

การสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย
ของสาหร่ายขนาดเล็ก

BIOSYNTHESIS OF ZINC OXIDE NANOPARTICLES
USING MICROALGAL EXTRACT AND
THEIR ANTIBACTERIAL ACTIVITY



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ปีการศึกษา 2561
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BIOSYNTHESIS OF ZINC OXIDE NANOPARTICLES
USING MICROALGAL EXTRACT AND
THEIR ANTIBACTERIAL ACTIVITY



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานภายในของโครงการเท่านั้น อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ACADEMIC YEAR 2018

หัวข้อโครงการพิเศษ การสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของ
สาหร่ายขนาดเล็ก

Biosynthesis of Zinc Oxide nanoparticles using
microalgal extract and their antibacterial activity

ชื่อนักศึกษา นางสาวณัฐวิภา เหล่าเกื้อ รหัสนักศึกษา 58050885
นายณัชคน จิตยาภาตุ รหัสนักศึกษา 58050887
นายประภฤกษ์ จันฮวบ รหัสนักศึกษา 58050922

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2561

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.วีณา ชูโชติ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยา
อุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตน์รุ่งโรจน์ กรรมการ	
ผศ. วีณา ชูโชติ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่มีฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสาหร่ายขนาดเล็ก		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวณัฐวิภา	เหล่าเกื้อ	รหัสนักศึกษา 58050885
	นายณัชคน	จิตยาภาต	รหัสนักศึกษา 58050887
	นายประภฤกษ์	จันฮวบ	รหัสนักศึกษา 58050922
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
ปีการศึกษา	2561		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.วีณา	ชูโชติ	

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน (ZnO-NPs) แบบเคมีเขียว จากสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายขนาดเล็ก ผลการทดลองพบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากสาหร่าย *Scenedesmus* sp. G16/61 สามารถสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนได้ โดยการตรวจสอบอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM) พบว่ามีรูปร่างเป็นทรงกลมและมีขนาดเล็ก การวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุด้วยสเปกโทรเมตรีรังสีเอ็กซ์แบบกระจายพลังงาน (EDS) พบองค์ประกอบของซิงค์ (Zn) 80.34 เปอร์เซ็นต์ และออกซิเจน (O) 19.66 เปอร์เซ็นต์ และการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันโดยใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR) พบลักษณะการดูดกลืนของพันธะ Zn-O ที่ 406.64 ต่อเซนติเมตร และการวิเคราะห์โครงสร้างผลึกโดยใช้เทคนิควิเคราะห์ธาตุด้วยรังสีเอ็กซ์ (XRD) พบโครงสร้างผลึกแบบหกเหลี่ยม (hexagonal) การทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ที่ดีที่สุด คือ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใสเท่ากับ 17.59 และ 10.81 มิลลิเมตรตามลำดับ

คำสำคัญ : สาหร่ายขนาดเล็ก, เคมีสีเขียว, อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน, แบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Biosynthesis of Zinc Oxide nanoparticles using microalgal extract and their antibacterial activity
Students	Miss. Natwikar Laokua Student ID 58050885 Mr. Nutsadon Jittayapatu Student ID 58050887 Mr. Prakit Chanhuab Student ID 58050922
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2018
Advisor	Asst. Prof. Weena Choochote

Abstract

The aim of this study was investigated the green biosynthesis of Zinc Oxide nanoparticles (ZnO-NPs) using aqueous extract of microalgae. The results showed that the ZnO-NPs of *Scenedesmus* sp. G16/61 are spherical shape and small size , its morphology was confirmed by scanning electron microscope (SEM). The ZnO-NPs formation was confirmed by energy dispersive x-ray spectrometry (EDS) showed the structure of 80.34% of zinc and 19.66% of Oxides and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) the FT-IR spectrum formed ZnO-NPs with bands at 406.64 cm^{-1} . The X-Ray Diffractometer (XRD) were characteristic of the ZnO-NPs have hexagonal wurtzite structures. In addition, their antibacterial activities were tested against bacteria. It was found that the ZnO-NPs of *Scenedesmus* sp. G16/61 was highest inhibited two species of bacteria : *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The presence of an inhibition zone was clearly exhibited 8.11 and 17.47 millimeter, respectively.

Keywords: microalgae, green-biosynthesis , Zinc Oxide nanoparticles, bacteria

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้ ได้จัดทำตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ซึ่งสำเร็จไปได้ด้วยดี ทางคณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ผศ. วินา ชูโชติ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และให้ความรู้ในการค้นคว้าและดำเนินการวิจัย อีกทั้งให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ เพื่อให้โครงการพิเศษสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผศ. มงคล เพ็ญสายใจ และ ผศ.ดร. เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขโครงการพิเศษฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่กรุณาให้ความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และสารเคมีต่างๆ สำหรับการทดลองโครงการพิเศษนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดาที่ให้ความสนับสนุนและให้กำลังใจในการทำโครงการพิเศษ และเพื่อนๆทุกคนที่ให้ความร่วมมือและช่วยเหลือในการทำโครงการพิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ณัฐวิภา เหล่าแก้ว
ณัชคน จิตยาภาต
ประกฤษฏี จันฮวบ

มิถุนายน 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VII
สารบัญรูป	VIII
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 สาหร่าย	3
2.2 สาหร่ายสีเขียว	3
2.2.1 <i>Chlorella</i> sp.	4
2.2.2 <i>Cylindrocystis</i> sp.	5
2.2.3 <i>Ankistrodesmus</i> sp.	6
2.2.4 <i>Scenedesmus</i> sp.	7
2.2.5 <i>Klebsormidium</i> sp.	8
2.3 ไชยาโนแบคทีเรีย	9
2.3.1 <i>Arthrospira</i> sp.	9
2.4 ชิงค์ออกไซด์	10
2.4.1 อนุภาคชิงค์ออกไซด์นาโน	11
2.5 แบคทีเรียก่อโรค	13
2.5.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.5.2 <i>Escherichia coli</i>	14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6 การทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียโดยวิธี Disc diffusion techniques	15
2.7 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	15
2.8 เทคนิคการวิเคราะห์ห้องค์ประกอบธาตุด้วยสเปกโทรเมตรีรังสีเอ็กซ์ แบบกระจายพลังงาน	16
2.9 เทคนิคเอกซเรย์ดิฟแฟรกชัน	17
2.10 เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี	18
2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	
3.1 สายพันธุ์สาหร่าย	22
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ	23
3.3 สารเคมี	23
3.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน	23
3.4.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก	23
3.4.2 การเตรียมสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก	23
3.4.3 การสังเคราะห์อนุภาคซิงค์นาโนจากสารสกัดของสาหร่ายขนาดเล็ก	24
3.4.4 การทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	24
3.4.4.1 การเตรียมแผ่นทดสอบ	24
3.4.4.2 การทดสอบฤทธิ์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนต่อแบคทีเรีย	25
3.4.5 การวิเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากสาหร่ายขนาดเล็ก	25
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	
4.1 ผลคัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก	26
4.2 ผลการสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายขนาดเล็ก	28
4.3 ผลการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก	30
4.4 ผลการทดสอบอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนต่อการต้านแบคทีเรีย	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ หากมีข้อผิดพลาดประการใดขออภัยเป็นอย่างสูงและขอสงวนสิทธิ์ในการแก้ไข

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.5 ผลการวิเคราะห์ของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ที่มีประสิทธิภาพที่สุด	35
4.5.1 การวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด	35
4.5.2 การวิเคราะห์ห่อหุ้มประกอบด้วยสเปกโทรเมตรีรังสีเอ็กซ์ แบบกระจายพลังงาน	37
4.5.3 เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี	38
4.5.4 การวิเคราะห์โครงสร้างผลึกโดยใช้เทคนิคเทคนิคเอกซเรย์ดิฟแฟรกชัน	41
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการวิจัย	42
5.2 ข้อเสนอแนะ	43
เอกสารอ้างอิง	44
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก	52
ภาคผนวก ข	55
ภาคผนวก ค	66
ภาคผนวก ง	69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1	ฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะคลิตามันซิน
	อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากสาหร่ายขนาดเล็ก โดยวัดจากโซนไฮโป 34
ก-1	อาหารสูตร Bold's Basal Medium (BBM) 53
ก-2	อาหารสูตร Zarrouk's medium 55
ก-3	อาหารสูตร Nutrient agar (NA) 55
ข-1	แสดงรายชื่อสาหร่ายที่พบในแหล่งน้ำ 56
ข-2	ผลการศึกษาระยะการเจริญของสาหร่าย 58
ข-2.1	แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย <i>Arthrospira</i> sp. B1/61 58
ข-2.2	แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. G2/61 59
ข-2.3	แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. G6/61 60
ข-2.4	แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย <i>Klebsormidium</i> sp. G8/61 61
ข-2.5	แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย <i>Cylindrocystis</i> sp. G12/61 62
ข-2.6	แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย <i>Ankistrodesmus</i> sp. G15/61 63
ข-2.7	แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย <i>Scenedesmus</i> sp. G4/61 64
ข-2.8	แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย <i>Scenedesmus</i> sp. G16/61 65
ค-1	ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรีย
ค-1.1	ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรียของ <i>Ankistrodesmus</i> sp. G15/61 66
ค-1.2	ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรียของ <i>Arthrospira</i> sp. B1/61 66
ค-1.3	ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรียของ <i>Chlorella</i> sp. G2/61 67
ค-1.4	ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรียของ <i>Chlorella</i> sp. G6/61 67
ค-1.5	ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรียของ <i>Cylindrocystis</i> sp. G12/61 . 68
ค-1.6	ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรียของ <i>Klebsormidium</i> sp. G8/61 . 68
ค-1.7	ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรียของ <i>Scenedesmus</i> sp. G4/61 ... 69
ค-1.8	ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรียของ <i>Scenedesmus</i> sp. G16/61 . 69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 <i>Chlorella</i> sp.	4
2.2 <i>Cylindrocystis</i> sp.	5
2.3 <i>Ankistrodesmus</i> sp.	6
2.4 <i>Scenedesmus</i> sp.	7
2.5 <i>Klebsormidium</i> sp.	8
2.6 <i>Arthrospira</i> sp.	10
2.7 โครงสร้างของซิงค์ออกไซด์ โดยอนุภาคสี่เหลี่ยมเป็นซิงค์ออกไซด์ และอนุภาคสี่เหลี่ยมเป็นออกซิเจน	11
2.8 แสดงกลไกการยับยั้งแบคทีเรียโดยอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	12
2.9 <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.10 <i>Escherichia coli</i>	14
2.11 แสดงโครงสร้างของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	16
2.12 เครื่องเอกซเรย์ดีฟแฟร็กโทมิเตอร์	17
2.13 เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี	18
4.1 เพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในอาหารเหลวสูตร BBM ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้สภาวะความเข้มแสง 3,000 ลักซ์	26
4.2 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนคลื่นแสงในการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็ก 8 สายพันธุ์ ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร	27
4.3 กราฟแสดงจำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตรในการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็ก 8 สายพันธุ์	27
4.4 กราฟแสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่ายขนาดเล็ก 8 สายพันธุ์	27
4.5 สารสกัดส่วนใสที่ได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก 8 สายพันธุ์ : (a) <i>Ankistrodesmus</i> sp. G15/61, (b) <i>Arthrospira</i> sp. B1/61, (c) <i>Chlorella</i> sp. G2/61, (d) <i>Chlorella</i> sp. G6/61, (e) <i>Cylindrocystis</i> sp. G12/61, (f) <i>Klebsormidium</i> sp. G8/61, (g) <i>Scenedesmus</i> sp. G4/61, (h) <i>Scenedesmus</i> sp. G16/61	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.6	พื้การูดกกลืนแสงของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก 8 สายพันธุ์ : (a) <i>Ankistrodesmus</i> sp. G15/61, (b) <i>Arthrospira</i> sp. B1/61, (c) <i>Chlorella</i> sp. G2/61, (d) <i>Chlorella</i> sp. G6/61, (e) <i>Cylindrocystis</i> sp. G12/61, (f) <i>Klebsormidium</i> sp. G8/61, (g) <i>Scenedesmus</i> sp. G4/61, (h) <i>Scenedesmus</i> sp. G16/61 29
4.7	ผนอนภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก 8 สายพันธุ์ : (a) <i>Ankistrodesmus</i> sp. G15/61, (b) <i>Arthrospira</i> sp. B1/61, (c) <i>Chlorella</i> sp. G2/61, (d) <i>Chlorella</i> sp. G6/61, (e) <i>Cylindrocystis</i> sp. G12/61, (f) <i>Klebsormidium</i> sp. G8/61, (g) <i>Scenedesmus</i> sp. G4/61, (h) <i>Scenedesmus</i> sp. G16/61 30
4.8	พื้การูดกกลืนแสงหลังการสังเคราะห์ซิงค์ออกไซด์นาโน 6 ชั่วโมง ของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก 8 สายพันธุ์ : (a) <i>Ankistrodesmus</i> sp. G15/61, (b) <i>Arthrospira</i> sp. B1/61, (c) <i>Chlorella</i> sp. G2/61, (d) <i>Chlorella</i> sp. G6/61 (e) <i>Cylindrocystis</i> sp. G12/61, (f) <i>Klebsormidium</i> sp. G8/61, (g) <i>Scenedesmus</i> sp. G4/61, (h) <i>Scenedesmus</i> sp. G16/61 31
4.9	ฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะคลินดามัยซิน อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน และสารสกัดด้วยน้ำจาก <i>Scenedesmus</i> sp. G16/61 (a) <i>Staphylococcus aureus</i> (b) <i>Escherichia coli</i> 33
4.10	อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของจาก <i>Scenedesmus</i> sp. ที่กำลังขยาย (a) 1,000 เท่า (b) 20,000 เท่า (c) 40,000 เท่า 35
4.11	อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดด้วยน้ำจาก <i>Chlorella</i> sp. G2/61 ที่กำลังขยาย 80,000 36
4.12	อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่กำลังขยาย 50,000 เท่า (a) ซิงค์ออกไซด์จากจากบริษัทเมอร์ค (b) สารสกัดจาก <i>Scenedesmus</i> sp. 36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.13	การวิเคราะห์ห้องค์ประกอบธาตุแบบ EDS ของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน ของสารสกัดจาก <i>Scenedesmus</i> sp. เกิดพีคซิงค์ที่พลังงาน ของรังสีช่วง 0-2 และ 8 กิโลอิเล็กตรอนโวลต์ 37
4.14	การวิเคราะห์ห้องค์ประกอบธาตุแบบ EDS ของเคมีภัณฑ์ซิงค์ออกไซด์ จากบริษัทเมอร์คเกิดพีคซิงค์ที่พลังงาน ของรังสีช่วง 0-2 และ 8 กิโลอิเล็กตรอนโวลต์ 38
4.15	การวิเคราะห์ FT-IR ของสารสกัดด้วยน้ำจาก <i>Scenedesmus</i> sp. G16/61 39
4.16	การวิเคราะห์ FT-IR ของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน ของสารสกัดจาก <i>Scenedesmus</i> sp. G16/61 39
4.17	การวิเคราะห์ FT-IR ของเคมีภัณฑ์ซิงค์ออกไซด์จากบริษัทเมอร์ค 40
4.18	การวิเคราะห์ FT-IR (—) อนุภาคซิงค์ออกไซด์ ของสารสกัดจาก <i>Scenedesmus</i> sp. G16/61 (—) เคมีภัณฑ์ซิงค์ออกไซด์จากบริษัทเมอร์ค (—) สารสกัดจาก <i>Scenedesmus</i> sp. G16/61 41
4.19	การวิเคราะห์ XRD ของสารสกัดจาก <i>Scenedesmus</i> sp. G16/61 42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน (Zinc Oxide nanoparticles) มีการใช้อย่างแพร่หลายและได้รับความนิยมนานาชาติทั่วโลก ส่วนใหญ่ใช้ในการผลิตอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ ยางรถยนต์ สี สารเคลือบผิว เครื่องสำอางและเคมีภัณฑ์ทั่วไปในครัวเรือน (Jiang และคณะ, 2018) ซึ่งวิธีการสังเคราะห์ทางเคมีใช้อุณหภูมิสูงและพบสารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อม (Radzimska และ Jesionowski, 2014) ทำให้มีการพัฒนาวิธีการสังเคราะห์แบบเคมีสีเขียวโดยใช้อุณหภูมิต่ำและสารตั้งต้นเป็นสารสกัดจากธรรมชาติแทนสารเคมี เช่น การสังเคราะห์อนุภาคนาโนเงินจากเชื้อรา *Trichoderma reesei* (Balaji และคณะ, 2011) การสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* (Jayaseelan และคณะ, 2012) สารสกัดจากผักบุ้งทะเล (*Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br) (Venkatesan และคณะ, 2017) และสารสกัดสาหร่ายทะเล เช่น สาหร่ายสีเขียว (*Caulerpa peltate*) สาหร่ายสีแดง (*Hypnea Valencia*) และสาหร่ายสีน้ำตาล (*Sargassum myriocystum*) (Nagarajan และ Kuppasamy, 2013)

ปัจจุบันอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนเป็นสารเคมีทางเลือกใหม่ที่น่าสนใจ เนื่องจากคุณสมบัติในด้านการป้องกันรังสี UV-A UV-B และมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย Rao และ Gautam (2016) รายงานว่าสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก *Chlamydomonas reinhardtii* มีความสามารถในการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน ซึ่งอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนมีฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ซึ่งเป็นสาเหตุการติดเชื้อบริเวณผิวหนังและก่อให้เกิดอาการท้องเสียตามลำดับ (Yousef และ Danial, 2012) โดยอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนแทรกเข้าไปภายในผนังเซลล์แบคทีเรีย ทำให้เกิดการรบกวนพื้นผิวของเซลล์พร้อมเกิดการสะสมอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนบนพื้นผิวเซลล์ ส่งผลให้เกิดความเสียหายบริเวณผนังเซลล์และอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนยังส่งผลให้เกิดกลไกปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระในแบคทีเรีย (Reactive Oxygen Species ; ROS) ทำลายสารชีวโมเลกุลต่างๆภายในเซลล์ เซลล์ไม่สามารถทำงานได้ปกติส่งผลให้เซลล์เสื่อมสภาพลง (Sintubin และคณะ, 2012)

การสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากสารสกัดน้ำของสาหร่ายขนาดเล็กทั้งหมด 8 สายพันธุ์ ซึ่งสาหร่ายทั้ง 8 สายพันธุ์พบได้ง่ายตามแหล่งน้ำธรรมชาติ มีความน่าสนใจเป็นพิเศษเนื่องจากสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย และมีการเจริญอย่างรวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) คัดแยกสาหร่ายขนาดเล็กที่มีความสามารถสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนโดยใช้วิธีการทดสอบเบื้องต้นด้วยการสังเกตการเปลี่ยนสีของสารละลายที่ทำการสังเคราะห์ขึ้น
- 2) ศึกษาความสามารถของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่ได้จากการสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากสาหร่ายขนาดเล็กที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด
- 3) ศึกษาขนาดและรูปร่างผลึกของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากสารสกัดของสาหร่ายขนาดเล็กที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM) การวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุด้วยสเปกโทรเมตรีรังสีเอ็กซ์แบบกระจายพลังงาน (EDS) การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันโดยใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR) และการวิเคราะห์โครงสร้างผลึกโดยใช้เทคนิคเทคนิคเอกซเรย์ดิฟแฟรกชัน (XRD)

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

การศึกษารั้้งนี้้นำสารสกัดด้วยน้ำจากสาหร่ายขนาดเล็กที่ผ่านการคัดแยกจากแหล่งดินและแหล่งน้ำบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง นำมาทำให้บริสุทธิ์และคัดเลือกสายพันธุ์ที่สังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน การวิเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนด้วยการตรวจสอบลักษณะและรูปร่าง โดยการวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (SEM) การวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุด้วยสเปกโทรเมตรีรังสีเอ็กซ์แบบกระจายพลังงาน (EDS) การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันโดยใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR) การวิเคราะห์โครงสร้างผลึกโดยใช้เทคนิควิเคราะห์ธาตุด้วยรังสีเอ็กซ์ (XRD) และการทดสอบฤทธิ์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนต่อการต้านแบคทีเรีย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ทราบถึงความสามารถของสารสกัดด้วยน้ำจากสาหร่ายขนาดเล็กที่คัดแยกในการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน
- 2) ทราบถึงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากสารสกัดด้วยน้ำจากสาหร่ายขนาดเล็กที่คัดแยก
- 3) ทราบถึงรูปร่างผลึกจากการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดด้วยน้ำจากสาหร่ายขนาดเล็กที่มีฤทธิ์การต้านทานอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สาหร่าย

สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่จัดอยู่ในกลุ่มจุลินทรีย์ แต่มีรูปร่างลักษณะที่คล้ายกับพืช ซึ่งในอาณาจักรพืช สาหร่ายจัดเป็นพืชชั้นต่ำพวก thallophytes คือมีระบบการสังเคราะห์แสงโดยใช้คลอโรฟิลล์เอ มีอาหารสะสมในรูปของแป้ง และผนังเซลล์ที่ประกอบด้วยเซลลูโลส แต่ลักษณะของสาหร่ายที่แตกต่างจากพืชคือ ไม่มีราก ลำต้น และใบที่แท้จริง สาหร่ายมีตั้งแต่เป็นเซลล์เดี่ยวและขนาดเล็ก ไปจนถึงชนิดที่มีหลายเซลล์เป็นส่วนประกอบและมีขนาดใหญ่ และมีแบบแผนการสืบพันธุ์ที่แตกต่างกันอย่างหลากหลายรูปแบบ (วีณา, 2561)

ปัจจุบันมีการนำสาหร่ายทั้งขนาดเล็ก และสาหร่ายขนาดใหญ่ มาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง เช่น อาหารสำหรับคนและสัตว์ อาหารเพื่อสุขภาพ และเครื่องสำอาง เป็นต้น เนื่องจากประโยชน์ขององค์ประกอบภายในเซลล์ของสาหร่ายได้แก่ ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และโปรตีน รวมทั้งรงควัตถุที่สะสมภายในเซลล์ เช่น คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ ไฟโคไซยานิน และไฟโคอิริทริน เป็นต้น (อาภารัตน์, 2539)

2.2 สาหร่ายสีเขียว

สาหร่ายสีเขียว (green algae) จัดอยู่ในดิวิชันคลอโรไฟตา (division chlorophyta) สาหร่ายในดิวิชันนี้ภายในคลอโรพลาสต์จะมีรงควัตถุ พวกคลอโรฟิลล์เอและบีเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ยังมีรงควัตถุชนิดอื่น เช่น แคโรทีนอยด์ และแซนโทฟิลล์ คลอโรพลาสต์ของสาหร่ายสีเขียวมีหลายรูปแบบซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการจัดจำแนกสาหร่ายสีเขียวได้อย่างชัดเจน สาหร่ายสีเขียวส่วนใหญ่จะมีไพรีนอยด์ในคลอโรพลาสต์ ซึ่งเป็นศูนย์กลางของการสร้างคาร์โบไฮเดรตในเซลล์สาหร่าย สาหร่ายสีเขียวสามารถพบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำต่างๆ ซึ่งประมาณร้อยละ 10 ของสาหร่ายสีเขียวทั้งหมดเป็นสาหร่ายทะเล ซึ่งมักพบบริเวณน้ำตื้นตามแนวชายฝั่ง และมีบางพวกที่สามารถพบได้ในระดับความลึกถึง 300 ฟุต ส่วนอีกร้อยละ 90 ของสาหร่ายสีเขียวจะเป็นสาหร่ายน้ำจืดซึ่งจะเจริญอยู่ในบริเวณน้ำตื้นตามห้วยลำธารหรือบริเวณน้ำลึกที่แสงส่องถึงได้ สาหร่ายหลายชนิดเป็นแพลงก์ตอนพืช บางชนิดเจริญอยู่บนก้อนหิน หวาย โคลน เปลือกหอยหรือเจริญอยู่ในพืชหรือสัตว์ และบางชนิดพบว่ามีการเจริญอยู่ในหิมะหรือน้ำแข็ง (ยวดี, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1 *Chlorella* sp.

อนุกรมวิธาน (Lee, 2008)

Division Chlorophyta

Class Chlorophyceae

Order Chlorellales

Family Chlorellaceae

Genus *Chlorella*

Chlorella เป็นสาหร่ายเซลล์เดี่ยวที่มีขนาดเล็ก รูปร่างมีลักษณะกลมหรือรี คลอโรพลาสต์ มีลักษณะเป็นรูปถ้วยหรือเป็นแถบอยู่ข้างเซลล์ ไม่พบไพรีนอยด์ ผนังเซลล์บาง มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างออดิสปอร์ซึ่งมีจำนวน 4, 8 หรือ 16 เซลล์ สามารถพบสาหร่ายชนิดนี้ได้ใต้น้ำจืดและน้ำเค็มของประเทศไทย ซึ่งมีการดำรงชีวิตอยู่แบบอิสระแต่บางชนิดสามารถอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังเช่น โพรโตซัว ฟองน้ำ และไฮดรา เป็นต้น (ลัดดา, 2544)



รูปที่ 2.1 *Chlorella* sp.

ที่มา: http://cfb.unh.edu/phycokey/Choices/Chlorophyceae/unicells/non_flagellated/CHLORELLA/Chlorella_Image_page.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 *Cylindrocystis* sp.

อนุกรมวิธาน (ยวดี, 2549)

Division Chlorophyta

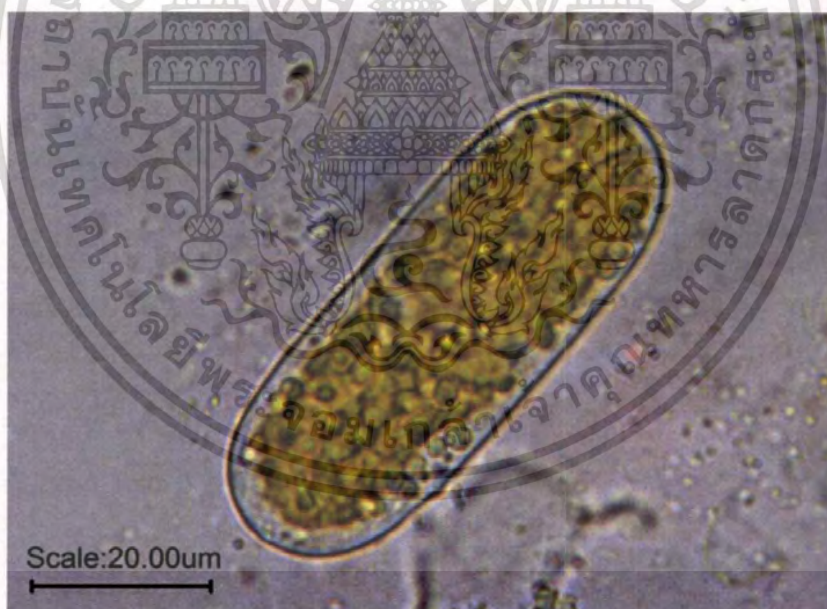
Class Chlorophyceae

Order Zygnematales

Family Mesotaeniaceae

Genus *Cylindrocystis*

Cylindrocystis เป็นสาหร่ายสีเขียว ที่มีรูปร่างเป็นทรงกระบอกสั้นๆ ปลายมน มีคลอโรพลาสต์คล้ายรูปดาว 2 อัน คล้ายใน *Zygnema* แต่ละคลอโรพลาสต์มีไพเรโนอยด์ 1 อัน มีนิวเคลียส 1 อันตรงกลาง มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแบ่งเซลล์ตามขวาง และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะสืบพันธุ์โดยการสร้างท่อคอนจูเกชัน และเกิดไซโกทบริเวณท่อคอนจูเกชันแล้วมีการพัฒนาต่อไป (ยวดี, 2549)



รูปที่ 2.2 *Cylindrocystis* sp.

ที่มา: http://www.sieralgen.nl/?page_id=10121

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 *Ankistrodesmus* sp.

อนุกรมวิธาน (ยวดี, 2549)

Division Chlorophyta

Class Chlorophyceae

Order Chlorellales

Family Chlorellaceae

Genus *Ankistrodesmus*

Ankistrodesmus เป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดี่ยว ที่มีรูปร่างเรียวยาว ตรงหรือโค้งเล็กน้อย หัวท้ายแหลม ในธรรมชาติบางครั้งอาจพบเป็นเซลล์เดี่ยวๆ บางครั้งอาจอยู่ร่วมกันเป็นกลุ่มเล็กๆ มีคลอโรพลาสต์เป็นแผ่นแบนอยู่ด้านข้างอยู่ข้างเซลล์ ไม่มีโพรินอยด์ สาหร่ายสกุลนี้มีปริมาณไขมันในเซลล์สูง และสามารถสะสมปริมาณไขมันได้สูงขึ้นเมื่อเข้าสู่ระยะการเจริญที่คงที่ (วีณาและคณะ, 2557)



รูปที่ 2.3 *Ankistrodesmus* sp.

ที่มา: https://ccba.ug.edu.pl/pages/en/collection-review.php?section_id=258&page=1&pochodzenie=all&klasa=4&rodzaj=6&gatunek=82&symbol=all

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.4 *Scenedesmus* sp.

อนุกรมวิธาน (Lee, 2008)

Division Chlorophyta

Class Chlorophyceae

Order Chlorellales

Family Scenedesmaceae

Genus *Scenedesmus*

Scenedesmus เป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดี่ยวที่พบมากในประเทศไทย พบในแหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหล ดำรงชีวิตลอยลอยเป็นอิสระและแบบยึดเกาะ ส่วนมากมักพบเซลล์อยู่รวมกัน 2 ถึง 32 เซลล์ มีลักษณะโค้ง รูปไข่หรือทรงกระบอก บางสายพันธุ์เซลล์ที่อยู่ริมสุดทั้งสองด้านอาจมีหนามยื่นออกมา สามารถใช้ผลิตเป็นอาหารเสริมของมนุษย์และเป็นอาหารสัตว์ใช้ทำปุ๋ย ช่วยในการบำบัดน้ำเสีย ซึ่งสารสกัดจาก *Scenedesmus armatus* พบว่ามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานหรือวิตามินซี (ดวงกมล, 2557)



รูปที่ 2.4 *Scenedesmus* sp.

ที่มา: <http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Scenedesmus/quadricauda/quadricauda10.jpg>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.5 *Klebsormidium* sp.

อนุกรมวิธาน (ยวดี, 2549)

Division Chlorophyta

Class Ulvophyceae

Order Ulotrichales

Family Ulotrichaceae

Genus *Klebsormidium*

Klebsormidium เป็นสาหร่ายที่มีลักษณะคล้ายกับ *Ulothrix* ทั้งในด้านขนาดและรูปร่างของเซลล์ที่เป็นเส้นสายไม่แตกแขนง แต่ละเส้นสายจะมีขนาดสั้น เซลล์ล่างสุดจะเป็นโฮลฟาสต์สำหรับยึดติดกับพื้น แต่แตกต่างกันตรงที่ไม่มีโฮลฟาสต์และมักจะพบในดิน แต่ก็มีพบบ้างในน้ำ หรือบนพื้นดินที่ชื้น คลอโรพลาสต์จะมีลักษณะคล้ายตัว H ข้างใดข้างหนึ่งของตัว H จะมีคลอโรพลาสต์ที่บกว่าอีกด้านหนึ่ง มีนิวเคลียสและไพรีนอยด์อย่างละ 1 อัน การสืบพันธุ์จะเป็นแบบเส้นสายขาดออกเป็นท่อนๆ บางชนิดอาจสร้างสปอร์ที่มีแฟลกเจลลัม 2 เส้น (ยวดี, 2549)



รูปที่ 2.5 *Klebsormidium* sp.

ที่มา: <http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Klebsormidium/flaccidum/flaccidum.html>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ไชยาโนแบคทีเรีย

ไชยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) หรือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) เป็นสิ่งมีชีวิตพวกโพรคาริโอตที่จัดอยู่ในดิวิชัน cyanophyta มีคุณลักษณะและคุณสมบัติหลายประการที่แตกต่างไปจากสาหร่ายพวกอื่นๆ เช่น รงควัตถุไม่ได้อยู่ในพลาสติดแต่กระจายอยู่ทั่วไปในไซโตพลาสซึม ยังไม่มีนิวเคลียสที่แท้จริง ไม่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ เปลี่ยนสีได้ สามารถเคลื่อนไหวได้โดยไม่ใช้หนวด หรือแฟลกเจลลา เป็นต้น ไชยาโนแบคทีเรียมีการสะสมอาหารในรูปไกลโคเจน ภายในเซลล์ประกอบด้วยรงควัตถุพวกคลอโรฟิลล์ ทำหน้าที่หลักในการสังเคราะห์แสง และไฟโคบิลิโปรตีนซึ่งยึดอยู่บริเวณผนังด้านนอกของไทลาคอยด์ ทำหน้าที่ในการเก็บแสงที่สาหร่ายได้รับเพื่อใช้สำหรับการสังเคราะห์แสง ไฟโคบิลิโปรตีนเป็นโมเลกุลที่ละลายน้ำได้ เกิดจากการรวมกันของ แอลโลไฟโคไซยานิน (allophycocyanin) ซีไฟโคอีริทริน (c-phycoerythrin) ไฟโคอีริโทรไซยานิน (phycoerythrocyanin) และซีไฟโคไซยานิน (c-phycocyanin) ซึ่งซีไฟโคไซยานิน เป็นรงควัตถุสีน้ำเงินซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของไฟโคบิลิโปรตีนที่ผลิตจากไชยาโนแบคทีเรียทุกชนิด จากการศึกษาพบว่าไฟโคไซยานิน มีประโยชน์อย่างมากในทางอุตสาหกรรมและเภสัชกรรม ด้วยคุณสมบัติของรงควัตถุที่ทำให้เกิดสีในไชยาโนแบคทีเรีย (วันเพ็ญ, 2549)

2.3.1. *Arthrospira* sp.

อนุกรมวิธาน (Lee, 2008)

Division Cyanophyta

Class Cyanophyceae

Order Oscillatoriales

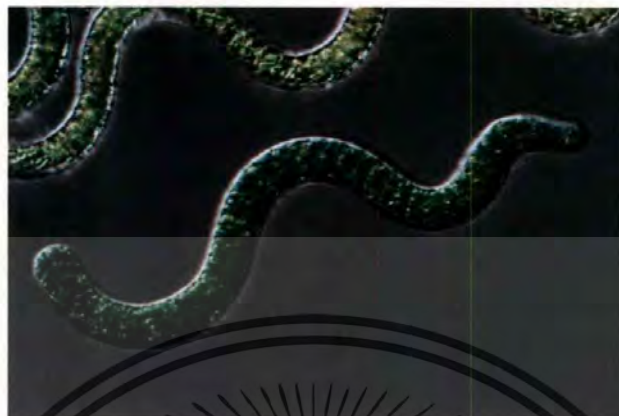
Family Oscillatoriaceae

Genus *Arthrospira*

Arthrospira เป็นไชยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ที่มีลักษณะเป็นเซลล์ทรงกระบอกหลายเซลล์เรียงต่อกันเป็นเส้นสายตรง ขดเป็นเกลียวหรือวง ไม่มีกิ่งก้าน โดยเซลล์มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 ถึง 12 ไมโครเมตร มีการเจริญเติบโตโดยการแบ่งเซลล์ (binary fission) ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส และคลอโรพลาสต์ แต่มีผนังเซลล์ประกอบด้วยเยื่อหุ้มชั้นนอกและเยื่อพลาสมา ที่มีชั้นของเปปติโดไกลแคนแทรกอยู่ระหว่างเยื่อทั้งสอง และมีเยื่อไทลาคอยด์ ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์แสง และเป็นแหล่งที่พบรงควัตถุสังเคราะห์แสงต่างๆ เช่น คลอโรฟิลล์ เอ (chlorophyll-a) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) ไฟโคไซยานิน (phycocyanin) และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัลโลไฟโคไซยานิน (allophycocyanin) นอกจากนี้ในบางสปีชีส์อาจมีถุงอากาศเล็ก ๆ อยู่ภายในไซโทพลาสซึมทำให้สามารถลอยตัวได้ (สุนิสา และคณะ, 2549)



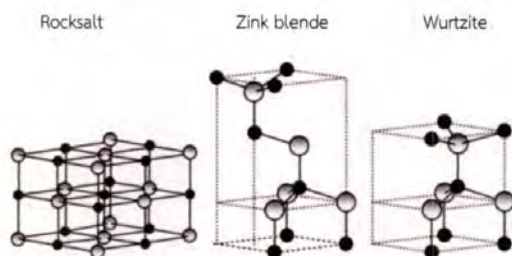
รูปที่ 2.6 *Arthrospira* sp.

ที่มา: <https://fineartamerica.com/featured/spirulina-cyanobacteria-sinclair-stammersscience-photo-library.html>

2.4 ซิงค์ออกไซด์

ซิงค์ออกไซด์ เป็นสารกึ่งตัวนำ ช่องแถบพลังงานตรง มีแถบพลังงาน 3.3 อิเล็กตรอนโวลต์ ที่อุณหภูมิห้อง และ 3.44 อิเล็กตรอนโวลต์ที่อุณหภูมิ 4 เคลวิน ซิงค์ออกไซด์มีโครงสร้างแบบ ร็อกซอลต์ (cubic rocksalt) คิวบิกซิงค์เบลนด์ (cubic zink blende) หรือ เฮกซะ โจนอลเวอไรต์ (hexagonal wurtzite) แสดงดังรูป 2.7 โครงสร้างแบบเฮกซะโจนอล เวอไรต์ มีค่าคงผลึกของ a และ b เท่ากับ 3.24 อังสตรอม และ c เท่ากับ 5.20 อังสตรอม มีค่ามวลยังผลพาหะของอิเล็กตรอนกับโฮล คือ 0.24 อิเล็กตรอนต่อโฮล และ 0.59 อิเล็กตรอนต่อโฮล ตามลำดับ มีค่าความเร็วของการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอน ที่ผลึกเดี่ยวซิงค์ออกไซด์ ระหว่าง 100 ถึง 200 ตารางเซนติเมตรต่อโวลต์ และมีค่าความเร็วของการเคลื่อนที่ของโฮล ประมาณ 180 ตารางเซนติเมตรต่อโวลต์ หลายปีที่ผ่านมา ซิงค์ออกไซด์จึงเป็นที่นิยมนำไปสร้างอุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์ เช่น ตัวเปล่งแสงย่านสีน้ำเงิน ไดโอดเลเซอร์ และตัวตรวจวัดแสงอัลตราไวโอเล็ต นอกจากนี้ ซิงค์ออกไซด์ยังสามารถทำให้มีโครงสร้างระดับนาโนที่หลากหลาย เช่น อนุภาคนาโน แท่งนาโน เข็มนาโน ทรงกลมนาโน และอื่นๆ ซึ่งถูกนำไปใช้อย่างแพร่หลาย (Xu และคณะ, 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



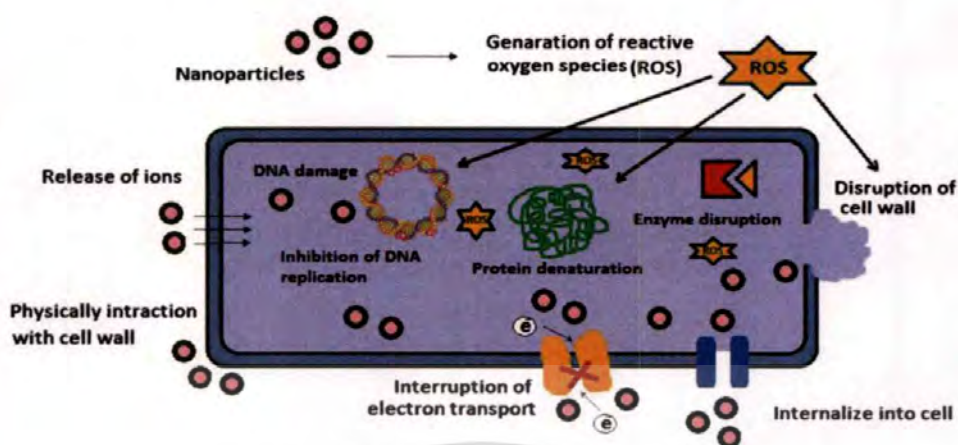
รูปที่ 2.7 โครงสร้างของซิงค์ออกไซด์ โดยอนุภาคสี่เหลี่ยมเป็นซิงค์ออกไซด์และอนุภาคสีดำเป็นออกซิเจน
ที่มา: Morkoç and Özgür, 2009

2.4.1 อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา อนุภาคนาโนซึ่งมีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 1-100 นาโนเมตร ได้เข้ามามีบทบาทในงานด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี อนุภาคนาโนที่ได้จากการสังเคราะห์สารอนินทรีย์ออกไซด์ เช่น คอปเปอร์ออกไซด์ เหล็กออกไซด์ และซิงค์ออกไซด์ (Xue และคณะ, 2012) อนุภาคออกไซด์นาโนเหล่านี้มีสมบัติเด่นคือ มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย และได้มีงานวิจัยศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียระหว่างอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน คอปเปอร์ออกไซด์ และเหล็กออกไซด์ ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบคือ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* และแบคทีเรียแกรมบวกคือ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis* ผลการศึกษาพบว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้มากที่สุด (Selvam และคณะ, 2012)

อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย ต้านรังสียูวี และสามารถทำความสะอาดตัวเองได้ (self-cleaning) อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบโดยเฉพาะแบคทีเรียที่สามารถสร้างสปอร์ ที่ทนความร้อนและความดันสูง โดยมีกลไกการยับยั้งแบคทีเรียโดยอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนได้หลายวิธี ดังรูปที่ 2.8 โดยอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่มีประจุบวกสามารถจับกับผิวของแบคทีเรียที่มีประจุลบได้ด้วยแรงทางประจุ ทำให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียมีช่องว่าง อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจึงสามารถเข้าไปทำลายเซลล์ของแบคทีเรียได้ นอกจากนี้อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนยังสามารถเข้าไปขัดขวางกระบวนการส่งผ่านอิเล็กตรอนของชั้นเมมเบรน เมื่อกิจกรรมภายในเซลล์ของแบคทีเรียถูกรบกวนจากอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจะทำให้แบคทีเรียตาย (Padmavathy และ Vijayaraghavan, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 แสดงกลไกการยับยั้งแบคทีเรียโดยอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน

ที่มา: Solmaz และคณะ, 2014

และจากรายงานการวิจัยของ Yousef และ Danial (2012) พบว่าซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ขึ้นได้มีความสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งต่อเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้ดีโดยการทดสอบด้วยวิธี agar disc diffusion ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับในรายงานของ Karvani และ Chehrizi (2011) พบว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนมีผลต่อแบคทีเรียทั้งสองชนิดมากที่สุด และแสดงถึงความสัมพันธ์ของขนาดอนุภาคนาโนซิงค์ออกไซด์ว่ามีผลต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ซึ่งพบว่าอนุภาคที่มีขนาด 12 นาโนเมตร ลงไปจะมีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรีย โดยเฉพาะเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอนุภาคขนาด 25 นาโนเมตร ขึ้นไป โดยสันนิษฐานว่าเป็นผลมาจากการที่อนุภาคขนาดเล็กกว่าสามารถเกิด photocatalytic และทำให้เกิดอิเล็กตรอนเพิ่มขึ้นได้มากกว่าอนุภาคขนาดใหญ่ ซึ่งอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้เป็น superoxide radical anion และทำปฏิกิริยาต่อไปกับไฮโดรเจนไอออนได้เป็น hydrogen superoxide และเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องระหว่าง hydrogen superoxide กับไฮโดรเจนไอออนและอิเล็กตรอนได้ hydrogen peroxide ซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์ของแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 แบคทีเรียก่อโรค

2.5.1 *Staphylococcus aureus*

อนุกรมวิธาน (Priest และ Austin, 1993)

Division Firmicutes

Class : Bacilli

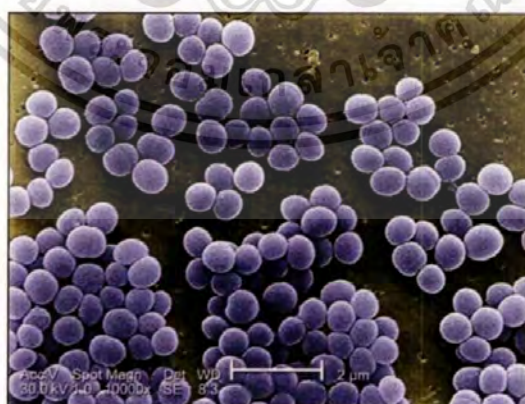
Order Bacillales

Family Staphylococcaceae

Genus *Staphylococcus*

Species *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ที่มีลักษณะกลม ขนาดประมาณ 0.5 ถึง 1.0 ไมโครเมตรโดยอาจจะมีการจับตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น หรือพบเป็นเซลล์เดี่ยวเป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ (โดยมากไม่เกิน 4 เซลล์) อยู่ปะปนด้วยกันเสมอเวลาย้อมแกรม โดย *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียที่สามารถพบได้ที่ผิวหนัง โพรงจมูก เยื่อบุทางเดินหายใจ ทางเดินอาหาร และบาดแผลที่เป็นฝี หนอง รวมถึงในดินฝุ่นละออง และสามารถก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งเกิดจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนสารพิษที่ *Staphylococcus aureus* ผลิตขึ้นมา แม้จะมีปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม ก็สามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ สารพิษชนิดนี้จะมีปริมาณสูงมากเมื่อมีเชื้อ *Staphylococcus aureus* ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร 100,000 เซลล์ต่อกรัมอาหาร (คิวาพร, 2542)



รูปที่ 2.9 *Staphylococcus aureus*

ที่มา: <http://www.bacteriainphotos.com/Staphylococcus%20aureus%20electron%20microscopy.html>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 *Escherichia coli*

อนุกรมวิธาน (Priest และ Austin, 1993)

Division Proteobacteria

Class Proteobacteria

Order Enterobacteriales

Family Enterobacteriaceae

Genus *Escherichia*

Species *Escherichia coli*

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง มีขนาดตั้งแต่ 1.1 ถึง 1.5 x 2.0 ถึง 6.0 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่สามารถเคลื่อนที่ได้ โดยอาศัยแฟลกเจลลา ที่มีอยู่รอบตัว ไม่มีการสร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน และในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน มีแคปซูลบางๆ หุ้มรอบตัว ทำให้เชื้อสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี เช่น มีชีวิตอยู่ตามเสื้อผ้าและในฝุ่นละอองได้นานหลายวัน อยู่ในน้ำได้นานหลายสัปดาห์ ปกติสามารถเจริญบนอาหารธรรมดาที่ใช้ในห้องปฏิบัติการในช่วงอุณหภูมิ 7 ถึง 46 องศาเซลเซียส ค่า pH 4.4 ถึง 10 (Doyle, 1991)

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียประจำถิ่น (normal flora) ที่พบได้บ่อยในลำไส้ของคนและสัตว์ โดยเชื้อ *Escherichia coli* ส่วนใหญ่จะไม่ก่อโรคในคน แต่ก็มีบางสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารและระบบอื่นๆ ของร่างกายทั้งในคนและในสัตว์ โดยส่วนใหญ่พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อลงในอาหารและน้ำดื่ม (Schroeder และคณะ, 2002)



รูปที่ 2.10 *Escherichia coli*

ที่มา: <https://www.eurekalert.org/multimedia/pub/86125.php>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Disc diffusion techniques

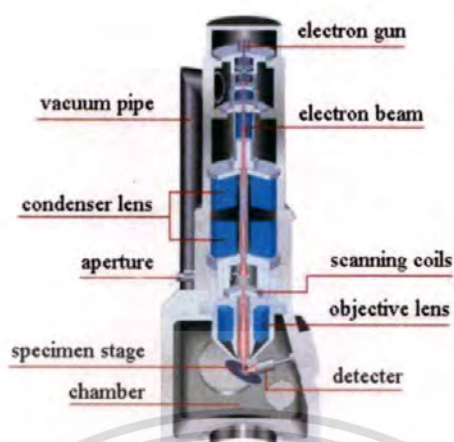
เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากเป็นวิธีซึ่งสามารถปฏิบัติได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว รวมทั้งสามารถให้ผลที่แน่นอนและถูกต้อง การทดสอบวิธีนี้ใช้หลักการแพร่โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เติมลงบนกระดาษกรอง (filter paper disc) หรือการเจาะหลุมแล้วใส่สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบไว้ สารตัวอย่างจะแพร่จากจุดเริ่มต้นไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อระยะเวลาที่สารแพร่ออกไปเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นของสารนั้นจะลดลงทำให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้นของสาร ณ จุดต่างๆ กั้นรอบแผ่นกระดาษกรองหรือหลุมที่เจาะไว้ ในขณะที่เดียวกันจุลินทรีย์บนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ ณ ความเข้มข้นของสารที่จุดใดๆ (ไกลกระดาษกรอง) ก็จะเจริญและเพิ่มจำนวนขึ้นจนเห็นได้ชัด แต่บริเวณใกล้กระดาษกรองซึ่งมีความเข้มข้นของสารมากพอที่จะยับยั้งเชื้อได้ จะไม่มีการเจริญของเชื้อให้เห็นจึงเกิดเป็นโซนใส (inhibition zone) อัตราการแพร่ของสารออกฤทธิ์ผ่านไปในอาหารเลี้ยงเชื้อมีอิทธิพลต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส ซึ่งจะบอกถึงความสามารถของสารที่นำมาทดสอบว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้มากน้อยเพียงใด (Zain และคณะ, 2012)

2.7 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดทำงานโดยควบคุมให้ลำแสงอิเล็กตรอนกราดไปบนพื้นผิวของตัวอย่างที่ต้องการศึกษาโดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะรูปร่าง ลวดลายบนพื้นผิว และขนาดของตัวอย่าง ซึ่งภาพที่ได้จะเป็นภาพสามมิติ สามารถศึกษาได้ทั้งตัวอย่างทางชีวภาพ และตัวอย่างทางด้านวัสดุศาสตร์ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเป็นกล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายสูง จึงมีบทบาทต่อการศึกษาและวิจัยด้านต่างๆ มากมาย (อุไรวรรณ, 2531)

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด มีความสามารถในการเพิ่มกำลังขยายได้ไปจนถึงระดับมากกว่า 100,000 เท่า และสามารถแจกแจงรายละเอียดของภาพได้ละเอียดกว่ากล้องจุลทรรศน์ทั่วไป อีกทั้งยังสามารถใช้งานร่วมกับเทคนิคการวิเคราะห์อื่น เช่น energy dispersive spectroscopy (EDS) และ wavelength dispersive spectrometry (WDS) ที่เป็นข้อมูลทางเคมี จึงทำให้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเป็นที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.11 แสดงโครงสร้างของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด
ที่มา: <https://stic.mfu.ac.th/stic-analysis-tools/stic-tool-detail/20.html>

2.8 เทคนิคการวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุด้วยสเปกโทรเมตรีรังสีเอ็กซ์แบบกระจายพลังงาน

เทคนิคการวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุด้วยสเปกโทรเมตรีรังสีเอ็กซ์แบบกระจายพลังงาน (energy dispersive X-ray spectroscopy) เรียกสั้นๆว่า EDS หรือ EDX1 เป็นอุปกรณ์ที่ใช้แยกแยะสัญญาณเอกซเรย์ลักษณะเฉพาะ (characteristic X-rays) ของธาตุที่แตกต่างกันด้วยสเปกตรัมเชิงพลังงานควบคู่กับการใช้ซอฟต์แวร์ประมวลผลสัญญาณที่ได้ทำให้หาธาตุที่เป็นส่วนผสมของชิ้นงานได้ สเปกตรัม EDS จะแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง จำนวนสัญญาณเอกซเรย์ที่ตรวจจับได้ (X-raycounts) ทางแกน Y กับพลังงาน (energy) ที่ใช้ในการวิเคราะห์ทีในหน่วย keV ทางแกน X ซึ่งพีคที่เกิดขึ้นในสเปกตรัมจะสอดคล้องกับธาตุที่เป็นองค์ประกอบของพื้นที่ที่เล็กๆ บนตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ นอกจากนี้เทคนิค EDS ยังมีความสามารถในการวิเคราะห์ธาตุในเชิงคุณภาพ (qualitative element analysis) และยังสามารถในการวิเคราะห์ธาตุเชิงกึ่งปริมาณ (semi-quantitative element analysis) ได้อีกด้วย แต่ความแม่นยำจะขึ้นอยู่กับวิธีการและชิ้นงานมาตรฐาน (วิทยากรณ์, 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 เทคนิคเอกซเรย์ดิฟแฟรกชัน

เทคนิคเอกซเรย์ดิฟแฟรกชัน (X-ray diffractometer) หรือเทคนิคการวิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ (XRD) เป็นเทคนิคที่นำรังสีเอ็กซ์ (X-ray) มาใช้วิเคราะห์และระบุชนิดสารประกอบ โครงสร้างผลึกของสารประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง ทั้งในเชิงคุณภาพ (qualitative) และเชิงปริมาณ (quantitative) โดยเทคนิคการวิเคราะห์การเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ จะอาศัยหลักการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ที่ยิงออกไปกระทบที่ตัวอย่าง ทำให้เกิดการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ และสะท้อนออกมาที่มุมต่างๆ กัน โดยมีหัววัดสัญญาณ (detector) เป็นตัวรับข้อมูล ค่าการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ที่ได้จากสารตัวอย่างจะม้องค่าในการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ในมุมที่แตกต่างกันออกไป ขึ้นกับองค์ประกอบ รูปร่าง และลักษณะผลึก ซึ่งผลที่ได้จึงสามารถบ่งชี้ชนิดของสารประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างและสามารถนำมาใช้ศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับโครงสร้างของผลึกของสารตัวอย่างนั้นๆ (Lou และ Audebrand, 1997)



รูปที่ 2.12 เครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรกโตมิเตอร์

ที่มา: <https://www.slri.or.th/bdd/th/22-บริการเครื่องมือวิทยาศาสตร์/71-x-ray-iffraction-iffraction-xrd.html>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10 เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (fourier transform infrared spectrometer) หรือ FT-IR เป็นเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาหมู่ฟังก์ชันของโมเลกุล สามารถใช้ได้ดีกับสารตัวอย่างที่มีความบริสุทธิ์สูงทั้งที่อยู่ในรูปของแข็ง ของเหลว และก๊าซ โดยจะใช้เทคนิคการกระตุ้นสารด้วยพลังงานแสงอินฟราเรด เมื่อแสงอินฟราเรดที่ความยาวคลื่นต่างๆ ผ่านสู่สารตัวอย่าง พันธะเคมีในโมเลกุลของสารจะดูดกลืนพลังงานที่ค่าความยาวคลื่นที่ต่างกัน ซึ่งข้อมูลที่เกิดขึ้นจะถูกประมวลผลโดยคอมพิวเตอร์โดยการใช้สมการเชิงอนุพันธ์ที่เรียกว่า ฟูเรียร์ ทรานสฟอร์ม (fourier transform) ซึ่งจะคำนวณพลังงานของแต่ละความยาวคลื่นและแปรผลออกมาเป็นสเปกตรัม เนื่องจากสารแต่ละชนิดให้สเปกตรัมที่มีลักษณะเฉพาะ สามารถนำมาเปรียบเทียบกับสเปกตรัมของสารที่มีอยู่ในฐานข้อมูลเพื่อใช้ในการพิสูจน์และบ่งชี้ชนิดของสารตัวอย่างได้ นอกจากนี้ยังมีข้อจำกัดในการเตรียมตัวอย่างเพื่อนำมาทดสอบ เนื่องจากในบางครั้งตัวอย่างจะมีขนาดเล็กมาก หรือมีลักษณะและมีสีที่คล้ายกัน จึงยากที่จะเห็นได้ด้วยตาเปล่า จึงเพิ่มความสามารถในการทำงานของเครื่องคือการต่อเครื่อง FT-IR spectrometer เข้ากับกล้องจุลทรรศน์ เพื่อให้สามารถวัดตัวอย่างที่มีขนาดเล็กซึ่งพื้นที่ประมาณ 10x10 ไมโครเมตร (วรารคณา, 2546)



รูปที่ 2.13 เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

ที่มา: <http://sciins.science.kmitl.ac.th/instrumentDetail/6--ft-ir-fourier-transform-infrared-spectrometer>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Rao และ Guatam (2016) ศึกษาการสังเคราะห์ซิงค์ออกไซด์นาโนฟลาวเวอร์ (นาโนฟลาวเวอร์ เกิดจากการรวมกันของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนเกิดเป็นรูปแบบที่คล้ายกับดอกไม้) โดยใช้สารสกัดจากสาหร่าย *Chlamydomonas reinhardtii* ที่ทำการสังเคราะห์ในสภาวะอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคต่างๆ เช่น UV visible spectrophotometry, HRSEM, HRTEM, XRD, DLS และ FTIR พบว่าจะมีค่าพีคของการดูดกลืนแสงที่ 334 นาโนเมตร ใกล้เคียงกับผลึกของซิงค์ออกไซด์ อีกทั้งมีรูปร่างทรงกลมขนาด 40 นาโนเมตร ซึ่งจะถูกสังเคราะห์ได้ในสภาวะที่เป็นกลาง (pH เท่ากับ 7) และสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารโฟโตคะตะลิสต์ในกระบวนการเร่งปฏิกิริยาด้วยแสงได้

Azizi และคณะ (2014) ศึกษาลักษณะของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากการสังเคราะห์ด้วยสารสกัดด้วยน้ำของสาหร่ายสีน้ำตาลขนาดใหญ่ *Sargassum muticum* โดยอนุภาคซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ขึ้นได้จะถูกทำให้บริสุทธิ์ด้วยการเผาที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดสมรรถนะสูงชนิด ฟิลด์อีมิชชัน พบว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่สังเคราะห์ขึ้นมาได้นั้นมีลักษณะรูปร่างเป็นแบบ hexagonal wurtzite และมีขนาดตั้งแต่ 30 ถึง 57 นาโนเมตร และจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UV-vis spectrophotometer พบว่ามีพีคค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 334 นาโนเมตร

Agarwal และคณะ (2017) ได้รายงานว่ามีการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์ด้วยกระบวนการทางชีวภาพโดยใช้ พีช รา แบคทีเรีย และสาหร่าย โดยได้ให้ความสนใจกับสาหร่ายที่นำมาใช้ในการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน 3 ชนิด พบว่า อนุภาคซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ได้จาก *Chlamydomonas reinhardtii* มีขนาด 21 นาโนเมตร มีรูปร่างเป็นแท่งยาว และเป็นนาโนฟลาวเวอร์ และจากสาหร่าย *Sargassum muticum* และ *Sargassum myriocystum* ได้ศึกษารูปร่างของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจาก *Sargassum muticum* ด้วยเทคนิค XRD และ FE-SEM พบว่ามีโครงสร้างเป็นหกเหลี่ยมของหมู่ไฮดรอกซิล และซัลเฟต พอลิแซ็กคาไรด์ และจาก *Sargassum myriocystum* ได้เปรียบเทียบขนาดด้วยเทคนิค DLS และ AFM ซึ่งแสดงให้เห็นความแตกต่างของขนาดของหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่คาร์บอนิลในอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน และพบค่าการดูดกลืนแสงที่ 334 นาโนเมตร ซึ่งมีค่าใกล้เคียงผลึกซิงค์ออกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nagarajan และ Kuppusamy (2013) ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนโดยใช้สารสกัดของสาหร่ายทะเลจากอ่าวแมนนาร์ ประเทศอินเดีย โดยใช้สาหร่ายทะเล 3 ชนิดคือ *Caulerpa peltate*, *Hypnea valencia* และ *Sargassum myriocystum* พบว่าสารสกัดจาก *Sargassum myriocystum* มีความสามารถในการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนได้ดี ซึ่งมีขนาดอนุภาคประมาณ 36 นาโนเมตร และจากการทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยจะทำการทดสอบต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก คือ *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Vibrio cholerae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Klebsiella pneumonia* และเชื้อรา คือ *Aspergillus niger*, *Candida albicans* พบว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ได้มีการออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบคือ *Vibrio cholerae* และมีการออกฤทธิ์ยับยั้งที่น้อยที่สุดต่อเชื้อ *Klebsiella pneumonia* โดยใช้ตัวเปรียบเทียบคือ ยาปฏิชีวนะเพนิซิลิน

Khatami และคณะ (2018) ศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน โดยใช้สารสกัดหยาดจากหญ้าหวาน โดยอนุภาคซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ขึ้นได้มีรูปร่างเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้า ที่มีขนาดตั้งแต่ 10 ถึง 90 นาโนเมตร และได้นำอนุภาคที่สังเคราะห์ขึ้นมาทดสอบกับเชื้อปรสิต *Leishmaniasis major* และแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ซึ่งพบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อปรสิตและเชื้อแบคทีเรียได้คือ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของอนุภาคที่สังเคราะห์ขึ้นมาได้

Vijayakumar และคณะ (2018) ศึกษาคุณลักษณะของอนุภาคซิงค์ออกไซด์จากการสังเคราะห์ด้วยกระบวนการชีวภาพจากสารสกัดของใบกระรอกน้ำ (*Glycosmis pentaphylla*) และศึกษาการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยจะทำการทดสอบต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก คือ *Bacillus cereus* และ *Staphylococcus aureus* ส่วนแบคทีเรียแกรมลบคือ *Shigella dysenteriae* และ *Salmonella paratyphi* และเชื้อรา คือ *Candida albicans* และ *Aspergillus niger* ด้วยวิธี agar well diffusion ซึ่งพบว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ขึ้นมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยฤทธิ์ยับยั้งการเจริญมากที่สุด คือ *Shigella dysenteriae* (42 ± 2.24 มิลลิเมตร) และทำการตรวจสอบอนุภาคซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ได้ด้วยเครื่อง UV-VIS spectrum และ photoluminescence spectrum พบว่ามีพีคค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 351 ถึง 410 นาโนเมตร ศึกษาหมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FT-IR พบว่าค่าพีคต่างๆ ของหมู่ฟังก์ชันมีความเกี่ยวข้องกับอนุภาคซิงค์ออกไซด์ที่สังเคราะห์ขึ้นมาได้ ศึกษาค่าความเป็นผลึกด้วยเทคนิค XRD พบว่าอนุภาคมีขนาด 30 นาโนเมตร และศึกษาค่าความบริสุทธิ์ของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่สังเคราะห์ขึ้น พบว่ามีค่าความบริสุทธิ์อยู่ที่ 20.70 เปอร์เซ็นต์ การศึกษาขนาดและรูปร่างของอนุภาคด้วย SEM และ TEM พบว่ามีรูปร่างเป็นทรงกลมและมีขนาดแตกต่างกันตั้งแต่ 32 ถึง 36 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Karvani และ Chehrazi (2011) ศึกษาการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบและแบคทีเรียแกรมบวกของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน ด้วยการใช้วิธี agar disc diffusion โดยทดสอบต่อเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* พบว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ออกฤทธิ์ยับยั้งต่อเชื้อ *Escherichia coli* (29 มิลลิเมตร) และ *Staphylococcus aureus* (19 มิลลิเมตร) และศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) โดยใช้ความเข้มข้นทั้งหมด 7 ความเข้มข้น คือ 16, 8, 4, 2, 1, 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ค่า MIC ของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* คือ 1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ จากการศึกษาทั้งหมดพบว่าการออกฤทธิ์ยับยั้งต่อแบคทีเรียของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน จะเพิ่มขึ้นเมื่อขนาดของอนุภาคลดลง หรือการเพิ่มความเข้มข้นของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนรวมไปถึงระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สายพันธุ์สาหร่าย

- 3.1.1 *Ankistrodesmus* sp. G15/61
- 3.1.2 *Arthrospira* sp. B1/61
- 3.1.3 *Chlorella* sp. G2/61
- 3.1.4 *Chlorella* sp. G6/61
- 3.1.5 *Cylindrocystis* sp. G12/61
- 3.1.6 *Klebsormidium* sp. G8/61
- 3.1.7 *Scenedesmus* sp. G4/61
- 3.1.8 *Scenedesmus* sp. G16/61

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 3.1.1 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Bright field microscope); Olympus : CH03
- 3.1.2 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer); Unico : 2800A
- 3.1.3 เครื่องชั่งน้ำหนักสถิตตำแหน่ง; Adventure : OHAUS
- 3.1.4 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge); Hermle : Z36HK
- 3.1.5 ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar air flow); M tech : Cleanline BS-120
- 3.1.6 เครื่องเขย่า (Orbital Shaker); Gallenkamp : innova 2000
- 3.1.7 เครื่องเขย่า (Orbital Shaker); Platform shaker : innova 2000
- 3.1.8 เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator); Heidolph
- 3.1.9 เครื่องผสมสาร (Vortex Mixer); Kurzzzeit
- 3.1.10 หม้อนึ่งอัตโนมัติ (Autoclave); Hirayama : Hiclave
- 3.1.11 เครื่องอบลมร้อน (Hot air oven); WTB binder : DE53
- 3.1.12 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer); Unico : 2800A
- 3.1.13 เครื่องอ่านค่าไมโครเพลท (Microplate reader); Asys : UVM 340
- 3.1.14 เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง (pH meter); Ultrabasic
- 3.1.15 โถดูดความชื้น (Vacuum Desiccator); Glaswerkwerthim : GL32
- 3.1.16 ซีมาไซโตมิเตอร์ ชนิด Improved neubauer (Haemocytometer)
- 3.1.17 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath); Eurotherm
- 3.1.18 ได้อุปไมโครเวฟ; Sumsung : m1913

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่เผยแพร่โดยไม่หวังผลตอบแทน ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.19 ตู้เย็นเก็บตัวอย่างสาหร่าย; Sanyo : SR-F616NC MS

3.1.20 ป้อนให้อากาศและสายยางพร้อมหัวทราย

3.3 สารเคมี

3.3.1 อาหารสูตร Blue-green Medium (BG-11)

3.3.2 อาหารสูตร Nutrient agar (NA)

3.3.3 อาหารสูตร Zarrouk's

3.3.4 เอทานอล (Ethanol) ความเข้มข้นร้อยละ 95 (องค์การสุรา กรมสรรพสามิต)

3.3.5 ยาปฏิชีวนะ

3.3.5.1 Clindamycin

3.3.7 โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium hydroxide) ความเข้มข้นร้อยละ 5

3.3.8 แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride) ความเข้มข้นร้อยละ 9

3.3.9 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide); AjexFinechempty

3.3.10 ไดโซเดียมคาร์บอเนต (Disodium carbonate); CARLO ERBA

3.3.11 ไดเอทิลอีเทอร์ (Diethyl ether); LAB-SCAN

3.3.12 ซิงค์ไนเตรต (Zinc Nitrate)

3.3.13 ซิงค์ออกไซด์ (Zinc Oxide)

3.3.14 น้ำกลั่น

3.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน

3.4.1 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

นำสาหร่ายขนาดเล็กที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง มาเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร BBM และอาหารสูตร Zarrouk ภายใต้สภาวะความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ พร้อมให้อากาศ และทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะอุณหภูมิห้อง

3.4.2 เตรียมสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก (ดัดแปลงมาจาก Chaudhuri และ Malodia, 2017)

เพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กจนถึงระยะการเจริญคงที่ของสาหร่ายขนาดเล็กแต่ละชนิด เก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำเซลล์ที่เก็บเกี่ยว 2 กรัมของน้ำหนักเปียกมาผสมลงในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ 100 มิลลิลิตร แล้วต้มให้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส บนเครื่องปั่นกวน (hotplate and magnetic stirrer) เป็นเวลา 30 นาที และทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

ไม่วารณใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นนำไปหมუნเหวียงด้วยเครื่องหมუნเหวียง เพื่อแยกเอาสารสกัดส่วนใสออกจากตะกอนเซลล์ นำสารสกัดส่วนใสที่ได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก ไปวิเคราะห์การทะลุผ่านของแสงด้วยเครื่องยูวี วิชิสเปกโตรสโกปี (UV-VIS Spectrophotometer ; SHIMADZU, UV-1280) โดยใช้ช่วงความยาวคลื่นที่ 200 ถึง 600 นาโนเมตร

3.4.3 การสังเคราะห์อนุภาคซิงค์นาโนจากสารสกัดของสาหร่ายขนาดเล็ก (ดัดแปลงจาก Chaudhuri และ Malodia, 2017)

นำซิงค์ไนเตรต 2.9749 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นบริสุทธิ์ 35 มิลลิลิตร แล้วเติมสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กปริมาตร 15 มิลลิลิตร (สารสกัดจากข้อ 3.4.2) ลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร (ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 200 มิลลิโมลาร์) จากนั้นนำมาต้มให้ความร้อนบนเครื่องปั่นกวน จนกระทั่งอุณหภูมิถึง 100 องศาเซลเซียส จากนั้นให้เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้น 2 โมลาร์ ลงไปในพลาสติก เพื่อปรับพีเอชให้มีค่าประมาณ 14 จากนั้นให้ความร้อนเป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยจะทำการตรวจสอบเบื้องต้นด้วยการสังเกตการเปลี่ยนสีจากสีใสเป็นสีขาวขุ่นหรือสีเหลืองครีมขึ้นอยู่กับระยะเวลา ต่อจากนั้นนำสารละลายลงจากเครื่องปั่นกวนและตั้งสารละลายไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์การทะลุผ่านของแสงด้วยเครื่องยูวี วิชิสเปกโตรสโกปี (UV-VIS Spectrophotometer ; SHIMADZU, UV-1280) โดยใช้ช่วงความยาวคลื่นที่ 340 ถึง 600 นาโนเมตร ที่ความละเอียด 1 นาโนเมตร แล้วจึงนำไปหมუნเหวียงด้วยความเร็วรอบ 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 นาที เพื่อเก็บเอาตะกอนสีขาวขุ่นแล้วนำตะกอนที่ได้ไปอบให้แห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

3.4.4 การทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน

3.4.4.1 การเตรียมแผ่นทดสอบ

เตรียมแผ่นทดสอบ (เส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) โดยหยดสารละลายลงบนแผ่นทดสอบแผ่นละ 10 ไมโครลิตร ดังนี้ สารสกัดจากข้อ 3.4.2 ละลายในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วให้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากข้อ 3.4.3 ละลายในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วให้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ และยาปฏิชีวนะคลินดามัยซิน (คลินดา-เอ็ม) เจือจางในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วให้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

3.4.4.2 การทดสอบฤทธิ์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนต่อแบคทีเรีย

นำแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ คือ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* จากห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสูตร nutrient broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปเผยแพร่หรือใช้ในการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่อุณหภูมิ 37 ± 1 องศาเซลเซียสเป็นเวลาหนึ่งคืน ($OD = 0.3$) นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่เตรียมไว้ด้วยวิธี spread plate ทิ้งไว้จนสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียได้ซึ่มลงเนื้อวุ้นจนแห้ง นำแผ่นทดสอบที่เตรียมไว้จากข้อ 3.5.1 ไปวางบนจานเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิที่ 37 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลด้วยการวัดขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใสด้วยเวอร์เนียคาร์ิปเปอร์โดยใช้หน่วยเป็นมิลลิเมตร

3.4.5 การวิเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก

3.4.5.1 การวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด (Scanning electron microscope: SEM ; FEI, QUANTA 250) เพื่อตรวจสอบขนาดและรูปร่างของอนุภาคที่สังเคราะห์

3.4.5.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุด้วยสเปกโทรเมตรีรังสีเอ็กซ์แบบกระจายพลังงาน (Energy-dispersive X-ray spectroscopy: EDS ; FEI, QUANTA 250) เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุที่อยู่ภายในอนุภาคที่สังเคราะห์

3.4.5.3 เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี (FT-IR Spectroscopy ; Thermo scientific, Nicolet 6700) เพื่อวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารประกอบที่มีอยู่ในอนุภาคที่สังเคราะห์

3.4.5.4 การวิเคราะห์โครงสร้างผลึกโดยใช้เทคนิคเทคนิคเอกซเรย์ดิฟแฟรคชัน (X-Ray Diffractometer: XRD ; Bruker AXS, D8 Advance) เพื่อวิเคราะห์รูปร่างโครงสร้างของผลึก

3.4.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลแบบ Factorial Experiment in Completely Randomized Design (CRD) และ Anova วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Turkey Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม Minitab ในการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

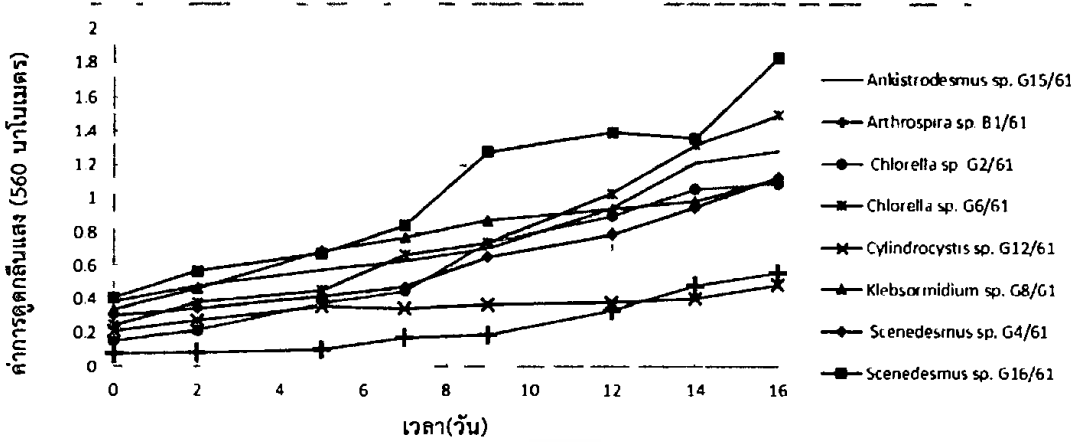
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลคัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก

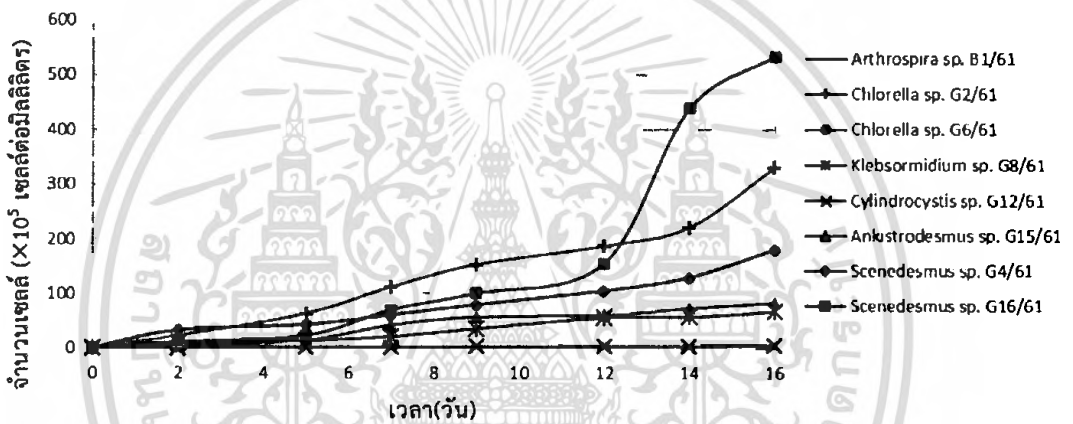
คัดแยกสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำด้วยวิธี Spread Plate ในอาหารสูตร BBM และ Zarrouk (ภาคผนวก ค) คัดแยกสาหร่ายด้วยวิธี การขีดเชื้อในจานเพาะเชื้อ (streak plate) จนสาหร่ายบริสุทธิ์ พบว่าสาหร่ายที่คัดแยกได้มี 8 สายพันธุ์ คือ *Ankistrodesmus* sp. G15/61, *Arthrospira* sp. B1/61, *Chlorella* sp. G2/61, *Chlorella* sp. G6/61, *Cylindrocystis* sp. G12/61, *Klebsormidium* sp. G8/61, *Scenedesmus* sp. G4/61, *Scenedesmus* sp. G16/61 (ภาคผนวก ข-1) นำสาหร่ายขนาดเล็กมาเพิ่มจำนวนในอาหารเหลวสูตร BBM ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้สภาวะความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ (รูปที่ 4.1) เป็นเวลาประมาณ 14 วัน (ภาคผนวก ข-2) หรือสาหร่ายขนาดเล็กอยู่ในช่วงการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว (log phase) โดยวัดการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็กด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสง (รูปที่ 4.2) การนับจำนวนเซลล์ (รูปที่ 4.3) และการวัดน้ำหนักแห้ง (รูปที่ 4.4) (ภาคผนวก ข-3) พบว่าหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน สาหร่ายเจริญได้ดีที่สุดในสภาวะความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ บนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที (รูปที่ 4.2-4.4) มีจำนวนเซลล์และน้ำหนักแห้งเท่ากับ 533×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ 1.6166 กรัม ตามลำดับ รองลงมาคือ *Scenedesmus* sp. G4/61 มีจำนวนเซลล์และน้ำหนักแห้งเท่ากับ 330×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ 1.4944 กรัม ตามลำดับ ซึ่งการทดลองของดวงกมล (2560) พบว่าสูตรอาหารและความเข้มแสงให้ผลการเจริญไม่แตกต่างกัน แต่ชนิดของหัวพ่นอากาศรูปแบบต่างๆ เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญของสาหร่าย โดยการเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ให้น้ำหนักแห้งที่ 0.1208 ± 0.017 กรัม ซึ่งน้อยกว่าการให้อากาศแบบหัวทราย ให้น้ำหนักแห้งที่ 0.2344 ± 0.042 กรัม การเขย่าทำให้เกิดการวนของน้ำในลักษณะวอร์เท็กซ์ (vortex) ทำให้สาหร่ายได้รับอากาศน้อยกว่าการพ่นอากาศลงไปในช่วงเพาะเลี้ยงโดยตรง



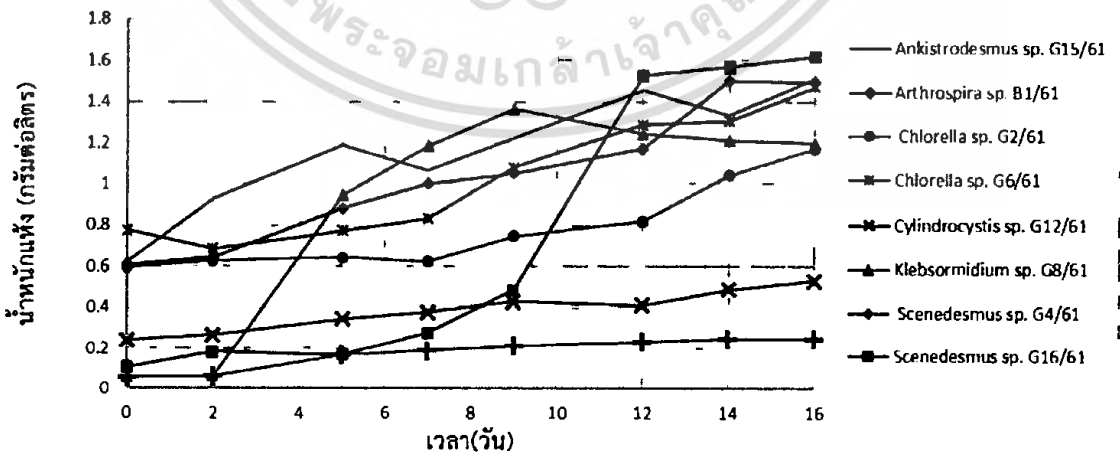
เอกสารนี้ รูปที่ 4.1 เพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กในอาหารเหลวสูตร BBM ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้สภาวะงานการค้ำ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ ลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (560 นาโนเมตร) ในการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็ก 8 สายพันธุ์



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงจำนวนเซลล์ต่อมิลลิเมตรในการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็ก 8 สายพันธุ์

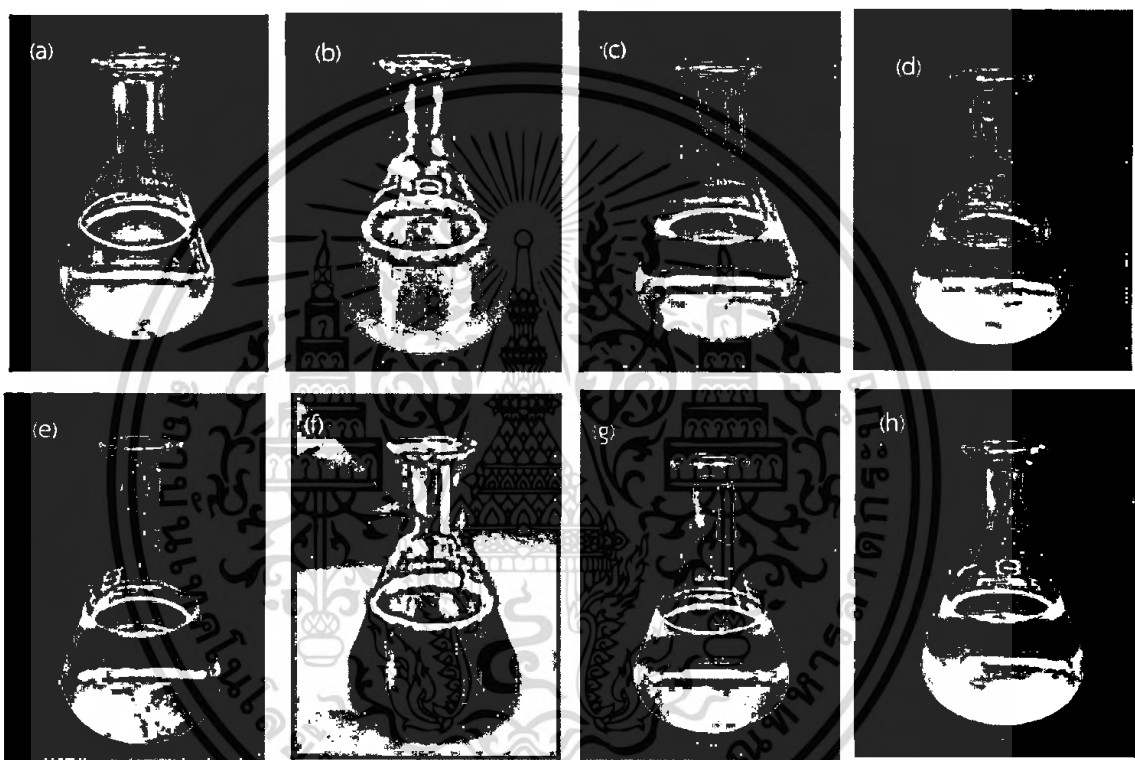


รูปที่ 4.4 กราฟแสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่ายขนาดเล็ก 8 สายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก

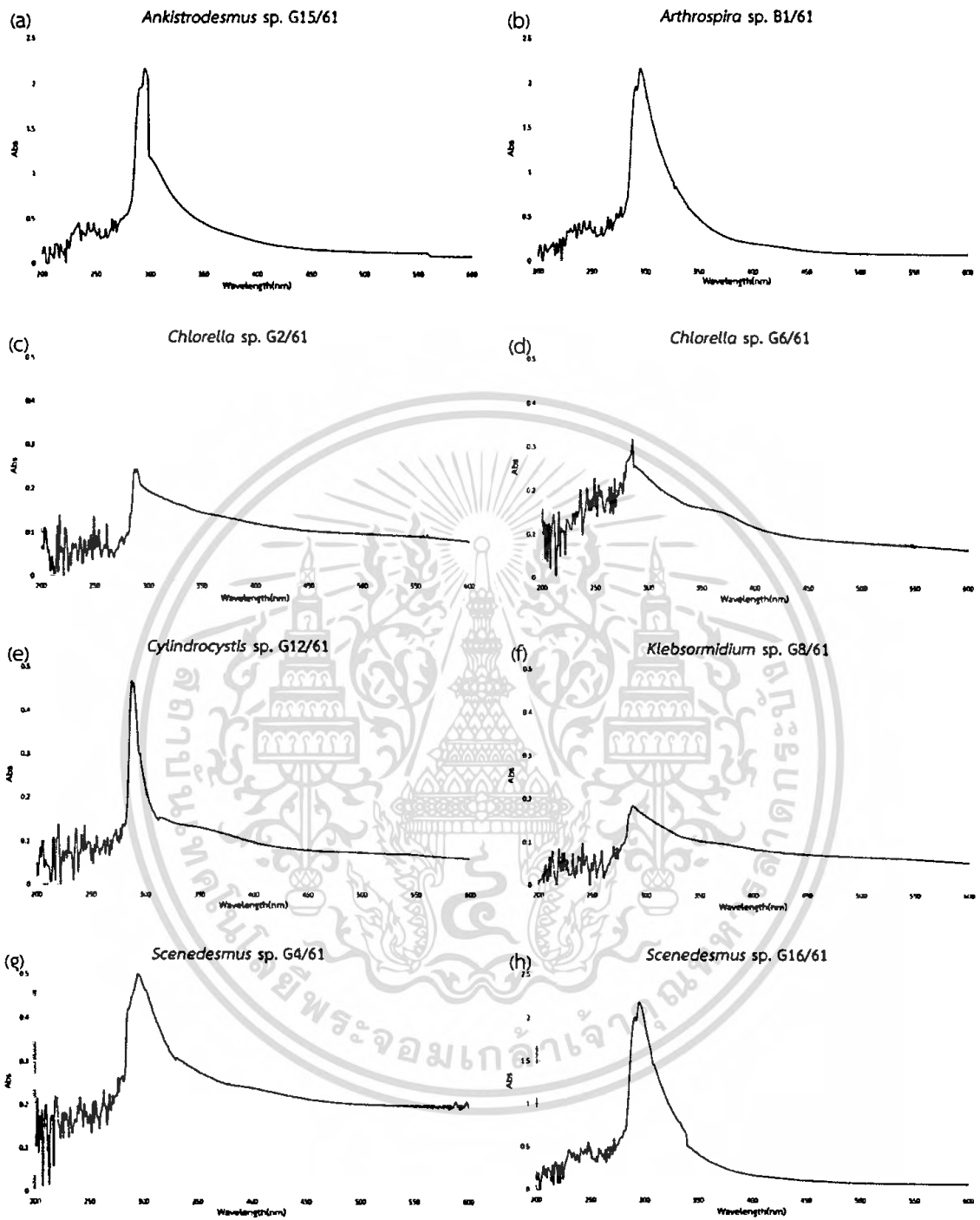
นำสาหร่าย 8 สายพันธุ์มาเพิ่มจำนวนในอาหารเหลวสูตร BBM ที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้สภาวะความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ จากนั้นเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำเซลล์ที่เก็บเกี่ยว 2 กรัมของน้ำหนักเปียกมาผสมลงในน้ำกลั่นบริสุทธิ์ 100 มิลลิลิตร แล้วต้มให้ความร้อน 100 องศาเซลเซียส บนเครื่องปั่นกวนเป็นเวลา 30 นาที และทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แยกเอาสารสกัดส่วนใสออกจากตะกอนเซลล์ (รูปที่ 4.5 a-h)



รูปที่ 4.5 สารสกัดส่วนใสที่ได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก 8 สายพันธุ์ : (a) *Ankistrodesmus* sp. G15/61 (b) *Arthrospira* sp. B1/61 (c) *Chlorella* sp. G2/61 (d) *Chlorella* sp. G6/61 (e) *Cylindrocystis* sp. G12/61 (f) *Klebsormidium* sp. G8/61 (g) *Scenedesmus* sp. G4/61 (h) *Scenedesmus* sp. G16/61

นำสารสกัดส่วนใสที่ได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก ไปวิเคราะห์การทะลุผ่านของแสงด้วยเครื่องยูวีวิซิเบิลสเปกโตรสโคปี โดยใช้ช่วงความยาวคลื่นที่ 200 ถึง 600 นาโนเมตร พบว่าส่วนใหญ่มีค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 290 นาโนเมตร (รูปที่ 4.6 a-h)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 พิกการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก 8 สายพันธุ์ :

(a) *Ankistrodesmus* sp. G15/61 (b) *Arthrospira* sp. B1/61 (c) *Chlorella* sp. G2/61

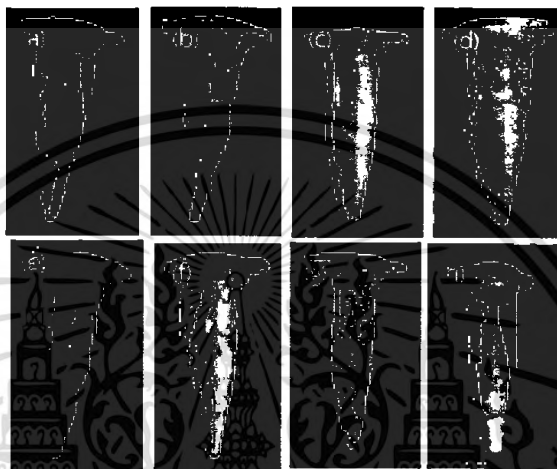
(d) *Chlorella* sp. G6/61 (e) *Cylandrocystis* sp. G12/61 (f) *Klebsormidium* sp. G8/61

(g) *Scenedesmus* sp. G4/61 (h) *Scenedesmus* sp. G16/61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก

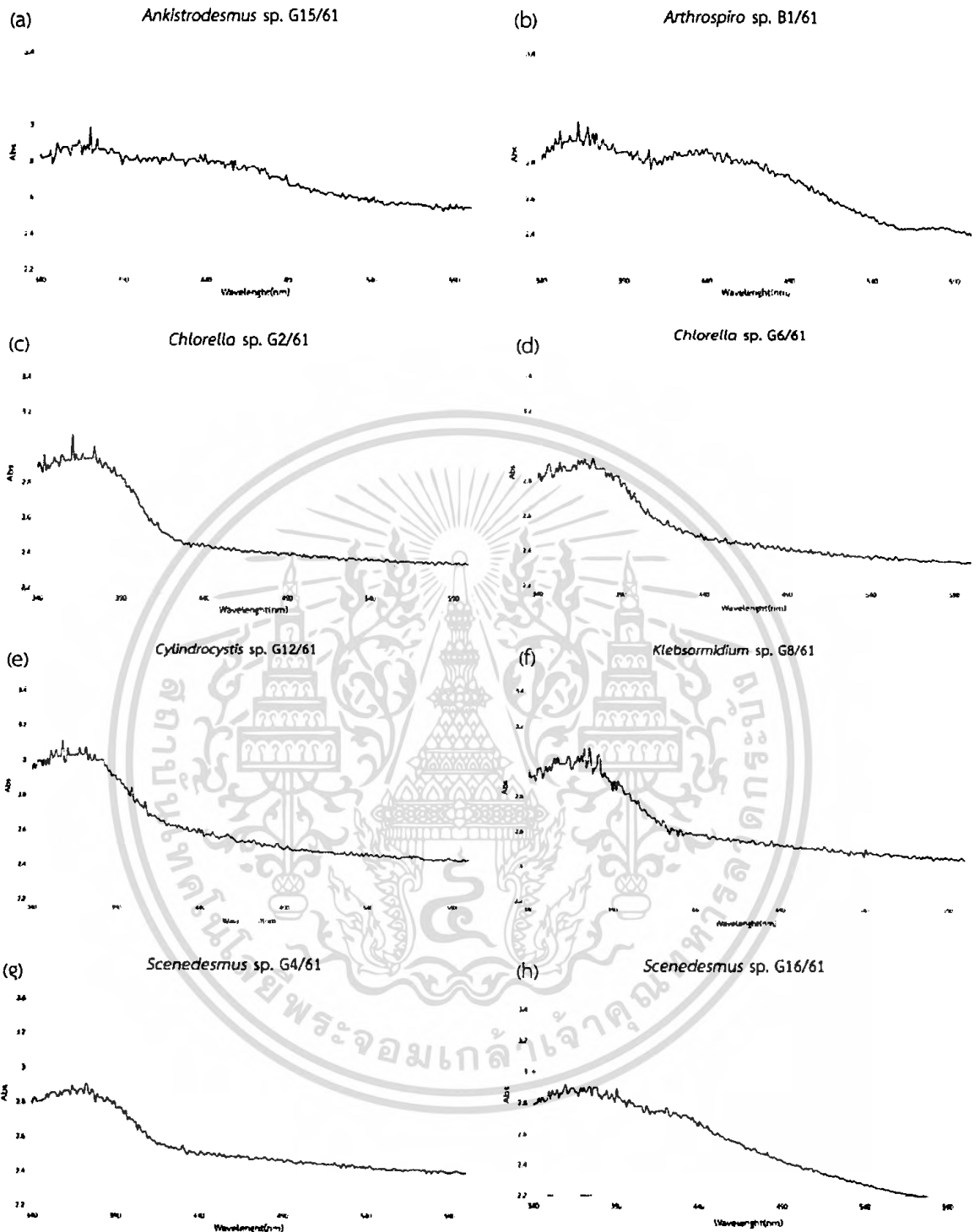
การสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสาหร่ายขนาดเล็ก 8 สายพันธุ์ จากการทดลองพบว่าสารสกัดเริ่มต้นมีลักษณะเป็นสารละลายใส เมื่อทำการผสมเชิงคิโนเรทและให้ความร้อนครบ 6 ชั่วโมง พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสีขาว ชุ่มและนำลงจากเครื่องปั่นกวนและตั้งสารละลายไว้เป็นเวลา 10 นาที จะเกิดการตกตะกอนสีขาวบริเวณก้นขวด เมื่อนำตะกอนไปทำให้แห้งจะได้ผงสีขาวเนื้อละเอียด (รูปที่ 4.7 a-h)



รูปที่ 4.7 ผงอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก 8 สายพันธุ์ :
 (a) *Ankistrodesmus* sp. G15/61 (b) *Arthrospira* sp. B1/61 (c) *Chlorella* sp. G2/61
 (d) *Chlorella* sp. G6/61 (e) *Cylindrocystis* sp. G12/61 (f) *Klebsormidium* sp. G8/61
 (g) *Scenedesmus* sp. G4/61 (h) *Scenedesmus* sp. G16/61

เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าพีคค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 360 นาโนเมตร (รูปที่ 4.8 a-h) ซึ่งพีคค่าการดูดกลืนแสงที่ได้สอดคล้องกับ Jayarambabu และคณะ (2014) และ Bajpaia และคณะ (2016) รายงานว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนมีช่วงการดูดกลืนสูงสุดที่ 360 นาโนเมตร เนื่องจากลักษณะเชิงแสงพิเศษของอนุภาคนาโน เกิดการกระตุ้นของเซอร์เฟซพลาสมอนเรโซแนนซ์ (surface plasmon resonance, SPR) เป็นปรากฏการณ์เชิงแสง ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาของอิเล็กตรอนในโลหะระดับนาโนและคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เมื่อคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจากภายนอกเกิดการตกกระทบโลหะ กลุ่มอิเล็กตรอนจำกัดอยู่ในอนุภาคระดับนาโนจะเกิดการสั่นรวม (collective oscillation) และเมื่อคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าจากภายนอก มีความยาวคลื่นเดียวกับกับความยาวคลื่นที่อิเล็กตรอนสั่นในอนุภาคนาโน จะทำให้เกิดการสั่นพ้องขึ้น ซึ่งเป็นการสะท้อนของคลื่นกลับไปมาทำให้เกิดการเสริมกันหรือหักล้างกันของคลื่น (Eustis และ El-Sayed, 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 พิกัดการดูดกลืนแสงหลังการสังเคราะห์ซึ่งค็อกออกไซด์นาน 6 ชั่วโมงของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก 8 สายพันธุ์ : (a) *Ankistrodesmus* sp. G15/61 (b) *Arthrospira* sp. B1/61 (c) *Chlorella* sp. G2/61 (d) *Chlorella* sp. G6/61 (e) *Cylindrocystis* sp. G12/61 (f) *Klebsormidium* sp. G8/61 (g) *Scenedesmus* sp. G4/61 (h) *Scenedesmus* sp. G16/61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

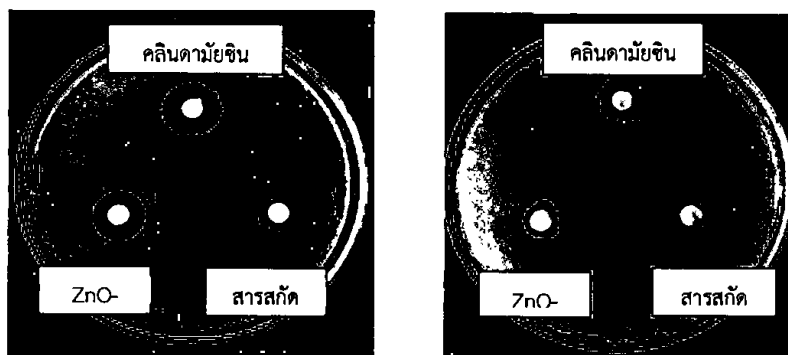
4.4 ผลการทดสอบอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนต่อการต้านแบคทีเรีย

การทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน โดยทดสอบกับ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน พบว่ายาปฏิชีวนะคลินดามัยซินมีฤทธิ์การต้านแบคทีเรียมากที่สุด ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสอยู่ในช่วง 14.57 ถึง 20.96 มิลลิเมตร รองลงมาเป็นอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่สังเคราะห์ขึ้น มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสอยู่ในช่วง 8.11 ถึง 17.47 มิลลิเมตร และสารสกัดด้วยน้ำจากสาหร่ายขนาดเล็กสามารถต้านแบคทีเรียได้น้อยที่สุด มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสอยู่ในช่วง 6.14 ถึง 6.67 มิลลิเมตร

อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่สังเคราะห์ขึ้นจากสารสกัด *Scenedesmus* sp. G16/61 มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้มากที่สุดทั้ง *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ซึ่งสามารถต้านแบคทีเรียได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 8 สายพันธุ์ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสเท่ากับ 17.59 และ 10.81 มิลลิเมตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.9) สารสกัดด้วยน้ำจาก *Scenedesmus* sp. G16/61 สามารถต้านแบคทีเรียได้เล็กน้อยทั้ง *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* แต่สามารถต้านแบคทีเรียได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 8 สายพันธุ์ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสเท่ากับ 6.67 และ 6.41 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ส่วนอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่สังเคราะห์ขึ้นจากสารสกัด *Chlorella* sp. G2/61 ที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมลบได้มากที่สุดคือ *Escherichia coli* มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสเท่ากับ 10.85 มิลลิเมตร สารสกัดด้วยน้ำจาก *Chlorella* sp. G2/61 สามารถต้านแบคทีเรียได้เล็กน้อย มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสเท่ากับ 6.23 และ 6.36 มิลลิเมตร ตามลำดับ และอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่สังเคราะห์ขึ้นจากสารสกัด *Cylindrocystis* sp. G12/61 ที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้น้อยที่สุดทั้ง *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสเท่ากับ 8.41 และ 7.95 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดด้วยน้ำจาก *Cylindrocystis* sp. G12/61 สามารถต้านแบคทีเรียได้เล็กน้อยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสเท่ากับ 6.48 และ 6.43 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ซึ่งคล้ายคลึงกับ Keerthika และคณะ (2018) รายงานว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่สังเคราะห์ทางเคมี พบฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสเท่ากับ 15 และ 10 มิลลิเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้ Wang และคณะ (2008) รายงานว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนมีฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* ได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 1 มิลลิโมล ในขณะที่ฤทธิ์ต้าน *Escherichia coli* พบที่ระดับความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 3.4 มิลลิโมล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 ฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะคลินดามัยซิน อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน และสารสกัดด้วยน้ำจาก *Scenedesmus* sp. G16/61 (a) *Staphylococcus aureus* (b) *Escherichia coli*

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทางสถิติ พบว่าฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากสารสกัด *Scenedesmus* sp. G16/61 และยาปฏิชีวนะคลินดามัยซินมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากสารสกัด *Scenedesmus* sp. G16/61 มีความแตกต่างกับสารสกัดด้วยน้ำจาก *Scenedesmus* sp. G16/61 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนฤทธิ์ต้าน *Staphylococcus aureus* ของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากสารสกัด *Scenedesmus* sp. G16/61 และ *Arthrospira* sp. B1/61 มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ฤทธิ์ต้าน *Escherichia coli* ของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากสารสกัด *Scenedesmus* sp. G16/61 และ *Chlorella* sp. G2/61 มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจะขึ้นอยู่กับขนาดและรูปร่างของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน โดยส่วนใหญ่สามารถต้านแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจากแบคทีเรียแกรมบวกมีชั้นเพปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) และกรดเทโคอิก (teichoic acid) ซึ่งในแบคทีเรียแกรมลบไม่มีชั้นเพปทิโดไกลแคน แต่แบคทีเรียแกรมลบมีลิโปพอลิแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide) มีโปรตีนหลายชนิดที่ควบคุมการเข้าออกของสาร โดยอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนปล่อยซิงค์ไอออน (Zn^{2+}) ไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย เนื่องจากกลไกปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระในแบคทีเรีย เซลล์ไม่สามารถทำงานได้ปกติส่งผลให้เซลล์เสื่อมสภาพลง (Shahid และคณะ, 2018)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะคลินดามัยซิน อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากสาหร่ายขนาดเล็ก โดยวัดจากโซนใส

สายพันธุ์	ชนิดของสาร	ค่าเฉลี่ยขอบเขตการยับยั้ง (มิลลิเมตร)	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Ankistrodesmus</i> sp. G15/61	ยาปฏิชีวนะคลินดามัยซิน	19.62 ± 0.35 ^{bc}	16.43 ± 0.31 ^{de}
	สารสกัดด้วยน้ำ	6.39 ± 0.01 ^m	6.51 ± 0.00 ^m
	อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	11.35 ± 0.14 ^h	8.73 ± 0.26 ^{kl}
<i>Arthrospira</i> sp. B1/61	ยาปฏิชีวนะคลินดามัยซิน	19.10 ± 0.86 ^{bc}	16.53 ± 0.41 ^{de}
	สารสกัดด้วยน้ำ	6.49 ± 0.01 ^m	6.14 ± 0.01 ^m
	อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	17.46 ± 0.01 ^d	9.99 ± 0.01 ^{ij}
<i>Chlorella</i> sp. G2/61	ยาปฏิชีวนะคลินดามัยซิน	20.96 ± 0.00 ^a	15.51 ± 0.42 ^{efg}
	สารสกัดด้วยน้ำ	6.36 ± 0.01 ^m	6.23 ± 0.01 ^m
	อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	8.45 ± 0.02 ^{kl}	10.85 ± 0.31 ^{hi}
<i>Chlorella</i> sp. G6/61	ยาปฏิชีวนะคลินดามัยซิน	19.68 ± 0.22 ^{bc}	17.47 ± 0.56 ^d
	สารสกัดด้วยน้ำ	6.33 ± 0.01 ^m	6.39 ± 0.01 ^m
	อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	9.49 ± 0.28 ^k	9.50 ± 0.51 ^{jk}
<i>Cylindrocystis</i> sp. G12/61	ยาปฏิชีวนะคลินดามัยซิน	19.35 ± 0.05 ^{bc}	14.57 ± 0.89 ^s
	สารสกัดด้วยน้ำ	6.48 ± 0.01 ^m	6.43 ± 0.00 ^m
	อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	8.41 ± 0.11 ^{kl}	7.95 ± 0.04 ^l
<i>Klebsormidium</i> sp. G8/61	ยาปฏิชีวนะคลินดามัยซิน	20.06 ± 0.17 ^{ab}	15.16 ± 0.07 ^{fg}
	สารสกัดด้วยน้ำ	6.24 ± 0.01 ^m	6.36 ± 0.00 ^m
	อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	8.62 ± 1.14 ^{kl}	8.58 ± 0.21 ^{kl}
<i>Scenedesmus</i> sp. G4/61	ยาปฏิชีวนะคลินดามัยซิน	18.72 ± 0.22 ^{bc}	15.20 ± 0.08 ^{fg}
	สารสกัดด้วยน้ำ	6.45 ± 0.01 ^m	6.27 ± 0.00 ^m
	อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	8.11 ± 0.00 ^l	10.45 ± 0.20 ^{hij}
<i>Scenedesmus</i> sp. G16/61	ยาปฏิชีวนะคลินดามัยซิน	19.02 ± 0.00 ^{bc}	16.29 ± 0.00 ^{def}
	สารสกัดด้วยน้ำ	6.67 ± 0.00 ^m	6.41 ± 0.00 ^m
	อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	17.47 ± 0.00 ^d	10.84 ± 0.08 ^{hi}

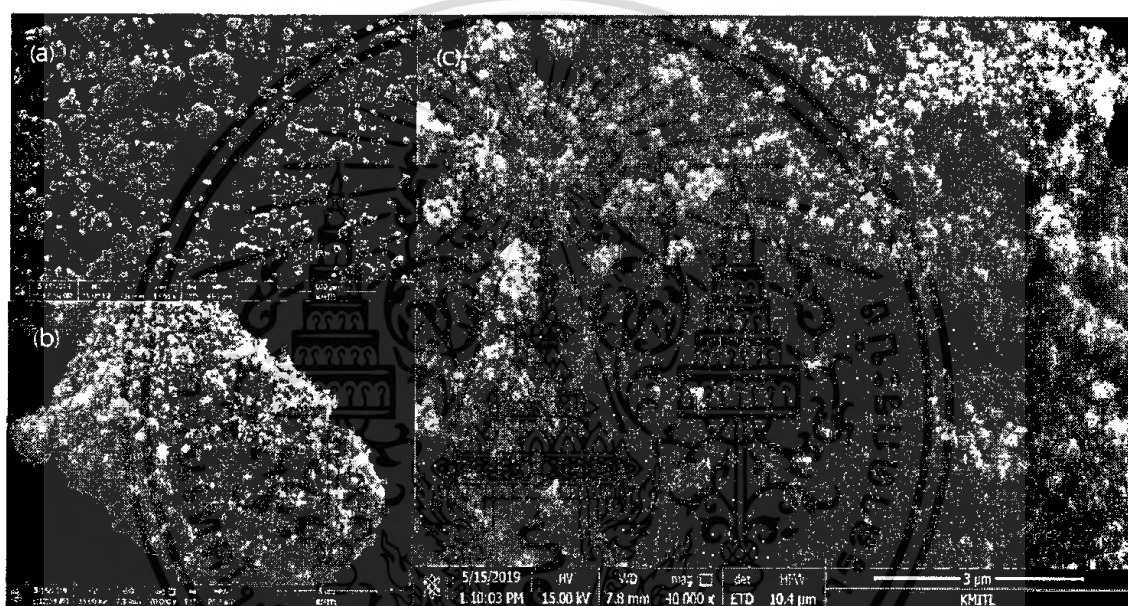
หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± SD (n=3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
^{a-h} ค่าเฉลี่ยตามด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ไม่ปรากฏใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การวิเคราะห์ของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด

4.5.1 การวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด

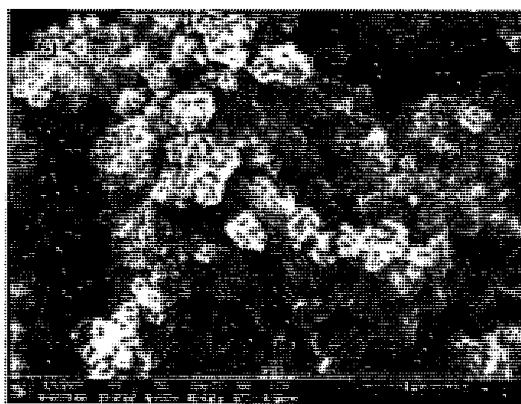
การวิเคราะห์โครงสร้างของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดจาก *Scenedesmus* sp. G16/61 ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนมีรูปร่างทรงกลมขนาดเล็กเกาะติดกัน (รูปที่ 4.10 a-c) ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Azizi และคณะ (2014) รายงานว่าการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดจาก *Sargassum muticum* มีรูปร่างทรงกลม และการทดลองของ Keerthika และคณะ (2018) รายงานว่าการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนทางเคมีมีรูปร่างทรงกลมเช่นกัน



รูปที่ 4.10 อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของจาก *Scenedesmus* sp. ด้วยกล้อง SEM ที่กำลังขยาย (a) 1,000 เท่า (b) 20,000 เท่า (c) 40,000 เท่า

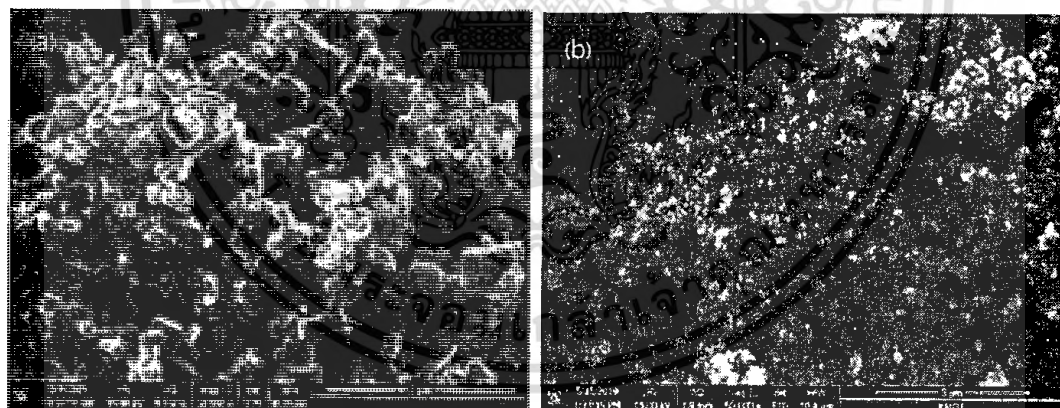
การวิเคราะห์โครงสร้างของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดจาก *Chlorella* sp. G2/61 ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนมีรูปร่างเหลี่ยม (รูปที่ 4.11 a) Nagarajan และ Kuppusamy (2013) รายงานว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่สังเคราะห์จากจากสารสกัดสาหร่ายทะเล เช่น สาหร่ายสีเขียว (*Caulerpa peltate*) สาหร่ายสีแดง (*Hypnea Valencio*) และสาหร่ายสีน้ำตาล (*Sargassum myriocystum*) มีรูปร่างเหลี่ยม (nanotriangles) และแท่ง (nanorods)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่กำลังขยาย 80,000 เท่า ด้วยกล้อง SEM ของสารสกัดด้วยน้ำจาก (a) *Chlorella* sp. G2/61

นอกจากนั้น Rao และ Gautam (2016) รายงานว่าการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก *Chlamydomonas reinhardtii* มีรูปทรงดอกไม้ (nanoflowers) เมื่อทำการเปรียบเทียบกับเคมีภัณฑ์ซิงค์ออกไซด์จากบริษัทเมอร์ค (Merck) พบว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดจาก *Scenedesmus* sp. มีขนาดเล็กกว่าซิงค์ออกไซด์จากบริษัทเมอร์ค (รูปที่ 4.12 a-b)

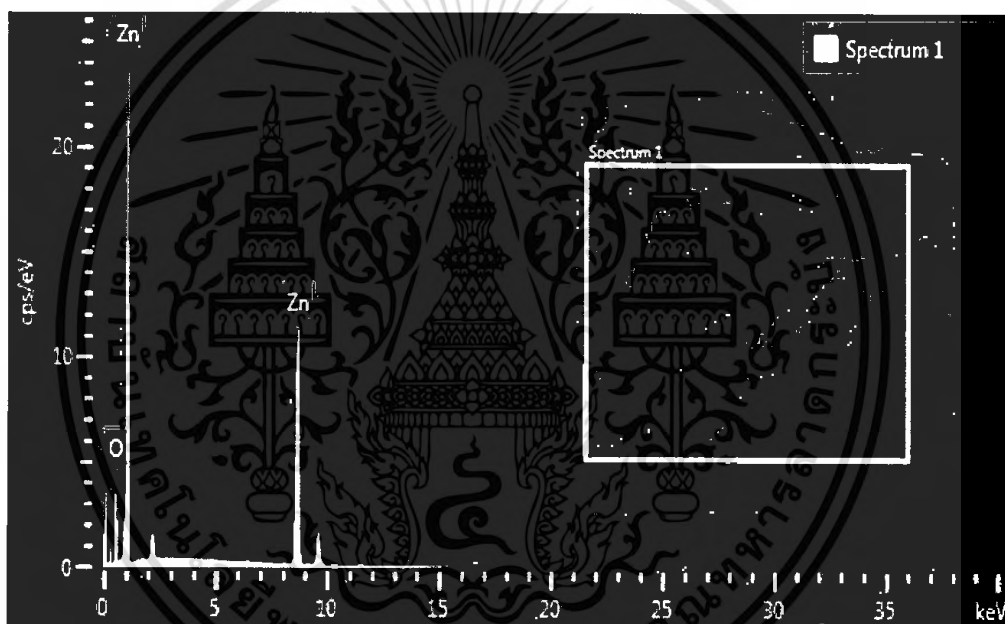


รูปที่ 4.12 อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่กำลังขยาย 50,000 เท่า ด้วยกล้อง SEM (a) ซิงค์ออกไซด์จากบริษัทเมอร์ค (b) สารสกัดจาก *Scenedesmus* sp. G16/61

อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัด *Scenedesmus* sp. G16/61 มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้งแกรมบวกได้ดีและแกรมลบได้ดีที่สุด (ตารางที่ 4.1) มีรูปร่างกลมและขนาดเล็กกว่าสารสกัดจาก *Chlorella* sp. G2/61 ซึ่งมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแกรมบวก มีขนาดใหญ่กว่าและรูปร่างเหลี่ยม สอดคล้องกับผลการทดลองของ Raghupathi และคณะ (2011) รายงานว่าอนุภาคนาโนที่มีขนาดเล็กกว่าจะเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียได้ดีกว่าขนาดใหญ่ เจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุด้วยสเปกโทรเมตรีรังสีเอ็กซ์แบบกระจายพลังงาน

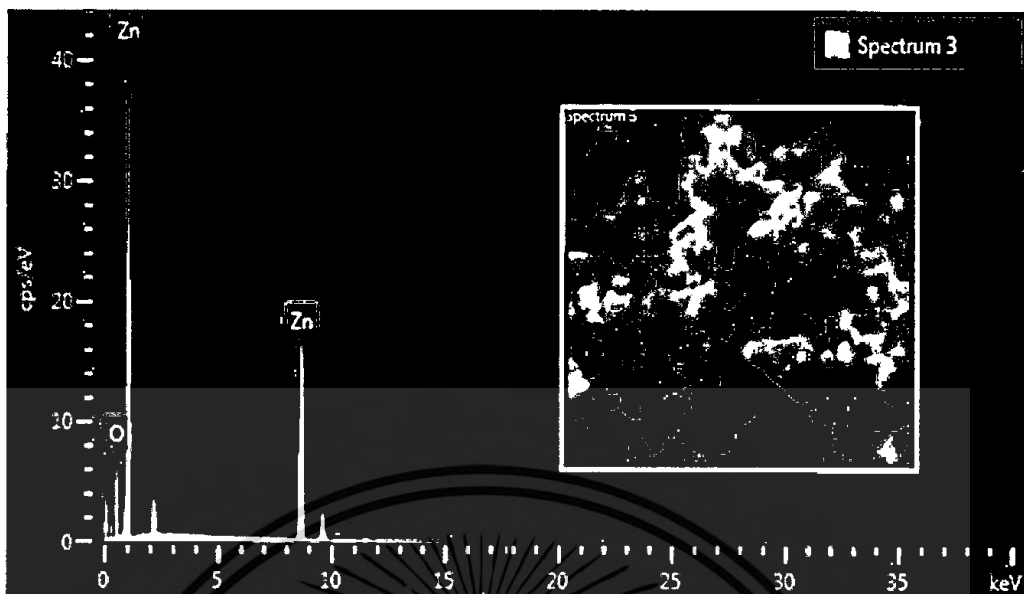
การวิเคราะห์ธาตุที่เป็นองค์ประกอบอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดจาก *Scenedesmus* sp. G16/61 ด้วยการวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุแบบ EDS พบว่าเกิดพีครังสีเอ็กซ์ขึ้นที่พลังงานของรังสีช่วง 0-2 และ 8 กิโลอิเล็กตรอนโวลต์ ซึ่งมีองค์ประกอบของซิงค์ (Zn) และ ออกซิเจน (O) เป็นองค์ประกอบ (รูปที่ 4.13) เมื่อทำการเปรียบเทียบกับซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดจาก *Scenedesmus* sp. G16/61 กับเคมีภัณฑ์ซิงค์ออกไซด์จากบริษัทเมอร์ค พบว่าเกิดพีครังสีเอ็กซ์ขึ้นที่พลังงานของรังสีช่วง 0-2 และ 8 กิโลอิเล็กตรอนโวลต์ พีคที่รังสีเอ็กซ์ที่เกิดขึ้นมีการปล่อยพลังงานที่เท่ากัน (รูปที่ 4.14) จึงสามารถยืนยันว่าสารที่สังเคราะห์ได้จากสารสกัดด้วยน้ำจากสาหร่าย *Scenedesmus* sp. G16/61 เป็นอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน



รูปที่ 4.13 การวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุแบบ EDS ของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดจาก *Scenedesmus* sp. เกิดพีครังสีเอ็กซ์ที่พลังงานของรังสีช่วง 0-2 และ 8 กิโลอิเล็กตรอนโวลต์

นอกจากนี้ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Chaudhuri และ Malodia (2017) รายงานว่าการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากดอกกรัก (*Calotropis gigantea*) พบว่าเกิดพีครังสีเอ็กซ์ขึ้นที่พลังงานของรังสีช่วง 0-2 และ 8 กิโลอิเล็กตรอนโวลต์ และการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนโดยวิธีการทางเคมีจากการทดลองของ Keerthika และคณะ (2018) พบว่าเกิดพีครังสีเอ็กซ์ขึ้นที่พลังงานของรังสีช่วง 0-2 และ 8 กิโลอิเล็กตรอนโวลต์ และพบซิงค์และออกซิเจนเป็นองค์ประกอบเช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

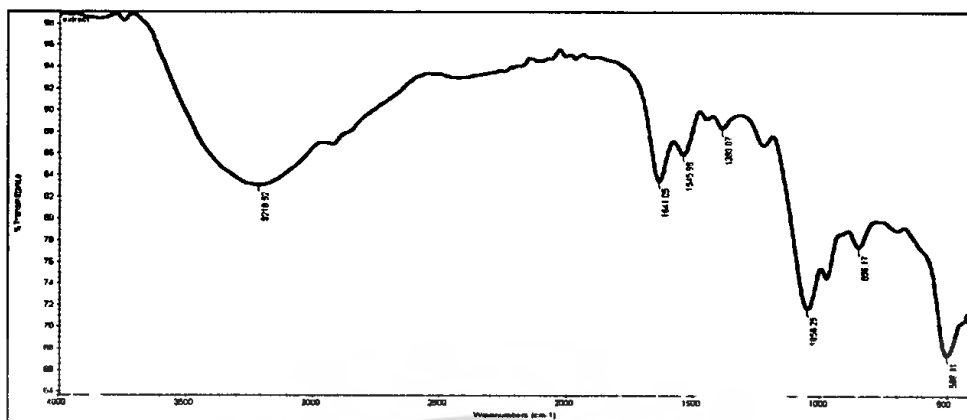


รูปที่ 4.14 การวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุแบบ EDS ของเคมีภัณฑ์ซิงค์ออกไซด์จากบริษัทเมอร์ค
เกิดพีคซิงค์ที่พลังงานของรังสีช่วง 0-2 และ 8 กิโลอิเล็กตรอนโวลต์

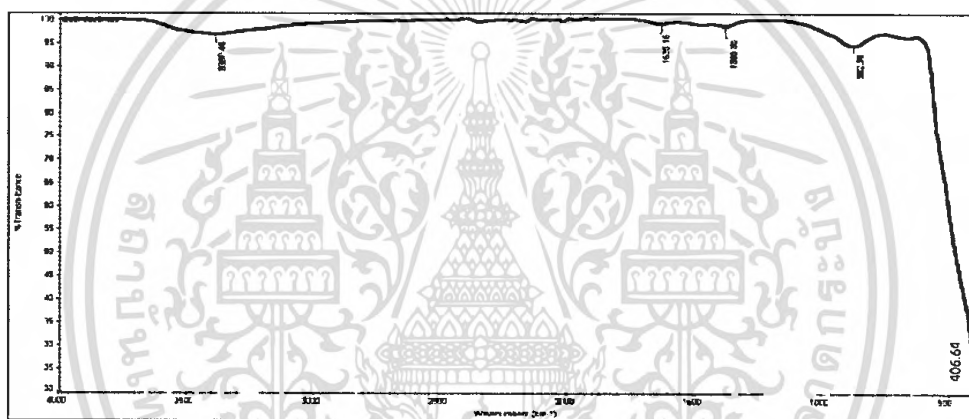
4.5.3 เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดจาก *Scenedesmus sp.* G16/61 ด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี โมเลกุลจะได้รับพลังงานจากคลื่นรังสีอินฟราเรด เมื่อมีความถี่ตรงกันจะเกิดการดูดกลืนแสงเกิดเป็นพีคสเปกตรัมขึ้น วิเคราะห์สเปกตรัมในช่วง 4,000 - 400 ต่อเซนติเมตร พันธะของแต่ละหมู่ฟังก์ชันจะแสดงค่าความยาวที่แตกต่างกัน ผลการวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันพบว่าสารสกัดด้วยน้ำจาก *Scenedesmus sp.* G16/61 มีการดูดกลืนสเปกตรัมที่ 3218.52, 1641.05, 1545.98, 1393.07, 1056.25, 856.17, 508.11 และ 406.17 ค่าเปอร์เซ็นต์การส่องผ่านแสง (% Transmittance) เท่ากับ 67 โดยการดูดกลืนสเปกตรัมที่ 3218.52, 1641.05 และ 1545.98 ต่อเซนติเมตร บ่งชี้ได้ว่าสารสกัดด้วยน้ำจาก *Scenedesmus sp.* G16/61 เป็นกลุ่ม aliphatic secondary amine (รูปที่ 4.15) เป็นลักษณะการดูดกลืนของพันธะ N-H อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดจาก *Scenedesmus sp.* G16/61 มีการดูดกลืนสเปกตรัมที่ 3390.46, 1635.16, 1385.35, 882.96 และ 406.64 ต่อเซนติเมตร โดยการดูดกลืนสเปกตรัมที่ 3390.46 ต่อเซนติเมตร เป็นลักษณะการดูดกลืนของพันธะ O-H การดูดกลืนสเปกตรัมที่ 1635.16 ต่อเซนติเมตร เป็นลักษณะการดูดกลืนของพันธะ C-H การดูดกลืนสเปกตรัมที่ 1385.35 ต่อเซนติเมตร เป็นลักษณะการดูดกลืนของพันธะ C-O และสเปกตรัมแสดงจุดสูงสุดที่ 406.64 ต่อเซนติเมตร เป็นลักษณะการดูดกลืนของพันธะ Zn-O ค่าเปอร์เซ็นต์การส่องผ่านแสง เท่ากับ 25 (รูปที่ 4.16)

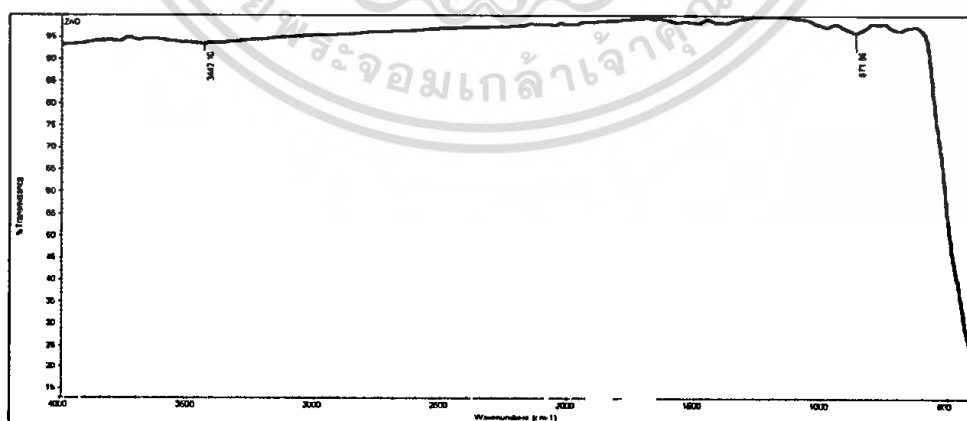
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่แจ้งความ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.15 การวิเคราะห์ FT-IR ของสารสกัดด้วยน้ำจาก *Scenedesmus* sp. G16/61



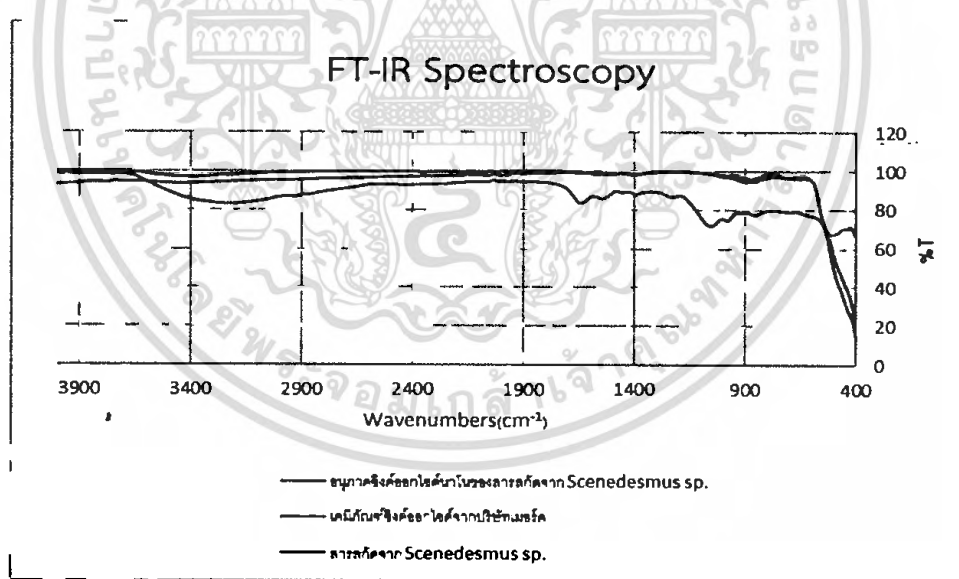
รูปที่ 4.16 การวิเคราะห์ FT-IR ของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดจาก *Scenedesmus* sp. G16/61



รูปที่ 4.17 การวิเคราะห์ FT-IR ของเคมีภัณฑ์ซิงค์ออกไซด์จากบริษัทเมอร์ค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของสารสกัดจาก *Scenedesmus* sp. G16/61 กับเคมีภัณฑ์ซิงค์ออกไซด์จากบริษัทเมอร์คสอดคล้องกัน (รูปที่ 4.18) เนื่องจากเคมีภัณฑ์ซิงค์ออกไซด์จากบริษัทเมอร์คมีการดูดกลืนสเปกตรัมที่ 3442.10, 871.89 และ 401 ต่อเซนติเมตร โดยการดูดกลืนสเปกตรัมที่ 3442.10 ต่อเซนติเมตร เป็นลักษณะการดูดกลืนของพันธะ O-H การดูดกลืนสเปกตรัมที่ 871.89 ต่อเซนติเมตร เป็นลักษณะการดูดกลืนของพันธะ C-H การดูดกลืนสเปกตรัมที่ 1385.35 ต่อเซนติเมตร เป็นลักษณะการดูดกลืนของพันธะ C-O และสเปกตรัมแสดงจุดสูงสุดที่ 401 ต่อเซนติเมตร เป็นลักษณะการดูดกลืนของพันธะ Zn-O ค่าเปอร์เซ็นต์การส่องผ่านแสง เท่ากับ 10 (รูปที่ 4.17) บ่งชี้ได้ว่าเป็นกลุ่ม aliphatic carboxylic acid ซึ่งคล้ายคลึงกับ Keerthika และ คณะ (2018) รายงานว่าในการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนทางเคมีสเปกตรัมแสดงจุดสูงสุดที่ 402.0 ต่อเซนติเมตร เป็นลักษณะของพันธะ Zn-O และต่อเซนติเมตร 3459.6 ต่อเซนติเมตร เป็นลักษณะของพันธะ O-H และ Ishwarya และคณะ (2018) รายงานว่าการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากสาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva lactuca*) คาดว่าสเปกตรัมแสดงจุดสูงสุดที่ 420.0 ต่อเซนติเมตร เป็นลักษณะของพันธะ Zn-O

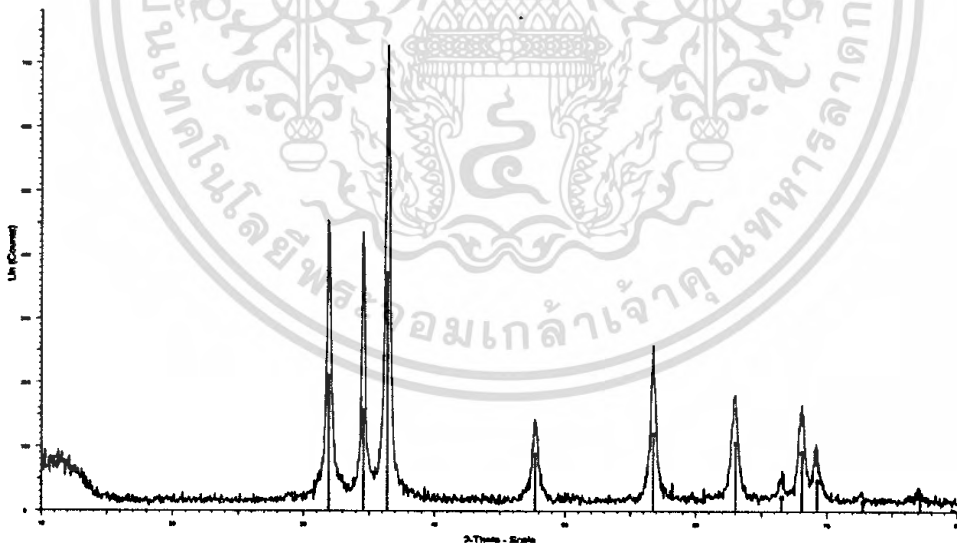


รูปที่ 4.18 การวิเคราะห์ FT-IR (—) อนุภาคซิงค์ออกไซด์ของสารสกัดจาก *Scenedesmus* sp. G16/61 (---) เคมีภัณฑ์ซิงค์ออกไซด์จากบริษัทเมอร์ค (· · ·) สารสกัดจาก *Scenedesmus* sp. G16/61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.4 การวิเคราะห์โครงสร้างผลึกโดยใช้เทคนิคเทคนิคเอกซเรย์ดิฟแฟรกชัน

การวิเคราะห์โครงสร้างผลึกของของสารสกัดจาก *Scenedesmus* sp. G16/61 ด้วยเทคนิคเทคนิคเอกซเรย์ดิฟแฟรกชัน ผลการทดลองพบว่ามุมของการเลี้ยวเบนที่ 31.840° , 34.503° , 36.337° , 47.653° , 56.731° , 63.016° , 66.514° , 68.120° , 69.261° , 72.759° , 77.162° , 81.610° และ 89.868° สอดคล้องกับระนาบคริสตัล (1 0 0), (0 0 2), (1 0 1), (1 0 2), (1 0 2), (1 1 0), (1 0 3), (2 0 0), (1 1 2), (2 0 1), (0 0 4), (2 0 2), (1 0 4) และ (2 0 3) ตามลำดับ โครงสร้างผลึกแบบหกเหลี่ยม (hexagonal) น้ำหนักมวลโมเลกุลเท่ากับ 81.38 เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานของซิงค์ออกไซด์พบว่ามุมการเลี้ยวเบนตรงกัน (รูปที่ 4.19) ซึ่งสอดคล้องกับ Król และคณะ (2017) รายงานว่าการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากต้นหยีน้ำ (*Pongamia pinnata*) มุมของการเลี้ยวเบนที่ 32° , 34° , 36° , 47° , 57° , 63° , 67° , 68° , 69° , 73° และ 77° สอดคล้องกับระนาบคริสตัล (1 0 0), (0 0 2), (1 0 1), (0 1 2), (1 1 0), (0 1 3), (2 0 0), (1 1 2), (0 0 4) และ (2 0 2) ตามลำดับ และ Ishwarya และคณะ (2018) รายงานว่าการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากสาหร่ายผักกาดทะเล (*Ulva lactuca*) มุมของการเลี้ยวเบนที่ 31.6° , 34.35° , 36.2° , 47.5° , 56.4° , 62.8° , 68.9° สอดคล้องกับระนาบคริสตัล (1 0 0), (0 0 2), (1 0 1), (1 0 2), (1 1 0), (1 0 3) และ (2 0 0) ตามลำดับ



รูปที่ 4.19 การวิเคราะห์ XRD ของสารสกัดจาก *Scenedesmus* sp. G16/61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

1. สาหร่ายที่คัดแยกได้จำนวน 8 สายพันธุ์ ได้แก่ *Ankistrodesmus* sp. G15/61, *Athrospira* sp. B1/61, *Chlorella* sp. G2/61, *Chlorella* sp. G6/61, *Cylindrocystis* sp. G12/61, *Klebsormidium* sp. G8/61, *Scenedesmus* sp. G4/61, *Scenedesmus* sp. G16/61 ผลการเจริญพบว่า *Scenedesmus* sp. G16/61 เจริญดีที่สุดใน ร่องลงมาคือ *Scenedesmus* sp. G4/61 และ *Chlorella* sp. G2/61

2. ผลของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก พบว่าผลวิเคราะห์การทะลุผ่านของแสงด้วยเครื่องยูวีวิซิเบิลสเปกโตรสโคปีของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กทั้งหมด 8 สายพันธุ์ โดยใช้ช่วงความยาวคลื่นที่ 200 ถึง 600 นาโนเมตร พบว่าส่วนใหญ่มีค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 290 นาโนเมตรและเมื่อสิ้นสุดการทดลองพีคค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 360 นาโนเมตร

3. ผลการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากสาหร่ายขนาดเล็กทั้งหมด 8 สายพันธุ์ พบว่าสารสกัดเริ่มต้นมีลักษณะเป็นสารละลายใสเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสีขาวขุ่น และเกิดการตกตะกอนสีขาวบริเวณก้นขวด เมื่อนำตะกอนไปทำให้แห้งจะได้ผงสีขาวเนื้อละเอียด

4. ผลการทดสอบอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนต่อการต้านแบคทีเรียทั้งหมด 8 สายพันธุ์ พบว่ายาปฏิชีวนะคลินดามัยซินมีฤทธิ์การต้านแบคทีเรียมากที่สุด ร่องลงมาเป็นอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่สังเคราะห์ขึ้นจาก *Scenedesmus* sp. G16/61 มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ดีที่สุด สารสกัดด้วยน้ำจากสาหร่ายขนาดเล็กสามารถต้านแบคทีเรียได้น้อยที่สุด

5. การวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด พบว่าอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนของ *Scenedesmus* sp. G16/61 มีรูปร่างทรงกลมขนาดเล็กเกาะติดกัน

6. การวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุด้วยสเปกโตรเมตรีรังสีเอ็กซ์แบบกระจายพลังงานของ *Scenedesmus* sp. G16/61 พบว่ามีองค์ประกอบของซิงค์ (Zn) และออกซิเจน (O)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีของ *Scenedesmus* sp. G16/61 พบสเปกตรัมแสดงจุดสูงสุดที่ 406.64 ต่อเซนติเมตร เป็นลักษณะการดูดกลืนของพันธะ Zn-O

8. การวิเคราะห์โครงสร้างผลึกด้วยเทคนิคเทคนิคเอกซเรย์ดิฟแฟรคชันของ *Scenedesmus* sp. G16/61 พบว่ามุมของการเลี้ยวเบนที่ 31.840° , 34.503° , 36.337° , 47.653° , 56.731° , 63.016° , 66.514° , 68.120° , 69.261° , 72.759° , 77.162° , 81.610° และ 89.868° สอดคล้องกับระนาบคริสตัล (1 0 0), (0 0 2), (1 0 1), (1 0 2), (1 0 2), (1 1 0), (1 0 3), (2 0 0), (1 1 2), (2 0 1), (0 0 4), (2 0 2), (1 0 4) และ (2 0 3) ตามลำดับ โครงสร้างผลึกแบบหกเหลี่ยม (hexagonal) น้ำหนักมวลโมเลกุลเท่ากับ 81.38

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรพัฒนาการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน โดยนำชีวมวลหรือสารสีมาศึกษาความสามารถในการสังเคราะห์อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพและคุณสมบัติของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนที่ทำการสังเคราะห์ขึ้น
2. ควรทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ เพื่อพัฒนาอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโนจากสาหร่ายเป็นผลิตภัณฑ์ เช่น ครีมกันแดดผสมอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน สีทาบ้านผสมอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน
3. ควรตรวจสอบลักษณะของอนุภาคซิงค์นาโนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (transmission electron microscope; TEM) เพื่อศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับโครงสร้างของขนาดและรูปร่างที่ชัดเจนขึ้น เนื่องจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดสามารถตรวจสอบได้แค่พื้นผิวภายนอกของอนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- ยวดี พิรพรพิศาล. 2549. สาหร่ายวิทยา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย
เชียงใหม่.เชียงใหม่
- ลัดดา วงศ์รัตน์. 2544. แพลงค์ตอนพืช (Phytoplankton). ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ
- ดวงกมล เรืองงาม. 2557. สภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus armatus*
และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารที่สกัด. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม
12 (1): 59-70.
- วรางคณา อนุชิตโอฬาร. 2546. FT-IR Imaging. วารสารเทคโนโลยีและวัสดุ. 33:67-70.
- วันเพ็ญ ภูติจันทร์. 2549. วิทยาสาหร่าย. โอ เอส พรีนติ้ง เฮาส์, กรุงเทพฯ
- วิภรณ์ กรองทอง. 2559. รู้จักอุปกรณ์ตรวจจับสัญญาณในกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ
สแกนนิ่ง. วารสารเทคโนโลยีและวัสดุ. 83:11-18.
- วีณา ชูโชติ. 2561. ปฏิบัติการสาหร่ายวิทยา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยี
พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.กรุงเทพฯ
- วีณา ชูโชติ, กิตติคุณ สุกันโธวงศ์, ธนียา แซ่โอ้ว และสันติสุข ขวัญศิริวิช. 2557. การคัดเลือก
สายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่มีปริมาณไขมันสูง. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง.
8(1):84-92.
- ศิวาพร ศิวาเวช. 2542. การสุขาภิบาลโรงงานอุตสาหกรรมอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยีการอาหารคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- สุนิสา ฉัตรสุระชัย, อัศวิน มีชัย, กัลยาณี ไพฑูรย์รังสฤษดิ์, มารศรี เรืองจิตซ์ชาวลย์,
สุภาภรณ์ ชิวะธนรักษ์ และ ศักรินทร์ ภูมิรัตน์. 2549. ผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมของ
สาหร่าย *Spirulina platensis*. *The 18th Annual Meeting of the Thai Society
For Biotechnology Biotechnology :Benefits&Bioethics, 2-3 พฤศจิกายน
2549*. โรงแรมมนเทียร ริเวอร์ไซด์, กรุงเทพฯ. 211.
- อาภารัตน์ มหาจันทร์. 2539. สารพิษจากสาหร่ายในแหล่งน้ำ. วารสารวิทยาศาสตร์
และเทคโนโลยี. 13(2):9-12.
- อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์. 2531. เทคนิคทางกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเบื้องต้น. ศูนย์เครื่องมือ
วิทยาศาสตร์กลางบางเขน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 74.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Agarwal, H., Kumar, S.V., Rajeshkumar, S. 2017. A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles and ecofriendly approach. *Resource-Efficient Technologies*. 3:406–413.
- Azizi, S., Ahmad, M., Namvar, F. and Mohamad, R. 2014. Green biosynthesis and characterization of Zinc Oxide nanoparticles using brown marine macroalga *Sargassum muticum* aqueous extract. *Materials Letters*. 116:275–277.
- Bajpaia, S. K., Jadauna, M. and Tiwari, S. 2016. Synthesis, characterization and antimicrobial applications of zinc oxide nanoparticles loaded gum acacia/poly(SA) hydrogels. *Carbohydrate Polymers*. 153:60–65.
- Balaji, D. S., Basavaraja, S., Bedre, M. D., Prabhakar, B. K. and Venkataraman A. 2011. Biosynthesis of silver nanoparticles by fungus *Trichoderma reesei*. *Insicences Journal*. 1(1):65-79.
- Chaudhuri, S.K. and Malodia, L. 2017. Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using leaf extract of *Calotropis gigantea* : characterization and its evaluation on tree seedling growth in nursery stage. *Applied Nanoscience*. 7(8):501–512.
- Doyle, M.P. 1991. *Escherichia coli* O157: H7 and its significance in foods. *International Journal of Food Microbiology*. 289-301.
- Eustis, S. and El-Sayed, M.A. 2006. Why gold nanoparticles are more precious than pretty gold: noble metal surface plasmon resonance and its enhancement of the radiative and nonradiative properties of nanocrystals of different shapes. *Chemical Society Reviews*. 35 (3):209-17.
- Ishwaryaa, R., Vaseeharana, B., Kalyania, S., Banumathia, B., Govindarajanb, M., Alharbid, N.S., Kadaikunnand, S., Al-anbrd, M.N., Khaledd, J. M. and Benellie, G. 2018. Facile green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Ulva lactuca* seaweed extract and evaluation of their photocatalytic, antibiofilm and insecticidal activity. *Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology* 178: 249–258.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Jayarambabu, N., Sivakumari, B. and Prabhu, Y.T. 2014. Germination and growth characteristics of mung bean seeds affected by synthesized zinc oxide nanoparticles. *International Journal of Current Engineering and Technology*. 5:3411–3416.
- Jayaseelan, C., Rahuman, A., Kirthi, A.V., Marimuthu, S., Santhoshkumar, T., Bagavan, A., Gauravb, K., Karthikb, L., Bhaskararao, K.V. 2012. Novel microbial route to synthesize ZnO nanoparticles using *Aeromonas hydrophila* and their activity against pathogenic bacteria and fungi. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 90:78–84.
- Jiang, J., Pi, J. and Cai, J. 2018. The advancing of Zinc Oxide nanoparticles for biomedical applications. *Bioinorganic Chemistry and Applications*. 3 :1-18.
- Karvani, Z.E. and Chehrazi, P. 2011. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle on gram-positive and gram-negative bacteria. *African Journal of Microbiology Research*. 5(12):1368-1372.
- Keerthika, V., Ananth, A. and Rajan, M.R. 2018. Synthesis, characterization and antibacterial activity of Zinc Oxide Nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Technology*. 4:439–442.
- Khatami, M., Alijani, H. Q., Heli, H. and Sharific, I. 2018. Rectangular shaped Zinc oxide nanoparticles: Green synthesis by Stevia and its biomedical efficiency. *Ceramics International*. 44:15596–15602.
- Król, A., Pomastowski, P., Rafinska, K., Railean-Plugaru, V. and Buszewski, B. 2017. Zinc oxide nanoparticles: Synthesis, antiseptic activity and toxicity mechanism. *Advances in Colloid and Interface Science*. 249:37–52.
- Lee, R. E. 2008. *Phycology*. Colorado State University: USA.
- Lou, D. and Audebrand, N. 1997. Profile fitting and diffraction line-broadening analysis. *Advances in X-ray Diffraction*. 39-41.
- Morkoç, H., and Ozgür, U. 2009. *Zinc Oxide: Fundamentals, Materials and Device Technology*. Weinheim: Germany.
- Nafchi, A. M., Nassiri, R., Sheibani, S., Ariffin, F., and Karim, A. A. 2013. *Preparation and*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- characterization of bionanocomposite films filled with nanorod-rich zinc oxide. *Carbohydrate Polymers*. 96 2:33-239.
- Nagarajan, S. and Kuppusamy, K.A. 2013. Extracellular synthesis of zinc oxide nanoparticle using seaweeds of gulf of Mannar, India. *Journal of Nanobiotechnology*. 11:39.
- Padmavathy, N., and Vijayaraghavan, R. 2008. Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles an antimicrobial study. *Science and Technology of Advanced Materials*. 9:1-7.
- Priest, F. G. and Austin, B. 1993. *Modern Bacterial Taxonomy Second Edition*. Chapman and Hall: England.
- Radzimska, A.K. and Jesionowski, T. 2014. Zinc Oxide from synthesis to application : a review. *Materials*. 7(4):2833-2881.
- Raghupathi, K.R., Koodali, R.T. and Manna, A.C. 2011. Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles. *Langmuir*. 27(7):4020-4028.
- Rao, M.D. and Gautam, P. 2016. Synthesis and characterization of ZnO nanoflowers using *Chlamydomonas reinhardtii* : a green approach. *Environmental Progress and Sustainable Energy*. 5:1020-1026.
- Schroeder, C.M., Zhao, C., Debroy, C., Torcolini, J., Zhao, S., White D.G., Wagner, D.D., Mcdermott P.F., Walker R.D. and Meng J. 2002. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from humans, cattle, swine, and food. *Applied Environmental Microbiology*. 68(2):576-81.
- Selvam,S., Rajiv, R., Gandhi, Suresh, J., Gowri, S., Ravikumar, S. and Sundrarajan, M. 2012. Antibacterial effect of novel synthesized sulfated β -cyclodextrin crosslinked cotton fabric and its improved antibacterial activities with ZnO, TiO₂ and Ag nanoparticles coating. *International Journal of Pharmaceutics*. 434:366-374.
- Shahid, S., Khan, S. A., Ahmad, W., Fatima U. and Knawal, S. 2018. Size-dependent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- bacterial Growth Inhibition and antibacterial activity of Ag-doped ZnO Nanoparticles under different atmospheric conditions. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 80(1):173-180.
- Sintubin, L., Verstraete, W., and Boon, N. 2012. **Biologically produced nanosilver: current state and future perspectives**. *Biotechnology and Bioengineering*. 109 (10):2422-2436.
- Solmaz, D.M., Farzaneh, L., Mohammad, B.J., Mohammad, Z.H., and Khosro, A. 2014. **Antimicrobial activity of metal and metal oxide nanoparticles**. *Materials Science and Engineering*. 44:278-284.
- Venkatesan, A., Prabakaran, R. and Sujatha, V. 2017. **Phytoextract-mediated synthesis of zinc oxide nanoparticles using aqueous leaves extract of *Ipomoea pes-caprae* (L). R. br revealing its biological properties and photocatalytic activity**. *Nanotechnology for Environmental Engineering*. 2(1):2-8.
- Vijayakumar, S., Krishnakumar, C., Arulmozhi, P., Mahadevan, S., Parameswari, N. 2018. **Biosynthesis, characterization and antimicrobial activities of zinc oxide nanoparticles from leaf extract of *Glycosmis pentaphylla* (Retz.) DC**. *Microbial Pathogenesis*. 116:44-48.
- Wang, B., Feng, W., Wang, M., Wang, T., Gu, Y., Zhu, M., Ouyang, H., Shi, J., Zhang, F., Zhao, Y., Chai, Z, Wang, H. and Wang, J. 2008. **Acute toxicological impact of nano and submicro-scaled zinc oxide powder on healthy adult mice**. *Journal of Nano Research*. 10(2):263-276.
- Xu, W.G., Liu, S.F., Kang, S.Y., Zhou, Y. and Zhang, H.F. 2010. **Photocatalytic degradation in aqueous solution using quantum-sized ZnO particles supported on sepiolite**. *Journal of Colloid and Interface Science*. 351:210-216.
- Xue, C.H., Chen J., Yin, W., Jia, S.T. and Ma, J.Z. 2010. **Superhydrophobic Conductive textiles with antibacterial property by coating fibers with silver nanoparticles**. *Applied Surface Science*. 258:2468-2472.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yousef, J.M. and Danial, E.N. 2012. *In vitro* antibacterial activity and minimum inhibitory concentration of zinc oxide and nano-particle zinc oxide against pathogenic strains. *Journal of Health Sciences*. 2(4): 38-42.

Zain, M.E., Awaad, A.S., Al-Outhman, M.R. and El-Meligy, R.M., 2012. Antimicrobial activities of *Saudi Arabian* desert plants. *Phytopharmacology*. 2 (1):106-113.

ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง. 2019. โครงสร้างของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสองกราด. [Online]. Available :<https://stic.mfu.ac.th/stic-analysis-tools/stic-tool-detail/20.html>. เข้าถึงเมื่อ 5 มิถุนายน 2562

สถาบันวิจัยแสงซินโครตรอน (องค์การมหาชน) กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2018. เครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรคโตมิเตอร์. [Online]. Available :<https://www.slri.or.th/bdd/th/22-บริการเครื่องมือวิทยาศาสตร์/71-x-ray-iffractionmeter-xrd.html>. เข้าถึงเมื่อ 5 มิถุนายน 2562

Baker, A.L.. 2017. *Chlorella* sp. [Online]. Available :http://cfb.unh.edu/phycokey/Choices/Chlorophyceae/unicells/non_flagellated/CHLORELLA/Chlorella_Image_page.htm. Accessed 10 June 2019

Biophysical society. 2019. *Escherichia coli*. [Online]. Available :<https://www.eurekalert.org/multimedia/pub/86125.php>. Accessed 10 June 2019

Culture Collection of Baltic Algae. 2016. *Ankistrodesmus* sp. [Online]. Available :https://ccba.ug.edu.pl/pages/en/collection-review.php?section_id=258&page=1&pochodzenie=all&klasa=4&rodzaj=6&gatunek=82&symbol=all Accessed 10 June 2019

Mijn naam. 2016. *Cylindrocystis* sp. [Online]. Available : http://www.sieralgen.nl/?page_id=10121. Accessed 10 June 2019

Public Health Image Library. 2016. *Staphylococcus aureus*. [Online]. Available : <http://www.bacteriainphotos.com/Staphylococcus%20aureus%20electron%20microscopy.html>. Accessed 10 June 2019

Sci-Ins @KMITL. 2019. Fourier-transform infrared spectroscopy. [Online]. Available : <http://sciins.science.kmitl.ac.th/instrumentDetail/6-ft-ir-fourier-transform-infrared-spectrometer>. Accessed 10 June 2019

Sinclair Stammers. 2018. *Arthrospira* sp. [Online]. Available :

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<https://fineartamerica.com/featured/spirulina-cyanobacteria-sinclair-stammersscience-photo-library.html>. Accessed 10 June 2019

Soken Taxa. 2017. *Klebsormidium* sp. [Online]. Available :<http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Klebsormidium/flaccidum/flaccidum.html>. Accessed 10 June 2019

Soken Taxa. 2017. *Scenedesmus* sp. [Online]. Available :<http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Scenedesmus/quadricauda/quadricauda10.jpg>. Accessed 10 June 2019



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเพาะ (Culture media)

ตารางที่ ก-1 อาหารสูตร Bold's Basal Medium (BBM)

สารอาหารหลัก (Macroelements)	กรัม
NaNO ₃	10
CaCl ₂ ·2H ₂ O	1
MgSO ₄ ·7H ₂ O	3
K ₂ HPO ₄	3
KH ₂ PO ₄	7
NaCl	1
นำเกลือแต่ละชนิดละลายลงในน้ำกลั่น	400 มิลลิลิตร
สารอาหารที่จำเป็น (Trace elements)	
ก. EDTA Stock	
- EDTA	50
- KOH 85%	31
ทั้งหมดละลายลงในน้ำกลั่น	1 ลิตร
ข. H-Fe Stock	
- FeSO ₄ ·7H ₂ O	4.98
ละลายในสารละลาย 0.1% ของ H ₂ SO ₄	1 ลิตร
ค. Baron Stock	
- H ₃ BO ₃	11.42
ละลายลงในน้ำกลั่น	1 ลิตร
ง. H-H5 Stock	
- ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.82
- MoO ₃	0.71
- [Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O]	0.49
- (MnCl ₂ ·4H ₂ O)	1.44
- (CuSO ₄ ·5H ₂ O)	1.57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารอาหารที่จำเป็น (Trace elements)	
จ. EDTA Stock	
- EDTA	50
- KOH 85%	31
ทั้งหมดละลายลงในน้ำกลั่น	1 ลิตร
ฉ. H-Fe Stock	
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4.98
ละลายในสารละลาย 0.1% ของ H_2SO_4	1 ลิตร
ช. Baron Stock	
- H_3BO_3	11.42
ละลายลงในน้ำกลั่น	1 ลิตร
ซ. H-H5 Stock	
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.82
- MoO_3	0.71
- $[\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$	0.49
- $(\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$	1.44
- $(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O})$	1.57
ละลายในสารละลาย 0.1% ของ H_2SO_4	1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก-2 อาหารสูตร Zarrouk's medium

สารอาหารหลัก (Macroelements)	กรัมต่อลิตร
NaHCO ₃	16.80
K ₂ HPO ₄	0.50
NaNO ₃	2.50
K ₂ SO ₄	1.00
NaCl	1.00
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.20
CaCl ₂	0.04
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	0.08
*ละลายส่วนผสมดังกล่าวให้เข้ากันโดยควรละลายเกลือฟอสเฟตเป็นอันดับสุดท้าย.	
สารอาหารรอง (Microelements)	กรัมต่อลิตร
NaHCO ₃	16.80
K ₂ HPO ₄	0.50
NaNO ₃	2.50
K ₂ SO ₄	1.00
NaCl	1.00
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.20
CaCl ₂	0.04
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	0.08

อาหารที่เตรียมเสร็จใหม่ ๆ ภายหลังการฆ่าเชื้อแล้วควรมีค่า pH อยู่ในช่วง 11-12

ตารางที่ ก-3 อาหารสูตร Nutrient agar (NA)

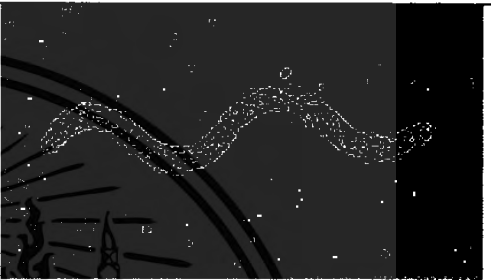

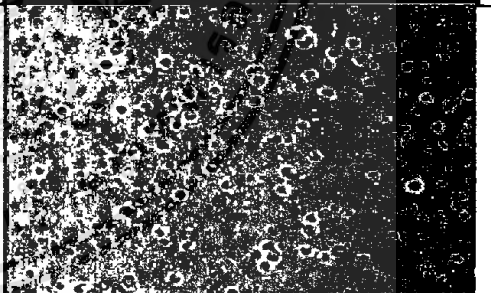

สารอาหาร	กรัมต่อลิตร
Peptone	5.00
Beef extract	3.00
Agar	15.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

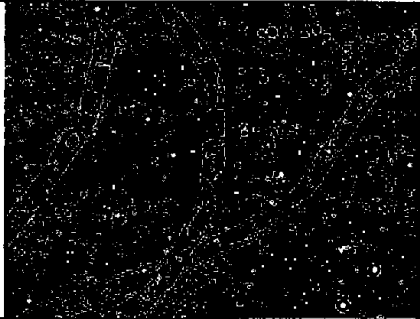
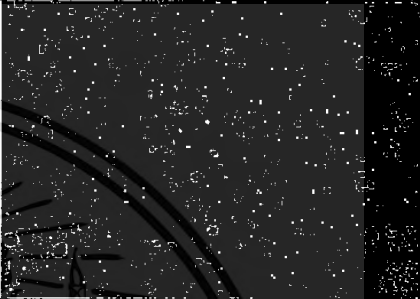


ตารางแสดงผลการทดลอง

ตารางที่ ข-1 แสดงรายชื่อสาหร่ายที่พบในแหล่งน้ำต่างๆ

ลำดับ	สายพันธุ์สาหร่าย	แหล่งที่พบ	วันที่เก็บตัวอย่างน้ำ	รูปกำลังขยาย 1000 เท่า
1	<i>Arthrospira</i> sp. B1/61	สวนพระนคร เขตลาดกระบัง	5/9/61	
2	<i>Chlorella</i> sp. G2/61	คูน้ำหน้าบริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย)	4/10/61	
3	<i>Chlorella</i> sp. G6/61	ทางเดินข้างตึกจุฬา ภรณ์ฯ 1	17/9/61	
4	<i>Cylindrocystis</i> sp. G12/61	หอพักริมสวน ปาร์ค ซอยริมสวน พระนคร เขต ลาดกระบัง	25/9/61	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-1 (ต่อ) แสดงรายชื่อสาหร่ายที่พบในแหล่งน้ำต่างๆ

5	<i>Klebsormidium</i> sp. G8/61	ทางเดินข้างตึก จุฬารณีย์ 1	17/9/61	
6	<i>Ankistrodesmus</i> sp. G15/61	สระน้ำข้างตึก คณะ สถาปัตยกรรม สงล.	13/11/61	
7	<i>Scenedesmus</i> sp. G4/61	สระน้ำหน้าคณะ ครุศาสตร์ อุตสาหกรรม สงล.	17/9/61	
8	<i>Scenedesmus</i> sp. G16/61	ตึกสมเด็จพระเทพ ฯ สงล.	13/11/61	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-2 ผลการศึกษาระยะเวลาเจริญของสาหร่าย

ตารางที่ ข-2.1 แสดงระยะเวลาเจริญของสาหร่าย *Arthrospira* sp. B1/61

เวลา(วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.073	0.079	0.083	0.078	1×10^5	1×10^5	1×10^5	1×10^5	0.0554	0.0597	0.0524	0.0558
2	0.087	0.087	0.088	0.087	2×10^5	3×10^5	2×10^5	2.33×10^5	0.0645	0.0652	0.0557	0.0618
4	0.102	0.098	0.101	0.100	3×10^5	2.5×10^5	3×10^5	2.83×10^5	0.1734	0.1543	0.1692	0.1656
6	0.173	0.176	0.177	0.175	2.5×10^5	3×10^5	3.5×10^5	3×10^5	0.1898	0.1973	0.1791	0.1887
8	0.193	0.192	0.193	0.193	2.5×10^5	3×10^5	4×10^5	3.33×10^5	0.2300	0.2201	0.1924	0.2142
10	0.349	0.344	0.323	0.339	4×10^5	3.5×10^5	4×10^5	3.83×10^5	0.2483	0.2225	0.2367	0.2358
12	0.480	0.482	0.484	0.482	4.5×10^5	5.5×10^5	4×10^5	4.67×10^5	0.2465	0.2494	0.2502	0.2487
14	0.555	0.553	0.557	0.556	7.5×10^5	$5. \times 10^5$	6×10^5	6.17×10^5	0.2498	0.2512	0.2519	0.2510

ตารางที่ ข-2.2 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. G2/61

เวลา(วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.152	0.153	0.155	0.153	0.2×10^5	0.1×10^5	0.2×10^5	0.1×10^5	0.6031	0.6023	0.5822	0.5959
2	0.211	0.221	0.223	0.218	17×10^5	24×10^5	28×10^5	23×10^5	0.6104	0.6233	0.6509	0.6282
5	0.382	0.388	0.371	0.380	75×10^5	28×10^5	86×10^5	63×10^5	0.6404	0.6403	0.6509	0.6439
7	0.438	0.473	0.435	0.449	125×10^5	93×10^5	119×10^5	112×10^5	0.5104	0.6893	0.6752	0.6250
9	0.718	0.755	0.738	0.737	166×10^5	111×10^5	182×10^5	153×10^5	0.6612	0.9009	0.6813	0.7478
12	0.892	0.912	0.891	0.898	197×10^5	170×10^5	195×10^5	187×10^5	0.9013	0.9013	0.6601	0.8209
14	1.055	1.057	1.058	1.057	220×10^5	191×10^5	252×10^5	221×10^5	1.0413	1.2236	0.8603	1.0417
16	1.088	1.085	1.089	1.087	374×10^5	243×10^5	374×10^5	330×10^5	1.2222	1.3642	0.9231	1.1698

ตารางที่ ข-2.3 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. G6/61

เวลา(วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.289	0.321	0.316	0.309	0.1×10^5	0.1×10^5	0.1×10^5	0.1×10^5	0.4404	0.6766	0.7098	0.6089
2	0.347	0.349	0.351	0.349	33×10^5	31×10^5	35×10^5	33×10^5	0.4997	0.6892	0.7432	0.6440
4	0.417	0.42	0.412	0.416	41×10^5	43×10^5	46×10^5	43×10^5	0.9906	0.9906	0.6644	0.8819
6	0.474	0.47	0.482	0.475	54×10^5	68×10^5	59×10^5	61×10^5	0.9672	1.0895	0.9443	1.0003
8	0.654	0.659	0.65	0.654	79×10^5	74×10^5	85×10^5	79×10^5	1.3221	0.8896	0.9432	1.0516
10	0.785	0.793	0.784	0.787	91×10^5	105×10^5	120×10^5	105×10^5	1.2234	1.3665	0.9255	1.1718
12	0.942	0.953	0.948	0.948	125×10^5	128×10^5	134×10^5	129×10^5	1.4539	1.3675	1.6889	1.5034
14	1.100	1.144	1.135	1.126	173×10^5	182×10^5	185×10^5	180×10^5	1.4329	1.3605	1.6897	1.4944

ตารางที่ ข-2.4 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Klebsormidium* sp. G8/61

เวลา(วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.340	0.356	0.335	0.344	1×10^5	1×10^5	1×10^5	1×10^5	0.0554	0.0597	0.0524	0.0558
2	0.497	0.449	0.453	0.466	10.5×10^5	10×10^5	10×10^5	10.1×10^5	0.0645	0.0652	0.0557	0.0618
4	0.668	0.691	0.71	0.690	14×10^5	13×10^5	18×10^5	15×10^5	0.8885	0.9455	0.9987	0.9442
6	0.785	0.781	0.74	0.769	22×10^5	25×10^5	20×10^5	22.3×10^5	1.1441	1.0606	1.3455	1.1834
8	0.872	0.867	0.878	0.872	40×10^5	36.8×10^5	33×10^5	36.6×10^5	1.3609	1.4888	1.2444	1.3647
10	0.965	0.954	0.891	0.937	45×10^5	56.8×10^5	66×10^5	55.9×10^5	1.3695	1.1105	1.2455	1.2418
12	0.998	1.001	0.948	0.982	58×10^5	56×10^5	59×10^5	57.6×10^5	1.3208	1.1223	1.1888	1.2106
14	1.100	1.124	1.135	1.120	67.7×10^5	63×10^5	70.3×10^5	67×10^5	1.9805	1.2865	1.3255	1.1975

ตารางที่ ข-2.5 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Cylindrocystis* sp. G12/61

เวลา(วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.218	0.222	0.204	0.215	0	0	0	0	0.2441	0.2382	0.2476	0.2433
2	0.238	0.295	0.296	0.276	1×10^5	1.5×10^5	1×10^5	1.17×10^5	0.2667	0.2882	0.2476	0.2675
5	0.361	0.358	0.356	0.358	3×10^5	1.5×10^5	2.5×10^5	2.33×10^5	0.3466	0.3429	0.3521	0.3472
7	0.341	0.347	0.357	0.348	2×10^5	2.5×10^5	2.5×10^5	2.33×10^5	0.2408	0.4988	0.3966	0.3787
9	0.369	0.371	0.377	0.372	3×10^5	4×10^5	4×10^5	3.67×10^5	0.3561	0.4898	0.4449	0.4303
12	0.379	0.381	0.388	0.383	4.5×10^5	5×10^5	3×10^5	4.17×10^5	0.3933	0.3467	0.4933	0.4111
14	0.399	0.411	0.415	0.408	4×10^5	4×10^5	4.5×10^5	4.17×10^5	0.4444	0.4733	0.5467	0.4881
16	0.469	0.493	0.499	0.487	5×10^5	5.5×10^5	5.5×10^5	5.33×10^5	0.5208	0.5544	0.5203	0.5318

ตารางที่ ข-2.6 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. G15/61

เวลา(วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3.000	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.390	0.389	0.396	0.392	0.1×10^5	0.1×10^5	0.1×10^5	0.1×10^5	0.8889	0.1445	0.8456	0.6263
2	0.461	0.490	0.489	0.480	3×10^5	3×10^5	3×10^5	3×10^5	0.7809	1.0554	0.9498	0.9287
5	0.572	0.583	0.574	0.576	16×10^5	14×10^5	15×10^5	15×10^5	1.3398	1.1115	1.1115	1.1876
7	0.629	0.625	0.625	0.626	41×10^5	44×10^5	42×10^5	42.3×10^5	1.3244	0.8898	0.9845	1.0662
9	0.737	0.614	0.763	0.705	55×10^5	55.7×10^5	59.8×10^5	56.8×10^5	1.1405	1.0966	1.4359	1.2243
12	0.932	0.950	0.948	0.943	55×10^5	60×10^5	65×10^5	60×10^5	1.6008	1.3244	1.4456	1.4569
14	1.205	1.221	1.203	1.210	71×10^5	72.5×10^5	74×10^5	72.5×10^5	1.4255	1.1154	1.4659	1.3356
16	1.279	1.289	1.270	1.279	80.6×10^5	84.5×10^5	83.5×10^5	82.8×10^5	1.4409	1.5543	1.5402	1.5118

ตารางที่ ข-2.7 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. G4/61

เวลา(วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.289	0.321	0.316	0.309	0.1×10^5	0.1×10^5	0.1×10^5	0.1×10^5	0.4404	0.6766	0.7098	0.6089
2	0.347	0.349	0.351	0.349	33.5×10^5	31×10^5	35×10^5	33.2×10^5	0.4997	0.6892	0.7432	0.6440
4	0.417	0.42	0.412	0.416	40.5×10^5	43.5×10^5	46×10^5	43.3×10^5	0.9906	0.9906	0.6644	0.8819
6	0.474	0.47	0.482	0.475	54.5×10^5	68.5×10^5	59.5×10^5	60.8×10^5	0.9672	1.0895	0.9443	1.0003
8	0.654	0.659	0.65	0.654	79.5×10^5	74×10^5	85×10^5	79.5×10^5	1.3221	0.8896	0.9432	1.0516
10	0.785	0.793	0.784	0.787	90.5×10^5	105×10^5	120×10^5	105×10^5	1.2234	1.3665	0.9255	1.1718
12	0.942	0.953	0.948	0.948	125×10^5	128×10^5	134×10^5	129×10^5	1.4539	1.3675	1.6889	1.5034
14	1.100	1.144	1.135	1.126	173×10^5	182×10^5	185×10^5	180×10^5	1.4329	1.3605	1.6897	1.4944

ตารางที่ ข-2.8 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. G16/61

เวลา(วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.322	0.334	0.575	0.410	0.1×10^5	0.1×10^5	0.1×10^5	0.1×10^5	0.0855	0.1655	0.1676	0.1062
2	0.535	0.551	0.618	0.568	10×10^5	15×10^5	10×10^5	11.6×10^5	0.0656	0.1445	0.3345	0.1815
5	0.876	0.499	0.644	0.673	20×10^5	25×10^5	25×10^5	23.3×10^5	0.2002	0.0655	0.2441	0.1699
7	1.043	0.699	0.778	0.840	67×10^5	68.9×10^5	72.9×10^5	69.6×10^5	0.2667	0.2787	0.2899	0.2784
9	1.467	1.211	1.155	1.278	103×10^5	97.5×10^5	100×10^5	100×10^5	0.5665	0.3665	0.5233	0.4854
12	1.662	1.287	1.225	1.391	160×10^5	145.9×10^5	156.7×10^5	154×10^5	1.5644	1.1659	1.8455	1.5253
14	0.733	2.232	1.105	1.357	425×10^7	439×10^5	450×10^5	438×10^5	1.4898	1.4435	1.7638	1.5657
16	1.566	2.665	1.245	1.825	500×10^5	550×10^5	550×10^5	533×10^5	1.6667	1.4387	1.7443	1.6166

ภาคผนวก ค

ตารางแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

ตารางที่ ค-1 ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรีย

ตารางที่ ค-1.1 ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรียของ *Ankistrodesmus* sp. G15/61

<i>Ankistrodesmus</i> sp. G15/61	ครั้งที่			Average	STDEV
	1	2	3		
<i>Staphylococcus aureus</i>					
Antibiotic	19.33	19.53	20.01	19.62	0.35
สารสกัดด้วยน้ำ	6.39	6.40	6.39	6.39	0.01
อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	11.43	11.43	11.18	11.35	0.14
<i>Escherichia coli</i>					
Antibiotic	16.79	16.23	16.28	16.43	0.31
สารสกัดด้วยน้ำ	6.51	6.51	6.51	6.51	0.00
อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	8.58	8.57	9.03	8.73	0.26

ตารางที่ ค-1.2 ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรียของ *Arthrospira* sp. B1/61

<i>Arthrospira</i> sp. B1/61	ครั้งที่			Average	STDEV
	1	2	3		
<i>Staphylococcus aureus</i>					
Antibiotic	19.82	19.34	18.15	19.10	0.86
สารสกัดด้วยน้ำ	6.49	6.49	6.50	6.49	0.01
อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	17.47	17.45	17.47	17.46	0.01
<i>Escherichia coli</i>					
Antibiotic	16.11	16.55	16.92	16.53	0.41
สารสกัดด้วยน้ำ	6.15	6.14	6.14	6.14	0.01
อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	9.99	10.00	9.99	9.99	0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-1.3 ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรียของ *Chlorella* sp. G2/61

<i>Chlorella</i> sp. G2/61	ครั้งที่			Average	STDEV
	1	2	3		
<i>Staphylococcus aureus</i>					
Antibiotic	21.88	19.51	21.48	20.96	1.27
สารสกัดด้วยน้ำ	6.36	6.36	6.35	6.36	0.01
อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	8.47	8.44	8.43	8.45	0.02
<i>Escherichia coli</i>					
Antibiotic	15.95	15.11	15.46	15.51	0.42
สารสกัดด้วยน้ำ	6.23	6.23	6.22	6.23	0.01
อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	10.72	11.20	10.63	10.85	0.31

ตารางที่ ค-1.4 ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรียของ *Chlorella* sp. G6/61

<i>Chlorella</i> sp. G6/61	ครั้งที่			Average	STDEV
	1	2	3		
<i>Staphylococcus aureus</i>					
Antibiotic	19.81	19.43	19.81	19.68	0.22
สารสกัดด้วยน้ำ	6.33	6.34	6.33	6.33	0.01
อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	9.17	9.65	9.65	9.49	0.28
<i>Escherichia coli</i>					
Antibiotic	17.85	17.73	16.82	17.47	0.56
สารสกัดด้วยน้ำ	6.39	6.39	6.38	6.39	0.01
อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	9.01	10.03	9.46	9.50	0.51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-1.5 ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรียของ *Cylindrocystis* sp. G12/61

<i>Cylindrocystis</i> sp. G12/61	ครั้งที่			Average	STDEV
	1	2	3		
<i>Staphylococcus aureus</i>					
Antibiotic	19.40	19.30	19.34	19.35	0.05
สารสกัดด้วยน้ำ	6.48	6.49	6.48	6.48	0.01
อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	8.41	8.30	8.51	8.41	0.11
<i>Escherichia coli</i>					
Antibiotic	15.60	14.04	14.06	14.57	0.89
สารสกัดด้วยน้ำ	6.43	6.43	6.43	6.43	0.00
อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	7.90	7.97	7.97	7.95	0.04

ตารางที่ ค-1.6 ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรียของ *Klebsormidium* sp. G8/61

<i>Klebsormidium</i> sp. G8/61	ครั้งที่			Average	STDEV
	1	2	3		
<i>Staphylococcus aureus</i>					
Antibiotic	19.87	20.14	20.17	20.06	0.17
สารสกัดด้วยน้ำ	6.24	6.25	6.24	6.24	0.01
อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	7.96	7.96	9.94	8.62	1.14
<i>Escherichia coli</i>					
Antibiotic	15.11	15.12	15.24	15.16	0.07
สารสกัดด้วยน้ำ	6.36	6.36	6.36	6.36	0.00
อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	8.81	8.52	8.41	8.58	0.21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-1.7 ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรียของ *Scenedesmus* sp. G4/61

<i>Scenedesmus</i> sp. G4/61	ครั้งที่			Average	STDEV
	1	2	3		
<i>Staphylococcus aureus</i>					
Antibiotic	18.67	18.97	18.53	18.72	0.22
สารสกัดด้วยน้ำ	6.46	6.45	6.45	6.45	0.01
อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	8.11	8.11	8.11	8.11	0.00
<i>Escherichia coli</i>					
Antibiotic	15.18	15.29	15.13	15.20	0.08
สารสกัดด้วยน้ำ	6.27	6.27	6.27	6.27	0.00
อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	10.59	10.54	10.22	10.45	0.20

ตารางที่ ค-1.8 ตารางแสดงฤทธิ์การต้านทานแบคทีเรียของ *Scenedesmus* sp. G16/61

<i>Scenedesmus</i> sp. G16/61	ครั้งที่			Average	STDEV
	1	2	3		
<i>Staphylococcus aureus</i>					
Antibiotic	19.03	19.02	19.02	19.02	0.01
สารสกัดด้วยน้ำ	6.67	6.67	6.67	6.67	0.00
อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	17.47	17.47	17.47	17.47	0.00
<i>Escherichia coli</i>					
Antibiotic	16.29	16.29	16.29	16.29	0.00
สารสกัดด้วยน้ำ	6.41	6.41	6.41	6.41	0.00
อนุภาคซิงค์ออกไซด์นาโน	10.76	10.92	10.84	10.84	0.08

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ตารางวิเคราะห์ทางสถิติฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

1.การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลแบบ Factorial Experiment in Completely Randomized Design (CRD) และ ANOVA วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Tukey's Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม Minitab ในการวิเคราะห์

C1*C2*C3	N	Mean	Grouping																	
3 1 1	3	20.9567	A																	
6 1 1	3	20.0600	A	B																
4 1 1	3	19.6833		B	C															
1 1 1	3	19.6233		B	C															
5 1 1	3	19.3467		B	C															
2 1 1	3	19.1033		B	C															
8 1 1	3	19.0233		B	C															
7 1 1	3	18.7233			C															
8 2 1	3	17.4700				D														
4 1 2	3	17.4667				D														
2 2 1	3	17.4633				D														
2 1 2	3	16.5267				D	E													
1 1 2	3	16.4333				D	E													
8 1 2	3	16.2900				D	E	F												
3 1 2	3	15.5067					E	F	G											
7 1 2	3	15.2000						F	G											
6 1 2	3	15.1567						F	G											
5 1 2	3	14.5667							G											
1 2 1	3	11.3467								H										
3 2 2	3	10.8500								H	I									
8 2 2	3	10.8400								H	I									
7 2 2	3	10.4500								H	I	J								
2 2 2	3	9.9933									I	J								
4 2 2	3	9.5000										J	K							
4 2 1	3	9.4900										J	K							
1 2 2	3	8.7267											K	L						
6 2 1	3	8.6200											K	L						
6 2 2	3	8.5800											K	L						

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

