ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

23104

T099458

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

เรื่อง อิทธิพลของสารสกัดจากรากของพรรณไม้น้ำสกุลธูปฤาษี (*Typha* sp.) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียว และแบคทีเรีย

Effects of the cattail (*Typha* sp.), extracted on inhibiting growth of microalgae and bacteria

เลขหมู่..........

เลขทะเบียน.......99458

วัน.เดือน.ปี..........

.b...11885318.....

.i..........................

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง อิทธิพลของสารสกัดจากรากของพรรณไม้น้ำสกุลธูปฤาษี (*Typha* sp.) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียว และแบคทีเรีย

Effects of the cattail (*Typha* sp.), extracted on inhibiting growth of microalgae and bacteria

ชื่อนักศึกษา น

ชื่ออาจารย์ที่ป

ชื่ออาจารย์ที่ป

ได้พิจารณาเห็เ

อาจารย์ที่ปรึก

อาจารย์ที่ปรึก ....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์)

ภาควิชารับรองแล้ว

....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศักดิ์ชัย ชูโชติ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่ ...17... เดือน ...พ.ค.... พ.ศ. ...50...

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

อิทธิพลของสารสกัดจากรากของพรรณไม้น้ำสกุลธูปฤาษี (*Typha* sp.) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียว และแบคทีเรีย

Effects of the cattail (*Typha* sp.), extracted on inhibiting growth of microalgae and bacteria

การใช้สารเคมี และยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มักก่อให้เกิดปัญหาสารตกค้าง ทำให้สินค้าสำหรับการบริโภคไม่ปลอดภัย นอกจากนี้สารเคมีส่วนใหญ่ยังมีผลต่อสัตว์น้ำ และเป็น
พิษต่อสิ่งแวดล้ ทางเลือกหนึ่งเพื่อ
เพิ่มความปลอด ดจากพรรณไม้น้ำ
สกุลธูปฤาษี (*Ty* กัดด้วยเมทานอล
99.8% นำมาท *Microcystis* sp.
และ *Chlorella* ผลที่ได้โดยวิธีการ
นับเซลล์ พบว่า หร่ายเซลล์เดียวทั้ง
สองชนิดได้อย่า ภาพในการยับยั้งจะ
เพิ่มตามความเ ทั้งอิทธิพลของสาร
สกัดนี้ที่มีต่อแบ *Bacillus* sp. โดย
วิธีการทดสอบ ระดับ เทียบกับยา
ปฏิชีวนะ Neom clear zone ในทุก
ระดับความเข้มข้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ขอขอบพระคุณทุกท่านผู้มีส่วนร่วมให้ปัญหาพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ทุกประการ ได้แก่ ท่านอาจารย์ที่ปรึกษา ดร.อัจฉรี เรืองเดช และท่านอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์สำหรับคำแนะนำที่ล้ำค่าในการทำปัญหาพิเศษนี้ รวมทั้งคุณ บุปผา จงพัฒน์ และ คุณ นภพล เผ่ามนัส นักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง ที่อำนวยความสะดวกด้านเครื่องมือ, อุปกรณ์ และสารเคมี เป็นอย่างดี รวมถึงเพื่อนๆ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงที่น่ารักทุกคน ที่คอยให้กำลังใจและความช่วยเหลือ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง นาย พรเทพ แซ่ก๊วย เพื่อนร่วมปัญหาพิเศษ ที่ช่วยกันฝ่าฟันอุปสรรคต่างๆ ตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งเสร็จสิ้นลงได้ด้วยดีโดยไม่เคยทอดทิ้งกัน

ทธิกร กมลาสน์ฯ

เมษายน 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	12
ผลการทดลองแ	16
สรุป	19
เอกสารอ้างอิง	20
ภาคผนวก	21

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ส่วนประกอบในสารสกัดที่ได้จากธูปฤาษี (*Typha domingensis*)	4
2	อัตราการงอกของเมล็ดกะหล่ำที่ได้รับอิทธิพลจากสารประกอบของธูปฤาษีที่สกัดด้วย ethyl ether extract ที่อัตราส่วนต่างๆ	5
3	ค่า IC_{50} ของสารสกัดจากส่วนรากของ *Juncus acutus* ที่มีต่อ *S. Capricornutum*	10
4	ปริมาณเชื้อ *Vibrio* เรืองแสงในบ่อที่ไม่ได้ใส่แบคทีเรีย probiotics	10
5	ปริมาณเชื้อ *Vibrio* เรืองแสงในบ่อที่ใส่แบคทีเรีย probiotics	11
6	... obiotics	11
7	... sp. ...]	18

ตารางผนวกที่		หน้า
1	[illegible]	21
2	[illegible]	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ธูปฤาษี (*Typha* sp.)	3
2	กระเปาะเมล็ดที่เป็นลักษณะเด่นของธูปฤาษี (*Typha* sp.)	4
3	โครงสร้างของสารประกอบที่ได้จากธูปฤาษี	6
4	ผลของสารสกัดจากละอองเกสรของธูปฤาษีที่มีต่อภูมิคุ้มกันในหนู	7
5	อิทธิพลการยับยั้งของ บนการโตสูงสุดของ *M. aeruginosa*	8
6	การเจริญเติบโตของ *M. aeruginosa* ที่ได้รับอิทธิพลโดยความเข้มข้นของ PA ที่ระดับต่าง ๆ	8
7	... PA, GA,	9
8	... สาร ... ๆ	16
9	... รสกัด	17

ภาพผนวกที่		หน้า
1		22
2		23
3		23
4		23
5	การเจริญเติบโตมาตรฐานของ *Microcystis* sp.	24
6	การเจริญเติบโตมาตรฐานของ *Chlorella* sp.	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ปัญหาน้ำเขียวซึ่งเกิดจากการเจริญเติบโต และ เพิ่มจำนวนของสาหร่ายสีเขียวรวมทั้งสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน อันเป็นที่ไม่พึงปรารถนาในหลายประเทศ ส่งผลกระทบต่อการใช้ประโยชน์ของแหล่งน้ำต่าง ๆ ทำให้เกิดความสนใจการศึกษาถึงความสัมพันธ์แบบต่อต้านกันที่เกิดขึ้นระหว่างพืชขนาดใหญ่ (macrophytes) และสาหร่ายเซลล์เดียวขนาดเล็กในแหล่งน้ำ เพื่อควบคุมการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียว และ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เราไม่ต้องการนี้

การแข่งขันกันเพื่อธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ และแสง คือความรู้ทั่วไปที่จะยับยั้งการโตของสาหร่ายเซลล์เดียว จนกระทั่งมีการศึกษาและเสนองานวิจัยต่าง ๆ เพิ่มเติม ถึงการควบคุมสาหร่ายสีเขียว และ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน โดยพืชขนาดใหญ่ปล่อยสารเคมี (allelochemica [illegible] ญ่ในสกุลธูปฤาษี (*Typhaceae*) [illegible] ดยสารที่ปล่อยนั้นคือสารประกอบ [illegible]

ดังนั้น [illegible] ขนาดใหญ่สกุลธูปฤาษี (*Typha* sp [illegible] าหร่ายเซลล์เดียว คือ *Microcystis* [illegible] วกลุ่มสีเขียวแกมน้ำเงิน และกลุ่ม [illegible] ลต่อคุณภาพน้ำที่ไม่เหมาะสมต่อ [illegible] แหล่งน้ำมาก อันเนื่องมาจากของ [illegible] รัวเรือน ได้รับปริมาณแสงมาก [illegible] รวดเร็ว ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปล [illegible] จะดึง CO_2 ในน้ำมาใช้เป็นสารตั้ง [illegible] และตอนกลางคืนจะดึง O_2 จากน้ำ [illegible] O_2 กับสัตว์น้ำ นอกจากนี้ *Microcystis* sp.ซึ่งสามารถผลิตสารพิษ คือ ไมโครซิสติน (เป็นสารทุติยภูมิที่เกิดขึ้นในกระบวนการสร้างและสลายของเซลล์ หรือ secondary metabolite เป็นสารที่ไม่เกี่ยวข้องหรือจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์สาหร่าย) และมีองค์ประกอบภายในเซลล์เรียกว่า Gas vacuole ช่วยในการลอยตัวอยู่บนผิวน้ำเมื่อถูกคลื่นและลมพัดพามาบริเวณใกล้ฝั่ง หากสัตว์ต่างๆหรือมนุษย์ดื่มน้ำที่มีสาหร่ายที่สร้างสารพิษปนเปื้อนอยู่จะเป็นอันตรายต่อตับและอาจถึงตายได้

และส่วนสุดท้ายมีการทดลองเพิ่มเติมถึงความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* ที่ก่อให้เกิดโรคเรืองแสงในกุ้งทะเล พร้อมกันกับ *Bacillus* sp. อีกด้วย ซึ่งใช้เป็นตัวแทนของ แบคทีเรียแกรมลบและบวกตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยคาดหวังว่าสารสกัดจากพรรณไม้น้ำนี้ จะสามารถควบคุมการเจริญเติบโต ของสาหร่ายเซลล์เดียวและแบคทีเรียนี้ได้ เพื่อนำมาใช้ทดแทน และ ลดผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นจากการใช้สารเคมีสังเคราะห์รวมทั้งยาปฏิชีวนะต่าง ๆ ที่มีขายตามท้องตลาดและใช้กันทั่วไปในปัจจุบัน ต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาถึงอิทธิพลของสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลธูปฤาษี (*Typha* sp.) ที่มีต่อการเจริญของสาหร่ายเซลล์เดียว คือ *Microcystis* sp.และ *Chlorella* sp.

2. เพื่อศึกษาถึงอิทธิพลของสารสกัดจากพรรณไม้น้ำสกุลธูปฤาษี (*Typha* sp.) ที่มีต่อการเจริญของแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* และ *Bacillus* sp.

ประโยชน์ที่คา

1. ลดป ... ง ในแหล่งน้ำและในตัวสัตว์น้ำได้

2. ลดป ... กัดจากธรรมชาติมาใช้ ซึ่งปลอดภ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

การใช้ยาและสารเคมีสังเคราะห์ที่มีขายตามท้องตลาดที่ใช้กันทั่วไปในปัจจุบัน เป็นวิธีการหนึ่งที่มีความสะดวกรวดเร็วในการควบคุมสาหร่ายเซลล์เดียว และแบคทีเรีย ที่มักเกิดขึ้นในบ่อเลี้ยง อย่างไรก็ตามคงไม่มีสารเคมีชนิดใดที่ปลอดภัยต่อสัตว์น้ำอย่างแท้จริงหากใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานๆ สารสกัดจากพรรณไม้น้ำจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งเพื่อใช้ทดแทนและลดผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นกับสิ่งมีชีวิตในน้ำได้

ลักษณะของพรรณไม้น้ำในสกุลธูปฤาษี

พรรณไม้น้ำสกุลธูปฤาษี (*Typha* sp.) หรือที่รู้จักกันทั่วไปในชื่อ cattail จัดอยู่ใน family
Typhaceae เป็นพืช ญเติบโตแบบ
เป็นโคโลนี สามาร วมขัง พบได้
ตั้งแต่บริเวณน้ำจืดไ จะมีความสูง
ประมาณ 7 ฟุต มสำหรับการ
ปฏิสนธิจะเปลี่ยนเป็ ชื่อ genus
ของพืชในสกุลนี้ถูกตั้ นิด โดยชนิด
ที่สามารถพบได้บ่อย *ngensis* เป็น
ต้น แต่โดยรวม สิ่งที่สามารถ
กระทำได้ยาก ต้องอ น่าสนใจเป็น
อย่างมากก็คือรายงา พืชชนิดอื่น
โดยสารประกอบที่มีศ liotta et al.,
1990) เป็นต้น

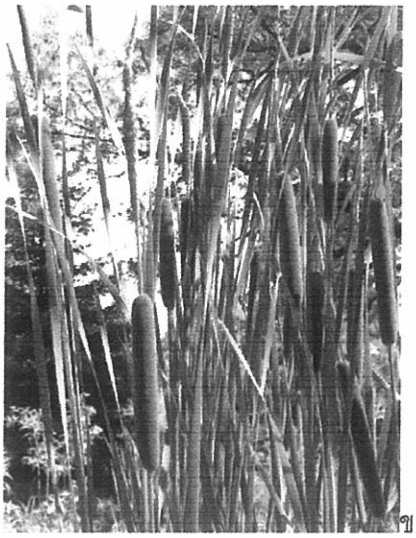
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ภาพที่ 1 ธูปฤาษี (*Typha* sp.)

ที่มา : www.floridaplants.com/Eflora/typha.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.


ข.

ภาพที่ 2 ก. และ ข. กระเปาะเมล็ดที่เป็นลักษณะเด่นของธูปฤาษี (*Typha* sp.)

ที่มา : wildpflanze.i

สารสกัดที่ได้จากธู

1. สารสกัด

Gallardo – ฤาษีสายพันธุ์

Typha domingensi ส่วนลำต้นมา

ผสมกับน้ำกลั่นแล้วปั่น องแล้วนำไป

เขย่ากับถ่านไม้เป็นเว chloroform

และ methanol ที่อั ในที่รู้กันว่ามี

คุณสมบัติในการยับ และกรด α-

Linoleic (Aliotta e ปฤาษี ส่วน

สารประกอบชนิดอื่น มีคุณสมบัติ

ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่นเช่นกัน (Harbourne and Baxter, 1993)

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบในสารสกัดที่ได้จากธูปฤาษี (*Typha domingensis*)

Compound	% Crude extract	Concentration in the leachate
Linoleic acid	20.3	8 mg/l
α-Linolenic acid	14.2	5.8 mg/l
Caffeic acid	Less than 1	–
p-Coumaric acid	Less than 1	–
Gallic acid	Less than 1	–

ที่มา : Gallardo – Williams et al. (2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ยังมีการนำสารที่ได้มาทดสอบกับเมล็ดกะหล่ำ (*Latuca sativa*) โดยการนำ filter paper disk มาชุบสารสกัดปริมาตร 1 ml ก่อนนำเมล็ดกะหล่ำมาวางบน disk ที่แห้งดีแล้ว โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ใช้ dichloromethane และสารละลาย phenol ความเข้มข้น 10 ppm ทำการทดลองโดยสังเกตอัตราการงอกของเมล็ดกะหล่ำเป็นเวลา 3 วัน

โดยจากผลการทดลอง (ตารางที่ 2) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดที่ได้จากธูปฤาษีมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของกะหล่ำ โดยสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วย ethyl ether extract ที่อัตราส่วนต่างกันจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของกะหล่ำที่ต่างกันด้วย

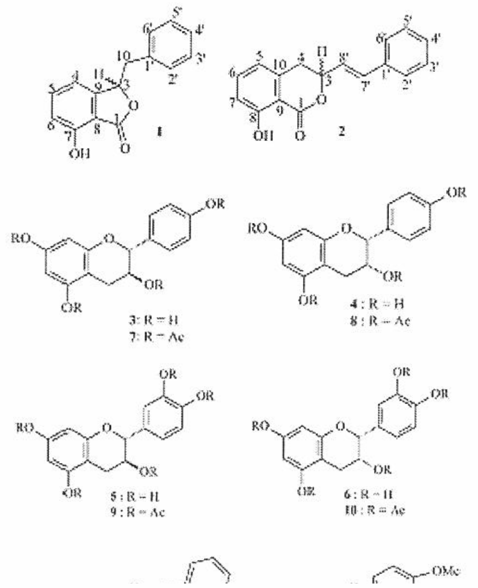
ตารางที่ 2 อัตราการงอกของเมล็ดกะหล่ำที่ได้รับอิทธิพลจากสารประกอบของธูปฤาษีที่สกัดด้วย ethyl ether extract ที่อัตราส่วนต่างๆ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ที่มา : Gallardo – V

ส่วน Shode et al. (2002) ได้ทำการศึกษาสารประกอบของธูปฤาษีสายพันธุ์ *Typha capensis* โดยการนำส่วนรากของพืชที่ผ่านการอบแห้งและปั่นจนละเอียดมาสกัดด้วย hexane และ acetone สารประกอบแต่ละชนิดถูกนำมาแยกด้วยกระบวนการโครมาโตกราฟฟี โดยในบรรดาสารประกอบทั้ง 12 ชนิดที่สกัดได้นั้น (ภาพที่ 3)มีสารประกอบในกลุ่ม phenol ชนิดใหม่ 2 ชนิดได้แก่ typhaphthalide (หมายเลข1) และ typharin (หมายเลข2) นอกจากนี้สารประกอบชนิดอื่นๆ ที่พบได้แก่ sitosterol(หมายเลข3), epiafzelechin(หมายเลข4), catechin (หมายเลข5) และ epicatechin(หมายเลข6) เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 โครงสร้าง ...

ที่มา : Shode et al. ...

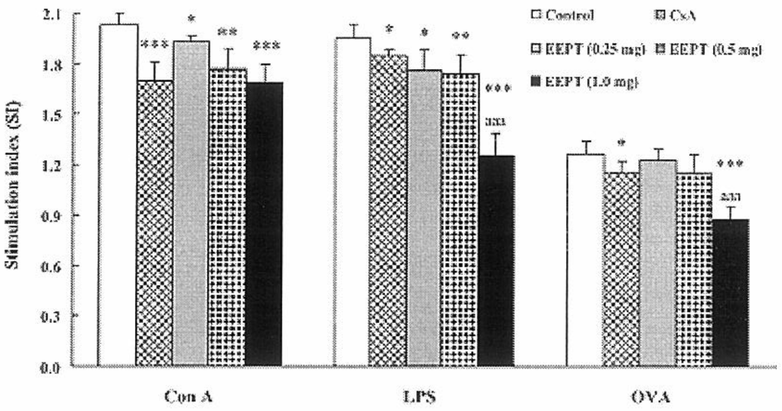
2. การนำ ...

Qin and Su ... ธูปฤๅษีสายพันธุ์ *Typha angu* ... รวบรวมส่วนละอองเกสรของธูปฤ ... นำไปประเหยตัวทำละลายด้วยเค ... % จนได้ความเข้มข้นที่ต้องการ

โดยในการท ... นที่ 0 และ 14 ของการทดลอง ส่วน ... ระดับต่างๆ ที่ 0.25, 0.5 และ 1.0 mg โดยจะทำการฉีดให้หนูทุกสัปดาห์ ทำการทดลองโดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ใช้น้ำเกลือ และยาปฏิชีวนะ (CsA) โดยนำส่วนของน้ำเลือด (serum) และเซลล์ม้ามของหนูมาทำการวิเคราะห์

ผลการทดลอง (ภาพที่ 4) แสดงให้เห็นว่าหนูที่ได้รับสารสกัดจากละอองเกสรของธูปฤาษีโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg มีระดับภูมิคุ้มกันที่ต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยดูจากปริมาณ Concanavalin A (ConA) , lipopolysaccharide (LPS) และ Ovalbumin (OVA) ที่ต่ำที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 ผลของสารสกัดจากละอองเกสรของธูปฤาษีที่มีต่อภูมิคุ้มกันในหนู

ที่มา : Qin and Sun (2005)

นอกจากนี้ ... นในด้านอื่นๆ อีกมากมาย เช่น ใช้ ... รักษาอาการเจ็บป่วยทางกามโรค ... แม้กระทั่งใช้เป็นยาบำรุงและเพิ่ม ... and Breyer-Brandwijk, 1962 ; ... าดเจ็บฟกช้ำและใช้รักษาโรคเกี่ยว ...

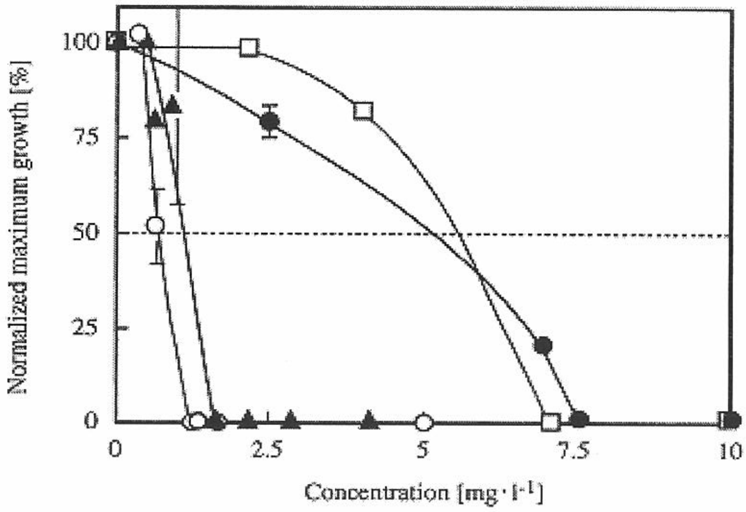
การยับยั้งการเจริญ ...

Nakai et ... าณ (dose-response) ของ pol ... *atum* (ภาพที่ 5) ที่แต่ละระดับควา ... ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *M. aerugin* ... และ EA คือ 0.65, 1.0, 5.5 และ 5.1 mg l^{-1} ตามลำดับ ด้วยเหตุนี้ แสดงว่าในหมู่ polyphenols ทั้ง 4 PA และ GA มีอิทธิพลยับยั้งการโตของ *M. aeruginosa* มากกว่า CATECH และ EA

จากนั้นจึงทดสอบต่อด้วยระดับความเข้มข้นของ PA ที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 6) บนการโตของ *M. aeruginosa* ผลที่ได้คืออิทธิพลการยับยั้งปรากฏตามความเข้มข้นของ polyphenols ที่เพิ่มขึ้น โดยการเพิ่มของ PA เข้มข้นเกิน 1.26 mg l^{-1} สามารถยับยั้งการโตของ *M. aeruginosa* ได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 อิทธิพลกา ... บนการโต

สูงสุดของ ... และ (●) EA

ค่า standa

ที่มา : Nakai et al. (

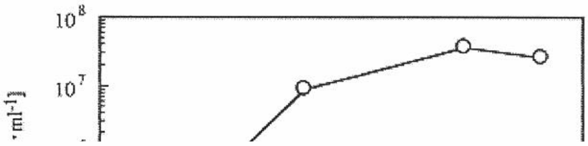
ภาพที่ 6 การเจริญเติบโตของ *M. aeruginosa* ที่ได้รับอิทธิพลโดยความเข้มข้นของ PA ที่ระดับต่าง ๆ สัญลักษณ์ (○) control, (▲) 0.63 [mg l^{-1}], (□) 1.26 [mg l^{-1}], (●) 2.52 [mg l^{-1}] และ (Δ) 5.04 [mg l^{-1}]

ที่มา : Nakai et al. (2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อิทธิพลการยับยั้งที่เกิดขึ้นจากการใช้สารผสมของ polyphenols ทั้ง 4

หลังจากรู้ระดับความเข้มข้นของ PA ที่มีผลยับยั้งการโตของ *M. aeruginosa* แล้วจึงทดสอบต่อเกี่ยวกับอิทธิพลการยับยั้งที่เกิดขึ้นจากการใช้สารผสมของ polyphenols ทั้ง 4 ว่าจะมีอิทธิพลยับยั้งการโตเป็นอย่างไร เทียบกับ control (การโตปกติ) (ภาพที่ 7) ภายใต้แสงเข้มข้น 5000 lux *M.aeruginosa* ถูกเพาะเลี้ยงใน C(CB) medium ที่ 25 °C ประมาณ 10-15 วัน การเจริญเติบโตตรวจสอบโดยการนับจำนวนเซลล์ด้วย hemocytometer ที่ระยะคงที่ ผลที่ได้คือ สารผสมมีอิทธิพลอย่างเห็นได้ชัดในการยับยั้งการโตของ *M. aeruginosa*



ภาพที่ 7 อิทธิพลกา ... ATECH

และ EA สํ ...

ที่มา : Nakai et al. (...

ส่วน Gre ... น้ำขนาดใหญ่ *Juncus acutus* ... บกับสาหร่ายเซลล์เดียว ซึ่งการท ... ์สาหร่าย(นับจำนวนเซลล์ / ml) โดยข้อมูลเกี่ยวกับความเข้มข้นที่ได้จะถูกแสดงในรูป $\log_{10}$ (mol / L) เพื่อนำมาใช้ในการหาค่า IC_{50} ซึ่งถือเป็นปริมาณความเข้มข้นที่จะทำให้ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายลดลงครึ่งนึงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม ในการทดลองเริ่มจากการนำสารสกัดบริสุทธิ์ (99%) มาเจือจางใน DMSO และน้ำกลั่น เพื่อให้ได้สารสกัดที่จะใช้ในการทดลอง(ความเข้มข้น < 0.01% v/v) โดยใช้เซลล์ของสาหร่าย *Selenastrum Capricornutum* จำนวน 1×10^4 เซลล์ / ml ใส่ลงในสารสกัดที่เตรียมไว้ปริมาตร 25 มล. ซึ่งแบ่งเป็น 5 ความเข้มข้นๆ ละ 3 ซ้ำ แล้วนำไปเลี้ยงภายใต้ความเข้มแสง 8.000 lux ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน โดยจากผลการทดลอง (ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดแต่ละชนิดที่ได้จาก *Juncus acutus* ล้วนมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียว *Selenastrum Capricornutum* โดยความรุนแรงจะขึ้นอยู่กับลักษณะโครงสร้างและองค์ประกอบของสารสกัดแต่ละชนิด

ตารางที่ 3 ค่า IC_{50} ของสารสกัดจากส่วนรากของ *Juncus acutus* ที่มีต่อ *S. Capricornutum*

Compound	IC_{50} (μM)
1a	10.3 (8.9–11.7)
1b	21.6 (18.4–25.4)
2	18.3 (17.3–19.5)
3	16.7 (15.3–18.3)
4	17.2 (13.9–26.3)
5	26.4 (23.2–30.0)

95% confidence interval in brackets.

ที่มา : Greca et al. (2003)

ปัญหาของแบคทีเ

Moriarty (1 ... เหตุหลักของ
โรคกุ้งที่ก่อให้เกิดคว ... n and Kitao,
1991) นอกจากนี้ท ... ได้ผลเสมอไป
และนอกจากนี้ยังมีผ ... ในงานวิจัยนี้
จึงได้มีการทดลองใ ... io โดยทำการ
เปรียบเทียบระหว่าง

จากผลการ ... io เรืองแสงที่
แตกต่างกันทั้งในน้ ... ลยในบ่อที่ใส่
แบคทีเรีย probiotic ... เพาะอย่างยิ่ง
ในดินที่ไม่พบเชื้อ *Vi*

ตารางที่ 4 ปริมาณเชือ *Vibrio* เรืองแสงในบ่อทีไม่ได้ใส่แบคทีเรีย probiotics

Water source	DoC *	Water		Sediment	
		Vibrio	Lum. *Vibrio*	*Vibrio*	Lum. *Vibrio*
Farm 1 Pond 1	80	2576±366	205±81	3523±1300	164±51
Farm 1 Pond 2	80	5925±730	250±25	$1.1\pm5\times10^5$	$5.2\pm4.2\times10^4$
Farm 1 Reservoir		6333±683	250±67		
Farm 2 Pond 1	60	2269±525	281±119		
Farm 2 Pond 2	40	593±56	50±14		
Farm 3 Pond 1	100	2106±2100	44±51		

ที่มา : Moriarty (1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ปริมาณเชื้อ *Vibrio* เรืองแสงในบ่อที่ใส่แบคทีเรีย probiotics

Pond	DoC*	Water		Sediment	
		Vibrio	Lum. *Vibrio*	*Vibrio*	Lum. *Vibrio*
1	40	800±92	55±31	$2.3\pm1.7\times10^3$	0
2	42	214±89	0	$8.6\pm2.1\times10^4$	0
2	72	1000±170	19±12	$1.5\pm04\times10^5$	0
3	19	4900±1700	0	$5.8\pm2.7\times10^5$	0
4	142	2630±537	2±2	$2.0\pm0.9\times10^4$	0
4	160	9800±1900	75±48	$4.7\pm2.4\times10^5$	0

ที่มา : Moriarty (1998)

และในตารางที่ 6 แสดงให้เห็นปริมาณผลผลิตของบ่อที่ใส่และไม่ได้ใส่แบคทีเรีย probiotics พบว่าในบ่อที่ใส่แบคทีเรีย probiotics มีอัตราการรอดชีวิต และปริมาณผลผลิตที่สูงกว่าอย่างเห็นได้ชัด

ตารางที่ 6 เปรียบเที

Area (m^2)	
Stocking density (No/	
Survival rate (%)	
Days of culture	
Mean size at harvest (g	
Harvest (kg/ha)	

ที่มา : Moriarty (199

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เครื่องแก้วสำหรับเลี้ยงสาหร่ายเซลล์เดียว และแบคทีเรีย
2. อาหารเลี้ยงสาหร่าย ได้แก่ อาหารบีจี -11 และอาหารเลี้ยงคลอเรลล่า (สูตรดัดแปลง)
3. อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย Nutrient Broth, วุ้น, NaCl
4. กล้องจุลทรรศน์, สไลด์นับเม็ดเลือด, ที่นับเซลล์
5. เครื่อง spectrophotometer, คิวเวต
6. เครื่อง evaporator, เครื่อง sonicate
7. เครื่อง autoclave, ตู้ hot air oven, ตู้ Incubator
8. เครื่อง ce
9. ผ้าขาวบ
10. เมทานอ
11. ยาปฏิชี ... 5 มิลลิเมตร
12. สารละ ... มิลลิลิตร ผสม

กับ 1% H_2SO_4 99 มิ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วิธีการ

แผนการทดลอง

1. สาหร่าย ... ความเข้มข้นของสารสกัด ทดลอ ...) (ชุดควบคุมโดยใช้เมทานอล เพื่ ... 25 และ 150 ppm ทำ 3 ซ้ำ

2. แบคทีเรีย ทำการทดลองแบบ CRD ปัจจัยที่พิจารณาคือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัด ทดลองทั้งหมด 12 ทรีตเมนต์ ได้แก่ ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 0 (ชุดควบคุม โดยใช้เมทานอล เพื่อแสดงถึงตัวทำละลายไม่มีอิทธิพลในการทดลอง), 2.5, 5, 7.5, 10, 25, 50, 75, 100,150 และ 200 ppm ทำ 3 ซ้ำ โดยทรีตเมนต์ที่ 12 ใช้ยาปฏิชีวนะ Neomycin

วิธีการทดลอง

1. เตรียมสาหร่ายเซลล์เดียว แบคทีเรีย และพรรณไม้น้ำ

1.1 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Microcystis* sp. เพาะเลี้ยงด้วยอาหารสูตร บีจี -11 pH 7.4 โดยใช้น้ำกลั่นที่อบฆ่าเชื้อแล้ว (121 องศาเซลเซียส 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลี้ยงในขวดน้ำเกลือขนาด 1 ลิตร ให้อากาศพร้อมทั้งปิดปากขวดด้วยสำลีและฟอยด์ ป้องกันการปนเปื้อน จากจุลินทรีย์อื่น ๆ ตั้งไว้ในที่ร่ม รับปริมาณแสงและช่วงเวลาตามธรรมชาติ (มืด : สว่าง , 12 :12 ชั่วโมง) ส่วนสาหร่ายสีเขียว *Chlorella* sp. เพาะเลี้ยงเหมือนกับสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทุกประการ ยกเว้นเปลี่ยนเป็นสูตรอาหารเลี้ยงคลอเรลล่า (สูตรดัดแปลง) pH 6.8 แทน

1.2 แบคทีเรียแกรมลบ *Vibrio harveyi* เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Borth เติมเกลือ 2 เปอร์เซ็นต์ บ่มในตู้บ่ม 30 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง และแบคทีเรียแกรมบวก *Bacillus* sp. เหมือนกับแกรมลบแต่อาหารเลี้ยงเชื้อไม่เติมเกลือ

1.3 พรรณไม้น้ำที่ใช้คือธูปฤษี (*Typha* sp.) ได้มาจากการเก็บรวบรวมตามธรรมชาติ โดยทำการเก็บจากบริเวณโรงเรือนปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

2. เตรียมสารสกัด

2.1 นำพ ... ปา แช่ทิ้งไว้ 1 คืน โดยเปิดให้น้ำไห ...

2.2 สะเด ... งศาเซลเซียส แล้วปั่นให้ละเอียด ด้ ...

2.3 นำม ... นาด 1 ลิตร อัตราส่วน ของ พรรณ ...

2.4 เก็บไ ...

2.5 จากนั้ ... มลำดับ แยกกาก และสารละลาย ...

2.6 นำส ... tor จะได้สารสกัดหยาบ ติดที่ก้น f ...

2.7 ทำ s ... เพื่อรอนำไปทดสอบต่อ

3. การทดสอบสาหร่ายเซลล์เดียว

3.1 นำอุปกรณ์ ได้แก่ flask กระบอกตวง บิกเกอร์ อบฆ่าเชื้อ ที่ 180 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง

3.2 ปั่นเหวี่ยงสาหร่าย ที่ 3000 รอบ/นาที นาน 15 นาที เพื่อแยกเซลล์สาหร่ายและอาหารเลี้ยงสาหร่าย โดยเซลล์สาหร่ายจะตกตะกอนอยู่ด้านล่าง และเทอาหารเลี้ยงสาหร่ายเก่าทิ้ง

3.3 เจือจางสาหร่าย ในอาหารใหม่ที่เตรียมไว้ ให้ได้จำนวนเซลล์สาหร่ายเริ่มต้น ที่ประมาณ 10^6 cell/ml ใช้การวัด spectro ที่ 680 นาโนเมตร (Ma et al., 2002) แล้วแทนค่าในสมการเส้นแสดงการเจริญเติบโตมาตรฐาน ที่ทำไว้ (ภาพผนวกที่ 6 และ 7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 แบ่งสาหร่ายใส่ flask ขนาด 150 ml ปริมาตร 50 ml ให้เท่ากันในทุกหน่วยทดลอง

3.5 เติมสารสกัดระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ลงในหน่วยทดลอง (ตัวอย่างเช่น ที่ความเข้มข้น 2.5 ppm จะได้จาก ใน 1,000 ml ของ stock มีสาร 100,000 mg หากต้องการสาร 2.5 mg จึงใช้ stock 0.025 ml หรือ 25 µl)

3.6 นำไปตั้งไว้ที่ชั้น อุณหภูมิห้อง ให้แสง 1600 lux ตลอด 24 ชั่วโมง เขย่าด้วยมือวันละ 2 ครั้ง และเริ่มเก็บผล บันทึกข้อมูล

4. การทดสอบแบคทีเรีย

4.1 นำอุปกรณ์เครื่องแก้ว อบฆ่าเชื้อ ที่ 180 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง

4.2 นำแบคทีเรียที่มีอายุการบ่มในอาหารใหม่ประมาณ 18 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงเวลาการเจริญเติบโตที่เหมาะสม ในการทดสอบแบคทีเรีย (Mazumder et al., 2001) มาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ ... แบคทีเรียและอาหารเลี้ยงแบคทีเรี ... เลี้ยงแบคทีเรียเก่าทิ้ง

4.3 ล้างเ ... ใช้น้ำเกลือ 2% และ *Bacillus* ... ความขุ่นของอาหารเลี้ยงแบคทีเรี ... ครื่อง Vortex จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ ...

4.4 เทน้ำเ ...

4.5 เจือจา ... nd No. 0.5 (ค่า OD = 0.100) ... ony Forming Unit/ml : CFU/ml) เ ...

4.6 นำเซล ... ทรีตเมนต์ ที่เตรียมไว้ (แช่แผ่น disc ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 1 ชั่วโมง และนำมาผึ่งให้แห้งอีก 1 ชั่วโมง)

4.7 นำไปบ่มในตู้ Incubator อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เก็บผล

การบันทึกข้อมูล

การทดสอบสาหร่ายเซลล์เดียว บันทึกค่าที่ได้จากการนับเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ , สไลด์นับเม็ดเลือด และที่นับเซลล์ ทุก 24 ชั่วโมง คือ 0, 24, 48, 72, 96, 120,144 และ 168 ชั่วโมง (7 วัน)

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบแบคทีเรีย บันทึกค่าที่ได้จากการทดสอบ clear zone ด้วยไม้บรรทัด หน่วยเป็น มิลลิเมตร (mm) หลังการ spread plate และ วางแผ่น disc ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้ว เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การวิเคราะห์ข้อมูล

โดยโปรแกรม SPSS 10.0 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติแบบ One-Way ANOVA ด้วยวิธีการของ Duncan ที่ระดับนัยสำคัญ $p<0.05$

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง และ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สถาบันเทคโนโลยี พ

ระยะเวลาในการท

ประมาณ 6

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

สาหร่ายเซลล์เดียว *Microcystis* sp. ที่ได้รับสารสกัดจากรากของธูปฤาษี (*Typha* sp.) ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 7 วัน (ภาพที่ 8) ผลการทดลองคือ ในชุดควบคุม *Microcystis* sp. มีการเจริญเติบโตเป็นปกติ โดยมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นตลอดตั้งแต่วันแรกไปจนสิ้นสุดการทดลอง ส่วนในชุดการทดลองอื่นๆ คือที่ความเข้มข้น 75, 100, 125, และ 150 ppm จำนวนเซลล์สาหร่ายจะลดลงในวันแรก หลังจากนั้นในความเข้มข้น 75 และ 100 ppm จะมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ซึ่งก็น้อยกว่าการเพิ่มขึ้นในชุดควบคุม หลังจากนั้นจำนวนเซลล์สาหร่ายค่อนข้างคงที่ไปจนสิ้นสุดการทดลอง ส่วนที่ความเข้มข้น 125 และ 150 ppm จำนวนเซลล์สาหร่ายจะลดลงอย่างรวดเร็วในวันแรก ก่อนจะมีการลดลงอย่างช้าๆ ไปจนสิ้นสุดการทดลอง โดยจำนวนเซลล์ของ *Microcystis* sp. จะ

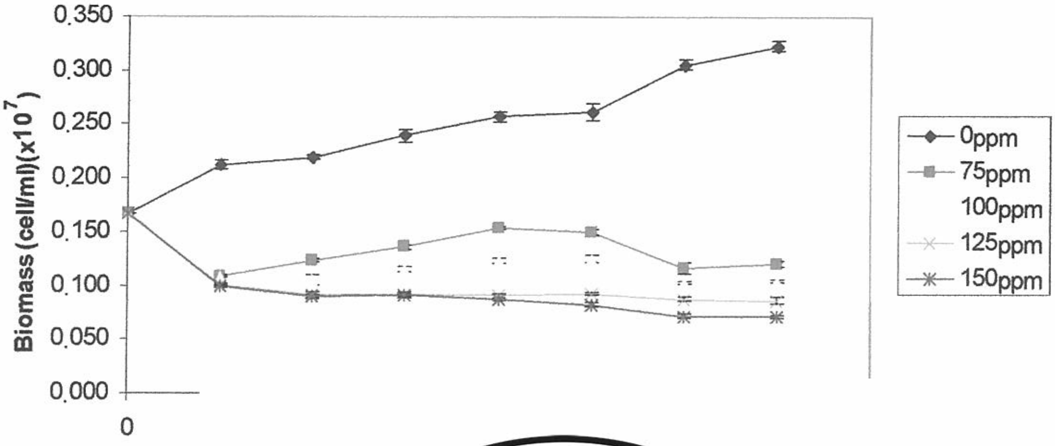
ภาพที่ 8 การเจริญเติบโตของสาหร่ายเซลล์เดียว *Microcystis* sp. ที่ได้รับสารสกัดจากรากของธูปฤาษี (*Typha* sp.) ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

สำหรับสาหร่ายเซลล์เดียว *Chlorella* sp. (ภาพที่ 9) ผลการทดลองคือ ในชุดควบคุม มีการเจริญเติบโตเป็นปกติ โดยมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่วันแรกไปจนสิ้นสุดการทดลอง ส่วนที่ความเข้มข้น 75, 100, 125, และ 150 ppm จำนวนเซลล์สาหร่ายจะลดลงอย่างรวดเร็วในวันแรก หลังจากนั้นในความเข้มข้น 75 และ 100 ppm มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นเล็กน้อยก่อนจะลดลงในวันที่ 6 ของการทดลอง ส่วนที่ความเข้มข้น 125 และ 150 ppm หลังจากวันที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

แล้ว จำนวนเซลล์จะคงที่ไปจนสิ้นสุดการทดลอง โดยมีจำนวนเซลล์น้อยที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 150 ppm



ภาพที่ 9 การเจริญเติ ... ากของธูป

ฤาษี (*Typ* ...

ผลการทดลอ ... p.) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต ... *hlorella* sp. ได้อย่างมีนัยสำคัญ ... otta et al. (1990) ที่กล่าวว่าสา ... eic และกรด α-Linoleic ซึ่งเป็นที่ ... ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ส่วนผลการท ... จากรากของธูปฤาษี (*Typha* sp.) ในระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลปรากฏว่าในทุกความเข้มข้นไม่เกิด clear zone เลย ทั้งการทดสอบกับแบคทีเรียแกรมลบคือ *Vibrio harveyi* และการทดสอบกับแบคทีเรียแกรมบวกคือ *Bacillus* sp. จึงมีความเป็นไปได้ที่สารสกัดจากรากของธูปฤาษีไม่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งสองชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงแหล่งที่มาของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

99458

ตารางที่ 7 Clear zone (mm) ของแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* และ *Bacillus* sp. ที่ได้รับสารสกัดจากรากของธูปฤาษี ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เทียบกับยาปฏิชีวนะ Neomycin

	clear zone (mm)	
ความเข้มข้น (ppm)	*Vibrio harveyi*	*Bacillus* sp.
0 (control)	0.0 [a]	0.0 [a]
2.5	0.0 [a]	0.0 [a]
5	0.0 [a]	0.0 [a]
7.5	[illegible] [a]	[illegible] [a]
10	[illegible]	[illegible] [a]
25	[illegible]	[illegible] [a]
50	[illegible]	[illegible] [a]
75	[illegible]	[illegible] [a]
100	[illegible]	[illegible] [a]
150	[illegible]	[illegible] [a]
200	[illegible]	[illegible] [a]
Neomycin	19.7±0.3	26.3±0.3 [b]

อักษรที่เหมือนกันแสดงว่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)
อักษรที่ไม่เหมือนกันแสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

สารสกัดที่ได้จากรากของพรรณไม้น้ำขนาดใหญ่ในสกุลธูปฤาษี (*Typha* sp.) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของของสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดียว *Chlorella* sp. และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Microcystis* sp.ได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.05) ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่ได้เติมสารสกัดจากรากของธูปฤาษี (*Typha* sp.) ที่สาหร่ายทั้งสองชนิดมีการเจริญเติบโตเป็นปกติ โดยความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของของสาหร่ายเซลล์เดียวจะมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้จากรากของธูปฤาษี (*Typha* sp.) โดยจะสามารถยับยั้งได้ดีตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มมากขึ้น

สำหรับการทดสอบผลของสารสกัดที่มีต่อแบคทีเรียคือ *Vibrio harveyi* และ *Bacillus* sp. ผลปรากฏว่าไม่เกิด ... ป็นปกติในทุกระดับความเข้มข้นข ... *pha* sp.) ไม่มีคุณสมบัติในการยับ ...

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

Gallardo-Williams, M.T., C.L. Geiger, J.A. Pidala and D.F. Martin. 2002. Essential fatty acids and phenolic acids from extracts and leachates of southern cattail (*Typha domingensis* P.). Phytochemistry. 59: 305-308.

Greca, M.D., A. Fiorentino, M. Isidori, M. Lavorgna, P. Monaco, L. Previtera and A. Zarrelli. 2002. Phenanthrenoids from the wetland *Juncus acutus*. Phytochemistry. 60: 633-638.

Greca, M.D., A. Fiorentino, P. Monaco, L. Previtera, F. Temussi and A. Zarrelli. 2003. New dime ... . Structure determinat

Moriarty, D.J.W. 1 ... ulture ponds. Aq

Nakai, S., Y. Inoue ... *atum* – released al ... ae *Microcystis*

Qin, F. And H.X. Su ... thanol extract on t ... logy. 102: 424-429.

Shode, F.O., A.S. M ... pharin, two phenolic co ... -957.

www.boga.unibe.ch/boga/de/home/garten/waldgar...

www.floridaplants.com/Eflora/typha.htm

ag.arizona.edu/azaqua/aquaplants/photos.htm

www.nhm.uio.no/.../Typha_latifolia.htm

wildpflanze.info/.../typha-latifolia.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 สูตรอาหารบีจี-11 (BG-11 Medium)

ลำดับที่	ส่วนผสม (Ingredient)	ความเข้มข้น (Concentration)	
1	โซเดียมไนเตรต ($NaNO_3$)	1.5 กรัม/ลิตร	17.65 มิลลิโมลล์ (mM)
2	ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนออร์โธฟอสเฟต 7-ไฮเดรต ($K_2HPO_4.7H_2O$)	0.04 กรัม/ลิตร	0.18 มิลลิโมลล์
3	แมกนีเซียมซัลเฟต7-ไฮเดรต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.075 กรัม/ลิตร	0.30 มิลลิโมลล์
4	แคลเซียมคลอไรด์ 2-ไฮเดรต ($CaCl_2$.2	0.036 กรัม/ลิตร	0.25 มิลลิโมลล์
5	กรดซิตริก		ิโมลล์
6	เฟอริคแอ (Ferric an		ิโมลล์
7	ไดโซเดียม		ิโมลล์
8	โซเดียมค		ิโมลล์
9	* Trace Me เติมน้ำกลั่		ิลิตร

* Trace Me

- กรดบอริ ... ต่อลิตร
- แมงกานี ... ต่อลิตร
- ซิงก์ซัลเฟ ... ไฮเดรต ($ZnSO_4.7H_2O$) 0.222 กรัมต่อลิตร
- โซเดียมโมลิบเดต 2-ไฮเดรต ($Na_2MoO_4.2H_2O$) 0.390 กรัมต่อลิตร
- คอปเปอร์ซัลเฟต 5-ไฮเดรต ($CuSO_4.5H_2O$) 0.079 กรัมต่อลิตร
- โคบอลไนเตรต 6-ไฮเดรต [$Co(NO_3)_2.6H_2O$] 0.049 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 สูตรอาหารเลี้ยงคลอเรลล่า (สูตรดัดแปลง)

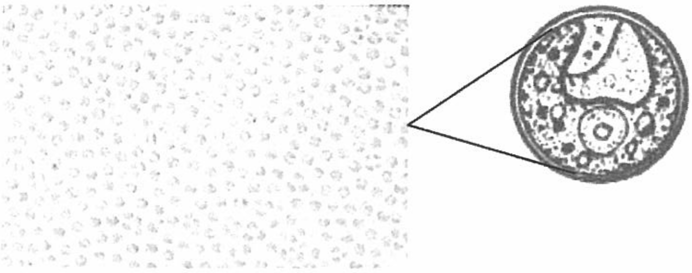
ลำดับที่	สารเคมี	ปริมาณ (mg/l)
1	$NaNO_3$	117.00
2	KH_2PO_4	15.00
3	$MgSO_4.7H_2O$	8.75
4	$CaCl_2$	1.67
5	EDTA	5.00
6	$FeCl_3.6H_2O$	0.41
7	$CuSO_4.5H_2O$	0.16
8	$ZnSO_4.7H_2O$	0.88

ภาพผนวกที่ 1 สาหร่ายเซลล์เดียว *Microcystis* sp. กำลังขยาย 600 เท่า

ที่มา : http://www.dnr.state.md.us/bay/cblife/algae/cyano/microcystis_sp.html

(March, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 2 สาหร่ายเซลล์เดียว *Chlorella* sp. กำลังขยาย 600 เท่า และ unicellular form

ที่มา : http://www.healingdaily.com/oral-chelation/health-benefits-of-chlorella.htm

(March, 200

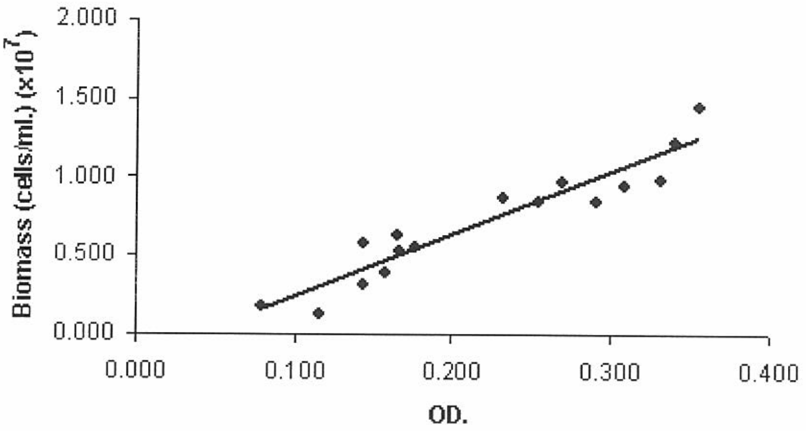
ภาพผนวกที่ 3 แบค

ที่มา : www2.se-ed.

ภาพผนวกที่ 4 แบคทีเรีย *Bacillus* sp. กำลังขยาย 1,000 เท่า

ที่มา : http://www.answers.com/topic/bacilli (March, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 5 การเจริญเติบโตมาตรฐานของ *Microcystis* sp.

สมก

ภาพผนวกที่ 6 การเ

สมก

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้