สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของสารสกัดจาก *Chlorella* sp. ต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด

T 0 4 3 9 6 8

นายพงศ์ธร เครือวณิชธรรม

นายพรรษ พุ่มประเสริฐ

นายวิทวัส เจนเวชศักดา

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน 43968

วัน, เดือน, ปี 18 ต.ค. 2545

b.....

i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Effect of *Chlorella* sp. extracts on growth of some microorganisms

Mr. Pongtorn	Kruawanishtham
Mr. Phansa	Phumprasert
Mr.Wittawas	Janvechsakda

A Special Project Submitted in Partial Fulfilment of

the Requirement for the Degree of the Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

2001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ผลของสารสกัดจาก *Chlorella* sp. ต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด

โดย นายพงศ์ธร เครือวณิชธรรม

นายพรรษ พุ่มประเสริฐ

นายวิทวัส เจนเวชศักดา

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. วีนา ชูโชติ

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

.... หัวหน้าภาควิชา

(รศ. ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษ

.... ประธานกรรมการ

(รศ. ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

.... กรรมการ

(ผศ. วีนา ชูโชติ)

.... กรรมการ

(อาจารย์ มงคล เพ็ญสายใจ)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ผลของสารสกัดจาก *Chlorella* sp. ต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด

โดย นายพงศ์ธร เครือวณิชธรรม

นายพรรษ พุ่มประเสริฐ

นายวิทวัส เจนเวชศักดา

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. วีนา ชูโชติ

ปีการศึกษา 2544

บทคัดย่อ

การศึกษาการสกัดสารยับยั้งจุลินทรีย์จากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 สายพันธุ์ โดยใช้ตัวทำละลายเป็น น้ำ : เมทานอล : คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 : 2 : 1 พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 มีอัตราส่วนของน้ำหนักสารสกัดต่อน้ำหนักเซลล์แห้งสูงที่สุด คือ 0.24 กรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง และเมื่อนำสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ทั้ง 5 สายพันธุ์ มาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด ด้วยวิธี paper disc plate โดยใช้ปริมาณสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน พบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus pyogenes* ได้ดีที่สุด เมื่อใช้สารสกัด 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ นอกจากนั้นสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 สามารถยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และเชื้อ *Bacillus subtilis* ได้ดีที่สุด ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special project title	Effect of *Chlorella* sp. extracts on growth of some microorganisms
Student	Mr. Pongtorn Kruawanishtham
	Mr. Phansa Phumprasert
	Mr.Wittawas Janvechsakda
Department	Applied Biology
Special project advisors	Asst. Prof. Weena Choochote
Academic year	2001

Abstract

Study was conducted to determined antimicrobial extracts from five strains of *Chlorella* sp. by water : methanol : chloroform (1 : 2 : 1) as solvent. The highest yield of the algal extract (0.24 g/g dry weight) was obtained from *Chlorella* sp. A 0505. Various concentration of the extracts were tested against 6 genera of bacteria for antimicrobial agents by paper disc plate method. It was found that algal extracts (4 mg/ disc) from *C. vulgaris* TISTR 8580 strongly inhibited growth of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. Moreover, the extracts from *Chlorella* sp. A 0505 and *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 found to effectively inhibit growths of *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis*, respectively.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ

- ผศ. วีนา ชูโชติ ที่ให้คำปรึกษาและแนะนำแก่คณะผู้จัดทำเป็นอย่างดี
- รศ. ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง และ อาจารย์ มงคล เพ็ญสายใจ ที่ให้คำแนะนำและเป็นที่ปรึกษาตลอดมาแม้ยามวิกฤต
- พี่ๆ ฝ่ายเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยที่ให้ความรู้ด้านต่างๆ อันเป็นประโยชน์ในการทดลองแก่คณะผู้จัดทำ
- สำนักหอสมุดมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์และสำนักหอสมุดสถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่เป็นแหล่งค้นคว้าหาข้อมูลแก่คณะผู้จัดทำ
- พนักงานวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่าน ที่ให้ความสะดวกเกี่ยวกับวัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองแก่คณะผู้จัดทำ
- เพื่อนๆ กลุ่ม PT และน้องปี 3 รหัส 67 ที่ให้กำลังใจตลอดจนความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ด้วยดีตลอดมา

นอกจากนี้ขอขอบคุณทุกท่านที่มิอาจกล่าวนาม ณ ที่นี้ได้อย่างครบถ้วน หากมีข้อผิดพลาดหรือบกพร่องประการใด คณะผู้จัดทำขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

คณะผู้จัดทำ
เมษายน 2545

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
-วัตถุประสงค์	2
-ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
-ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
-ลักษณะทั่วไปของ *Chlorella* sp.	3
-ประโยชน์ของ *Chlorella* sp.	8
-วิธีการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่าย	10
-การเก็บรักษาพันธุ์สาหร่าย	11
-การเจริญของสาหร่าย	11
-วิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย	12
-สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายชนิดต่างๆ	12
-แบคทีเรียสกุลต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาสารออกฤทธิ์ที่สกัดได้จากสาหร่าย *Chlorella* sp.	16
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	20
-อุปกรณ์	20
-วิธีการทดลอง	20
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	29
-ผลการเปรียบเทียบอัตราส่วนน้ำหนักแห้งของสารสกัดที่ได้จาก *Chlorella* sp. แต่ละสายพันธุ์	29
-ผลการเปรียบเทียบความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	45
เอกสารอ้างอิง	46
ภาคผนวก ก. อาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่าย	49
ภาคผนวก ข. ผลการยับยั้งแบคทีเรียโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก สาหร่าย *Chlorella* sp.	50
ภาคผนวก ค. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่าย *Chlorella* sp. 5

2.2 การเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่มีในอาหาร 100 กรัม 8

4.1 แสดงน้ำหนักสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่าย *Chlorella* sp. เทียบกับน้ำหนักเซลล์แห้ง 30

4.2 แสดงความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 36

4.3 แสดงความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่าย *Chlorella* sp. D 1708 ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 37

4.4 แสดงความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่าย *Chlorella* sp. E 1708 ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 38

4.5 แสดงความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่าย *Chlorella vualgris* TISTR 8261 ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 39

4.6 แสดงความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่าย *Chlorella vualgris* TISTR 8580 ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 40

4.7 แสดงสายพันธุ์สาหร่ายที่มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นของสารสกัด 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ 41

ข-1 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 50

ข-2 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 50

ข-3 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 51

ข-4 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. D 1708 51

ข-5 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. D 1708 52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

ข-6 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ที่ถูกยับยั้งโดย สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. D 1708 52
ข-7 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ถูกยับยั้งโดย สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. E1708 53
ข-8 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ถูกยับยั้ง โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จากสาหร่าย *Chlorella* sp. E 1708 53
ข-9 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ที่ถูกยับยั้งโดย สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. E 1708 54
ข-10 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Bacillus subtilis* ที่ถูกยับยั้งโดย สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 54
ข-11 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ถูกยับยั้งโดย สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 55
ข-12 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ที่ถูกยับยั้งโดย สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 55
ข-13 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ถูกยับยั้งโดย สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 56
ข-14 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ที่ถูกยับยั้งโดย สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 56
ค-1 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ถูกยับยั้งโดย สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 3สายพันธุ์ 57
ค-2 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 3 สายพันธุ์ 57
ค-3 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ถูกยับยั้งโดย สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 สายพันธุ์ 59
ค-4 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 สายพันธุ์ 59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

ค-5 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 สายพันธุ์ 61

ค-6 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 สายพันธุ์ 61

ค-7 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Bacillus subtilis* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 63

ค-8 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* โดยปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน 63

ค-9 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* A 0505 64

ค-10 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* โดยปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน 64

ค-11 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 65

ค-12 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน 65

ค-13 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 67

ค-14 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* โดยปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน 67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
3.1	*Chlorella* sp. A 0505 (× 100)	21
3.2	*Chlorella* sp. D 1708 (× 100)	21
3.3	*Chlorella* sp. E 1708 (× 100)	22
3.4	*Chlorella vulgaris* TISTR 8261 (× 100)	22
3.5	*Chlorella vulgaris* TISTR 8580 (× 100)	23
3.6	สาหร่าย *Chlorella* ในหลอดอาหารเอียง	25
3.7	สาหร่าย *Chlorella* ในขวดรูปชมพู่	26
3.8	สาหร่าย *Chlorella* ในหลอดเลี้ยงสาหร่ายแบบให้อากาศ	26
3.9	การทำให้เซลล์แตกโดยเครื่อง sonics vibra cell	27
3.10	การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* โดยกรวยแยก	27
3.11	สารสกัดจากสาหร่ายนำมาทำให้แห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator	28
3.12	เตรียมแผ่นทดสอบจากสารสกัดที่ได้จากสาหร่าย *Chlorella*	28
4.1	ผลของแผ่นควบคุมจากสารละลาย น้ำ : เมทานอล : คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 : 2 : 1 ความเข้มข้น 80 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ ทดสอบต่อเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งไม่เกิดโซนใส	42
4.2	ผลของแผ่นทดสอบจากสารสกัด *Chlorella* sp. A 0505 4 ความเข้มข้น คือ 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ ที่ยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* (ชั่วโมงที่ 24 ของการทดลอง)	42
4.3	ผลของแผ่นควบคุมจากสารละลาย น้ำ : เมทานอล : คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 : 2 : 1 ความเข้มข้น 80 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ ทดสอบต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งไม่เกิดโซนใส	43
4.4	ผลของแผ่นทดสอบจากสารสกัด *Chlorella* sp. E 1708 4 ความเข้มข้น คือ 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ ที่ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* (ชั่วโมงที่ 24 ของการทดลอง)	43
4.5	ผลของแผ่นควบคุมจากสารละลาย น้ำ : เมทานอล : คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 : 2 : 1 ความเข้มข้น 80 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ ทดสอบต่อเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ซึ่งไม่เกิดโซนใส	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

4.6 ผลของแผ่นทดสอบจากสารสกัด *Chlorella* sp. A 0505 4 ความเข้มข้น คือ 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ ที่ยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* (ชั่วโมงที่ 24 ของการทดลอง) 44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

ปัจจุบันการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายมีมากมายหลายด้าน เช่น ใช้ผลิตเป็นอาหารเสริมสุขภาพ การผลิตสี นอกจากนี้ยังใช้สกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อใช้ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ในอดีตมีการค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากมายหลายชนิด ซึ่งส่วนใหญ่ผลิตจากเชื้อราและแบคทีเรียซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นยาปฏิชีวนะได้ เช่น Penicillin จากเชื้อ *Penicillium* sp. และ Streptomycin จาก เชื้อ *Streptomyces* sp. เป็นต้น (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2539) ปัจจุบันมีผู้ค้นหาแหล่งผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ๆ เรื่อยมา โดยพบว่าสาหร่าย (algae) เป็นแหล่งผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจแหล่งหนึ่ง

สาหร่าย *Chlorella* เป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียว รูปร่างกลม ผนังเซลล์หนา เคลื่อนที่ไม่ได้ สามารถสังเคราะห์แสงได้โดยคลอโรพลาสต์ภายในเซลล์ จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของสาหร่ายชนิดนี้พบว่ามีโปรตีนสูงถึงร้อยละ 60 อีกทั้งยังมีวิตามินและเกลือแร่ในปริมาณมาก สามารถขยายพันธุ์ได้ง่าย เจริญเติบโตได้เร็วในระยะเวลาสั้น นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสาหร่าย *Chlorella vulgaris* และ *Chlorella pyrenoidosa* นั้นสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เรียกว่า Chlorellin ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus subtilis* *Bacterium coli* *Staphylococcus aureus* *Streptococcus pyogenes* และ *Pseudomonas aeruginosa* (Pratt และคณะ, 1944)

จากคุณสมบัติดังกล่าวข้างต้น จึงมีความเป็นไปได้ว่าสาหร่าย *Chlorella* สายพันธุ์อื่นๆ ที่พบได้ในประเทศไทยนอกจากสายพันธุ์สาหร่าย *C. vulgaris* และ *C. pyrenoidosa* น่าจะมีความสามารถในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เช่นกัน จึงได้มีการทดสอบถึงความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์หลายชนิดที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ โดยใช้สารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* สายพันธุ์ต่างๆ ทั้งที่แยกได้จากแหล่งน้ำในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และสายพันธุ์ที่แยกได้จากแหล่งน้ำจืดในประเทศไทย เพื่อทราบถึงสายพันธุ์ วิธีการสกัด ตัวทำละลาย รวมถึงความเข้มข้นสารสกัดที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ให้ได้ผลดีที่สุด เพื่อใช้ในการศึกษาและวิจัยอันเป็นประโยชน์ต่อไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาหาสายพันธุ์สาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพปริมาณสูงสุด
2. เพื่อศึกษาหาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp.
3. เพื่อศึกษาหาปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เหมาะสมต่อการใช้ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ในการทดลองนี้ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp.ในอาหารสูตร N-8 ซึ่งนิยมใช้เลี้ยงสาหร่ายสีเขียวโดยทั่วไป จากนั้นจึงนำสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยใช้ตัวทำละลายเป็น คลอโรฟอร์ม เมทานอล และน้ำ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ต่อ 1 ตามลำดับ แล้วจึงนำสารสกัดที่ได้มาคำนวณหาอัตราส่วนของน้ำหนักสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเทียบกับน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย และทดสอบคุณสมบัติที่มีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยทำการแปรผันสายพันธุ์ของสาหร่ายและปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เหมาะสมต่อการใช้ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงสายพันธุ์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพปริมาณสูงสุด
2. ทราบถึงชนิดของจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp.
3. ทราบปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่เหมาะสมต่อการใช้ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์
4. เป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อใช้ในการศึกษาขั้นสูง เพื่อนำประโยชน์ไปใช้ในอนาคตต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

สาหร่าย *Chlorella* sp. จัดอยู่ในดิวิชัน Chlorophyta ซึ่งมีเพียงคลาสเดียว คือ Class Chlorophyceae อยู่ใน Order Chlorellales ซึ่งเป็นแพลงก์ตอนพืชสีเขียวเซลล์เดียวและกลุ่มเซลล์ที่ไม่เคลื่อนไหว ขนาดเล็กประมาณ 2 ถึง 12 ไมครอน และไม่สร้างซูโอสปอร์ (zoospore) การสืบพันธุ์ส่วนใหญ่โดยการสร้างออโตสปอร์และออโตโคโลนี และอยู่ใน Family Chlorellaceae มีลักษณะเป็นพวกเซลล์เดี่ยวที่มีขนาดเล็กรูปร่างกลมหรือรีและผนังเซลล์ค่อนข้างบาง คลอโรพลาสต์เป็นแบบแถบข้างเซลล์ มีไพรีนอยด์ 1 อัน อยู่บนคลอโรพลาสต์ สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศอย่างเดียว โดยการสร้างออโตสปอร์ซึ่งมีจำนวน 4 8 และ 16 สปอร์ (กาญจนภาชน์, 2527)

ลักษณะทั่วไปของ *Chlorella* sp.

ผนังเซลล์ : โดยทั่วไปแล้วผนังเซลล์มี 2 ชั้น ผนังชั้นในเป็นพวกเซลลูโลส และผนังชั้นนอกเป็นพวกเพคติน

รงควัตถุและคลอโรพลาสต์ : รงควัตถุสังเคราะห์แสงอยู่ในคลอโรพลาสต์ ประกอบด้วย

- คลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี
- แอลฟา เบตา และแกมมาแคโรทีน
- แซนโทฟิลล์

ลักษณะของคลอโรพลาสต์ เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าประกอบด้วยไทลาคอยด์ (thylakoid) เรียงซ้อนกันเป็นชั้นเรียก กรานา (grana) แต่ละกรานา มีไทลาคอยด์ตั้งแต่ 2 ถึง 6 อัน ซึ่งเหมือนกับที่พบในพืชชั้นสูง นอกจากนี้ภายในคลอโรพลาสต์ยังมีไพรีนอยด์ (pyrenoid) ซึ่งเป็นแหล่งสะสมอาหาร

อาหารสะสม : *Chlorella* sp. จะสะสมอาหารไว้ที่ไพรีนอยด์ในรูปของแป้ง ซึ่งประกอบด้วยอะไมโลส (amylose เป็น unbranched chain ของ glucose residue) และอะไมโลเพคติน (amylopectin เป็น branched chain) (ลัดดา, 2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่าย *Chlorella* sp. สามารถจัดลำดับตามอนุกรมวิธานได้ดังนี้ (ลัดดา, 2542)

Division	Chlorophyta
Class	Chlorophyceae
Order	Chlorellales
Family	Chlorellaceae
Genus	*Chlorella* Beijerinck

สาหร่ายสกุลนี้พบทั่วไปทั้งในน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม ที่มีสารอาหารจำพวกไนเตรทและฟอสเฟตอุดมสมบูรณ์ และอาจอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ เช่น พารามีเซียม ไฮดรา และฟองน้ำ เช่น สาหร่าย *Chlorella parasitica* อาศัยอยู่ในเซลล์ของพารามีเซียม และไฮดรา แบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน (symbiosis) (กาญจนภาชน์, 2527)

สาหร่าย *Chlorella* sp. ได้รับความสนใจจากนักวิทยาศาสตร์มาก เนื่องจากเจริญเติบโตง่ายและมีปริมาณโปรตีนสูง (กาญจนภาชน์, 2527)

คุณค่าทางอาหารของ *Chlorella* sp. มีดังนี้ (กาญจนภาชน์, 2527)

โปรตีนร้อยละ	55.5	ของน้ำหนักแห้ง
ไขมันร้อยละ	7.5	ของน้ำหนักแห้ง
คาร์โบไฮเดรตร้อยละ	17.8	ของน้ำหนักแห้ง
พลังงานความร้อน	3.3	กิโลแคลอรีต่อกรัม

Steenblock (1981, อ้างตาม Hansakul, 1991 และ กิดานันท์, 2530) ได้แสดงองค์ประกอบทางเคมีของ *Chlorella* sp. ซึ่งทดสอบโดย Japan Dair Technical Association, Kioicho, Chiyodaku, Tokyo ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ คือ *Chlorella* G powder No. 650818 หมายเลขทดสอบ 1787 พบว่าประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน วิตามิน เกลือแร่ เส้นใย คลอโรฟิลล์ และสารกระตุ้นการเจริญเติบโต (*Chlorella* growth factor) โปรตีนใน *Chlorella* sp. มีมากถึง 60.5 เปอร์เซ็นต์ เพียงพอที่จะใช้เป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ *Chlorella* sp. จึงถูกจัดว่าเป็นโปรตีนเซลล์เดียว (single cell protein) ที่นำมาศึกษาใช้ประโยชน์ จนมีชื่อที่กล่าวถึงคุณสมบัติพิเศษของ *Chlorella* sp. เช่น อาหารจากแสงตะวัน อาหารมรกต The food of the centrey และ The gem of orient (วิสัย, 2536)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของ *Chlorella* sp. (Steenblock, 1981 อ้างตาม กิดานันท์, 2530)

General Analysis		
Moisture	3.6	เปอร์เซ็นต์
Protein	60.5	เปอร์เซ็นต์
Fat	11.0	เปอร์เซ็นต์
Cabohydrate	20.1	เปอร์เซ็นต์
Fiber	0.2	เปอร์เซ็นต์
Ash	4.6	เปอร์เซ็นต์
Calories	421.00	ต่อ 100 กรัม
Vitamins and Minerals		
Vitamin A activity	55,500.00	หน่วยสากลต่อ 100 กรัม
β-carotene	180.8	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Chlorophyll a	1,469.0	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Chlorophyll b	613.0	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Thiamine (vitamin B-1)	1.5	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Riboflavin (vitamin B-2)	4.8	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Pyridoxine (vitamin B-6)	1.7	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Vitamin B-12	125.9	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Vitamin C	15.6	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Vitamin E	<1.0	หน่วยต่อ 100 กรัม
Niacine	23.8	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Pantothenic acid	1.3	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Folic acid	29.6	ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม
Biotin	191.6	ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม
PABA	0.6	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Inositol	165.0	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Phosphorus	989.0	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Iodine	600.0	ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม
Magnesium	315.0	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Iron	167.0	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Zinc	71.0	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Copper	0.08	มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม
Amino acid (Expressed in w/w %)		
Lysine	3.46	
Histidine	1.29	
Arginine	3.64	
Aspartic acid	5.20	
Threonine	2.70	
Serine	2.78	
Glutamic acid	6.29	
Proline	2.93	
Glycine	3.40	
Alanine	4.8	
Cystine	0.038	
Valine	3.64	
Methionine	1.45	
Isoleucine	2.63	
Leucine	5.26	
Tyrosine	2.09	
Phenylalanine	3.08	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Ornithine	0.06	
Typtophan	0.56	
Fatty acid		
Unsaturated fatty acid	81.8	เปอร์เซ็นต์
Saturated fatty acid	18.2	เปอร์เซ็นต์
C 14:0	0.6	เปอร์เซ็นต์
C 14:1	0.9	เปอร์เซ็นต์
C 14:2	0.9	เปอร์เซ็นต์
C 16:0	15.6	เปอร์เซ็นต์
C 16:1	9.1	เปอร์เซ็นต์
C 16:2	5.5	เปอร์เซ็นต์
C 16:3	7.1	เปอร์เซ็นต์
C 18:0	2.0	เปอร์เซ็นต์
C 18:1	10.0	เปอร์เซ็นต์
C 18:2	15.5	เปอร์เซ็นต์
C 18:3	22.8	เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 การเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่มีในอาหาร 100 กรัม (วิสัย, 2536)

อาหาร	ปริมาณโปรตีน (กรัม)
Chlorella sp.	58
เนื้อวัว	24 - 27
ไข่	13
ปลา	18 - 29
ไก่	24
ข้าวสาลี	10 - 13
ข้าว	3 - 7
มันฝรั่ง	3

ประโยชน์ของ *Chlorella* sp.

1. อาหารเสริมสุขภาพสำหรับมนุษย์

ผลิตภัณฑ์จาก *Chlorella* sp. เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดแรกสำหรับสาหร่ายเซลล์เดียวที่นำมาใช้เป็นอาหารเสริมเพื่อสุขภาพในรูปสินค้าอัดเม็ดหรือเป็นผง มีราคาสูงถึงกิโลกรัมละ 100 ดอลลาร์สหรัฐอเมริกา (ทวี, 2540) ในญี่ปุ่นมีการใช้ *Chlorella* sp. ถึงปีละ 1,000 ตัน ทั้งในรูปเม็ด ผง หรือชนิดน้ำ โดยในการผลิตได้ใช้วิธี dyno-mill ย่อยผนังเซลล์ *Chlorella* sp.ทำให้ผนังของเซลล์แตกออกโดยไม่ทำลายสารอาหารภายใน โดยวิธีนี้เมื่อร่างกายรับประทานเข้าไปจะย่อยสาหร่ายได้ 85 เปอร์เซ็นต์ ดีกว่าวิธีฟอกสาหร่ายที่ทำให้ร่างกายย่อยได้เพียง 50 เปอร์เซ็นต์ (กิดานันท์, 2530 และวิสัย, 2536)

2. อาหารสำหรับสัตว์

Chlorella sp. มีปริมาณโปรตีนสูง นอกจากนั้นยังมีกรดนิวคลีอิคสูงประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งร่างกายมนุษย์ได้รับกรดนิวคลีอิคมากไปอาจเปลี่ยนเป็นกรดยูริคได้ สาหร่ายทั่วไปรวมทั้ง *Chlorella* sp. มีผนังเซลล์หนา ถ้านำมาเป็นอาหารมนุษย์ต้องผ่านการทำให้ผนังเซลล์บางหรือเอาออกจนร่างกายสามารถย่อยได้ แต่สัตว์ส่วนใหญ่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้เลย (วีนา, 2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. อาหารสำหรับลูกสัตว์น้ำ

การเพาะพันธุ์ลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนให้ได้ผลดี จะต้องมีอาหารสำหรับเลี้ยงลูกสัตว์น้ำให้เพียงพอ อาหารสำหรับเลี้ยงลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนเหล่านี้ คือ แพลงก์ตอนสัตว์ขนาดเล็ก และไรแดง เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง ย่อยง่าย และไม่ทำให้น้ำเสีย ในขณะเดียวกันแพลงก์ตอนสัตว์ก็ต้องการอาหารคือ แพลงก์ตอนพืช เช่น *Chlorella* sp. *Scenedesmus* sp. และ *Aikistrodespus* sp. (กัญญา และสัณห์ชัย, 2529)

4. โปรตีนเซลล์เดียว

มนุษย์รู้จักนำสาหร่ายมารับประทานโดยตรงมานานในหลายภูมิภาคของโลก และในปัจจุบันได้มีการนำสาหร่ายมาผลิตเป็นโปรตีนเซลล์เดียว สำหรับ *Chlorella* sp. นั้นมีการนำมาผลิตเป็นอุตสาหกรรมอย่างเป็นล่ำเป็นสันในไต้หวันและญี่ปุ่น (ดุษณี, 2538) โดยจะนำมาสกัดให้ได้ส่วนที่เรียกว่า *Chlorella* growth factor และมีการพัฒนาการสกัดโดยการหมุนเหวี่ยง และทำให้ข้นขึ้นโดยการหมุนเหวี่ยงในสภาวะสุญญากาศและนำมาทำให้แข็งและแห้ง เพื่อให้อยู่ในรูปผงซึ่งมีการทดลองวิจัยเกี่ยวกับโปรตีนเซลล์เดียวในหลายประเทศ เช่น ญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา อิตาลี และ อิสราเอล (กิดานันท์, 2530 ; วิสัย, 2536 และ ดุษณี, 2538)

5. การบำบัดน้ำเสีย

สาหร่ายเป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญในการบำบัดน้ำเสีย เพราะเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์รวมกัน ซึ่งในเซลล์มีคลอโรฟิลล์และสารสี โดยสาหร่ายจะทำการสังเคราะห์แสง โดยใช้สารอนินทรีย์จากแหล่งน้ำทำให้น้ำมีคุณภาพดีขึ้น สาหร่ายที่มีบทบาทในการบำบัดน้ำเสีย คือ *Chlorella* *Euglena* และ *Ulothrix* เป็นต้น (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2541 ; นวลพรรณ และ มงคล, 2542) สาหร่ายนอกจากจะนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสียแล้วยังเป็นตัวชี้คุณภาพน้ำได้อีกด้วย (วันดี, 2543)

6. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

สาหร่าย *Chlorella* sp. สามารถผลิตสาร Chlorellin มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ (Pratt และคณะ, 1944 และ David และคณะ, 1964 อ้างตาม วีนา, 2542) โดย *Chlorella* sp. สายพันธุ์ที่มีรายงานว่าสร้าง Chlorellin ได้อย่างแน่ชัด คือ *C. vulgaris* และ *C. pyrenoidosa* (Pratt และคณะ, 1944) มีรายงานว่าในปี ค.ศ. 1966 ได้มีการทดลองกับทหารเรือญี่ปุ่นที่เดินทางจากญี่ปุ่นไปนิวซีแลนด์ โดยแบ่งลูกเรือออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มหนึ่งจะได้รับประทาน *Chlorella* อัดเม็ด เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าผู้ที่รับประทาน *Chlorella* อัดเม็ดเป็นหวัดน้อยกว่าผู้ที่ไม่ได้รับประทาน (กิดานันท์, 2530) นอกจากนี้เส้นใยจากผนังเซลล์ของ *Chlorella* sp. ยังมีประสิทธิภาพในการดูดซับโลหะหนัก เช่น แคดเมียม ตะกั่ว และปรอท โดยถูกกำจัดทางอุจจาระเป็น 3 เท่า และทางปัสสาวะ 7 เท่า นอกจากนี้ คลอโรฟิลล์ของ *Chlorella* sp. ยังมีส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ช่วยในการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus acidophilis* ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการสร้างวิตามินในลำไส้ ซึ่งช่วยให้ลำไส้เคลื่อนตัวได้ดีขึ้น จึงมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคท้องผูก (กิดานันท์, 2530 ; วิสัย, 2536 ; วีนา, 2542) สำหรับการรักษามะเร็งด้วยวิธีทางเคมีบำบัดและเอ็กซ์เรย์ผู้ป่วย ซึ่งทำให้ภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยลดลงและเกิดผลข้างเคียงต่างๆ ซึ่ง *Chlorella* มีสารอาหารที่ฟื้นฟูระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายทำให้ผู้ป่วยมีอาการดีขึ้น (Merchant, 1990 อ้างตาม Hansakul, 1997) แต่อย่างไรก็ตาม การทดลองเรื่อง *Chlorella* กับการป้องกันรักษามะเร็งยังอยู่ในระยะการวิจัยอยู่ ผลการวิจัยอาจจะน้อยไม่เพียงพอที่จะสรุปว่า *Chlorella* มีบทบาทในการรักษาโรคมะเร็งอย่างแน่ชัด แต่ทั้งนี้ดูเหมือนว่า *Chlorella* จะเป็นความหวังหนึ่งในการรักษาโรคมะเร็งทั่วไปในอนาคต (วิสัย, 2536)

วิธีการคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่าย

การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายมีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการให้ได้สาหร่ายที่บริสุทธิ์ (pure culture) เพื่อนำไปศึกษาต่อทางด้านอนุกรมวิธาน สัณฐานวิทยา หรือนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อนำมาใช้สกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (สุนีย์, 2524)

1. วิธีการล้างเซลล์

หลักการของวิธีนี้คือ การล้างเซลล์สาหร่ายหลายๆ ครั้ง ในน้ำที่บริสุทธิ์จนกระทั่งแบคทีเรียและไวรัสหลุดออกไป โดยใช้หลอดแก้วลนไฟให้แก้วอ่อนตัว แล้วดึงให้เล็กลงจนมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางใหญ่กว่าเซลล์สาหร่ายเล็กน้อยใช้ดูดสาหร่ายทีละเซลล์ไปไว้ในภาชนะที่มีน้ำบริสุทธิ์ ทำเช่นนี้ประมาณ 4 ครั้ง แบคทีเรียและไวรัสจะหลุดหมด การทดสอบพบว่าสาหร่ายที่ได้บริสุทธิ์หรือไม่นั้นใช้วิธีเพาะเชื้อในอาหารวุ้นที่มีอาหารสำหรับแบคทีเรียและไวรัส เกลี่ยหยดสาหร่ายให้ทั่วหน้าวุ้นวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง ให้แสงสว่างพอประมาณ ถ้าผ่านไป 2 สัปดาห์ ไม่มีแบคทีเรียหรือไวรัสที่อุณหภูมิห้องแสดงว่าสาหร่ายที่ทดสอบเป็นเชื้อบริสุทธิ์ วิธีนี้มักใช้กับสาหร่ายที่มีขนาดโตพอมองด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำได้ เช่น *Anabaena* sp. และ *Spirulina* sp. เป็นต้น ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีการที่ Pringsheim คิดขึ้นในปี ค.ศ.1946 (สุนีย์, 2524)

2. วิธีเพาะบนจานวุ้น

วิธีการนี้เตรียมอาหารวุ้นในจานเพาะเชื้อโดยใช้วุ้นผง 1.5 เปอร์เซ็นต์ ต้มกับอาหารที่เลี้ยงสาหร่าย โดยอาหารที่ผสมนี้ต้องนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ถึง 20 นาที จึงนำมาเทลงในจานเพาะเชื้อให้หนาประมาณ 3 ถึง 5 มิลลิเมตร ทิ้งไว้ให้เย็นจนแข็ง จากนั้นหยดน้ำตัวอย่างลงไป ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลที่ลนไฟแล้ว เกลี่ยให้กระจายทั่ววุ้น (spread

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

plate technique) ตั้งทิ้งไว้ให้แสงประมาณ 2,000 ลักซ์ ต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ สังเกตลักษณะสาหร่ายจะขึ้นเป็นโคโลนีสีเขียว ถ้ามีแบคทีเรียในน้ำตัวอย่างแบคทีเรียจะขึ้นปะปนด้วย ให้ใช้ลูป (loop) ลนไฟเขี่ยกลุ่มสาหร่ายที่ไม่มีแบคทีเรียไปเขี่ยบนอาหารวุ้นใหม่ (cross streak technique) เพาะไว้อีกจนเห็นสาหร่ายเจริญเป็นจุดสีเขียวไม่มีกลุ่มแบคทีเรีย ทำอย่างนี้ 3 ถึง 4 ครั้ง จนแน่ใจว่าสาหร่ายที่ได้บริสุทธิ์ จึงนำมาถ่ายเชื้อบนหลอดอาหารเอียง (agar slant) เก็บไว้ใช้งานต่อไป วิธีนี้ใช้เฉพาะสาหร่ายที่ขึ้นได้บนอาหารวุ้นเท่านั้น เช่น *Chlorella* sp. และ *Haematococcus* sp. เป็นต้น (สุนีย์, 2524)

การเก็บรักษาสายพันธุ์สาหร่าย

สาหร่ายที่คัดเลือกสายพันธุ์แล้ว เลี้ยงไว้แบบบริสุทธิ์ต้องดูแลเปลี่ยนอาหารใหม่ (sub culture) ในระยะที่สาหร่ายเจริญเต็มที่หากปล่อยทิ้งไว้สาหร่ายจะค่อยๆ ตายจนหมดไป สาหร่ายที่เลี้ยงไว้ในอาหารเหลวบางครั้งต้องย้ายลงอาหารใหม่ทุก 2 สัปดาห์ แต่บางครั้งอยู่ได้ถึง 1 ถึง 2 เดือน การเก็บรักษาสายพันธุ์สาหร่ายในหลอดอาหารเอียงก็เป็นอีกวิธีที่นิยมกัน โดยเก็บที่มีอุณหภูมิต่ำประมาณ 5 ถึง 10 องศาเซลเซียส มีแสงสลัว อาจเก็บได้ถึง 3 เดือน มีการทดลองเก็บสาหร่าย *Chlorella* sp. ในที่มืดและเย็น ประมาณ 3 องศาเซลเซียส พบว่าอยู่ได้นาน 22 เดือน (ผุสดี, 2522) แต่สาหร่ายพวก *Chlamydomonas* sp. และ *Tetraselmis* sp. จะไม่เหมาะสมกับการเก็บรักษาด้วยการใช้อุณหภูมิต่ำ (สุนีย์, 2524)

การเจริญของสาหร่าย

การเลี้ยงสาหร่ายเพื่อการศึกษาการเจริญเติบโตไม่มีข้อจำกัดในแง่คาร์บอนไดออกไซด์ หรือสารอาหารต่างๆ และเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิคงที่ จะได้กราฟการเจริญเติบโตเหมือนจุลินทรีย์อื่นๆ (David และคณะ, 1964 อ้างตาม วีนา, 2542) กล่าวถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต คือ

1. ความเข้มแสง ถ้าเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* ที่สภาพอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ควรจะได้รับความเข้มแสงอย่างน้อย 100 แรงเทียน และความเข้มแสงสูงสุดประมาณ 400 แรงเทียน
2. อุณหภูมิ ในการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* แต่ละชนิดเจริญได้ดีในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน
3. ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์
4. Autoinhibitor สาหร่ายมีการเจริญลดลงเมื่อถูกทิ้งไว้นาน เนื่องจากมีการสะสมของของเสียที่ถูกขับมาจากเซลล์ แต่ปัญหานี้พบน้อยเพราะสาหร่ายมีการสังเคราะห์แสงสูงและมีระดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การขับถ่ายต่ำ นอกจากนั้นสาหร่าย *Chlorella vulgaris* สามารถขับสาร Chlorellin ออกมานอกเซลล์ ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายอื่นๆ

5. ความเป็นกรดด่าง สภาพความเหมาะสมของความเป็นด่าง คือ 6.0 ถึง 6.5
6. สายพันธุ์สาหร่าย ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของสาหร่าย

วิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายนั้นมีหลายวิธีแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของสาหร่ายที่นำมาทำการสกัด ซึ่งการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่นำสารสกัดที่ได้นั้นไปควบคุมเชื้อราโรคพืช (พัชรี, 2540) มีวิธีการสกัด ดังนี้

นำเซลล์สาหร่ายที่เก็บเกี่ยวได้มาเติมน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำมาทำละลาย (thaw) ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อให้เซลล์แตก ทำซ้ำ 2 ถึง 3 ครั้ง จากนั้นทำให้เซลล์เป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้เครื่องปั่นละเอียด ที่ความถี่ 13,000 รอบต่อนาที จนกระทั่งเซลล์แตกเป็นเนื้อเดียวกัน จึงสกัดด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม ($CHCl_3$) และเมทานอล (CH_3OH) ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 กรองสารสกัดด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำส่วนที่ได้จากการกรอง (filtrate) มาระเหยแห้งแบบลดความดันด้วยเครื่อง rotaty evaporator ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนสารสกัดแห้ง ก็จะได้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอีกวิธีหนึ่ง ซึ่งเป็นการสกัดสารยับยั้งเอนไซม์ Tyrosinase คือ Oscillapeptin G จากสาหร่าย *Oscillatoria agardhii* (Sano และ Kaya , 1996) โดยนำเซลล์ที่ทำแห้งด้วยวิธี freeze-dried มาทำเป็นเซลล์แขวนลอยในสารละลายฟีนอลเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำมาสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม เมทานอล และน้ำ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 3 ต่อ 1 นำสารที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรอง จะได้ตัวอย่างประมาณ 0.23 กรัม แล้วนำมาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี reversed-phase HPLC (Ultron ODS, 8× 250 มิลลิเมตร, อัตราการไหล 3 มิลลิลิตรต่อนาที) สารละลายที่ใช้เป็น mobile phase ประกอบด้วยเมทานอล 55 เปอร์เซ็นต์ (เทียบอัตราส่วนปริมาตรต่อปริมาตร) ที่มีฟอสเฟต 0.05 โมล (pH 3) สุดท้ายจะได้สาร Oscillapeptin G บริสุทธิ์ 16 มิลลิกรัม ซึ่งเป็นของแข็งไม่มีสี รูปร่างไม่แน่นอน

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายชนิดต่างๆ

สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติสามารถที่จะนำมาบริโภคเป็นอาหาร หรือสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายจะมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่ ตามด้วยเชื้อราและยีสต์ (Vlachos และคณะ, 1997) เราจึงสามารถนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านี้ มาใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชกรรม เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมอาหาร

Pratt และคณะ (1944) พบว่าสาหร่าย *Chlorella vulgaris* และ *Chlorella pyrenoidosa* นั้นสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เรียกว่า Chlorellin ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้แก่ *Bacillus subtilis* *Becterium coli* *Staphylococcus aureus* *Streptococus pyogenes* และ *Pseudomonas aeruginosa*

จากการทดลองของ Rao และ Parekh (1981) พบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายในประเทศอินเดีย จะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเฉพาะพวกเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งในสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้ จะมีส่วนประกอบหลักเป็น phenol fatty acid และ unsaponifiable lipid component ซึ่งจะเป็นตัวที่ยับยั้งการเจริญของพวกเชื้อแบคทีเรีย

Chang และคณะ (1993) คัดแยกสาหร่ายทะเล และสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* และแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* โดยทำการเลี้ยงสาหร่ายและเก็บเกี่ยวด้วยวิธีหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นจึงกลั่นเอาน้ำออกเพื่อให้ได้น้ำหนักสด 0.1 กรัมต่อมิลลิลิตร แล้วจึงทำให้เป็นเซลล์แขวนลอย (suspension) และทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่อง ultrasonic โดยใช้คลื่นเสียง 100 μA เป็นเวลา 3 นาที ซึ่งขณะใช้เครื่องต้องทำการหล่อเย็นตัวเซลล์ด้วยน้ำแข็ง จากนั้นก็นำไปหมุนเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำการกรอง ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้เลี้ยงบนอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง นำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้มา 40 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษทดสอบ แล้วย้ายกระดาษไปทดสอบในจานอาหารที่เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย บ่มต่อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะเกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียขึ้นรอบๆ แผ่นทดสอบ โดยใช้น้ำที่กลั่นแยกออกมาจากขั้นตอนการเก็บเกี่ยวเพื่อให้ได้น้ำหนักสดเป็นตัวควบคุม ซึ่งเมื่อนำไปทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแล้วจะไม่เกิดบริเวณยับยั้ง โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายทั้ง 24 สายพันธุ์ ไม่มีผลต่อเชื้อ *E. coli* แต่จะมีผลต่อเชื้อ *S. aureus* ถึง 7 สายพันธุ์ ซึ่งสาหร่ายที่สามารถยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้ คือ *Dunaliella bioculata* C-523 *D. primolecta* C-525 *Chlorococcum* sp. HS-101 *Chlorella* sp. HS-110 *Synechococcus* sp. HS-364 และ *Phorphyridium* sp. HS-366 ซึ่งสาหร่าย *Dunaliella primolecta* สามารถยับยั้งการเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเชื้อแบคทีเรียได้สูงสุด โดยจะยับยั้งเชื้อ *S. aureus* *Bacillus subtilis* *B. cereus* และ *Enterobacter aerogenes* จากแบคทีเรียทั้งหมด 8 สายพันธุ์ แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Cladosporium cladosporides* *Penicillium funculosum* *Paecilomyces variom* และ *Aspergillus niger* สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่าย *Dunaliella primolecta* จะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดี เทียบได้กับยาปฏิชีวนะ ampicillin ซึ่งเป็นสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทางการค้า

Vlachos และคณะ (1997) ได้ทดลองคัดเลือกสาหร่ายขนาดใหญ่ 3 กลุ่ม คือ สาหร่ายสีน้ำตาล (Phaeophyta) *Zonaria subarticulata* *Ecklonia radiata* *Stypopodium zonale* *Bifurcariopsis capensis* *Sargassum incisifolium* *Dictyopteris longifolia* *Anthophycus longifolius* *Zonaria tournefortii* *Ecklonia maxima* *Sargassum elegans* สาหร่ายสีแดง (Rhodophyta) *Carradoriella virgata* *Plocamium rigidum* *Mazzaella capensis* *Portieria hornemannii* *Beckerella pinnatifida* *Amphiroa ephedraea* *Arthrocardia carinata* *Cheilosporum sagittatum* *Gelidium abbottiorum* *Laurencia complanata* และสาหร่ายสีเขียว (Chlorophyta) *Cladophora prolifera* *Bryopsis myosuroides* *Halimeda cuneata* *Pseudocodium de-vriesei* *Caulerpa zeyheri* *Codium duthieae* *Codium platylobium* *Codium tenue* *Codium capitatum* โดยสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ แล้วนำมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ คือ แบคทีเรียแกรมบวก *Bacillus subtilis* EL 39 *Leuconostoc mesenteroides* TA 10c *Listeria monocytogenes* *Listeria innocua* *Micrococcus* sp. *Staphylococcus aureus* แบคทีเรียแกรมลบ *Acinetobacter lwoffii* *Enterobacter* sp. *Escherichia coli* *Pseudomonas fluorescens* *Salmonella enteritidis* *Serratia* sp. ราและยีสต์ *Aspergillus* sp. *Penicillium* sp. *Candida albicans* *Saccharomyces cerevisiae* พบว่ากลุ่มสาหร่ายสีน้ำตาลมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุด รองลงมาคือสาหร่ายสีแดง และสาหร่ายสีเขียวมีผลในการยับยั้งน้อยที่สุด สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายทั้ง 3 กลุ่ม จะสร้างบริเวณโซนใส (clear zone) ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ขึ้นมา ในการทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกับเชื้อ *Bacillus subtilis* EL 39 จะเกิดโซนใสเป็นวงขนาดใหญ่ เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกสายพันธุ์อื่นซึ่งจะเกิดโซนใสขนาดเล็กกว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายสีน้ำตาลที่ใช้ทดสอบทั้งหมด สามารถที่จะยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและราทุกสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดสอบ โดยเฉพาะสาหร่ายสีน้ำตาล *Zonaria subarticulata* จะสร้างโซนใสขนาดใหญ่มากกว่า 10 มิลลิเมตร สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายสีแดง จะมีผลยับยั้งการเจริญของพวกแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าพวกเชื้อรา ยีสต์ และพวกแบคทีเรียแกรมลบ โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Carradoriella virgata จะสร้างโซนใสที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในสาหร่ายกลุ่มนี้ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายสีเขียว จะมีผลยับยั้งการเจริญของพวกเชื้อจุลินทรีย์ได้น้อยที่สุดในสาหร่ายทั้ง 3 กลุ่มที่ใช้ทดสอบ โดยมีแนวโน้มในการยับยั้งคล้ายกับสาหร่ายสีแดง และพบว่าความแตกต่างของสายพันธุ์ในสกุล *Codium* จะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก

ในการควบคุมเชื้อราโรคพืชได้มีการศึกษาโดยนำสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจำนวน 11 สกุล 165 สายพันธุ์ มาแยกและคัดเลือกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อต้านเชื้อราโรคพืช ได้แก่ *Collectotrichum truncatum* *Curvularia lunata* *Fusarium oxysporum* *Bipolaris mydis* *Macrophomina phaseolina* และ *Pyricularia grisea* พบว่ามีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 3 สกุล ที่สามารถยับยั้งเชื้อราโรคพืชที่ใช้ในการทดสอบ ซึ่งได้แก่ สาหร่ายสกุล *Calothrix* 5 สายพันธุ์ สาหร่ายสกุล *Fischerella* 2 สายพันธุ์ และสาหร่ายสกุล *Scytonema* 1 สายพันธุ์ (พัชรี, 2540)

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางสายพันธุ์มีคุณสมบัติในการควบคุมแมลง โดยได้มีการนำตัวอย่างสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จำนวน 318 สายพันธุ์ มาคัดเลือกหาสายพันธุ์ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติในการควบคุมแมลง โดยพบว่ามีเพียงสารสกัดจาก *Hapalosiphon* sp. TISTR 8252 เท่านั้น ที่สามารถควบคุมหนอนกระทู้หอมวัยหนึ่งและวัยสอง และหนอนเจาะสมอฝ้ายวัยหนึ่งได้ (จิราภรณ์, 2542)

Borowitzka (1999) ได้คัดแยกสาหร่ายในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (cyanobateria) มากกว่า 1,000 สายพันธุ์ เพื่อหาสายพันธุ์ที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่มีผลต่อเชื้อรา และยีสต์ พบว่ามีสาหร่ายมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ที่สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการได้ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ที่สกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ เช่น *Tolypothrix tjipanensis* จะประกอบด้วย tjipanazole ซึ่งเป็น indolo (2 , 3 - a) carbazoles คล้ายกับที่พบในพวกเชื้อราแอคติโนมัยซิส (actinomyces) และราเมือก สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพถูกจำแนกตามความแตกต่างทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพตัวแรกที่แยกได้จากสาหร่าย คือ acrylic acid ซึ่งจะสามารถพบได้ในสาหร่ายทั่วๆ ไป dimethylsulphide เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่ายกลุ่ม Chrysophyta ประกอบด้วยกรดไขมัน เช่น γ - linolenic acid และ eicosapentaenoic acid ซึ่งจะพบมากในสาหร่ายกลุ่มนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียสกุลต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษาสารออกฤทธิ์ที่สกัดได้จากสาหร่าย *Chlorella* sp.

สกุล *Bacillus* ถ้าเปรียบเทียบกับสกุลอื่นๆ จะเป็นพวกที่สมาชิกในสกุลมีคุณสมบัติแตกต่างกันมาก อย่างเช่น ในการหมักน้ำตาลกลูโคส *B. coagulans* จะสร้างกรดแลกติกเพียงอย่างเดียว ขณะที่ *B. subtilis* *B. licheniformis* และ *B. cereus* สร้าง 2,3 butanediol และ glycerol เป็นส่วนใหญ่ สำหรับ *B. macerans* สร้างเอทานอล แอซิโตน กรดแอซิติก และฟอร์มิก เป็นส่วนใหญ่ และมีบางชนิดที่ดำรงชีวิตแบบ facultative anaerobe สามารถใช้ไฮโดรเจนเป็นแหล่งพลังงานได้ มีความต้องการอาหารแตกต่างกัน อุณหภูมิสูงสุดที่สามารถเจริญได้อยู่ระหว่าง 25 ถึง 75 องศาเซลเซียส ต่ำสุดอยู่ระหว่าง –5 ถึง 45 องศาเซลเซียส ทนเกลือได้อยู่ในช่วงน้อยกว่า 2 ถึง 25 เปอร์เซ็นต์ (ดวงพร, 2537) ส่วนใหญ่ไม่มีโทษต่อมนุษย์ แต่จะมีเพียงบางสายพันธุ์ที่เป็นโทษ เช่น *B. cereus* อาจทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ *B. stearothermophilus* เป็นสาเหตุทำให้อาหารกระป๋องเน่า*เสีย* *B. anthracis* ทำให้เกิดโรครุนแรงกับคนและสัตว์เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกซ์ (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2539)

Bacillus subtilis รูปร่างเป็นแท่ง มีแฟลกเจลลาทางด้านข้าง การแตกออกของสปอร์อยู่ที่ศูนย์กลางของเซลล์ โคโลนีที่เจริญบนอาหารวุ้น ลักษณะของผิวโคโลนีอาจเรียบหรือขรุขระ ทึบ สีครีมหรือน้ำตาล สามารถย่อยเพกตินและโพลีแซ็กคาไรด์ของเนื้อเยื่อของพืชได้ บางสายพันธุ์มีการสร้างรงควัตถุ ย่อยเจลาตินได้ รีดิวซ์ลิตมัสมิลค์ เจริญเติบโตแบบใช้อากาศ และเจริญในสภาพไม่ใช้อากาศได้ถ้าอยู่ในอาหารที่ซับซ้อน สามารถสร้างสปอร์ได้ทั่วไปในวัสดุที่ผ่านความร้อนมา เจริญในอาหารที่ไม่ใช้กรด (non acid food) ถ้ามีออกซิเจนเป็นสาเหตุทำให้ขนมปังเป็นเมือก (ดวงพร, 2537)

สกุล *Escherichia* รูปร่างเป็นแท่งตรง อยู่เดี่ยวๆ หรือเป็นคู่ เคลื่อนที่โดยใช้เพอริไตรเชียส แฟลกเจลลา (peritrichous flagella) หรือไม่เคลื่อนที่ก็ได้ สามารถขึ้นได้บนอาหารง่ายๆ โคโลนีบนอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียมีลักษณะผิวเรียบชื้น มัน สีเทา อาจมีลักษณะหยาบ แห้ง สามารถใช้แอซีเตทเป็นแหล่งคาร์บอน แต่ไม่สามารถใช้ซิเตรท กลูโคสและคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ เนื่องจากจะถูกหมักเกิดกรดแลคติก กรดแอซีติก และฟอร์มิก บางสายพันธุ์เป็นพวกที่ไม่ใช้อากาศ (anaerobe) ส่วนใหญ่หมักแล็กโทส (lactose) ได้ แต่อาจจะช้า ค่า G+C content ของ DNA เท่ากับ 50 ถึง 51 โมลเปอร์เซ็นต์ (ดวงพร, 2537) เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญที่สุดในแง่การก่อให้เกิดโรค และเป็นสัญลักษณ์แห่งความสกปรกที่ปนเปื้อนด้วยอุจจาระ เนื่องจากพบมากที่สุดในลำไส้ใหญ่ของคนทุกคน (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2539) *E. coli* เป็นแบคทีเรียที่สำคัญที่สุดในสกุลนี้ซึ่งสามารถทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารและโรคในระบบทางเดินปัสสาวะ (สุวณี และ มาลัย, 2536)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

สกุล *Pseudomonas* จัดอยู่ในแบคทีเรียพวกแกรมลบ เจริญเติบโตแบบใช้อากาศ รูปร่างเป็นแท่งหรือกลม จัดอยู่ในวงศ์ Pseudomonadaceae ลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวเส้นตรง โค้งเล็กน้อยแต่ไม่เป็นเกลียว โดยทั่วไปมีขนาดกว้าง 0.5 ถึง 1 ไมครอน ยาว 1.5 ถึง 4 ไมครอน เคลื่อนที่โดยใช้ โพลาร์แฟลกเจลลา (polar flagella) แบบโมโนไตรเชียส (monotrichous) ไม่สร้างปลอกหรือก้าน ไม่มีระยะพักตัว ติดสีแกรมลบ มีการดำรงชีวิตแบบเคโมออแกโนโทรป (chemooganotroph) กระบวนการเมแทบอลิซึมไม่มีการหมักเกิดขึ้น บางชนิดสามารถใช้ก๊าซไฮโดรเจนหรือคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นแหล่งพลังงานได้ ใช้อากาศ เป็นตัวรับอิเล็กตรอน บางชนิดเป็นพวก denitrify คือ ใช้ไนเตรทเป็นตัวรับอิเล็กตรอน ค่า G+C content ของ DNA 58 ถึง 70 โมลเปอร์เซ็นต์ (ดวงพร, 2537)

สมาชิกสกุลนี้พบได้ทั่วไปในดิน น้ำจืด น้ำทะเล ที่มีการย่อยสลายสารอนินทรีย์บางชนิด เป็นสาเหตุของโรคพืช ส่วนใหญ่ต้องการอาหารอย่างง่ายๆ ทุกชนิดสามารถใช้แอซีเตท (acetate) เป็นอาหารหลักได้ บางชนิดสร้างรงควัตถุเรืองแสงที่ละลายน้ำได้ โดยเฉพาะในอาหารที่ขาดธาตุเหล็ก สีของรงควัตถุที่สร้างใช้ในการจัดแบ่งเป็นชนิดและสายพันธุ์ได้ บางชนิดสร้างแคโรทีนอยด์ สมาชิกของสกุลนี้เจริญได้ตั้งแต่อุณหภูมิ 4 ถึง 43 องศาเซลเซียส แต่ส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่พีเอชเป็นกลางหรือด่าง (7.0 ถึง 8.5) ส่วนที่แยกจากน้ำทะเลต้องการโซเดียมคลอไรด์เพื่อการเจริญเติบโตอย่างน้อยที่สุด 1 เปอร์เซ็นต์ (ดวงพร, 2537) *Pseudomonas* sp. หลายชนิดเป็นพาหะของโรคในคนและสัตว์ บางชนิดทำให้อาหารเน่าเสีย *P. mellei* ทำให้เกิดโรคแกลั่นเดอซ์ (glanders) และฟาซี (farcy) ซึ่งเป็นโรคในม้าและลาสามารถติดต่อถึงคนได้ *P. pseudomallei* ทำให้เกิดโรคเม็ลลิออยโดซีส (melioidosis)ในคนและสัตว์ (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2539)

Pseudomonas aeruginosa เป็นแบคทีเรียไม่มีสปอร์และเคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่ปลายเซลล์ ชอบอากาศ ชอบเจริญในที่ชื้น สามารถอาศัยอยู่ในน้ำได้นานถึง 300 วันแม้แต่ในน้ำกลั่น ทั้งนี้เพราะสามารถใช้แอซีเตท หรือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากอากาศ เป็นแหล่งคาร์บอนและแอมโมเนียเป็นแหล่งไนโตรเจน *Pseudomonas aeruginosa* เป็นแบคทีเรียที่มีความอันตรายสูงและให้สารพิษต่างๆ มากมาย เช่น exotoxin endotoxin และ enterotoxin นอกจากนี้ยังให้สารเคมีและน้ำย่อยต่างๆ ได้แก่ พวก hexolysin fibrinolysin DNase lipase และอื่นๆ ซึ่งมีคุณสมบัติทนต่อสภาพแวดล้อมทั่วๆ ไป ทำให้ง่ายที่จะปะปนกับอุปกรณ์ทางการแพทย์ต่างๆ ซึ่งทำให้เกิดการติดเชื้อภายในรุนแรงจนถึงแก่ชีวิตได้ หรืออาจเกิดการปนเปื้อนในผู้ป่วยไฟไหม้น้ำร้อนลวกได้ (นันทนา, 2537)

สกุล *Salmonella* รูปร่างเป็นแท่ง ส่วนมากจะใช้เพอริไตรเชียส แฟลกเจลลา ในการเคลื่อนที่อาจเกิดพวกผ่าเหล่าที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ และมี 1 type ของ *S. gallinarum* และ *S. pullorum* ที่ไม่เคลื่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

43968

ที่สามารถใช้ซิเตรทเป็นแหล่งคาร์บอน ส่วนใหญ่เจริญเติบโตแบบใช้อากาศ ไม่สร้างเอนไซม์ดีเอ็นเอส (DNase) และไลเปส (lipase) มีค่า G+C content ของ DNA ใกล้เคียง *Escherichia coli* คือ 50 ถึง 53 โมลเปอร์เซ็นต์ (ดวงพร, 2537) เป็นสาเหตุของโรคในคนและสัตว์ได้เช่น *S. typhi* ก่อให้เกิดโรคเฉพาะในคนเท่านั้น โดยโรคที่เกิดขึ้นมี Enteric fever (typhoid และ paratyphoid) โรคทางเดินอาหารอักเสบเฉียบพลัน การติดเชื้อในกระแสโลหิต และการติดเชื้อในอวัยวะภายในเฉพาะที่ (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2539)

สกุล *Staphylococcus* รูปร่างเซลล์กลม พบอยู่เดี่ยวๆ หรือเป็นคู่สอง (pairs) หรือเป็นคู่สี่ (tetrad) และเนื่องจากมีการแบ่งตัวมากกว่าหนึ่งระนาบทำให้พบอยู่เป็นกลุ่มๆ คล้ายพวงองุ่น ไม่เคลื่อนที่ ไม่มีระยะฟักตัว ติดสีแกรมบวก ดำรงชีวิตแบบเคโมออแกโนโทรป (chemoorganotroph) เมแทบอลิซึมเป็นทั้งแบบใช้อากาศและแบบใช้การหมัก มีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน อาจใช้คาร์โบไฮเดรตได้หลายชนิดโดยเฉพาะในสภาพที่มีอากาศ ซึ่งภายใต้สภาพที่ไม่มีอากาศจะสร้างกรดแต่ไม่สร้างแก๊สและเมื่อใช้กลูโคสจะได้กรดแลกติกเป็นส่วนใหญ่ ขณะที่มีอากาศจะได้กรดแอซีติกเป็นส่วนใหญ่และคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาณเล็กน้อย (ดวงพร, 2537) *Staphylococcus* sp. บางสายพันธุ์เป็นโทษต่อมนุษย์ เช่น *S. saprophyticus* เป็นสาเหตุของโรคทางเดินปัสสาวะอักเสบ *S. epidermidis* อาจทำให้เกิดโรคได้ในบางครั้ง เป็นต้น (นันทนา, 2537)

Staphylococcus aureus เป็นเชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์โคแอคกูเลส (coagulase) มีความสำคัญทางการแพทย์มาก สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อกับทุกๆ บริเวณของร่างกาย การติดเชื้อที่ผิวหนังสามารถทำให้ติดเชื้ออย่างอ่อนจนถึงขั้นรุนแรง รวมทั้งทำให้เกิดหนอง และการติดเชื้อในกระแสเลือดรุนแรง เป็นต้น การติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อในกลุ่ม Staphylococci เรียกว่า Scalded-skin syndrome โดย *S. aureus* อาจก่อให้เกิดโรคต่างๆ มากมาย เช่น ลิ้นหัวใจอักเสบ ปอดอักเสบ เป็นต้น นอกจากนี้ *S. aureus* บางสายพันธุ์ก่อให้เกิดอาหารเป็นพิษ (food poisoning) (นันทนา, 2537)

สกุล *Streptococcus* เซลล์มีรูปร่างทรงกลม หรือป้อม พบอยู่เป็นคู่ๆ หรือเป็นลูกโซ่ มีบางพวกที่เคลื่อนที่ได้ ติดสีแกรมบวก ดำรงชีวิตแบบเคโมออแกโนโทรป (chemoorganotroph) กระบวนการเมแทบอลิซึมเป็นแบบไม่ใช้อากาศ การหมักน้ำตาลกลูโคสจะเกิดกรดแลคติก เป็นแบบโฮโมออแกโนโทรป (homoorganotroph) บางชนิดสามารถผลิตกรดอินทรีย์ เช่น มาลิก และซิตริก หรือกรดอะมิโน เช่น เซรีน และอาร์จินีนได้ การเจริญในอาหารเหลวไม่พบลักษณะเป็นฝาบางๆ บริเวณผิว (pellicle) ไม่มีสารประกอบพวกฮีม สามารถดำรงค์ชีวิตได้ทั้งในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ เจริญได้ไม่ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา แต่เจริญได้ดีในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่าปกติและบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเลือดหรือซีรั่มผสมอยู่ และต้องการอาหารที่ซับซ้อน เช่น กรดอะมิโน เพียวรีน ไพริมิดีน เปปไทด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิตามิน และบางครั้งต้องการกรดไขมันและสถานที่ที่มีไนไตรท (NO_2) มาก แต่มีชนิดหนึ่งคือ *S. bovis* ต้องการเพียงกลูโคส แอมโมเนีย (NH_3) และเกลืออินทรีย์สำหรับการเจริญ อุณหภูมิที่เหมาะแก่การเจริญ 37 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิต่ำสุดและสูงสุดที่สามารถเจริญได้แปรผันตามชนิด ค่า G+C content ของ DNA เท่ากับ 50 ถึง 50 โมลเปอร์เซ็นต์ (ดวงพร, 2537) พบว่าแบคทีเรียสกุลนี้ส่วนใหญ่เป็นปรสิตต่อคนและสัตว์ หลายชนิดทำให้เกิดโรค ตัวอย่างเช่น *S. pyogenes* มีความสำคัญมากทางคลีนิก สามารถทำให้เกิดอาการเจ็บคอจากเชื้อสเตรปโตค็อกคัส (Streptococcus sore throat) ไข้ดำแดง (scarlet fever) ไฟลามทุ่ง (erysipelas) กรวยไตอักเสบเฉียบพลัน (acute glomerulonephritis) ไข้รูมาติค (rheumatic fever) และการติดเชื้ออื่นๆ *S. mutans* อยู่ในช่องปากคนเป็นสาเหตุสำคัญของโรคฟันผุ *S. pheumoniae* อาจเรียกนิวโมค็อกคัส (pheumococous) ทำให้เกิดโรคต่างๆ ได้ เช่น ปอดบวม ไซนัสอักเสบ หูชั้นกลางอักเสบ และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ เป็นต้น (นงลักษณ์ และ ปรีชา, 2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

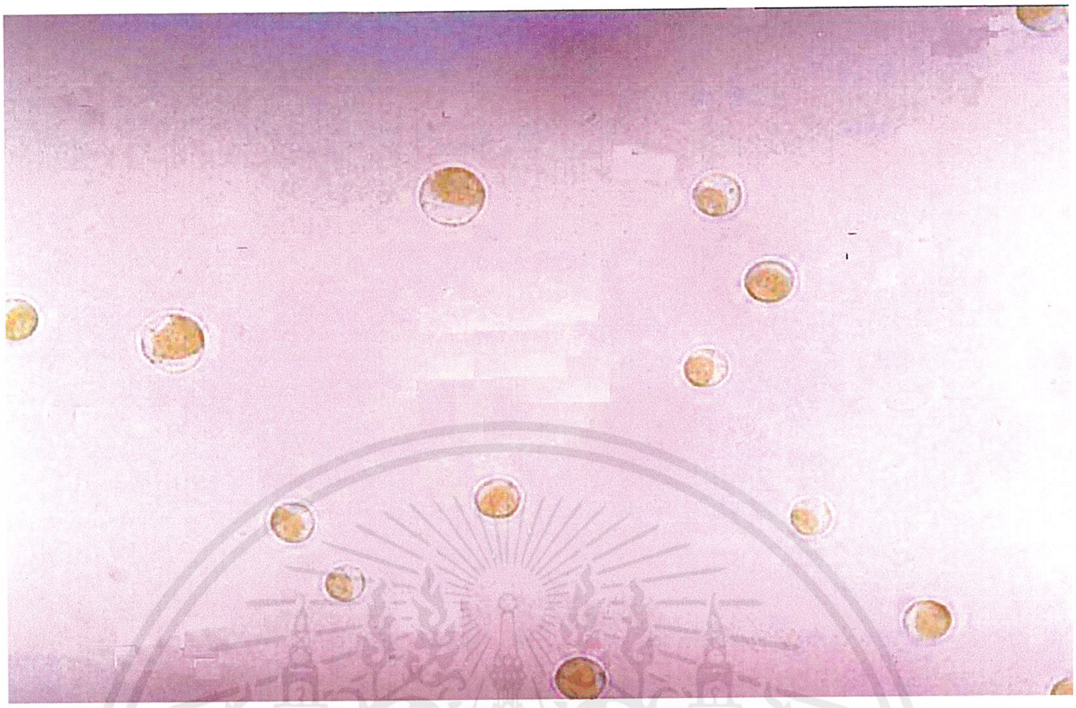
บทที่3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

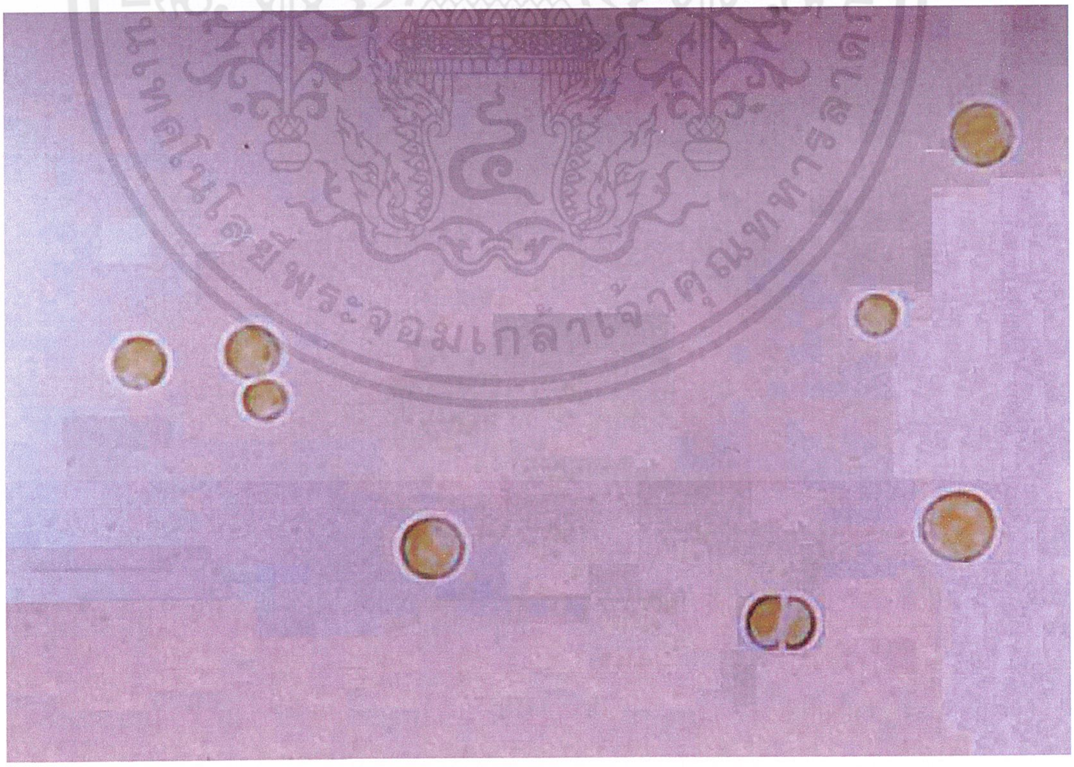
อุปกรณ์

1. เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter รุ่น HM-7E)
2. เครื่องเขย่า (shaker : GALLENKAMP รุ่น SG 93)
3. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer : HACH รุ่น DR/4000 V)
4. ชุดเลี้ยงสาหร่ายแบบให้อากาศ
5. เครื่องชั่งน้ำหนักแบบละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius Analytic รุ่น DR/4000 V)
6. หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave : LMS รุ่น VS-1321-60)
7. กล้องจุลทรรศน์
8. ตู้เขี่ยเชื้อแบบลมเป่า (laminar air flow : FASTER รุ่น Bio 48)
9. กรวยแยก
10. เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge : SANYO รุ่น falcon 6/300)
11. เครื่องระเหยแห้งแบบลดความดัน (rotary evaporator : BUCHI รุ่น B-461)
12. เครื่องทำให้เซลล์แห้งที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส (freeze-dryer : LABCONCO รุ่น 77535)
13. ตู้อบเครื่องแก้ว (hot air oven)
14. สารเคมีสำหรับเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวซึ่งเป็น analytical grade
15. อาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (nutrient agar) และ ทริปติกซอยบรอท (tryptic soy broth)
16. เครื่องทำให้เซลล์แตกด้วยคลื่นเสียง (sonics vibra cell รุ่น VCX 500)
17. แผ่นทดสอบ (blank paper discs ของ Becton Dickinson)
18. สาหร่าย *Chlorella* จากห้องปฏิบัติการสาหร่ายของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. A0505 (รูปที่ 3.1) *Chlorella* sp. D1708 (รูปที่ 3.2) และ *Chlorella* sp. E1708 (รูปที่ 3.3) และสาหร่าย *Chlorella* จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 2 สายพันธุ์ คือ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 (รูปที่ 3.4) และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 (รูปที่ 3.5)
19. เชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคจำนวน 6 สายพันธุ์ มีรายชื่อดังนี้ *Bacillus subtilis* *Escherichia coli* ATCC 25922 *Pseudomonas aeruginosa* *Salmonella* sp. *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus pyogenes* DMST Number 4369

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

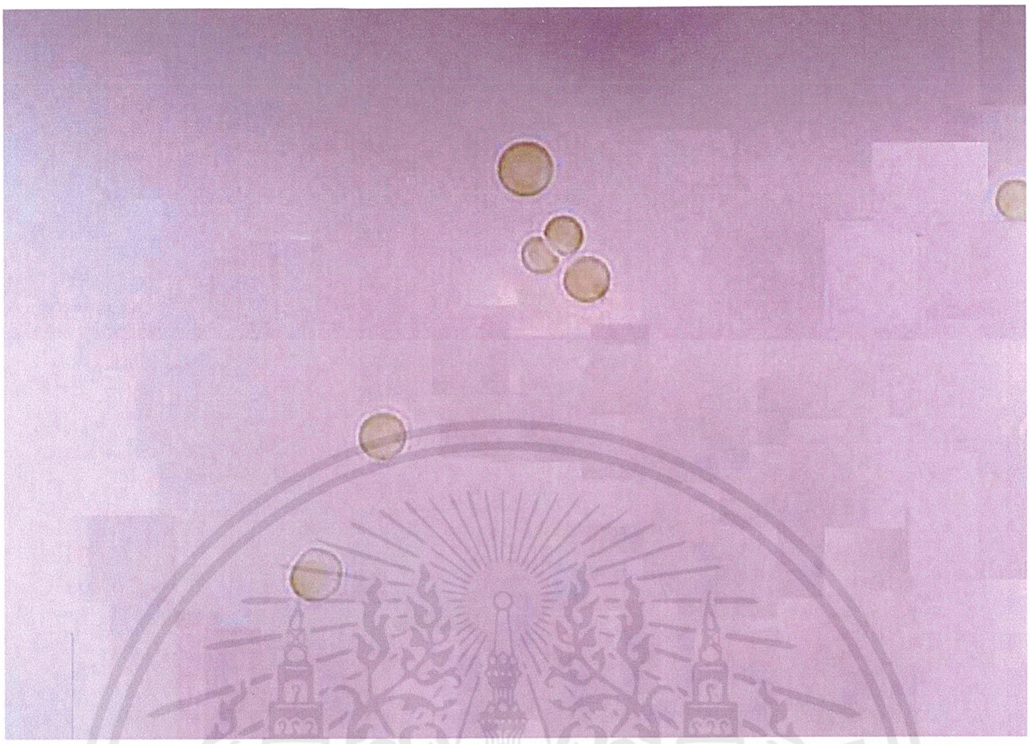


รูปที่ 3.1 *Chlorella* sp. A 0505 (× 100)



รูปที่ 3.2 *Chlorella* sp. D 1708 (× 100)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.3 *Chlorella* sp. E 1708 (× 100)

รูปที่ 3.4 *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 (× 100)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3.5 *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 (× 100)

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย *Chlorella* sp.

นำสาหร่าย *Chlorella* ทั้ง 5 สายพันธุ์ในหลอดอาหารเอียง (รูปที่ 3.6) มาเตรียมเป็นหัวเชื้อ โดยใช้สาหร่าย 1 หลอดอาหารเอียงสำหรับเตรียมหัวเชื้อในอาหารเหลวสูตร N-8 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็ว 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้แสงฟลูออเรสเซ็นต์ที่ความเข้มแสง 2,400 ลักซ์ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง เป็นเวลา 15 วัน

2. การเพาะเลี้ยงและการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp.

นำหัวเชื้อสาหร่าย *Chlorella* แต่ละสายพันธุ์ (รูปที่ 3.7) มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร N-8 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร บรรจุในหลอดเพาะเลี้ยง (culture tube) ขนาด 300 มิลลิลิตร ให้อากาศโดยเครื่องให้อากาศ (air pump) (รูปที่ 3.8) ภายใต้แสงฟลูออเรสเซ็นต์ที่ความเข้มแสง 2,400 ลักซ์ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 3,600 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp.

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* ทำโดยนำตัวอย่างสาหร่ายที่สะอาดมาเติมน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก จากนั้นนำไปทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องทำให้เซลล์แตกด้วยคลื่นเสียง (sonics vibra cell) (รูปที่ 3.9) จนกระทั่งเซลล์แตกเป็นเนื้อเดียวกัน จึงนำไปหาน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยใช้เครื่องทำให้เซลล์แห้งที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย อันประกอบด้วย น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ เมทานอล คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ต่อ 1 โดยเทียบเป็นมิลลิลิตรของสารละลายต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง นำสารละลายที่ได้มาใส่กรวยแยก (รูปที่ 3.10) แล้วตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายแยกชั้น จะสังเกตพบว่าภายในกรวยแยกสารละลายจะแบ่งออกเป็น 3 ชั้น โดยชั้นที่เราต้องการคือชั้นล่างสุด ซึ่งมีลักษณะเป็นสารละลายสีดำที่เป็นชั้นของคลอโรฟอร์ม จากนั้นแยกส่วนที่เป็นชั้นคลอโรฟอร์มมาระเหยแห้งแบบลดความดันด้วยเครื่อง rotary evaporator (รูปที่ 3.11) ที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ภายใต้อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จนสารสกัดแห้ง นำสารสกัดดังกล่าวมาชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำสารสกัดมาทำละลายในเมทานอล โดยใช้อัตราส่วนสารสกัด 5 มิลลิกรัมต่อเมทานอล 100 ไมโครลิตร

4. การทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

4.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ NA และ ทริปติคซอยบรอท ใส่ในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้จนอาหารแข็ง จากนั้นเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ โดยเจือจางในน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ให้ได้ OD 0.3 จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้ด้วยวิธี spread plate โดยเชื้อ *Bacillus subtilis* *Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa* *Salmonella* sp. และ *Staphylococcus aureus* ทำบนอาหาร NA และเชื้อ *Streptococcus pyogenes* เลี้ยงบนอาหารทริปติคซอยบรอท ทิ้งไว้จนสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียซึมลงเนื้อวุ้นจนแห้ง

4.2 การเตรียมแผ่นทดสอบ

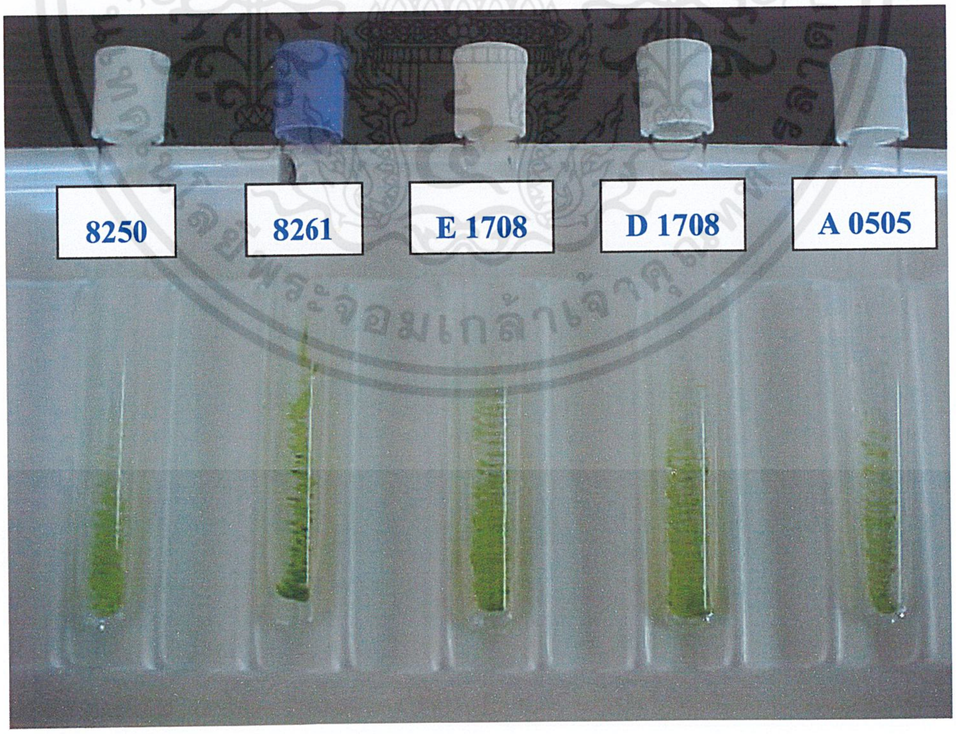
นำสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* แต่ละสายพันธุ์ที่ทำละลายในเมทานอล โดยใช้อัตราส่วนสารสกัด 5 มิลลิกรัมต่อเมทานอล 100 ไมโครลิตร มาเตรียมแผ่นทดสอบ 4 ความเข้มข้น คือ 4 3 2 และ 1 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ โดยใช้ปริมาตรสารละลาย 80 60 40 และ 20 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ ตามลำดับ (รูปที่ 3.12) โดยสารสกัดจากสาหร่าย 1 สายพันธุ์ นำมาทำแผ่นทดสอบความเข้มข้นละ 30 แผ่น ส่วนการเตรียมแผ่นทดสอบที่เป็นตัวควบคุม (control) ให้เตรียมทั้งหมด 24 แผ่นสำหรับเชื้อแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ โดยหยดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้ได้ปริมาตรสารละลาย 80 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ ซึ่งเทียบเท่ากับปริมาตรสารละลายที่ใช้เตรียมแผ่นสารสกัดความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

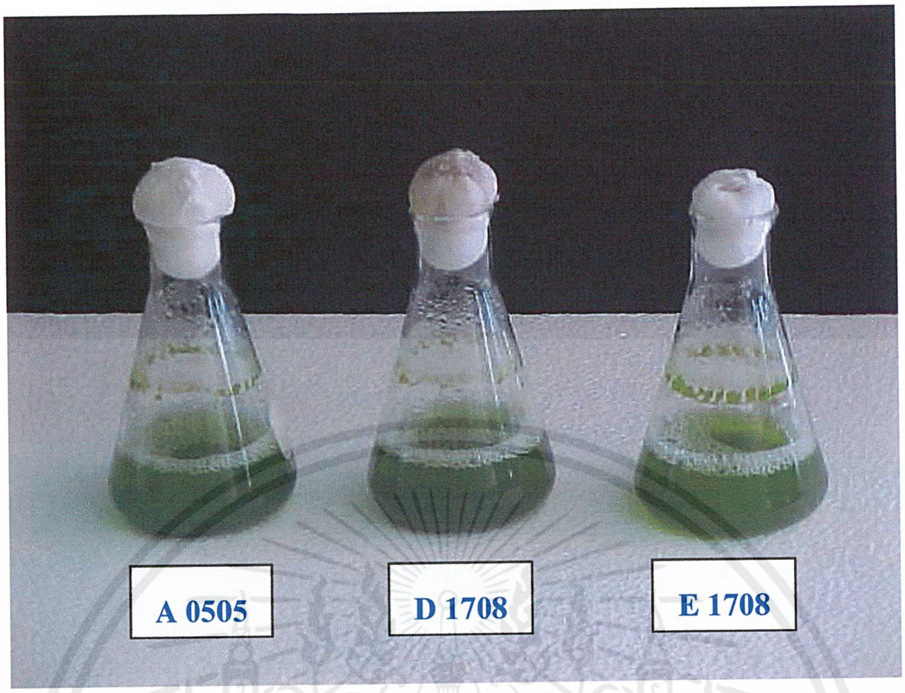
4.3 การทดสอบสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella*

นำแผ่นทดสอบซึ่งหยดสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* วางลงบนผิวหน้าอาหารวุ้นที่ทำการ spread plate เชื้อแบคทีเรียที่ทิ้งไว้จนแห้ง โดยจานเลี้ยงเชื้อ 1 จาน วางแผ่นทดสอบ 4 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 1 แผ่น ทำการทดสอบสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* แต่ละสายพันธุ์กับเชื้อแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นชนิดเดียวกันกับที่กล่าวไว้ในหัวข้ออุปกรณ์การทดลอง ทดสอบเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ละ 5 ซ้ำส่วนแผ่นทดสอบที่เป็นตัวควบคุมให้ทำการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์เช่นเดียวกัน แต่ทดสอบสายพันธุ์ละ 1 ซ้ำ โดยทำการทดสอบเป็นชุด ชุดละ 4 แผ่น ต่อ 1 จานเลี้ยงเชื้อ สำหรับเชื้อแบคทีเรีย 1 สายพันธุ์ ส่วนการวางแผ่นทดสอบ ให้วางแผ่นทดสอบ 2 แผ่นแรก ที่ตำแหน่งตรงกันข้ามตามแนวเส้นผ่านศูนย์กลางและวางแผ่นทดสอบอีก 2 แผ่นที่เหลือ แบบตรงกันข้ามตามแนวจุดศูนย์กลางตั้งฉากกับแนวเดิม เมื่อวางเสร็จให้นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจดูผลโดยวัดขนาดของโซนใส



รูปที่ 3.6 สาหร่าย *Chlorella* ในหลอดอาหารเอียง

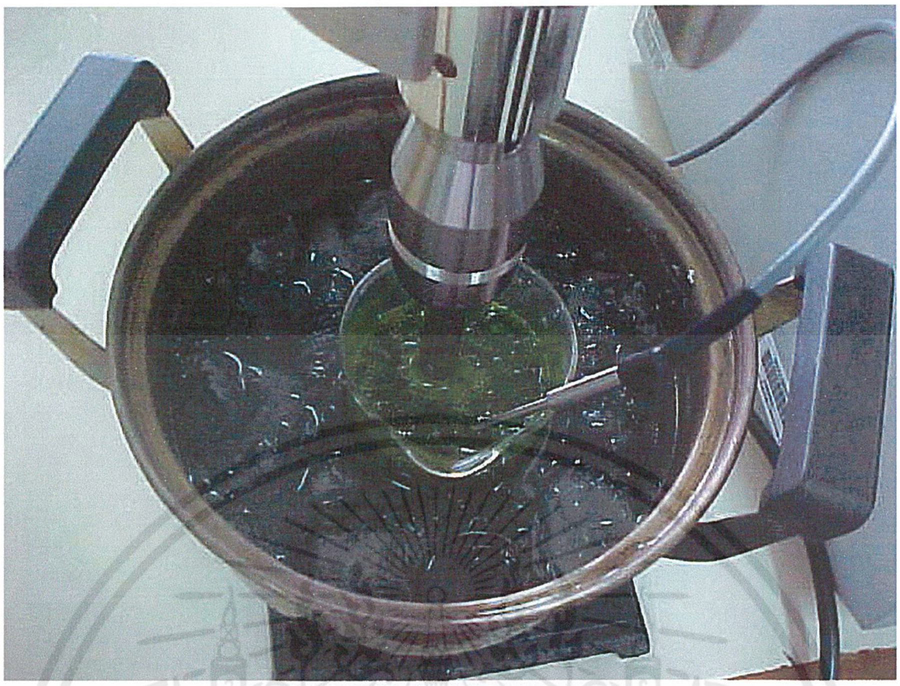
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.7 สาหร่าย *Chlorella* ในขวดรูปชมพู่

รูปที่ 3.8 สาหร่าย *Chlorella* ในหลอดเลี้ยงสาหร่ายแบบให้อากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.9 การทำให้เซลล์แตกโดยเครื่อง sonics vibra cell

รูปที่ 3.10 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* โดยกรวยแยก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3.11 สารสกัดจากสาหร่ายนำมาทำให้แห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator

รูปที่ 3.12 เตรียมแผ่นทดสอบจากสารสกัดที่ได้จากสาหร่าย *Chlorella*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการเปรียบเทียบอัตราส่วนน้ำหนักแห้งของสารสกัดที่ได้จาก *Chlorella* sp. แต่ละสายพันธุ์

ทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. A 0505 *Chlorella* sp. D 1708 *Chlorella* sp. E 1708 *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 เมื่อนำมาคำนวณหาอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อน้ำหนักเซลล์สาหร่ายแห้ง พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 มีอัตราส่วนของสารสกัดต่อน้ำหนักเซลล์แห้งสูงที่สุด คือ 0.24 กรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ในขณะที่สาหร่าย *Chlorella* sp. E 1708 *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 *Chlorella* sp. D 1708 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 มีอัตราส่วนของน้ำหนักสารสกัด คือ 0.21 0.12 0.11 0.06 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1)

จากการทดลองพบว่า สาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 เมื่อทำการสกัด ให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพปริมาณ 1.16 กรัม ต่อเซลล์แขวนลอย 3 ลิตร คิดเป็นปริมาณสารสกัด 0.39 กรัมต่อเซลล์แขวนลอย 1 ลิตร มากกว่าปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ซึ่ง Pratt และคณะ (1944) ทำการสกัด โดยใช้คลอโรฟอร์ม หรือ เบนซิน ซึ่งสามารถสกัดได้ 1 - 8 มิลลิกรัม ต่อเซลล์แขวนลอย 1 ลิตร ซึ่งอาจจะเป็นเพราะการใช้สารละลายที่ประกอบด้วย น้ำ เมทานอล และคลอโรฟอร์มในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ต่อ 1 ซึ่งมีความสามารถในการสกัดได้ดี และเหมาะสมต่อการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ทั้งนี้ สารอาหาร สภาพแวดล้อม และสายพันธุ์สาหร่ายที่แตกต่างกัน อาจเป็นผลให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้ มีปริมาณที่แตกต่างกันได้อีกด้วย

2. ผลการเปรียบเทียบความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

นำสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ทั้ง 5 สายพันธุ์ มาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* *Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa* *Salmonella* sp. *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus pyogenes* จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* ทั้ง 5 สายพันธุ์สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ ซึ่งสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด คือ สารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 โดยยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. pyogenes* และเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงน้ำหนักสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่าย *Chlorella* sp. เทียบกับน้ำหนักเซลล์แห้ง

สายพันธุ์สาหร่าย	น้ำหนักสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (กรัม)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัม)	อัตราส่วนของน้ำหนักสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง)
Chlorella sp. A 0505	1.16	4.82	0.24
Chlorella sp. D 1708	0.35	3.25	0.11
Chlorella sp. E 1708	1.80	8.78	0.21
Chlorella vulgaris TISTR 8261	0.26	4.45	0.06
Chlorella vulgaris TISTR 8580	0.24	1.98	0.12

คือ มีขนาดโซนใส 29.1 และ 17.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7) แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* *E. coli* *P. aeroginosa* และ *Salmonella* sp. ได้ (ตารางที่ 4.6)

ส่วนสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 *Chlorella* sp. D 1708 และ *Chlorella* sp. E 1708 ทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ 3 ชนิดเหมือนกัน ได้แก่ *S. pyogenes* *S. aureus* และ *P. aeruginosa* โดยที่ความเข้มข้นของสารสกัด 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ สารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. E 1708 ให้ผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด คือ มีขนาดโซนใส 27.4 10.8 และ 9.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4 และ 4.7) และพบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. D 1708 จะสามารถยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes* *P. aeruginosa* และ *S. aureus* เมื่อใช้ปริมาณสารสกัด 3 หรือ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ โดยที่ความเข้มข้นของสารสกัด 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบให้ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้ดีกว่า 3 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ คือ มีขนาดโซนใสเท่ากับ 20.0 11.2 และ 8.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) ส่วนสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากสาหร่าย 5 สายพันธุ์ โดยสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 สามารถยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes* *P. aeruginosa* และ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นสารสกัด 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ มีขนาดโซนใสเท่ากับ 23.5 18.4 และ 7.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการทดสอบสารสกัดจากสาหร่ายสายพันธุ์สุดท้าย คือ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes* *S. aureus* และเป็นสารสกัดจากสาหร่ายเพียงสายพันธุ์เดียวในการทดลองนี้ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ได้ โดยที่ปริมาณสารสกัด 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ มีขนาดโซนใสเท่ากับ 28.4 17.4 และ 8.1 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5 และ 4.7)

จากการทดสอบสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 5 สายพันธุ์ พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ 4 ชนิด คือ เชื้อ *B. subtilis* *P. aeroginosa* *S. aureus* และ *S. pyogenes* ได้ โดยสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และ *S. pyogenes* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นสารสกัด 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ คือ มีขนาดโซนใสเท่ากับ 29.1 และ 17.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดจากสาหร่ายที่ยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นสารสกัด 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ มีขนาดโซนใสเท่ากับ 18.4 มิลลิเมตร คือ สารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 ส่วนเชื้อ *B. subtilis* นั้นถูกยับยั้งได้โดยสารสกัดจากสาหร่ายเพียงสายพันธุ์เดียวในการทดลองนี้ คือ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ความเข้มข้นสารสกัด 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ มีขนาดโซนใสเท่ากับ 8.1 มิลลิเมตร แต่ไม่มีสาหร่ายสายพันธุ์ใดเลยในการทดลองนี้ที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ครบทั้ง 4 ชนิด และมีเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด ในการทดลองนี้ที่สารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 5 สายพันธุ์ ไม่เกิดผลยับยั้ง คือ *E. coli* และ *Salmonella* sp. (ตารางที่ 4.7) ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจาก สายพันธุ์ของสาหร่าย วิธีการและสารละลายที่ใช้ในการสกัดแตกต่างกัน โดย Pratt และคณะ (1944) พบว่าสาหร่าย *Chlorella vulgaris* และ *Chlorella pyrenoidosa* นั้นสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เรียกว่า Chlorellin ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus subtilis* *Bacterium coli* *Staphylococcus aureus* *Streptococus pyogenes* และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยที่ความเข้มข้นสารสกัด 0.1 มิลลิกรัม สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ทำให้เกิดโซนใสขนาด 18 ถึง 35 มิลลิเมตร และพบว่าเชื้อ *B. subtilis* ถูกยับยั้งได้ดีกว่า *S. aureus* ส่วนเชื้อ *P. aeruginosa* นั้นมีผลยับยั้งเพียงเล็กน้อยเท่านั้น โดย Pratt และคณะ (1944) ทำการสกัด Chlorellin โดยใช้คลอโรฟอร์ม หรือ เบนซิน แต่ในการทดลองนี้ใช้สารละลายอันประกอบด้วย น้ำ เมทานอล คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ต่อ 1 เป็นตัวสกัด ซึ่ง Vlachos และคณะ (1997) ได้สกัดโดยทำการต้มผงสาหร่ายแห้งในเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง โดยสาหร่ายที่ใช้ในการทดลองเป็นสาหร่ายขนาดใหญ่ 3 กลุ่ม คือ สาหร่ายสีน้ำตาล (Phaeophyta) สาหร่ายสีแดง (Rhodophyta) และสาหร่ายสีเขียว (Chlorophyta) โดยเมื่อได้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพแล้วนำมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ คือ แบคทีเรียแกรมบวก *Bacillus subtilis* EL 39 *Leuconostoc mesenteroides* TA 10c *Listeria monocytogenes* *Listeria innocua* *Micrococcus* sp. *Staphylococcus aureus* แบคทีเรียแกรมลบ *Acinetobacter lwoffii*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Enterobacter sp. *Escherichia coli* *Pseudomonas fluorescens* *Salmonella enteritidis* *Serratia* sp. ราและยีสต์ *Aspergillus* sp. *Penicillium* sp. *Candida albicans* *Saccharomyces cerevisiae* พบว่ากลุ่มสาหร่ายสีน้ำตาลมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุด รองลงมาคือสาหร่ายสีแดง และสาหร่ายสีเขียวมีผลในการยับยั้งน้อยที่สุด สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายทั้ง 3 กลุ่ม จะสร้างบริเวณโซนใสที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ขึ้นมา ในการทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกับเชื้อ *Bacillus subtilis* EL 39 จะเกิดโซนใสที่ยับยั้งการเจริญเป็นวงขนาดใหญ่ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 25 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกสายพันธุ์อื่น ซึ่งจะเกิดบริเวณยับยั้งขนาดเล็กกว่า คือ มีขนาดโซนใส 10-15 มิลลิเมตร สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายสีน้ำตาลที่ใช้ทดสอบทั้งหมด สามารถที่จะยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและราทุกสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดสอบ โดยเฉพาะสาหร่ายสีน้ำตาล *Zonaria subarticulata* จะสร้างบริเวณโซนใสยับยั้งขนาดใหญ่มากกว่า 10 มิลลิเมตร สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายสีแดง จะมีผลยับยั้งการเจริญของพวกแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าพวกเชื้อรา ยีสต์ และพวกแบคทีเรียแกรมลบ โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีแดง *Carradoriella virgata* จะสร้างบริเวณยับยั้งที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในสาหร่ายกลุ่มนี้ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายสีเขียว จะมีผลยับยั้งการเจริญของพวกเชื้อจุลินทรีย์ได้น้อยที่สุดในสาหร่ายทั้ง 3 กลุ่มที่ใช้ทดสอบ โดยมีแนวโน้มในการยับยั้งคล้ายกับสาหร่ายสีแดง และพบว่าความแตกต่างของสายพันธุ์ในสกุล *Codium* จะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และยังมีรายงานของ Chang และคณะ (1993) ที่ทำการคัดแยกสาหร่ายและนำมาสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จำนวน 84 สายพันธุ์ ซึ่งนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli* และแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* โดยเมื่อใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้ 40 ไมโครลิตร จะเกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียขึ้นรอบๆ แผ่นทดสอบ โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายทั้ง 24 สายพันธุ์ ไม่มีผลต่อเชื้อ *E. coli* แต่จะมีผลต่อเชื้อ *S. aureus* ถึง 7 สายพันธุ์ ซึ่งสาหร่ายที่สามารถยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้ คือ *Dunaliella bioculate* C-523 *D. primolecta* C-525 *Chlorococcum* sp. HS-101 *Chlorella* sp. HS-110 *Synechococus* sp. HS-364 และ *Phorphyridium* sp. HS-366 ซึ่งสาหร่าย *Dunaliella primolecta* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้สูงสุด โดยจะยับยั้งเชื้อ S. *aureus* *Bacillus subtilis* *B. cereus* และ *Enterobacter aerogenes* จากแบคทีเรียทั้งหมด 8 สายพันธุ์ แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Cladosporium cladospoides* *Penicillium funculosum* *Paecilomyces vario* และ *Aspergillus niger* เมื่อนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ จากสาหร่าย *Chlorella* sp. 3 สายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือ *Chlorella* sp. A 0505 *Chlorella* sp. D 1708 และ *Chlorella* sp. E 1708 พบว่ามีสารสกัดจากสาหร่ายอย่างน้อย 2 สายพันธุ์ ให้ผลยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference Test) พบว่าผลการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. D 1708 และ *Chlorella* sp. E 1708 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนผลการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากสาหร่ายอีก 2 สายพันธุ์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตาราง ค-1 และ ค-2)

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ จากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. A 0505 *Chlorella* sp. D 1708 *Chlorella* sp. E 1708 *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 พบว่ามีสารสกัดจากสาหร่ายอย่างน้อย 2 สายพันธุ์ ให้ผลยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference Test) พบว่าการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 เปรียบเทียบกับการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. D 1708 และผลเปรียบเทียบการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 ให้ผลไม่แตกต่างกัน ส่วนการเปรียบเทียบผลการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่ายคู่ที่เหลือ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตาราง ค-3 และ ค-4)

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพปริมาณ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ จากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. A 0505 *Chlorella* sp. D 1708 *Chlorella* sp. E 1708 *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 พบว่ามีสารสกัดจากสาหร่ายอย่างน้อย 2 สายพันธุ์ ให้ผลยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference Test) พบว่าการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 เปรียบเทียบกับการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 ให้ผลไม่แตกต่างกัน และผลเปรียบเทียบการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. E 1708 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการเปรียบเทียบผลการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่ายคู่ที่เหลือ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตาราง ค-5 และ ค-6)

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ปริมาณ 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ พบว่ามีสารสกัดอย่างน้อย 2 ความเข้มข้น ให้ผลยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Test) พบว่าผลการยับยั้งของปริมาณสารสกัดทั้ง 3 ความเข้มข้น เมื่อเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ทั้งหมดได้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตาราง ค-7 และ ค-8)

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ พบว่ามีสารสกัดอย่างน้อย 2 ความเข้มข้น ให้ผลยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference Test) พบว่าการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 3 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ เปรียบเทียบกับการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบให้ผลไม่แตกต่างกัน ส่วนการเปรียบเทียบการยับยั้งของปริมาณสารสกัดในคู่ที่เหลือทั้งหมด พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตาราง ค-9 และ ค-10)

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ พบว่ามีสารสกัดอย่างน้อย 2 ความเข้มข้นให้ผลยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference Test) พบว่าการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ เปรียบเทียบกับการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 3 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ และผลเปรียบเทียบระหว่างการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ เปรียบเทียบกับการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ และผลการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 2 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ เปรียบเทียบกับ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ ให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่ผลการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 1 มิลลิกรัม เปรียบเทียบกับ 2 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ กับผลการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 2 มิลลิกรัม เปรียบเทียบกับ 3 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบพบว่าไม่แตกต่างกัน (ตาราง ค-11 และ ค-12)

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ พบว่ามีสารสกัดอย่างน้อย 2 ความเข้มข้นให้ผลยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference Test) พบว่าผลการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการเปรียบเทียบผลการยับยั้งของปริมาณสารสกัดในคู่ที่เหลือทั้งหมด พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตาราง ค-13 และ ค-14)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการนำสาหร่าย *Chlorella* sp. มาทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าสารสกัดจากสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เพียงน้อยชนิด ทั้งนี้อาจเนื่องจากความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำไปและเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดมีความไวต่อสารสกัดได้ต่างกัน นอกจากนั้นยังพบว่าสารละลายที่ใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ใช้ในการทดลองอาจไม่ใช่สารละลายที่สามารถสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้มีประสิทธิภาพสูงสุด อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้มีเชื้ออย่างน้อย 2 สายพันธุ์ ที่มีผลยับยั้งโดยสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 5 สายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ)	การเกิดโซนใส (มิลลิเมตร)					
	Bacillus subtilis	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Salmonella* sp.	*Staphylococcus aureus*	*Streptococcus pyogenes*
control	—	—	—	—	—	—
1	—	—	6.7	—	6.2	19.5
2	—	—	9.7	—	6.6	20.9
3	—	—	16.5	—	7.0	22.0
4	—	—	18.4	—	7.6	23.5

หมายเหตุ

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

control คือ น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ เมทานอล คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ต่อ 1 ความเข้มข้น 80 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. D 1708 ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ)	การเกิดโซนใส (มิลลิเมตร)					
	Bacillus subtilis	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Salmonella* sp.	*Staphylococcus aureus*	*Streptococcus pyogenes*
control	—	—	—	—	—	—
1	—	—	7.4	—	—	13.8
2	—	—	8.6	—	—	15.2
3	—	—	9.7	—	6.4	16.2
4	—	—	11.2	—	8.0	20.0

หมายเหตุ

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

control คือ น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ เมทานอล คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ต่อ 1 ความเข้มข้น 80 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. E 1708 ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ)	การเกิดโซนใส (มิลลิเมตร)					
	Bacillus subtilis	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Salmonella* sp.	*Staphylococcus aureus*	*Streptococcus pyogenes*
control	—	—	—	—	—	—
1	—	—	7.4	—	8.5	22.0
2	—	—	8.2	—	9.1	24.3
3	—	—	8.8	—	10.4	26.0
4	—	—	9.7	—	10.8	27.4

หมายเหตุ

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

control คือ น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ เมทานอล คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ต่อ 1 ความเข้มข้น 80 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ)	การเกิดโซนใส (มิลลิเมตร)					
	Bacillus subtilis	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Salmonella* sp.	*Staphylococcus aureus*	*Streptococcus pyogenes*
control	—	—	—	—	—	—
1	—	—	—	—	13.8	23.6
2	6.4	—	—	—	15.0	25.8
3	7.3	—	—	—	16.0	26.4
4	8.1	—	—	—	17.4	28.4

หมายเหตุ

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

control คือ น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ เมทานอล คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ต่อ 1 ความเข้มข้น 80 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ)	การเกิดโซนใส (มิลลิเมตร)					
	Bacillus subtilis	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Salmonella* sp.	*Staphylococcus aureus*	*Streptococcus pyogenes*
control	—	—	—	—	—	—
1	—	—	—	—	15.1	24.7
2	—	—	—	—	15.9	25.7
3	—	—	—	—	16.4	27.0
4	—	—	—	—	17.7	29.1

หมายเหตุ

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

control คือ น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ เมทานอล คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ต่อ 1 ความเข้มข้น 80 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 แสดงสายพันธุ์สาหร่ายที่มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นของสารสกัด 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

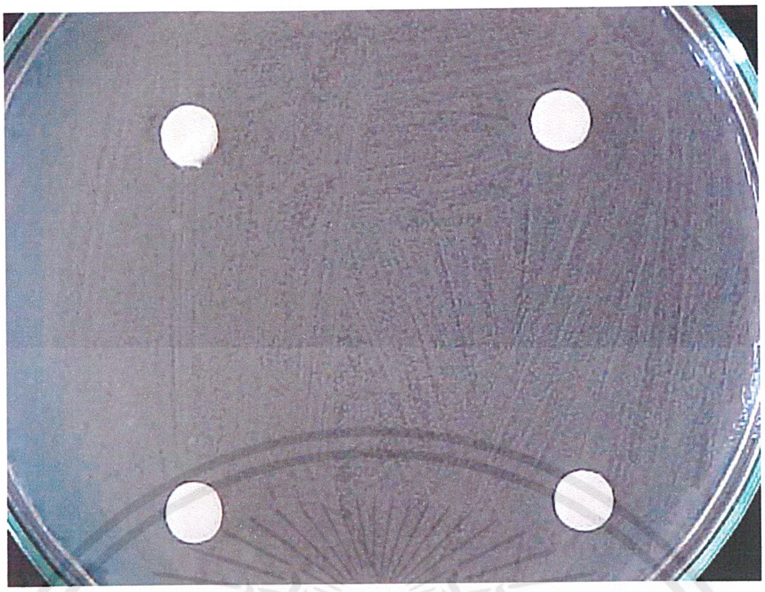
สายพันธุ์สาหร่าย	การเกิดโซนใส (มิลลิเมตร)					
	Bacillus subtilis	*Escherichia coli*	*Pseudomonas aeruginosa*	*Salmonella* sp.	*Staphylococcus aureus*	*Streptococcus pyogenes*
A 0505	—	—	18.4	—	7.6	23.5
D 1708	—	—	11.2	—	8.0	20.0
E 1708	—	—	9.7	—	10.8	27.4
C.vulgaris TISTR 8261	8.1	—	—	—	17.4	28.4
C.vulgarisTISTR 8580	—	—	—	—	17.7	29.1

หมายเหตุ

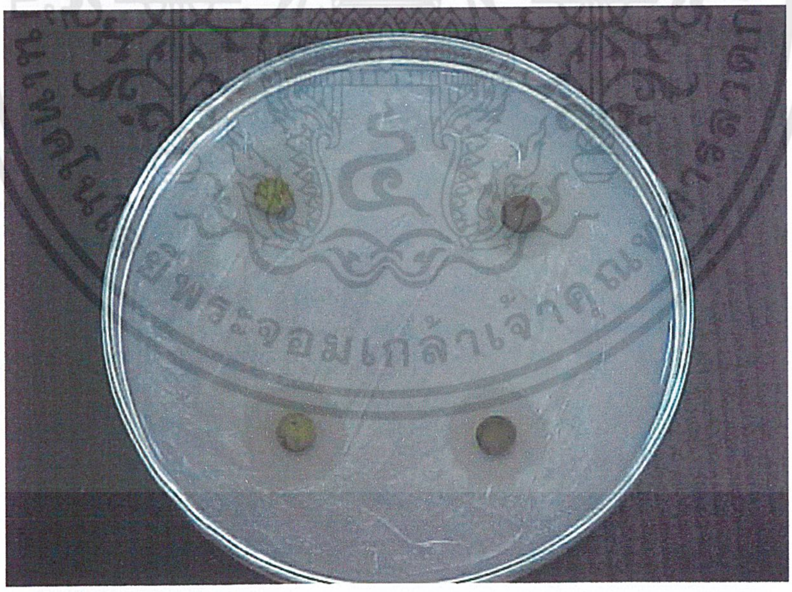
— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

control คือ น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ เมทานอล คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ต่อ 1 ความเข้มข้น 80 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

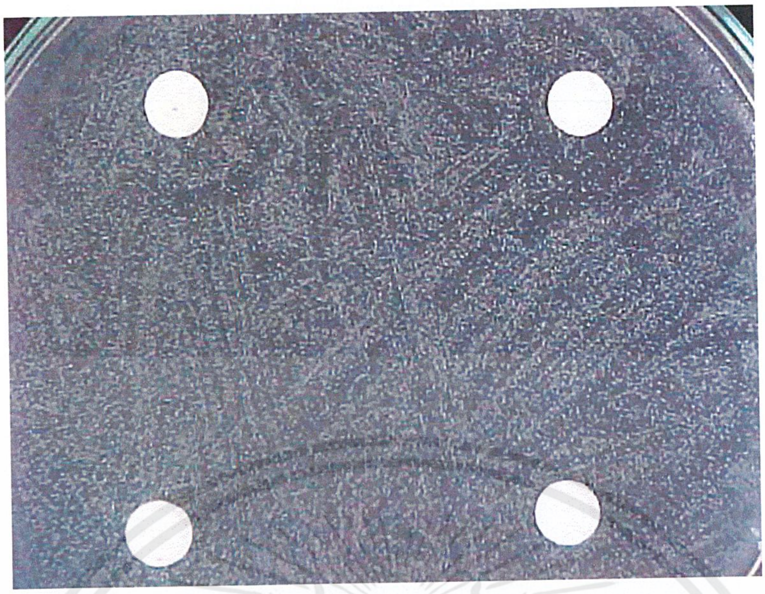


รูปที่ 4.1 ผลของแผ่นควบคุมจากสารละลาย น้ำ : เมทานอล : คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 : 2 : 1 ความเข้มข้น 80 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ ทดสอบต่อเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งไม่เกิดโซนใส

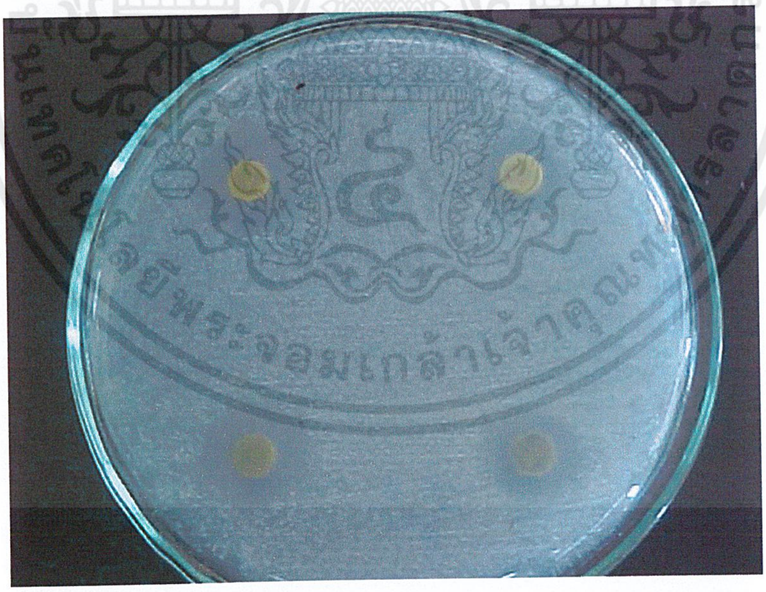


รูปที่ 4.2 ผลของแผ่นทดสอบจากสารสกัด *Chlorella* sp. A 0505 4 ความเข้มข้น คือ 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ ที่ยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* (ชั่วโมงที่ 24 ของการทดลอง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

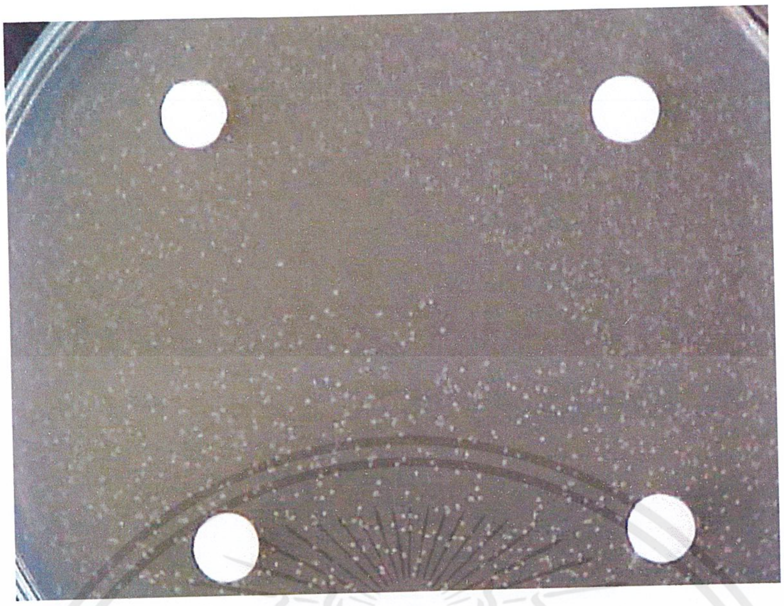


รูปที่ 4.3 ผลของแผ่นควบคุมจากสารละลาย น้ำ : เมทานอล : คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 : 2 : 1 ความเข้มข้น 80 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ ทดสอบต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งไม่เกิดโซนใส

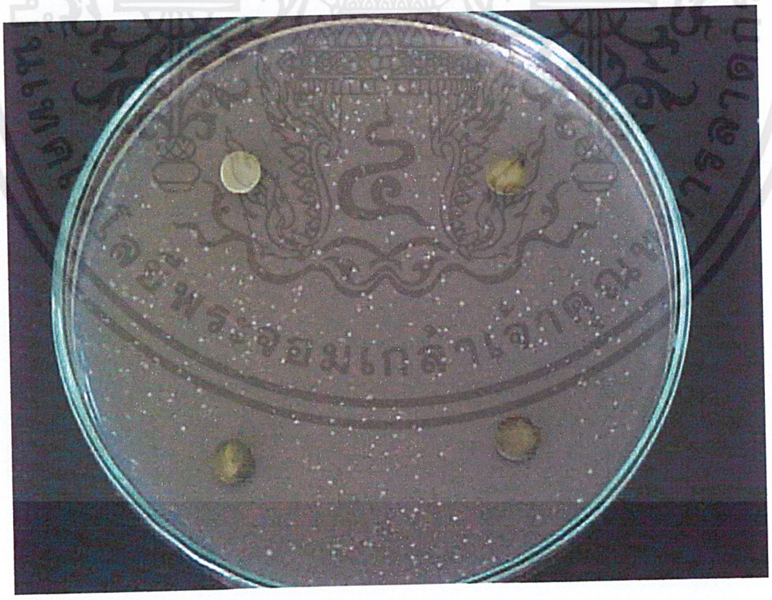


รูปที่ 4.4 ผลของแผ่นทดสอบจากสารสกัด *Chlorella* sp. E 1708 4 ความเข้มข้น คือ 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ ที่ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* (ชั่วโมงที่ 24 ของการทดลอง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 ผลของแผ่นควบคุมจากสารละลาย น้ำ : เมทานอล : คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 : 2 : 1 ความเข้มข้น 80 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ ทดสอบต่อเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ซึ่งไม่เกิดโซนใส



รูปที่ 4.6 ผลของแผ่นทดสอบจากสารสกัด *Chlorella* sp. A 0505 4 ความเข้มข้น คือ 1 2 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ ที่ยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* (ชั่วโมงที่ 24 ของการทดลอง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. A 0505 *Chlorella* sp. D 1708 *Chlorella* sp. E 1708 *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 พบว่า

1. สามารถสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายทั้ง 5 สายพันธุ์ ได้โดยใช้ตัวทำละลายเป็น น้ำ เมทานอล คลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1 : 2 : 1 ตามลำดับ และสายพันธุ์สาหร่ายที่สกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้สูงที่สุด คือ *Chlorella* sp. A 0505 คิดเป็นอัตราส่วนของสารสกัดต่อน้ำหนักเซลล์แห้งได้ 0.2407 กรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง

2. จากการนำสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ทั้ง 5 สายพันธุ์ มาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี paper disc plate ซึ่งเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบมี 6 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis* *Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa* *Salmonella sp.* *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus pyogenes* พบว่าสารสกัดจากสาหร่ายสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้ 4 ชนิด คือ *B. subtilis* *P. aeruginosa* *S. aureus* และ *S. pyogenes* โดยสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และ *S. pyogenes* ได้ดีที่สุด และสารสกัดจากสาหร่ายที่ยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ดีที่สุด คือ สารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 ส่วนเชื้อ *B. subtilis* นั้นถูกยับยั้งได้โดยสารสกัดจากสาหร่ายเพียงสายพันธุ์เดียวในการทดลองนี้ คือ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทดลองใช้ตัวทำละลายอื่นในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. เพื่อทำให้ได้ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากกว่านี้และให้ผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีขึ้น

2. ควรมีการนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ไปทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดอื่นๆ เพื่อศึกษาถึงความกว้างขวางของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กัญญา สุจริตวงศานนท์ และ สัณห์ชัย สุจริตวงศานนท์. 2529. การศึกษาเบื้องต้นของการเลี้ยงแพลงก์ตอนสัตว์ด้วยสาหร่ายสีเขียว. เกษตรศาสตร์ (วิทย์). 20 : 338-346

กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2527. สาหร่าย. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 269 น.

กิดานันท์ มลิทอง. 2530. คลอเรลลา พืชธรรมชาติที่ทรงคุณค่าทางยา. เพชรสยามการพิมพ์. กรุงเทพฯ. 47 น.

จิราภรณ์ พลชัย. 2540. การใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไซยาโนแบคทีเรียเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

ดุษณี ธนะบริพัฒน์. 2538. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 408 น.

ทวี หอมชง. 2540. ความหลากหลายของสาหร่ายและผลิตภัณฑ์จากสาหร่ายที่เป็นสินค้า. วิทยาศาสตร์. 50 (2) : 87-94

ธิดา เพชรมณี, มาวิทย์ อัศวอารีย์ และ สุจินต์ บุญช่วย. 2536. ความเป็นไปได้ในการเพราะเลี้ยงไรแดงด้วย *Chlorella* ในภาคใต้. รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2536. กรมประมง. 491-496

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. 2539. จุลชีววิทยาทั่วไป. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 735 น.

นวลพรรณ ณ ระนอง และ มงคล เพ็ญสายใจ. 2542. น้ำและการบำบัดน้ำเสีย. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 186 น.

นันทนา อรุณฤกษ์. 2537. การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรบส์. โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ. 411 น.

ผุสดี ศรีพยัตต์. 2522. การเลี้ยงและเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืชทะเลที่อุณหภูมิต่ำ. รายงานวิชาการที่ สข/22/6. สถาบันวิจัยประมงทะเล. 8 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พัชรี ผดุงวงศ์. 2540. การใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพื่อควบคุมเชื้อราโรคพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

ดวงพร คันธโชติ. 2537. อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ. โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ. 73-92

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2542. แพลงก์ตอนพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 53-54

วันดี สันติวุฒิเมธี. 2543. สาหร่าย อัญมณีแห่งท้องน้ำ. สารคดี. 16 (9) : 137-144

วิสัย วงศ์สายปิ่น. 2536. สาหร่ายเซลล์เดียวอาหารจากแสงตะวัน. สำนักพิมพ์รวมทรรศน์. กรุงเทพฯ. 139 น.

วีนา ชูโชติ. 2542. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณสาหร่าย *Chlorella* sp. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 186 น.

สุนีย์ สุวภีพันธุ์. 2524. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียว. ว. การประมง. 34 (3) : 309-324

สุวณี สุภเวชย์ และ มาลัย วรจิตร. 2536. แบคทีเรียพื้นฐาน. โรงพิมพ์ศิริยอด. กรุงเทพฯ. 32-35

Chang T., S. Ohta, N. Ikegami, H. Miyata, T. Kashimoto and M. Kondo. 1993. Antibiotic substances produced by a marine green alga, *Dunaliella primolecta*. Bioresource Tech. 44 : 149-153

Hansakul, W. 1997. *Chlorella* Nutrients and its beneficial properties. In Proceeding on mass cultivation of microalgae. November 18-23. Nakhonpathom. Thailand.

Pratt, R., T.C. Duniles, J.J. Eiler, J.B. Gunnison, W.D. Kumler, J.F. Oneto and L.A. Strait. 1944. *Chlorella*, an antibacterial substance from *Chlorella*. Sci. 99 : 351-352

Borowitzka, A.M. 1999. Pharmaceuticals and agrochemicals from microalgae. Chemicals from microalgae. T. J. International Ltd. UK. 314-347

Rao, P.S. and K.S. Parekh. 1981. Antibacterial activity of Indian seaweed extracts. Bot. Mar. 24 : 577-582

Sano, T. and K. Kaya. 1996. Oscillapeptin G, a tyrosinase inhibitor from toxic *Oscillatoria agardhii*. J. Nat. Prod. 59 : 90-92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Vlachos, V., A.T. Critchley and A.V. Holy. 1997. Antimicrobial activity of extracts from selected southern African marine macroalgae. South African J. Sci. 93 : 328-332

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

อาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่าย

สูตรอาหาร N-8 ที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* (Atthasampunna, 1995 อ้างตาม วีนา, 2542)

$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$	260.0	มิลลิกรัม
KH_2PO_4	740.0	มิลลิกรัม
$CaCl_2$	10.0	มิลลิกรัม
Fe EDTA	10.0	มิลลิกรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	50.0	มิลลิกรัม
KNO_3	1,000.0	มิลลิกรัม
Trace element mixture*	1.0	มิลลิลิตร
Distilled water to	1.0	ลิตร

*** Trace element mixture for N-8 medium**

$Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$	3.58	กรัม
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	12.98	กรัม
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	1.83	กรัม
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	3.20	กรัม
Distilled water to	1.0	ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp.

การยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

ตาราง ข-1 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505

ปริมาณสารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
control	—	—	—	—	—	—
1	6.0	8.0	7.0	6.5	6.0	6.7
2	11.5	8.5	9.5	10.0	9.0	9.7
3	17.5	17.5	16.5	15.5	16.5	16.5
4	18.0	18.5	18.0	19.0	18.5	18.4

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

ตาราง ข-2 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505

ปริมาณสารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
control	—	—	—	—	—	—
1	6.0	6.5	6.0	6.5	6.0	6.2
2	7.0	6.5	6.0	7.0	6.5	6.6
3	7.0	7.5	6.5	7.0	7.0	7.0
4	8.0	7.5	7.0	8.0	7.5	7.6

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

ตาราง ข-3 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505

ปริมาณสารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
control	—	—	—	—	—	—
1	19.0	19.5	19.0	20.0	20.0	19.5
2	20.5	21.0	21.0	21.5	20.5	20.9
3	22.0	22.0	21.5	22.5	22.0	22.0
4	23.0	23.0	24.0	23.5	24.0	23.5

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. D 1708 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

ตาราง ข-4 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. D 1708

ปริมาณสารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
control	—	—	—	—	—	—
1	7.0	8.0	7.5	6.5	8.0	7.4
2	8.0	10.0	9.0	7.5	8.5	8.6
3	11.0	10.0	9.5	8.5	9.5	9.7
4	11.5	12.0	10.0	11.0	11.5	11.2

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. D 1708 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

ตาราง ข-5 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. D 1708

ปริมาณสารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
Control	—	—	—	—	—	—
1	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—
3	6.0	6.5	7.0	6.0	6.5	6.4
4	7.0	7.5	8.0	7.5	10.0	8.0

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. D 1708 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

ตาราง ข-6 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. D 1708

ปริมาณสารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
Control	—	—	—	—	—	—
1	13.0	15.0	14.5	13.5	13.0	13.8
2	15.5	15.0	15.5	16.0	14.0	15.2
3	15.5	16.0	15.5	17.0	17.0	16.2
4	19.0	20.0	19.5	21.0	20.5	20.0

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. E 1708 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

ตาราง ข-7 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. E 1708

ปริมาณสารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
Control	—	—	—	—	—	—
1	7.0	7.0	7.5	8.0	7.5	7.4
2	7.5	8.0	8.0	10.0	7.5	8.2
3	8.0	10.0	8.0	10.0	8.0	8.8
4	9.5	10.5	9.0	11.0	8.5	9.7

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. E 1708 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

ตาราง ข-8 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. E 1708

ปริมาณสารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
Control	—	—	—	—	—	—
1	8.5	8.0	9.0	8.5	8.5	8.5
2	9.0	9.5	8.5	9.0	9.5	9.1
3	10.0	10.0	9.5	10.5	12.0	10.4
4	10.5	10.0	10.5	11.0	12.0	10.8

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. E 1708 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

ตาราง ข-9 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. E 1708

ปริมาณสารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
Control	—	—	—	—	—	—
1	22.0	22.5	21.0	22.0	22.5	22.0
2	24.5	24.0	23.5	25.0	24.5	24.3
3	25.0	26.0	26.5	26.0	26.5	26.0
4	27.5	27.0	27.0	28.0	27.5	27.4

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

ตาราง ข-10 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Bacillus subtilis* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261

ปริมาณสารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Bacillus subtilis*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
Control	—	—	—	—	—	—
1	—	—	—	—	—	—
2	6.5	6.0	7.0	6.5	6.0	6.4
3	7.0	7.5	7.5	7.5	7.0	7.3
4	7.5	8.0	8.5	8.5	8.0	8.1

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

ตาราง ข-11 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261

ปริมาณสารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
Control	—	—	—	—	—	—
1	12.0	14.0	14.5	14.5	14.0	13.8
2	16.0	13.0	16.0	14.5	15.5	15.0
3	17.0	16.5	15.5	15.5	15.5	16.0
4	16.5	17.0	18.5	18.0	17.0	17.4

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

ตาราง ข-12 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261

ปริมาณสารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
Control	—	—	—	—	—	—
1	23.0	23.5	23.5	24.0	24.0	23.6
2	25.5	26.5	26.0	25.0	26.0	25.8
3	26.5	26.0	27.0	25.5	27.0	26.4
4	27.5	28.0	28.5	29.0	29.0	28.4

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

ตาราง ข-13 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580

ปริมาณ สารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
Control	—	—	—	—	—	—
1	15.0	14.0	15.0	15.5	16.0	15.1
2	16.0	16.0	17.0	15.5	15.0	15.9
3	16.5	16.5	17.5	16.0	15.5	16.4
4	17.5	17.0	20.0	17.5	16.5	17.7

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

ตาราง ข-14 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580

ปริมาณ สารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
Control	—	—	—	—	—	—
1	24.5	25.0	24.0	25.5	24.5	24.7
2	25.0	25.5	26.5	26.0	25.5	25.7
3	27.0	26.5	27.5	27.0	27.0	27.0
4	28.5	29.5	28.0	30.5	29.0	29.1

— สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองนี้เป็นการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design = CRD) จากการเปรียบเทียบความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน แสดงได้ดังนี้

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ จากสาหร่าย *Chlorella* sp. 3 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. A 0505 *Chlorella* sp. D 1708 และ *Chlorella* sp. E 1708

จากการนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนได้ผลดังนี้

ตาราง ค-1 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 3 สายพันธุ์

สายพันธุ์สาหร่าย	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
A 0505	18.0	18.5	18.0	19.0	18.5	18.4
D 1708	11.5	12.0	10.0	11.0	11.5	11.2
E 1708	9.5	10.5	9.0	11.0	8.5	9.7

ตาราง ค-2 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 3 สายพันธุ์

แหล่งความแปรปรวน	Degree of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Tabular F	
					5%	1%
สายพันธุ์สาหร่ายที่ต่างกัน	2	216.300	108.150	177.781**	3.88	6.93
ความคลาดเคลื่อนในการทดลอง	12	7.300	0.608			
รวม	14	223.600				

** ต่างกันทางสถิติที่ 1%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า F ที่ได้จากการคำนวณมากกว่าค่า F ที่ได้จากตารางจึงสรุปได้ว่ามีสารสกัดจากสาหร่ายอย่างน้อย 2 สายพันธุ์ ให้ผลยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference Test) พบว่าผลการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. D 1708 และ *Chlorella* sp. E 1708 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนผลการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากสาหร่ายอีก 2 สายพันธุ์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ จากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. A 0505 *Chlorella* sp. D 1708 *Chlorella* sp. E 1708 *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8580

จากการนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนได้ผลดังนี้

ตาราง ค-3 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 สายพันธุ์

สายพันธุ์สาหร่าย	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
A 0505	8.0	7.5	7.0	8.0	7.5	7.6
D 1708	7.0	7.5	8.0	7.5	10.0	8.0
E 1708	10.5	10.0	10.5	11.0	12.0	10.8
C. vulgaris TISTR 8261	16.5	17.0	18.5	18.0	17.0	17.4
C. vulgaris TISTR 8580	17.5	17.0	20.0	17.5	16.5	17.7

ตาราง ค-4 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 สายพันธุ์

แหล่งความแปรปรวน	Degree of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Tabular F	
					5%	1%
สายพันธุ์สาหร่ายที่ต่างกัน	4	490.000	122.500	132.432**	2.87	4.43
ความคลาดเคลื่อนในการทดลอง	20	18.500	0.925			
รวม	24	508.500				

** ต่างกันทางสถิติที่ 1%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า F ที่ได้จากการคำนวณมากกว่าค่า F ที่ได้จากตารางจึงสรุปได้ว่ามีสารสกัดจากสาหร่ายอย่างน้อย 2 สายพันธุ์ ให้ผลยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference Test) พบว่าการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 เปรียบเทียบกับการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. D 1708 และผลเปรียบเทียบการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 ให้ผลไม่แตกต่างกัน ส่วนการเปรียบเทียบผลการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่ายคู่ที่เหลือ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ จากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 สายพันธุ์ คือ *Chlorella* sp. A 0505 *Chlorella* sp. D 1708 *Chlorella* sp. E 1708 *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8580

จากการนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน ได้ผลดังนี้

ตาราง ค-5 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 สายพันธุ์

สายพันธุ์สาหร่าย	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
A 0505	23.0	23.0	24.0	23.5	24.0	23.5
D 1708	19.0	20.0	19.5	21.0	20.5	20.0
E 1708	27.5	27.0	27.0	28.0	27.5	27.4
C. vulgaris TISTR 8261	27.5	28.0	28.5	29.0	29.0	28.4
C. vulgaris TISTR 8580	28.5	29.5	28.0	30.5	29.0	29.1

ตาราง ค-6 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 สายพันธุ์

แหล่งความแปรปรวน	Degree of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Tabular F	
					5%	1%
สายพันธุ์สาหร่ายที่ต่างกัน	4	295.340	76.2350	158.823**	2.87	4.43
ความคลาดเคลื่อนในการทดลอง	20	9.600	0.480			
รวม	24	304.940				

** ต่างกันทางสถิติที่ 1%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า F ที่ได้จากการคำนวณมากกว่าค่า F ที่ได้จากตารางจึงสรุปได้ว่ามีสารสกัดจากสาหร่ายอย่างน้อย 2 สายพันธุ์ ให้ผลยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference Test) พบว่าการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 เปรียบเทียบกับการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 ให้ผลไม่แตกต่างกัน และผลเปรียบเทียบการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. E 1708 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการเปรียบเทียบผลการยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่ายคู่ที่เหลือ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

จากการนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน ได้ผลดังนี้

ตาราง ค-7 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Bacillus subtilis* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261

ปริมาณสารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Bacillus subtilis*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
2	6.5	6.0	7.0	6.5	6.0	6.4
3	7.0	7.5	7.5	7.5	7.0	7.3
4	7.5	8.0	8.5	8.5	8.0	8.1

ตาราง ค-8 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* โดยปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน

แหล่งความแปรปรวน	Degree of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Tabular F	
					5%	1%
ปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน	2	7.233	3.617	25.529**	3.88	6.93
ความคลาดเคลื่อนในการทดลอง	12	1.700	0.142			
รวม	14	8.933				

** ต่างกันทางสถิติที่ 1%

ค่า F ที่ได้จากการคำนวณมากกว่าค่า F ที่ได้จากตารางจึงสรุปได้ว่ามีสารสกัดอย่างน้อย 2 ความเข้มข้น ให้ผลยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference Test) พบว่าผลการยับยั้งของปริมาณสารสกัดทั้ง 3 ความเข้มข้น เมื่อเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ทั้งหมดได้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505 ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

จากการนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน ได้ผลดังนี้

ตาราง ค-9 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A 0505

ปริมาณสารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
1	6.0	8.0	7.0	6.5	6.0	6.7
2	11.5	8.5	9.5	10.0	9.0	9.7
3	17.5	17.5	16.5	15.5	16.5	16.5
4	18.0	18.5	18.0	19.0	18.5	18.4

ตาราง ค-10 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* โดยปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน

แหล่งความแปรปรวน	Degree of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Tabular F	
					5%	1%
ปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน	3	466.838	155.613	214.638**	3.24	5.29
ความคลาดเคลื่อนในการทดลอง	16	11.600	0.725			
รวม	19	478.438				

** ต่างกันทางสถิติที่ 1%

ค่า F ที่ได้จากการคำนวณมากกว่าค่า F ที่ได้จากตารางจึงสรุปได้ว่ามีสารสกัดอย่างน้อย 2 ความเข้มข้น ให้ผลยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference Test) พบว่าการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 3 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ เปรียบเทียบกับการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบให้ผลไม่แตกต่างกัน ส่วนการเปรียบเทียบการยับยั้งของปริมาณสารสกัดในคู่ที่เหลือทั้งหมดพบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

จากการนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนได้ผลดังนี้

ตาราง ค-11 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580

ปริมาณสารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Staphylococcus aureus*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
1	15.0	14.0	15.0	15.5	16.0	15.1
2	16.0	16.0	17.0	15.5	15.0	15.9
3	16.5	16.5	17.5	16.0	15.5	16.4
4	17.5	17.0	20.0	17.5	16.5	17.7

ตาราง ค-12 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน

แหล่งความแปรปรวน	Degree of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Tabular F	
					5%	1%
ปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน	3	17.838	5.946	6.844**	3.24	5.29
ความคลาดเคลื่อนในการทดลอง	16	13.900	0.869			
รวม	19	31.738				

** ต่างกันทางสถิติที่ 1%

ค่า F ที่ได้จากการคำนวณมากกว่าค่า F ที่ได้จากตารางจึงสรุปได้ว่ามีสารสกัดอย่างน้อย 2 ความเข้มข้นให้ผลยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference Test) พบว่าการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ เปรียบเทียบกับการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 3 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ และผลเปรียบเทียบระหว่างการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 3 และ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ เปรียบเทียบกับการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ และผลการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 2 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ เปรียบเทียบกับ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ ให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่ผลการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 1 มิลลิกรัม เปรียบเทียบกับ 2 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ กับผลการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 2 มิลลิกรัม เปรียบเทียบกับ 3 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบพบว่าไม่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 ปริมาณ 1 มิลลิกรัม 2 มิลลิกรัม 3 มิลลิกรัม และ 4 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

จากการนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน ได้ผลดังนี้

ตาราง ค-13 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes* ที่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8580

ปริมาณสารสกัด (มิลลิกรัม)	ขนาดโซนใสของเชื้อ *Streptococcus pyogenes*					ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 4 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 5 (มิลลิเมตร)	
1	24.5	25.0	24.0	25.5	24.5	24.7
2	25.0	25.5	26.5	26.0	25.5	25.7
3	27.0	26.5	27.5	27.0	27.0	27.0
4	28.5	29.5	28.0	30.5	29.0	29.1

ตาราง ค-14 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus pyogenes* โดยปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน

แหล่งความแปรปรวน	Degree of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Tabular F	
					5%	1%
ปริมาณสารสกัดที่ต่างกัน	3	54.138	18.046	42.461**	3.24	5.29
ความคลาดเคลื่อนในการทดลอง	16	6.800	0.425			
รวม	19	60.938				

** ต่างกันทางสถิติที่ 1%

ค่า F ที่ได้จากการคำนวณมากกว่าค่า F ที่ได้จากตารางจึงสรุปได้ว่ามีสารสกัดอย่างน้อย 2 ความเข้มข้นให้ผลยับยั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการเปรียบเทียบเป็นรายคู่ ด้วยวิธี LSD (Least Significant Difference Test) พบว่าผลการยับยั้งของปริมาณสารสกัด 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการเปรียบเทียบผลการยับยั้งของปริมาณสารสกัดในคู่ที่เหลือทั้งหมด พบว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้