สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลาโดยใช้สารสกัดจาก *Chlorella* sp.

T 058537

นางสาวจิตรา เลาห์กมล
นายชัยวัฒน์ ชวลิตจินดา
นายคีตภัทร ปิยะจรรยาศิริ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2546

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 58537
วัน,เดือน,ปี 25 มิ.ย. 2549
b.....
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Antibacterial activity of fish pathogenic bacteria from extracts of *Chlorella* sp.

Miss Jitra Laokamol

Mr. Chaiwat Chavalitjinda

Mr. Keetapat Piyajanyasiri

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the

Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2003

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลาโดยใช้สารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp.
โดย	นางสาวจิตรา เลาห์กมล นายชัยวัฒน์ ชวลิตจินดา นายคีตภัทร ปิยะจรรยาศิริ
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. วีนา ชูโชติ

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ. ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์ กรรมการ รศ. ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง กรรมการ ผศ. วีนา ชูโชติ	

.....

(รศ. ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลาโดยใช้สารสกัดจาก *Chlorella* sp.

นักศึกษา นางสาวจิตรา เลาห์กมล

นายชัยวัฒน์ ชวลิตจินดา

นายคีตภัทร ปิยะจรรยาศิริ

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2546

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. วีนา ชูโชติ

บทคัดย่อ

สารสกัดจาก *Chlorella* sp. 3 สายพันธุ์ คือ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260, *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 และ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลา 4 สายพันธุ์ คือ *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Edwardsiella tarda* และ *Pseudomonas fluorescens* และ แบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรคในปลา 1 สายพันธุ์ คือ *Staphylococcus aureus* โดยใช้แผ่นทดสอบ พบว่า วิธีทำให้เซลล์แตกด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงได้ผลดีกว่าวิธีบดเซลล์ การสกัดด้วยวิธีลำดับส่วนโดยใช้ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน อะซีโตนและเมทานอล ตามลำดับนั้น พบว่า สารสกัดจาก *Chlorella* sp. ทุกสายพันธุ์ที่ได้จากตัวทำละลายเมทานอลนั้นสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ดีที่สุด โดยสามารถยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ โดยมีขนาดการยับยั้ง 17.90, 18.66และ 14.56 มิลลิเมตร ตามลำดับและสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ที่ความเข้มข้นเดียวกันได้ โดยมีขนาดยับยั้ง 18.26, 21.57 และ 15.30 มิลลิเมตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Antibacterial Activity of Fish Pathogenic Bacteria from Extracts of *Chlorella* sp.
Name	Miss Jitra Laokamol
	Mr. Chaiwat Chavalitjinda
	Mr. Keetapat Piyajanyasiri
Department	Applied Biology
Program	Biotechnology
Academic Year	2003
Special Project Advisor	Asst. Prof. Weena Choochote

Abstract

The crude extracts from three strains of *Chlorella* sp., *Chlorella elipsoi*dea TISTR 8260, *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 and *Chlorella* sp. TISTR 8445 were tested for antibacterial activity against four species of fish pathogenic bacteria , *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Edwardsiella tarda*, *Pseudomonas fluorescens* and one species of non-fish pathogenic bacteria, *Staphylococcus aureus* using paper disc method. It was found that cell breaking via sonicator was better than that via grinder. The crude extracts were extracted by sequencial extraction with dichloromethane, acetone and methanol respectively. Methanolic extracts from all strains of *Chlorella* sp. inhibited five species of bacteria. The greatest antibacterial activity of these three *Chlorella* sp. extracts against *Aeromonas hydrophila* was found at the concentration of 12 mg/disc, with the inhibition zone of 17.90, 18.66 and 14.56 mm.,respectively. At the same concentration, these extracts also inhibited the growth of *Staphylococcus aureus*, with the inhibition zones of 18.26, 21.57 and 15.30 mm., respectively.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลหลายฝ่ายเป็นอย่างดี ผู้ทำโครงงานพิเศษขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาผศ.วีนา ชูโชติ และขอขอบพระคุณ รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง และ รศ.ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์ ที่เป็นกรรมการโครงงานพิเศษและประธานกรรมการ ที่ช่วยในการตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการภาควิชาชีววิทยาประยุกต์และพี่พงศ์ธรที่ได้ให้ความช่วยเหลือ รวมถึงคำปรึกษาในทุก ๆ ด้าน

และขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ญาติพี่น้อง เพื่อน ๆ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ชั้นปี 4 ทุกคนที่ให้กำลังใจและให้ความช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษนี้มาโดยตลอด

นางสาวจิตรา เลาห์กมล

นายชัยวัฒน์ ชวลิตจินดา

นายคีตภัทร ปิยะจรรยาศิริ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ณ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	3
2.1 สาหร่าย *Chlorella* sp.	3
2.2 ประโยชน์ของสาหร่าย	5
2.3 วิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย	7
2.4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายชนิดต่างๆ	9
2.5 แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลา	13
2.6 แบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรคในปลา	17
2.7 ยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน	18
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	22
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	22
3.2 วิธีดำเนินงานวิจัย	23
3.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ	30
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	31
4.1 ผลการเปรียบเทียบปริมาณน้ำหนักสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จากสาหร่าย*Chlorella* sp.	31
4.2 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	51
เอกสารอ้างอิง	53
ภาคผนวก ก. อาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่าย	61
อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย	62
ภาคผนวก ข. ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	
จากสาหร่าย *Chlorella* sp.	63
1. การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยการทำให้เซลล์แตกด้วยวิธีบดเซลล์	63
2. การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยการทำให้เซลล์แตกด้วยวิธีใช้คลื่นเสียงความถี่สูง	65
ภาคผนวก ค. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 แสดงปริมาณน้ำหนักสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่าย *Chlorella* sp.	31
4.2 แสดงการเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร ในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน อะซีโตนและเมทานอล	34
4.3 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล	36
4.4 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล	37
4.5 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล	38
4.6 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260, *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 และ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตรที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล	39
4.7 ขนาดของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากสมุนไพรในประเทศบราซิล	41
4.8 ความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร เมื่อเทียบเป็นสัดส่วนกับยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร	42
ข-1 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร	63
ข-2 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร	63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ข-3 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 64

ข-4 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 64

ข-5 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 65

ข-6 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 65

ข-7 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายอะซีโตน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 66

ข-8 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ข-9 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 67

ข-10 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายอะซีโตน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 67

ข-11 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 68

ข-12 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 68

ข-13 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายอะซีโตน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 69

ข-14 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ข-15 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 70

ข-16 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายอะซีโตน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 70

ข-17 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 71

ข-18 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 71

ข-19 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายอะซีโตน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 72

ข-20 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ข-21 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 73

ข-22 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 73

ข-23 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 74

ข-24 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 74

ข-25 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 75

ข-26 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ข-27 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 76

ข-28 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 76

ข-29 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 77

ข-30 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 77

ค-1 แสดงการเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์คือ *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Edwardsiell tarda*, *Pseudomonas fluorescenses* และ *Staphylococcus aureus* จากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 โดยวิธีการบดเซลล์ และวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงในการทำให้เซลล์แตก 79

ค-2 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ที่ปริมาณ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ใช้วิธีการทำให้เซลล์แตกโดยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงและวิธีการบดเซลล์ 80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ค-3 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ที่ปริมาณ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล 81

ค-4 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ที่ปริมาณ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอะซีโตน 81

ค-5 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ที่ปริมาณ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน 82

ค-6 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ที่ปริมาณ 4 ,8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล 83

ค-7 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล 84

ค-8 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas sobria* โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล 84

ค-9 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Edwardsiella tarda* โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล 85

ค-10 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Pseudomonas fluorescens* โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล 85

ค-11 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Staphylocooccus aureus* โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล 86

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ค-12 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Edwardsiell tarda*, *Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylocooccus aureus* โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอลที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัม ต่อ 30 ไมโครลิตร 87

ค-13 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* โดยสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล 88

ค-14 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas sobria* โดยสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล 88

ค-15 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Edwardsiell tarda* โดยสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล 89

ค-16 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Pseudomonas fluorescens* โดยสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล 89

ค-17 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Staphylocooccus aureus* โดยสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล 90

ค-18 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Edwardsiella tarda, Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* โดย สาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัม ต่อ 30 ไมโครลิตร 91

ค-19 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* โดยสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล 92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ค-20 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas sobria* โดยสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล 92

ค-21 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Edwardsiell tarda* โดยสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล 93

ค-22 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Pseudomonas fluorescens* โดยสาหร่าย*Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล 93

ค-23 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Staphylocoocus aureus* โดยสาหร่าย*Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล 94

ค-24 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Edwardsiella tarda, Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* โดยสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 95

ค-25 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* โดยสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. TISTR 8445, *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอลที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 96

ค-26 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas sobria* โดยสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. TISTR 8445, *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอลที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 96

ค-27 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Edwardsiella tarda* โดยสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. TISTR 8445, *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอลที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 97

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ค-28 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Pseudomonas fluorescens* โดยสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. TISTR 8445, *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอลที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 97

ค-29 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Staphylocoocus aureus* โดยสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. TISTR 8445, *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอลที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร 98

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ลักษณะของปลาที่เป็นโรคเกล็ดตั้ง	16
2.2	ลักษณะของปลาที่เป็นโรคท้องบวม	17
3.1	ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445	23
3.2	ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260	23
3.3	ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261	24
3.4	สาหร่าย *Chlorella* sp. ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร	24
3.5	สาหร่าย *Chlorella* sp. ในหลอดเพาะเลี้ยงขนาด 300 มิลลิลิตร	25
3.6	การเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในถังหมักขนาด 5 ลิตร	26
3.7	การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ในกรวยแยก	27
3.8	การทำให้สารสกัดแห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบลดความดัน	27
4.1	แผนภูมิแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 โดยวิธีการบดเซลล์กับใช้คลื่นเสียงความถี่สูง	32
4.2	ขนาดของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากเมล็ดองุ่นโดยใช้สารเคมีที่นำมาสกัด 2 กลุ่ม คือ เอทิลอะซีเตท เมทานอลและน้ำ กับ อะซีโตน กรดอะซีติกและน้ำ	40
4.3	ผลของสารสกัดของ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*	44
4.4	ผลของสารสกัดของ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทนในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*	44
4.5	ผลของสารสกัดของ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่สกัดด้วยอะซีโตนในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*	45
4.6	ผลของสารสกัดของ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria*	45
4.7	ผลของสารสกัดของ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens*	46
4.8	ผลของสารสกัดของ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda*	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.9	ผลของสารสกัดของ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*	47
4.10	ผลของสารสกัดของ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria*	47
4.11	ผลของสารสกัดของ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens*	48
4.12	ผลของสารสกัดของ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda*	48
4.13	ผลของสารสกัดของ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*	49
4.14	ผลของสารสกัดของ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria*	49
4.15	ผลของสารสกัดของ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens*	50
4.16	ผลของสารสกัดของ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda*	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

ในปัจจุบันสาหร่ายถูกนำมาใช้ประโยชน์มากมายหลายด้านในชีวิตประจำวัน เช่น ใช้ผลิตอาหารเสริมสุขภาพ ผลิตสี บำบัดน้ำเสีย โดยการใช้สาหร่ายดูดซับสารอินทรีย์จากโรงงานอุตสาหกรรม ผลิตอาหารสำหรับสัตว์ รวมทั้งใช้สารสกัดจากสาหร่ายที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ ซึ่งยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่มักผลิตจากเชื้อราและแบคทีเรียซึ่งนำมาเป็นยาปฏิชีวนะได้เช่น Penicillin ได้จากเชื้อ *Penicillium* sp. และ Streptomycin ได้จากเชื้อ *Streptomyces* sp. เป็นต้น (ดุษณี, 2538) ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจที่จะนำสาหร่าย *Chlorella* sp. มาสกัดเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

สาหร่าย *Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายเซลล์เดียว รูปร่างกลม ผนังเซลล์หนา เคลื่อนที่ไม่ได้ สามารถสังเคราะห์แสงได้โดยคลอโรพลาสต์ภายใน จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของสาหร่ายชนิดนี้พบว่ามีโปรตีนสูงถึง 55.5 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งยังมีวิตามินและเกลือแร่ในปริมาณมาก (Casey และ Lubitz, 1963 อ้างถึงใน กาญจนภาชน์, 2527) สามารถขยายพันธุ์ได้ง่าย เจริญเติบโตได้เร็วในระยะเวลาสั้น นอกจากนี้ยังสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิด เช่น *Bacillus subtilis, Straphylococcus aureus , Streptococcus pyogenes* และ *Psudomonas aeruginosa* (Pratt และคณะ, 1944)

เนื่องจากปลาสวยงามมักจะมีราคาแพง เมื่อปลาป่วยจะทำให้ปลาขาดความสวยงามหรือมีการตายเกิดขึ้น ก่อให้เกิดผลเสียหายมากทั้งทางด้านเศรษฐกิจและจิตใจ (คีรี, 2545) ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจที่จะนำสาหร่าย *Chlorella* sp. มาสกัดให้ได้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมาทำการทดลองยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในปลา แทนการใช้ยาปฏิชีวนะแบบเดิมที่ใช้อยู่

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบสายพันธุ์สาหร่าย *Chlorella* sp. ที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลา

2. ทราบถึงชนิดของจุลินทรีย์ที่สามารถถูกยับยั้งด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการใช้สารสกัดเพื่อยับยั้งแบคทีเรีย

4. เพื่อศึกษาหาตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp.

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในอาหารสูตร N-8 จากนั้นนำมาทำให้เซลล์แตกและสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเซลล์สาหร่าย เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดและความเข้มข้นที่เหมาะสมในการใช้สารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยทำการแปรผันสายพันธุ์สาหร่ายและความเข้มข้นของสารสกัดเพื่อหาความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลา

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงสายพันธุ์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลา

2. ทราบถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมในการใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อยับยั้งแบคทีเรีย

3. ทราบถึงสายพันธุ์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ในปริมาณที่สูงที่สุด

4. ทราบถึงตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่าย *Chlorella* sp.

5. ทราบถึงสารสกัดทางชีวภาพที่ได้นี้สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียชนิดใดได้บ้าง

6. เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาขั้นสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 สาหร่าย *Chlorella* sp.

ในสมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 ญี่ปุ่นได้อาศัย *Chlorella* sp. เป็นอาหาร นอกจากนี้ *Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายที่นิยมใช้ในการทดลอง เช่น ทดลองเกี่ยวกับการสังเคราะห์แสง ในโครงการอวกาศก็กำลังค้นคว้าเกี่ยวกับ *Chlorella* sp. เพื่อนำไปใช้เป็นอาหารสำหรับมนุษย์อวกาศในขณะที่บริษัทอุตสาหกรรมสาหร่าย *Chlorella* sp. แห่งไต้หวันกำลังผลิตผลิตภัณฑ์จากสาหร่าย ได้แก่ *Chlorella* sp. แผ่น และนม *Chlorella* sp. (สุเทพ, 2530)

สาหร่าย *Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวสีเขียว จัดอยู่ใน Division Chlorophyta, Class Chlorophyceae, Order Chlorellales, Family Chlorellaceae (Bold and Wynne, 1978 ; Round 1973 อ้างถึงในทวีศักดิ์, 2540) พบแพร่กระจายอยู่เป็นอิสระทั่วไปทั้งในดิน แหล่งน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม อาจจะอยู่เซลล์เดี่ยวๆ หรืออยู่เป็นโคโลนี เซลล์มีลักษณะกลมหรือรีขนาดแตกต่างกันไป ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2-12 ไมโครเมตร บางครั้งพบอาศัยอยู่กับสัตว์อื่น เช่น *Paramecium bursaria* และ *Hydra varidis* (Bold and Wynne,1978 อ้างถึงในทวีศักดิ์, 2540) ไม่มีแฟลกเจลลา มีโครมาโตฟอร์ รูปถ้วย 1 อัน สามารถเจริญได้ในที่มืด (Round, 1973 อ้างถึงในทวีศักดิ์, 2540) มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างซูสปอร์ (Zoospore) และสร้างออโตสปอร์ (Autospore) ที่มีจำนวน 4, 8 หรือ 16 แต่ละสปอร์มีลักษณะเหมือนเซลล์แม่ทุกประการ บางทีเรียกสปอร์เหล่านี้ว่า แอพลาโนสปอร์ (Aplanospore) เมื่อหลุดออกจากเซลล์แม่จะเจริญเป็นเซลล์ใหม่ที่มีโครโมโซมเดี่ยว (Haploid) (สุเทพ, 2530) มีคลอโรพลาสต์เป็นแบบแถบข้างเซลล์ (Parietal) เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าประกอบด้วยไทลาคอยด์ (Thylakoid) เรียงซ้อนกันเป็นชั้น เรียก กรานา (Grana) และมีไพรีนอยด์ 1 อันซึ่งเป็นแหล่งสะสมอาหารอยู่บนคลอโรพลาสต์ รงควัตถุสังเคราะห์แสงอยู่ในคลอโรพลาสต์ประกอบด้วย คลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี แอลฟา เบตาและแกมมาแคโรทีน (α , β และ γ - Carotene) รวมทั้งแซนโทฟิลล์หลายชนิด (กาญจนภาชน์, 2527)

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

Chlorella sp. มีผนังเซลล์ที่หนา ทำให้ไม่สามารถย่อยและดูดซึมได้ในกระเพาะอาหาร ดังนั้นผลผลิตของสาหร่าย *Chlorella* sp. จำเป็นต้องผ่านกระบวนการพิเศษเพื่อบดหรือย่อยให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผนังเซลล์แตกออกก่อน ส่วนใหญ่ผลิต *Chlorella* เป็นการค้าในประเทศไต้หวัน โดยมีจุดขายคือมีปริมาณโปรตีนสูง (ประมาณร้อยละ 55-60) มีเบตาแคโรทีนและมี Chlorella Growth Factor (CGF) ที่เป็นสารช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต (สรวิศ, 2543)

บรรจบ (2543) กล่าวถึงบทบาทเด่นของสาหร่ายคลอเรลลามี 3 ประการคือ

1. เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่สำคัญ โดยมีกรดอะมิโนจำเป็น 8 ชนิดอยู่ แม้จะพร่องเมไธโอนีนอยู่บ้าง คล้ายสัดส่วนของโปรตีนในถั่วเหลืองหรือเต้าหู้ แต่มีปริมาณโปรตีนต่อหนึ่งหน่วยน้ำหนักสูงมาก กระทั่งสูงกว่าเนื้อสัตว์ต่าง ๆ ทั้งนี้เพราะมีองค์ประกอบของโปรตีนกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ทีเดียว นั่นคือ ในเนื้ออาหาร 100 กรัม สาหร่ายคลอเรลลามีโปรตีน 58 กรัม ขณะที่เนื้อวัวมี 24-27 กรัม ไก่มี 24 กรัม ปลามี 18-29 กรัม และไข่มี 13 กรัม

2. เป็นแหล่งของวิตามิน คลอเรลลาอุดมไปด้วยวิตามินเอ เบต้าแคโรทีน บี1 บี2 บี12 ไนอาซิน กรดแพนโธเอทินิก ไบโอติน อินโนซิตอล โฟลิก พาบา วิตามินซี วิตามินอี แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี ฟอสฟอรัส ไอโอดีน แม้แต่วิตามินบี12 ซึ่งสาหร่ายคลอเรลลามีถึง 125.9 ไมโครกรัมเปอร์เซ็นต์ คนกินเจซึ่งเสี่ยงต่อภาวะเลือดจางเพราะขาดบี12 จากผักอื่น ๆ ซึ่งถ้ากินสาหร่ายคลอเรลลาวันละ 3 กรัม จะได้บี12 ถึง 4 ไมโครกรัม เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย แถมได้ธาตุเหล็กอีกด้วย

สำหรับเบต้าแคโรทีน เป็นวิตามิน เป็นวิตามินที่ใช้ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นตัวก่อความเสื่อมให้แก่ร่างกาย การรับอาหารที่มีเบต้าแคโรทีนมาก ๆ จึงช่วยป้องกันร่างกายจากความเสื่อม ซึ่งสาหร่ายคลอเรลลามีสารนี้ถึง 180 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม

3. คลอเรลลามีสารเร่งการเจริญเติบโตซึ่งเป็นสายโปรตีนที่มีกรดอะมิโนชนิดที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ สารนี้ ดร. ฟูจิ มากิ แห่งศูนย์วิจัยวิทยาศาสตร์โตเกียว แยกได้จากสาหร่ายคลอเรลลาเมื่อปี 1950 แล้ว ดร. เลียงปิง ลิน มหาวิทยาลัยแห่งชาติไต้หวัน รวมทั้งนักวิจัยอะคาวาและคามิตาชิในญี่ปุ่นทดลองในหนู กระต่ายและในหมู พบว่าทำให้สัตว์โตไวกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารเร่งการเจริญเติบโต

นอกจากนี้บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์สาหร่ายคลอเรลลาเมื่อกินเข้าไปแล้วจะช่วยการขับถ่ายและช่วยพาสารพิษและโลหะหนักออกจากร่างกายทำให้มันมีบทบาทในการลดสารพิษในร่างกายได้อีกด้วย ซึ่งสาหร่ายคลอเรลลามีปริมาณกรดนิวคลีอิกต่ำ ซึ่งไม่น่าเป็นห่วงว่าสาหร่ายคลอเรลลาจะเพิ่มอัตราการเสี่ยงต่อโรคเกาต์แต่อย่างใด (บรรจบ, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ประโยชน์ของสาหร่าย

มนุษย์รู้จักนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์เป็นเวลานานกว่า 4,000 ปีแล้ว โดยเฉพาะชาวจีนในสมัยก่อนคริสตกาล ชาวโรมันรู้จักนำสาหร่ายมาสกัดสาร เพื่อใช้ทำเครื่องสำอาง ต่อมาจึงรู้จักใช้สาหร่ายให้เป็นประโยชน์ในประเทศยุโรป โดยใช้เป็นอาหารสัตว์ เป็นปุ๋ย สกัดไอโอดีนและโปรแตส ในศตวรรษที่ 20 จึงได้นำสิ่งสกัดจากสาหร่ายมาใช้ประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรม

ประโยชน์ของสาหร่ายมีดังต่อไปนี้

2.2.1 **เป็นอาหารคน** ชาวจีนเป็นพวกแรกที่ใช้สาหร่ายเป็นอาหาร เช่น *Laminaria* (สาหร่ายสีน้ำตาล) *Gracilaria* (สาหร่ายสีแดง) และ *Nostoc* (สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน) ส่วนชาวญี่ปุ่นนั้นเป็นชนชาติที่นำสาหร่ายทะเลมาเป็นอาหารมากที่สุดและมีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายกันอย่างเป็นล่ำเป็นสัน ในปัจจุบันชาติต่าง ๆ ในหลายประเทศทั่วโลก รู้จักนำสาหร่ายมาประกอบอาหาร ทั้งในสภาพสดและแห้ง หากพิจารณาดูถึงคุณค่าอาหารของสาหร่ายแล้วพบว่าไม่สูงมากนัก คาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่เป็นพวกย่อยยาก ส่วนโปรตีนมีไม่สูง นอกจากในบางชนิด เช่น *Scenedesmus* , *Chlorella* และ *Spirulina* ดังนั้นสิ่งที่มีประโยชน์ที่ได้รับจากสาหร่ายทะเล คือ แร่ธาตุและวิตามิน อาทิเช่น วิตามินเอ ไวตามินบี (B_2 และ B_{12}) วิตามิน ซีและวิตามิน ดี นอกจากนี้ยังมี ไนอาซิน (Niacin) กรดแพนโทเทอิก (Pantothenic acid) กรดโฟลิก (Folic acid) และไอโอดีน (Chapman, 1970 อ้างถึงใน กาญจนภาชน์, 2527)

2.2.2 **เป็นอาหารสัตว์** ประเทศทางยุโรปนิยมใช้สาหร่ายทะเลเป็นอาหารสัตว์ เช่น วัว ควาย แพะ แกะ กันมานานแล้ว เนื่องจากพวกนี้มีน้ำย่อยพิเศษ สามารถย่อยผนังเซลล์ของสาหร่ายซึ่งเป็นพวกเซลลูโลสได้ ในบางประเทศถึงกับได้ตั้งโรงงานทำอาหารสัตว์จากสาหร่ายทะเล บางแห่งรวมกับปลาป่น เปลือกหอยป่น หรือยีสต์ สำหรับเลี้ยงเป็ด ไก่ หมู ได้อีกด้วย นอกจากนี้สาหร่ายขนาดเล็กที่เป็นแพลงค์ตอนพืช (Phytoplankton) ยังใช้เป็นอาหารของปลาและสัตว์น้ำต่าง ๆ ในปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กหลายชนิด เพื่อเป็นอาหารลูกกุ้ง ลูกหอย และลูกปลาวัยอ่อน (กาญจนภาชน์, 2527)

2.2.3 **เป็นปุ๋ย** การใช้สาหร่ายทะเลเพื่อเป็นปุ๋ยนั้น มีผู้ค้นพบมาตั้งแต่สมัยที่มีการเกษตรตามบริเวณชายฝั่งของทวีปเอเชีย เนื่องจากลมฟ้าอากาศในบางฤดูกาล จะพัดพาเอาสาหร่ายทะเลขึ้นมากองตามชายหาด จึงได้ทดลองนำมาตากแห้งและใช้เป็นปุ๋ย ปรากฏว่าได้ผลดี ในบางประเทศถึงกับมีการเก็บเกี่ยวเอาจากที่ขึ้นอยู่ในทะเลขึ้นมาใช้เป็นปุ๋ย สาหร่ายพวกนี้มีคุณสมบัติประการหนึ่ง คือ สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ทำให้ดินชุ่มชื้นเสมอ (Dawson, 1966 อ้างถึงใน กาญจนภาชน์, 2527)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.4 **เป็นยา** การใช้สาหร่ายเพื่อประโยชน์ในทางยานั้นมีมานานพอ ๆ กับการใช้เป็นอาหาร ในสมัยโบราณชาวจีนใช้ *Sargassum* (สาหร่ายสีน้ำตาล) รักษาโรคคอพอก ในปัจจุบันยังคงใช้ *Sargassum* ต้มรับประทานแก้ร้อนในได้ นอกจากนี้ ในตำรายาโบราณมีการใช้ Irish moss (*Chondrus crispus*) รักษาโรคท้องร่วง โรคทางเดินปัสสาวะและโรคลำไส้อักเสบ *Digenia simplex* รักษาโรคตานขโมย หรือขับพยาธิได้ เช่นเดียวกับ *Hypnea musciformis* ในปัจจุบันสามารถสกัดตัวยาปฏิชีวนะได้จากสาหร่ายหลายชนิด ทั้งสาหร่ายสีแดง สาหร่ายสีน้ำตาล และสาหร่ายสีเขียว รวมทั้งจากไดอะตอม แต่ยังมิได้ทำเป็นอุตสาหกรรม เนื่องจากมีปริมาณไม่มากพอและค่าใช้จ่ายสูง นอกจากนี้ยังพบว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดให้สารประเภทที่ใช้รักษามะเร็ง สาหร่ายบางชนิดให้สารซึ่งแสดงปฏิกิริยาต่อเม็ดเลือดขาวในหนู ซึ่งเป็นลิวคีเมีย (Leukemia) นอกจากใช้ประโยชน์ในทางยาโดยตรงแล้ว สาหร่ายบางชนิดยังใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ เช่น *Spirulina* (สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน) โดยนำมาอัดเม็ด (Tablet) เหมือนยา รงควัตถุสีฟ้าที่สกัดได้จาก *Spirulina* ยังนำมาใช้เป็นสีผสมอาหารได้อีกด้วย ใช้ในการศึกษาและทดลองทางวิทยาศาสตร์ สาหร่ายหลายชนิดที่เซลล์มีขนาดค่อนข้างใหญ่ นักวิทยาศาสตร์นิยมนำมาใช้ศึกษาทดลองทางด้านชีววิทยาและสรีรวิทยาของเซลล์ สาหร่ายเหล่านี้ ได้แก่ *Acetabularia, Valonia, Hydrodictyon, Chara* และ *Nitella* (กาญจนภาชน์, 2527)

2.2.5 **ใช้ในอุตสาหกรรม** สิ่งสกัดจากสาหร่ายทะเลซึ่งนำมาใช้ประโยชน์กันมากทางอุตสาหกรรม ได้แก่ วุ้น (Agar) แอลจิเนต (Alginate) และคาราจีแนน (Carrageenan) มีแหล่งมาจากสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ (Marine macroalgae) (อาภารัตน์และคณะ, 2539)

วุ้น เป็นไฟโตคอลลอยด์ จำพวกโพลีแซกคาไรด์ ที่สกัดจากสาหร่ายทะเลสีแดงในสกุล *Gelidium, Gracilaria, Pterocladia, Ahnfeltia* และ *Acanthopeltis* ชาวจีนรู้จักวุ้นมาตั้งแต่ศตวรรษที่ 17 แต่ชาวญี่ปุ่นเป็นผู้คิดค้นวิธีสกัดวุ้นและทำเป็นอุตสาหกรรมส่งไปขายทั่วโลก วุ้นที่มีคุณภาพดีได้มาจากสาหร่าย *Gelidium* สามารถแข็งตัวได้เมื่อใช้เพียง 1 เปอร์เซ็นต์ (Trainor, 1978 อ้างถึงใน กาญจนภาชน์, 2527)

แอลจิเนต เป็นสิ่งสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล ซึ่งค้นพบในศตวรรษที่ 19 นี้เอง สาหร่ายที่นำมาทำแอลจินมีหลายชนิด เช่น *Macrocystis, Laminaria, Fucus, Ascophyllum* และ *Cystoseira* สารชนิดนี้อยู่ที่ผนังเซลล์และช่องระหว่างเซลล์ ในรูปของกรดแอลจินิก (ไม่ละลายน้ำ) และเกลือแอลจิเนต (ละลายน้ำได้) เมื่อสกัดออกมาจะอยู่ในรูปของโซเดียมแอลจิเนต ซึ่งละลายน้ำได้ดี เมื่อละลายน้ำแล้วได้สารละลายข้น เหนียว นิยมใช้กันมากในอุตสาหกรรมหลายอย่าง ได้แก่ อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมกระดาษ เพื่อป้องกันการซึมของหมึก ทำให้เห็นตัวพิมพ์ชัดเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขึ้น อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น แชมพูสระผม ครีมโกนหนวดและอุตสาหกรรมยา (กาญจนภาชน์, 2527)

คาร์ราจีแนน เป็นไฟโตคอลลอยด์ที่คล้ายวุ้น แต่มีปริมาณเถ้าสูงกว่าและต้องใช้ความเข้มข้นมากกว่าจึงจะแข็งตัวได้ สกัดได้จากสาหร่ายสีแดงสกุล *Chondrus* , *Gigartina* และ *Eucheuma* คาร์ราจีแนนเป็นพวกซัลเฟตแลกแตน ซึ่งละลายน้ำได้ดี (กาญจนภาชน์, 2527)

มีการค้นพบว่าสาหร่ายสีแดง *Porphyridium* สามารถผลิตซัลเฟตโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีและคุณสมบัติ (ความหนืด) คล้ายคาราจีแนน โพลีแซคคาไรด์จาก *Porphyridium aerugineum* ได้รับการจดสิทธิบัตรในสหรัฐอเมริกา เพื่อใช้ในการแทนที่น้ำมันปิโตรเลียมออกมาจากแหล่งใต้ดิน (Aqueous driving fluid) (อาภารัตน์และคณะ, 2539)

2.2.6 **ใช้ประโยชน์อื่น ๆ** อาทิเช่น Diatomaceous earth หรือ Diatomite มีชื่อทางการค้าว่า Kieselguhr เป็นดินที่เกิดจากเปลือกของไดอะตอมที่ตายแล้วทับถมกันมานานนับล้านปี นำมาใช้ประโยชน์ช่วยในการกรองน้ำยาต่าง ๆ เพราะไม่เกิดปฏิกิริยากับสารที่กรอง ต่อมานำมาทำฉนวนกันความร้อนในอุปกรณ์ไฟฟ้าและเตาเผาความร้อนสูง นอกจากนี้ยังนำมาใช้เป็นผงขัดเงาโลหะต่าง ๆ ได้อีกด้วย (กาญจนภาชน์, 2527)

2.3 วิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย

ในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายนั้นมีหลายวิธีแตกต่างกันออกไป ซึ่งจะขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย และตัวสารออกฤทธิ์นั้นๆ

El-Masryและคณะ (1995) ได้รายงานถึงการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายทะเลสายพันธุ์ต่างๆจำนวน 17 สายพันธุ์ที่ได้จากชายฝั่งของประเทศอียิปต์ เพื่อยับยั้งการเกิดกลุ่มเซลล์ที่เกิดจากการติดเชื้อของแบคทีเรีย *Agrobacterium tumefaciens* วิธีการสกัดทำได้โดยการนำสาหร่ายที่ได้มาทำให้แห้งโดยความร้อนที่ 40 องศาเซลเซียสจนได้น้ำหนักที่คงที่ จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องบด แล้วนำมาสกัดด้วยเฮกเซนปริมาตร 62.5 มิลลิลิตร 5 ครั้งโดยของเหลวที่ได้จะทิ้งไป จากนั้นนำสาหร่ายมาสกัดต่อด้วยเอทานอลปริมาตร 62.5 มิลลิลิตร 4 ครั้ง นำของเหลวที่ได้จากการสกัดมารวมกันและทำให้เข้มข้นโดยใช้เครื่องระเหยที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทำการเก็บสารสกัดที่ได้ไว้ในอุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงนำมาทำการทดสอบบนชิ้นมันฝรั่ง พบว่าสามารถยับยั้งการเกิดกลุ่มเซลล์ที่เกิดจากการติดเชื้อของ *Agrobacterium tumefaciens* และพบว่าสาหร่าย 3 สายพันธุ์ คือ *Codium tomentosum* ที่เก็บจากฤดูหนาว *Jania rubens* ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เก็บจากฤดูร้อน และ *Padinia paronia* ที่เก็บจากฤดูหนาว มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเพิ่มกลุ่มเซลล์ที่เกิดจากการติดเชื้อของแบคทีเรีย *Agrobacterium tumefaciens* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วนิดา (2545) ทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายทะเลโดยการใช้สาหร่ายทะเลสายพันธุ์ *Caulerpa lentillifera, Enteromorpha intestinalis, Padina japonica, Sargassum polycystum, Turbinaria conoides, Ulva reticulata* ทำการสกัด 2 วิธี คือวิธีที่ 1 สกัดโดยใช้สาหร่ายสดสายพันธุ์ละ 50 กรัมต่อเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 (เอทานอล : น้ำกลั่น) 100 มิลลิลิตร จากนั้นตีป่นให้ละเอียด และวิธีที่ 2 สกัดโดยใช้สาหร่ายทะเลแห้ง 10 กรัม ต่อเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง นำส่วนของเหลวไปทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยใช้วิธีวัดขนาดโซนใส

ชลธิชาและชัยสิทธิ์ (2545) สกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ทำโดยวิธีสกัดแบบลำดับส่วนโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน คลอโรฟอร์มและเมทานอลตามลำดับ เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย สกัดโดยวิธีทำให้เซลล์สาหร่ายแตก จากนั้นใช้ตัวทำละลายดังกล่าวและเซลล์สาหร่าย ในอัตราส่วน 1:1 โดยเทียบเป็นมิลลิลิตรของสารละลายต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้งมาสกัด ซึ่งจะใช้เวลา 48 ชั่วโมงในการสกัดแต่ละตัวทำละลาย แล้วนำแต่ละชั้นของตัวทำละลายมาทำให้แห้ง จากนั้นจึงนำสารสกัดแต่ละชั้นมาทำละลายในเมทานอล

พงศ์ธรและคณะ (2544) สกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยการสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดพร้อมๆกัน ซึ่งวิธีการสกัดนั้นทำได้โดย การนำเซลล์สาหร่ายไปทำให้แตกโดยเครื่องทำให้เซลล์แตกด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (Sonics vibra cell) แล้วสกัดด้วยตัวทำละลาย อันประกอบไปด้วย น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ, เมทานอล และคลอโรฟอร์ม ในอัตราส่วน 1:2:1 โดยเทียบเป็นมิลลิลิตรของสารละลายต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง สารละลายจะแบ่งได้เป็น 3 ชั้น เลือกชั้นที่เป็นคลอโรฟอร์ม แล้วนำไประเหยแห้งแบบลดความดันจนสารสกัดแห้ง จากนั้นนำมาทำละลายในเมทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายชนิดต่าง ๆ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายจะมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียเป็นส่วนใหญ่ ตามด้วยเชื้อราและยีสต์ (Vlachosและคณะ, 1997) นอกจากนี้ยังเป็นสารต้านไวรัส สารฆ่าพยาธิ สารห้ามเลือดและสารป้องกันการอักเสบ (อาภารัตน์และคณะ, 2539) เราจึงสามารถนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชกรรม เครื่องสำอางและอุตสาหกรรมอาหาร (กาญจนภาชน์, 2527)

EL-Masryและคณะ (1995) ได้ทำการทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายทะเล 17 สายพันธุ์ ที่ทำการรวบรวมจากชายฝั่งในประเทศอียิปต์มาทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* ซึ่งก่อให้เกิดโรค crown gall ในมันฝรั่ง พบว่าสาหร่ายสายพันธุ์ *Codium tomentosum, Jania rubens* และ *Padina pavonia* สามารถยับยั้งการเกิด crown gall ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Hellioและคณะ (2001) ได้ทำการทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายทะเลจำนวน 30 สายพันธุ์จากชายฝั่งในประเทศฝรั่งเศส มาทำการสกัดด้วยน้ำ เอทานอลและไดคลอโร-มีเทนมายับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่แยกได้จากทะเล โดยสาหร่ายทะเลในแต่ละสายพันธุ์จะได้สารสกัด 3 ชนิด คือ ชนิดที่ 1 สกัดด้วยน้ำ ชนิดที่ 2 สกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนและชนิดที่ 3 สกัดด้วยเอทานอล พบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายที่สกัดโดยตัวทำละลายได-คลอโรมีเทนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่นำมาทดสอบได้ ส่วนแบคทีเรียแกรมบวกจะถูกยับยั้งการเจริญโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่ายทะเลที่สกัดจากเอทานอลและสกัดได้จากไดคลอโรมีเทน ส่วนสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดด้วยน้ำจะไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้เลย

วนิดา (2545) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาหร่ายทะเล โดยเตรียมการสกัดสาหร่ายทะเล 2 วิธี คือ วิธีสกัดสาหร่ายทะเลสดและวิธีสกัดสาหร่ายทะเลแห้ง พบว่า สารสกัดจากสาหร่ายสด *Caulerpa lentillifera* สามารถยับยั้ง *Bacillus cereus* สารสกัดจากสาหร่าย *Enteromorpha intestinalis* ยับยั้งเชื้อ *Vibrio cholerae* สารสกัดจากสาหร่าย *Turbinaria conoides* ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus Bacillus cereus* และ *Escherichia coli*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนสารสกัดจากสาหร่ายแห้ง *Caulerpa lentillifera* ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* สารสกัดจากสาหร่าย *Ulva reticulata* ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus* และ *Escherichia coli* สารสกัดจากสาหร่าย *Padina japonica* ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* สารสกัดจากสาหร่าย *Sargassum polycystum* และสารสกัดจากสาหร่าย *Turbinaria conoides* มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* ได้เช่นเดียวกัน

การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายในประเทศอินเดีย จะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตเฉพาะเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ (Rao และ Parekh, 1981 อ้างถึงในชลธิชาและชัยสิทธิ์, 2545)

Reichelt และBorowitzka (1984, อ้างถึงใน วนิดา, 2545) รายงานว่า สารสกัดจากสาหร่าย *Caulerpa* spp. และ *Sargassum* spp. จะยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และไม่ยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ส่วนสารสกัดจากสาหร่าย *Enteromorpha intestinalis* และ *Gracillaria* spp. ไม่ยับยั้งทั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ซึ่งในสารสกัดจากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล จะมีสารประกอบฟีนอล (Phenols) ซึ่งมีประสิทธิภาพยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (Baker, 1984 อ้างถึงใน วนิดา, 2545)

Changและคณะ (1993) พบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเลสายพันธุ์ *Dunaliella primolecta* C-525 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Bacillus subtilis* และ*Enterobacter aerogenes* จากนั้นจึงนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายชนิดนี้มาแยกให้บริสุทธิ์ โดยผ่านลงในคอลัมน์ Sephadex LH-20 ผลที่ได้จากการแยกจะเกิด 3 พีค (Peak) พีคแรกมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 1300 ส่วนพีคที่สองและพีคที่สามนั้น มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 300-400 ทำให้สรุปได้ว่าสาหร่ายทะเลสายพันธุ์ *Dunaliella primolecta* C-525 มีสารที่ทำหน้าที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด

Prattและคณะ (1944) พบว่าสาหร่าย *Chlorella vulgaris* และ *Chlorella pyrenoidosa* สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bacillus subtilis , *Bacterium coli* , *Staphylococcus aureus* , *Streptococcus pyogenes* และ*Pseudomonas aeruginosa* และเรียกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้ว่าคลอเรลลิน(Chlorellin) ซึ่งมีลักษณะเป็นยางเหนียวสีน้ำตาลหรือสีเข้ม (Berdyและคณะ,1982) ประกอบด้วยคาร์บอน 77.35 เปอร์เซ็นต์ ไฮโดรเจน 11.66 เปอร์เซ็นต์และออกซิเจน 10.99 เปอร์เซ็นต์ (ทวีศักดิ์, 2540 อ้างจาก Smith , 1951)

Changและคณะ (1993) รายงานว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายเป็นสารประกอบในกลุ่ม กรดไขมัน (Fatty acid) เทอร์พีน (Terpene) สารประกอบคาร์บอนิล (Carbonyl compound) และโบรโมฟีนอล (Bromophenol)

AllenและDawson (1960) ทำการทดลองโดยนำสาหร่ายทะเลสายพันธุ์ต่างๆจากชายฝั่งทะเลตะวันตกของประเทศสหรัฐอเมริกาและประเทศเม็กซิโก ได้แก่ *Cladophoropsis gracillima, Dictyota divaricata, Enteromorpha prolifera, Enteromorpha compressa* และ*Derbesia* sp. นำมาแช่แข็งทันที แล้วทำให้ละลาย (Thaw) จากนั้นนำมาแช่ในน้ำกลั่น แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เติมตัวทำละลายเมทานอล ให้เมทานอลมีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับร้อยละ 80 เมทานอลที่ละลายอยู่ในสารละลายจะสามารถระเหยได้ที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งสารสกัดที่ได้จะมีสีใส จนถึงสีเหลืองอ่อน มีคุณสมบัติเป็นกลาง โดยสารที่สกัดได้นี้สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ เช่น *Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus* และ *Mycobacterium smegmalis* แต่ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa*

Gonzalesและคณะ (2001) ได้สกัดสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จากสาหร่ายทะเลที่ได้มาจากเกาะคานารี (Canary Island) ประเทศสเปน จำนวน 44 สายพันธุ์ พบว่าสาหร่ายทะเลสายพันธุ์ *Cymopolia barbata* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบได้ดีที่สุด ได้แก่ *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albican*, *Aspergillus fumigatus* และ *Saccharomyces cerevisiae* โดยมีวิธีการสกัดสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ คือ นำสาหร่ายที่ได้มาทำให้แห้งที่อุณหภูมิต่ำ (lyophilized) จากนั้นนำมาสกัดด้วยเมทานอล เขย่าเป็นเวลา 15 นาที แล้วทำการปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 15 นาที และทำสารสกัดให้แห้ง แล้วละลายด้วยเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นจึงหยดลงบนแผ่นทดสอบ 25 ไมโครลิตร เพื่อทดสอบการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nezhaและคณะ (2003) ทำการสกัดสาหร่ายทะเลเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์และยับยั้งการสร้างสารพิษในเชื้อรา โดยใช้สาหร่ายทะเลสายพันธุ์ *Cystoseira tamariscifolia* ที่เก็บจากชายฝั่งมหาสมุทรแอตแลนติค (Atlantic Ocean) นำมาล้างด้วยน้ำประปาเพื่อขจัดเกลือออกให้หมด จากนั้นล้างสาหร่ายด้วยน้ำกลั่น ทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วปั่นให้ละเอียด โดยจะทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล เฮกเซน เอทานอล คลอโรฟอร์มและน้ำกลั่น ทำการทดสอบกับเชื้อยีสต์จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae, Kluveromyces* sp., *Debaryomyces* sp., *Pichia* sp., *Rhodotorula* sp. และ *Candida albicans* และเชื้อราที่สร้างสารพิษจำนวน 2 สายพันธุ์ คือ *Penicillium* sp. และ *Aspergillus flavus* พบว่าสาหร่ายทะเลสาย-พันธุ์ *Cystoseira tamariscifolia* ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่มีความเข้มข้นของสารสกัดร้อยละ 10 จะสามารถยับยั้งเชื้อยีสต์และเชื้อราได้ทุกสายพันธุ์ ในขณะที่การสร้างสารพิษในเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์นั้น จะถูกยับยั้งโดยการสกัดจากตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นของสารสกัดร้อยละ 5 ส่วนการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล เฮกเซน คลอโรฟอร์มและการสกัดด้วยน้ำกลั่นจะไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และเชื้อราได้เลย

Borowitzka (1999) ได้แยกสาหร่ายในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Cyanobacteria) มากกว่า 1,000 สายพันธุ์ เพื่อหาสายพันธุ์ที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราและยีสต์ พบว่ามีสาหร่ายมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ที่สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการได้ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ เช่น *Tolypothrix tjipanensis* จะประกอบด้วย Tjipanazole ซึ่งเป็น Indole (2 , 3 – a) carbazoles คล้ายกับที่พบในพวกเชื้อรา แอคติโนมัยซิสและราเมือก สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพถูกจำแนกตามความแตกต่างทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพตัวแรกที่แยกได้จากสาหร่าย คือ สารAcrylic acid ซึ่งจะสามารถพบได้ในสาหร่ายทั่วๆไป ส่วนสารDimethylsulphide เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่ายกลุ่ม Chrysophyta ประกอบด้วยกรดไขมัน เช่น γ - Linolenic acid และ Eicosapentaenoic acid ซึ่งจะพบมากในสาหร่ายกลุ่มนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลา

แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ขนาดเล็ก ประกอบด้วยเซลล์เพียงเซลล์เดียว มีขนาดประมาณ 0.5-10 ไมโครเมตร สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มโดยการจัดจำแนกตามรูปร่างลักษณะได้ 3 ลักษณะ คือ รูปร่างกลม (Coccus) รูปร่างแท่ง (Rod) และรูปร่างเป็นเกลียว (Spiral) โดยปกติแบคทีเรียจะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มเรียกว่า โคโลนี (Colonies) ซึ่งสามารถมองเห็นได้ เมื่อแยกแบคทีเรียออกเป็นเซลล์เดี่ยวแล้วจะไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า แต่สามารถมองผ่านกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400-1,000 เท่าได้ แบคทีเรียสามารถแบ่งตามการติดสีเมื่อนำไปย้อมสีแกรมได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ

1. แบคทีเรียแกรมบวก เมื่อย้อมสีแกรมแบคทีเรียแกรมบวก จะติดสีม่วงน้ำเงินของ Crystal violet เท่าที่พบแบคทีเรียกลุ่มนี้จะก่อให้เกิดโรคในปลาน้อยกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ตัวอย่างแบคทีเรียที่เป็นแกรมบวก เช่น *Streptococcus* ซึ่งจะมีรูปร่างเป็นเซลล์กลม ๆ ต่อกันเป็นสายและ Mycobacteria ซึ่งเป็นแบคทีเรียทนกรด เป็นต้น

2. แบคทีเรียแกรมลบ เมื่อย้อมสีแกรมแบคทีเรียแกรมลบจะติดสีส้มแดงของ Safanin O ตัวอย่างแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Aeromonas* และ *Vibrio* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดแผลตามลำตัว ท้องบวมและตกเลือด แบคทีเรีย *Flexibacter columnaris* ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคตัวด่าง เป็นต้น

การติดสีแกรมของแบคทีเรียมีผลมาจากปัจจัยหลายประการ เช่น โครงสร้างทางเคมีของผนังเซลล์ ความหนาของเซลล์แบคทีเรีย ระยะเวลาในการย้อมสีและอายุแบคทีเรีย การจำแนกแบคทีเรียนี้จะเป็นประโยชน์ประกอบการตัดสินใจเลือกยาที่ใช้ในการรักษาโรคให้มีประสิทธิภาพสูงสุด (กัญจนาและคณะ, 2538 อ้างถึงใน คีรี, 2545)

แบคทีเรียตามธรรมชาติบางชนิดเป็นสาเหตุของการเกิดโรคของสัตว์น้ำ ในน้ำที่ปลาอาศัยอยู่ก็มีแบคทีเรียเช่นเดียวกัน ดังนั้นเมื่อปลาอ่อนแอหรือเกิดความเครียดเมื่อใดแบคทีเรียเหล่านี้ก็อาจทำให้เกิดโรคได้ (White, n.d. อ้างถึงใน คีรี, 2545) สาเหตุที่ทำให้ปลาเครียดมีหลายประการ เช่น คุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงปลาไม่ดีเนื่องจากพรรณไม้น้ำเน่า มีเศษอาหารเหลือมาก หรืออัตราการปล่อยปลาหนาแน่น สาเหตุเหล่านี้กระตุ้นให้แบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดีทั้งสิ้น (Mills, 1996 อ้างถึงใน คีรี, 2545) โรคของปลาที่เกิดจากแบคทีเรียมีหลายโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายกับผู้เลี้ยงปลา เช่น วัณโรคปลา โรคท้องบวม โรคครีบกร่อน โรคตัวด่างและโรคแผลตามลำตัว เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 **เชื้อ** *Aeromonas hydrophila , Aeromonas sobria*

ชื่อโรค Motile Aeromonas Septicemia (MAS)

ประวัติของโรค

ลักษณะเฉพาะของโรคจะมีการสะสมของเหลวจนท้องบวมน้ำ (Ascetic fluid) จนกระทั่งเกล็ดปลาตั้งพอง (รูปที่ 2.1) จึงให้ชื่อลักษณะอาการเหล่านี้ว่า Dropsy (ปภาศิริ, 2537) มักเกิดกับปลาไน โดยแบคทีเรียและไวรัส อาการของโรคคือท้องบวม มีแผลตามลำตัว กระดูกสันหลังผิดปกติ การป้องกัน คืออย่าปล่อยปลาที่นำมาจากแหล่งอื่นลงเลี้ยงรวมกับปลาในบ่อ (เมฆ, 2530)

การแพร่กระจายและชนิดของปลาที่เป็นโรค

โรค Motile Aeromonas Septicemia มีการแพร่กระจายทั่วโลก ทำอันตรายต่อการเลี้ยงปลาน้ำจืดอย่างมาก มีข้อสมมติฐานที่คิดว่าโรคนี้เกิดจากไวรัส และ *Aeromonas hydrophila* แต่ส่วนมากจะเกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* เพราะไวรัสจะมีชีวิตได้ต้องอาศัยในเซลล์ที่มีชีวิต (ปภาศิริ, 2537)

โรค Motile Aeromonas Septicemia ทำอันตรายต่อกลุ่มปลาคาร์พทุกชนิดและปลาอื่นๆ ที่เลี้ยงรวมกันในบ่อ ปลาสวยงาม กลุ่มปลาช้ลมอนโดยเฉพาะปลาเทร้าและปลาชนิดอื่นในเขตร้อน (ปภาศิริ, 2537)

อาการของโรค

ลักษณะภายนอกของปลาที่เป็นโรค Motile Aeromonas Septicemia ตามครีบและผิวตัว ลักษณะท้องบวมน้ำ ตาโปน เกล็ดตั้งพอง สีผิวตัวเปลี่ยนไปในทางเข้มขึ้น ลักษณะภายในเมื่อเปิดช่องท้องจะมีน้ำขุ่นสีเลือด ตับซีดจาง ไตบวม อวัยวะภายในทั้งหมดตกเลือดทั่วไป ปลาว่ายน้ำเสียการทรงตัว ความรุนแรงของโรคมี 4 ระดับ (ปภาศิริ, 2537)

1. Acute form ปลาตายอย่างรวดเร็วและจำนวนมาก ภายใน 1-2 วัน โดยไม่ปรากฏอาการภายนอกให้เห็น เมื่อเปิดช่องท้องพบอวัยวะภายในตกเลือด

2. Subacute form ปลาที่ตายจะมีอาการท้องบวมน้ำ (Dropsy) แผลพอง (Blisters) ฝี (Abscesses) และเกล็ดตั้งพอง (Scale protrusion)

3. Chronic form ลักษณะปลาป่วยเป็นแผลลึกถึงชั้นกล้ามเนื้อ (Ulcerous) และฝีปลาที่รอดตายจากอาการนี้จะเป็นแผลสีดำเห็นชัด

4. Latent form ปลาไม่แสดงอาการของโรคทั้งภายนอกและภายใน ปลาที่มีเชื้ออยู่จะเป็นพาหะของโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในประเทศไทยพบว่าเชื้อนี้เกิดในปลาดุกมีชื่อว่า โรคครีบหูบวม อาการของโรคที่สำคัญคือ โคนครีบหูแดง มีแผลตกเลือดทั้งตัว ช่องท้องมีน้ำขุ่นปนเหลือง ตับและม้ามบวมโต ในปลาช่อน อาการของโรคปลาจะเป็นแผลเน่าตามลำตัว เนื้อแหว่งเป็นแผลลึก ท้องทะลุ ลำตัวซีด ตาโปนและขุ่น (ปภาศิริ, 2537)

2.5.2 **เชื้อ** *Pseudomonas fluorescens*

ชื่อโรค Pseudomonad Septicemia

การแพร่กระจายและชนิดของปลาที่เป็นโรค

พบได้ทั่วไปในโลกทั้งน้ำจืดและทะเลการระบาดของโรคส่วนใหญ่จากปลาในบ่อเลี้ยง ปลาสวยงามต่าง ๆ จำพวก Mirror and Lesther Carps ปลา Goldfish

อาการของโรค

ปลาที่ติดเชื้อ Pseudomonad Septicemia มักจะอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่ไม่ดีเนื่องจากการเลี้ยงรวมกันหนาแน่นมากเกินไป ความไม่สมดุลของอาหาร จะทำให้ปลาอ่อนแอ ทำให้เชื้อ *Pseudomonas fluorescens* จะเข้าทำลายเป็น Secondary Infection ทันที ปลาที่ติดเชื้อจะมีอาการเหมือนกับการติดเชื้อ *Aeromonas hydrophila* จะมีจุดเลือดตามผิวตัวและครีบ รวมทั้งช่องท้องและอวัยวะภายในทั้งหมด ท้องบวมน้ำ (รูปที่ 2.2) ผิวสีตัวเปลี่ยนไป เมื่อเขี่ยเชื้อย้อมสีจะพบว่ามีการสร้าง Capsule ล้อมรอบตัวและมีการสร้างเมือกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (ปภาศิริ, 2537)

2.5.3 **เชื้อ** *Edwardsiella tarda*

ชื่อโรค Edwardsiella Septicemia

ประวัติของโรค

การศึกษาการระบาดของโรค Edwardsiella Septicemia มีมาตั้งแต่ ค.ศ. 1969 เนื่องจากลักษณะเฉพาะของโรคจึงมีการเรียกชื่อโรคนี้ว่า Emphysematous Putrefactive Disease of Catfish ชื่อนี้เป็นการอธิบายลักษณะของโรคได้ดี แต่ได้รับการยอมรับไม่มากเท่าที่ควร ดังนั้นต่อมาจึงยอมรับชื่อ Edwardsiella Septicemia ใน ค.ศ. 1974

โรคชนิดนี้เกิดขึ้นในฤดูร้อน เมื่ออุณหภูมิของน้ำเกิน 30 องศาเซลเซียส ปลาขนาดใหญ่จะเป็นโรค (ความยาว 28-50 เซนติเมตร)

แบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคนี้คือ *Edwardsiella tarda* เป็นพวกแบคทีเรียแกรมลบมีแส้จำนวนมากรอบเซลล์ (Peritrichous flagella) เคลื่อนที่ได้ ไม่สร้างสปอร์ รูปร่างเป็นแท่งสั้น สร้างกรดและก๊าซจากกลูโคส และสร้างกรดจากแมนนิทอล แต่ไม่ทำปฏิกิริยาก๊าซกับคาร์โบไฮเดรต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อื่นๆ สามารถผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์และอินโดล เป็นพวกที่เจริญทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobic) อุณหภูมิที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตประมาณ 35 องศาเซลเซียส (ปภาศิริ, 2537)

การแพร่กระจาย

Edwardsiella tarda เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคปลา ในแถบตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศอเมริกาและในประเทศญี่ปุ่น ในประเทศไทยมีรายงานการพบในปลาที่ป่วยเป็นโรคแต่ไม่พบมากนัก แบคทีเรียชนิดนี้พบได้ทั่วไปในลำไส้ของงูและบางครั้งพบในอุจจาระของคน

ปลาที่เป็นโรค

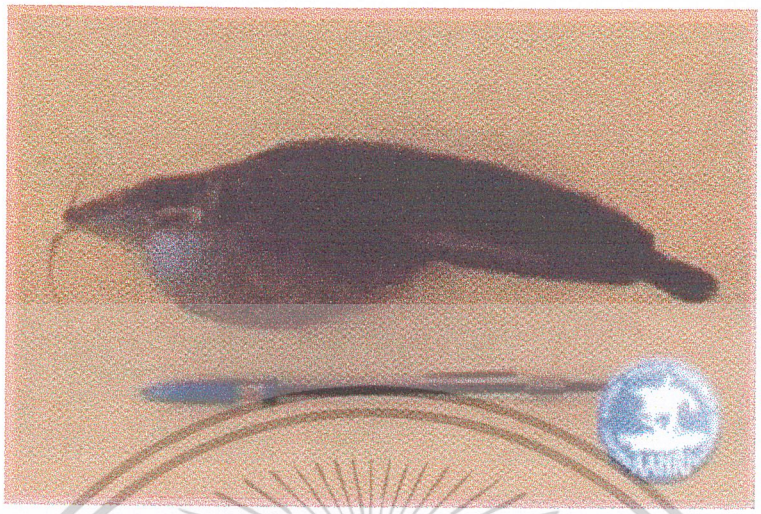
Edwardsiella tarda ทำให้เกิดโรคในปลา Channel catfish จะเกิดเป็นฝีในกล้ามเนื้อตามแนวด้านข้างของลำตัวและบริเวณโคนหาง ฝีอาจขยายใหญ่จนเกิดเป็นช่องว่างขนาดใหญ่เต็มไปด้วยก๊าซที่มีกลิ่นเหม็น ในที่สุดปลาจะสูญเสียการทรงตัว

จากการทดลองฉีดเชื้อ *Edwardsiella tarda* ปลา Channel catfish จะมีอาการตกเลือดในอวัยวะภายใน แผลต่าง ๆ ที่พบจากโรคที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ เช่น แผลบนผิวหนัง จะไม่พบกับปลาทดลองที่ฉีดเชื้อเข้าไป (ปภาศิริ, 2537)

รูปที่ 2.1 ลักษณะของปลาที่เป็นโรคเกล็ดตั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



รูปที่ 2.2 ลักษณะของปลาที่เป็นโรคท้องบวม

2.6 แบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรคในปลา

เชื้อ *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Micrococcaceae มีรูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8-1.0 ไมโครเมตร ติดสีแกรมบวก อยู่รวมกันเป็นกระจุกเหมือนพวงองุ่น หรือเป็นคู่ต่อเป็นสายสั้นๆ ไม่สร้างสปอร์และไม่เคลื่อนที่ โคโลนีมีสีเหลืองทอง ให้ผลบวกกับการทดสอบโคแอกกูเลส (Coagulase) และเจริญได้ในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน สามารถใช้น้ำตาลสำหรับการเจริญได้หลายชนิด สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีเกลือสูงถึงร้อยละ 10 ทนต่อความร้อนได้สูงถึง 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีและสามารถสร้างเอนไซม์ไลเปส โปรติเอสและเพนนิซิเลส ได้ นอกจากนี้ยังสามารถสร้างสารพิษ (Enterotoxin) ซึ่งเป็นสารประกอบพวกโปรตีนที่ละลายน้ำได้ ทนต่อความร้อนและเอนไซม์ในกระเพาะอาหารได้ดี ซึ่ง *Staphylococcus aureus* จะสร้างสารพิษได้ดีในสภาวะที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อยู่ประมาณร้อยละ 30 (หยาดรุ้ง, 2544)

Staphylococcus พบได้ในคนและสัตว์เลือดอุ่น โดยเฉพาะในคนที่มีผิวหนังผิดปกติ เช่น เป็นฝี แผลผ่าตัด แผลอักเสบ และยังมักก่อให้เกิดโรค Mastitis ในสัตว์ โดยเฉพาะโค กระบือ แพะ และแกะ (วันทนา, 2538)

Staphylococcus aureus มีความคงทนต่อสภาพแวดล้อมดีมาก มักก่อให้เกิดน้ำเน่าเสียในระยะยาว (Borregoและคณะ, 1987 อ้างถึงใน วันทนา, 2538) เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคที่สำคัญที่ผิวหนัง เช่น ฝี การติดเชื้อของแผลผ่าตัด แผลอักเสบ เป็นต้น คนที่เป็นพาหะของเชื้อนี้ไม่ได้พบเฉพาะคนที่กำลังเป็นโรคเนื่องจากการติดเชื้อเท่านั้น แต่พบในคนที่มีสุขภาพดีด้วย นอกจากนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

58537

Staphylococcus aureus ยังพบตามส่วนอื่นๆ ของร่างกายได้อีก เช่น ผิวหนัง ในจมูก คอและผม บางครั้งพบในอุจจาระด้วย จมูกเป็นแหล่งสำคัญที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนในอาหารโดยพบในรูจมูก ร้อยละ 10-40 และพบในโพรงจมูกทีปริมาณเชื้อมากกว่า 10^3 CFU/swab (VarnamและEvan, 1991 อ้างถึงใน วันทนา, 2538)

2.7 ยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน

เป็นยาต้านจุลชีพที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เป็นอนุพันธ์ของ Hydronaphthacene เช่น เตตราซัยคลิน ออกซีเตตราซัยคลินและคลอเตตราซัยคลิน (กองบรรณาธิการ LAB.TODAY, 2545)

กลุ่มยาเตตราซัยคลินมีลักษณะเป็นผลึกสีเหลือง รสขมและละลายน้ำได้จำกัดที่พีเอช 7 มีฤทธิ์สูงสุดที่พีเอชระหว่าง 5.5-6.0 ภายใต้อุณหภูมิและพีเอชที่ไม่เหมาะสม ยากลุ่มนี้จะเกิดการสลายตัว เช่น ที่พีเอชต่ำกว่า 2 จะกลายเป็น Anhydrotetracycline ซึ่งไม่มีฤทธิ์ในการรักษาโรค นอกจากนี้ ถ้าพีเอชสูง ยาคลอเตตราซัยคลินจะสลายตัวได้เร็วเปลี่ยนเป็น Isotetracycline ทันทีที่พีเอช 7.5 (กองบรรณาธิการ LAB.TODAY, 2545) ไม่ละลายในคลอโรฟอร์ม อะซีโตนและอีเทอร์ ยากลุ่มนี้สามารถออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวกและลบในกลุ่ม Streptococci, Staphylococci (Micrococci), Anthracoids, กลุ่ม Coliform และ Salmonellae นอกจากแบคทีเรียแล้วยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของริกเกตเซียและโปรโตซัวบางชนิด แต่ไม่มีผลต่อจุลชีพพวกยีสต์ราเมือก (Moulds) และเชื้อราอื่นๆ (ประสบ, 2528 อ้างถึงใน ลัดดาวัลย์, 2541)

ยาในกลุ่มเตตราซัยคลิน สามารถรวมตัวกับอิออนพวกไดวาเลนท์และไตรวาเลนท์เป็นสารประกอบที่ไม่ละลายน้ำ ถ้ายากลุ่มเตตราซัยคลินรวมตัวกันกับอิออนก่อนที่จะสลายตัวในกระเพาะอาหารแล้ว ยาก็จะไม่มีการดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิตเลย ดังนั้นการผลิตยากลุ่มเตตรา-ซัยคลินต้องเตรียมยาให้ในรูปของเกลือ (ไฮโดรคลอไรด์) หรือในรูปอื่นๆ ที่ทำให้ยาไม่สามารถไปรวมตัวกับโลหะโดยเฉพาะแคลเซียมได้ (กองบรรณาธิการ LAB.TODAY, 2545)

ยาปฏิชีวนะในกลุ่มเตตราซัยคลินที่ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวางในทางการเกษตร คือ เตตราซัยคลิน (Tetracycline), คลอเตตราซัยคลิน (Chlortetracycline) และออกซิเตตราซัยคลิน (Oxytetracycline) (Huber, 1971 อ้างถึงใน ลัดดาวัลย์, 2541)

การใช้ยาเตตราซัยคลินในสัตว์น้ำ

ชลอ (2528) กล่าวว่าการใช้ยาผสมกับอาหารต้องขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ถ้าเปลี่ยนแปลงไปก็จะมีผลต่อการกินอาหารของปลา และการแพร่กระจายของยาในน้ำอีกด้วย การฉีดเข้าทาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กล้ามเนื้อ ยาจะถูกดูดซึมเข้าระบบของปลาได้ไม่เร็วพอที่จะมีผลในการรักษาปลา ดังนั้นปลาจึงตายก่อนที่ยาจะออกฤทธิ์ ส่วนการฉีดเข้าช่องท้องเป็นวิธีการที่เร็ว ยาจะถูกดูดซึมและผ่านเข้าผนังลำไส้ผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่ออื่นเข้าตัวปลาได้ดี แต่ในทางการค้าแล้วทำไม่ได้ เว้นเสียแต่เป็นปลาที่มีราคาและมีจำนวนน้อย ดังนั้นส่วนใหญ่จึงนิยมใช้วิธีแช่ปลาเพื่อควบคุมการติดเชื้อที่ผิว โดยมีการดูดซึมที่เหงือก

ลิลา (2534) กล่าวถึงลูกกุ้งที่ติดเชื้อ *Vibrio* sp. ซึ่งทำให้ลูกกุ้งอ่อนแอ ไม่กินอาหาร ว่ายน้ำช้า แพนหางขาดวิ่น ถ้าได้รับเชื้อที่รุนแรงลูกกุ้งจะตายภายใน 3 วัน แนะนำให้ป้องกันโดยใช้เตตราซัยคลิน ในอัตราความเข้มข้น 2-3 พีพีเอ็ม แช่ลูกกุ้งทุกครั้งที่มีการเคลื่อนย้าย

เตตราซัยคลินที่ผสมในอาหาร ประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ ของยาที่ผสมในอาหารเท่านั้นที่สัตว์น้ำจะรับเข้าไปและส่วนที่เหลืออาจละลายน้ำ หรือถ้าสัตว์น้ำได้รับเข้าไปก็จะขับถ่ายออกมาในรูปตัวยาเดิม จากการศึกษาตรวจพบเตตราซัยคลินในตะกอนดินที่อยู่ในบริเวณที่มีการใช้ยาและอาจมีผลให้เชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในบริเวณดังกล่าวเกิดดื้อยา (กองบรรณาธิการ LAB.TODAY, 2545)

ผลของยาปฏิชีวนะที่ตกค้างในผลิตภัณฑ์จากสัตว์

ยารักษาโรคสัตว์น้ำและยาป้องกันโรคบางตัว นอกจากจะเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำแล้วยังอาจสะสมอยู่ในตัวสัตว์น้ำมากพอที่จะเป็นอันตรายต่อมนุษย์ด้วย ยาหลายชนิดแม้จะใช้กับสัตว์น้ำที่มนุษย์บริโภคได้แต่จะต้องมีระยะหยุดยาตามที่กฎหมายของแต่ละประเทศกำหนดก่อนที่จะจับไปขาย ผู้ส่งออกกุ้งบางรายโดนส่งสินค้ากลับมา เพราะถูกตรวจสอบพบว่ามีปริมาณยาปฏิชีวนะมากเกินพิกัดที่กำหนด ยารักษาโรคสัตว์น้ำเหล่านี้ได้แก่ ยาปฏิชีวนะ จำพวกเตตราซัยคลิน คานามัยซิน เป็นต้น (สุภาพร , 2538)

ยาปฏิชีวนะที่ตกค้างจากสัตว์น้ำจะมีผลต่อมนุษย์ได้ 2 ทาง (ลัดดาวัลย์, 2541) คือ

1. อันตรายที่เกิดจากยาโดยตรง มักจะเป็นสารพิษต่อร่างกายใน 2 ลักษณะ คือ
   1.1 ชนิดรุนแรง (Acute toxicity) ขึ้นอยู่กับชนิด และขนาดของยาที่ได้รับโดยทั่วไปมักไม่สูงพอที่จะทำให้เกิดอันตรายอย่างรุนแรงเนื่องจากร่างกายมีการขับถ่ายออกไปเรื่อยๆ และในกระบวนการปรุงอาหารสามารถทำลายฤทธิ์ของยาลงได้
   1.2 ชนิดเรื้อรัง (Chronic toxicity) เป็นปัญหาระยะยาวที่สำคัญเนื่องจากยาสะสมอยู่ในร่างกายและอาจเปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่เป็นอันตรายได้
2. อันตรายที่เกิดขึ้นโดยอ้อม มี 2 กรณี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1 ทำให้เกิดการแพ้ เกิดขึ้นในคนที่ไม่เคยได้รับยานั้นมาก่อน หรือเคยได้รับมาก่อนก็ได้ แต่โดยส่วนใหญ่มักเป็นกับคนที่ร่างกายมีความไวต่อสารตัวหนึ่งตัวใดโดยเฉพาะ

2.2 เกิดการขยายตัวของเชื้อดื้อยา มีสาเหตุมาจาก

2.2.1 เชื้อดื้อยาจากผลิตภัณฑ์สัตว์สามารถถ่ายทอด R-factor ให้กับจุลินทรีย์ในร่างกายคน หรือโน้มนำ (Induce) ให้จุลินทรีย์ในร่างกายคน เกิดการดื้อยาขึ้นได้

2.2.2 ผลตกค้างของยาในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ จะเข้าสู่ร่างกายคนแล้วออกฤทธิ์ทำลายเชื้อที่ไวต่อยาและทำให้เชื้อดื้อยาเพิ่มจำนวนมากขึ้น

วิธีการใช้ยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินในการยับยั้งและกำจัดแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค

ปลาที่เป็นโรคจะสามารถรักษาได้โดยการแช่ปลาในยาต้านจุลชีพเตตราซัยคลิน ในอัตราส่วน 10-30 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร (สุปราณีและคณะ, 2546) หรือใช้ยาผสมในอาหารปริมาณ 50 มิลลิกรัมต่อปลา 1 กิโลกรัมต่อวัน กินติดต่อกันนาน 10 วัน (ปภาศิริ, 2537)

หน่วยความเข้มข้นของยาและสารเคมีที่ใช้รักษาโรคปลา (สุปราณีและคณะ, 2546)

1ส่วนในล้านส่วน (ppm) = ปริมาณของยา หรือสารเคมี 1 มิลลิกรัมต่อปริมาตรน้ำ 1ลิตร

= ปริมาณของยา หรือสารเคมี 1 กรัมหรือ 1000 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร หรือ 1000 ลิตร หรือ 1 ตัน

1ส่วนในพันส่วน (ppt) = ปริมาณของยา หรือสารเคมี 0.1 กรัม หรือ 0.1 มิลลิลิตรต่อปริมาตรน้ำ 100 มิลลิลิตร

= ปริมาณของยา หรือสารเคมี 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร

1 เปอร์เซ็นต์ (%) = 10000 ส่วนในล้านส่วน (ppm)

= ปริมาณของยา หรือสารเคมี 10 กรัม หรือ 10 มิลลิลิตรต่อปริมาตรน้ำ 1 ลิตร

= ปริมาณของยา หรือสารเคมี 1 กรัม หรือ 1 มิลลิลิตรต่อปริมาตรน้ำ 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ หน่วยเทียบเดียวกัน

1 มิลลิลิตร	=	1 ซีซี
1 กรัม	=	1000 มิลลิกรัม
1 ขีด	=	100 กรัม
1 กิโลกรัม	=	10 ขีด
1 กิโลกรัม	=	1000 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

1. เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter : HM-7E)
2. เครื่องเขย่า (Shaker : GALLENKAMP : SG 93)
3. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer : HACH DR/4000 V)
4. ชุดเลี้ยงสาหร่ายแบบให้อากาศ (Culture tube)
5. เครื่องชั่งน้ำหนักแบบละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartourius Analytic : A 2000 S)
6. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave : PANAPOLYTECH VS-1321-60)
7. ตู้เขี่ยเชื้อแบบลมเป่า (Laminar air flow : FASTER Bio 48)
8. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge : SANYO Falcon 6/300)
9. เครื่องระเหยแห้งแบบลดความดัน (Rotary evaporator : Heidolph LABOROTA 4001)
10. เครื่องทำให้เซลล์แห้งที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส (Freeze-dryer : Heto Lyolab 3000)
11. เครื่องทำให้เซลล์แตกด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (Sonics vibra cell : VCX 500)
12. กล้องจุลทรรศน์
13. กรวยแยก
14. ตู้อบเครื่องแก้ว (Hot air oven)
15. สารเคมีสำหรับเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวซึ่งเป็น Analytical grade
16. อาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย
17. แผ่นทดสอบ (Blank paper discs : Becton Dickinson)
18. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการทั่วไป
19. ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ เอทานอล ไดคลอโรมีเทน อะซีโตนและเมทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีดำเนินงานวิจัย

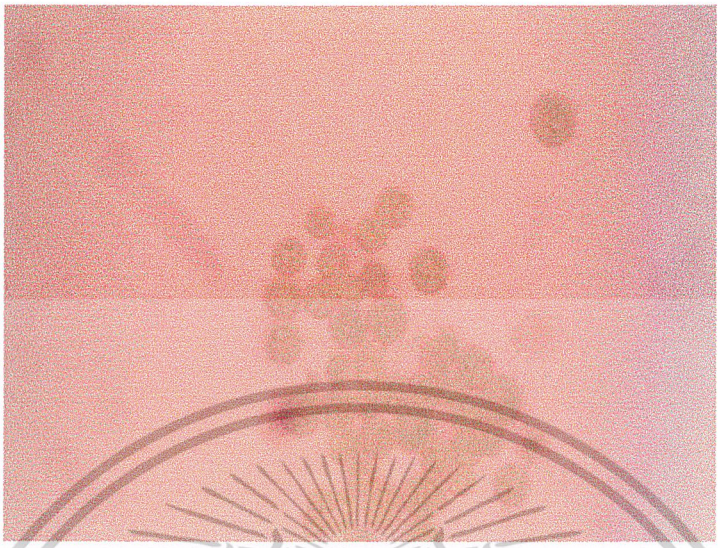
3.2.1 การเตรียมเชื้อสาหร่าย *Chlorella* sp.

นำเชื้อสาหร่าย *Chlorella* จำนวน 3 สายพันธุ์จากหลอดอาหารเอียงคือ *Chlorella* sp. TISTR 8445 , *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 (รูปที่ 3.1 , 3.2 และ3.3 ตามลำดับ)

รูปที่ 3.1 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445

รูปที่ 3.2 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



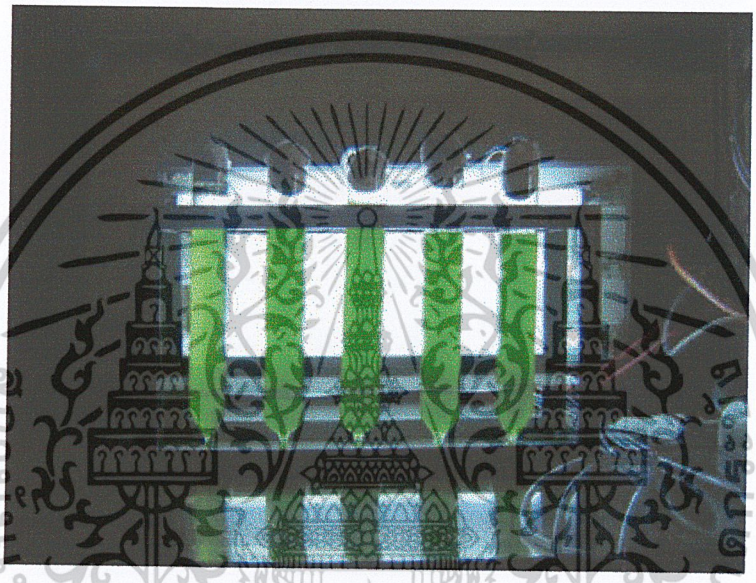
รูปที่ 3.3 ลักษณะเซลล์สาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261

จากนั้นนำมาเตรียมเป็นหัวเชื้อ โดยใช้สาหร่าย 1 หลอดอาหารเอียงมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร N-8 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเข้าเครื่องเขย่าที่มีความเร็ว 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้แสงฟลูออเรสเซ็นต์ที่มีความเข้มแสง 2,400 ลักซ์ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงใช้เวลา 14 วัน (รูปที่ 3.4)

รูปที่ 3.4 สาหร่าย *Chlorella* sp.ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณให้มากขึ้นโดยการนำหัวเชื้อสาหร่ายของแต่ละสายพันธุ์มาเลี้ยงในหลอดเพาะเลี้ยง (Culture tube) ขนาด 300 มิลลิลิตรที่มีอาหารเหลวสูตร N-8 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วให้อากาศโดยเครื่องให้อากาศ (Air pump) ภายใต้แสงฟลูออเรสเซ็นต์ที่มีความเข้มแสง 2,400 ลักซ์ ตลอดระยะเวลาของการเลี้ยงใช้เวลา 10 วัน (รูปที่ 3.5)



รูปที่ 3.5 สาหร่าย *Chlorella* sp. ในหลอดเพาะเลี้ยงขนาด 300 มิลลิลิตร

ทำการเพิ่มจำนวนเซลล์สาหร่ายให้มากยิ่งขึ้นโดยการเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีอาหาร N-8 ปริมาตร 3.5 ลิตร อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 150 รอบต่อนาที ให้อากาศอย่างสม่ำเสมอภายใต้แสงฟลูออเรสเซ็นต์ที่ความเข้มแสง 2,400 ลักซ์ ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงทั้งหมด 14 วัน (รูปที่3.6) จากนั้นจึงเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็ว 3,600 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3.6 การเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp. ในถังหมักขนาด 5 ลิตร

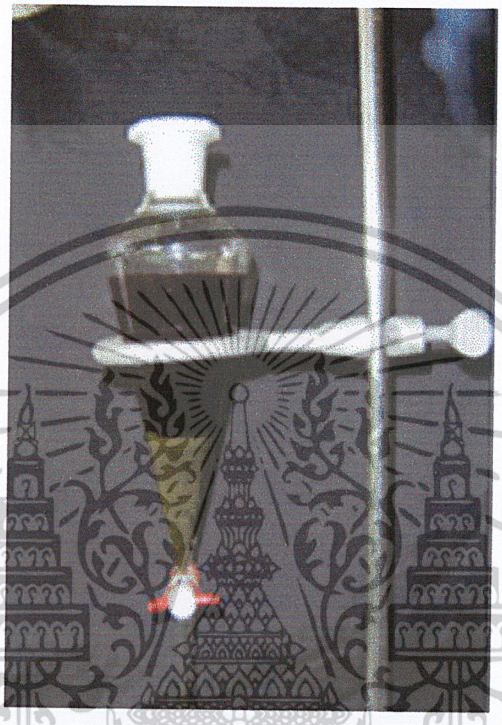
3.2.2 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp.

1. การสกัดด้วยวิธีทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องทำให้เซลล์แตกโดยคลื่นเสียงความถี่สูง

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ทำได้โดยนำตัวอย่างสาหร่ายที่เก็บเกี่ยวได้มาเติมน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก ซึ่งจะเริ่มจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 เพียงสายพันธุ์เดียวก่อน จากนั้นนำไปทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องทำให้เซลล์แตกด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (Sonics vibra cell) จนกระทั่งเซลล์แตกเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วแช่แข็งเพื่อนำเข้าเครื่องทำให้เซลล์แห้ง (Freeze-dryer) ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส จากนั้นหาน้ำหนักเซลล์แห้ง แล้วจึงนำมาสกัดในกรวยแยกโดยใช้ไดคลอโรมีเทน (ชลธิชาและชัยสิทธิ์, 2545) อะซีโตน (GouveiaและEmpis, 2003) และเมทานอล (Cowan, 1999) ตามลำดับ โดยใช้สารละลายอินทรีย์ : เซลล์สาหร่าย ในอัตราส่วน 1 : 1 โดยเทียบเป็นมิลลิลิตรของสารละลายต่อกรัมน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งตัวทำละลายในแต่ละชนิด จะใช้เวลา 48 ชั่วโมงในการสกัด (รูปที่ 3.7) จากนั้นนำสารที่สกัดได้ในตัวทำละลายแต่ละชนิดมาทำให้แห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบลดความดัน (Rotary evaporator) ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 55 องศา-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเซียส (รูปที่ 3.8) จนสารสกัดแห้ง จึงนำสารสกัดของแต่ละตัวทำละลายมาชั่งน้ำหนัก แล้วนำสารสกัดมาทำละลายในตัวทำละลายชนิดนั้นๆ



รูปที่ 3.7 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ในกรวยแยก

รูปที่ 3.8 การทำให้สารสกัดแห้งด้วยเครื่องระเหยแห้งแบบลดความดัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การสกัดด้วยวิธีทำให้เซลล์แตกด้วยการบดเซลล์

นำเซลล์สาหร่ายที่เก็บเกี่ยวได้มาทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนมีน้ำหนักเซลล์คงที่ จากนั้นนำเซลล์สาหร่ายที่แห้งแล้วมาบดด้วยเครื่องบด (โกร่ง) ให้ได้เซลล์แห้งเป็นจำนวน 25 กรัม มาผสมกับตัวทำละลายเฮกเซนจำนวน 62.5 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร แล้วนำไปเข้าเครื่องเขย่า ใช้ความเร็วรอบ 500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นใส่กรวยแยกตั้งทิ้งไว้ นำของเหลวที่ได้จากการแยกนั้นออกแล้วล้างเซลล์ซ้ำอีกประมาณ 5 ครั้งด้วยตัวทำละลายเฮกเซนเช่นเดียวกันในปริมาตรเท่าเดิม ของเหลวจากการล้างเซลล์ที่ได้ในส่วนนี้จะทิ้งไป นำเซลล์สาหร่ายที่ผ่านการล้างเซลล์ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนแล้วมาวางในจานเพาะเลี้ยงเพื่อทำให้เซลล์แห้ง จากนั้นจึงทำการสกัดเซลล์ต่อด้วยตัวทำละลายเอทานอลโดยจะทำการสกัดซ้ำ 4 ครั้ง ครั้งละ 62.5 มิลลิลิตร แล้วนำของเหลวที่ได้จากการสกัดนี้มาทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยวิธีการระเหยตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่องระเหยแห้งแบบลดความดัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จากนั้นเก็บของเหลวที่สกัดได้นี้ไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส (El-Masryและคณะ, 1995)

3.2.3 เปรียบเทียบปริมาณน้ำหนักสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคปลา

หลังจากทำการระเหยตัวทำละลายแต่ละชนิดออกโดยใช้เครื่องระเหยแห้งแบบลดความดัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสแล้ว จึงนำเข้าเดซิเคเตอร์จนปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีน้ำหนักที่คงที่ ชั่งน้ำหนักปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เพิ่มขึ้นในแต่ละตัวทำละลายที่ใช้สกัด

3.2.4 ทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

1. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA ใส่ในจานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้จนอาหารแข็ง จากนั้นเตรียมสารแขวนลอยของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลาทั้ง 4 สายพันธุ์ คือ *Aeromonas hydrophila* , *Aeromonas sobria* , *Edwardsiella tarda* , *Pseudomonas fluorescens* และแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรคอีก 1 สายพันธุ์คือ *Staphylococcus aureus* โดยนำไปเจือจางในน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ให้มีค่าเท่ากับ 0.3 แล้วจึงนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่ได้เตรียมไว้โดยใช้วิธี spread plate บนอาหาร TSA ทิ้งไว้จนสารแขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียซึมลงเนื้อวุ้นจนแห้ง แล้วจึงนำไปทดสอบกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การเตรียมแผ่นทดสอบ

แผ่นทดสอบที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เตรียมแผ่นทดสอบโดยใช้ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 3 ความเข้มข้น คือ 4, 8 และ12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร โดยนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445, *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 มาทำละลายด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด หากเป็นการสกัดด้วยวิธีทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องทำให้เซลล์แตกโดยคลื่นเสียงความถี่สูง ตัวทำละลาย คือ ไดคลอโรมีเทน อะซีโตน และเมทานอล ส่วนการสกัดด้วยวิธีการทำให้เซลล์แตกด้วยการบดเซลล์ใช้ตัวทำละลาย คือ เอทานอล โดยใช้ปริมาตรของตัวทำละลายอินทรีย์ 30 ไมโครลิตร ในทุกความเข้มข้น ทำความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ ซึ่งในแต่ละจานเพาะเชื้อ (1ซ้ำ) จะประกอบไปด้วย แผ่นทดสอบที่มียาปฏิชีวนะ (เตตราซัยคลิน) 1 แผ่น ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร แผ่นทดสอบที่หยดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 1 แผ่น และแผ่นทดสอบที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่าย 1 สายพันธุ์ที่มี 3 ความเข้มข้น คือ 4, 8 และ12 มิลลิกรัม ต่อ 30 ไมโครลิตร

3. การทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp.

ก. วิธีการทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากวิธีทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องทำให้เซลล์แตกโดยคลื่นเสียงความถี่สูง

นำแผ่นทดสอบที่เตรียมไว้ตามข้อ 2 วางลงบนผิวหน้าอาหารวุ้นซึ่งได้ทำการ spread plate เชื้อแบคทีเรียที่ทิ้งไว้จนแห้ง โดยจานเพาะเชื้อ 1 จานจะวางแผ่นทดสอบ 5 แผ่น ประกอบด้วยแผ่นทดสอบที่มีสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ12 มิลลิกรัม ต่อ 30 ไมโครลิตร แผ่นทดสอบที่มีตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารจากสาหร่าย 1 แผ่นและแผ่นทดสอบที่มียาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน 1 แผ่นเป็นตัวควบคุม (Control) โดยทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลาเป็นจำนวน 4 สายพันธุ์และเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรคในปลา 1 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 5 ซ้ำ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจดูผลโดยวัดขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (บริเวณโซนใส) จะทำให้ทราบถึงความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลาได้มากที่สุด จากนั้นจึงนำตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารจากสาหร่ายที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีที่สุดและเปรียบเทียบกับแผ่นทดสอบที่มียาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข. การทดสอบสารสกัดที่ได้จากวิธีทำให้เซลล์แตกด้วยการบดเซลล์

เตรียมแผ่นทดสอบตามข้อ 2 วางลงบนผิวหน้าอาหารวุ้นซึ่งได้ทำการ spread plate เชื้อแบคทีเรียที่ทิ้งไว้จนแห้ง โดยในแต่ละจานเพาะเชื้อของการแต่ละทดลองจะมีแผ่นทดสอบ 5 แผ่น เช่นเดียวกับข้อ ก. ซึ่งทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลาเป็นจำนวน 4 สายพันธุ์และแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรคในปลา 1 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 5 ซ้ำ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจดูผลโดยวัดขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (บริเวณโซนใส)

ค. เปรียบผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจากวิธีการข้อ ก. และ ข.

เมื่อได้วิธีการทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากวิธีทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องทำให้เซลล์แตกโดยคลื่นเสียงความถี่สูงและตัวทำละลายที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญแบคทีเรียได้ดีที่สุดแล้ว จึงนำมาใช้สกัดจากสาหร่ายอีก 2สายพันธุ์คือ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 และ*Chlorella* sp. TISTR 8445 และทำการทดสอบยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เช่นเดียวกับวิธีตามข้อ ก.

3.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ CRD และวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 11.0 ด้วยวิธี Duncan Multiple Rank Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ผลการเปรียบเทียบปริมาณน้ำหนักสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย*Chlorella* sp.

ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 โดยวิธีการบดเซลล์แล้วสกัดด้วยเอทานอลนั้นมีปริมาณ 0.1977 กรัมต่อกรัมเซลล์แห้งและวิธีการสกัดโดยการทำให้เซลล์แตกด้วยคลื่นเสียงและสกัดโดยวิธีลำดับส่วนต่อด้วยตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทน เมทานอลและอะซีโตน ตามลำดับ พบว่าสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลมีปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุด คือ 0.2215 กรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ส่วนตัวทำละลายที่เหลือได้แก่ ไดคลอโรมีเทนและอะซีโตนนั้นมีปริมาณของสารสกัดคือ 0.2082 และ 0.0437 กรัมต่อกรัมเซลล์แห้งตามลำดับ

ในขณะที่สาหร่าย *Chlorella vulagaris* TISTR 8261 และ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่สกัดด้วยเมทานอล มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 0.2163 และ 0.2094 กรัมต่อกรัมเซลล์แห้งตามลำดับ (ตารางที่ 4.1)

จากการทดลองนี้พบว่าปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทนนั้นมีน้ำหนักน้อยกว่าการทดลองของ ชลธิชาและคณะ (2545) ที่สกัดด้วย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ซึ่งได้ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 เท่ากับ 0.2537 กรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง

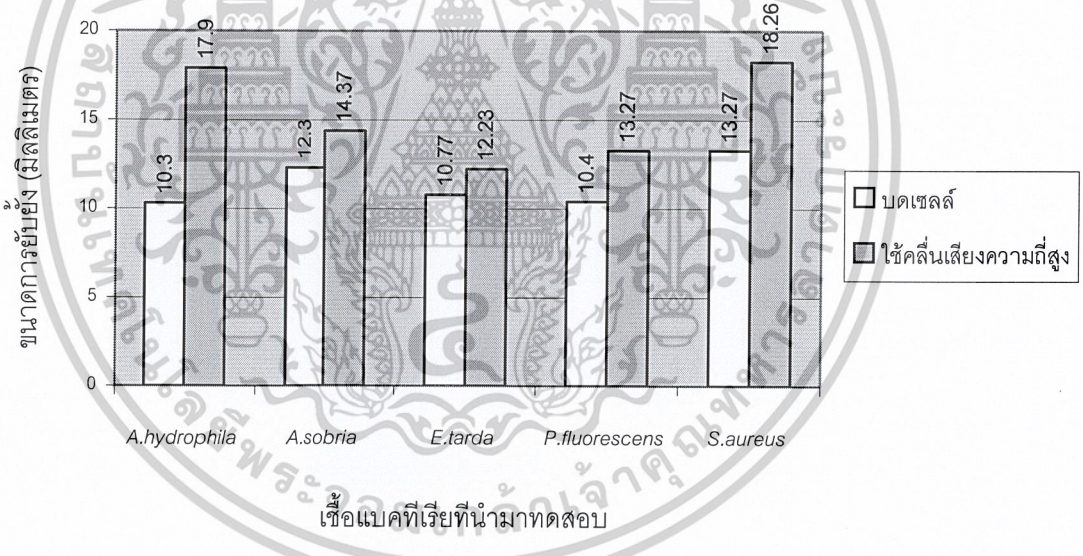
ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณน้ำหนักสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่าย *Chlorella* sp.

สายพันธุ์สาหร่าย	ตัวทำละลาย	น้ำหนักสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (กรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง)
C. ellipsoidea TISTR 8260 โดยใช้วิธีบดเซลล์	เอทานอล	0.1977
C. ellipsoidea TISTR 8260 โดยวิธีใช้คลื่นเสียงความถี่สูง	ไดคลอโรมีเทน	0.2082
	อะซีโตน	0.0437
	เมทานอล	0.2215
C. vulgaris TISTR 8261	เมทานอล	0.2163
Chlorella sp. TISTR 8445	เมทานอล	0.2094

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

จากการทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 โดยการทำให้เซลล์แตกโดยวิธีบดเซลล์ (สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล) และวิธีทำให้เซลล์แตกโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงแล้วทำการสกัดต่อด้วยตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทน เมทานอลและอะซีโตน จากนั้นทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลา พบว่าสารสกัดที่ได้จากการทำให้เซลล์แตกโดยวิธีใช้คลื่นเสียงความถี่สูงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีกว่าการทำให้เซลล์แตกโดยวิธีบดเซลล์ (รูปที่ 4.1) โดยสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดมีขนาดการยับยั้ง 18.26 มิลลิเมตร



รูปที่ 4.1 แผนภูมิแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 โดยวิธีการบดเซลล์กับใช้คลื่นเสียงความถี่สูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งวิธีทำให้เซลล์แตกด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (Sonics vibra cell) สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด มีขนาดการยับยั้ง 18.26 มิลลิเมตร รองลงมาคือเชื้อ *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Pseudomonas fluorescens* และ *Edwardsiella tarda* ซึ่งมีขนาดการยับยั้ง 17.90, 14.37, 13.27 และ 12.23 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนวิธีการบดเซลล์สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด มีขนาดการยับยั้ง 13.27 มิลลิเมตร รองลงมาคือเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas sobria, Edwardsiella tarda, Pseudomonas fluorescens* และ *Aeromonas hydrophila* ซึ่งมีขนาดการยับยั้ง 12.30, 10.77, 10.40 และ 10.30 มิลลิเมตร ตามลำดับ

จากการทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ ไดคลอโรมีเทน อะซีโตน และเมทานอล พบว่า สารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยยับยั้งได้ดีที่สุด คือ *Staphylococcus aureus* โดยมีขนาดการยับยั้งการเจริญเป็น 18.26 มิลลิเมตร (รูปที่4.3) รองลงมาคือ *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Pseudomonas fluorescens* และ *Edwardsiella tarda* ซึ่งมีขนาดการยับยั้ง 17.90, 14.37, 13.27 และ12.23 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือ ไดคลอโรมีเทน (รูปที่ 4.4)และอะซีโตน (รูปที่ 4.5) ยกเว้นการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่ตัวทำละลายอะซีโตนสามารถยับยั้งการเจริญได้ดีกว่าไดคลอโรมีเทน สารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนสามารถยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาดการยับยั้ง 12.37 มิลลิเมตร รองลงมาคือเชื้อ *Staphylococcus aureus, Aeromonas hydrophila* และ *Edwardsiella tarda* ซึ่งมีขนาดการยับยั้ง 11.96, 11.21 และ 10.97 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* ได้ สารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายอะซีโตนสามารถยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ได้ดีที่สุด มีขนาดการยับยั้ง 13.60 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Pseudomonas fluorescens, Staphylococcus aureus, Aeromonas sobria* และ *Edwardsiella tarda* ซึ่งมีขนาดการยับยั้ง 11.13, 10.76, 9.63 และ 8.26 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงการเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร ในตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทน อะซีโตน และเมทานอล

ตัวทำละลาย	ขนาดของบริเวณยับยั้ง (mm)				
	A. hydrophila	*A. sobria*	*E. tarda*	*P. fluorescens*	*S. aureus*
ไดคลอโรมีเทน	11.21	12.37	10.97	-	11.96
อะซีโตน	13.60	9.63	8.26	11.13	10.76
เมทานอล	17.90	14.37	12.23	13.27	18.26

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

จากการทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร โดยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ ไดคลอโรมีเทน อะซีโตน เมทานอล และนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ พบว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีที่สุด โดยสามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีขนาดของการยับยั้งการเจริญเป็น 18.26 มิลลิเมตร (รูปที่ 4.3) รองลงมาคือ *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria* (รูปที่ 4.6), *Pseudomonas fluorescens* (รูปที่ 4.7) และเชื้อ *Edwardsiella tarda* (รูปที่ 4.8) ซึ่งมีขนาดการยับยั้ง 17.90, 14.37, 13.27 และ 12.23 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งในทางสถิติความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Aeromonas hydrophila* แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากไดคลอโรมีเทน (รูปที่ 4.4) และอะซีโตน(รูปที่ 4.5) ตามลำดับ ยกเว้นเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่ตัวทำละลายอะซีโตนสามารถยับยั้งการเจริญได้ดีกว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากไดคลอโรมีเทน ซึ่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดโดยไดคลอโรมีเทนสามารถยับยั้ง *Aeromonas sobria* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาดการยับยั้งเท่ากับ 12.37 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Staphylococcus aureus, Aeromonas hydrophila* และ *Edwardsiella tarda* ซึ่งมีขนาดการยับยั้ง 11.96, 11.21, 10.97 มิลลิเมตรตามลำดับ แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* ได้ ซึ่งในทางสถิติความสามารถในการยับยั้ง *Edwardsiella tarda, Aeromonas hydrophila* และ *Aeromonas sobria*,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Staphylococcus aureus แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากตัวทำละลายอะซีโตนนั้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ได้ดีที่สุดมีขนาดการยับยั้ง 13.60 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Pseudomonas fluorescens, Staphylococcus aureus, Aeromonas sobria* และ *Edwardsiella tarda* ซึ่งมีขนาดการยับยั้ง 11.13, 10.76, 9.63, 8.26 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งในทางสถิติความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Aeromonas sobria* แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากการทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร แล้วนำมาทำการเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบ พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Edwardsiella tarda, Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร รองลงมาคือ 8 และ 4 มิลลิกรัม ต่อ 30 ไมโครลิตร โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร มีขนาดการยับยั้ง 18.26 มิลลิเมตร (รูปที่ 4.3) รองลงมาคือ *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Pseudomonas fluorescens* และ *Edwardsiella tarda* ซึ่งมีขนาดยับยั้ง 17.90, 14.36, 13.26 และ 12.23 มิลลิเมตรตามลำดับ

ส่วนความเข้มข้นที่ 8 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดซึ่งมีขนาดยับยั้ง 15.13 มิลลิเมตร รองลงมาคือ เชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Pseudomonas fluorescens* และ *Edwardsiella tarda* ซึ่งมีขนาดยับยั้ง 15.10, 12.19, 12.00 และ 10.23 มิลลิเมตรตามลำดับ

ส่วนความเข้มข้นที่ 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดซึ่งมีขนาดยับยั้ง 11.70 มิลลิเมตร รองลงมา คือ เชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas sobria, Aeromonas hydrophila, Pseudomonas fluorescens* และ *Edwardsiella tarda* ซึ่งมีขนาดยับยั้ง 11.06, 10.86, 8.70 และ 7.30 มิลลิเมตรตามลำดับ (ตารางที่ 4.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (mm)				
	A. hydrophila	*A. sobria*	*E. tarda*	*P. fluorescens*	*S. aureus*
Control	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	44.84	30.90	15.90	15.93	43.20
4	10.86	11.06	7.30	8.70	11.70
8	15.10	12.19	10.23	12.00	15.13
12	17.90	14.36	12.23	13.26	18.26

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

จากการทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้น 4 , 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Edwardsiella tarda, Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร รองลงมาคือ 8 และ 4 มิลลิกรัม ต่อ 30 ไมโครลิตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้น ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Edwardsiella tarda* ได้ โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร มีขนาดของการยับยั้งการเจริญ 21.56 มิลลิเมตร (รูปที่ 4.9) รองลงมาคือ *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* (รูปที่ 4.10), *Pseudomonas fluorescens* (รูปที่ 4.11) และ *Edwardsiella tarda* (รูปที่ 4.12) ซึ่งมีขนาดยับยั้ง 18.66, 16.83, 13.86 และ 11.00 มิลลิเมตรตามลำดับซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทีระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ส่วนความเข้มข้นที่ 8 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดซึ่งมีขนาดยับยั้ง 18.40 มิลลิเมตร รองลงมาคือ เชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Pseudomonas fluorescens* และ *Edwardsiella tarda* ซึ่งมีขนาดยับยั้ง 16.70, 15.26, 12.86, และ 9.43 มิลลิเมตรตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนความเข้มข้นที่ 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดซึ่งมีขนาดยับยั้ง 15.30 มิลลิเมตร รองลงมาคือ เชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Pseudomonas fluorescens* ซึ่งมีขนาดยับยั้ง 12.66, 12.43 และ 10.13 มิลลิเมตรตามลำดับ โดยไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Edwardsiella tarda* ได้ (ตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (mm)				
	A. hydrophila	*A. sobria*	*E. tarda*	*P. fluorescens*	*S. aureus*
Control	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	43.63	30.60	15.87	16.17	42.97
4	12.66	12.43	-	10.13	15.30
8	16.70	15.26	9.43	12.86	18.40
12	18.66	16.83	11.00	13.86	21.56

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

จากการทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus, Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Pseudomonas fluorescens* และ *Edwardsiella tarda* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร รองลงมาคือ 8 และ 4 มิลลิกรัม ต่อ 30 ไมโครลิตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้น ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Edwardsiella tarda* ได้ โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร มีขนาดการยับยั้ง 15.30 มิลลิเมตร (รูปที่ 4.13) รองลงมาคือ *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria* (รูปที่ 4.14), *Pseudomonas fluorescens* (รูปที่ 4.15) และ *Edwardsiella tarda* (รูปที่ 4.16)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งมีขนาดยับยั้ง 14.56, 12.30, 11.79 และ 10.33 มิลลิเมตรตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ส่วนความเข้มข้นที่ 8 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดซึ่งมีขนาดยับยั้ง 11.76 มิลลิเมตร รองลงมาคือ เชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Pseudomonas fluorescens* และ *Edwardsiella tarda* ซึ่งมีขนาดยับยั้ง 10.83, 10.13, 9.73 และ 8.30 มิลลิเมตรตามลำดับ

ส่วนความเข้มข้นที่ 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดซึ่งมีขนาดยับยั้ง 9.46 มิลลิเมตร รองลงมาคือ เชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas sobria, Pseudomonas fluorescens, Aeromonas hydrophila* ซึ่งมีขนาดของการยับยั้งเป็น 8.73, 8.43 และ 7.50 มิลลิเมตรตามลำดับ โดยไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Edwardsiella tarda* ได้ (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (mm)				
	A. hydrophila	*A. sobria*	*E. tarda*	*P. fluorescens*	*S. aureus*
Control	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	44.03	30.53	15.73	16.27	43.20
4	7.50	8.73	-	8.43	9.46
8	10.83	10.13	8.30	9.73	11.76
12	14.56	12.30	10.33	11.79	15.30

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260, *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 และ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล

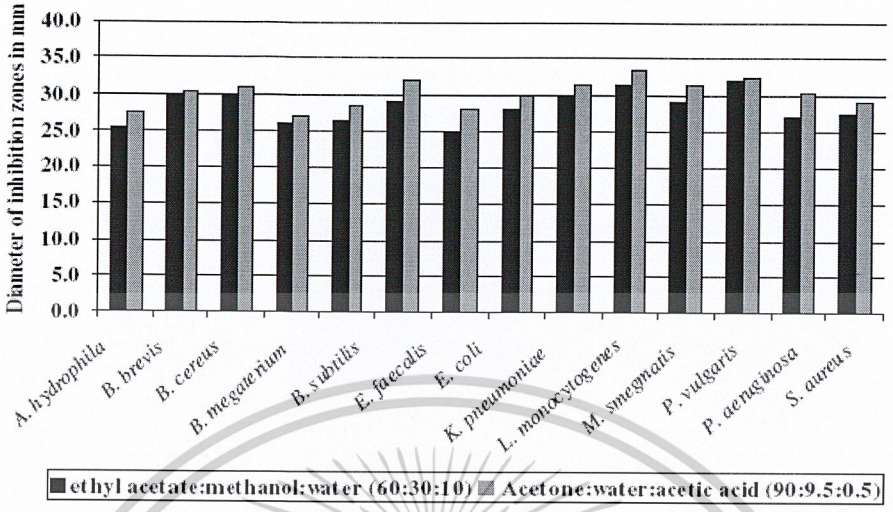
สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย 12 mg/30 µl	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (mm)				
	A. hydrophila	*A. sobria*	*E. tarda*	*P. fluorescens*	*S. aureus*
Control	-	-	-	-	-
Chlorella ellipsoidea TISTR 8260	17.90	14.36	12.23	13.26	18.26
Chlorella vulgaris TISTR 8261	18.66	16.83	11.00	13.86	21.56
Chlorella sp. TISTR 8445	14.56	12.30	10.33	11.79	15.30

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

จากการทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260, *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 และ *Chlorella* sp. TISTR 8445 พบว่าสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้ดีที่สุดรองลงมาคือ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นเชื้อ *Edwardsiella tarda* สาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 สามารถยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* ได้ดีกว่าสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 (ตารางที่ 4.6)

ในขณะที่การทดลองของ Baydarและคณะ (2004) ได้ทำการทดลองสกัดสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จากเมล็ดองุ่นโดยใช้สารเคมีที่นำมาสกัด 2 กลุ่ม กลุ่มแรกคือ เอทิลอะซีเตท เมทานอลและน้ำ กลุ่มที่สองคือ อะซีโตน กรดอะซีติกและน้ำ แล้วนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดของทั้งสองกลุ่มที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Aeromonas hydrophila* ได้ (รูปที่ 4.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 ขนาดของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากเมล็ดองุ่นโดยใช้สารเคมีที่นำมาสกัด 2 กลุ่มคือ เอทิลอะซีเตท เมทานอลและน้ำ กับ อะซีโตน กรดอะซีติกและน้ำ (Baydarและคณะ, 2004)

ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์พบว่าสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จากเมล็ดองุ่นโดยใช้สารเคมีที่นำมาสกัด 2 กลุ่มคือ เอทิลอะซีเตท เมทานอลและน้ำ กับ อะซีโตน กรดอะซีติกและน้ำให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย

Martinezและคณะ (1996) ได้ทำการทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเครื่องเทศในประเทศคิวบา จำนวน 12 ชนิด และนำมายับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 4 ชนิด และ ยีสต์ 1 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, และ *Candida albicans*. พบว่าสารสกัดจาก *Podocarpus* sp. ซึ่งอยู่ในวงศ์ Podocapaceae ที่สกัดด้วยน้ำที่ความเข้มข้น 37 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรให้ผลในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด มีขนาดของการยับยั้งการเจริญ 16 มิลลิเมตร และ *Schinus terebinthifoilus* Raddi ซึ่งอยู่ในวงศ์ Anacardiaceae ที่สกัดโดยเอทานอลที่ความเข้มข้น 63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* มีขนาดการยับยั้ง 19 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ให้ผลในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดพบว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากสาหร่ายให้ผลในการยับยั้งเชื้อได้น้อยกว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเครื่องเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

GnanและDemello (1999) ได้ทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสมุนไพรในประเทศบราซิล 3 ชนิด คือ Alhodomato (alliumsaticom), Traoeraba (*Comnelina beghlensis*) และ Goiaba (*Psidium guajara*) ที่สกัดโดยน้ำ พบว่าที่ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร Goiaba สามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดการยับยั้งมากกว่า 10 มิลลิเมตร รองลงมาคือ Alhodomato และ Traoeraba มีขนาดการยับยั้ง 2-4 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.7)

ตารางที่ 4.7 ขนาดของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากสมุนไพรในประเทศบราซิล (GnanและDemello, 1999)

Microorganism	Alhodo mato	Goiaba	Trapoeraba
Streptococcus pyogenes	+	++	–
Staphylococcus aureus	+	+++++	+
Staphylococcus epidermidis	+	+++	–
Salmonella typhimurium	–	+	–
Serratia marcescens	–	–	–
Pseudomonas aeruginosa	–	+	+
Proteus vulgaris	–	–	–

(- ไม่เกิดการยับยั้ง ,ขนาดการยับยั้ง + 2-4 มิลลิเมตร, ++ 4-6 มิลลิเมตร, +++6-8 มิลลิเมตร, ++++ 8-10 มิลลิเมตร , +++++ มากกว่า 10 มิลลิเมตร)

ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์สารสกัดจาก Alhodo mato และ Trapoeraba ให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายเล็กน้อย แต่สารสกัดจาก Goiaba ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่ามาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร เมื่อเทียบเป็นสัดส่วนกับยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

สายพันธุ์สาหร่าย	*A. hydrophila*	*A. sobria*	*E. tarda*	*P. fluorescens*	*S. aureus*
Chlorella ellipsoidea TISTR 8260	2.51	2.15	1.30	1.20	2.37
Chlorella vulgaris TISTR 8261	2.34	1.82	1.44	1.17	1.99
Chlorella sp. TISTR 8445	3.02	2.48	1.52	1.38	2.82

จากตารางที่ 4.8 เป็นสัดส่วนการเปรียบเทียบระหว่างขนาดการยับยั้งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และขนาดการยับยั้งของยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร พบว่า

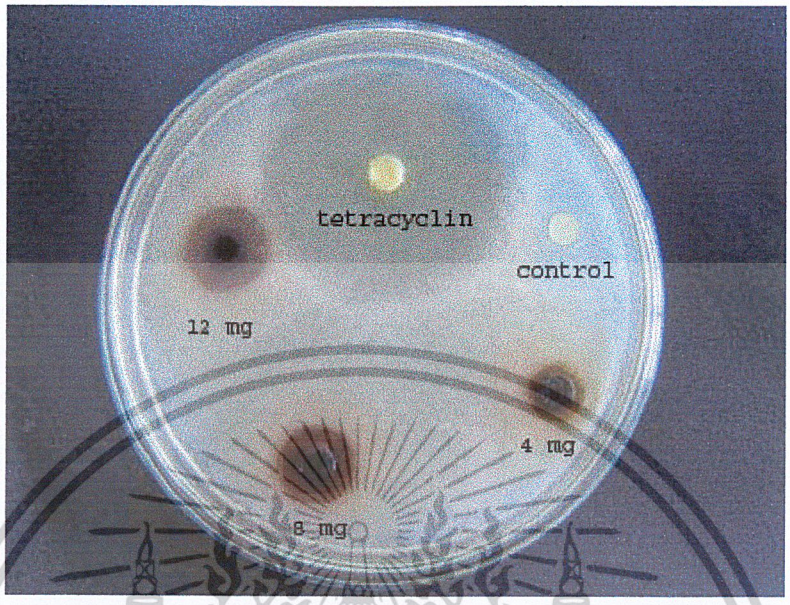
จากการเปรียบเทียบสัดส่วนระหว่างการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260, *Chlorella vulgaris* TISTR 8261, *Chlorella* sp. TISTR 8445 และยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน พบว่า ฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร มากกว่าฤทธิ์ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร ซึ่งฤทธิ์ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas fluorescens* ได้ใกล้เคียงกับยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร คิดเป็นสัดส่วน 1.20 (*Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260) (รูปที่ 4.7), 1.17 (*Chlorella vulgaris* TISTR 8261) (รูปที่ 4.11) และ 1.38 (*Chlorella* sp. TISTR 8445) (รูปที่ 4.15) เท่าตามลำดับ จึงสรุปได้ว่าสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 สามารถยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* ได้ใกล้เคียงกับยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร มากที่สุด

จากผลการทดลองสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้เช่นเดียวกับผลการทดลองของ Kelmansonและคณะ (2000) ได้ทำการทดลองยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Staphylococcus aureus โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสมุนไพรชนิดต่าง ๆ คือ *Cheilanthea viridis , Dioscorea sylvatic , Melianthus comosus , Vernonia colorata* ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่าที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจาก *Cheilanthea viridis* สามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดซึ่งมีขนาดการยับยั้ง 4.0 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Melianthus comosus, Vernonia colorata* มีขนาดการยับยั้ง 2.0 และ 1.0 มิลลิเมตรตามลำดับ ซึ่งเมื่อเทียบกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์คือ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261, *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ*Chlorella* sp. TISTR 8445 ในตัวทำละลายเมทานอลจะสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้ทั้ง 3 สายพันธุ์ ซึ่งที่ความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร จะมีขนาดการยับยั้ง 21.56, 18.26 และ 15.30 ตามลำดับ เช่นเดียวกับการทดลองของ Baydarและคณะ (2004) ได้ทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *Aeromonas hydrophila, Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus brevis, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Corynebacterium xerosis, Enterococcus faecalis, Listeria monocytogenes, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Micrococcus luteus, Proteus vulgalis, Mycobacterium smegmatis, Staphylococcus aureus* และ *Yersinia enterocolitica* โดยสารสกัดจากสมุนไพร 4 ชนิด คือ *Origanum minutiflorum, Origanum onites, Thymbra spicata* และ *Satureja cuneifolia* ที่ทำการสกัดโดยวิธีการกลั่นแล้วนำสารสกัดที่ได้มาละลายและเจือจางโดยเอทานอล พบว่าที่ความข้นของสารสกัด 1 ต่อ 50 ปริมาตรต่อปริมาตร สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Origanum onites* สามารถยับยั้งการเจริญของ *Aeromonas hydrophila* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาดการยับยั้ง 38.0 และ 36.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์คือ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261, *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ในตัวทำละลายเมทานอลจะสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* และ *Aeromonas hydrophila* ได้ทั้ง 3 สายพันธุ์ ซึ่งที่ความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายจะยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* โดยมีขนาดการยับยั้ง 21.56, 18.26 และ 15.30 ตามลำดับ และยับยั้งการเจริญของ *Aeromonas hydrophila* โดยมีขนาดการยับยั้ง 18.66, 17.90 และ 14.56 มิลลิเมตรตามลำดับ ซึ่งขนาดของบริเวณยับยั้งจะแตกต่างกันเนื่องจากวิธีในการสกัดและความเข้มข้นที่แตกต่างกันในการทดลอง

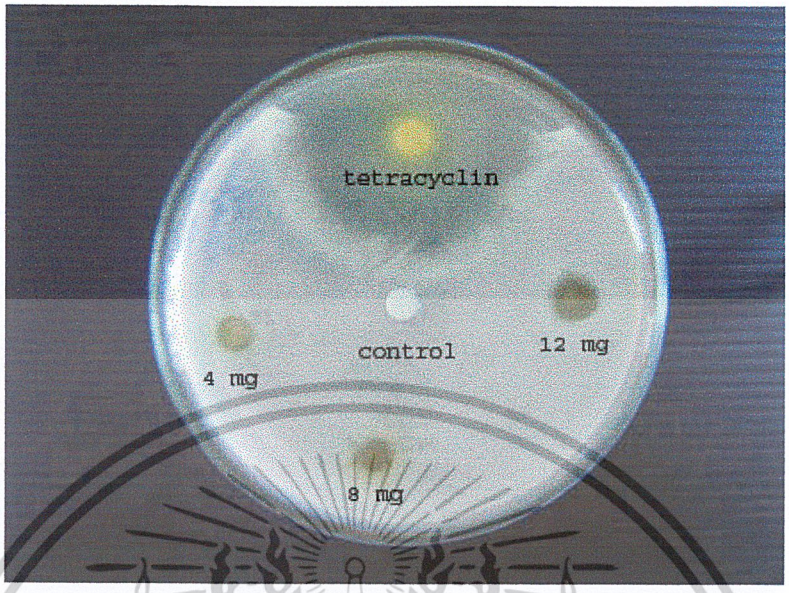
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ผลของสารสกัดของ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่สกัดด้วยเมทานอล ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*

รูปที่ 4.4 ผลของสารสกัดของ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่สกัดด้วยไดคลอโร-มีเทน ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*

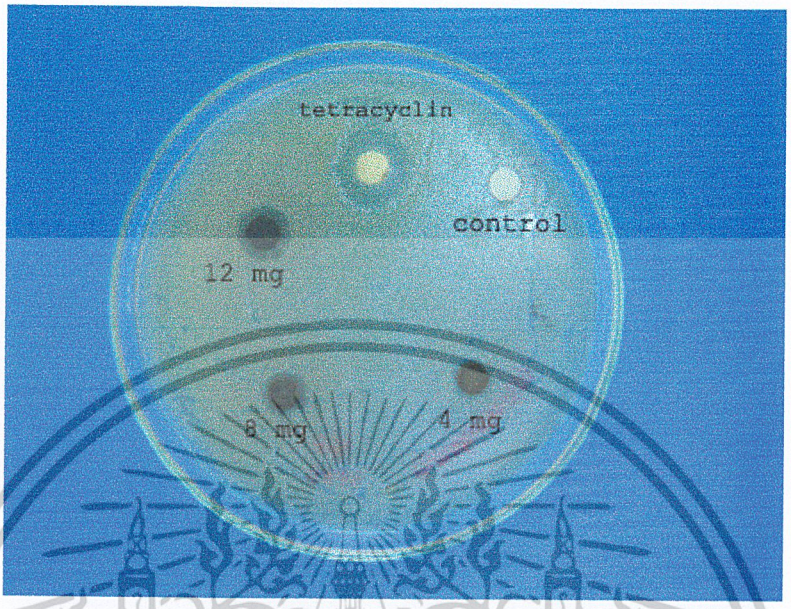
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 ผลของสารสกัดของ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่สกัดด้วยอะซีโตน ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*

รูปที่ 4.6 ผลของสารสกัดของ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่สกัดด้วยเมทานอล ในการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria*

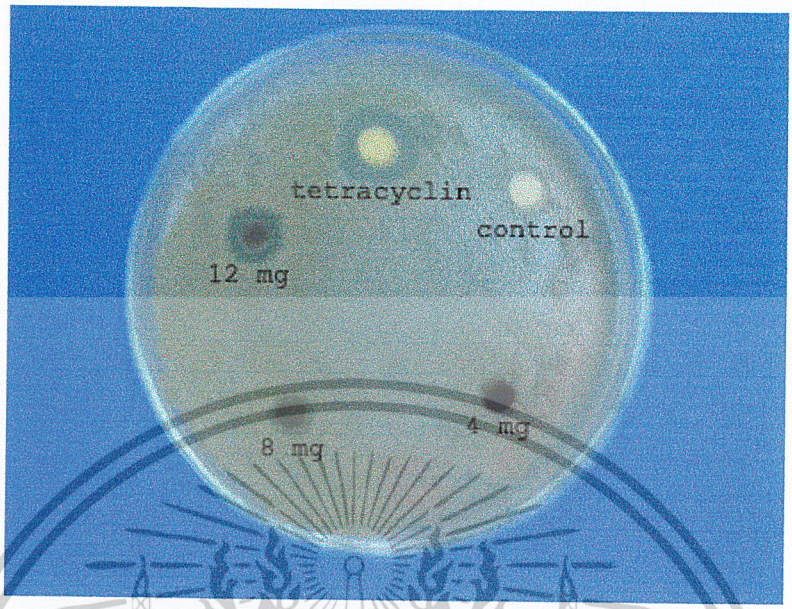
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 ผลของสารสกัดของ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่สกัดด้วยเมทานอล ในการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescenses*

รูปที่ 4.8 ผลของสารสกัดของ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่สกัดด้วยเมทานอล ในการยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda*

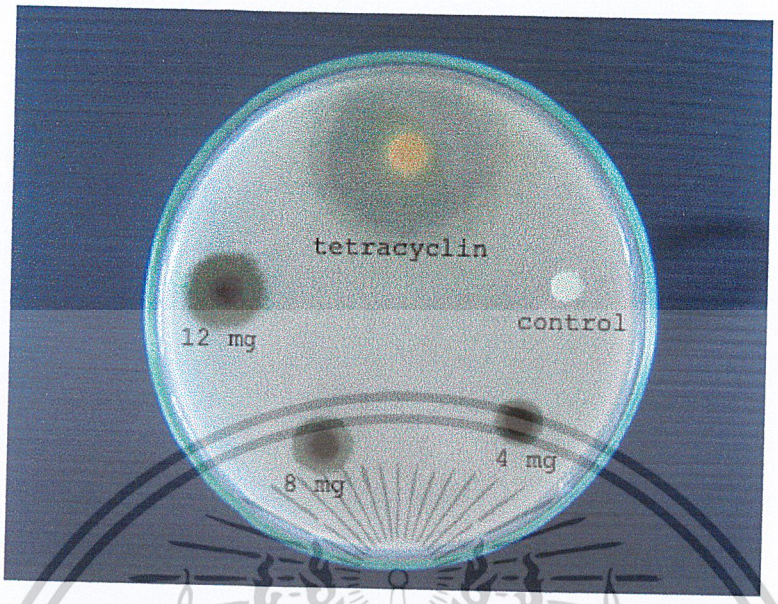
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 ผลของสารสกัดของ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*

รูปที่ 4.10 ผลของสารสกัดของ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria*

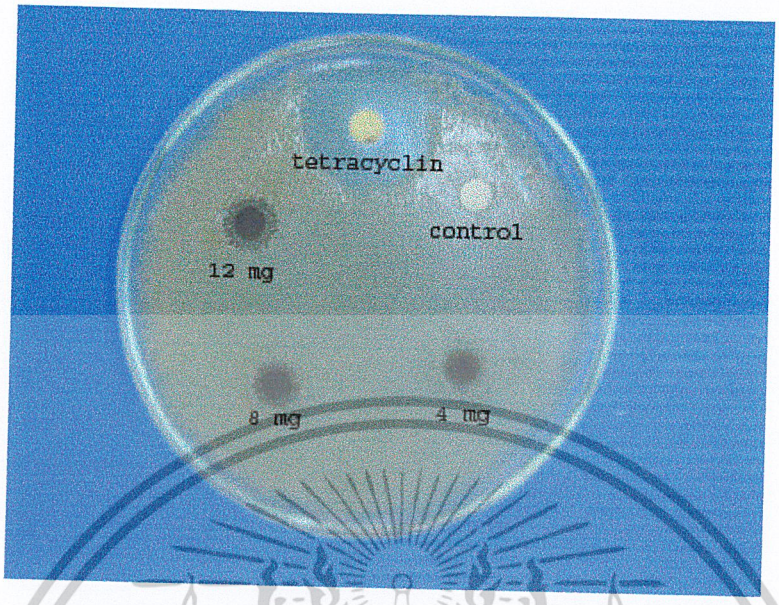
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 ผลของสารสกัดของ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescenses*

รูปที่ 4.12 ผลของสารสกัดของ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda*

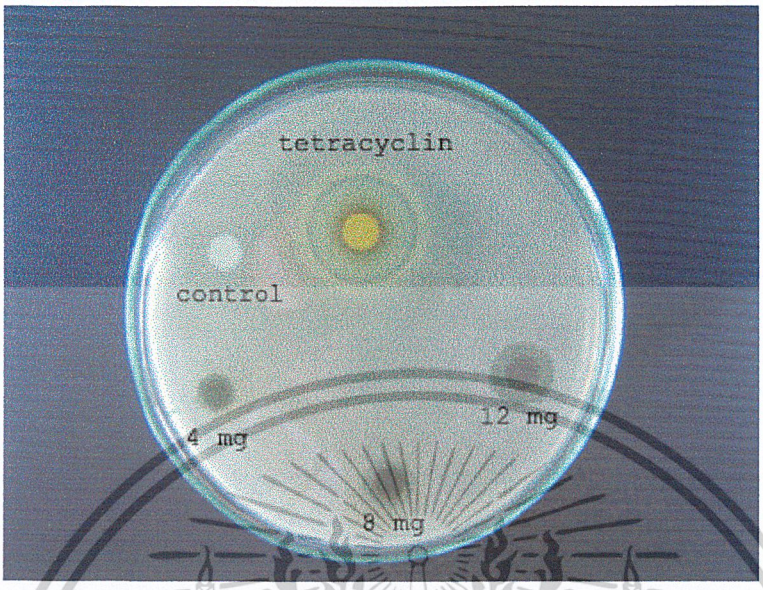
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 ผลของสารสกัดของ *Chlorella* sp.TISTR 8445 ที่สกัดด้วยเมทานอล ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*

รูปที่ 4.14 ผลของสารสกัดของ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.15 ผลของสารสกัดของ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescenses*

รูปที่ 4.16 ผลของสารสกัดของ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่าย *Chlorella* sp. จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 , *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 และ *Chlorella* sp. TISTR 8445 เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria Edwardsiella tarda, Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* พบว่า

1. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน อะซีโตน และเมทานอล พบว่าสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายเมทานอลจะได้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพปริมาณมากที่สุดคือ 0.2215 กรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง รองลงมาคือ ไดคลอโร-มีเทน และอะซีโตน มีปริมาณสารสกัด 0.2082 และ 0.0437 กรัมต่อกรัมเซลล์แห้ง ตามลำดับ

2. จากการทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ ไดคลอโรมีเทน อะซีโตน และเมทานอล พบว่า สารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร โดยยับยั้งได้ดีที่สุด คือ *Staphylococcus aureus* โดยมีขนาดการยับยั้ง 18.26 มิลลิเมตร รองลงมาคือเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Pseudomonas fluorescens* และ *Edwardsiella tarda* ซึ่งมีขนาดการยับยั้ง 17.90, 14.37, 13.27 และ 12.23 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือ ไดคลอโรมีเทน และอะซีโตน ยกเว้นการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ที่ตัวทำละลายอะซีโตนสามารถยับยั้งการเจริญได้ดีกว่าไดคลอโรมีเทน

3. ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจากการนำสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ 12 มิลลิกรัม ต่อ 30 ไมโครลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาดของบริเวณยับยั้งคือ 21.56 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Aeromonas hydrophila , Aeromonas sobria* และ *Pseudomonas fluorescens* โดยมีขนาดของบริเวณยับยั้ง คือ 18.66, 16.83 และ 13.86 มิลลิเมตรตามลำดับ ยกเว้นเชื้อ *Edwardsiella tarda* จะถูกยับยั้งการเจริญโดยสารออกฤทธิ์จากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ได้ดีกว่า รองลงมาคือสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella sp.* TISTR 8445 ตามลำดับ โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากสาหร่ายสายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chlorella ellipsoidea TISTR 8260 สามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาดของการยับยั้ง 18.26 มิลลิเมตรรองลงมาคือ *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria* , *Pseudomonas fluorescens* และ *Edwardsiella tarda* โดยมีขนาดการยับยั้ง 17.90, 14.36, 13.26 และ 12.23 มิลลิเมตรตามลำดับ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella sp.* TISTR 8445 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาดการยับยั้ง 15.30 มิลลิเมตรรองลงมาคือ *Aeromonas hydrophila* , *Aeromonas sobria* , *Pseudomonas fluorescens* และ *Edwardsiella tarda* โดยมีขนาดการยับยั้ง 14.56, 12.30, 11.79 และ 10.33 มิลลิเมตรตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

1. ในขั้นตอนของการสกัดโดยใช้กรวยแยก ควรมีวิธีในการแยกสารสกัดออกจากเซลล์สาหร่ายที่ดีกว่านี้ เนื่องจากการแยกสารสกัดโดยใช้กรวยแยกอาจมีเศษเซลล์สาหร่ายตกลงมาผสมกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เราต้องการ
2. ไม่ควรใช้อุณหภูมิในการระเหยที่สูงเกินไปเนื่องจากอุณหภูมิที่สูงมาก สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอาจจะสลาย หรือเสื่อมคุณภาพจึงทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียลดลงได้
3. ถ้าใช้ปริมาณความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากขึ้น รวมถึงวิธีการสกัด หรือสารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีกว่านี้อาจทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กองบรรณาธิการ LAB.TODAY. 2545. **เรื่องพิเศษ ยาต้านจุลชีพสำหรับกุ้ง : ทำไมถึงต้องใช้**. ยูนิตี้ เทคโนโปรดักซ์. กรุงเทพฯ. 28-34.

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

กัญจนา ธีระกุล และคณะ. 2538. **จุลชีววิทยาปฏิบัติการ**. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 27-37. อ้างถึงใน คีรี กออนันตกุล. 2545. **โรคของปลาสวยงามน้ำจืด**. เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2545. กรมประมง.

คีรี กออนันตกุล. 2545. **โรคของปลาสวยงามน้ำจืด**. เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2545. กรมประมง.

ชลธิชา เรืองเอกพจน์ และ ชัยสิทธิ์ ธีระพงศ์รามกุล. 2545. **ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียโดยสารสกัดจาก *Chlorella* sp.** โครงงานพิเศษ. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ. 2528. **โรคปลา**. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 17-18.

ดุษณี ธนะบริพัฒน์. 2538. **จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม**. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

บรรจบ ชุณหสวัสดิกุล. 2543. **ใช้อย่างฉลาด สุขภาพทางเลือก**. รวมทรรศน์. กรุงเทพฯ. 95-98.

ปภาศิริ ศรีโสภาภรณ์. 2537. **โรคและพยาธิของสัตว์น้ำ**. ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา. ชลบุรี. 114-124.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสบ บูรณมานัส. 2528. **เภสัชวิทยาทางสัตวแพทย์ เล่ม1**. คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 407 น. อ้างถึงในลัดดาวัลย์ ครองพงษ์. 2541. **การใช้วิตามินซีทดแทนออกซิเตตราซัยคลินในอาหารเลี้ยงกุ้งก้ามกราม**.วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พงศ์ธร เครือวณิชธรรม พรรษ พุ่มเจริญ และ วิทวัส เจนเวชศักดา. 2544. **ผลของการสกัดจาก *Chlorella* sp. ต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด**. โครงงานพิเศษ. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เมฆ บุญพราหมณ์. 2530. **การเลี้ยงปลา**. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. โอเอสพรินติ้ง เฮาส์. กรุงเทพฯ. 126-131.

ลัดดาวัลย์ ครองพงษ์. 2541. **การใช้วิตามินซีทดแทนออกซีเตตราซัยคลินในอาหารเลี้ยงกุ้งก้ามกราม**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลิลา เรืองแป้น. 2534. **วิธีใช้ยาในการเพาะเลี้ยงกุ้งอย่างมีประสิทธิภาพ**. วารสารการประมง. 44 (9) : 27-29.

วนิดา ศรีอินทร์. 2545. **ประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาหร่ายทะเลบางชนิดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและการเป็นสารกันหืน**.วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วันทนา อ่อนภิรมย์. 2538. **การตรวจ *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างอาหารโดยวิธี ELISA**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สรวิศ เผ่าทองศุข. 2543. **สาหร่าย "ศักยภาพการวิจัย และพัฒนาเพื่อการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายในประเทศไทย"**. สำนักผู้ประสานงานชุดโครงการ "อุตสาหกรรมสัตว์น้ำ" สกว. 20 น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุเทพ มงคลเลิศลพ. 2530. **การสะสมสังกะสีโดยสาหร่ายเซลล์เดียว** *Chlorella* **sp.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะพลังงาน และวัสดุ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

สุปราณี ชินบุตร เต็มดวง สมศิริ พรเลิศ จันทร์รัชชกูล สมเกียรติ์ กาญจนาคาร และ ฐิติพร หลาวประเสริฐ. 2546. **เอกสารคำแนะนำ การป้องกันและกำจัดโรคปลา**. กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ. 33 น.

สุภาพร สุกสีเหลือง. 2538. **การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ**. ศูนย์ส่งเสริมกรุงเทพฯ. บริษัท พิมพ์ดี จำกัด. กรุงเทพฯ. 121-124.

หยาดรุ้ง สุวรรณรัตน์. 2544. **ประสิทธิภาพของพืชสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งกุลาดำแช่เยือกแข็ง**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อาภารัตน์ มหาขันธ์ ณัฐพร พันธุมนาวิน และ พงศ์เทพ อันตะริกานนท์. 2539. **สาหร่ายกับศักยภาพที่รอการพัฒนา**.ประมวลข่าวกระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม. 12 (3) : 1-10.

Allen, M.B. and Dawson, E.Y. 1960. Production of antibacterial substances by benthic tropical marine algae. **Journal of Bacteriology**. 79(3) : 456-460.

Baker, J.T. 1984. Seaweeds in pharmaceutical studies and applications. **Journal of Hydrobiologia** 116/117 (29-40) : 29-40. อ้างถึงใน วนิดา ศรีอินทร์. 2545. **ประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาหร่ายทะเลบางชนิด ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและการเป็นสารกันหืน**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Baydar, H. ; Sagdic, O ; Ozkan, G. and Karadogan, T. 2004. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. **Food Control**. 15 : 169-172.

Baydar, N.G. ; Ozkan, G. and Sagdic, O. 2004. Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts. **Food Control**. 15 : 335—339.

Berdy, J. ; Adorjan, A. ; Melvin, B. ; Karen, L. and Nitt, M.C. 1982. **Handbook of antibiotic compound 9**. Florida. CRC PRESS Inc. Eoca Rapon.

Bold, H.C. and Wynne, M.J. 1978.**Introduction to the algae**. New Jersy, Prentice - Hall. 706 p. อ้างถึงใน **ทวีศักดิ์ พงษ์ปัญญา. 2540. การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในอาหารสูตรต่าง ๆ**. วารสารทางวิชาการ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย. 17(1) : 7-9.

Borowitzka, A.M. 1999. Pharmaceuticals and agrochemicals from microalgae. In : **Chemicals from microalgae**, 313-352, Cohen, Z., T.J. International Ltd. UK.

Borrego, K.J. ; Dodd, C.E.R. and Waites, W.M. 1988. Chlorine resistance of strains of *Staphylococcus aureus* isolated from poultry processing plants. **Letters in Applied Microbiology**. 6 : 31-34. อ้างถึงใน วันทนา อ่อนภิรมย์. 2538. **การตรวจ *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างอาหารโดยวิธี** ELISA. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Casey, R.P. and Lubitz, J.A. 1963. Algae as food for space travel. A review. **Food Technology**. 17 : 48-56. อ้างถึงใน กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2527. **สาหร่าย**. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

Chapman, V.J. 1970. **Seaweeds and their uses**. 2 nd ed. Methuen & Co., London. 304p. อ้างถึงใน กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2527. **สาหร่าย**. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**. 12 : 564-582.

Dawson, E.Y. 1966. **Marine Botany-an Introduction**. Holt, Rinehart and Winston, Inc., New York. 371p. อ้างถึงใน กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2527. **สาหร่าย**. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

El-Masry, M.H. ; Mostafa, H.M. ; Ibrahim, A.M. and El-Naggar, M.M.A. 1995. Marine algae that display anti-tumorigenic activity against *Agrobacterium tumefaciens*. **FEMS Microbiology Letter**. 128 : 151-156.

Gnan, S.O. ; Demello, M.T. 1999. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by aqueous Goiaba extracts. **Journal of Ethnopharmacology**. 68 : 103–108.

Gonzalez, A. ; Platas, G. ; Basilio, A. and Cabello, A. 2001. Screening of antimicrobial activity in red, green and brown macroalgae from Grand Canavia (Canary Island, Spain) **Int. Microbiol**. 4 : 35-40.

Gouveia, L. and Empis, J. 2003. Relative stabilities of microalgal carotenoids in microalgal extracts, biomass and fish feed : effect of storage conditions. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. 4 : 227-233.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hellio, C. ; Broise, D.D.L. ; Dufosse, L. ; Gal, L.Y. and Bourgougnon, N. 2001. Inhibition of marine bacteria by extracts of macroalgae : potential use for environmentally friendly antifouling paints. **Marine Environmental Research.** 52 : 231-247.

Huber, W.G.1971. The impact of antibiotic drug and their residue. **Adv. Vet. Sci. Comp. Med.** 15 : 101-132. อ้างถึงใน ลัดดาวัลย์ ครองพงษ์. 2541. **การใช้วิตามินซีทดแทนออกซิเตตราซัยคลินในอาหารเลี้ยงกุ้งก้ามกราม.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Kelmanson, J.E. ; Jager, A.K. and Staden J.V. 2000. Zulu medicinal plants with antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology.** 69 : 241-246.

Martinez, M.J. ; Betancourt, J ; Gonzfilez, N.A. and Jauregui, A. 1996. Screening of some Cuban medicinal plants activity for antimicrobial. **Journal of Ethnopharmacology.** 52 : 171-174.

Mills, D. 1996. **You and your aquarium.** Alfred A. Knope, New York. 287p. อ้างถึงใน คีรี กออนันตกุล. 2545. **โรคของปลาสวยงามน้ำจืด.** เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2545. กรมประมง.

Nezha, S. ; Mohamed, L. ; Mohamed, F and Khadija, F.Z. 2003. Inhibition of growth and mycotoxins formation in moulds by marine algae *Cystoseira tamariscifolia.* **African Journal of Biotechnology.** 3(1) : 71-75.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Riechelt, J.L. and Borowitzka, M.A. 1984. Antimicrobial activity from marine algae : Results of a large-scale screening programme. **Hydrobiologia**116/117 : 158-168. อ้างถึงใน วนิดา ศรีอินทร์. 2545. **ประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาหร่ายทะเลบางชนิดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและการเป็นสารกันหืน**.วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Rao, P.S. and Parekh, K.S. 1981. Antibacterial activity of Indian seaweed extracts. **Botanica Marina**. 24 : 577-582. อ้างถึงใน ชลธิชา เรืองเอกพจน์ และ ชัยสิทธิ์ ธีระพงศ์รามกุล. 2545. **ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียโดยสารสกัดจาก *Chlorella* sp.** โครงงานพิเศษ. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Round, F.E. 1973. **The Biology of the Algae**. London, Edward, Arnold Publishers, 248 p. อ้างถึงใน ทวีศักดิ์ พงษ์ปัญญา. 2540. **การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในสูตรอาหารต่างๆ**. วารสารทางวิชาการ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย. 17(1) : 7-9.

Smith, G.M. 1951. **Fresh-water algae of the United State**. New York, McGraw-Hill Book Company, 718 p. อ้างถึงใน ทวีศักดิ์ พงษ์ปัญญา. 2540. **การเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. ในสูตรอาหารต่างๆ**. วารสารทางวิชาการมหาวิทยาลัยหอการค้าไทย. 17 (1) : 7-9.

Trainor, F.N. 1978. **Introduction phycology** John Wiley & Sons. New York. 525p. อ้างถึงใน กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2527. **สาหร่าย**. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Varnam, A.H. and Evan, M.G. 1991. **Foodborne pathogens an illustrated text**. Wolfe Publishing Ltd, English. 557 p. อ้างถึงใน วันทนา อ่อนภิรมย์. 2538. **การตรวจ *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างอาหารโดยวิธี ELISA**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Vlachos, V.; Critchley, A.T. and Holy, A.V. 1997. Antimicrobial activity of extracts from selected Southern African marine macroalgae. **Southern African Journal of Science.** 93 : 328-332.

White, M.R. n.d. **How do I know if I have sick fish and why are they sick.** [On line] Available : http://ag.anse.purdue.edu/aquanic/publicat/state/it-in/ces/white.pdf. อ้างถึงใน คีรี กออนันตกุล. 2545. **โรคของปลาสวยงามน้ำจืด**. เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2545. กรมประมง.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

อาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่าย

สูตรอาหาร N-8 ที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย *Chlorella* sp.

$Na_2HPO_4.2H_2O$	260.0	มิลลิกรัม
KH_2PO_4	740.0	มิลลิกรัม
$CaCl_2$	10.0	มิลลิกรัม
Fe EDTA	10.0	มิลลิกรัม
$MgSO_4.7H_2O$	50.0	มิลลิกรัม
KNO_3	1000.0	มิลลิกรัม
Trace element*	1.0	มิลลิกรัม
Distilled water to	1.0	มิลลิกรัม

*Trace element mixture for N-8 medium

$Al_2(SO_4)_3.18H_2O$	3.58	กรัม
$MnCl_2.4H_2O$	12.98	กรัม
$CuSO_4.5H_2O$	1.83	กรัม
$ZnSO_4.7H_2O$	3.20	กรัม
Distilled water	1.00	ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

สูตรอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) ที่ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (Scharlau Chemie, Spain)

Casein peptone	15.0	กรัม
Soy peptone	5.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร

Final pH 7.3 (±0.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp.

1. การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยการทำให้เซลล์แตกด้วยวิธีบดเซลล์

ตาราง ข-1 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตรและในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	43.67	43.17	43.33	43.33	42.83	43.27
4	-	-	-	-	-	-
8	8.33	8.67	9.33	8.83	8.50	8.73
12	10.67	10.00	10.33	10.17	10.33	10.30

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

ตาราง ข-2 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	31.33	30.17	30.83	30.67	30.33	30.67
4	7.33	7.67	7.83	7.33	7.50	7.53
8	10.67	9.33	9.50	10.33	10.17	10.00
12	12.50	12.17	12.33	12.50	12.00	12.30

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-3 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	16.00	16.33	15.17	16.83	15.33	15.93
4	-	-	-	-	-	-
8	8.67	9.33	9.17	8.33	8.67	8.83
12	10.50	10.00	11.33	11.33	10.67	10.77

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

ตาราง ข-4 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตรและในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	15.83	16.67	16.00	16.33	16.00	16.17
4	-	-	-	-	-	-
8	9.33	9.00	9.17	9.17	9.50	9.23
12	10.50	10.33	10.33	10.17	10.67	10.40

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-5 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30µl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	43.33	43.83	43.00	43.33	42.83	43.26
4	8.50	8.33	8.67	8.00	8.67	8.43
8	11.00	11.50	11.33	11.17	11.50	11.30
12	13.17	13.50	13.17	13.33	13.17	13.27

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

2. การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยการทำให้เซลล์แตกด้วยวิธีใช้คลื่นเสียงความถี่สูง

ตาราง ข-6 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30µl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	43.67	47.67	45.00	43.67	44.17	44.84
4	-	-	-	-	-	-
8	8.97	8.33	7.67	8.17	7.17	8.06
12	10.67	11.17	11.50	12.00	10.70	11.21

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-7 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายอะซีโตน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตรและในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	46.17	42.67	45.00	46.00	44.50	44.87
4	-	-	-	-	-	-
8	7.67	7.17	7.33	8.33	8.00	7.70
12	12.00	15.33	13.67	13.33	13.67	13.60

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

ตาราง ข-8 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัย-คลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	45.33	46.67	44.17	45.67	42.33	44.84
4	10.33	10.67	10.67	11.50	11.17	10.87
8	14.00	16.33	14.83	14.67	15.67	15.10
12	17.50	18.33	17.33	17.67	18.67	17.90

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-9 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	30.67	31.33	31.33	29.50	32.00	31.00
4	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
12	12.50	11.67	12.67	12.67	12.33	12.37

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

ตาราง ข-10 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายอะซีโตน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	29.83	32.33	30.67	30.67	31.00	30.90
4	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
12	9.67	9.83	10.17	9.17	9.33	9.63

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-11 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	31.33	28.33	32.67	31.67	30.50	30.90
4	10.67	10.67	11.33	10.83	11.83	11.07
8	11.83	12.50	12.33	12.33	12.00	12.20
12	14.17	14.17	14.33	14.83	14.33	14.37

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

ตาราง ข-12 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัย-คลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	15.33	15.67	16.00	16.67	15.00	15.73
4	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
12	10.67	11.33	10.67	11.17	11.00	10.97

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-13 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายอะซีโตน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30µl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	14.83	16.17	15.67	15.83	15.17	15.53
4	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
12	8.17	8.67	8.00	8.17	8.33	8.27

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

ตาราง ข-14 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30µl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	15.33	15.67	17.00	16.17	15.33	15.90
4	7.33	7.17	7.33	7.67	7.00	7.30
8	10.00	10.17	10.33	10.33	10.33	10.23
12	12.67	11.83	12.00	12.33	12.33	12.23

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-15 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	15.33	16.67	15.67	14.00	15.17	15.37
4	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

ตาราง ข-16 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายอะซีโตน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	17.00	15.67	16.33	15.33	15.33	15.93
4	-	-	-	-	-	-
8	8.67	8.50	8.67	8.33	8.33	8.50
12	10.33	10.33	11.00	12.67	11.33	11.13

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-17 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	15.50	15.67	14.33	16.67	15.00	15.93
4	8.33	9.00	9.17	8.67	8.33	8.70
8	11.33	12.17	13.00	11.33	12.17	12.00
12	12.17	13.67	12.67	14.33	13.50	13.27

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

ตาราง ข-18 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	44.00	42.67	44.33	44.33	43.67	43.80
4	7.17	7.33	7.17	7.50	7.83	7.40
8	8.00	8.50	9.33	8.33	8.17	8.47
12	12.00	12.50	11.00	12.17	12.17	11.97

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-19 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายอะซีโตน ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	42.67	43.67	43.33	43.17	43.00	43.17
4	-	-	-	-	-	-
8	7.33	7.33	7.67	7.83	7.67	7.57
12	10.83	10.67	10.33	10.67	11.33	10.77

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

ตาราง ข-20 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	43.50	44.17	43.33	42.67	42.33	43.20
4	11.33	10.67	12.67	12.33	11.50	11.70
8	14.83	15.33	15.50	15.17	14.83	15.13
12	18.33	18.50	17.33	18.83	18.33	18.26

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-21 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30µl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	43.17	43.33	44.17	43.00	44.50	43.63
4	13.00	12.83	12.67	12.33	12.50	12.67
8	17.67	16.33	16.50	16.17	16.83	16.70
12	19.33	18.17	19.17	18.33	18.33	18.67

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

ตาราง ข-22 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30µl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	30.67	30.33	30.67	31.00	30.33	30.60
4	12.83	12.00	12.33	12.33	12.67	12.43
8	15.00	15.17	15.67	15.33	15.17	15.27
12	16.33	17.33	16.83	16.67	17.00	16.83

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-23 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	15.67	15.33	15.00	16.50	16.83	15.87
4	-	-	-	-	-	-
8	9.67	9.83	9.33	9.17	9.17	9.43
12	10.67	11.33	10.67	10.50	11.83	11.00

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

ตาราง ข-24 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	16.67	16.50	16.33	15.33	16.00	16.17
4	10.17	10.33	10.67	9.67	9.83	10.13
8	12.83	13.17	13.00	12.67	12.67	12.87
12	14.00	14.17	13.50	14.67	13.00	13.87

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-25 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30µl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	43.00	43.33	42.17	43.83	42.50	42.97
4	15.67	15.50	14.33	15.33	15.67	15.30
8	18.17	18.00	18.67	18.83	18.33	18.40
12	21.33	21.17	21.33	21.67	22.33	21.57

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

ตาราง ข-26 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30µl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	43.50	43.33	44.17	44.50	44.67	44.03
4	7.67	7.17	7.33	7.33	8.00	7.50
8	10.33	10.67	11.33	10.67	11.17	10.83
12	14.00	15.17	14.33	14.67	14.67	14.57

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-27 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Aeromonas sobria* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	30.33	30.17	30.50	30.33	31.33	30.53
4	9.00	8.67	8.50	9.17	8.33	8.73
8	9.67	9.33	10.67	10.83	10.17	10.13
12	11.33	12.67	12.33	12.50	12.17	12.20

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

ตาราง ข-28 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30μl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Edwardsiella tarda* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	15.50	15.33	16.67	15.50	15.67	15.73
4	-	-	-	-	-	-
8	8.33	8.17	8.33	8.50	8.17	8.30
12	10.17	10.00	10.50	10.67	10.33	10.33

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข-29 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30µl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	16.00	16.50	16.33	16.17	16.33	16.27
4	8.00	8.33	8.17	9.00	8.67	8.43
8	9.67	9.33	9.17	9.67	10.83	9.73
12	12.00	11.50	11.83	11.33	12.33	11.80

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

ตาราง ข-30 แสดงขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 4, 8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร และในยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลินที่ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

ปริมาณสารสกัด (mg/30µl)	ขนาดของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
Control	-	-	-	-	-	-
4 (เตตราซัยคลิน)	42.50	43.67	43.17	43.33	43.33	43.20
4	9.67	9.50	9.00	9.83	9.33	9.47
8	10.33	11.83	12.83	12.33	11.50	11.76
12	15.33	15.17	15.00	15.67	15.33	15.30

- สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนี้นำมาวิเคราะห์คำนวณทางสถิติ เพื่อทำการเปรียบเทียบความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorella* sp. ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลา ซึ่งใช้โปรแกรมคำนวณทางสถิติ SPSS เวอร์ชั่น 11.0 โดยใช้วิธีการคำนวณแบบ Duncan Multiple Rank Test ในการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-1 แสดงการเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์คือ *Aeromonas hydrophila* *Aeromonas sobria* *Edwardsiell tarda* *Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* จากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 โดยวิธีการบดเซลล์ และวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงในการทำให้เซลล์แตก

สายพันธุ์แบคทีเรีย	ปริมาณสารสกัด (mg/30µl)	ขนาดบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 โดยวิธีบดเซลล์ (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)	ขนาดบริเวณยับยั้งของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 โดยวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (mm)					ค่าเฉลี่ย (mm)
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	
A. hydrophila	4	-	-	-	-	-	-	10.33	10.67	10.67	11.50	11.17	10.87
	8	8.33	8.67	9.33	8.83	8.50	8.73	14.00	16.33	14.83	14.67	15.67	15.10
	12	10.67	10.00	10.33	10.17	10.33	10.30	17.50	18.33	17.33	17.67	18.67	17.90
A. sobria	4	7.33	7.67	7.83	7.33	7.50	7.53	10.67	10.67	11.33	10.83	11.83	11.07
	8	10.67	9.33	9.50	10.33	10.17	10.00	11.83	12.50	12.33	12.33	12.00	12.20
	12	12.50	12.17	12.33	12.50	12.00	12.30	14.17	14.17	14.33	14.83	14.33	14.37
E. tarda	4	-	-	-	-	-	-	7.33	7.17	7.33	7.67	7.00	7.30
	8	8.67	9.33	9.17	8.33	8.67	8.83	10.00	10.17	10.33	10.33	10.33	10.23
	12	10.50	10.00	11.33	11.33	10.67	10.77	12.67	11.83	12.00	12.33	12.33	12.23
P. fluorescens	4	-	-	-	-	-	-	8.33	9.00	9.17	8.67	8.33	8.70
	8	9.33	9.00	9.17	9.17	9.50	9.23	11.33	12.17	13.00	11.33	12.17	12.00
	12	10.50	10.33	10.33	10.17	10.67	10.40	12.17	13.67	12.67	14.33	13.50	13.27
S. aureus	4	8.50	8.33	8.67	8.00	8.67	8.43	11.33	10.67	12.67	12.33	11.50	11.70
	8	11.00	11.50	11.33	11.17	11.50	11.30	14.83	15.33	15.50	15.17	14.83	15.13
	12	13.17	13.50	13.17	13.33	13.17	13.27	18.33	18.50	17.33	18.83	18.33	18.26

-สัญลักษณ์แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

ตาราง ค-2 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ที่ปริมาณ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ใช้วิธีการทำให้เซลล์แตกโดยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง และวิธีการบดเซลล์

C.8260

Duncan[a]

compare 8260 method	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
A.hydrophila(A)	5	10.3000				
P.fluorescens(A)	5	10.4000				
E.tarda(A)	5	10.7660				
E.tarda(B)	5		12.2320			
A.sobria(A)	5		12.3000			
P.fluorescens(B)	5			13.2680		
S.aureus(A)	5			13.2680		
A.sobria(B)	5				14.3660	
A.hydrophila(B)	5					17.9000
S.aureus(B)	5					18.2640
Sig.		.131	.813	1.000	1.000	.210

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

(A) หมายถึง วิธีการทำให้เซลล์แตกโดยการบดเซลล์ (B) หมายถึงการทำให้เซลล์แตกโดยการใช้คลื่นเสียง

จากการนำสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 มาสกัดโดยวิธีบดเซลล์ และใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (sonicater) พบว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากวิธีการทำให้เซลล์แตกโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่นำมาทดสอบโดยมีประสิทธิภาพสูงกว่าวิธีการทำให้เซลล์แตกโดยการบดเซลล์ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-3 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ที่ปริมาณ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล

METHANOL

Duncan[a]

8260 each solvent	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
E.tarda	5	12.2320			
P.fluorescens	5		13.2680		
A.sobria	5			14.3660	
A.hydrophila	5				17.9000
S.aureus	5				18.2640
Sig.		1.000	1.000	1.000	.314

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ตาราง ค-4 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ที่ปริมาณ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน

ACETONE

Duncan[a]

8260 each solvent	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
E.tarda	5	8.2680			
A.sobria	5		9.6340		
S.aureus	5			10.7660	
P.fluorescens	5			11.1320	
A.hydrophila	5				13.6000
Sig.		1.000	1.000	.440	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-5 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ที่ปริมาณ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน

DICHLORO

Duncan[a]

8260 each solvent	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
P.fluorescens	5	.0000		
E.tarda	5		10.9680	
A.hydrophila	5		11.2080	
S.aureus	5			11.9680
A.sobria	5			12.3680
Sig.		1.000	.382	.152

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

หมายเหตุ ขนาดของบริเวณยับยั้งที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในกรณีที่อยู่ในช่องหมายเลขเดียวกันแสดงว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากสาหร่ายให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าทางสถิติที่ได้จากตารางสามารถสรุปผลการทดลองได้ว่า ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์นั้น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากตัวทำละลายเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Edwardsiella tarda, Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-6 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ที่ปริมาณ 4 ,8 และ 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล

METHANOL

Duncan[a,b]

8260	N	Subset for alpha = .05									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
E.tarda/4	5	7.3000									
P.fluorescenses/4	4		8.7925								
E.tarda/8	5			10.2320							
A.hydrophila/4	5			10.8680	10.8680						
A.sobria/4	5				11.0660	11.0660					
S.aureus/4	5					11.7000	11.7000				
P.fluorescenses/8	5						12.0000				
A.sobria/8	5						12.1980				
E.tarda/12	5						12.2320				
P.fluorescenses/12	5							13.2680			
A.sobria/12	5								14.3660		
A.hydrophila/8	5									15.1000	
S.aureus/8	5									15.1320	
A.hydrophila/12	5										17.9000
S.aureus/12	5										18.2640
Sig.		1.000	1.000	.071	.569	.072	.166	1.000	1.000	.927	.296

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.918.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

จากการทดลองนำสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 มาสกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน อะซีโตน และเมทานอล พบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้สูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายอีก 2 ตัว ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง ค-7 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล

A.HYDROP

Duncan[a]

8260 by Methanol	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
conc 4	5	10.8680		
conc 8	5		15.1000	
conc 12	5			17.9000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ตาราง ค-8 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas sobria* โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล

A.SOBRIA

Duncan[a]

8260 by Methanol	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
conc 4	5	11.0660		
conc 8	5		12.1980	
conc 12	5			14.3660
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-9 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Edwardsiella tarda* โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล

E.TARDA

Duncan[a]

8260 by Methanol	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
conc 4	5	7.3000		
conc 8	5		10.2320	
conc 12	5			12.2320
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ตาราง ค-10 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Pseudomonas fluorescens* โดย สาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล

P.FLUORE

Duncan[a]

8260 by Methanol	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
conc 4	5	8.7000		
conc 8	5		12.0000	
conc 12	5			13.2680
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-11 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* โดย สาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล

S.AUREUS

Duncan[a]

8260 by Methanol	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
conc 4	5	11.7000		
conc 8	5		15.1320	
conc 12	5			18.2640
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

หมายเหตุ ขนาดของบริเวณยับยั้งที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในกรณีที่อยู่ในช่องหมายเลขเดียวกันแสดงว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากสาหร่ายให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าทางสถิติที่ได้จากตารางสามารถสรุปผลการทดลองได้ว่า ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์นั้นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดโดยตัวทำละลายเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Edwardsiella tarda*, *Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-12 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Edwardsiella tarda, Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* โดยสาหร่าย *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

C.8260

Duncan [a]

antibacterial activity	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
E.tada	5	12.2320			
P.fluorescens	5		13.2680		
A.sobria	5			14.3660	
A.hydrophila	5				17.9000
S.aureus	5				18.2640
Sig.		1.000	1.000	1.000	.314

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

หมายเหตุ ขนาดของบริเวณยับยั้งที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในกรณีที่อยู่ในช่องหมายเลขเดียวกันแสดงว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากสาหร่ายให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าทางสถิติที่ได้จากตารางสามารถสรุปได้ว่า ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ นั้นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดโดยสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 สามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาดยับยั้ง 18.26 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Pseudomonas fluorescens* และ *Edwardsiella tarda* โดยมีขนาดการยับยั้ง 17.90, 14.36, 13.26, 12.23 มิลลิเมตรตามลำดับ ซึ่งขนาดการยับยั้งของ *Staphylococcus aureus* และ *Aeromonas hydrophila* ในทางสถิติแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-13 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* โดย สาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัด โดยตัวทำละลายเมทานอล

A.H

Duncan[a]

8261by methanol	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
conc4	5	12.6660		
conc8	5		16.7000	
conc12	5			18.6660
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ตาราง ค-14 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas sobria* โดย สาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัด โดยตัวทำละลายเมทานอล

A.S

Duncan[a]

8261by methanol	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
conc4	5	12.4320		
conc8	5		15.2680	
conc12	5			16.8320
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-15 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Edwardsiella tarda* โดย สาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัด โดยตัวทำละลายเมทานอล

E.T

Duncan[a]

8261by methanol	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
conc4	5	.0000		
conc8	5		9.4340	
conc12	5			11.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ตาราง ค-16 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Pseudomonas fluorescens* โดย สาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัด โดยตัวทำละลายเมทานอล

P.F

Duncan[a]

8261by methanol	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
conc4	5	10.1340		
conc8	5		12.8680	
conc12	5			13.8680
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-17 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Staphylocooccus aureus* โดย สาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัด โดยตัวทำละลายเมทานอล

S.A

Duncan[a]

8261by methanol	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
conc4	5	15.3000		
conc8	5		18.4000	
conc12	5			21.5660
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

A.H *(Aeromonas hydrophila)*, A.S *(Aeromonas sobria)*, E.T (*Edwardsiella tarda*), P.F(*Pseudomonas fluorescens*), S.A (*Staphylococcus aureus*)

หมายเหตุ ขนาดของบริเวณยับยั้งที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในกรณีที่อยู่ในช่องหมายเลขเดียวกันแสดงว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากสาหร่ายให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าทางสถิติที่ได้จากตารางสามารถสรุปผลการทดลองได้ว่า ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์นั้นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดโดยสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 สามารถยับยั้ง *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Edwardsiella tarda, Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-18 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Edwardsiella tarda, Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* โดยสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

C.8261

Duncan[a]

antibacterial activity	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
E.tada	5	11.0000				
P.fluorescens	5		13.8680			
A.sobria	5			16.8320		
A.hydrophila	5				18.6660	
S.aureus	5					21.5660
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

หมายเหตุ ขนาดของบริเวณยับยั้งที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในกรณีที่อยู่ในช่องหมายเลขเดียวกันแสดงว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากสาหร่ายให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าทางสถิติที่ได้จากตารางสามารถสรุปได้ว่า ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์นั้นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดโดยสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 สามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีขนาดการยับยั้ง 21.56 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Pseudomonas fluorescens* และ *Edwardsiella tarda,* โดยมีขนาดการยับยั้ง 18.66, 16.83, 13.86, 11.00 มิลลิเมตรตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-19 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* โดย สาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล

A.H

Duncan[a]

8445 by methanol	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
conc4	5	7.5000		
conc8	5		10.8340	
conc12	5			14.5680
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ตาราง ค-20 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas sobria* โดย สาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล

A.S

Duncan[a]

8445 by methanol	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
conc4	5	8.7340		
conc8	5		10.1340	
conc12	5			12.3000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-21 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Edwardsiella tarda* โดยสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล

E.T

Duncan[a]

8445 by methanol	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
conc4	5	.0000		
conc8	5		8.3000	
conc12	5			10.3340
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ตาราง ค-22 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Pseudomonas fluorescens* โดยสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล

P.F

Duncan[a]

8445 by methanol	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
conc4	5	8.4340		
conc8	5		9.7340	
conc12	5			11.7980
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-23 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* โดยสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล

S.A

Duncan[a]

8445 by methanol	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
conc4	5	9.4660		
conc8	5		11.7640	
conc12	5			15.3000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

หมายเหตุ ขนาดของบริเวณยับยั้งที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในกรณีที่อยู่ในช่องหมายเลขเดียวกันแสดงว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากสาหร่ายให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าทางสถิติที่ได้จากตารางสามารถสรุปผลการทดลองได้ว่า ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์นั้นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดโดยสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 สามารถยับยั้งการเจริญของ *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Edwardsiella tarda, Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-24 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Edwardsiella tarda, Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* โดย สาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

C.8445

Duncan[a]

antibacterial activity	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
E.tada	5	10.3340			
P.fluorescens	5		11.7980		
A.sobria	5		12.2000		
A.hydrophila	5			14.5680	
S.aureus	5				15.3000
Sig.		1.000	.117	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

หมายเหตุ ขนาดของบริเวณยับยั้งที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในกรณีที่อยู่ในช่องหมายเลขเดียวกันแสดงว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากสาหร่ายให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าทางสถิติที่ได้จากตารางสามารถสรุปได้ว่า ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์นั้นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดโดยสาหร่าย *Chlorella* sp. TISTR 8445 สามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีขนาดการยับยั้ง 15.30 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria, Pseudomonas fluorescens* และ *Edwardsiella tarda,* โดยมีขนาดการยับยั้ง 14.56, 12.20, 11.79, 10.33 มิลลิเมตรตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร ซึ่งขนาดการยับยั้งของ *Aeromonas sobria* และ *Pseudomonas fluorescens* แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญในทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-25 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* โดยสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ,*Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทา-นอล ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

A.H

Duncan[a]

antibacterial activity	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
chlorella 8445	5	14.5680		
chlorella 8260	5		17.9000	
chlorella 8261	5			18.6660
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ตาราง ค-26 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Aeromonas sobria* โดยสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ,*Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

A.S

Duncan[a]

antibacterial activity	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
chlorella 8445	5	12.2000		
chlorella 8260	5		14.3660	
chlorella 8261	5			16.8320
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-27 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Edwardsiella tarda* โดยสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ,*Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

E.T

Duncan[a]

antibacterial activity	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
chlorella 8445	5	10.3340		
chlorella 8261	5		11.0000	
chlorella 8260	5			12.2320
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ตาราง ค-28 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Pseudomonas fluorescens* โดยสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ,*Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

P.F

Duncan [a]

antibacterial activity	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
chlorella 8445	5	11.7980	
chlorella 8260	5		13.2680
chlorella 8261	5		13.8680
Sig.		1.000	.174

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-29 แสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* โดยสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ,*Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 ที่ทำการสกัดโดยตัวทำละลายเมทา-นอล ที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตร

S.A

Duncan[a]

antibacterial activity	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
chlorella 8445	5	15.3000		
chlorella 8260	5		18.2640	
chlorella 8261	5			21.5660
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

A.H *(Aeromonas hydrophila)*, A.S *(Aeromonas sobria)*, E.T (*Edwardsiella tarda*), P.F(*Pseudomonas fluorescens*), S.A (*Staphylococcus aureus*)

หมายเหตุ ขนาดของบริเวณยับยั้งที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติในกรณีที่อยู่ในช่องหมายเลขเดียวกันแสดงว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากสาหร่ายให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าทางสถิติที่ได้จากตารางสามารถสรุปได้ว่า ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์นั้นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดโดยสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TISTR 8261 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อ 30 ไมโครลิตรโดยจะยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีที่สุด มีขนาดการยับยั้ง 21.56 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Aeromonas hydrophila, Aeromonas sobria , Pseudomonas fluorescens* และ *Edwardsiella tarda* โดยมีขนาดการยับยั้ง 18.66, 16.83, 13.86 และ11.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ ยกเว้น *Pseudomonas fluorescens* สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสายพันธุ์*Chlorella vulgaris* TISTR 8261 และ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 ให้ผลในการยับยั้งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญในทางสถิติ และ *Edwardsiella tarda* สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 จะสามารถยับยั้งการเจริญได้ดีกว่า โดยมีขนาดการยับยั้ง 12.23 มิลลิเมตร รองลงมาคือสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella ellipsoidea* TISTR 8260 และ *Chlorella* sp. TISTR 8445 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้