2 การทดลองชุดที่ 2 ทดสอบระดับความเข้มข้นของสารสกัดในตู้เลี้ยงปลาทองเพื่อหาความสามารถในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของสาหร่ายเซลล์เดียว พร้อมศึกษาผลต่อคุณภาพน้ำ

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยใช้ผลของสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น 5 ระดับ คือ ชุดควบคุมไม่ใส่สารสกัด, ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 10 ppm, ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 50 ppm, ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 100 ppm และชุดควบคุมที่ใส่ตัวทำละลาย(เอทานอล) เพื่อตรวจสอบว่าเอทานอลที่ใช้ในการสกัดสารมีผลต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชในตู้ด้วยหรือไม่ ชุดการทดลองละ 3 ตู้

3.2.1 การเตรียมตู้ทดลองและปลาทดลอง

ตู้กระจกขนาด 34 x 34 x 50 ซม. ก่อนการทดลองทำความสะอาดตู้ด้วยคลอรีนที่ความเข้มข้นที่ 20 มก.ต่อลิตร ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง เพื่อกำจัดสาหร่ายที่อาจติดอยู่ที่ผนังตู้ ล้างตู้ให้สะอาดเติมน้ำสูง 30 ซม. ปริมาตรน้ำประมาณ 35 ลิตร ให้อากาศตลอดเวลา ปลาทองขนาด 2.5 ซม. จำนวนทั้งหมด 150 ตัว เฉลี่ยให้มีน้ำหนักเท่า ๆ กันใส่ตู้ละ 10 ตัว

3.2.2 การเตรียมสารสกัดเพื่อทดสอบในตู้ปลา

นำสาหร่ายแห้งปั่นละเอียดหนัก 100 กรัม แชในเอทานอล 95% ปริมาณ 1000 ml ในขวด duran สีชา เป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรองกาแฟเพื่อแยกสาหร่ายออกจากส่วนน้ำ และนำไปประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ชั่งน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้ทำ stock solution ที่ 100,000 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 วิธีดำเนินการ

นำสารสกัดที่ได้มาใส่ลงในตู้ ที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดและชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัด

3.2.4 การบันทึกข้อมูล

3.2.4.1 ศึกษาผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* หรือสาหร่ายพวงองุ่นต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชในตู้เลี้ยงปลาทอง

3.2.4.2 ทำการนับจำนวนแพลงก์ตอนก่อนและหลังการใส่สารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น โดยเก็บตัวอย่างน้ำมาทำการนับเซลล์แพลงก์ตอนด้วย สไลด์นับเม็ดเลือด แล้วนำจำนวนเซลล์ที่ได้มาพล็อตกราฟ

3.2.4.3 วิเคราะห์คุณภาพน้ำ ได้แก่ ไนโตรเจน ไนเตรท แอมโมเนีย ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง และอุณหภูมิ

3.2.4.4 ศึกษาชนิดของสาหร่ายที่เกิดขึ้นภายในตู้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ด้วยตัวสกัด 2 ชนิดในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของสาหร่ายที่เขียวแกมน้ำเงิน คือ *Microcystis sp.* และ *Oscillatoria sp.*

4.1.1 ทดสอบกับสาหร่าย *Microcystis sp.* ในระยะเวลา 5 วัน

4.1.1.1 สารสกัดในตัวสกัดไดคลอโรมีเทน ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 100 200 และ 400 ppm และตัวสกัดไดคลอโรมีเทน 400 ppm พบว่า ค่าเฉลี่ยของชุดควบคุม (0 ppm) และชุดตัวสกัดไดคลอโรมีเทน 400 ppm มีการเจริญเติบโตของสาหร่ายเมื่อเติมสารสกัดลงไป 5 วันแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) คือ $2.30 \times 10^6 \pm 0.27$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ $2.21 \times 10^6 \pm 0.08$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และมีปริมาณสาหร่าย *Microcystis sp.* สูงที่สุดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับ ชุดสารสกัดความเข้มข้น 100 200 และ 400 ppm โดยที่ชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 100 ppm สามารถลดจำนวนสาหร่าย *Microcystis sp.* โดยมีจำนวน $1.53 \times 10^6 \pm 0.08$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งจะมีปริมาณเซลล์ต่อมิลลิลิตร มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 200 และ 400 ppm โดยทั้ง 2 ชุดดังกล่าวมีปริมาณสาหร่ายน้อยที่สุดคือ $1.05 \times 10^6 \pm 0.09$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ $0.71 \times 10^6 \pm 0.06$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 2; ภาพที่ 4)

4.1.1.2 สารสกัดในตัวสกัดเมธานอล ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 100 300 และ 500 ppm โดยเปรียบเทียบกับตัวสกัดเมธานอล 500 ppm เมื่อเติมสารสกัดลงไป 5 วัน พบว่า ค่าเฉลี่ยของชุดควบคุม (0 ppm) ชุดตัวสกัดเมธานอล 500 ppm และชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 100 ppm มีการเจริญของสาหร่ายเซลล์เดียวทดสอบแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยมีค่า $2.83 \times 10^6 \pm 0.30$ $2.70 \times 10^6 \pm 0.20$ และ $2.33 \times 10^6 \pm 0.08$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยมีปริมาณสาหร่ายทดสอบมากที่สุด ส่วนชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 100 ppm และชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 300 ppm มีสาหร่ายทดสอบลดลงเล็กน้อยแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 300 ppm มีค่า $1.71 \times 10^6 \pm 0.13$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และพบปริมาณสาหร่ายลดลงมากที่สุด ในชุดสารสกัดความเข้มข้น 500 ppm ซึ่งมีค่า $0.47 \times 10^6 \pm 0.06$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 3) มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับทุกชุดการทดลอง และมีแนวโน้มลดลง (ภาพที่ 5)

4.1.2 ทดสอบกับสาหร่าย *Oscillatoria sp.* ในระยะเวลา 5 วัน

4.1.2.1 สารสกัดในตัวสกัดไดคอลลอโรมีเทน ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 100 200 และ 400 ppm และตัวสกัดไดคอลลอโรมีเทน 400 ppm พบว่า ค่าเฉลี่ยปริมาณคลอโรฟิล เอ ของสาหร่าย *Oscillatoria sp.* มีปริมาณสูงในชุดควบคุม (0 ppm) ชุดตัวสกัดไดคอลลอโรมีเทน 400 ppm และชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 100 ppm แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยมีค่า 0.72 ± 0.07 0.59 ± 0.08 และ 0.50 ± 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 100 ppm แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 200 ppm โดยมีค่า 0.33 ± 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 400 ppm มีปริมาณคลอโรฟิล เอ น้อยที่สุด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดควบคุม ชุดตัวสกัดไดคอลลอโรมีเทน และชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 100 ppm โดยมีค่า 0.26 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4) เมื่อเปรียบเทียบในแต่ละวัน พบว่า ชุดควบคุมและชุดตัวสกัดไดคอลลอโรมีเทน 400 ppm มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ในช่วงวันที่ 3 และค่อย ๆ ลดลงจนถึงวันที่ 5 และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 200 และ 400 ppm ที่ปริมาณคลอโรฟิล เอ เปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยตลอดการทดลอง(ภาพที่ 6)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ *Microcystis* sp. ต่อมิลลิลิตร จากการทดลองใส่สารสกัดด้วยตัวสกัดไดคลอโรมีเทน (เซลล์ต่อมิลลิลิตร

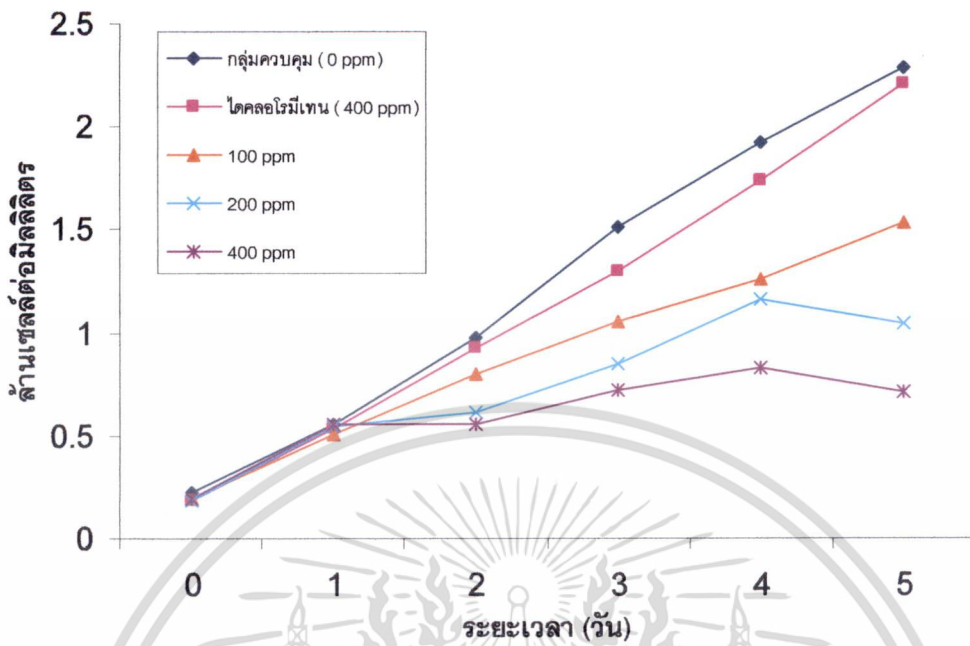
| ระดับความเข้มข้น | ระยะเวลา (วัน) | | | | | |
|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | เริ่มต้น | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| กลุ่มควบคุม (0 ppm) | $0.22 \times 10^6 \pm 0.01^b$ | $0.56 \times 10^6 \pm 0.08^a$ | $0.97 \times 10^6 \pm 0.26^c$ | $1.51 \times 10^6 \pm 0.12^d$ | $1.92 \times 10^6 \pm 0.32^b$ | $2.30 \times 10^6 \pm 0.27^c$ |
| ไดคลอโรมีเทน 400 ppm | $0.18 \times 10^6 \pm 0.05^a$ | $0.53 \times 10^6 \pm 0.13^a$ | $0.93 \times 10^6 \pm 0.19^{bc}$ | $1.30 \times 10^6 \pm 0.13^{cd}$ | $1.74 \times 10^6 \pm 0.14^b$ | $2.21 \times 10^6 \pm 0.08^c$ |
| สารสกัดความเข้มข้น 100 ppm | $0.20 \times 10^6 \pm 0.05^a$ | $0.50 \times 10^6 \pm 0.02^a$ | $0.80 \times 10^6 \pm 0.19^{abc}$ | $1.05 \times 10^6 \pm 0.30^{bc}$ | $1.26 \times 10^6 \pm 0.10^a$ | $1.53 \times 10^6 \pm 0.09^b$ |
| สารสกัดความเข้มข้น 200 ppm | $0.19 \times 10^6 \pm 0.04^a$ | $0.54 \times 10^6 \pm 0.02^a$ | $0.62 \times 10^6 \pm 0.19^{ab}$ | $0.85 \times 10^6 \pm 0.29^{ab}$ | $1.16 \times 10^6 \pm 0.10^a$ | $1.05 \times 10^6 \pm 0.08^a$ |
| สารสกัดความเข้มข้น 400 ppm | $0.19 \times 10^6 \pm 0.05^a$ | $0.56 \times 10^6 \pm 0.15^a$ | $0.56 \times 10^6 \pm 0.15^a$ | $0.72 \times 10^6 \pm 0.03^a$ | $0.83 \times 10^6 \pm 0.15^a$ | $0.72 \times 10^6 \pm 0.06^a$ |

* อักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

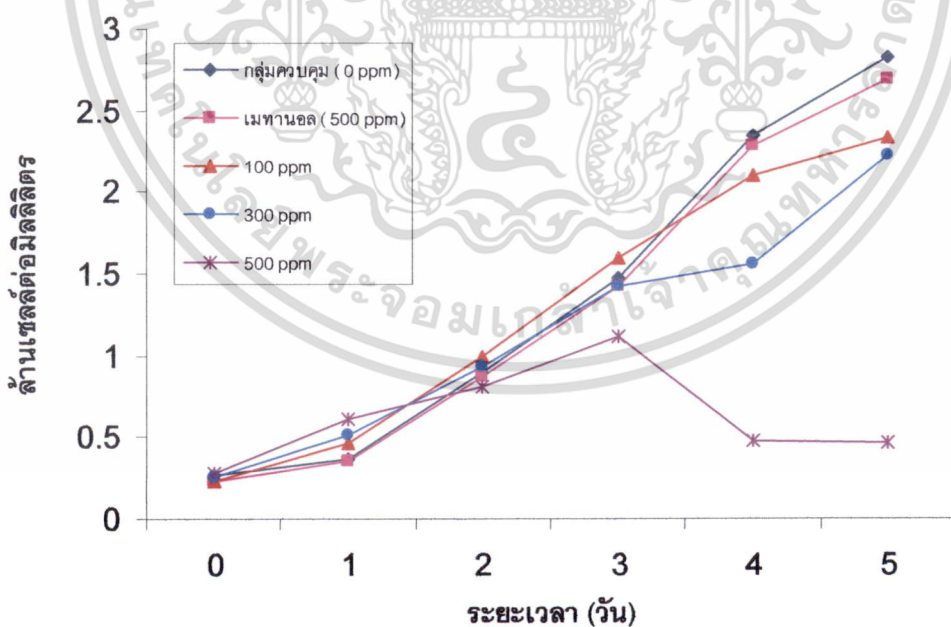
ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ *Microcystis* sp. ต่อมิลลิลิตร จากการทดลองใส่สารสกัดด้วยตัวสกัดเมธานอล (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

| ระดับความเข้มข้น | ระยะเวลา (วัน) | | | | | |
|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| | เริ่มต้น | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| กลุ่มควบคุม (0 ppm) | $0.25 \times 10^6 \pm 0.01^a$ | $0.36 \times 10^6 \pm 0.01^a$ | $0.90 \times 10^6 \pm 0.05^a$ | $1.48 \times 10^6 \pm 0.10^{ab}$ | $2.40 \times 10^6 \pm 0.13^c$ | $2.8 \times 10^6 \pm 0.30^c$ |
| เมธานอล 500 ppm | $0.24 \times 10^6 \pm 0.01^a$ | $0.35 \times 10^6 \pm 0.02^a$ | $0.87 \times 10^6 \pm 0.06^a$ | $1.43 \times 10^6 \pm 0.19^{ab}$ | $2.3 \times 10^6 \pm 0.10^c$ | $2.7 \times 10^6 \pm 0.20^{bc}$ |
| สารสกัดความเข้มข้น 100 ppm | $0.23 \times 10^6 \pm 0.02^a$ | $0.47 \times 10^6 \pm 0.01^a$ | $1.00 \times 10^6 \pm 0.20^a$ | $1.60 \times 10^6 \pm 0.29^b$ | $2.1 \times 10^6 \pm 0.15^c$ | $2.33 \times 10^6 \pm 0.08^{bc}$ |
| สารสกัดความเข้มข้น 300 ppm | $0.26 \times 10^6 \pm 0.03^a$ | $0.51 \times 10^6 \pm 0.01^b$ | $0.93 \times 10^6 \pm 0.05^a$ | $1.43 \times 10^6 \pm 0.12^b$ | $1.56 \times 10^6 \pm 0.10^b$ | $1.72 \times 10^6 \pm 0.05^b$ |
| สารสกัดความเข้มข้น 500 ppm | $0.28 \times 10^6 \pm 0.05^a$ | $0.62 \times 10^6 \pm 0.02^b$ | $0.81 \times 10^6 \pm 0.01^a$ | $1.11 \times 10^6 \pm 0.14^a$ | $0.48 \times 10^6 \pm 0.14^a$ | $0.47 \times 10^6 \pm 0.06^a$ |

* อักษรที่ต่างกัน ในแถวเดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0$)



ภาพที่ 4 ค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์ *Microcystis* sp. ต่อมิลลิลิตร จากการทดลองใส่สารสกัดด้วยตัวสกัด ไตรคลอโรมีเทน (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)



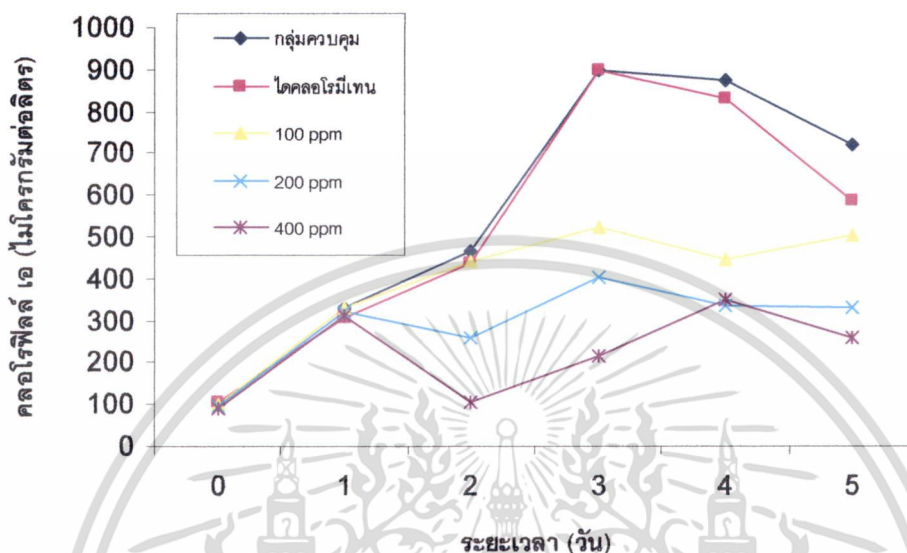
ภาพที่ 5 ค่าเฉลี่ยของจำนวนเซลล์ *Microcystis* sp. ต่อมิลลิลิตร จากการทดลองใส่สารสกัดด้วยตัวสกัดเมทานอล (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

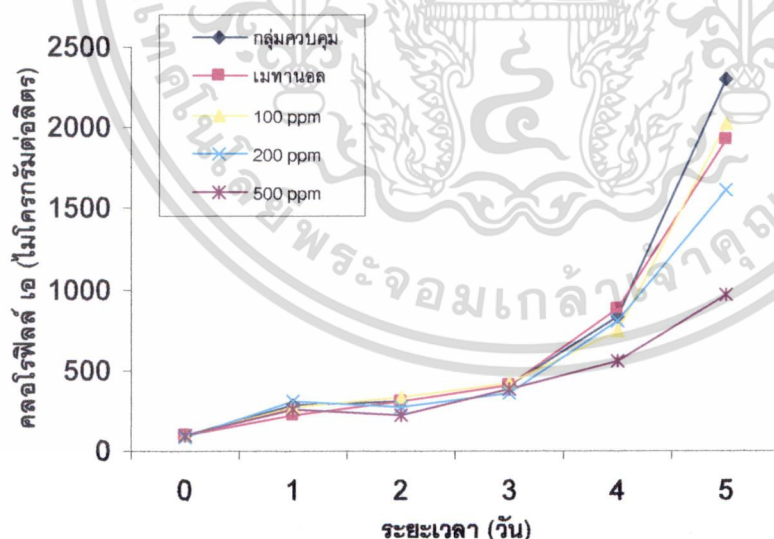
4.1.2.2 สารสกัดในตัวสกัดเมธานอล ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 100 300 และ 500 ppm โดยเปรียบเทียบกับตัวสกัดเมธานอล 500 ppm พบว่า ชุดควบคุม ชุดตัวสกัดเมธานอล 500 ppm ชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 100 และ 300 ppm มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในขณะที่ชุดตัวสกัดเมธานอล 500 ppm ชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 100 300 และ 500 ppm ก็มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 500 ppm สามารถลดจำนวนสาหร่าย *Oscillatoria* sp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งแต่ละชุดการทดลองในวันที่ 5 มีค่าดังนี้ ชุดควบคุม 2.29 ± 0.08 ชุดตัวสกัดเมธานอล 1.92 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 100 ppm 2.03 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร ชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 300 ppm 1.61 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 500 ppm 0.98 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร(ตารางที่ 5) เมื่อเปรียบเทียบในแต่ละวัน พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เพิ่มขึ้นทุกความเข้มข้นในทุกชุดการทดลอง ถึงแม้ว่าชุดสารสกัดมีความเข้มข้น 500 ppm มีความแตกต่างกับทุกชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม (ภาพที่ 7)

จากการทดลองเห็นได้ว่าการใช้ตัวสกัดโคคลอโรมีเทนจะสกัดสารจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* เพื่อใช้ยับยั้งการเจริญของสาหร่ายเซลล์เดียวพวก สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั้ง 2 ชนิดที่มักจะเป็นปัญหาในแหล่งน้ำได้ดีกว่าตัวสกัดเมธานอล โดยที่ตัวสกัดโคคลอโรมีเทนที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดเพียง 200 ppm สามารถทำให้การเจริญของสาหร่าย *Microcystis* sp. ลดลงในวันที่ 4 โดยปริมาณสาหร่ายเพิ่มมากที่สุดไม่เกิน 1.5 ล้านเซลล์ต่อมิลลิลิตร ขณะที่ตัวสกัดเมธานอลต้องใช้ถึงระดับความเข้มข้นที่ 500 ppm จึงส่งผลในการลดการเพิ่มจำนวนของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เป็นไปได้ว่าสารออกฤทธิ์ที่พบในสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* เป็นสารเมตาโบไลต์ที่ไม่มีขั้วจึงสกัดได้ดีกว่าเมื่อใช้ตัวสกัดโคคลอโรมีเทน แต่การใช้ตัวสกัดเมธานอลที่ระดับความเข้มข้นที่ 500 ppm ยังไม่สามารถแสดงออกถึงความสามารถในการยับยั้งสาหร่าย *Oscillatoria* sp. ได้ การที่ผลของการออกฤทธิ์แตกต่างกันตามชนิดของสาหร่ายเนื่องจากรูปร่างเซลล์แตกต่างกัน เซลล์ที่มีขนาดเล็กกว่าอย่าง *Microcystis* sp. จึงไวต่อสารสกัดมากกว่า *Oscillatoria* sp. ที่มีเซลล์ต่อกันเป็นเส้นสาย สารออกฤทธิ์ที่ได้ อาจไปยับยั้งการสังเคราะห์แสงซึ่งจะละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ซึ่งช่วยให้เข้าถึง thylakoid membrane ที่เกี่ยวกับกระบวนการสังเคราะห์แสง (Smith and Doan, 1999) ถ้าเป็นสารพวก terpene ในระดับที่ความเข้มข้นสูงจะไปยับยั้งการแบ่งเซลล์ (Lemee et al., 1997) การใช้สารจากสิ่งมีชีวิตในการควบคุมจำนวนสาหร่ายก็มีการใช้กันหลายรูปแบบ ซึ่งสารเคมีที่ออกฤทธิ์ในการต่อต้าน หรือยับยั้งการเพิ่มจำนวนของสาหร่ายนั้น อาจเป็นสารพวก okadaic acid ที่จะไปส่งผลยับยั้งพวกเอนไซม์โปรตีนฟอสฟาเตสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการควบคุมหน้าที่ของเซลล์ รวมถึงการเจริญเติบโต และการขยายพันธุ์ของสาหร่ายเซลล์เดียว (Jeong et al., 2000) สารในการควบคุมเอกลำกัดสาหร่ายเซลล์เดียวที่ได้จากสาหร่ายชนิดอื่นนั้น อาจไปออกฤทธิ์ เช่นการยับยั้งการสังเคราะห์ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสง หรือไปรบกวนการจำลองของดีเอ็นเอ (Doan et al., 2001) หรือแม้แต่สารพวกกรดอะมิโน เช่น L-Lysine ก็สามารถทำให้เซลล์ของไมโครซิสทีสแตกได้ เพราะไปทำให้ผนังเซลล์เสียหาย ไทลาคอยด์บีคเบี้ยวผิดปกติ และค่อย ๆ ลดลงไป (Hehmann et al., 2002)



ภาพที่ 6 ค่าเฉลี่ยปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร)ของ *Oscillatoria* sp. จากการทดลองใส่สารสกัดตัวสกัดไดคลอโรมีเทน



ภาพที่ 7 ค่าเฉลี่ยปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร)ของ *Oscillatoria* sp. จากการทดลองใส่สารสกัดตัวสกัดเมทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร)ของ *Oscillatoria* sp. จากการทดลองใส่สารสกัด ที่สกัดด้วยตัวสกัดไดคลอโรมีเทน

| ระดับความเข้มข้น | ระยะเวลา (วัน) | | | | | |
|----------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | เริ่มต้น | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| กลุ่มควบคุม (0 ppm) | 0.09 ± 0.03 ^a | 0.33 ± 0.14 ^a | 0.47 ± 0.04 ^c | 0.90 ± 0.09 ^c | 0.87 ± 0.02 ^b | 0.72 ± 0.07 ^c |
| ไดคลอโรมีเทน 400 ppm | 0.10 ± 0.06 ^a | 0.31 ± 0.03 ^a | 0.44 ± 0.06 ^c | 0.90 ± 0.05 ^c | 0.83 ± 0.17 ^b | 0.59 ± 0.08 ^c |
| สารสกัดความเข้มข้น 100 ppm | 0.10 ± 0.04 ^a | 0.33 ± 0.07 ^a | 0.44 ± 0.06 ^c | 0.52 ⁶ ± 0.07 ^b | 0.45 ± 0.09 ^b | 0.50 ± 0.05 ^{bc} |
| สารสกัดความเข้มข้น 200 ppm | 0.10 ± 0.01 ^a | 0.32 ± 0.22 ^a | 0.26 ± 0.08 ^b | 0.41 ± 0.06 ^b | 0.34 ± 0.04 ^a | 0.33 ± 0.10 ^{ab} |
| สารสกัดความเข้มข้น 400 ppm | 0.09 ± 0.03 ^a | 0.31 ± 0.22 ^a | 0.11 ⁶ ± 0.09 ^a | 0.22 ± 0.05 ^a | 0.35 ± 0.09 ^a | 0.26 ± 0.04 ^a |

* อักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

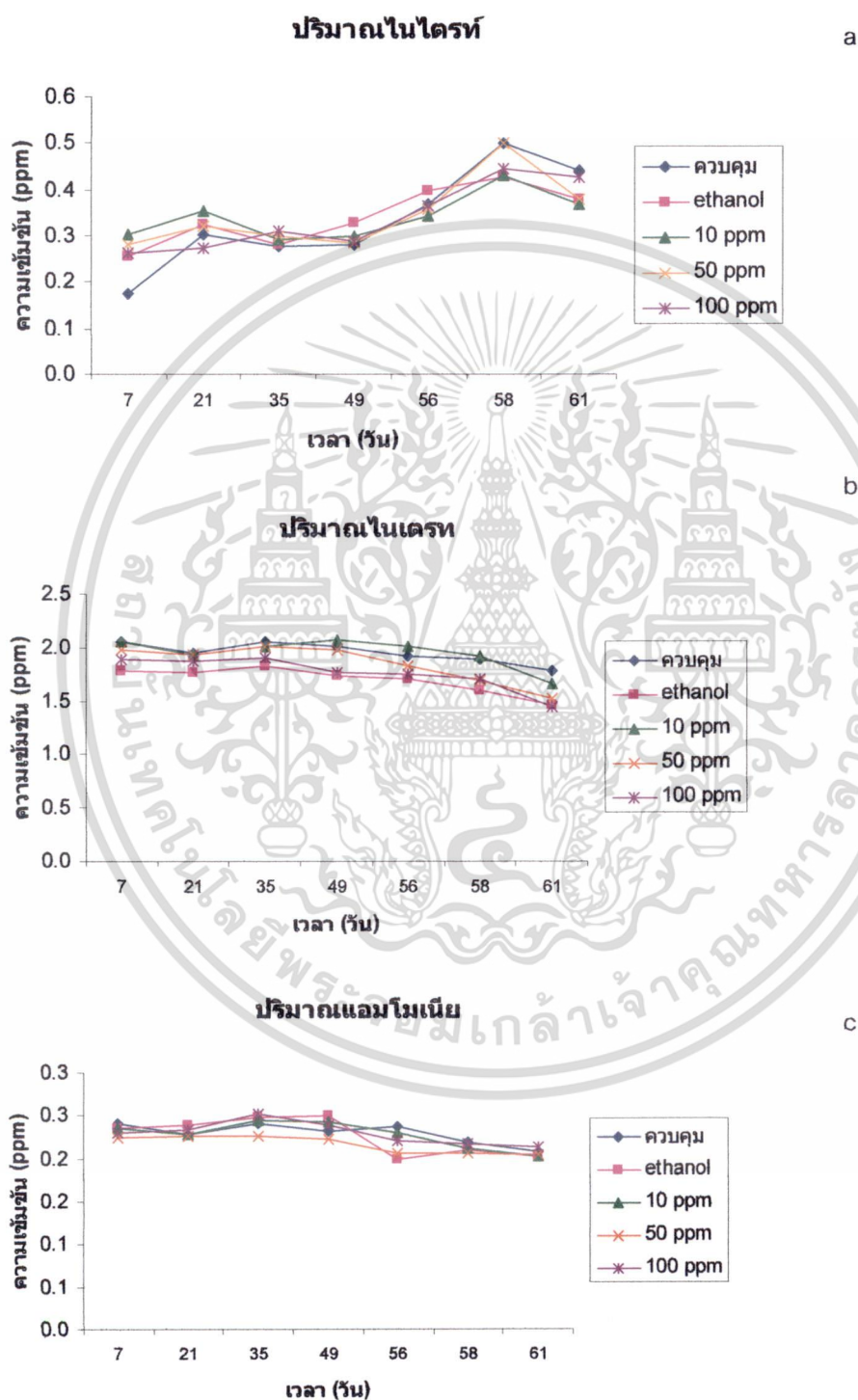
ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร)ของ *Oscillatoria* sp. จากการทดลองใส่สารสกัด ที่สกัดด้วยตัวสกัดเมธานอล

| ระดับความเข้มข้น | ระยะเวลา (วัน) | | | | | |
|----------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | เริ่มต้น | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| กลุ่มควบคุม (0 ppm) | 0.09 ± 0.04 ^a | 0.28 ± 0.04 ^a | 0.31 ± 0.06 ^b | 0.41 ± 0.07 ^a | 0.83 ± 0.04 ^b | 2.29 ± 0.08 ^b |
| เมธานอล 500 ppm | 0.09 ± 0.06 ^a | 0.23 ± 0.05 ^a | 0.31 ± 0.06 ^b | 0.41 ± 0.02 ^a | 0.89 ± 0.05 ^b | 1.92 ± 0.03 ^{ab} |
| สารสกัดความเข้มข้น 100 ppm | 0.09 ± 0.01 ^a | 0.28 ± 0.04 ^a | 0.34 ⁶ ± 0.06 ^b | 0.42 ± 0.02 ^a | 0.75 ± 0.04 ^b | 2.03 ± 0.06 ^{ab} |
| สารสกัดความเข้มข้น 300 ppm | 0.09 ± 0.06 ^a | 0.31 ± 0.04 ^a | 0.27 ± 0.02 ^{ab} | 0.36 ± 0.05 ^a | 0.81 ± 0.08 ^b | 1.61 ± 0.03 ^{ab} |
| สารสกัดความเข้มข้น 500 ppm | 0.09 ± 0.05 ^a | 0.26 ± 0.04 ^a | 0.22 ± 0.02 ^a | 0.38 ± 0.05 ^a | 0.56 ± 0.09 ^a | 0.98 ± 0.03 ^a |

หมายเหตุ: อักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวกันแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.2 การทดลองที่ 2 ทดสอบระดับความเข้มข้นของสารสกัดในตู้เลี้ยงปลาทองเพื่อหาความสามารถในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของสาหร่ายเซลล์เดียว พร้อมศึกษาผลต่อคุณภาพน้ำ

ปริมาณไนโตรเจน ไนเตรท และแอมโมเนีย ที่ได้ทั้งก่อนและหลังใส่สารสกัด ในแต่ละชุดการทดลอง จะไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 ปริมาณไนโตรเจน (a), ไนเตรท (b), และแอมโมเนีย (c) ในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งปริมาณไนโตรเจนจะสูงที่สุดในชุดการทดลองควบคุมและชุดการทดลอง 50 ppm ในวันที่ 58 ของการทดลอง มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.502 ppm ต่ำที่สุดในชุดการทดลองควบคุมในวันที่ 7 ของการทดลอง ความเข้มข้นเท่ากับ 0.176 ppm ส่วนปริมาณไนโตรเจนจะสูงที่สุดในชุดการทดลองควบคุมในวันที่ 35 ของการทดลอง ความเข้มข้นเท่ากับ 2.056 ppm ต่ำที่สุดในชุดการทดลอง 100 ppm ในวันที่ 61 ของการทดลอง ความเข้มข้นเท่ากับ 1.448 ppm และปริมาณแอมโมเนียจะสูงที่สุดในชุดการทดลอง 100 ppm ในวันที่ 35 ของการทดลอง ความเข้มข้นเท่ากับ 0.252 ppm ต่ำที่สุดในชุดการทดลอง ethanol ในวันที่ 56 ของการทดลอง ความเข้มข้นเท่ากับ 0.200 ppm (ภาพที่ 8)

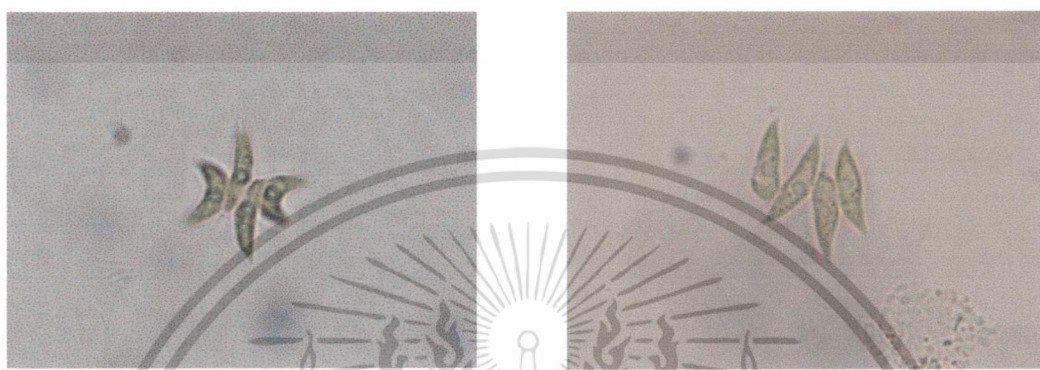
สภาพการเลี้ยงแบบปกติ เมื่อทำการนับจำนวนเซลล์แพลงก์ตอนในแต่ละชุดการทดลองพบว่าแต่ละชุดการทดลอง เมื่อเวลาผ่านไปแพลงก์ตอนจะมีปริมาณที่มากขึ้น ในวันที่ 23 ของการทดลองทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 70% ในทุกชุดการทดลอง ทำให้ปริมาณแพลงก์ตอนมีจำนวนลดลง ซึ่งปริมาณแพลงก์ตอนจะสูงที่สุดในชุดการทดลอง ethanol ในวันที่ 21 ของการทดลอง มีปริมาณแพลงก์ตอนเท่ากับ 13.3×10^6 cell/ml และต่ำที่สุดในชุดการทดลอง 10 ppm ในวันที่ 7 ของการทดลอง มีปริมาณแพลงก์ตอนเท่ากับ 1.75×10^6 cell/ml (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 ปริมาณแพลงก์ตอนในน้ำก่อนใส่สารสกัด ในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปในแทนสารสกัด เป็นระยะเวลา 28 วัน

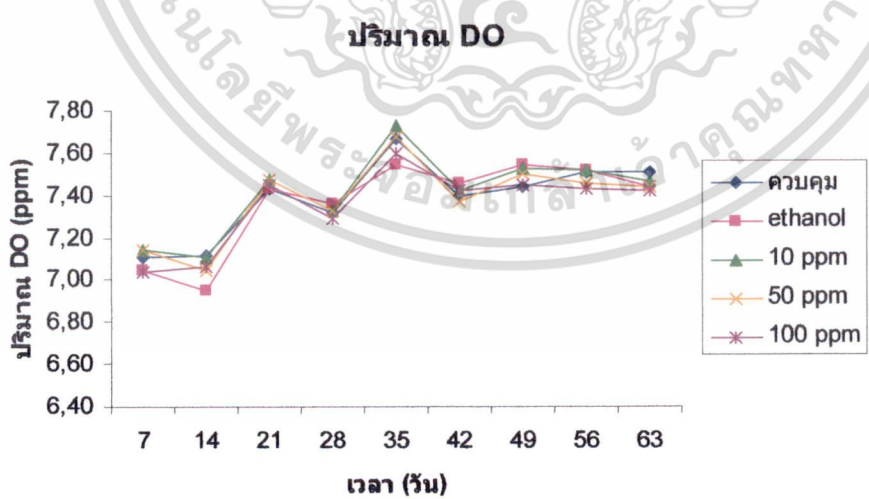
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของสาหร่ายที่พบส่วนใหญ่จะเป็นสาหร่ายสีเขียวพวก *Scenedesmus* sp. (ภาพที่ 10) *Scenedesmus* sp. มีลักษณะเป็นกลุ่มเซลล์จำนวน 2-4-8-32 เซลล์ รูปร่างเซลล์เป็นแบบรูปไข่, รูปกระสวย, รูปวงเดือน หรือรูปรี เซลล์เรียงกันโดยใช้ด้านข้างแตะกัน อาจจัดเป็นแถวเดี่ยวหรือสองแถว (บน-ล่าง) ผนังเซลล์อาจเรียบหรือมีหนาม ส่วนมากเป็นแพลงก์ตอนน้ำจืดและเป็นสกุลที่ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วและปริมาณมากในแหล่งน้ำ



ภาพที่ 10 สาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus* sp. ที่พบในตู้ปลาจากการทดลอง

ปริมาณ DO ในตู้ที่ทำการเลี้ยงปลาทอง ปริมาณจะไม่แตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง (ภาพที่ 11) แต่จะสูงที่สุดในชุดการทดลอง 10 ppm ในวันที่ 35 ของการทดลองมีปริมาณเท่ากับ 7.73 ppm และจะต่ำที่สุดในชุดการทดลอง ethanol ในวันที่ 14 ของการทดลองมีปริมาณเท่ากับ 6.95 ppm

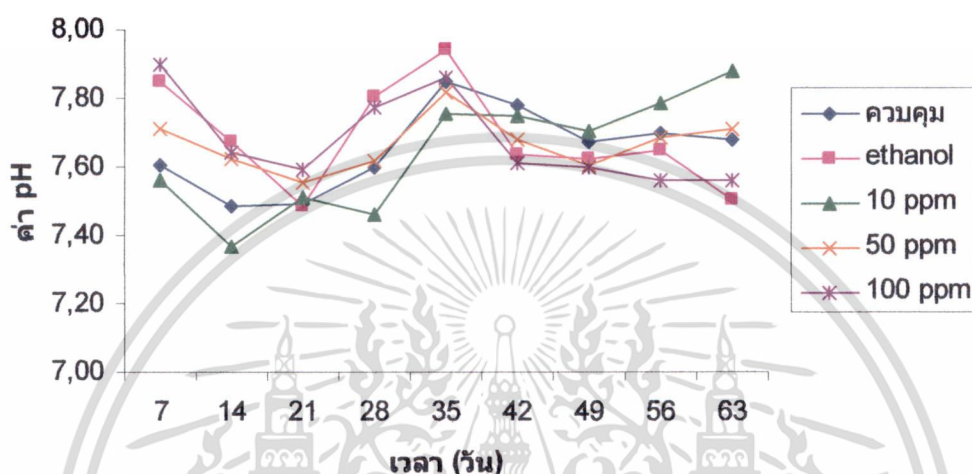


ภาพที่ 11 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำก่อนใส่สารสกัด ในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัด เป็นระยะเวลา 63 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าความเป็นกรด-ด่าง ในตู้ที่ทำการเลี้ยงปลาทอง ค่าที่ได้จะไม่แตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง (ภาพที่ 12) ซึ่งจะสูงที่สุดในชุดการทดลอง ethanol ในวันที่ 35 ของการทดลองมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.95 และจะต่ำที่สุดในชุดการทดลอง 10 ppm ในวันที่ 14 ของการทดลองมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.37

ค่าความเป็นกรด-ด่าง

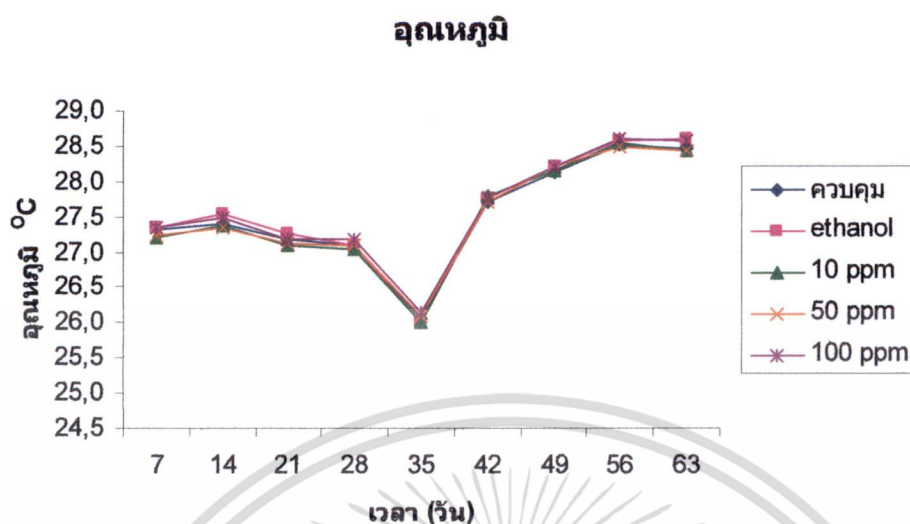


ภาพที่ 12 ค่าความเป็นกรด-ด่างก่อนใส่สารสกัด ในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัด เป็นระยะเวลา 63 วัน

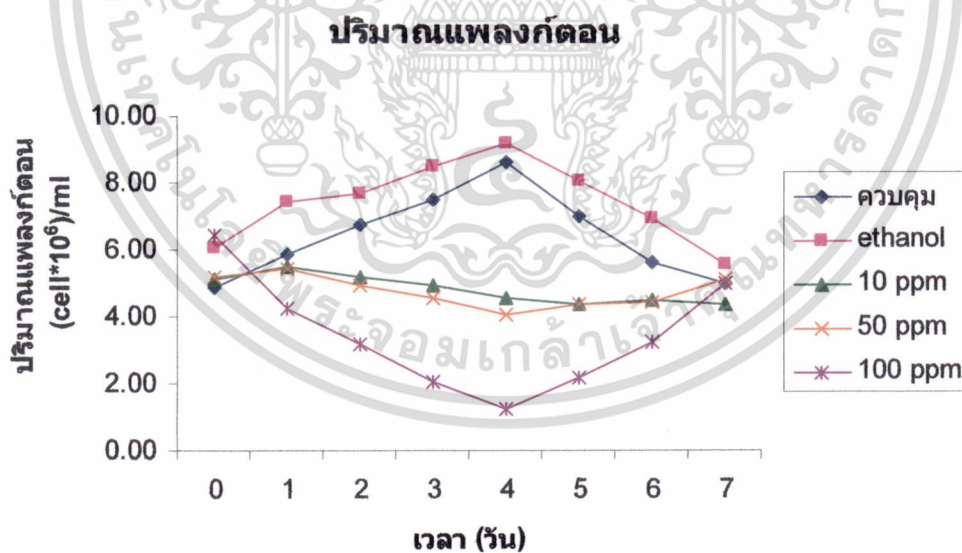
อุณหภูมิ ในตู้ที่ทำการเลี้ยงปลาทอง ค่าที่ได้จะไม่แตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง (ภาพที่ 13) จะสูงที่สุดในชุดการทดลอง ethanol ในวันที่ 56 และ 63 ของการทดลอง ชุดการทดลอง 10 ppm ในวันที่ 56 ของการทดลองและในชุดการทดลอง 100 ppm ในวันที่ 56 และ 63 ของการทดลอง ซึ่งมีอุณหภูมิเท่ากับ 28.6°C และจะต่ำที่สุดในชุดการทดลอง ethanol และ 10 ppm ในวันที่ 35 ของการทดลองมีค่าอุณหภูมิเท่ากับ 26.0°C

เมื่อใส่สารสกัดจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* หรือสาหร่ายพวงอุ้งที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไป จะพบว่าภายใน 4 วันหลังการใส่สารสกัด ปริมาณแบล็กค่อนจะลดลงมากที่สุดในการใส่สารสกัดที่มีความเข้มข้น 100 ppm ซึ่งมีแบล็กค่อนเท่ากับ 1.25×10^6 cell/ml จากแบล็กค่อนเริ่มแรกเท่ากับ 6.42×10^6 cell/ml รองลงมา คือ 50 ppm และ 10 ppm ตามลำดับ โยในวันที่ 5 ของการทดลองจำนวนแบล็กค่อนจะเพิ่มขึ้น แสดงว่าสารสกัดที่ใช้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบล็กค่อนได้เป็นเวลา 4 วัน (ภาพที่ 14)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 13 อุณหภูมิก่อนใส่สารสกัด ในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10, 50 และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัดเป็นระยะเวลา 63 วัน

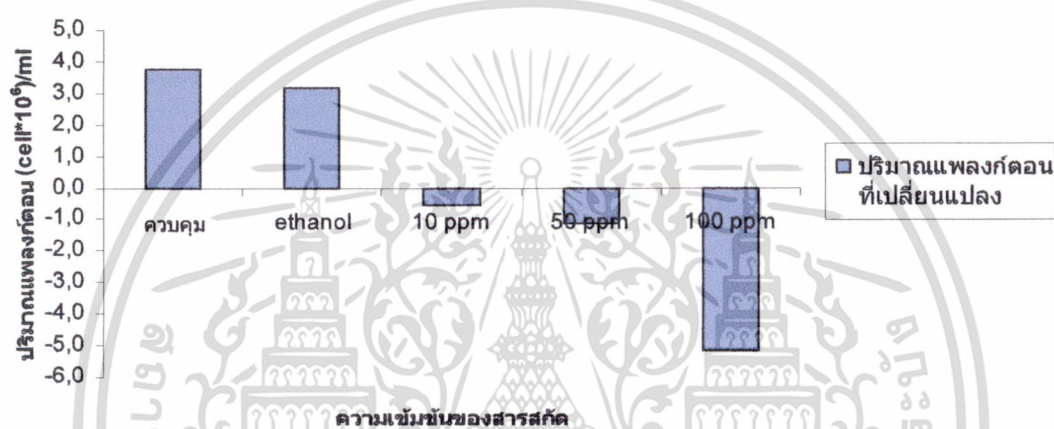


ภาพที่ 14 ปริมาณแพลงก์ตอนในน้ำก่อนใส่สารสกัด ในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัด เป็นระยะเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

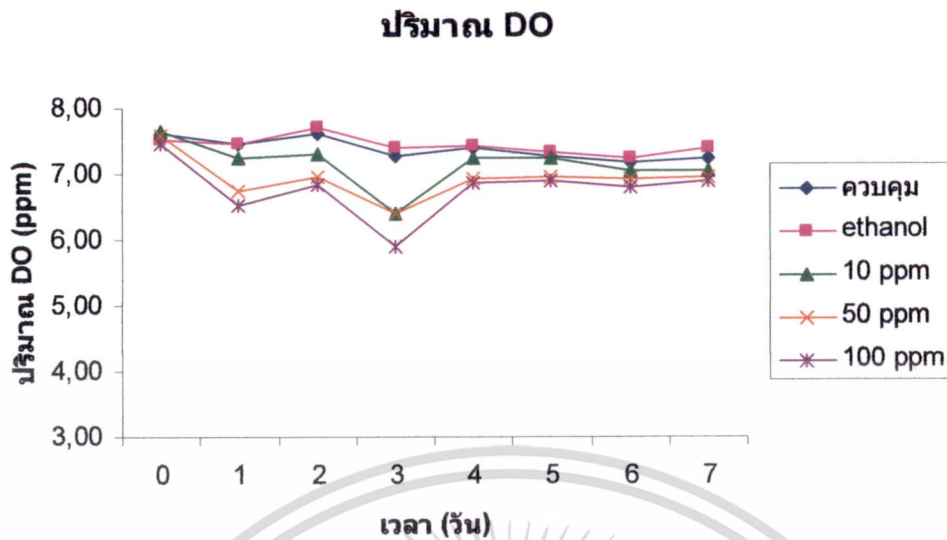
ปริมาณแพลงก์ตอนที่เปลี่ยนแปลงหลังเติมสารสกัด พบว่าปริมาณของแพลงก์ตอนจะลดลงมากที่สุดในกลุ่มที่เติมสารสกัดที่ความเข้มข้น 100 ppm จะมีปริมาณแพลงก์ตอนลดลงเท่ากับ 5.17×10^6 cell/ml รองลงมาคือความเข้มข้นที่ 50 และ 10 ppm จะมีปริมาณแพลงก์ตอนที่ลดลงเท่ากับ 1.15×10^6 cell/ml และ 0.55×10^6 cell/ml ตามลำดับ สามารถยับยั้งปริมาณของแพลงก์ตอนได้เป็นเวลา 4 วัน โดยชุดควบคุมและเอทานอลจะมีปริมาณแพลงก์ตอนเพิ่มขึ้นคือ 3.75×10^6 cell/ml และ 3.15×10^6 cell/ml ตามลำดับ (ภาพที่ 15)

ปริมาณแพลงก์ตอนหลังเติมสารสกัด เป็นเวลา 4 วัน



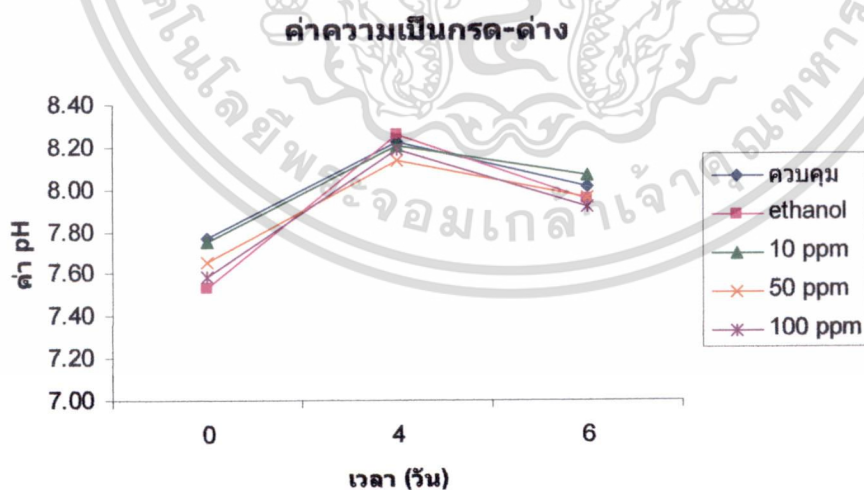
ภาพที่ 15 ปริมาณแพลงก์ตอนที่เปลี่ยนแปลงหลังเติมสารสกัดในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัด เป็นระยะเวลา 4 วัน

ปริมาณ DO ในตู้ที่ทำการเลี้ยงปลาทองในกลุ่มที่ใส่สารสกัดที่ 10, 50 และ 100 ppm จะมีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลงเมื่อเทียบกับก่อนใส่สารสกัด โดยที่ 100 ppm จะมีการลดลงมากที่สุด รองลงมา คือ 50 ppm และ 100 ppm ตามลำดับ แต่ในกลุ่มที่ไม่ใส่สารสกัดและกลุ่มที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัด จะมีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำที่ไม่แตกต่างกับตอนก่อนใส่สารสกัด แต่ในวันที่ 5 หลังจากการใส่สารสกัด ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำในกลุ่มที่ใส่สารสกัดจะมีการเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 16 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหลังใส่สารสกัด ในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัด เป็นระยะเวลา 7 วัน

ค่าความเป็นกรด-ด่าง ในตู้ที่ทำการเลี้ยงปลาของ ค่าที่ได้จะไม่แตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง (ภาพที่ 17) ซึ่งจะสูงที่สุดในชุดการทดลอง ethanol ในวันที่ 4 ของการทดลองมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 8.26 ppm และจะค่าที่ต่ำที่สุดในชุดการทดลอง ethanol ในวันที่ 0 ของการทดลองมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.53 ppm

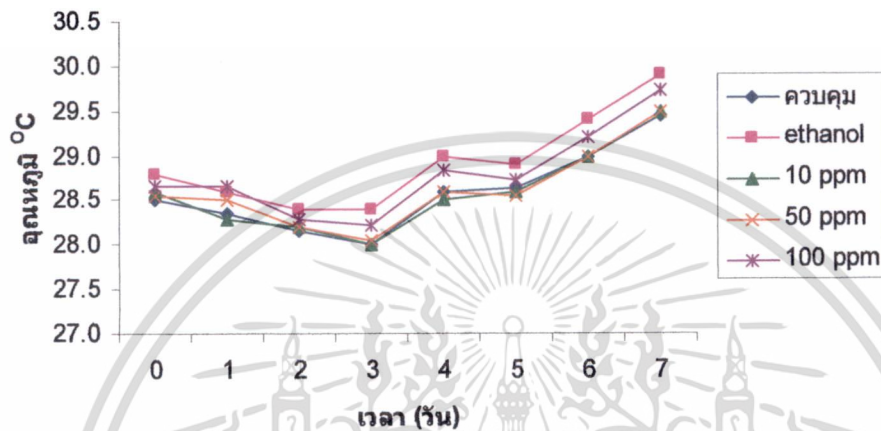


ภาพที่ 17 ค่าความเป็นกรด-ด่างหลังใส่สารสกัด ในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10 ppm, 50 ppm และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไปแทนสารสกัด เป็นระยะเวลา 6 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิ ในตู้ที่ทำการเลี้ยงปลาทอง ค่าที่ได้จะไม่แตกต่างกันในแต่ละชุดการทดลอง (ภาพที่ 18) ซึ่งจะสูงที่สุดในชุดการทดลอง ethanol ในวันที่ 7 ของการทดลองมีค่าอุณหภูมิเท่ากับ 29.9°C และจะต่ำที่สุด ในชุดควบคุม และชุดการทดลอง 10 ppm ในวันที่ 3 ของการทดลองมีค่าอุณหภูมิเท่ากับ 28.0°C

อุณหภูมิ



ภาพที่ 18 อุณหภูมิหลังใส่สารสกัด ในตู้ที่เลี้ยงปลาที่ความเข้มข้น 10, 50 และ 100 ppm โดยมีชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัด และชุดควบคุมที่ใส่เอทานอลลงไป แทนสารสกัด เป็นระยะเวลา 7 วัน

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง

สารออกฤทธิ์ที่พบในสาหร่ายพวงองุ่น *Caulerpa lentillifera* ที่ต้องการใช้เพื่อการควบคุมปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินพบว่า เป็นสารที่สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์อย่าง ไดคลอโรมีเทน ได้ดีกว่าเมทานอล โดยที่สารสกัดจากไดคลอโรมีเทนในระดับความเข้มข้น 200 ppm สามารถแสดงออกถึงคุณสมบัติในการยับยั้งสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 2 ชนิดคือ *Microcystis* sp. และ *Osillatoria* sp. แต่สารสกัดจากเมทานอลต้องใช้ระดับความเข้มข้นถึง 500 ppm จึงสามารถยับยั้งการเจริญของสาหร่าย *Microcystis* sp. ได้แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของสาหร่าย *Osillatoria* sp. ได้ในความเข้มข้นที่เท่ากัน สันนิษฐานว่าสารที่พบเกิดขึ้นเนื่องจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* สร้างสารทุติยภูมิเพื่อป้องกันตัวไม่ให้ถูกกินเป็นอาหารและรวมถึงกลไกในการแย่งชิงพื้นที่ในการยึดเกาะ จึงส่งผลกระทบต่อสาหร่ายขนาดเล็ก

ในการเลี้ยงปลาทองในสภาพปกติพบว่า ปริมาณแพลงก์ตอนจะมีการเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยชนิดของแพลงก์ตอนที่พบส่วนใหญ่จะเป็นสาหร่ายสีเขียวพวก *Scenedesmus* sp. ซึ่งเป็นชนิดที่ไม่เป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ ส่วนปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ไนโตรที่ ไนเตรท และแอมโมเนีย ในทุกชุดการทดลองจะไม่แตกต่างกัน หลังเติมสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่นที่สกัดด้วยเอทานอล พบว่าปริมาณของแพลงก์ตอนจะลดลงมากที่สุดในกลุ่มที่เติมสารสกัดที่ความเข้มข้น 100 ppm จะมีปริมาณแพลงก์ตอนลดลงเท่ากับ 5.17×10^6 cell/ml รองลงมาคือความเข้มข้นที่ 50 ppm และ 10 ppm จะมีปริมาณแพลงก์ตอนที่ลดลงเท่ากับ 1.15×10^6 cell/ml และ 0.55×10^6 cell/ml ตามลำดับ และสามารถยับยั้งปริมาณของแพลงก์ตอนได้เป็นเวลา 4 วัน ส่วนปริมาณออกซิเจนละลาย ในกลุ่มที่เติมสารสกัดทั้งที่ความเข้มข้น 10 ppm 50 ppm และ 100 ppm จะลดลง แต่ในกลุ่มที่ไม่เติมสารสกัด และกลุ่มที่เติมเอทานอลแทนสารสกัดจะมีปริมาณที่ไม่แตกต่างกับตอนก่อนใส่สารสกัด ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ ไนโตรที่ ไนเตรท และแอมโมเนีย ในแต่ละชุดการทดลองจะไม่แตกต่างกันและในทุกๆ ความเข้มข้นจากการสังเกตพฤติกรรมของปลาทองที่เลี้ยงร่วมอยู่ด้วยพบว่าปลาทองที่เลี้ยงไม่พบอาการผิดปกติของปลาแต่อย่างใด แสดงว่าสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้น 100 ppm สามารถใช้ในการยับยั้งปริมาณสาหร่ายได้ในขณะที่ทำการเลี้ยงปลาทองร่วมอยู่ด้วย

เอกสารอ้างอิง

- วันเพ็ญ มินกาญจน์ และนงนุช อ่องสุวรรณ. 2530. การเพาะพันธุ์ปลาทอง. สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 16 หน้า.
- โสมลดา ประเสริฐสม นงนุช เลาหะวิสุทธิ และอัจฉรี เรืองเดช. 2550. ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera* J.Agardh) ที่มีผลต่อจำนวนสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน แบคทีเรียและการตายของกุ้งขาว. เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 24. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง.
- Barbier, P., S., Guise, P., Huitorel, P., Amade, D. Pesando, C. Briand and V. Peyrot..2001. Culerpenyne from *Caulerpa taxifolia* has an antiproliferative activity on tumor cell line SK-N-SH and modifies the microtubule network. Life Science.70:415-429.
- Cavas, L. and K. Yurdakoc. 2005. A comparative study:Assessment of the antioxidant system in the invasive green alga *Caulerpa racemosa* and some macrophytes from the Mediterranean. Experimental Marine Biology And Ecology 321:35-41.
- Chun, M.S., Y.G. Wei, and X. Shen. 2006. Two novel aromatic valerenane-type sesquiterpenes from the Chinese green alga *Caulerpa taxifolia*. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters 16:2947-2950.
- Commeiras, L., S. Maurice, and P. Jean-Luc. 2003. On the construction of 2-substituted 1,4-diacetoxypentadiene moiety : application to the synthesis of (\pm)caulerpenyne. Tetrahedron Letters. 44 : 2311-2314.
- Doan, N. T., P. R. Stewart, G. D. Smith. 2001. Inhibition of bacterial RNA polymerase by the cyanobacterial metabolites 12-epi-hapalindole Eisonitrile and calothrixin A. FEMS Microbiol. Lett. 196: 135-139.
- Dumay, O., J., J. D. C. Marie, and G. Pergent. 2004. Variations in the concentration of phenolic compounds in the seagrass *Posidonia oceanica* under conditions of competition. Phytochemistry 65:3211-3220.
- Ghosh, P., U. Adhikari, P.K. Ghosal, C.A. Pujol, M.J. Carlucci, E.B. Damonte, and B. Ray. 2004. *In vitro* anti-herpetic activity of sulfated polysaccharide fractions from *Caulerpa racemosa*. Phytochemistry 65:3151-3157.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Harrison, P.G. and A.T. Chan.1980. Inhibition of the growth of micro-algae and bacteria by extracts of eelgrass (*Zostera marina*) leaves. Mar. Biol. 61: 21-26.
- Hehmann, A., K. Kaya, and M. M. Watanabe. 2002. Selective control of Microcystis using an amino acid – a laboratory assay. J. of Applied Phycology 14: 85-89.
- Jeong, J.-H., H.-J. Jin, C. H. Sohn, K.-H. Suh, and Y.-K. Hong. 2000. Algicidal activity of the seaweed *Corallina pilulifera* against red tide microalgae. J. of Applied Phycology 12: 37-43.
- Lemee, R., D. Pesando, C. Issanchou, and P. Amade. 1997. Microalgae: A model to investigate the ecotoxicity of the green alga *Caulerpa taxifolia* from the Mediterranean Sea. Marine Environmental Research 44: 13-25.
- Parvez, M., J. Ara, V. Sultana, R. Qasim and V.U. Ahmad. 2000. Caulerpin. Department of Chemistry 56:96-97.
- Pesando, D., R. Lemee, C. Ferrua, P. Amade, and J. P. Girard. 1996. Effects of caulerpenyne, the major toxin from *Caulerpa taxifolia* on mechanisms related to sea urchin egg cleavage. Aquatic Toxicology 35:139-155.
- Schroder, H.C., F.A. Bardria, S.N. Ayyad, R. Batel, M. Wiens, H.M.A. Hassanein, B. Kurelec, and W.E.G. Muller. 1998. Inhibitory effects of extracts from the marine alga *Caulerpa taxifolia* and of toxin from *Caulerpa racemosa* on multixenobiotic resistance in the marine sponge *Geodia cydonium*. Environmental Toxicology and Pharmacology 5:119 -126.
- Smith, G. D., and N. T. Doan. 1999. Cyanobacterial metabolites with bioactivity against photosynthesis in cyanobacteria, algae and higher plants. J. Appl. Phycol. 11:337-344.
- Vidal, J. P., D. Laurent, S. A. Kabore, E. Rechencq, M. Boucard, J. P. Girard, R. Escale, and J. C. Rossi. 1984. Caulerpin, Caulerpicin, *Caulerpa scalpelliformis* :Comparative Acute Toxicity Study. Botanica Marina 27:533-537.
- www.ninekaow.com/wbs/view.php?sub=04&id=320
- www.siamensis.org/board/7958.html