

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืชของสารสกัดจาก  
สาหร่ายขนาดเล็ก

STUDY ON THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF  
MICROALGAE EXTRACTS ON PLANT PATHOGENIC  
BACTERIA



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานภายในสถาบันเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**STUDY ON THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF  
MICROALGAE EXTRACTS ON PLANT PATHOGENIC  
BACTERIA**



**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  
ACADEMIC YEAR 2018**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืชของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก

ชื่อนักศึกษา นางสาวชญาณิชรุ้ พลแสน รหัสนักศึกษา 58050871  
นางสาวดารินทร์ กันสร รหัสนักศึกษา 58050889  
นางสาวนันทวัน ปิยะเสถียรรัตน์ รหัสนักศึกษา 58050906

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)  
ภาควิชา ชีววิทยา  
คณะ วิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)  
ปีการศึกษา 2561  
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.วีณา ชูโชติ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.จิตติ ท่าไวย ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.วิภาวี เดชดีศักดิ์ กรรมการ	
ผศ.วีณา ชูโชติ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้สิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ข้อมูลนี้ไปยังบุคคลอื่นโดยไม่ได้รับอนุญาตจากทางคณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงการพิเศษ	การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืชของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวชญาณิชฐ์ พลแสน	รหัสนักศึกษา	58050871
	นางสาวดารินทร์ กันคร	รหัสนักศึกษา	58050889
	นางสาวนันทวัน ปิยะเสถียรรัตน์	รหัสนักศึกษา	58050906
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)		
ปีการศึกษา	2561		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.วีณา ชูโชติ		

### บทคัดย่อ

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืชของสารสกัดเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) จากสาหร่ายขนาดเล็ก พบว่า *Scenedesmus* sp. 011 มีปริมาณ FAME มากที่สุด คือ  $0.16 \pm 0.03$  กรัมต่อกรัมเซลล์ รองลงมาคือ *Chlorella* sp. 012 และ *Chlorella* sp. 009 มีปริมาณ  $0.15 \pm 0.03$  และ  $0.11 \pm 0.03$  กรัมต่อกรัมเซลล์ ตามลำดับ ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืช 3 ชนิด ได้แก่ *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Ralstonia solanacearum* และ *Xanthomonas oryzae* ด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่าสารสกัด FAME จาก *Scenedesmus* sp. 011 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืชทั้ง 3 ชนิดได้ดีที่สุด มีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณวงใส  $9.14 \pm 1.03$ ,  $10.91 \pm 1.30$  และ  $10.39 \pm 3.30$  มิลลิเมตร ตามลำดับ *Scenedesmus* sp. 011 มีค่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) ที่ 62.5, 125 และ 125 ไมโครกรัมต่อ 50 ไมโครลิตร ตามลำดับ การวิเคราะห์องค์ประกอบของ FAME ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทสโกปีของสาหร่าย *Chlorella* sp. 009, *Chlorella* sp. 012 และ *Scenedesmus* sp. 011 พบว่ามีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวมากที่สุด คือ 26.648, 23.126 และ 19.273 ตามลำดับ

**คำสำคัญ :** แบคทีเรียก่อโรคพืช เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย สารสกัดสาหร่ายขนาดเล็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<b>Title</b>	Study on the Antibacterial Activity of Microalgae Extracts on Plant Pathogenic Bacteria		
<b>Students</b>	Miss Chayanit	Polsaen	Student ID 58050871
	Miss Darin	Kansorn	Student ID 58050889
	Miss Nunthawan	Piyasathianrat	Student ID 58050906
<b>Degree</b>	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)		
<b>Department</b>	Biology		
<b>Faculty</b>	Science		
<b>University</b>	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
<b>Academic Year</b>	2018		
<b>Advisor</b>	Asst. Prof. Weena Choochote		

### Abstract

The objectives of this study were to evaluate the antibacterial activity of plant pathogenic bacteria of fatty acid methyl esters (FAME) from microalgae extracts. The results showed that *Scenedesmus* sp. 011 have the highest FAME at  $0.16 \pm 0.03$  g/gcells, followed by *Chlorella* sp. 012 and *Chlorella* sp. 009 at  $0.15 \pm 0.03$  and  $0.11 \pm 0.03$  g/gcells, respectively. Their antibacterial activities were tested against three species of plant pathogenic bacteria : *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Ralstonia solanacearum* and *Xanthomonas oryzae* by agar disc diffusion method. It was found that the FAME of *Scenedesmus* sp. 011 exerted the strongest inhibition on the growth of three species of plant pathogenic bacteria, exhibited an inhibition zone of  $9.14 \pm 1.03$ ,  $10.91 \pm 1.30$  and  $10.39 \pm 3.30$  mm, respectively. To determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of *Scenedesmus* sp. 011 was inhibited at 62.5, 125 and 125  $\mu\text{g}/50\mu\text{L}$ , respectively. Analysis of the composition of FAME by gas chromatography-mass spectroscopy, the results indicated the present of fatty acid with the dominance of palmitic acid at 26.648, 23.126 and 19.273%, respectively.

**Keywords :** plant pathogenic, FAME, antibacterial, microalgae, microalgae extracts

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาโครงการพิเศษในหัวข้อเรื่อง การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืชของสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก เป็นโครงการพิเศษที่จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม โดยโครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ผศ. วินา ชูโชติ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ รศ.ดร. จิตติ ทาไว ประธานกรรมการ และ ผศ.ดร. วิภาวี เดชดีศักดิ์ กรรมการ ที่เป็นผู้ให้คำปรึกษาและคำแนะนำ ข้อคิด และข้อมูลต่าง ๆ ทั้งในการทำโครงการพิเศษ รวมถึงสละเวลาตรวจทานแก้ไขรายงานโครงการพิเศษฉบับนี้ให้เสร็จสมบูรณ์

นอกจากนี้ คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาทุกท่าน ที่ช่วยเหลืออำนวยความสะดวกด้านอุปกรณ์ต่าง ๆ เครื่องมือ และคำแนะนำการใช้เครื่องมือที่ใช้ในโครงการพิเศษจนสำเร็จได้ด้วยดี

ชญาณิชชู่ พลแสน  
ดารินทร์ กันสร  
นันทวัน ปิยะเสถียรรัตน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย .....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .....	ค
กิตติกรรมประกาศ .....	ง
สารบัญ .....	จ
สารบัญตาราง .....	ช
สารบัญรูป .....	ซ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b> .....	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ .....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย .....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย .....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ .....	2
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b> .....	<b>3</b>
2.1 สาหร่ายขนาดเล็ก .....	3
2.1.1 ไชยาโนแบคทีเรีย .....	3
2.1.2 สาหร่ายสีเขียว .....	5
2.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก .....	10
2.2.1 รูปแบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก .....	10
2.2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย .....	10
2.2.3 ระยะการเจริญของสาหร่าย .....	11
2.3 องค์ประกอบของไขมันสาหร่าย .....	12
2.4 การสกัดไขมันของสาหร่าย .....	13
2.4.1 วิธี Folch .....	13
2.4.2 วิธี Bligh and Dyer .....	14
2.5 เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) .....	14
2.6 แบคทีเรียที่ก่อโรคพืช .....	14
2.6.1 แบคทีเรีย <i>Erwinia carotovora</i> .....	15
2.6.2 แบคทีเรีย <i>Ralstonia solanacearum</i> .....	16
2.6.3 แบคทีเรีย <i>Xanthomonas oryzae</i> .....	18
2.7 การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ .....	19

## สารบัญ (ต่อ)

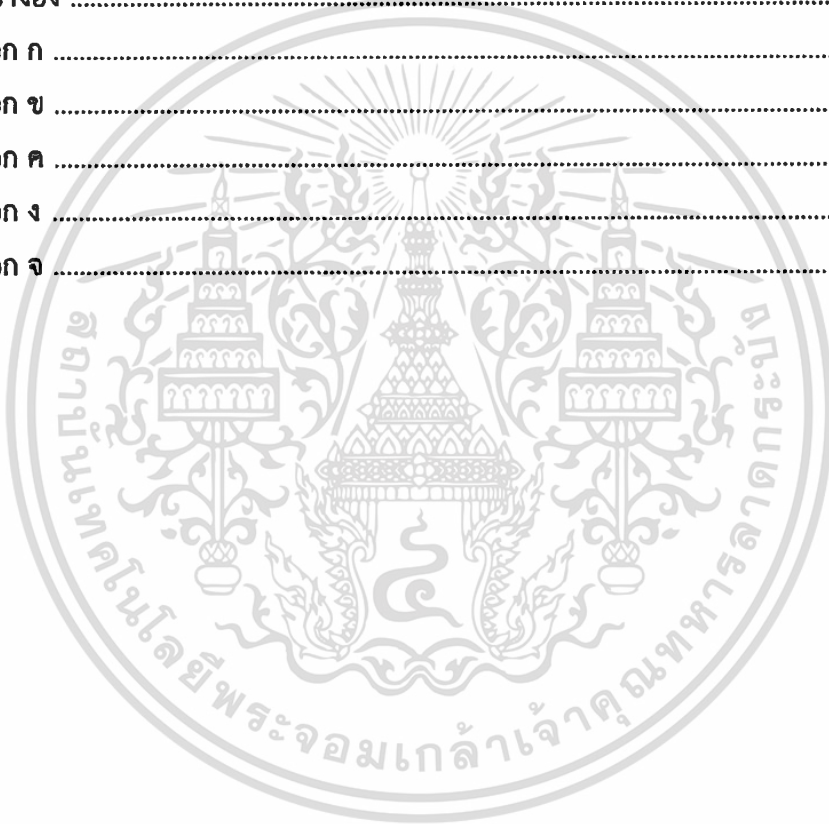
	หน้า
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (ต่อ)</b>	
2.7.1 วิธี Agar disc diffusion .....	19
2.7.2 วิธี Dilution susceptibility test .....	20
2.8 เครื่องวิเคราะห์ GC-MS (Gas Chromatograph-Mass Spectroscopy) .....	21
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	21
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย</b> .....	24
3.1 สายพันธุ์สาหร่ายที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ .....	24
3.2 สายพันธุ์แบคทีเรียทดสอบ .....	24
3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ .....	24
3.4 สารเคมี .....	25
3.5 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย .....	25
3.5.1 การคัดแยกสายพันธุ์สาหร่าย .....	25
3.5.2 การวัดค่าการเจริญของสาหร่าย .....	26
3.5.3 การสกัดและหาปริมาณไขมันจากสาหร่าย .....	26
3.5.4 การเตรียมและวิเคราะห์ส่วนประกอบเมทิลเอสเทอร์ของ กรดไขมัน (FAME) .....	26
3.5.5 การประเมินคุณสมบัติเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันต่อการ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย .....	27
3.5.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ .....	28
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล</b> .....	29
4.1 ผลการคัดแยกสายพันธุ์สาหร่าย .....	29
4.2 ผลการวัดค่าการเจริญเติบโตของสาหร่าย .....	33
4.3 ผลการศึกษาปริมาณไขมันจากสาหร่าย .....	34
4.4 ผลการหาปริมาณเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน .....	40
4.5 ผลการศึกษาเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) ในการเป็น สารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโรคพีซ .....	40
4.5.1 ผลการศึกษาเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันในการเป็นสารออกฤทธิ์ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโรคพีซด้วยวิธี Agar disc diffusion .....	40
4.5.2 ผลการศึกษาเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันในการเป็นสารออกฤทธิ์ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโรคพีซด้วยวิธี MIC .....	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญูญาติเห็นาไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล (ต่อ)</b>	
4.6 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรสโกปี .....	46
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b> .....	51
5.1 สรุปผลการวิจัย .....	51
5.2 ข้อเสนอแนะ .....	52
<b>เอกสารอ้างอิง</b> .....	53
<b>ภาคผนวก ก</b> .....	66
<b>ภาคผนวก ข</b> .....	68
<b>ภาคผนวก ค</b> .....	71
<b>ภาคผนวก ง</b> .....	85
<b>ภาคผนวก จ</b> .....	106



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 องค์ประกอบของกรดไขมัน (ร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด) ของสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก...	13
3.1 สายพันธุ์สาหร่ายที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ .....	24
4.1 สายพันธุ์สาหร่ายที่คัดแยกและรูปเซลล์สาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ .....	29
4.2 การเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้ง 14 สายพันธุ์ .....	35
4.3 แสดงปริมาณร้อยละของไขมันของสาหร่ายทั้ง 14 สายพันธุ์.....	39
4.4 แสดงปริมาณเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันของสาหร่ายทั้ง 14 สายพันธุ์ .....	41
4.5 แสดงภาพฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโรคพีซ 3 ชนิด ด้วยเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สกัดจากสาหร่าย 14 สายพันธุ์ โดย วิธี Agar disc diffusion .....	44
4.6 แสดงค่าฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโรคพีซ 3 ชนิดด้วย เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สกัดจากสาหร่าย 14 สายพันธุ์ โดยวิธี Agar disc diffusion .....	45
4.7 แสดงค่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สามารถ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโรคพีซ(MIC) ของสาหร่าย <i>Scenedesmus</i> sp. 011 .....	47
4.8 แสดงค่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สามารถ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโรคพีซ (MIC) ของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. 009 .....	48
4.9 แสดงค่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สามารถ ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโรคพีซ (MIC) ของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. 012 .....	48
4.10 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สกัดจากสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. 009, <i>Scenedesmus</i> sp. 011 และ <i>Chlorella</i> sp. 012 โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟแมสสเปกโทรสโกปี .....	49
ค-1 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย 14 สายพันธุ์ .....	71
ง-1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการศึกษาปริมาณไขมันของสาหร่ายทั้ง 14 สายพันธุ์ .....	85
ง-2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันของสาหร่าย 14 สายพันธุ์ .....	94
ง-3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย โรคพีซโดยวิธี Agar disc diffusion ของสาหร่าย 14 สายพันธุ์ .....	97
จ-1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) โดยวิธีเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟแมสสเปกโทรสโกปี .....	106

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ลักษณะเซลล์ของ <i>Chroococcus</i> sp. ....	4
2.2 ลักษณะเซลล์ของ <i>Ankistrodesmus</i> sp. ....	5
2.3 ลักษณะเซลล์ของ <i>Chlamydomonas</i> sp. ....	6
2.4 ลักษณะเซลล์ของ <i>Chlorella</i> sp. ....	7
2.5 ลักษณะเซลล์ของ <i>Chlorococcum</i> sp. ....	8
2.6 ลักษณะเซลล์ของ <i>Scenedesmus</i> sp. ....	9
2.7 การเจริญของสาหร่าย 4 ระยะ .....	11
2.8 โครงสร้างทางเคมีของกรดไขมัน .....	12
2.9 ปฏิกริยาทรานส์เอสเทอร์ริฟิเคชันแบบผันกลับได้เพื่อเปลี่ยนไตรกลีเซอไรด์ เป็นไบโอดีเซล .....	14
2.10 ลักษณะเซลล์ของ <i>Erwinia carotovora</i> pv. <i>carotovora</i> .....	15
2.11 พีซและแคโรทที่มีอาการเน่าและจากแบคทีเรีย <i>E. carotovora</i> .....	16
2.12 ลักษณะเซลล์ของ <i>Ralstonia solanacearum</i> .....	16
2.13 ต้นมะเขือเทศที่แสดงอาการเหี่ยวซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย <i>R. solanacearum</i> .....	17
2.14 ลักษณะเซลล์ของ <i>Xanthomonas oryzae</i> .....	18
2.15 ใบของต้นข้าวที่เกิดอาการขอบใบแห้งซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย <i>X. oryzae</i> .....	19
2.16 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Agar disc diffusion และ วิธี Agar dilution .....	19
2.17 ส่วนประกอบของเครื่อง GC-MS .....	21
4.1 กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย 14 สายพันธุ์ .....	36
4.2 กราฟแสดงการเจริญของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย 14 สายพันธุ์ .....	37
4.3 กราฟแสดงการเจริญของน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย 14 สายพันธุ์ .....	38
4.4 แสดงตัวอย่างเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) ที่ได้จากการทดลอง .....	41
ข-1 แสดงลักษณะของฮีมาไซโตมิเตอร์ .....	68
ข-2 แสดงตารางนับจำนวนเซลล์สาหร่ายจริง .....	69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคพืชเป็นปัญหาที่พบมากในเกษตรกรผู้เพาะปลูกพืช โรคพืชบางชนิดทำความเสียหายขณะปลูกพืช เก็บเกี่ยว เก็บรักษา และขณะขนส่ง แม้ว่าโรคพืชบางชนิดไม่ทำอันตรายให้พืชเกิดโรคได้รุนแรงก็ตาม แต่ก็สามารถทำให้ผลผลิตลดลง หรือเกิดตำหนิเป็นรอยแผลไม่น่าบริโภค ทำให้ราคาตกต่ำ อีกทั้งเป็นอุปสรรคต่อการส่งขายไปยังตลาดต่างประเทศ โรคพืชที่พบบ่อยในการก่อความเสียหายทางเศรษฐกิจ เช่น โรคเน่าและ พบการแพร่ระบาดในทุกพื้นที่ที่มีการปลูกผัก เช่น กระหล่ำปลี กระหล่ำดอก ผักกาดขาว พริกขี้หนู ผักชี และผักกาดหอม โรคนี้อาจเกิดจากแบคทีเรียในกลุ่ม Soft rot *Erwinia* โดยจะสร้างเอนไซม์ย่อยสลายเซลล์พืช แบคทีเรียที่มักพบการเข้าทำลายพืชคือ *Erwinia carotovora* และ *Erwinia chrysanthemi* ความเสียหายทางเศรษฐกิจที่เกิดจากโรคนี้นับอยู่กับมูลค่าของพืชที่เชื้อนี้เข้าทำลาย (รุ่งนภา และคณะ, 2555) โรคเหี่ยว (Bacteria wilt) เป็นโรคที่มีความสำคัญโรคหนึ่งเนื่องจากพบเชื้อระบาดไปทั่วโลก เข้าทำลายพืชเศรษฐกิจได้มากกว่า 200 ชนิด มีชีวิตอยู่ในดินได้นาน พืชติดโรคได้ง่ายทางส่วนขยายพันธุ์ เช่น หัวพันธุ์มัน ฝรั่ง และท่อนพันธุ์ เป็นต้น (วงศ์ และคณะ, 2549) และโรคขอบใบแห้งในข้าว เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* เป็นเชื้อที่เข้าทำลายข้าวได้ทุกระยะ ทำให้ข้าวเกิดอาการใบไหม้และแห้งตาย ผลผลิตของข้าวลดลงร้อยละ 20 ถึง 30 และบางพื้นที่เสียหายถึงร้อยละ 80 ทำให้เมล็ดข้าวมีคุณภาพต่ำ ข้าวส่งออกไม่ได้ราคา (วรินนภา, 2556)

ซึ่งปัญหาโรคพืชข้างต้น ทำให้เกษตรกรมีความจำเป็นต้องเพิ่มต้นทุนการผลิตให้สูงขึ้น โดยการซื้อสารเคมีเพื่อใช้ป้องกันกำจัดโรคพืช ในปัจจุบันเกษตรกรมีการนำสารเคมีกำจัดศัตรูพืชมาใช้ในทางเกษตรกรรมมากขึ้น และข้อมูลผู้ป่วยที่เป็นโรคพืชจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจากการทำงานและสิ่งแวดล้อมของประเทศไทย (ไม่รวมสาเหตุการฆ่าตัวตาย) ปี 2553 ถึงปี 2560 พบว่า มีแนวโน้มอัตราผู้ป่วยเพิ่มสูงขึ้นทุกปี โดยมีค่าเฉลี่ยอัตราผู้ป่วยใน 100,000 คน ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553 ถึง 2560 เป็นร้อยละ 3.19, 6.55, 13.77, 12.37, 12.25, 17.12, 14.47 และ 17.12 ตามลำดับ (สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม, 2561)

สาหร่ายมีประโยชน์มากมายในด้านการใช้เป็นอาหารมนุษย์ อาหารสัตว์ ปุ๋ยชีวภาพ การบำบัดน้ำเสีย ประโยชน์สำหรับอุตสาหกรรม และใช้เป็นดัชนีทางชีวภาพเพื่อบ่งชี้คุณภาพของระบบนิเวศแหล่งน้ำ (ปริญา และอมรรัตน์, 2556) นอกจากนี้ ยังพบว่าสารสกัดจากสาหร่ายสามารถสร้างสารต้านแบคทีเรีย สารต้านไวรัส สารยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ (วีณา, 2556) มีงานวิจัยหลายงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการสกัดสารจากสาหร่ายมายังยังเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคพืชได้ เช่น สารสกัดสาหร่าย *Laminaria digitata* สามารถยับยั้งเชื้อรา *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* และ *Monilinia laxa* ที่ก่อให้เกิดโรคเน่าของผลเชอร์รี่ โรคผลเน่าในส้ม และโรคเน่าของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ภายในเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ตั้งประเด็นข้อกล่าวหาการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อยู่บน ตามลำดับ (Ugo et al., 2017) สารสกัดที่สกัดได้จากสาหร่าย *Scenedesmus intermedius* สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่เชื้อ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus parasiticus*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* และ *Bacillus cereus* (Davoodbasha et al., 2018)

โครงการพิเศษนี้จึงศึกษาประเมินฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora*, *Ralstonia solanacearum* และ *Xanthomonas oryzae* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคพืช จากสารสกัดของสาหร่ายขนาดเล็ก เพื่อนำผลการศึกษาที่ได้ไปศึกษาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์กำจัดศัตรูพืชต่อไปในอนาคต

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อคัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืช
- 2) เพื่อศึกษาฤทธิ์ของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สกัดจากสาหร่ายขนาดเล็กในการเป็นสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืช
- 3) เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในสาหร่ายสายพันธุ์ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืชได้ดี

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1) คัดแยกตัวอย่างสาหร่ายจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติ จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนในอาหารสูตร N-8 และ BG-11
- 2) ทหาปริมาณไขมันและเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME)
- 3) ทดสอบเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันในการเป็นสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืชด้วยวิธี Agar disc diffusion และหาค่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC)
- 4) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายที่มีฤทธิ์ยับยั้งดีที่สุด 3 สายพันธุ์ ด้วยเครื่องวิเคราะห์แก๊สโครมาโทกราฟแมสสเปกโทรสโกปี

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) สามารถคัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืช
- 2) ทราบถึงความสามารถในการเป็นสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืชของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน
- 3) ทราบถึงองค์ประกอบทางเคมีในสาหร่าย 3 สายพันธุ์ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 สาหร่ายขนาดเล็ก

สาหร่ายเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของระบบนิเวศที่หลากหลายตั้งแต่สภาพแวดล้อมทางทะเล น้ำจืด ทะเลทราย และน้ำพุร้อน ไปจนถึงสภาพแวดล้อมแบบหิมะและน้ำแข็ง โดยคิดเป็นสัดส่วนมากกว่าครึ่งหนึ่งของการผลิตขั้นต้นของฐานห่วงโซ่อาหารทั่วโลก สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความหลากหลายและลักษณะเฉพาะสูง ยิ่งไปกว่านั้น ระบบของสาหร่ายขึ้นอยู่กับชนิดและการทำงานร่วมกันของรงควัตถุในการสังเคราะห์แสงที่มีอยู่ในสาหร่ายชนิดต่างๆ (Guschin and Harwood, 2006) สาหร่ายขนาดเล็กมีโครงสร้างเซลล์ที่เรียบง่าย ต้องการแสง คาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และสารอาหาร (ฟอสฟอรัสและไนโตรเจนเป็นสารอาหารหลัก) ในการเจริญเติบโต องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญในเซลล์สาหร่ายขนาดเล็กคือ ไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต สามารถปรับตัวได้ดีในสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย ใช้พื้นที่ในการเจริญน้อยกว่าพืชที่ปลูกบนพื้นดิน เช่น ข้าวโพด อ้อย จึงสามารถหลีกเลี่ยงการแข่งขันกับพืชเศรษฐกิจได้ สาหร่ายมีข้อดีคือเจริญเติบโตได้เร็วกว่าพืชทั่วไป 5 ถึง 10 เท่า และมีสารสีเช่น ไฟโคไบลิโปรตีน คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ ซึ่งสามารถใช้ในเชิงอุตสาหกรรมได้ เช่น อุตสาหกรรมยา อาหาร และเครื่องสำอาง เป็นต้น (Zullaikah et al. 2019)

#### 2.1.1 ไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria)

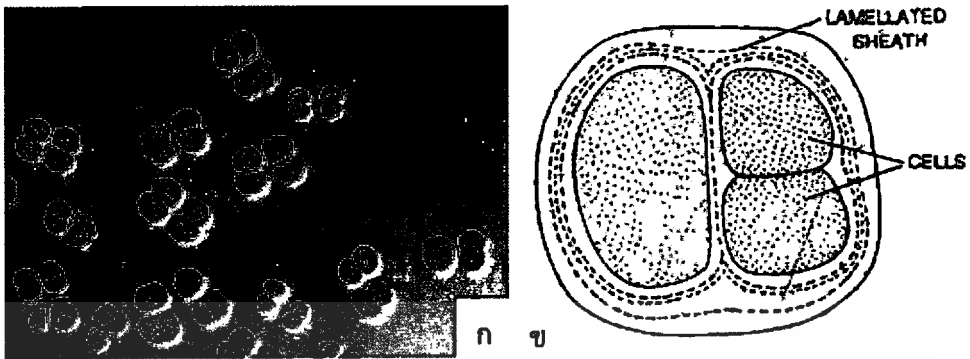
ไซยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue-Green algae) เป็นสิ่งมีชีวิตกลุ่มโพรคาริโอต จัดอยู่ในดิวิชันไซยาโนไฟตา ไซยาโนแบคทีเรียประกอบด้วยรงควัตถุกลุ่มคลอโรฟิลล์ ซึ่งเป็นคลอโรฟิลล์เอ รงควัตถุกลุ่มแคโรทีนอยด์ ประกอบด้วยเบตาแคโรทีน แซนโทฟิลล์หลายชนิด ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นมิกโซแซนทิน มิกโซแซนโทฟิลล์ รงควัตถุกลุ่มไฟโคบิลิน ซึ่งประกอบด้วยซีไฟโคไซยานิน อัลโลไฟโคไซยานิน และ ซีไฟโคเออร์ทริน ไม่มีคลอโรพลาสต์ ไทลาคอยด์จะอยู่เดี่ยวๆ (ยวดี, 2549 ; Lee, 2008) มีผนังเซลล์ 3 ชั้น ชั้นในประกอบด้วยเซลลูโลส ชั้นกลางเป็นพวกลินิน ส่วนชั้นนอกสุดเป็นสารเมือกเจลาติน ซึ่งเป็นชั้นที่เรียกว่า ปลูกหุ้มหรือชีท (Sheath) ชีทที่หุ้มเซลล์ของสาหร่ายเหล่านี้อาจจะใสไม่มีสี เช่น ใน *Chroococcus* เป็นต้น หรืออาจมีสีเหลือง สีน้ำตาล สีแดง สีม่วง เนื่องจากมีรงควัตถุต่างๆ ปนอยู่ในชีท ไซยาโนแบคทีเรียมีรูปร่าง 2 แบบ คือ รูปร่างเป็นเซลล์เดี่ยวหรือโคโลนีไม่เป็นเส้นสาย (Non filamentous form) อาจจะอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว เช่น *Chroococcus* เป็นต้น หรืออาจจะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มเซลล์แบบพาล์มลลา (Palmellate form) เช่น *Merismopedia* เป็นต้น และรูปร่างเป็นเส้นสาย (Filamentous form) เกิดจากเซลล์หลายเซลล์มาต่อกันจนเป็นรูปร่างเป็นสายยาว เส้นสายนี้อาจจะตรงและเรียบไม่มีการแตกแขนง เช่น

*Oscillatoria* เป็นต้น บางชนิดเส้นสายอาจจะมียวโค้งงอ หรือบิดเป็นเกลียว เช่น *Arthrospira*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับผูกมัดให้หาไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า เป็นต้น (ยวดี, 2549 ; Bellinger and Sige, 2010)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.1.1.1 *Chroococcus* sp.



รูปที่ 2.1 ลักษณะเซลล์ของ *Chroococcus* sp. (ก) *Chroococcus* (กำลังขยาย 1000 เท่า) (ที่มา : <http://ccala.butbn.cas.cz/en/chroococcus-sp>) (ข) โครงสร้างและองค์ประกอบของเซลล์ (ที่มา : <http://www.yourarticlelibrary.com/biology/useful-notes-on-cyanobacteria-3025-word-sbiology/7160>)

#### อนุกรมวิธาน

Division Cyanobacteria (Komárek *et al.*, 2014)  
 Class Cyanophyceae  
 Order Chroococcales  
 Family Chroococcaceae  
 Genus *Chroococcus*

*Chroococcus* sp. เป็นไซยาโนแบคทีเรีย(สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน) มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว หรือเป็นกลุ่มเซลล์ 2-4 เซลล์ แต่ไม่เกิน 16 เซลล์ รูปร่างกลมหรือรี มีสารเมือกหนาใสและไม่มีสีหุ้ม ไม่มีการสร้างเอนโดสปอร์หรือเอกซสปอร์ มีการสืบพันธุ์โดยแบบการขาดออกเป็นท่อน (Fragmentation) พบได้ทั้งอยู่บนดิน และดำรงชีวิตแบบลอยล่องเป็นอิสระหรือยึดเกาะตามก้อนหิน พบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำจืด น้ำเค็มเล็กน้อย (เสาวนิตย์ และพัชรี, 2552)

*Chroococcus* มีประมาณ 90 สายพันธุ์ สามารถใช้ประโยชน์ในด้านการเป็นอาหารให้แก่ลูกสัตว์น้ำเศรษฐกิจ (จงดี และคณะ, 2558) และเป็นแหล่งไขมันในการผลิตไบโอดีเซล เช่น *Chroococcus turgidus* (Alam *et al.*, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.1.2 สาหร่ายสีเขียว

สาหร่ายสีเขียว (Green algae) เป็นสิ่งมีชีวิตกลุ่มยูคาริโอต จัดอยู่ในดิวิชันคลอโรไฟตา ส่วนใหญ่พบในน้ำจืด มีเพียงร้อยละ 10 ที่พบในทะเล สาหร่ายประกอบด้วยสารสีคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และแคโรทีนอยด์อยู่ร่วมกันในคลอโรพลาสต์ ทำให้เห็นสาหร่ายเป็นสีเขียว มีไฟรีนอยด์อยู่ในคลอโรพลาสต์ทำหน้าที่สร้างอาหารสะสมจำพวกแป้งซึ่งประกอบด้วยอะไมโลส และอะไมโลเพคติน มนังเซลล์ทั่วไปประกอบด้วยเซลล์ูโลส มีโครงสร้างหลักคือ พอลิแซคคาไรด์ รูปร่างและขนาดของสาหร่ายสีเขียวแตกต่างกันมากตั้งแต่เซลล์เดี่ยว กลุ่มเซลล์ที่มีลักษณะเป็นเส้นสาย (Filament) ขนาดเล็กจนถึงมีทลัสส์ (ส่วนที่คล้ายราก ลำต้น และใบรวมกัน) ขนาดใหญ่ มีทั้งเคลื่อนที่ได้ และเคลื่อนที่ไม่ได้ เช่น *Chlamydomonas* เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลัมโบกพัด 2-4 เส้น *Chlorella* และ *Chlorococcum* เคลื่อนที่ไม่ได้เนื่องจากไม่มีแฟลกเจลลัม (ยิวตี, 2549)

#### 2.1.2.1 *Ankistrodesmus* sp.



รูปที่ 2.2 ลักษณะเซลล์ของ *Ankistrodesmus* sp. (กำลังขยาย 1000 เท่า) (ที่มา : [http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Ankistrodesmus/sp\\_5b.html](http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Ankistrodesmus/sp_5b.html))

#### อนุกรมวิธาน

Division Chlorophyta (John *et al.*, 2002)

Class Chlorophyceae

Order Sphaeropleales

Family Selenastraceae

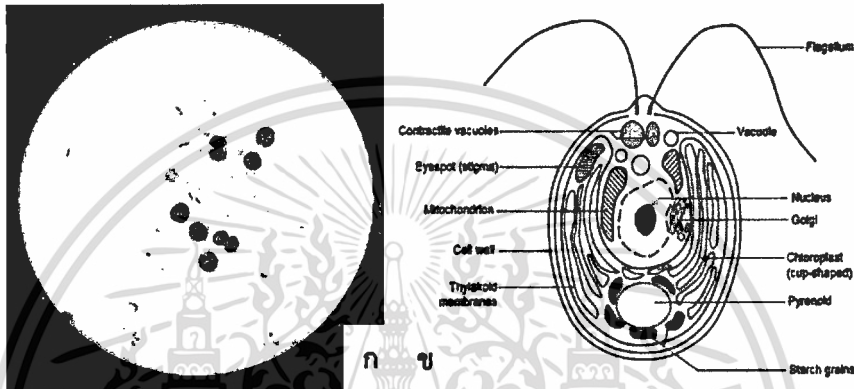
Genus *Ankistrodesmus*

*Ankistrodesmus* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียว มีรูปร่างเรียวยาว หัวท้ายแหลม โค้งเล็กน้อย หรือเป็นรูปพระจันทร์เสี้ยว รูปกระสวย หรือรูปเคียว ขนาดประมาณ 15-105 ไมโครเมตร × 1-6 ไมโครเมตร มีลักษณะอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือเป็นกลุ่มเซลล์ประมาณ 4-32 เซลล์ ไม่มีซีทัมเซลล์ คลอโรพลาสต์เป็นแผ่นรูปรีและอยู่ริมเซลล์ จำนวน 1 อัน อาจมีหรือไม่มีไฟรีนอยด์ ไม่มีแฟลกเจลลา

ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างออตสปอร์ พบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำจืด (ปฐมพร และคณะ, 2017)

*Ankistrodesmus* มีประมาณ 20 สายพันธุ์ สามารถใช้ประโยชน์ในด้านการเป็นอาหารให้แก่ลูกสัตว์น้ำเศรษฐกิจ และเป็นแหล่งไขมันที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล เช่น *Ankistrodesmus falcatus* และ *Ankistrodesmus gracilis* (วราหิตย์, 2560)

### 2.1.2.2 *Chlamydomonas* sp.



รูปที่ 2.3 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Chlamydomonas* sp. (ก) *Chlamydomonas* sp. (กำลังขยาย 1000 เท่า) (ข) โครงสร้างและองค์ประกอบของเซลล์ *Chlamydomonas* sp (ที่มา : <https://elifesciences.org/articles/39233>)

#### อนุกรมวิธาน

Division Chlorophyta (John et al., 2002)

Class Chlorophyceae

Order Chlamydomonadales

Family Chlamydomonadaceae

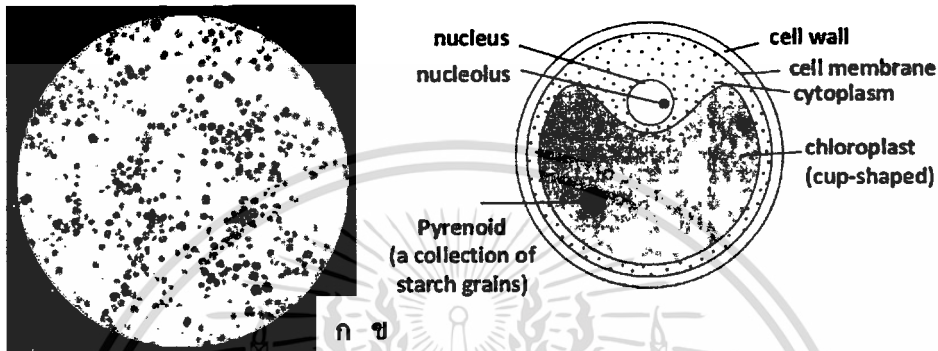
Genus *Chlamydomonas*

*Chlamydomonas* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียว มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว มีแฟลกเจลลา 2 เส้น เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรี มีคลอโรพลาสต์รูปถ้วย รูปตัวเอช (H) หรือเป็นแถบข้างเซลล์ มีไพเรโนอยด์ 1 หรือหลายอันอยู่บนคลอโรพลาสต์ อายสปอตอยู่บนคลอโรพลาสต์ซึ่งอยู่ใกล้ฐานของแฟลกเจลลา ซึ่งทำหน้าที่ช่วยรับแสงและทำให้เซลล์รับรู้ว่าจะเคลื่อนที่ไปทางใด สาหร่ายในสกุลนี้มีหลายสปีชีส์ พบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำจืด อาจพบได้เล็กน้อยในน้ำทะเล มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างออตสปอร์ ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะสร้างแกมีต แกมีตจะรวมกันแบบไอโซแกมีต

(Sinha, n.d.) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Chlamydomonas* มีประมาณ 500 สายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ที่นิยมนำมาใช้ประโยชน์มากคือ *Chlamydomonas reinhardtii* ซึ่งใช้ประโยชน์ในด้านการนำมาใช้เป็นตัวอย่างในการศึกษาด้านชีววิทยาโมเลกุล โดยเฉพาะการเคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลา และการเพิ่มจำนวนและพันธุกรรมของคลอโรพลาสต์ (อัญชลี, 2554)

### 2.1.2.3 *Chlorella* sp.



รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Chlorella* sp. (ก) *Chlorella* sp. (กำลังขยาย 1000 เท่า) (ข) โครงสร้างและองค์ประกอบภายในเซลล์ *Chlorella* sp. (ที่มา : <https://johnsborneabcbiology.files.wordpress.com/2016/11/chlorella-4-638.jpg>)

#### อนุกรมวิธาน

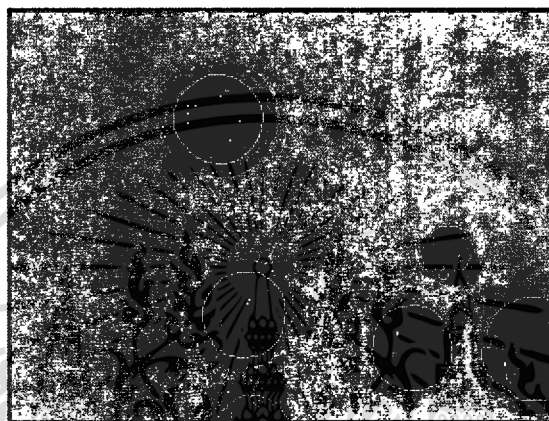
Division	Chlorophyta (Bock et al., 2011)
Class	Trebouxiophyceae
Order	Chlorellales
Family	Chlorellaceae
Genus	<i>Chlorella</i>

*Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายเซลล์เดียวที่มีขนาดเล็กประมาณ 2-10 ไมโครเมตร อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ หรือรวมกันเป็นกลุ่มก้อน ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างหลายแบบ เช่น ทรงกลม รูปไข่ และรูปรี ไม่มีแฟลกเจลลา (นริศรา, 2557) มีคลอโรพลาสต์รูปร่างคล้ายถ้วยหรือระฆัง หรือเป็นแบบแถบข้าง (Parietal) สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างออสปอร์จำนวน 4, 8 หรือ 16 เซลล์ของ *Chlorella* เติบโตได้ในแหล่งที่มีความเข้มข้นของสารอาหารในช่วงกว้าง ในธรรมชาติจึงพบสาหร่ายชนิดนี้ได้ในทั้งแหล่งน้ำจืด น้ำเค็ม และน้ำเสีย โดยทั่วไปจะอยู่อย่างอิสระ และบางชนิดก็อาศัยอยู่ในตัวของสัตว์อื่น เช่น ฟองน้ำ โปรโตซัว เป็นต้น ซึ่งบางครั้งจะเรียก *Chlorella* ชนิดนี้ว่า *Zoochlorella* (Kumar and Singh 1971)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Chlorella* มีประมาณ 25 สายพันธุ์ มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบไปด้วยโปรตีนร้อยละ 50-60 ของน้ำหนักแห้ง ประโยชน์ของสาหร่าย *Chlorella* ส่วนใหญ่จะใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพสำหรับมนุษย์ เนื่องจากคุณค่าทางอาหารสูง (ยวดี, 2549) เป็นอาหารของลูกสัตว์น้ำเศรษฐกิจ เช่น *Chlorella ellipsoidea* (สถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำจืด, ม.ป.ป.) นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถสร้างยาปฏิชีวนะที่ชื่อว่า คอลเรลลิน (Chlorellin) ได้ (ยวดี, 2549)

#### 2.1.2.4 *Chlorococcum* sp.



รูปที่ 2.5 ลักษณะเซลล์ของ *Chlorococcum* sp. (กำลังขยาย 1000 เท่า)  
(ที่มา : <https://utex.org/products/utex-lb-2221>)

#### อนุกรมวิธาน

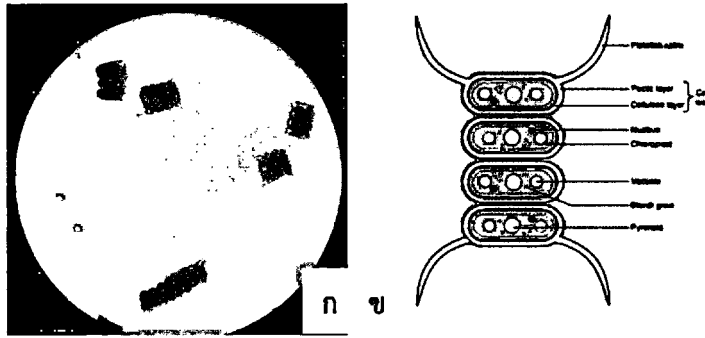
Division Chlorophyta (Tsarenko et al., 2011)  
Class Chlorophyceae  
Order Chlamydomonadales  
Family Chlorococcaceae  
Genus *Chlorococcum*

*Chlorococcum* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียว มีลักษณะอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ หรืออยู่เป็นกลุ่มเซลล์ประมาณ 2-6 เซลล์ รูปร่างกลมหรือรูปไข่ผนังเซลล์เรียบ มีคลอโรพลาสต์เป็นรูปถ้วยเกือบเต็มเซลล์ มีโพรีนอยด์ 1 อันหรือมากกว่า สืบพันธุ์โดยการสร้างซุโอสปอร์ สามารถพบได้ตามแหล่งน้ำจืดทั่วไป มีบางสายพันธุ์ที่อาจพบได้ตามน้ำพุร้อนหรือในดิน (Watanabe and Lewis, 2017)

*Chlorococcum* มีประมาณ 50 สายพันธุ์ สามารถใช้ประโยชน์ในด้านการเป็นแหล่งไขมันที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล อาหารของลูกสัตว์น้ำเศรษฐกิจ เช่น *Chlorococcum littorale* (Berberoglu et al., 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.1.2.5 *Scenedesmus* sp.



รูปที่ 2.6 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Scenedesmus* sp. (ก) *Scenedesmus* sp. (กำลังขยาย 1000 เท่า) (ข) โครงสร้างและองค์ประกอบของเซลล์ *Scenedesmus* sp. (ที่มา : [http://cronodon.com/BioTech/Algal\\_Bodies.html](http://cronodon.com/BioTech/Algal_Bodies.html))

#### อนุกรมวิธาน

Division Chlorophyta (Tsarenko *et al.*, 2011)

Class Chlorophyceae

Order Chlorococcales

Family Scenedesmaceae

Genus *Scenedesmus*

*Scenedesmus* sp. เป็นกลุ่มเซลล์ที่มีจำนวนเซลล์ที่คูณของ 2 ส่วนใหญ่มีจำนวนเซลล์ 4-8 เซลล์ โดยที่เซลล์เรียงกันโดยใช้ด้านข้างแตะกัน รูปร่างเซลล์แต่ละเซลล์เป็นรูปไข่ รูปกระสวย รูปวงเดือน หรือรูปรี อาจจัดเป็นแถวเดียวหรือสองแถว (บน-ล่าง) หัวท้ายแหลมหรือมน บางชนิดเซลล์ที่อยู่ริมสุดอาจจะมีหนาม (Spine) ยื่นออกมาทั้งสองด้าน ด้านละ 1-2 อัน มีคลอโรพลาสต์เป็นแผ่นเต็มเซลล์ มีไพเรโนยด์และนิวเคลียสเซลล์ละ 1 อัน เท่ากับจำนวนเซลล์ของ *Scenedesmus* ชนิดนั้น มีสปีคันต์แบบอาศัยเพศโดยการสร้างแกมีตที่มีแฟลกเจลลัม 2 เส้น มีการรวมกันแบบไอโซแกมีต สปีคันต์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างซูโอสปอร์ ดำรงชีวิตแบบล่องลอยเป็นอิสระและแบบยึดเกาะ พบในแหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหล (Akgül *et al.*, 2017)

*Scenedesmus* มีประมาณ 300 สายพันธุ์ สามารถใช้ประโยชน์ในด้านการอาหารของลูกสัตว์น้ำ ใช้ทำปุ๋ย ช่วยในการบำบัดน้ำเสีย เป็นแหล่งไขมันที่ใช้ในการผลิตไบโอดีเซล เช่น *Scenedesmus dimorphus* (จิรรัตน์ และสุนิรัตน์, 2556) ดูปริมาณเพื่อป้องกันสภาพแหล่งน้ำ เช่น *Scenedesmus quadricauda* (ดวงกมล, 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

### 2.2.1 รูปแบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. ระบบเปิด มีการใช้แสงจากดวงอาทิตย์เป็นแหล่งพลังงาน เพาะเลี้ยงในบ่อเปิดขนาดใหญ่ นิยมใช้ในการผลิตสาหร่ายในปริมาณมาก เป็นการเพาะเลี้ยงในเชิงการค้า เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายต่ำ ทั้งในด้านการก่อสร้าง (ที่ดินและน้ำ) และแหล่งพลังงาน แต่ปัญหาของการเพาะเลี้ยงในระบบเปิดคือการปนเปื้อนได้ง่ายของสาหร่าย ความลึกของบ่อที่ต้องพอดีกับการได้รับแสงอย่างทั่วถึง การระเหยของน้ำ และการควบคุมสภาพแวดล้อมของการเพาะเลี้ยง ทำให้ความสามารถในการผลิตที่ได้น้อยกว่าความเป็นไปได้ในทางทฤษฎี การเพาะเลี้ยงแบบระบบเปิดที่นิยมใช้งาน มี 4 ประเภท คือ บ่อน้ำตื้นขนาดใหญ่ ถังน้ำ บ่อน้ำแบบกลม และบ่อร่องน้ำ (Borowitzka, 1999)

2. ระบบปิด จะเพาะเลี้ยงสาหร่ายในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ และใช้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ข้อดีคือลดความเสี่ยงการปนเปื้อนได้สูง ผลิตสาหร่ายได้ปริมาณมาก เมื่อเทียบกับระบบเปิด มีประสิทธิภาพในการใช้งานสูง ลดการสูญเสียคาร์บอนไดออกไซด์ ควบคุมสภาวะแวดล้อมทางกายภาพได้ง่าย เช่น อุณหภูมิ และความเข้มแสง รักษาความหนาแน่นของเซลล์ได้ดีกว่าระบบเปิด ข้อเสียคือ มีต้นทุนในการดำเนินการ และการบำรุงรักษาที่สูงมาก หากใช้ในการผลิตในระดับอุตสาหกรรม จะใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูง เช่น ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายมีหลายชนิดด้วยกัน ยกตัวอย่างเช่น ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบแผ่นแบน (Flat-plate photobioreactors) ถังปฏิกรณ์แบบท่อ (Tubular photobioreactors) ถังปฏิกรณ์แบบแนวตั้ง (Vertical-column photobioreactors) และถังปฏิกรณ์แบบส่องสว่างภายใน (Internally-illuminated photobioreactors) (Ugwu *et al.*, 2008) โดยถังปฏิกรณ์ชีวภาพแต่ละชนิดจะมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกันไป การเลือกใช้จึงขึ้นอยู่กับจุดประสงค์ของการเพาะเลี้ยงสาหร่าย โดยต้องเลือกให้มีความเหมาะสมกับสาหร่ายที่ใช้ สภาวะแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง รวมถึงต้นทุนการผลิต

### 2.2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

อิทธิพลของปัจจัยต่างๆ ต่อการเจริญของสาหร่ายขนาดเล็ก ทำให้มีการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก มีดังนี้ (Junying *et al.* 2013)

1. แสง ความเข้มแสงมีความสำคัญเนื่องจากสาหร่ายจะเจริญเติบโตได้เมื่อความเข้มแสงสูงกว่าจุดชดเชยแสง (Light compensation point) คือ ค่าความเข้มแสงที่ทำให้อัตราการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับอัตราการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยสาหร่ายแต่ละชนิดจะมีการดูดซับแสงที่มีความยาวคลื่นแตกต่างกันออกไป วงจรแสงมืดและแสงสว่างยังมีอิทธิพลอย่างมากต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

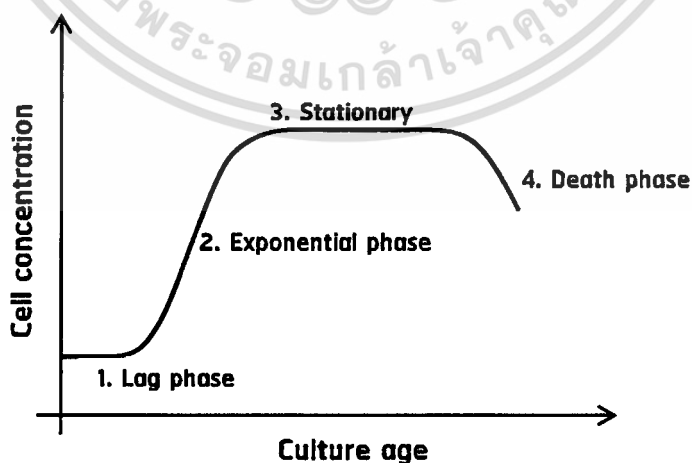
2. สารอาหาร การเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กต้องมียังองค์ประกอบหลายอย่างในการเจริญเติบโต เช่น คาร์บอน (C) ออกซิเจน (O) ไฮโดรเจน (H) ไนโตรเจน (N) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) เหล็ก (Fe) กำมะถัน (S) ฟอสฟอรัส (P) และแร่ธาตุเสริม (Trace elements) องค์ประกอบที่สำคัญ คือ คาร์บอน ออกซิเจน และไฮโดรเจน สารอาหารทั้งสามชนิดนี้สาหร่ายจะได้รับจากน้ำและอากาศ ส่วนองค์ประกอบ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม สาหร่ายได้รับจากอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย โดยไนโตรเจนและฟอสฟอรัสมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตและการผลิตไขมันในสาหร่ายขนาดเล็ก

3. คาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$ ) และค่าความเป็นกรดต่าง (pH) คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นหนึ่งในสารตั้งต้นและหนึ่งในปัจจัยจำกัดในการสังเคราะห์ด้วยแสงของสาหร่าย การสังเคราะห์แสงจะมีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อคาร์บอนไดออกไซด์มีความเข้มข้นร้อยละ 1 ถึง 5 โดยปริมาตร ส่วนค่าความเป็นกรดต่างก็เป็นปัจจัยหลักที่มีอิทธิพลต่อปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ ดังนั้นจึงควรควบคุมค่าความเป็นกรดต่างในระหว่างการเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มความสามารถในการดูดซับและการใช้ประโยชน์จากคาร์บอนไดออกไซด์ของสาหร่ายขนาดเล็ก

4. อุณหภูมิ อุณหภูมิมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็กเช่นกัน ช่วงอุณหภูมิที่สาหร่ายทนได้มีความแตกต่างกันในสาหร่ายสายพันธุ์ต่างๆ เช่น สาหร่าย *Chlorella* และ *Scenedesmus* สามารถอยู่ได้ในอุณหภูมิช่วง 5 ถึง 35 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 25 ถึง 30 องศาเซลเซียส ซึ่งควรควบคุมในระหว่างการเพาะเลี้ยง เพื่อประสิทธิภาพสูงสุดในการเจริญของสาหร่าย

### 2.2.3 ระยะการเจริญของสาหร่าย

ระยะการเจริญของสาหร่ายสามารถแบ่งได้ 4 ระยะดังนี้ (Price and Farag, 2013)



รูปที่ 2.7 การเจริญของสาหร่าย 4 ระยะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. Lag phase เป็นระยะที่เซลล์สาหร่ายปรับตัวให้เข้ากับสภาวะใหม่ มีการเจริญเติบโตช้ามาก หรือไม่มีการเจริญเติบโตเลย
2. Exponential phase เป็นระยะที่มีการแบ่งเซลล์ด้วยอัตราที่คงที่ และการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว
3. Stationary phase เป็นระยะที่สาหร่ายมีการเจริญเติบโตหรือแบ่งเซลล์ช้าลง เนื่องจากขาดสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต
4. Death phase เป็นระยะที่เซลล์สาหร่ายเริ่มตาย และไม่มีการแบ่งเซลล์เพิ่มอีก เนื่องจากสารอาหารหมดลง

### 2.3 องค์ประกอบของไขมันสาหร่าย

กรดไขมันจัดเป็นกรดคาร์บอกซิลิก (Carboxylic acid) ที่มีหมู่  $-COOH$  เพียงหมู่เดียวต่อกับไฮโดรคาร์บอนสายยาวเส้นตรง กรดไขมันที่พบในธรรมชาติมักมีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นจำนวนคู่ระหว่าง 4-24 อะตอม และพบในรูปกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid) เล็กน้อย แต่ส่วนใหญ่พบในรูปที่ละลายในไขมัน (Saponifiable lipid) (ศุภศิษฏ์, 2552)



### รูปที่ 2.8 โครงสร้างทางเคมีของกรดไขมัน

(ที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0800/fatty-acid>)

ชีวมวลของสาหร่ายประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน สาหร่ายหลายสายพันธุ์สามารถผลิตน้ำมันได้มากถึงร้อยละ 35 ของน้ำหนักแห้ง องค์ประกอบของน้ำมันที่พบได้ในสาหร่ายจะคล้ายคลึงกับน้ำมันที่พบได้ในพืชน้ำมันอื่นๆ เช่น ปาล์ม เป็นต้น เรียกว่า ไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งประกอบด้วย กรดไขมันชนิดต่างๆ จำนวน 3 โมเลกุล และ กลีเซอรอลจำนวน 1 โมเลกุล สาหร่ายขนาดเล็กจะผลิตกรดไขมันที่มีความยาวคาร์บอนอยู่ระหว่าง 12-22 อะตอม โดยพบทั้งไขมันชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการเขียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่หรือใช้เพื่อการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิ่มตัวและไขมันชนิดไม่อิ่มตัว กรดไขมันที่พบได้มากที่สุดจะเป็นกรดไขมันที่มีความยาวคาร์บอน 16 อะตอม (C<sub>16</sub>) และคาร์บอน 18 อะตอม (C<sub>18</sub>)

Jena. *et al.* (2012) ได้ศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันของไขมันทั้งหมด ผลการศึกษาในตารางที่ 2.1 พบว่าไขมันในสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กทั้งหมดส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว (ร้อยละ 63 ถึง 80) และมีอัตราส่วนของกรดพาล์มิติก (C16:0) ร้อยละ 19.5 ถึง 30.3 ซึ่งเป็นกรดไขมันอิ่มตัวที่โดดเด่นในทุกสาหร่าย

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของกรดไขมัน (ร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด) ของสาหร่ายขนาดเล็ก (Jena *et al.*, 2012)

กรดไขมัน (fatty acid)	ร้อยละของกรดไขมัน		
	<i>Chlorococcum</i> sp.	<i>Chlorella</i> sp.	<i>Scenedesmus</i> sp.
กรดลอริก (C12:0)	-	0.3	-
กรดไมริสติก (C14:0)	-	0.9	0.7
กรดพาล์มิติก (C16:0)	19.5	24.5	30.3
กรดสเตียริก (C18:0)	0.5	2.5	1.2
กรดโอเลอิก (C18:1)	12.8	15.1	17.5
กรดไลโนเลอิก (C18:2)	13.7	5.7	21.1
กรดลิโนเลนิก (C18:3)	20.6	26.3	9.2
กรดอะราซิดิก (C20:0)	0.2	0.4	0.1
กรดไอโคซาเพนตาอีโนอิก (EPA) (C20:5)	0.1	1.1	0.8
กรดบีฮีนิก (C22:0)	0.1	1.1	0.6
กรดลิโนซีริก (C24:0)	-	0.8	0.3

## 2.4 การสกัดไขมันของสาหร่าย

วิธีสกัดไขมันในสาหร่าย มีวิธีที่นิยมใช้ 2 วิธีคือ

### 2.4.1 วิธี Folch (Floch *et al.*, 1957)

เป็นวิธีสกัดไขมันที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เป็นสารผสมระหว่างคลอโรฟอร์มและเมทานอล ในอัตราส่วน 2 ต่อ 1 โดยปริมาตร จากนั้นเติมสารละลายน้ำเกลือ 1 ใน 4 แล้วผสมให้เข้ากัน ส่วนผสมที่ได้จะแยกออกเป็น 2 ชั้น ไขมันที่สกัดได้จะอยู่ในสารละลายชั้นบน (ชั้นคลอโรฟอร์ม) วิธีสกัดไขมันวิธีนี้เป็นวิธีที่เก่าแก่ที่สุดในวิธีการสกัด ซึ่งเป็นพื้นฐานสำหรับการพัฒนากระบวนการสกัด

### ไขมันในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

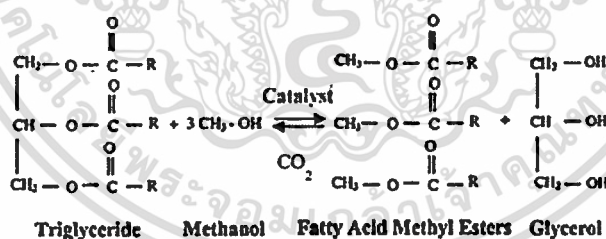
### 2.4.2 วิธี Bligh and Dyer (Bligh and Dyer, 1959)

เป็นวิธีสกัดไขมันที่คล้ายกับวิธีของ Folch แต่แตกต่างกันที่อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อตัวทำละลายและตัวทำละลายต่อสารตัวอย่าง โดยใช้ตัวทำละลายคลอโรฟอร์มและเมทานอล ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 โดยปริมาตร ซึ่งไขมันที่สกัดได้จะอยู่ในชั้นคลอโรฟอร์ม วิธี Bligh and Dyer เป็นวิธีที่ผู้ศึกษาด้านสาหร่ายใช้หาปริมาณไขมันกันอย่างแพร่หลาย และยังใช้กระบวนการเดียวกันนี้ในการสกัดทั้งขนาดกลาง (Pilot scale) และขนาดใหญ่ (Large scale)

## 2.5 เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME)

เมื่อเชื้อเพลิงฟอสซิลถูกแทนที่ด้วยทางพลังงานทางเลือกที่ยั่งยืน เช่น การใช้พลังงานลม พลังงานแสงอาทิตย์ และการใช้ไขมันจากสาหร่ายขนาดเล็กเพื่อผลิตเชื้อเพลิงการคมนาคมขนส่ง เช่น ไบโอดีเซล สาหร่ายขนาดเล็กมีข้อดีหลายประการเมื่อเทียบกับเชื้อเพลิงฟอสซิล เช่น การใช้คาร์บอนไดออกไซด์ซ้ำ การเจริญเติบโตโดยการสังเคราะห์แสง ไบโอดีเซลหรือเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) ผลิตจากกระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชันของไตรกลีเซอไรด์กับเมทานอล ทำให้เกิดผลพลอยได้คือกลีเซอรอล (Yadav *et al.*, 2018)

กระบวนการทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน เป็นปฏิกิริยาเคมีระหว่างไตรกลีเซอไรด์ที่ได้มาจากไขมันพืชต่างๆ เช่น น้ำมันปาล์ม น้ำมันถั่วเหลือง หรือน้ำมันจากสาหร่าย กับแอลกอฮอล์ (เมทานอลหรือเอทานอล) ภายใต้สภาวะที่มีตัวเร่งปฏิกิริยาชนิดต่างๆ เช่น ตัวเร่งปฏิกิริยาจากต่างได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ หรือโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ จากกรด เช่น กรดซัลฟูริก และตัวเร่งปฏิกิริยาจากเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ไลเปส เป็นต้น (พนิตา, 2552)



รูปที่ 2.9 ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชันแบบผันกลับได้เพื่อเปลี่ยนไตรกลีเซอไรด์เป็นไบโอดีเซล (Yadav *et al.*, 2018)

## 2.6 แบคทีเรียที่ก่อโรคพืช

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กมาก ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า มีอยู่ประมาณ 1600 สายพันธุ์ ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตแบบแซโพรไฟต์ (Saprophyte) คืออยู่ได้ด้วยการย่อยสลายซากพืชซากสัตว์ และมีอยู่จำนวนน้อยที่ดำรงชีวิตแบบปรสิตบนมนุษย์ สัตว์ และพืช แบคทีเรียที่สามารถทำให้พืชเป็นโรค สามารถพบได้ทั่วไปในสภาพที่มีอากาศชื้นและอบอุ่น เนื่องจากแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงและปรับตัวอยู่เสมอ (ไพเรจัน, 2556)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.6.1 แบคทีเรีย *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*



รูปที่ 2.10 *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* (ก) ลักษณะของเซลล์ *E. carotovora* pv. *carotovora* (SEM) (ที่มา : <https://pixels.com/featured/erwini-carotovora-sciemat.html>) (ข) เซลล์แบคทีเรียติดสีแดงของซาฟรานิน (กำลังขยาย 1000 เท่า) (ที่มา : [https://www.researchgate.net/figure/Photomicrograph-of-Gram-stained-exponentially-growing-Pectobacterium-carotovorum-SCC1\\_fig2\\_321952988](https://www.researchgate.net/figure/Photomicrograph-of-Gram-stained-exponentially-growing-Pectobacterium-carotovorum-SCC1_fig2_321952988))

อนุกรมวิธาน (Holt *et al.*, 1994)

Phylum	Proteobacteria
Class	Gammaproteobacteria
Order	Enterobacteriales
Family	Enterobacteriaceae
Genus	<i>Erwinia</i>
Species	<i>carotovora</i>

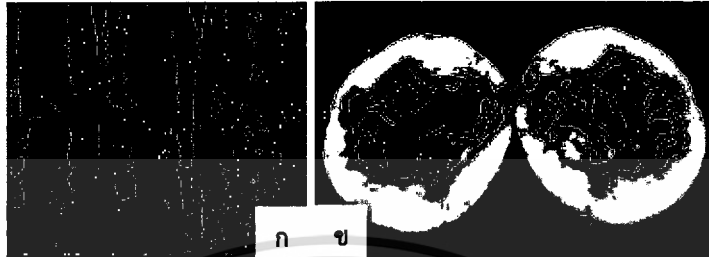
แบคทีเรีย *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น ขนาดประมาณ 0.7x1.2 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้ ด้วย Peritrichous flagella 1-6 เส้น เป็นแบคทีเรียจำพวกที่เจริญได้ทั้งในบรรยากาศที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน (Holt *et al.*, 1994) ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* pv. *Carotovora* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA มีลักษณะกลมมน ขอบเรียบ มันวาว สีครีมใส (ศศิธร, 2545)

เชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* ส่วนใหญ่จะก่อโรคพืชเศรษฐกิจ เช่น แครอท กะหล่ำปลี แตงกวา มะเขือเทศ มันฝรั่ง เป็นต้น โดยจะเข้าสู่ภายในพืชและก่อให้เกิดโรค โดยผ่านทางบาดแผลหรือช่องเปิดธรรมชาติ หรืออาจจะเข้าทำลายซ้ำเติม (Secondary infection) คือ การที่เชื้อแบคทีเรียตัวนี้ตามเข้าไปหลังจากที่มีเชื้ออื่นเข้าทำลายพืชอยู่ก่อนแล้ว เชื้อจะเข้าไปเจริญอยู่เป็นจำนวนมากและสร้างเอนไซม์เพกทิเนส (Pectinase) ออกมาย่อยสลายสารเพกตินที่ทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมเซลล์ มีผลทำให้เซลล์ขาดและหลุดออกจากกัน ทำให้เกิดอาการเน่าเละ (Soft rot) ซึ่งมักเกิดบนส่วนที่อ่อนนุ่มและอวบน้ำของพืช ยอดอ่อน พืชผักผลไม้บางชนิด และราก ลักษณะอาการคือเริ่มจากรอยแผลซ้ำ ฉ่ำน้ำเล็กๆ ขึ้น หากสภาพแวดล้อมเหมาะสม แผลจะขยายโตออกทั้งโดยรอบและลึก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับโรงเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิอนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตในการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลงไปภายในเนื้ออย่างรวดเร็วและยุบตัวลง ภายในเวลาเพียง 1-2 วัน อาการเน่าจะกระจายออกไปอย่างกว้างขวางครอบคลุมทั้งส่วนของพืชที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย ขณะเดียวกัน เชื้อ *Erwinia carotovora* pv. *carotovora* ก็จะเพิ่มปริมาณเป็นจำนวนมาก เกิดเป็นเมือกเฝิ้มปกคลุมบริเวณแผลทั้งหมดไว้ (ซานนทร์, 2557)



รูปที่ 2.11 พืชที่มีอาการเน่าละ (Soft rot) (ก) แครอทที่มีอาการเน่าละ ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *E. carotovora* (ที่มา : [http://agritech.tnau.ac.in/crop\\_protection/carrot\\_phdiseases\\_6.html](http://agritech.tnau.ac.in/crop_protection/carrot_phdiseases_6.html)) (ข) มันฝรั่งที่มีอาการเน่าละ (ที่มา : [http://www.pestnet.org/fact\\_sheets/potato\\_soft\\_rot296.htm](http://www.pestnet.org/fact_sheets/potato_soft_rot296.htm))

#### 2.6.2 แบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum*



รูปที่ 2.12 *Ralstonia solanacearum* (ก) ลักษณะของเซลล์ *R. solanacearum* (SEM) (ที่มา : [https://www.researchgate.net/figure/Images-of-Ralstoniasolanacearum-strain-UY031-usingtransmission-a-and-scanningb\\_fig1\\_290623535](https://www.researchgate.net/figure/Images-of-Ralstoniasolanacearum-strain-UY031-usingtransmission-a-and-scanningb_fig1_290623535)) (ข) เซลล์ *R. solanacearum* ติดสีแดงของซาฟรานิน (กำลังขยาย 1000 เท่า) (ที่มา : Narumol and Jirapa, 2007)

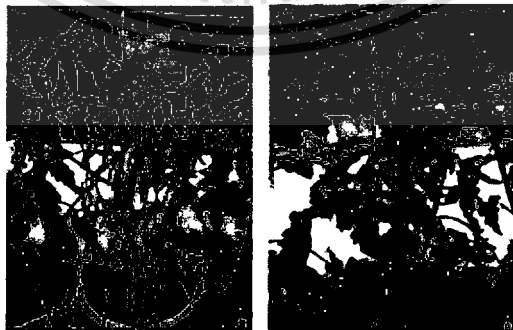
อนุกรมวิธาน (Yabuuchi *et al.*, 1995)

Phylum	Proteobacteria
Class	Betaproteobacteria
Order	Burkholderiales
Family	Burkholderiaceae
Genus	<i>Ralstonia</i>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษา Species *Ralstonia solanacearum* ไม่อนุเคราะห์นโยบายด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างเป็นท่อนตรง หัวท้ายมน มีขนาดเฉลี่ยประมาณ  $0.5-0.7 \times 1.5-2.0$  ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลัม 1 เส้น (Sneath *et al.*, 1986) เชื้อชนิดนี้ต้องการออกซิเจน ไม่สร้างสปอร์ ไม่มีแคปซูลห่อหุ้ม สามารถเปลี่ยนไนเตรท ( $\text{NO}_3$ ) เป็นไนไตรท์ ( $\text{NO}$ ) และแอมโมเนียได้ (Stevenson *et al.*, 2001) สามารถสร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase) และเอนไซม์ออกซิเดส (Oxidase) แต่ไม่สามารถย่อยแป้งได้ ใช้คาร์บอนจากแหล่งต่างๆ เช่น กลูโคส ซูโครส แมนโนส (Holt *et al.*, 1994) และยังสามารถผลิตสารต่างๆ ที่เป็นปัจจัยต่อการเกิด คือ extracellular polysaccharide (EPS) และเอนไซม์ที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของพืช เช่น endoglucanase (EG) เป็นต้น (Huang and Allen, 2000) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 27 องศาเซลเซียส ลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA พบว่ามีลักษณะโคโลนีกลมค่อนข้างเล็ก ผิวหน้าเรียบมันวาว เมื่ออายุน้อยจะมีสีขาวขุ่น และจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่ออายุมากขึ้น (Stevenson *et al.*, 2001) เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้มีความสามารถในการก่อโรคพืชได้มากกว่า 20 สายพันธุ์ ใน 50 สกุล รวมถึงพืชเศรษฐกิจต่าง ๆ เช่น มะเขือเทศ พริก มันฝรั่ง ชิง เป็นต้น และยังสามารถอยู่รอดในดินได้เป็นเวลานานกว่าสิบปีแม้ว่าจะมีการทิ้งร้างพื้นที่เพาะปลูกอย่างต่อเนื่อง (Prior *et al.*, 1998)

อาการของโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* คือเกิดอาการเหี่ยวเฉาหรือโรคทางเดินของท่อน้ำท่ออาหาร (Wilts or vascular diseases) เนื่องจากการขาดน้ำอันเนื่องมาจากแบคทีเรีย โดยที่แบคทีเรียจะสร้างสาร Extracellular polysaccharide (EPS) ขึ้น หรืออาจเกิดจากการที่พืชสร้าง Tylose ขึ้นมาเพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อแพร่กระจายไปสู่ส่วนต่างๆ ของพืช ทำให้เกิดการอุดตันของเซลล์ขึ้น ส่งผลให้ระบบท่อลำเลียงของพืชผิดปกติ (Husain and Kelman, 1958) ทำให้เกิดอาการเหี่ยวเฉา โดยในระยะแรกพืชจะเกิดอาการเหี่ยวในช่วงกลางวันที่มีอากาศร้อนและฟื้นเป็นปกติในเวลากลางคืน ใบล่างเหี่ยวและห้อยลง หลังจากนั้นพืชจะแสดงอาการเหี่ยวทั้งต้น ใบม้วนงอลงทั้งที่ต้นยังเขียวอยู่ หากสภาพแวดล้อมเหมาะสม อากาศร้อนจัด ความชื้นสูง การพัฒนาของโรคจะเร็วมาก พืชจะเหี่ยวทั้งต้นและตายอย่างรวดเร็วในเวลา 2-3 วัน (จุฑาทิพย์ และคณะ, 2548)

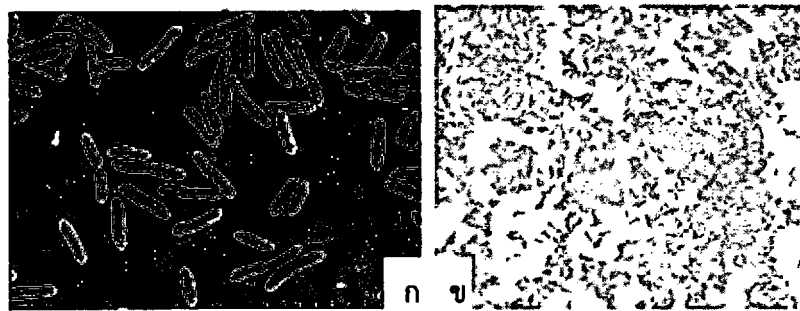


รูปที่ 2.13 ต้นมะเขือเทศที่แสดงอาการเหี่ยวซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* (ซ้าย) และต้นมะเขือเทศปกติ (ขวา) (ที่มา : <http://www3.rdi.ku.ac.th/exhibition/50/tech>

เอกสารนี้ [nology/02techno/2tech.html](http://www3.rdi.ku.ac.th/exhibition/50/tech)) ซึ่งงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.6.3 แบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae*



รูปที่ 2.14 *Xanthomonas oryzae* (ก) ลักษณะของเซลล์ *X. oryzae* (SEM) (ที่มา : <https://pdfs.semanticscholar.org/f14f/40556fe08cc29d2c653f82f90356ec49dcd4.pdf>) (ข) เซลล์ *X. oryzae* ติดสีแดงของซาฟรานิน (กำลังขยาย 1000 เท่า) (ที่มา : <https://www.semanticscholar.org/paper/Xanthomonas-oryzae-pv.-oryzae%2C-BiochemicalTests%2CJonitLow/c75ecf6c691e326>)

อนุกรมวิธาน (Swings *et al.* 1990)

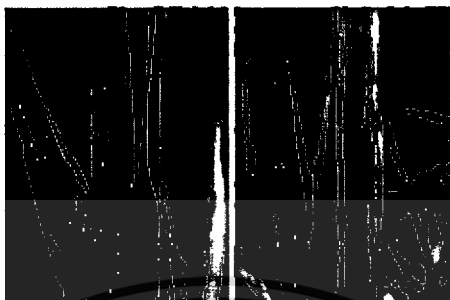
Phylum	Proteobacteria
Class	Gammaproteobacteria
Order	Xanthomonadales
Family	Xanthomonadaceae
Genus	<i>Xanthomonas</i>
Species	<i>oryzae</i>

*Xanthomonas oryzae* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างเป็นแท่ง มีขนาดประมาณ 0.7-2.0 ไมโครเมตร เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลา 1 เส้น ชนิด Polar flagella ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต (Obligate aerobic bacteria) ลักษณะของเชื้อที่เจริญบนอาหารแข็ง NA มีลักษณะโคโลนีเป็นสีเหลืองอ่อน กลมมนและเรียบ เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส สามารถสร้างเอนไซม์คัคเตเลส แต่ไม่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดส เชื้อชนิดนี้สามารถสร้าง Exopolysaccharide (EPS) เพื่อปกป้องเซลล์ของแบคทีเรีย (Liu *et al.*, 2006)

เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* สามารถเข้าทำลายข้าวได้ทุกช่วงระยะการเจริญ โดยเข้าทางบาดแผลหรือช่องเปิดธรรมชาติ เช่น รุคายน้ำ ปากใบ โดยเชื้อแบคทีเรียจะเข้าไปเพิ่มจำนวนในช่องว่างระหว่างเซลล์และเคลื่อนย้ายไปที่ลำเลียงน้ำ ซึ่งจะไปขัดขวางการลำเลียงน้ำ ลดการคายน้ำและลดอัตราการสังเคราะห์แสง (Elings *et al.*, 1997 ; Eppo, 2007) เชื้อเข้าทำลายทางบาดแผลหรือช่องเปิดธรรมชาติ อาการของโรคจึงเกิดขึ้นที่ขอบใบข้าว ทำให้เกิดอาการใบแห้ง (Bacterial leaf blight) ส่วนใหญ่เกิดที่พืชใบเลี้ยงเดี่ยว ใบที่เป็นโรคจะแห้งเร็ว สีเขียวของใบจะจางลงเป็นสีเทา ที่แผลมีหยดน้ำสีครีมคล้ายยางสนกลมๆ ขนาดเล็ก ต่อมาจะกลายเป็นสีน้ำตาลและหลุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นับว่าผิดเพี้ยนไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไปข้างในตามความกว้างของใบ ขอบใบจะแห้งและม้วน ในกรณีที่ต้นข้าวมีความอ่อนแอต่อโรคและเชื้อโรคมี่ปริมาณมาก จะทำให้ท่อน้ำท่ออาหารอุดตัน ต้นข้าวจะเหี่ยวเฉาและแห้งตายทั้งต้นโดยรวดเร็ว เรียกอาการของโรคนี้ว่า ครีเสก (Kresak) (Ou, 1985)

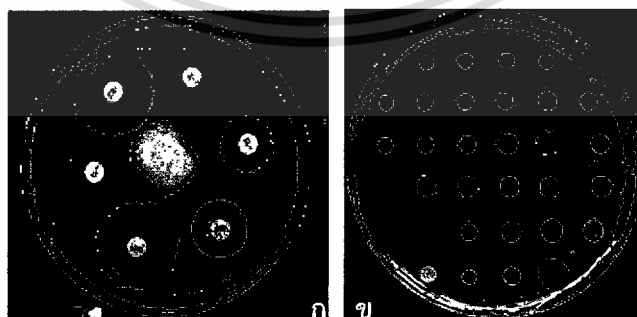


รูปที่ 2.15 ใบของต้นข้าวที่เกิดอาการขอบใบแห้งซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *X. oryzae*  
(ที่มา : <https://www.opsmoac.go.th/uthaithani-warning-preview-401391791825>)

## 2.7 การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ

### 2.7.1 วิธี Agar disc diffusion

วิธีนี้เป็นการทดสอบเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลได้ว่าเชื้อมีความไวต่อสารทดสอบหรือไม่ หลักการคือ การวางดิสก์ที่มีสารต้านจุลชีพลงบนเพลทอาหารที่มีการเกลี่ยเชื้อ (Spread) ไว้ทั่วบริเวณผิวหน้าอาหารแล้วสารต้านจุลชีพจะกระจายออกไปผ่านอาหารวัน ความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพจะสูงที่สุดบริเวณขอบของดิสก์จากนั้นจะค่อยๆ ลดลงเมื่อระยะห่างจากดิสก์เพิ่มขึ้น จนถึงจุดที่ไม่มีการยับยั้งเชื้ออีกต่อไป จากนั้นนำไปบ่มเพื่อให้เชื้อเจริญ หลังจากบ่มตามเวลาที่กำหนด หากสารต้านจุลชีพมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ จะเกิดบริเวณวงใส (Clear zone) ขึ้นรอบๆ แผ่นดิสก์ สารต้านจุลชีพ วัตถุประสงค์ของการวัดบริเวณวงใสที่เกิดขึ้น แสดงดังภาพที่ 2.16



รูปที่ 2.16 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี (ก) Agar disc diffusion (ข) วิธี Agar dilution (ที่มา : <https://basicmedicalkey.com/antimicrobial-susceptibility-on-solid-media/>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.7.2 วิธี Dilution susceptibility test

เป็นการทดสอบเชิงปริมาณ เนื่องจากสามารถทราบค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งเชื้อได้ มักทดสอบเพื่อยืนยันผลจากวิธี Agar disc diffusion ทำการทดสอบได้ 2 วิธี คือ

2.7.2.1 การทดสอบด้วยวิธี Broth dilution หรือวิธี Minimal Inhibitory Concentration (MIC) เป็นการหาความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ หลักการคือ เลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว (Broth) ที่มีสารต้านจุลชีพความเข้มข้นต่างๆผสมอยู่ จากนั้นสังเกตการเจริญของเชื้อ วิธีทดสอบแบบ Broth dilution ยังแบ่งเป็น Microdilution และ Macrodilution

Microdilution เป็นการทดสอบสำหรับการทดลองที่มีสารทดสอบปริมาณน้อย โดยทดสอบใน Microtiter plate ใช้อาหารเหลว 0.05 ถึง 0.1 มิลลิลิตร โดยการเจือจางสารต้านจุลชีพแบบลดครึ่งละ 2 เท่า (2 Fold serial dilution) จากนั้นใส่เชื้อลงไปในแต่ละหลุม แล้วนำไปบ่ม ตรวจสอบผลโดยการสังเกตความขุ่น สีที่เกิดขึ้น

Macrodilution การทดสอบเหมือนกับวิธี Microdilution เพียงแต่เป็นการทดสอบในขนาดที่ใหญ่ขึ้น คือทดสอบในหลอดทดลอง ใช้อาหารเหลวปริมาณ 1 มิลลิลิตร

2.7.2.2 การทดสอบด้วยวิธี Agar dilution วิธีนี้เป็นวิธีที่ประหยัดสารต้านจุลชีพ เมื่อต้องทำการทดสอบกับเชื้อหลายชนิด เนื่องจากสามารถทดสอบกับเชื้อหลายชนิดภายในเพลทอาหาร 1 เพลทได้ หลักการคือทำการเจือจางสารต้านจุลชีพในอาหารวัน แล้วถ่ายเชื้อลงบนผิวของอาหารวัน ทั้งให้สารซึมหมัดก่อนกว่าเพลท แล้วนำไปบ่มในอุณหภูมิที่เหมาะสม อ่านค่า MIC ในเพลท ความเข้มข้นที่ไม่มีเชื้อขึ้นเลย แสดงดังภาพที่ 2.16 (Tendencia, 2004 ; ประสาทพร และคณะ, 2551)

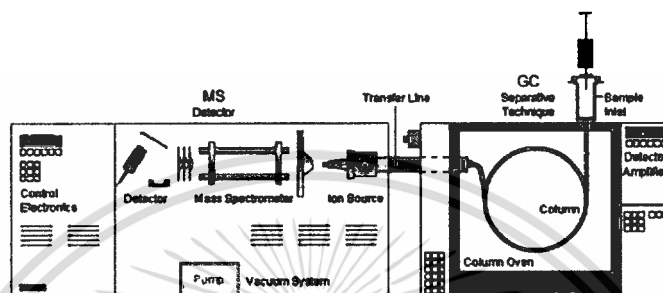
## 2.8 เครื่องวิเคราะห์ GC-MS ( Gaschromatograph-Massspectroscopy )

GC-MS เป็นการรวมการวิเคราะห์ 2 เทคนิคที่แตกต่างกันคือแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) และแมสสเปกโตรสโกปี (MS) ใช้ในการวิเคราะห์สารผสมอินทรีย์และชีวเคมีที่ซับซ้อน โดย GC สามารถแยกสารประกอบระเหยและกึ่งระเหยได้ด้วยความละเอียดมาก แต่ไม่สามารถระบุชนิดและปริมาณของสารนั้นได้ MS ไม่สามารถแยกสารออกจากกันได้ แต่สามารถระบุและวัดปริมาณสารประกอบได้อย่างแม่นยำ และให้ข้อมูลโครงสร้างอย่างละเอียด ดังนั้น จึงมีการใช้ทั้งสองเทคนิคนี้ร่วมกันตั้งแต่ในช่วงกลางปี 1950 ทั้งสองเทคนิคใช้ตัวอย่างที่อยู่ในสภาพที่เป็นไอ และใช้ในปริมาณที่เท่าๆกัน (โดยทั่วไปจะน้อยกว่า 1 นาโนกรัม)

แก๊สโครมาโทกราฟี (GC) เป็นโครมาโทกราฟีชนิดหนึ่งที่เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ใช้แก๊สเป็นตัวพา โดยปกติจะเป็นแก๊สเฉื่อย เช่น ฮีเลียม หรือแก๊สที่ไม่ทำปฏิกิริยา เช่น ไนโตรเจน ส่วนเฟสคงที่ (Stationary phase) เป็นตัวดูดซับลักษณะเป็นของแข็งเคลือบอยู่บนผิวด้านในแก้วหรือท่อโลหะที่เรียกว่าคอลัมน์ ตัวอย่างจะถูกพาผ่านคอลัมน์โดยแก๊สฮีเลียม และสารตัวอย่างจะถูกแยกในคอลัมน์เนื่องจากสารแต่ละชนิดใช้เวลาในการผ่านคอลัมน์ได้ไม่เท่ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แมสสเปกโทรสโกปี (MS) คือเครื่องตรวจจับ GC เมื่อตัวอย่างออกจากส่วนปลายสุดของคอลัมน์ GC ตัวอย่างที่เป็นแก๊สจะถูกทำให้แตกตัวเป็นไอออน และไอออนเหล่านี้จะถูกวัดออกมาตามเลขมวล ตัวอย่างหนึ่งชนิดจะถูกวัดออกมาในเวลาที่ไม่เท่ากันเรียกว่า Retention time (RT) ให้นำ Retention time เทียบกับฐานข้อมูลอ้างอิง แล้วแปลผลออกมาเป็นชื่อของสารประกอบนั้นๆ (โลมไสล และคณะ, 2556 ; Hussain and Maqbool, 2014)



รูปที่ 2.17 ส่วนประกอบของเครื่อง GC-MS (Hussain and Maqbool, 2014)

## 2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Ali. et al. (2012) รายงานว่าเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) ที่สกัดจากสาหร่าย *Scenedesmus bijugatus* var. *bicellularis* biomass มีประสิทธิภาพเป็นสารต้านจุลชีพต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* และ *Candida albicans* ได้ โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 21.0, 12.2 และ 18.1 มิลลิเมตร ตามลำดับ หลังจากวิเคราะห์เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันผ่านเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) พบว่ามีสารประกอบหลัก เช่น กรดสเตียริกเมทิลเอสเทอร์ (C18:0) กรดโอเลอิกเมทิลเอสเทอร์ (C18:1) กรดไลโนเลอิกเมทิลเอสเทอร์ (C18:2) และ กรดไลโนเลนิกเมทิลเอสเทอร์ (C18:3) ร้อยละ 0.6, 1, 1.4 และ 6.26 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ

Ghasemi. et al. (2007) รายงานว่า จากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (เชื้อแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์และเชื้อรา 4 สายพันธุ์) ด้วยสารสกัดสาหร่าย 60 สายพันธุ์ ใช้สารสกัด 3 ชนิดคือ เมทานอล เฮกเซน และสารละลายส่วนใส (Supernatant) พบว่าสารละลายส่วนใสของสาหร่าย 21 สายพันธุ์ สารสกัดเมทานอล 8 สายพันธุ์ แสดงฤทธิ์ยับยั้งที่สำคัญ ส่วนสารสกัดเฮกเซน ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้ง และสารสกัดเมทานอลไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา สาหร่ายสายพันธุ์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่มากที่สุดคือสาหร่าย *Chococcus disperses* รองลงมาคือสาหร่ายสายพันธุ์ *Chlamydomonas reinhardtii* และ *Chlorella vulgaris* ตามลำดับ

Salem. et al. (2014) ได้รายงานว่ สารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย (*Nostoc* sp., *Microcystis* sp. และ *Oscillatoria geminata*) และสาหร่ายสีเขียว 2 สายพันธุ์ (*Chlorella vulgaris* และ *Scenedesmus* sp.) ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์และเชื้อรา 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ทางวิชาการ ห้ามนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากเมทานอลสามารถยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* และ *Klebsiella pneumoniae* ได้มากกว่าสารสกัดจากอะซีโตน ส่วนสารสกัดจากอะซีโตนมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Asperigillus niger*, และ *Candida albican* ได้ดีกว่าสารสกัดจากเมทานอล

Cakmak. et al. (2014). รายงานว่า สารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก *Dunaliella salina* ที่สกัดด้วยสารสกัด 4 ชนิดคือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทานอล และเมทานอล ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในปลาโดยวิธี Disc diffusion techniques และ Microdilution จากการทดสอบทั้งสองวิธีพบว่า สารสกัดสาหร่ายจากเอทานอล และเมทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในปลาได้มากกว่าสารสกัดจากเฮกเซน และไดคลอโรมีเทน โดยวิธี Disc diffusion techniques สารสกัดสาหร่ายจากเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้ง *Lactococcus garviae* ได้ดีที่สุดคือ 18.21 มิลลิเมตร ส่วนวิธี Microdilution (MBC) สารสกัดสาหร่ายจากเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้ง *Lactococcus garviae* และ *Vibrio alginolyticus* ได้ดีที่สุดคือ 0.63 และ 0.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Najdenski. et al. (2013). ได้รายงานว่า ทำการทดสอบสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย 9 สายพันธุ์ และสาหร่ายขนาดเล็กอีก 10 สายพันธุ์ โดยใช้สารสกัดจากสาหร่าย 3 ชนิดคือ Exopolysaccharide (EPS) กรดไขมัน และสารสกัดจากน้ำ ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์กับเชื้อก่อโรคในอาหาร 8 ชนิด พบว่า EPS ของสาหร่าย *Gloeocapsa* sp. และ *Synechocystis* sp. มีแนวโน้มออกฤทธิ์ต้านเชื้อก่อโรคในอาหารได้ดีที่สุด โดยความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) อยู่ในช่วง 0.125-1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และช่วง 0.25-1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Sushanth และ Rajashekhar. (2015). รายงานว่า จากการศึกษาสารสกัดสาหร่ายทะเล 4 ชนิดได้แก่ *Chaetoceros calcitrans*, *Skeletonema costatum*, *Choococcus turgidus* และ *Nannochloropsis oceanica* ด้วยตัวทำละลายเอทานอล เอทานอล และเฮกเซน ทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระ และสารออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ (เชื้อแบคทีเรีย 7 ชนิด และเชื้อรา 4 ชนิด) พบว่าสาหร่าย *Nannochloropsis oceanica* แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด คือ 340.13 ไมโครโมลต่อกรัม ส่วนการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ พบว่าสารสกัดเฮกเซนจากสาหร่าย *Choococcus turgidus* และสาหร่าย *Skeletonema costatum* สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Streptococcus ryogenes* ได้ดีที่สุดตามลำดับ และมีสาหร่ายเพียงสองชนิดเท่านั้น ที่พบการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา ได้แก่ *Skeletonema costatum* และ *Choococcus turgidus*

Davoodbasha. et al. (2018). รายงานว่า เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก *Scenedesmus intermedius* สามารถเป็นสารต้านจุลินทรีย์ (เชื้อแบคทีเรีย 5 ชนิด และเชื้อรา 4 ชนิด) ได้ โดยความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(MIC) อยู่ในช่วง 24-48 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 12-24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 60-192 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Ugo. et al. (2017). รายงานว่า สารสกัดจากสาหร่ายทะเล 5 ชนิด ได้แก่ *Laminaria digitata*, *Undaria pinnatifida*, *Porphyra umbilicalis*, *Eucheuma denticulatum* และ *Gelidium pusillum* ทำการสกัดโดยใช้เทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด จากนั้นนำสารสกัดที่ได้จากสาหร่ายมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคพืช 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Botrytis cinerea* ในสตรอเบอร์รี่ *Monilinia laxa* ในพีช และ *Penicillium digitatum* ในมะนาว พบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Laminaria digitata*, *Undaria pinnatifida* และ *Porphyra umbilicalis* มีฤทธิ์การยับยั้งที่โดดเด่นที่สุด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### บทที่ 3

## วิธีการดำเนินงานวิจัย

### 3.1 สายพันธุ์สาหร่ายที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติ

ลำดับที่	สายพันธุ์สาหร่าย	รหัส	แหล่งที่มา
1	<i>Chroococcus</i> sp.	002	บ่อน้ำ คณะเกษตร สจล.
2	<i>Chlorella</i> sp.	003	บ่อน้ำ คณะเกษตร สจล.
3	<i>Chlamydomonas</i> sp.	004	บ่อน้ำ1 ตึกพระเทพ สจล.
4	<i>Scenedesmus</i> sp.	005	บ่อน้ำ1 ตึกพระเทพ สจล.
5	<i>Scenedesmus</i> sp.	006	สวนพระนคร เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ
6	<i>Ankistrodesmus</i> sp.	007	สวนพระนคร เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ
7	<i>Chlamydomonas</i> sp.	008	สวนพระนคร เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ
8	<i>Chlorella</i> sp.	009	แม่น้ำน่าน อ.เชียงกลาง จ.น่าน
9	<i>Chlamydomonas</i> sp.	010	บ่อน้ำ คณะวิศวกรรมศาสตร์ สจล.
10	<i>Scenedesmus</i> sp.	011	บ่อน้ำ คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์ สจล.
11	<i>Chlorella</i> sp.	012	บ่อน้ำ คณะวิทยาศาสตร์ สจล.
12	<i>Chlorococcum</i> sp.	013	บ่อน้ำ คณะวิทยาศาสตร์ สจล.
13	<i>Scenedesmus</i> sp.	014	บ่อน้ำ คณะวิทยาศาสตร์ สจล.
14	<i>Scenedesmus</i> sp.	015	บ่อน้ำ2 ตึกพระเทพ สจล.

### 3.2 สายพันธุ์แบคทีเรียทดสอบ

เชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืช 3 ชนิด ได้แก่ *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Ralstonia solanacearum* และ *Xanthomonas oryzae* จากกรมวิชาการเกษตร กลุ่มงานบักเตรีวิทยา

### 3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Bright field microscope ; Olympus : CH-30RF200)
2. ฮีมาไซโตมิเตอร์ (BOECO Germany)
3. เตอบไมโครเวฟ (Sumsung : m1913)
4. โถวัดความชื้น (Glaswerkwertim Duran : GL32 DN300)
5. เครื่องวัดแสง (Lux meter : LX1010BS)
6. เครื่องบ่มแบบเขย่า (New Brunswick scientific : INNOVA 2000, Gallenkamp)

เอกสารนี้เป็นเอกสารเครื่องเขย่าสาร (Scientific Industries : G560E) ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Thermo scientific : MEGAFUGE 8R)
9. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยมสี่ตำแหน่ง (Ohaus : PA214)
10. เครื่องผสมสาร (Vortex Mixer GENIE 2 : G560E)
11. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (Shimadzu : UV-1280)
12. หม้อนิ่งความดันไอน้ำ (Hirayama : HA-300MIV, HVE-50)
13. เครื่องฟรีซตรราย (Lyolab : 3000)
14. เครื่องรีฟลักซ์ (M tops : MS-6-103)
15. ตู้เก็บเชื้อ -80 องศาเซลเซียส (TSU Series : TSU 500)
16. ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Mettler)
17. ตู้ปลอดเชื้อแบบไบโอฮาซาด (Faster : Bio48, Lean line: LA-CLEANLINE-BS-120)
18. ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (Comtherm : thermotec 2000)
19. ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส (WTB Binder : FD53)
20. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรสโกปี (Agilent : GC G1530N-MS G2573A)

### 3.4 สารเคมี

1. อาหารสูตร N-8 (ภาคผนวก ก-1)
2. อาหารสูตร BG-11 (ภาคผนวก ก-2)
3. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (บริษัท QReC new Zealand เกรต AR)
4. เมทานอล (บริษัท Merck เกรต gradient)
5. คลอโรฟอร์ม (บริษัท BDH)
6. ยาปฏิชีวนะสเตربتอไมซิน (บริษัท General Drungs House) (วิธีเตรียม ภาคผนวก ข-4)

### 3.5 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

#### 3.5.1 การคัดแยกสายพันธุ์สาหร่าย

เก็บน้ำจากแหล่งน้ำตามธรรมชาติมาทำการคัดแยกสาหร่ายด้วยวิธี Spread plate โดยการ Spread น้ำจากแหล่งน้ำลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร N-8 และ BG-11 บ่มภายใต้แสงของหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นทำการแยกให้ได้เชื้อโคโลนีเดี่ยวด้วยเทคนิค Cross streak จนได้สาหร่ายขนาดเล็กที่บริสุทธิ์ และวิเคราะห์ชนิดของสาหร่ายโดยศึกษารูปร่างลักษณะตาม Tsarenko. *et al.* (2011)

นำสาหร่ายที่คัดแยกได้มาทำห้วเชื้อสาหร่าย โดยการถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลวสูตร N-8 และ BG-11 จำนวน 1-2 หลอด ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 200 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องภายใต้แสงของหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ในสภาวะเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที ทุกวัน ทุกสัปดาห์ ทุกเดือน ทุกปี โดยมีการบันทึกข้อมูลการขึ้นของสาหร่ายทุกวัน ทุกสัปดาห์ ทุกเดือน ทุกปี และมีการนำสาหร่ายไปใช้

ความเร็ว 180 รอบต่อนาที โดยให้ความเข้มแสงของหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ที่ความเข้ม 2000 ลักซ์ เป็นเวลา 7 ถึง 10 วัน

### 3.5.2 การวัดค่าการเจริญของสาหร่าย

นำหัวเชื้อของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ที่คัดแยกได้ มาทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร โดยให้ค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.08 ถึง 0.1 จากนั้นถ่ายเชื้อลงในถังเพาะเลี้ยงที่มีอาหารเหลวสูตร N-8 และ BG11 ปริมาตร 4,000 มิลลิลิตร โดยใช้ปริมาตรของหัวเชื้อสาหร่ายร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะความเข้มแสงของหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ที่ 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 7 ถึง 14 วัน จากนั้นนำไปวัดค่าการเจริญทุกๆ 2 วัน โดยทำการเก็บตัวอย่างปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร (ภาคผนวก ข-1) นับจำนวนเซลล์โดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ (ภาคผนวก ข-2) และหาน้ำหนักเซลล์แห้งโดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที (ภาคผนวก ข-3)

### 3.5.3 การสกัดและหาปริมาณไขมันจากสาหร่าย (ดัดแปลงจาก Johnson and Wen, 2009)

นำสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในถังเพาะเลี้ยงมาทำการเก็บเกี่ยวชีวมวลด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที นำชีวมวลที่ได้ไปทำให้แห้งแบบเยือกแข็งโดยการ Freeze dry จากนั้นนำมาบดโดยใช้โกร่ง สกัดไขมันโดยนำผงสาหร่าย 3 กรัม มาสกัดด้วยเมทานอล คลอโรฟอร์ม และน้ำกลั่น ปริมาตร 24, 12 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมคลอโรฟอร์มและน้ำกลั่น ปริมาตรละ 12 มิลลิลิตร นำไปกรองตะกอนออกด้วยชุดกรองสุญญากาศ นำส่วนของเหลวที่ผ่านการกรองแล้ว ปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกชั้นของเมทานอลกับคลอโรฟอร์มด้วยความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จะได้สารละลายที่แยกออกเป็น 2 ชั้น เก็บสารละลายชั้นล่างซึ่งเป็นชั้นของคลอโรฟอร์มลงในขวดแก้วขนาดเล็ก (Vial) นำไประเหยคลอโรฟอร์มออกจนหมด ซึ่งน้ำหนักไขมันที่ได้ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

### 3.5.4 การเตรียมและวิเคราะห์ส่วนประกอบเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) (ดัดแปลงจาก Johnson and Wen, 2009)

การเตรียมเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) ทำโดยการนำไขมันที่สกัดได้จากหัวเชื้อที่ 3.5.3 ผสมกับเมทานอล คลอโรฟอร์ม และกรดซัลฟูริก ปริมาตร 6.8, 8 และ 1.2 มิลลิลิตร ตามลำดับ นำไปรีฟลักซ์ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 4 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น เก็บของเหลวในชั้นล่างซึ่งเป็นชั้นของคลอโรฟอร์มที่มี FAME อยู่ ลงในขวดแก้วขนาดเล็กแล้วนำไประเหยคลอโรฟอร์มออกจนหมด ซึ่งน้ำหนัก FAME ที่ได้ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิเคราะห์เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรสโกปี (GC-MS) โดยฉีดสารปริมาตร 1 ไมโครลิตร ใช้คอลัมน์ FAME WAX ในการวิเคราะห์ (ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 32 มิลลิเมตร เคลือบสารหนา 25 ไมโครเมตร) ในกระบวนการวิเคราะห์ที่ใช้อุณหภูมิเริ่มต้นที่ 140 องศาเซลเซียส คงที่ 5 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส ต่อนาที จนถึง 230 องศาเซลเซียส คงที่อีก 5 นาที อัตราการไหลคอลัมน์คือ 22.2 มิลลิตรต่อนาที มีแก๊สไนโตรเจนเป็นตัวพา

### 3.5.5 การประเมินคุณสมบัติเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (ตัดแปลงจาก อมรรัตน์ และคณะ, 2559)

ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันกับเชื้อก่อโรคพืช ได้แก่ *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Ralstonia solanacearum* และ *Xanthomonas oryzae* เตรียมหัวเชื้อสำหรับการทดสอบโดย Streak เชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 เชื้อลงบนอาหารแข็ง Nutrient agar (NA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง ยกเว้น *Xanthomonas oryzae* บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง เมื่อเชื้อมีการเจริญ ให้แยกเชื้อ 2 ถึง 3 โคโลนี ลงในอาหารเหลว (NB) จากนั้นเลี้ยงเชื้อต่อในอาหารเหลวอีก 24 และ 48 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้ออยู่ในระยะการเจริญเติบโตเต็มที่ จากนั้นวัดค่าความขุ่นโดยใช้ เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ให้มีค่า 0.3 (จำนวนเซลล์  $10^6$  โคโลนีต่อมิลลิตร )

#### 3.5.5.1 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี Agar disc diffusion (ตัดแปลงจาก อมรรัตน์ และคณะ, 2559)

ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยใช้วิธี Agar disc diffusion บนจานอาหาร โดยทำการ spread เชื้อแบคทีเรียที่มีค่าการดูดกลืนแสง 0.3 ลงบนจานอาหาร Muller hinton agar (MHA) จากนั้นวางแผ่นทดสอบที่ปราศจากเชื้อ (Paper disc) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่บรรจุสารสกัดเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากสาหร่าย 14 สายพันธุ์ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร (1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร) ปริมาตรแผ่นละ 20 ไมโครลิตร ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller hinton agar บ่มเชื้อ *Erwinia carotovora* และ *Ralstonia solanacearum* ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเชื้อ *Xanthomonas oryzae* บ่มที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นตรวจผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณวงใส (Inhibition zone หรือ Clear zone) ที่เกิดขึ้นรอบแผ่นทดสอบ โดยแต่ละชุดการทดลองจะมีแผ่นทดสอบที่บรรจุยาปฏิชีวนะสเตรปโตมัยซิน (Streptomycin) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และเมทานอลเป็นตัวควบคุมเชิงลบ และแผ่นทดสอบที่บรรจุสารสกัดเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันจากสาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ต่างๆ ทำการทดสอบชุดละ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.5.5.2 การประเมินค่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) (ดัดแปลงจาก รองเดช และ จุลจิตร, 2559) (วิธีทดลองภาคผนวก ข-5)

หาค่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืช โดยดูอาหาร Muller hinton broth (MHB) ลงใน Microtiter plate ลงในหลุมที่ 2 ถึง 11 หลุมละ 50 ไมโครลิตร แล้วดูการสกัดเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันโดยมีค่าความเข้มข้นเริ่มต้น 1000 ไมโครกรัม ต่อ 50 ไมโครลิตร (20000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ลงในหลุมที่ 1 และ 2 หลุมละ 50 ไมโครลิตร จากนั้นดูสารในหลุมที่ 2 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมที่ 3 ทำซ้ำจนถึงหลุมที่ 10 สำหรับหลุมที่ 10 ให้ดูสารละลายที่ 50 ไมโครลิตร หลุมที่ 11 จะมีแต่อาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีสารสกัด จึงเป็นหลุมตัวควบคุมเชิงบวก จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบลงในทุกหลุม หลุมละ 50 ไมโครลิตร ปิดฝา Microtiter plate แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง และ 27 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง อ่านผลโดยสังเกตความขุ่น สีที่เกิดขึ้น เปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวก

### 3.5.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางชีวเคมีต่าง ๆ ทางสถิติ ใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป IBM SPSS Statistics Version 19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

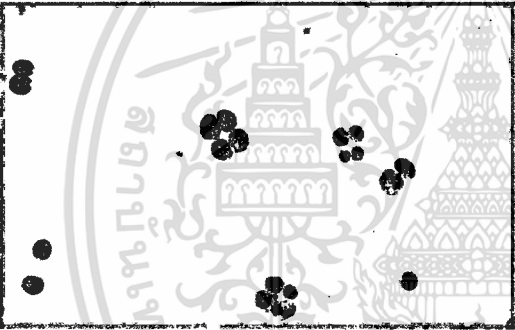
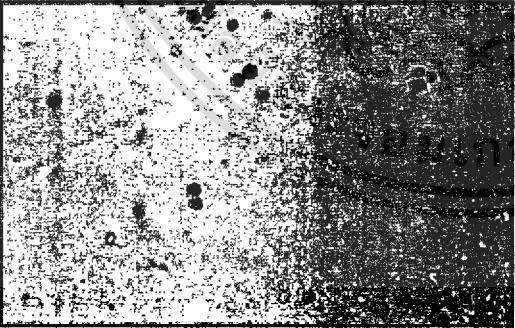
## บทที่ 4

# ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

### 4.1 ผลการคัดแยกสายพันธุ์สาหร่าย

จากการคัดแยกสาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ด้วยวิธี Spread plate โดยการ Spread น้ำจากแหล่งน้ำลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร N-8 และ BG-11 และแยกให้ได้เชื้อโคลนเดี่ยวด้วยเทคนิค Cross streak จนได้สาหร่ายขนาดเล็กที่บริสุทธิ์ ทำการวิเคราะห์ชนิดของสาหร่าย ได้สายพันธุ์สาหร่ายทั้งหมด 14 สายพันธุ์ ตามตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 สายพันธุ์สาหร่ายที่คัดแยกและรูปเซลล์สาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์

สาหร่ายที่กำลังขยาย 1000 เท่า	ลักษณะของเซลล์
1. <i>Chroococcus</i> sp. 002 	ลักษณะเป็น รูปร่างกลมรี อยู่เป็นกลุ่ม เซลล์ไม่เกิน 2-4 เซลล์ มีซิโทไลทอนาหุ้มรอบกลุ่มเซลล์
2. <i>Chlorella</i> sp. 003 	มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว รูปร่างทรงกลมขนาดเล็ก ไม่มีแฟลกเจลลา ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ มีคลอโรพลาสต์คล้ายถ้วยหรือระฆัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้


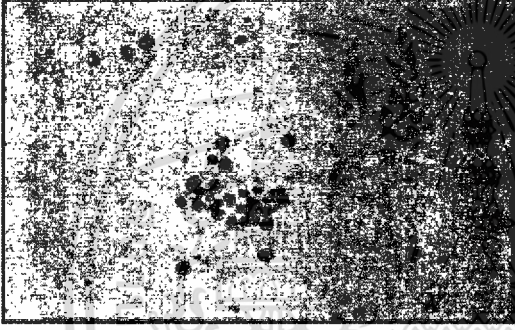
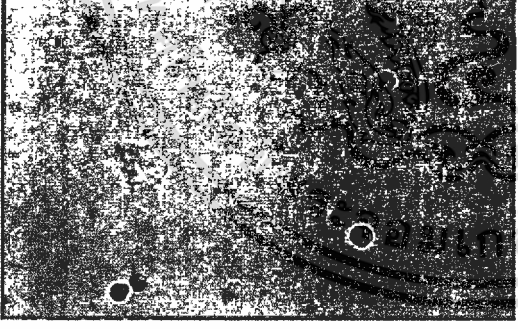

## ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

สาหร่ายที่กำลังขยาย 1000 เท่า	ลักษณะของเซลล์
<p>3. <i>Chlamydomonas</i> sp. 004</p> 	<p>ลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว มีแฟลกเจลลา 2 เส้น เซลล์มีรูปร่างกลม มีคลอโรพลาสต์ 1 อัน สามารถเคลื่อนที่ได้</p>
<p>4. <i>Scenedesmus</i> sp. 005</p> 	<p>ลักษณะเป็นรูปกระสวย เซลล์เรียงต่อกัน 2-4 เซลล์ เซลล์ริมสุดมีหนามยื่นออกข้างละ 1 อัน มีไฟรินอยด์และนิวเคลียสอยู่ในเซลล์</p>
<p>5. <i>Scenedesmus</i> sp. 006</p> 	<p>ลักษณะเป็นรูปกระสวย เซลล์เรียงต่อกัน 2-4 เซลล์ เซลล์ริมสุดมีหนามยื่นออกข้างละ 2 อัน มีไฟรินอยด์และนิวเคลียสอยู่ในเซลล์ ไม่มีแฟลกเจลลา ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ มีคลอโรพลาสต์เป็นแผ่นเต็มเซลล์ มีไฟรินอยด์และนิวเคลียสเซลล์ละ 1 อัน เท่ากับจำนวนเซลล์ของ <i>Scenedesmus</i></p>
<p>6. <i>Ankistrodesmus</i> sp. 007</p> 	<p>ลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว รูปร่างคล้ายพระจันทร์เสี้ยว ไม่มีแฟลกเจลลา ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ มีคลอโรพลาสต์เป็นแผ่นเต็มเซลล์ มีไฟรินอยด์และนิวเคลียสเซลล์ละ 1 อัน</p>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่มีสงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

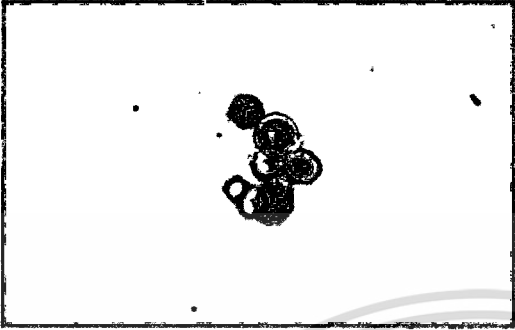



ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

สาหร่ายที่กำลังขยาย 1000 เท่า	ลักษณะของเซลล์
<p>7. <i>Chlamydomonas</i> sp. 008</p> 	<p>ลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว มีแฟลกเจลลา 2 เส้น เซลล์มีรูปร่างกลม มีคลอโรพลาสต์ 1 อัน สามารถเคลื่อนที่ได้</p>
<p>8. <i>Chlorella</i> sp. 009</p> 	<p>มีลักษณะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มก้อน รูปร่างทรงกลมขนาดเล็กไม่มีแฟลกเจลลา มีคลอโรพลาสต์คล้ายด้วยหรือระฆัง</p>
<p>9. <i>Chlamydomonas</i> sp. 010</p> 	<p>ลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว มีแฟลกเจลลา 2 เส้น เซลล์มีรูปร่างกลม มีคลอโรพลาสต์ 1 อัน สามารถเคลื่อนที่ได้</p>
<p>10. <i>Scenedesmus</i> sp. 011</p> 	<p>ลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว รูปร่างคล้ายพระจันทร์เสี้ยว ไม่มีแฟลกเจลลา ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ มีคลอโรพลาสต์เป็นแผ่นเต็มเซลล์ มีไพรีนอยด์และนิวเคลียสเซลล์ละ 1 อัน เท่ากับจำนวนเซลล์ของ <i>Scenedesmus</i></p>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปยังประโยชน์ทางการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

สาหร่ายที่กำลังขยาย 1000 เท่า	ลักษณะของเซลล์
<p>11. <i>Chlorella</i> sp. 012</p> 	<p>มีลักษณะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มก้อน รูปร่างทรงกลม ไม่มีแฟลกเจลลา มีคลอโรพลาสต์คล้ายถ้วยหรือระฆัง</p>
<p>12. <i>Chlorococcum</i> sp. 013</p> 	<p>ลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว รูปร่างกลม มีคลอโรพลาสต์เป็นรูปถ้วยเกือบเต็มเซลล์ ไม่มีแฟลกเจลลา ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ มีซีทหนาหุ้มรอบเซลล์</p>
<p>13. <i>Scenedesmus</i> sp. 014</p> 	<p>ลักษณะเป็นวงรี เป็นเซลล์เรียงต่อกัน 4 เซลล์ ไม่มีแฟลกเจลล ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ มีคลอโรพลาสต์เป็นแผ่นเต็มเซลล์ มีไฟรินอยด์และนิวเคลียสเซลล์ละ 1 อัน เท่ากับจำนวนเซลล์ของ <i>Scenedesmus</i></p>
<p>14. <i>Scenedesmus</i> sp. 015</p> 	<p>ลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว รูปร่างเป็นวงรี ไม่มีแฟลกเจลลา ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ มีคลอโรพลาสต์เป็นแผ่นเต็มเซลล์ มีไฟรินอยด์และนิวเคลียสเซลล์ละ 1 อัน เท่ากับจำนวนเซลล์ของ <i>Scenedesmus</i></p>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.2 ผลการวัดค่าการเจริญเติบโตของสาหร่าย

จากผลการทดลองนำสาหร่ายทั้ง 14 สายพันธุ์ มาวัดค่าการเจริญทุกๆ 2 วัน โดยทำการเก็บตัวอย่างปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร นับจำนวนเซลล์ และหาน้ำหนักเซลล์แห้ง จนเซลล์สาหร่ายอยู่ในระยะการเจริญเติบโตคงที่ พบว่าสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์มีอัตราการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4.2) ผลการทดลองพบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. 003 มีการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตเต็มที่ ในวันที่ 10 มีค่าการดูดกลืนแสง  $2.19 \pm 0.003$  มีจำนวนเซลล์  $7.22 \times 10^7 \pm 0.001$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และน้ำหนักเซลล์แห้ง  $0.10 \pm 0.250$  กรัมต่อลิตร ส่วนสาหร่ายที่มีการเจริญดีรองลงมาคือสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. 010 และ *Scenedesmus* sp. 006 ทั้งสองสายพันธุ์เข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตเต็มที่วันที่ 12 มีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ  $1.97 \pm 0.005$  และ  $1.75 \pm 0.002$  ตามลำดับ ปริมาณจำนวนเซลล์คือ  $5.51 \times 10^7 \pm 0.003$  และ  $6.47 \times 10^7 \pm 2.590$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มีน้ำหนักเซลล์แห้ง  $1.05 \pm 0.050$  และ  $1.11 \pm 0.110$  กรัมต่อลิตรตามลำดับ ดังรูปที่ 4.1 (ก) ถึง (ค)

ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบระยะเข้าสู่การเจริญคงที่ของสาหร่าย *Chlorella* sp. 003 กับ *Chlorella* sp. RW54 และ *Chlorella* sp. CMEA BS04 มีค่าใกล้เคียงกันคือเข้าสู่ระยะเติบโตวันที่ 10 และ 9 ตามลำดับ (วีณา และคณะ, 2557 ; Paes et al., 2016) ส่วนสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. 010 มีระยะเข้าสู่การเจริญคงที่ช้ากว่าเมื่อเทียบกับ *Chlamydomonas reinhardtii* ที่มีระยะเข้าสู่การเจริญคงที่วันที่ 8 (Lv et al., 2013) และ สาหร่าย *Scenedesmus* sp. 006 มีระยะเข้าสู่การเจริญคงที่เร็วกว่าเมื่อเทียบกับ *Scenedesmus* sp. TISTR 8479 ที่เข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตคงที่วันที่ 19 (มนัสนันท์ และคณะ, 2558)

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. 003 กับ *Chlorella* sp. RW54 พบว่ามีค่ามากกว่า *Chlorella* sp. RW54 ที่มีจำนวนเซลล์  $5.317 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ *Chlamydomonas* sp. 010 มีจำนวนเซลล์มากกว่า *Chlamydomonas* sp. W53 ที่มีจำนวนเซลล์  $4.917 \times 10^5$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร (วีณา และคณะ, 2557) ส่วน *Scenedesmus* sp. 006 เปรียบเทียบกับ *Scenedesmus armatus* พบว่ามีค่ามากกว่า *S. armatus* ที่มีจำนวนเซลล์  $6 \times 10^6$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ดวงกมล, 2560)

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย *Chlorella* sp. 003 กับ *Chlorella* sp. K3 ที่เลี้ยงในอาหาร NSIII มีค่าใกล้เคียงกันคือ  $0.11 \pm 0.02$  กรัมต่อลิตร (ฤทัยรัตน์, 2548) แต่มีค่าน้อยกว่า กิตติพล และคณะ (2555) รายงานว่า *Chlorella vulgaris* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG11 ควบคุมอุณหภูมิ 29.6 องศาเซลเซียส มีน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ในช่วง 1.78 ถึง 2.45 กรัมต่อมิลลิลิตร และ *Scenedesmus* sp. 006 เมื่อเปรียบเทียบกับ *Scenedesmus dimorphus* มีค่าใกล้เคียงกันโดย *S. dimorphus* มีน้ำหนักเซลล์แห้งอยู่ในช่วง 1.48 ถึง 2.43 กรัมต่อลิตร (สุนิรัตน์ และจันทรา, 2561)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษางานวิจัยที่ผ่านมาพบว่ามีการเจริญเติบโตทั้งมีค่าที่สอดคล้องกัน และสูงกว่า อาจเนื่องมาจากการเจริญเติบโตของสาหร่ายต้องอาศัยปัจจัยต่างๆที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตเช่น อุณหภูมิมีผลต่อการสังเคราะห์แสง และการหายใจของสาหร่าย หากเพาะเลี้ยงสาหร่ายในอุณหภูมิที่สูงเกินไป จะทำให้อัตราการเจริญลดลง ส่วนแสง เป็นปัจจัยในการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย หากเพาะเลี้ยงสาหร่ายในถังปฏิกรณ์ เมื่อสาหร่ายมีการเจริญเติบโตมากขึ้น เซลล์แต่ละเซลล์ของสาหร่าย จะได้รับความเข้มแสงลดลง เนื่องจากการบังแสงซึ่งกันและกันของเซลล์สาหร่ายเอง (ฤทัยรัตน์, 2548 ; กิตติพล และคณะ, 2555)

#### 4.3 ผลการศึกษาปริมาณไขมันจากสาหร่าย

จากการนำเซลล์สาหร่ายแห้งทั้ง 14 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 3 กรัม มาศึกษาปริมาณไขมัน ได้ผลการทดลองดังนี้คือ สาหร่ายสายพันธุ์ *Ankistrodesmus sp.* 007 มีปริมาณไขมันมากที่สุดคือ ร้อยละ  $40.06 \pm 1.02$  รองลงมาคือสาหร่าย *Chlorella sp.* 003 และ *Chlamydomonas sp.* 008 โดยมีปริมาณไขมันร้อยละ  $24.91 \pm 0.65$  และร้อยละ  $24.21 \pm 1.06$  ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3)

ซึ่งสอดคล้องกับ Sonawane *et al.* (2015) รายงานว่าสาหร่าย *Ankistrodesmus convolutes* มีปริมาณไขมันร้อยละ 38.29 ของน้ำหนักแห้ง และ Chisti (2007) รายงานว่าสาหร่าย *Chlorella sp.* มีปริมาณไขมันร้อยละ 28 ถึง 32 ผลกวติ และคณะ (2552) ศึกษาการสะสมน้ำมัน และการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันที่สกัดได้จากสาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorella vulgaris* TISTR 8580 โดยเลี้ยงสาหร่ายในอาหาร Bold 's Basal ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยง 3 แบบ คือ ออโตโทรฟิก เฮเทอโรโทรฟิก และมิกโซโทรฟิก พบว่ามีปริมาณไขมันร้อยละ 15.39, 32.85 และ 25.37 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ศิราภรณ์ และคณะ (2557) ที่ศึกษาปริมาณไขมันโดยน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในอาหารเหลว BG-11 สกัดไขมันด้วยตัวทำละลายเฮกเซน มีปริมาณไขมันร้อยละ 10.74

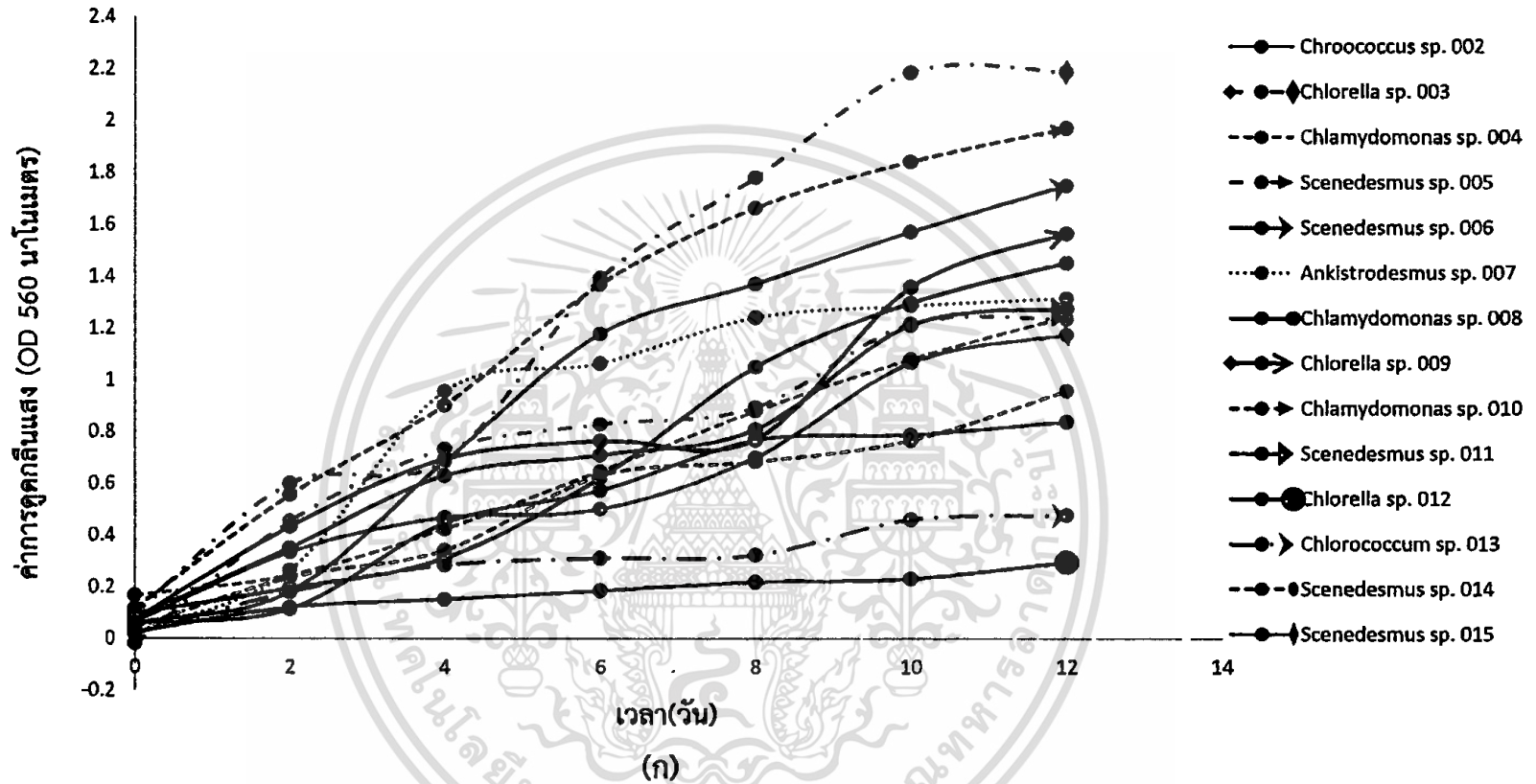
Isik *et al.* (1999) รายงานว่าสาหร่าย *Scenedesmus abundans* ที่เลี้ยงในอาหาร Jaworski มีปริมาณไขมัน  $9.22 \pm 0.12$  ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ส่วน Ali *et al.* (2012) รายงานว่าสาหร่าย *Scenedesmus bijugatus* มีปริมาณไขมันร้อยละ 42.2 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ซึ่งมีหลายปัจจัยที่ทำให้ได้ปริมาณไขมันไม่เท่ากัน โดยหากอาหารที่เลี้ยงมีความเข้มข้นสูง หรือไม่เหมาะสมกับชนิดสาหร่าย สาหร่ายชนิดนั้นก็จะมีผลต่อการสังเคราะห์แสงได้ต่ำ เกิดความเครียด การแบ่งตัวลดลง แต่หากขาดธาตุอาหารเช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส สาหร่ายจะเกิดการสะสมอาหารไว้มากขึ้น ไม่นำไปใช้ในการเจริญเติบโต จึงทำให้มีปริมาณไขมันสูงขึ้น (เจนจิราและธนวรรณ, 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

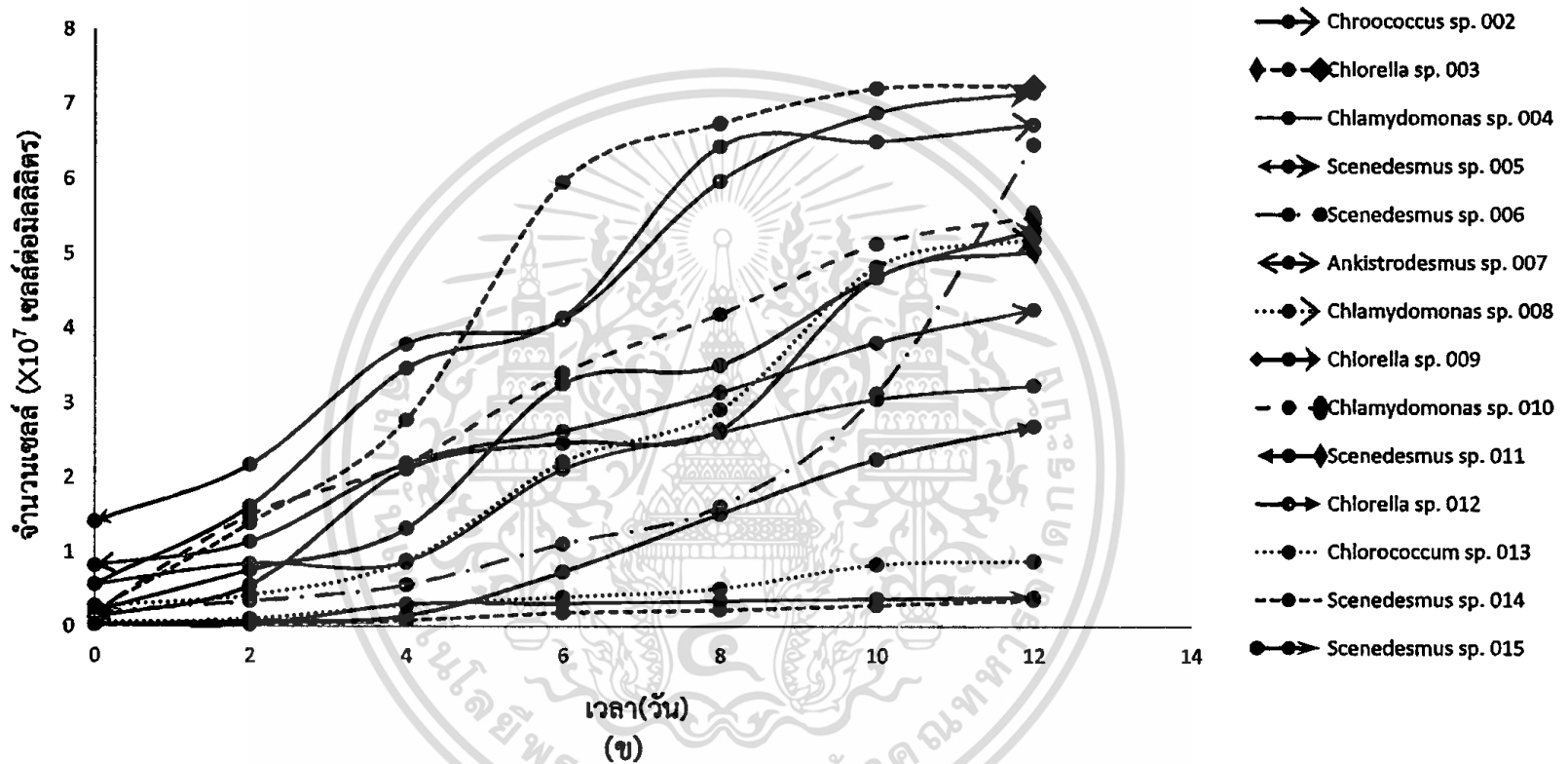
ตาราง 4.2 การเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้ง 14 สายพันธุ์

สายพันธุ์สาหร่าย	วันที่เข้าสู่ ระยะการเจริญเติบโตคงที่	ค่าการดูดกลืนแสง (OD 560 นาโนเมตร)	จำนวนเซลล์ ( $\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)
<i>Chroococcus</i> sp. 002	12	$0.838 \pm 0.020$	$6.739 \pm 0.220$	$0.373 \pm 0.090$
<i>Chlorella</i> sp. 003	10	$2.187 \pm 0.003$	$7.223 \pm 0.001$	$0.100 \pm 0.250$
<i>Chlamydomonas</i> sp. 004	12	$1.244 \pm 0.006$	$3.239 \pm 0.002$	$0.810 \pm 0.060$
<i>Scenedesmus</i> sp. 005	10	$1.218 \pm 0.001$	$6.895 \pm 0.286$	$0.686 \pm 0.390$
<i>Scenedesmus</i> sp. 006	12	$1.751 \pm 0.002$	$6.474 \pm 2.590$	$1.113 \pm 0.110$
<i>Ankistrodesmus</i> sp. 007	8	$1.241 \pm 0.006$	$3.146 \pm 0.001$	$0.393 \pm 0.150$
<i>Chlamydomonas</i> sp. 008	12	$1.453 \pm 0.002$	$5.211 \pm 0.005$	$0.847 \pm 0.220$
<i>Chlorella</i> sp. 009	12	$1.565 \pm 0.011$	$5.506 \pm 0.315$	$0.710 \pm 0.290$
<i>Chlamydomonas</i> sp. 010	12	$1.972 \pm 0.005$	$5.507 \pm 0.003$	$1.053 \pm 0.050$
<i>Scenedesmus</i> sp. 011	10	$1.276 \pm 0.005$	$5.043 \pm 0.002$	$0.990 \pm 0.510$
<i>Chlorella</i> sp. 012	10	$0.231 \pm 0.002$	$2.250 \pm 0.056$	$0.453 \pm 0.060$
<i>Chlorococcum</i> sp. 013	10	$0.460 \pm 0.009$	$0.831 \pm 0.280$	$0.386 \pm 0.010$
<i>Scenedesmus</i> sp. 014	12	$0.957 \pm 0.007$	$0.357 \pm 0.230$	$0.633 \pm 0.050$
<i>Scenedesmus</i> sp. 015	12	$1.174 \pm 0.004$	$3.962 \pm 0.079$	$0.638 \pm 0.010$

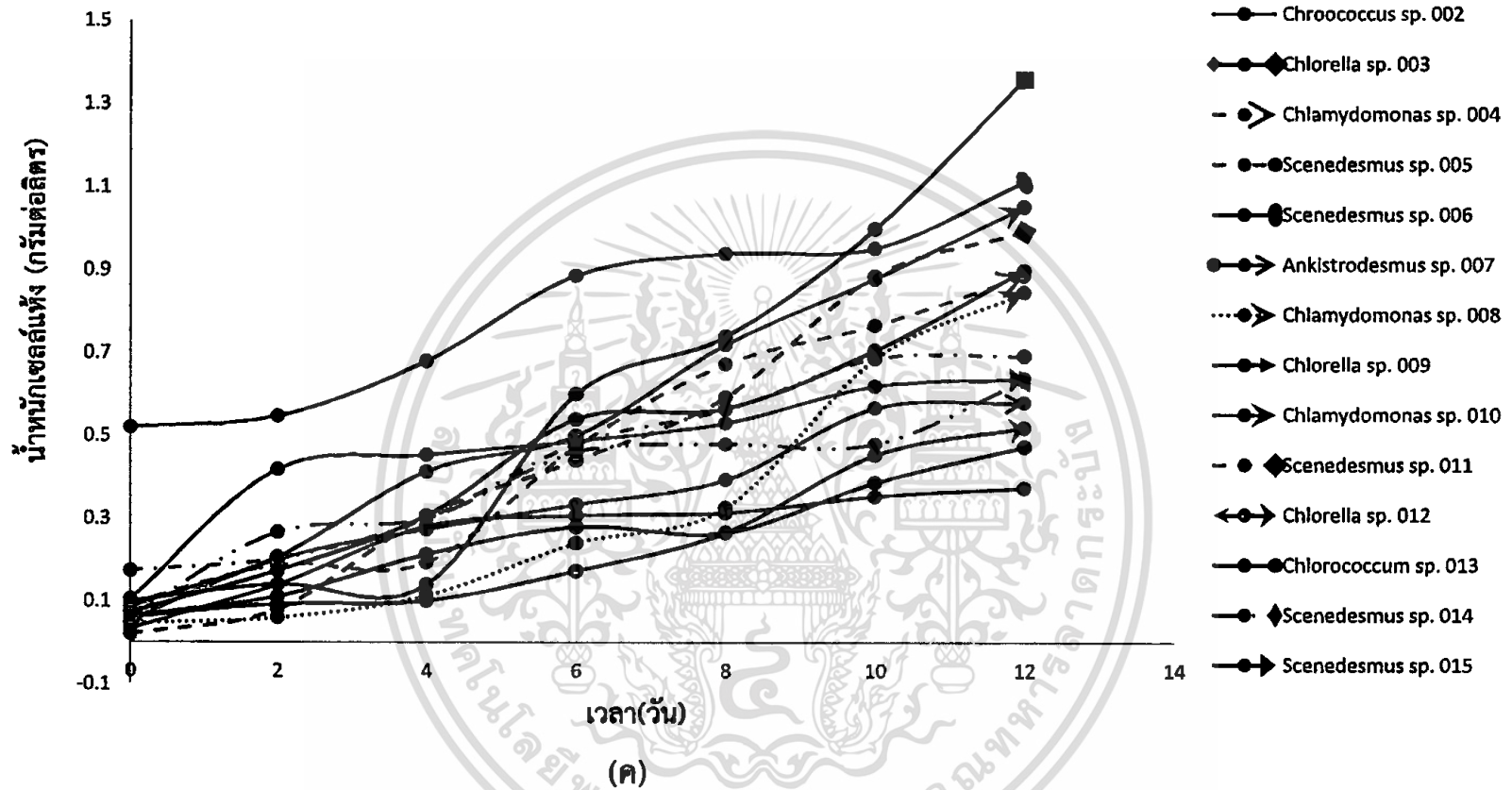
หมายเหตุ  $\pm$  คือ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (SD)



รูปที่ 4.1 (ก) กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย 14 สายพันธุ์ คือ *Chroococcus* sp. 002, *Chlorella* sp. 003, *Chlamydomonas* sp. 004, *Scenedesmus* sp. 005, *Scenedesmus* sp. 006, *Ankistrodesmus* sp. 007, *Chlamydomonas* sp. 008, *Chlorella* sp. 009, *Chlamydomonas* sp. 010, *Scenedesmus* sp. 011, *Chlorella* sp. 012, *Chlorococcum* sp. 013, *Scenedesmus* sp. 014, *Scenedesmus* sp. 015



รูปที่ 4.2 (ข) กราฟแสดงการเจริญของจำนวนเซลล์ของสาหร่าย 14 สายพันธุ์ คือ *Chroococcus* sp. 002, *Chlorella* sp. 003, *Chlamydomonas* sp. 004, *Scenedesmus* sp. 005, *Scenedesmus* sp. 006, *Ankistrodesmus* sp. 007, *Chlamydomonas* sp. 008, *Chlorella* sp. 009, *Chlamydomonas* sp. 010, *Scenedesmus* sp. 011, *Chlorella* sp. 012, *Chlorococcum* sp. 013, *Scenedesmus* sp. 014, *Scenedesmus* sp. 015



รูปที่ 4.3 (ค) กราฟแสดงการเจริญของน้ำหนักเซลล์แห้งของสาหร่าย 14 สายพันธุ์ คือ *Chroococcus* sp. 002, *Chlorella* sp. 003, *Chlamydomonas* sp. 004, *Scenedesmus* sp. 005, *Scenedesmus* sp. 006, *Ankistrodesmus* sp. 007, *Chlamydomonas* sp. 008, *Chlorella* sp. 009, *Chlamydomonas* sp. 010, *Scenedesmus* sp. 011, *Chlorella* sp. 012, *Chlorococcum* sp. 013, *Scenedesmus* sp. 014, *Scenedesmus* sp. 015

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณร้อยละของไขมันของสาหร่ายทั้ง 14 สายพันธุ์

สายพันธุ์สาหร่าย	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักไขมัน (กรัมต่อกรัมเซลล์)	ร้อยละของไขมัน
<i>Chroococcus</i> sp. 002	1.0334 ± 0.033 <sup>be</sup>	0.1557 ± 0.001 <sup>ab</sup>	15.0743 ± 0.352 <sup>ef</sup>
<i>Chlorella</i> sp. 003	0.5403 ± 0.024 <sup>de</sup>	0.1345 ± 0.002 <sup>c</sup>	24.9123 ± 0.645 <sup>b</sup>
<i>Chlamydomonas</i> sp. 004	0.6166 ± 0.086 <sup>de</sup>	0.1010 ± 0.000 <sup>cde</sup>	16.5907 ± 2.279 <sup>de</sup>
<i>Scenedesmus</i> sp. 005	0.4037 ± 0.022 <sup>e</sup>	0.0897 ± 0.013 <sup>def</sup>	22.1442 ± 2.055 <sup>bc</sup>
<i>Scenedesmus</i> sp. 006	0.7085 ± 0.023 <sup>de</sup>	0.0518 ± 0.028 <sup>s</sup>	7.4000 ± 4.123 <sup>s</sup>
<i>Ankistrodesmus</i> sp. 007	0.4468 ± 0.098 <sup>e</sup>	0.1790 ± 0.012 <sup>a</sup>	40.0627 ± 1.018 <sup>a</sup>
<i>Chlamydomonas</i> sp. 008	0.4579 ± 0.0406 <sup>e</sup>	0.1106 ± 0.005 <sup>cd</sup>	24.2163 ± 1.059 <sup>bc</sup>
<i>Chlorella</i> sp. 009	0.6920 ± 0.058 <sup>de</sup>	0.1098 ± 0.0485 <sup>cd</sup>	15.5479 ± 5.7277 <sup>ef</sup>
<i>Chlamydomonas</i> sp. 010	0.8172 ± 0.026 <sup>cd</sup>	0.0814 ± 0.010 <sup>defg</sup>	9.9410 ± 0.909 <sup>s</sup>
<i>Scenedesmus</i> sp. 011	0.7679 ± 0.010 <sup>cd</sup>	0.1560 ± 0.008 <sup>ab</sup>	20.3076 ± 0.871 <sup>cd</sup>
<i>Chlorella</i> sp. 012	1.3153 ± 0.201 <sup>a</sup>	0.1487 ± 0.035 <sup>ab</sup>	11.2110 ± 0.932 <sup>fg</sup>
<i>Chlorococcum</i> sp. 013	1.1150 ± 0.526 <sup>ab</sup>	0.0705 ± 0.004 <sup>ef</sup>	7.3938 ± 3.527 <sup>s</sup>
<i>Scenedesmus</i> sp. 014	0.5449 ± 0.058 <sup>de</sup>	0.0793 ± 0.015 <sup>efg</sup>	14.4695 ± 1.175 <sup>ef</sup>
<i>Scenedesmus</i> sp. 015	0.5190 ± 0.028 <sup>de</sup>	0.0589 ± 0.012 <sup>fg</sup>	11.4515 ± 2.889 <sup>fg</sup>

หมายเหตุ ± คือ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (SD)

ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษไม่เหมือนกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.4 ผลการหาปริมาณเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน

เมื่อทำการสกัดไขมันและชั่งน้ำหนักเรียบร้อยแล้ว จากนั้นนำไขมันมาเปลี่ยนเป็นเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) (รูปที่ 4.4) โดยใช้กรดซัลฟูริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ชั่งเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ผลการทดลองพบว่า สาหร่ายสายพันธุ์ *Scenedesmus* sp. 011 มีปริมาณเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันมากที่สุดคือ  $0.16 \pm 0.02$  กรัมต่อกรัมเซลล์ รองลงมาคือ สาหร่ายสายพันธุ์ *Chlorella* sp. 012 และ *Chlorella* sp. 009 ได้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน  $0.15 \pm 0.03$  และ  $0.11 \pm 0.03$  กรัมต่อกรัมเซลล์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4)

เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้มีค่ามากกว่าผลการทดลองของ Ali et al. (2012) จากสาหร่าย *Scenedesmus bijugatus* เพาะเลี้ยงในอาหาร Bold's basal ใช้กรดเมทาโนลิกซัลฟูริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน 0.77 กรัมต่อกรัมเซลล์ และพนิดา (2552) ที่ศึกษาปริมาณไบโอดีเซลหรือเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน จากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* TSITR 8580 เพาะเลี้ยงในอาหาร Bold's basal โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้ปริมาณเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน 0.92 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัมไขมัน ซึ่งค่าเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่แตกต่างนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณไขมันที่นำมาใช้มีปริมาณน้อยหรือปริมาณอัตราส่วนระหว่างไขมันสาหร่ายต่อเมทานอล ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา ตัวเร่งปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน หรืออุณหภูมิที่ใช้ในการทำปฏิกิริยายังไม่เหมาะสม เป็นต้น

#### 4.5 ผลการศึกษาเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) ในการเป็นสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโรคพืช

##### 4.5.1 ผลการศึกษาเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันในการเป็นสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโรคพืชด้วยวิธี Agar disc diffusion

จากผลการทดลองการนำเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันจากสาหร่าย 14 สายพันธุ์ นำมาทดสอบการเป็นสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรียโรคพืช 3 สายพันธุ์คือ *Erwinia carotovora*, *Ralstonia solanacealum* และ *Xanthomonas oryzae* ด้วยวิธี Agar disc diffusion ทำการทดลองสายพันธุ์ละ 3 ซ้ำ (ตารางที่ 4.5) ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อแผ่นดิสก์ (50000 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม) ได้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณวงใส (ตารางที่ 4.6)

ผลการทดลองพบว่า ผลการยับยั้งเชื้อ *E. carotovora* ที่ดีที่สุดคือสารสกัดจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. 010 มีผลการยับยั้ง  $9.21 \pm 1.78$  มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 009 และ *Scenedesmus* sp. 011 มีผลการยับยั้ง  $9.17 \pm 1.02$  และ  $9.14 \pm 1.03$  มิลลิเมตร ตามลำดับ ผลการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* ที่ดีที่สุดคือสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 012 มีผลการยับยั้ง  $10.91 \pm 1.58$  มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดจากสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 011 และ *Chlorella* sp. 009 มีผลการยับยั้ง  $10.91 \pm 1.30$  และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ยกเว้นกรณีที่มีการเปลี่ยนแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 แสดงตัวอย่างเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) ที่ได้จากการทดลอง

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันของสาหร่ายทั้ง 14 สายพันธุ์

สายพันธุ์สาหร่าย	เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (กรัมต่อกรัมเซลล์)
<i>Chroococcus</i> sp. 002	0.0782 ± 0.011 <sup>bc</sup>
<i>Chlorella</i> sp. 003	0.0907 ± 0.009 <sup>bc</sup>
<i>Chlamydomonas</i> sp. 004	0.0671 ± 0.021 <sup>bc</sup>
<i>Scenedesmus</i> sp. 005	0.0492 ± 0.004 <sup>c</sup>
<i>Scenedesmus</i> sp. 006	0.0483 ± 0.019 <sup>c</sup>
<i>Ankistrodesmus</i> sp. 007	0.0517 ± 0.015 <sup>c</sup>
<i>Chlamydomonas</i> sp. 008	0.0778 ± 0.015 <sup>bc</sup>
<i>Chlorella</i> sp. 009	0.1096 ± 0.026 <sup>b</sup>
<i>Chlamydomonas</i> sp. 010	0.0871 ± 0.038 <sup>bc</sup>
<i>Scenedesmus</i> sp. 011	0.1559 ± 0.029 <sup>a</sup>
<i>Chlorella</i> sp. 012	0.1485 ± 0.034 <sup>a</sup>
<i>Chlorococcum</i> sp. 013	0.0724 ± 0.020 <sup>bc</sup>
<i>Scenedesmus</i> sp. 014	0.0673 ± 0.031 <sup>bc</sup>
<i>Scenedesmus</i> sp. 015	0.0554 ± 0.024 <sup>c</sup>

หมายเหตุ ± คือ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (SD)

ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษไม่เหมือนกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนผลการยับยั้งเชื้อ *X. oryzae* ที่ดีที่สุดคือสารสกัดจาก *Scenedesmus* sp. 011 มีผลการยับยั้ง  $10.39 \pm 3.30$  มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 009 และ *Chlorella* sp. 012 มีผลการยับยั้ง  $9.79 \pm 2.70$  และ  $9.63 \pm 2.38$  มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยจากผลการทดลองทั้งหมดพบว่า สาหร่ายสายพันธุ์ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งได้ดีที่สุดต่อเชื้อแบคทีเรียโรคพืชทั้ง 3 ชนิดคือ สาหร่าย *Scenedesmus* sp. 011 รองลงมาคือสาหร่าย *Chlorella* sp. 009 และ *Chlorella* sp. 012 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p > 0.05$ )

เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ต่อการยับยั้งเชื้อ *Erwinia solanacearum* พบว่ามีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 8.15 ถึง 9.17 มิลลิเมตร ซึ่งมีผลการยับยั้งเช่นเดียวกับ Ibraheem et al. (2017) รายงานว่าสารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Sargassum latifolium* สกัดด้วย เมทานอล ความเข้มข้น 500000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ยับยั้งเชื้อ *Pectobacterium carotovora* (*Erwinia solanacearum*) ได้  $16.3 \pm 1.6$  มิลลิเมตร และ ประทุมพร และคณะ (2558) รายงานว่าสกัดสารจากใบชะมวงที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต ความเข้มข้น 1000000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ผลยับยั้งเชื้อ *Erwinia carotovora* เท่ากับ 12 มิลลิเมตร

เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ต่อการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* พบว่ามีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 10.06 ถึง 10.91 มิลลิเมตร ซึ่งมีผลการยับยั้งเช่นเดียวกับ Ibraheem et al. (2017) รายงานว่าสารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Sargassum latifolium* ที่สกัดด้วยเมทานอล ความเข้มข้น 500000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ได้  $12.7 \pm 2.1$  มิลลิเมตร และสุพัฒน์ และนฤมล (2561) รายงานว่าสารสกัดหยาบจากใบสาบเสือแก่ ด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 ความเข้มข้น 100000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ได้ 10.0 มิลลิเมตร และ จาตุรงค์ และคณะ (2557) รายงานว่าสารสกัดหยาบจากข้าวแดง ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 สารสกัดเข้มข้น 200000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้บริเวณยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum*  $10.5 \pm 0.06$  มิลลิเมตร

เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดจากสาหร่ายขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ต่อการยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas oryzae* พบว่ามีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 9.63 ถึง 10.39 มิลลิเมตร ซึ่งมีผลการยับยั้งเช่นเดียวกับ Kumar and Rengasamy (2000) รายงานว่าสารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Sargassum wightii* ที่สกัดด้วยเมทานอล สารสกัดเข้มข้น 5000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas oryzae* ได้  $11.8 \pm 0.53$  มิลลิเมตร และวราภรณ์ (2560) รายงานว่าสารสกัดหยาบจากใบน้อยหน้า และใบบัวบก ที่สกัดด้วยตัวเมทานอล ความเข้มข้น 25000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas oryzae* ได้ 9 และ 8 มิลลิเมตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.5.2 ผลการศึกษาเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันในการเป็นสารออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโรคพืชด้วยวิธี MIC

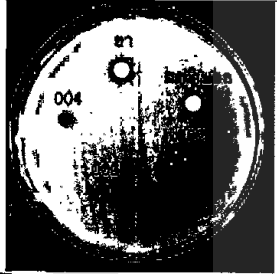

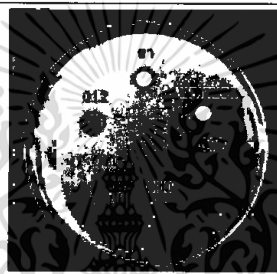
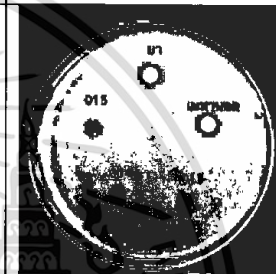
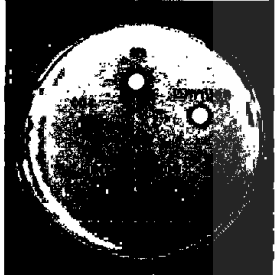

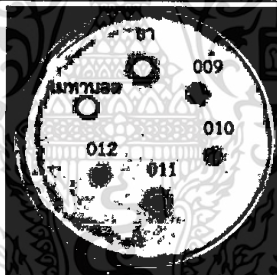
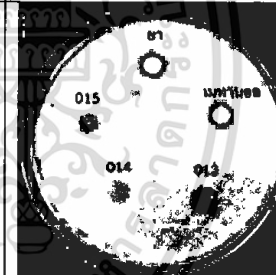
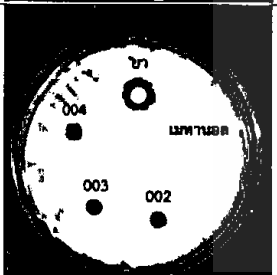
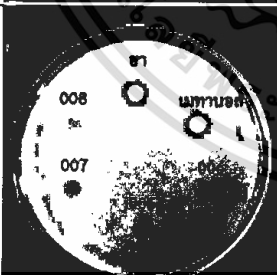
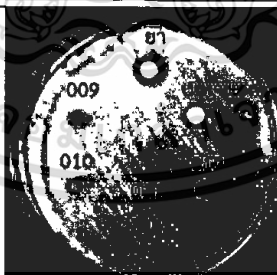
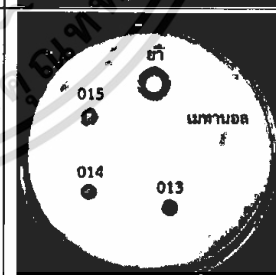
จากผลการทดลองนำเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันจากสาหร่าย 14 สายพันธุ์ นำมาทดสอบการเป็นสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืช 3 สายพันธุ์โดยวิธี Agar disc diffusion พบว่าสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์มีการยับยั้งที่แตกต่างกัน ในการทดลองนี้จึงคัดเลือกสาหร่ายสายพันธุ์ที่ออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด 3 สายพันธุ์ มาทดสอบหาค่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคพืช ที่ความเข้มข้นเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันตั้งแต่ 1.95 ถึง 1000 ไมโครกรัมต่อแผ่นดิสก์ ผลการทดลองพบว่า สาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถยับยั้งเชื้อ *E. carotovora* ได้มากที่สุด โดย *Chlorella* sp. 009 มีค่าการยับยั้งสูงสุดที่ 15.63 ไมโครกรัมต่อ 50 ไมโครลิตร รองลงมาคือ *Scenedesmus* 011 และ *Chlorella* sp. 012 มีค่าการยับยั้ง 62.5 และ 125 ไมโครกรัมต่อ 50 ไมโครลิตร ตามลำดับ และเชื้อ *R. solanacearum* ถูกยับยั้งได้ดีเป็นอันดับสอง โดยสาหร่าย *Chlorella* sp. 009 มีค่าการยับยั้งสูงสุดที่ 62.50 ไมโครกรัมต่อ 50 ไมโครลิตร รองลงมาคือสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 011 และ *Chlorella* sp. 012 มีค่าการยับยั้งเท่ากันที่ 125 ไมโครกรัมต่อ 50 ไมโครลิตร และเชื้อที่ถูกยับยั้งได้ดีเป็นอันดับสุดท้ายคือ *X. oryzae* โดย *Scenedesmus* sp. 011 และ *Chlorella* sp. 012 มีค่าการยับยั้งเท่ากันที่ 125 ไมโครกรัมต่อ 50 ไมโครลิตร และ *Chlorella* sp. 009 มีค่าการยับยั้ง 250 ไมโครกรัมต่อ 50 ไมโครลิตร (ตารางที่ 4.7 ถึง 4.9)

เมื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรียโรคพืชของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 011, *Chlorella* sp. 009 และ *Chlorella* sp. 012 ต่อการยับยั้งเชื้อ *Erwinia carotovora* พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 1250 ถึง 2500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สอดคล้องกับ Abbassy *et al.* (2014) รายงานว่าสารสกัดด้วยเอทานอลของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ *Erwinia carotovora* ที่ 2500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรียโรคพืชของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 011, *Chlorella* sp. 009 และ *Chlorella* sp. 012 ต่อการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 1250 ถึง 2500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร น้อยกว่า จาตุรงค์ และคณะ (2557) รายงานว่าสารสกัดหยาบจากข้าวแดงที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มีความเข้มข้นที่น้อยที่สุดในการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* อยู่ที่ 25000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ สุพัฒน์ และนฤมล (2561) รายงานว่าสารสกัดจากใบสบเสื่อแก่ ด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 พบว่ามีความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ที่ 50000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงภาพฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโรคมืด 3 ชนิด ด้วยเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สกัดจากสาหร่าย 14 สายพันธุ์ โดยวิธี Agar disc diffusion

เชื้อ	1	2	3	4
<i>Erwinia carotovora</i>				
<i>R. solanacearum</i>				
<i>X. oryzae</i>				

หมายเหตุ ชุดที่ 1 ถึงชุดที่ 4 ประกอบด้วย FAME ของสาหร่ายสายพันธุ์ต่างๆ (ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อแผ่นดิสก์) โดย  
 002 = *Chroococcus* sp. 002  
 003 = *Chlorella* sp. 003  
 004 = *Chlamydomonas* sp. 004  
 005 = *Scenedesmus* sp. 005  
 006 = *Scenedesmus* sp. 006  
 007 = *Ankistrodesmus* sp. 007  
 008 = *Chlamydomonas* sp. 008  
 009 = *Chlorella* sp. 009  
 010 = *Chlamydomonas* sp. 010  
 011 = *Scenedesmus* sp. 011  
 012 = *Chlorella* sp. 012  
 013 = *Chlorococcum* sp. 013  
 014 = *Scenedesmus* sp. 014  
 015 = *Scenedesmus* sp. 015

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโรคพีซ 3 ชนิดด้วยเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สกัดจากสาหร่าย 14 สายพันธุ์ โดยวิธี Agar disc diffusion

สายพันธุ์สาหร่าย	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร)		
	<i>E. carotovora</i>	<i>R. solanacearum</i>	<i>X. oryzae</i>
<i>Chroococcus</i> sp. 002	7.08 ± 0.591 <sup>bc</sup>	7.56 ± 1.907 <sup>b</sup>	9.61 ± 5.601 <sup>ab</sup>
<i>Chlorella</i> sp. 003	-	-	-
<i>Chlamydomonas</i> sp. 004	-	-	-
<i>Scenedesmus</i> sp. 005	6.40 ± 0.520 <sup>c</sup>	6.70 ± 0.676 <sup>b</sup>	6.45 ± 0.323 <sup>ab</sup>
<i>Scenedesmus</i> sp. 006	8.87 ± 1.633 <sup>ab</sup>	7.63 ± 0.964 <sup>b</sup>	7.85 ± 1.103 <sup>ab</sup>
<i>Ankistrodesmus</i> sp. 007	-	-	-
<i>Chlamydomonas</i> sp. 008	7.39 ± 2.300 <sup>abc</sup>	7.00 ± 1.079 <sup>b</sup>	6.73 ± 0.237 <sup>ab</sup>
<i>Chlorella</i> sp. 009	9.17 ± 1.021 <sup>a</sup>	10.06 ± 1.329 <sup>a</sup>	9.79 ± 2.704 <sup>ab</sup>
<i>Chlamydomonas</i> sp. 010	9.21 ± 1.777 <sup>a</sup>	9.77 ± 0.801 <sup>a</sup>	8.48 ± 1.905 <sup>ab</sup>
<i>Scenedesmus</i> sp. 011	9.14 ± 1.029 <sup>a</sup>	10.91 ± 1.299 <sup>a</sup>	10.39 ± 3.304 <sup>a</sup>
<i>Chlorella</i> sp. 012	8.15 ± 0.672 <sup>abc</sup>	10.91 ± 1.582 <sup>a</sup>	9.63 ± 2.385 <sup>ab</sup>
<i>Chlorococcum</i> sp. 013	7.07 ± 0.653 <sup>bc</sup>	7.94 ± 0.794 <sup>b</sup>	6.88 ± 0.383 <sup>ab</sup>
<i>Scenedesmus</i> sp. 014	6.56 ± 0.523 <sup>c</sup>	7.07 ± 0.058 <sup>b</sup>	6.24 ± 0.156 <sup>b</sup>
<i>Scenedesmus</i> sp. 015	7.87 ± 0.880 <sup>abc</sup>	7.91 ± 1.052 <sup>b</sup>	6.75 ± 0.255 <sup>ab</sup>

หมายเหตุ ± คือ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (SD)

ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษไม่เหมือนกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ )

เมื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรียโรคพีซของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 011, *Chlorella* sp. 009 และ *Chlorella* sp. 012 ต่อการยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas oryzae* พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 2500 ถึง 5000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร น้อยกว่า วราภรณ์ (2560) รายงานว่าสารสกัดหยาบจากใบน้อยหน่า ใบบัว และใบตำลึง ที่สกัดด้วยเมทานอล มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas oryzae* ที่ 12500, 25000 และ 50000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.6 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรสโกปี

จากการคัดเลือกสาหร่ายที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโรคพืชทั้ง 3 ชนิดไปทดสอบหาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรสโกปี ได้แก่ *Scenedesmus* sp. 011, *Chlorella* sp. 009 และ *Chlorella* sp. 012 ผลการวิเคราะห์ (ภาคผนวก จ) พบกรดไขมัน Hexadecanoic acid, methyl ester หรือกรดปาล์มิติก (C16:0) สูงที่สุดในสาหร่ายทั้ง 3 สายพันธุ์ โดย *Chlorella* sp. 009 พบกรดปาล์มิติกมากที่สุดคือร้อยละ 26.648 รองลงมาคือสาหร่าย *Chlorella* sp. 012 และ *Scenedesmus* sp. 011 พบกรดปาล์มิติกร้อยละ 23.126 และ 19.273 ตามลำดับ และกรดไขมันที่พบมากเป็นลำดับสองคือ 9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester หรือกรดกรดไลโนเลอิก (C18 : 2 ) โดย *Chlorella* sp. 009 พบกรดไลโนเลอิกมากที่สุดคือร้อยละ 21.818 รองลงมาคือสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 011 และ *Chlorella* sp. 012 โดยพบกรดไลโนเลอิกร้อยละ 12.121 และ 10.507 ตามลำดับและกรดไขมันที่พบมากเป็นลำดับสามคือ Octadecanoic acid, methyl ester หรือกรดสเตียริก (C18:0) พบที่สาหร่าย *Chlorella* sp. 009, *Scenedesmus* sp. 011 และ *Chlorella* sp. 012 ร้อยละ 7.520, 5.603 และ 4.742 ตามลำดับ

สอดคล้องกับงานวิจัยของ Davoodbasha et al. (2018) รายงานว่าเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันจากสาหร่าย *Scenedesmus intermedius* เกิดการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus parasiticus* และ *Candida albicans* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อวิเคราะห์เมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันโดยด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีเฟรมไอออนเซชัน พบว่ามีปริมาณกรดปาล์มิติกสูงสุดที่ร้อยละ 23.08 และ Bakar et al. (2017) รายงานว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Sargassum granuliferum* และ *Dictyota dichotoma* ที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม เกิดการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Bacillus subtilis* ได้ดี เมื่อวิเคราะห์สารสกัดด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรสโกปี พบว่ามีกรดปาล์มิติก (C16:0) เป็นองค์ประกอบที่โดดเด่น ที่ร้อยละ 32.8 และ 24.9 ตามลำดับ และ Ibraheem et al. (2017) รายงานว่าสารสกัดจากสาหร่ายทะเล *Sargassum latifolium*, *Hydroclathrus clathratus* และ *Padina gymnospora* เกิดการยับยั้งเชื้อ *Pectobacterium carotovora* (*Erwinia carotovora*) และ *Ralstonia solanacearum* วิเคราะห์องค์ประกอบสารสกัดด้วยเทคนิคแก๊สลิควิดโครมาโทกราฟี พบว่ามีกรดโอเลอิก (C18:1) เป็นองค์ประกอบร้อยละ  $30.36 \pm 3.0$ ,  $21.39 \pm 2.1$ ,  $30.30 \pm 2.5$  ตามลำดับ และกรดปาล์มิติก (C16:0) ร้อยละ  $29.46 \pm 3.0$ ,  $21.36 \pm 2.9$ ,  $36.35 \pm 4.5$  ตามลำดับ และ Henry et al. (2012) สารสกัดจากสาหร่ายทะเล *Sargassum polyceratum* ที่สกัดด้วยอะซิโตน เกิดการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*, *G. candidum*, *E. coli* และ *E. carotovora* ได้ และมีปริมาณกรดปาล์มิติกเป็นองค์ประกอบร้อยละ 22.4 และ Sivakumar (2014) รายงานว่าสาหร่ายสีแดง *Portieria hornemannii* สกัดด้วย

คลอโรฟอร์ม เกิดการยับยั้งเชื้อ *X. axonopodias* pv.citri และ *X. campestris* pv. *malvacearum* ได้ เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบภายในด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรสโกปี พบว่ามีกรด 1,2 - Benzenedicarboxylic, diisooctyl ester มากสุดที่ร้อยละ 48.21 รองลงมาคือกรด 1,2 - Benzene dicarboxylic, bis (2-methyl propyl) ester ร้อยละ 19.67 ส่วนกรดปาล์มิติก (C16:0) พบเป็นส่วนน้อยเพียงร้อยละ 6.36 และ Corato et al. (2017) รายงานว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Laminaria digitata*, *Undaria pinnatifida* และ *Porphyra umbilicalis* สกัดโดยใช้เทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด พบว่า เกิดการยับยั้งเชื้อ *Botrytis cinerea*, *Monilinia laxa* และ *Penicillium digitatum* ได้ เมื่อศึกษาองค์ประกอบภายในสารสกัดด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรสโกปีพบว่ามีกรดปาล์มิติก (16:0) เป็นองค์ประกอบสูงสุดที่ร้อยละ 32.5±0.6, 13.2±0.2 และ 34.7±0.6 ตามลำดับ รองลงมาเป็นกรดอะราซิโดนิก (C20:4) พบร้อยละ 14.0±0.2, 18.2±0.2 และ 9.2±0.1 ตามลำดับ

ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารสกัดจากสาหร่ายที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจะประกอบไปด้วยกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวเช่น กรดไมริสติก (C14:0) กรดปาล์มิติก (C16:0) กรดโอเลอิก (C18:1) และกรดอีโคซะเพนตะอีโนอิก (EPA) ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียอาจเกิดจากชนิดและปริมาณของกรดไขมันอิสระเหล่านี้ (Hamed et al. 2018) ตารางที่ 4.7 แสดงค่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโรคพืช (MIC) ของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 011

ความเข้มข้นของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (ไมโครกรัมต่อ 50 ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	แบคทีเรียโรคพืช		
		<i>E. carotovora</i>	<i>R. solanacearum</i>	<i>X. oryzae</i>
1000	20000	-	-	-
500	10000	-	-	-
250	5000	-	-	-
125	2500	-	-	-
62.5	1250	-	+	+
31.25	625	+	+	+
15.63	312.50	+	+	+
7.81	156.25	+	+	+
3.90	78.13	+	+	+
1.95	39.06	+	+	+

หมายเหตุ - คือไม่พบการเจริญเติบโต + คือพบการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโรคพืช (MIC) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. 009

ความเข้มข้นของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (ไมโครกรัมต่อ50 ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	แบคทีเรียโรคพืช		
		<i>E. carotovora</i>	<i>R. solanacearum</i>	<i>X. oryzae</i>
1000	20000	-	-	-
500	10000	-	-	-
250	5000	-	-	-
125	2500	-	-	+
62.50	1250	-	-	+
31.25	625	-	+	+
15.63	312.50	-	+	+
7.81	156.25	+	+	+
3.90	78.13	+	+	+
1.95	39.06	+	+	+

หมายเหตุ - คือไม่พบการเจริญเติบโต + คือพบการเจริญเติบโต

ตารางที่ 4.9 แสดงค่าความเข้มข้นในระดับต่ำสุดของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโรคพืช (MIC) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. 012

ความเข้มข้นของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (ไมโครกรัมต่อ50ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	แบคทีเรียโรคพืช		
		<i>E. carotovora</i>	<i>R. solanacearum</i>	<i>X. oryzae</i>
1000	20000	-	-	-
500	10000	-	-	-
250	5000	-	-	-
125	2500	-	-	-
62.50	1250	+	+	+
31.25	625	+	+	+
15.63	312.50	+	+	+
7.81	156.25	+	+	+
3.90	78.13	+	+	+
1.95	39.06	+	+	+

หมายเหตุ - คือไม่พบการเจริญเติบโต + คือพบการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 009, *Scenedesmus* sp. 011 และ *Chlorella* sp. 012 โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟแมสสเปกโทรสโกปี

Retention time	กรดไขมัน	ร้อยละของกรดไขมัน		
		<i>Scenedesmus</i> sp. 011	<i>Chlorella</i> sp. 009	<i>Chlorella</i> sp. 012
11.347	Butanoic acid, methyl ester (Butyric acid, C4:0)	1.193	-	-
17.336	Tetradecanoic acid, methyl ester (Myristic acid, C14:0)	2.460	1.720	2.782
18.090	Propanoic acid, methyl ester	-	-	2.365
19.542	Hexadecanoic acid, methyl ester (Palmitic acid, C16:0)	19.273	26.648	23.126
20.265	9-Hexadecanoic acid, methyl ester (Palmitoleic acid, C16:1)	1.993	-	-
20.497	7,10-Hexadecadienoic acid, methyl ester	1.939	8.029	3.536
20.966	9,12,15- Octadecatrienoic acid, methyl ester (Alpha linolenic acid, C18:3)	-	-	4.884

หมายเหตุ - คือ ไม่มีสารชนิดนั้นเป็นองค์ประกอบ

ตารางที่ 4.10 (ต่อ)

Retention time	กรดไขมัน	ร้อยละของกรดไขมัน		
		<i>Scenedesmus</i> sp. 011	<i>Chlorella</i> sp. 009	<i>Chlorella</i> sp. 012
20.972	4,7,10-Hexadecatrienoic acid, methyl ester	6.036	-	-
22.904	Octadecanoic acid, methyl ester (Stearic acid, C18:0)	5.603	7.520	4.742
23.379	9- Octadecanoic acid, methyl ester (Oleic acid, C18:1)	5.512	-	7.011
24.415	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester (Linoleic acid, C18:2)	12.121	21.818	10.507
25.845	9,12,15- Octadecatrienoic acid, methyl ester (Linolenic acid, C18:3)	-	-	6.984

หมายเหตุ - คือ ไม่มีสารชนิดนั้นเป็นองค์ประกอบ

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและขอเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

คัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กจากแหล่งน้ำธรรมชาติได้ 6 สกุล ได้แก่ *Chroococcus* 1 สายพันธุ์ *Chlorella* 3 สายพันธุ์ *Chlamydomonas* 3 สายพันธุ์ *Scenedesmus* 5 สายพันธุ์ *Ankistrodesmus* 1 สายพันธุ์ และ *Chlorococcum* 1 สายพันธุ์ และพบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. 003 มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดใน รองลงมาคือ *Chlamydomonas* sp. 010 และ *Scenedesmus* sp. 006 ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ  $2.187 \pm 0.003$ ,  $1.972 \pm 0.005$  และ  $1.751 \pm 0.002$  ตามลำดับ ปริมาณเซลล์  $7.223 \pm 0.001 \times 10^7$ ,  $5.507 \pm 0.003 \times 10^7$  และ  $6.474 \pm 2.590 \times 10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และน้ำหนักเซลล์แห้ง 0.100, 1.053 และ 1.113 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

การศึกษาปริมาณไขมันจากสาหร่าย พบว่าสาหร่าย *Ankistrodesmus* sp. 007 มีปริมาณไขมันสูงที่สุดร้อยละ  $40.06 \pm 1.02$  รองลงมาคือ *Chlorella* sp. 003 และ *Chlamydomonas* sp. 008 โดยมีปริมาณไขมันร้อยละ  $24.91 \pm 0.65$  และ  $24.21 \pm 1.06$  ตามลำดับ

การศึกษาปริมาณเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันจากสาหร่าย พบว่า *Scenedesmus* sp. 011 มีปริมาณเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันมากที่สุดคือ  $0.16 \pm 0.03$  กรัมต่อกรัมเซลล์ รองลงมาคือ *Chlorella* sp. 012 และ *Chlorella* sp. 009 มีปริมาณเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน  $0.15 \pm 0.03$  และ  $0.11 \pm 0.03$  กรัมต่อกรัมเซลล์ ตามลำดับ

การศึกษากการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่าสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 011 ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคพืชทั้ง 3 ชนิดได้ดีที่สุด คือ *Erwinia carotovora*, *Ralstonia solanacearum* และ *Xanthomonas oryzae* มีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณวงใส  $9.14 \pm 1.03$ ,  $10.91 \pm 1.30$  และ  $10.39 \pm 3.30$  มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือ *Chlorella* sp. 009 มีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณวงใส  $9.17 \pm 1.02$ ,  $10.06 \pm 1.33$  และ  $9.79 \pm 2.70$  มิลลิเมตร ตามลำดับ และ *Chlorella* sp. 012 มีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณวงใส  $8.15 \pm 0.67$ ,  $10.91 \pm 1.58$  และ  $9.63 \pm 2.39$  มิลลิเมตร ตามลำดับ

การศึกษาความเข้มข้นในระดับต่ำสุด (MIC) ของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคพืชทั้ง 3 ชนิด พบว่าสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 011 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคพืชทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้น 62.5, 125 และ 125 ไมโครกรัมต่อ 50 มิลลิลิตร ตามลำดับ รองลงมาคือ *Chlorella* sp. 009 ที่ความเข้มข้น 15.63, 62.5 และ 250 ไมโครกรัมต่อ 50 มิลลิลิตร ตามลำดับ และ *Chlorella* sp. 012 ยับยั้งทั้ง 3 เชื้อที่ความเข้มข้น 125 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันโดยเทคนิค

แก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรสโกปี พบว่า *Chlorella* sp. 009 มีกรดปาล์มติกสูงสุด ร้อยละ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

26.648 รองลงมาคือกรดไลโนเลอิก ร้อยละ 21.818 และกรดสเตียริก ร้อยละ 7.520 ตามลำดับ  
 สำหรับสาย *Chlorella* sp. 012 และ *Scenedesmus* sp. 011 พบกรดปาล์มติก ร้อยละ 23.126 และ  
 19.273 ตามลำดับ กรดไลโนเลอิก ร้อยละ 10.507 และ 12.121 ตามลำดับ และกรดสเตียริก 4.742  
 และ 5.603 ตามลำดับ

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรใช้เชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมลบ และแกรมบวกในการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบ  
 ประสิทธิภาพเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก
2. ควรศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันด้านอื่นๆเพิ่มเติม เช่น ฤทธิ์  
 ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านมะเร็ง เป็นต้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- กาญจนภาชน์ ลีวโนมนต์. 2527. สหราชอาณาจักร. กรุงเทพฯ : คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กิตติพล กสิภาร, วัชร เวียงแก้ว, ศิริวรรณ ศรีสรณ์ และ ชนาธิป สามารถ. 2555. “การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง *Chlorella vulgaris* ด้วยวิธีการออกแบบการทดลองแบบพหุคูณตอบสนอง.” *วารสารวิทยาศาสตร์ มช.* 40(1) : 188-197.
- จงดี ศรีนพรัตน์วัฒน์, สมชาย หวังวิบูลย์กิจ, นริทร์ศักดิ์ พัทธระกุล และปราณี ตบนิยารวงศ์. 2558. การเลี้ยงไร่น้ำนางฟ้าไทยเชิงพาณิชย์ด้วยน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงปลา. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- จาดุรนต์ ทิพย์วงศ์, เบญจมาศ หนูแป้น และเกษร เมืองทิพย์. 2557. “ผลของสารสกัดหยาบราข้าวแดงและสารสีแดงจากรา *Monascus purpureus* TISTR 3541 ในการยับยั้งแบคทีเรีย *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* สาเหตุโรคแคงเกอร์และ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยว.” รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ชุดโครงการความร่วมมือ สกว.-มรส. การพัฒนางานวิจัยและการสนับสนุนงานวิจัยเชิงพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี. สุราษฎร์ธานี : สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.).
- จามรี เครื่องหงส์ และสุรภี ประชุมพล. 2559. “การจัดการความรู้และถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตไร่น้ำนางฟ้าไทยด้วยน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงปลา.” โครงการจัดการความรู้และถ่ายทอดเทคโนโลยีจากผลงานวิจัยและนวัตกรรม, สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- จิรรัตน์ พรหมนารถ และสุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2556. “ผลของความเข้มข้นของไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตไขมันของสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Scenedesmus dimorphus*.” *วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง.* 7(S1) : 92-101.
- จุฑาทิพย์ วัชรไชยคุปต์, นิพนธ์ ทวีชัย, จุลภาค คุณวงศ์ และ วิชัย โฆสิตรัตน์. 2548. “การศึกษากลไกการต้านทานโรคเหี่ยวของพริกจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum*.” หน้า 262-269 ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เจนจิรา แซ่คู และชนวรรณ พาณิชย์พัฒน์. 2560. “การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กในน้ำทิ้งฟาร์มสุกรและการผลิตน้ำมันจากสาหร่าย.” *Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University.* 4(4) : 2408-1248.
- ชานนทร์ แสงจันทร์. 2557. “การควบคุมโรคเน่าและที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* pv. *Carotovora* ในผักกาดเขียวปลีโดยใช้ความต้านทานจากสิ่งกระตุ้น.” วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ดวงกมล เรืองงาม. 2560. “สภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus armatus* และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด.” *วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม* 12(1) : 59-70.
- นริศรา สุวรรณโชติ. 2557. “การศึกษาผลของปริมาณไนเตรตต่อการเจริญเติบโตของคลอเรลลา (*Chlorella vulgaris*.)” *วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศิลปากร.*
- ปฐมพร มณีวรรณ, สุพัตรา บุญหนัก, คุณภัทร ประงเกียรติ และ สยาม ระโส. 2017. “ความหลากหลายชนิดของสาหร่ายยีสต์เกาะพืชน้ำตื้นชั้นคลอโรไฟต์ในแหล่งน้ำ ณ กองพันทหารราบที่ 3 กรมทหารราบที่ 23 ค่ายวีรวัฒน์โยธิน จังหวัดสุรินทร์.” *วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาลัน.* 39(1) : 83-97.
- ประทุมพร ปลอดภัย, จิตติมา โสติวิไลพงศ์, วิลาวรรณ เชื้อบุญ และดุสิต อธิวัฒน์. 2558. “การควบคุมแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* subsp. *carotovorum* สาเหตุโรคนาเลของผักคะน้าด้วยสารสกัดจากพืช.” ใน *การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 53 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.* กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ประสาทร บริสุทธิ์เพ็ชร, ทัย กาญจนบุตร, และสาธิต พรตระกูลพิพัฒน์. 2551. “การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในทองปฏิบัติการณ์.” หน้า 91-101. ใน *การประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มช. ครั้งที่ 9.* ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ปริญญา มูลสิน และอมรรัตน์ วงษ์กลม. 2556. “การศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากสาหร่ายเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง.” *งานวิจัยสาขาวิชาชีววิทยาและสาขาวิชาเคมี, มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี.*
- ผกาวดี แก้วกันเนตร, วรวิมล จุฬาลักษณ์านุกุล และเจมส์ อเล็กซ์ อี. 2552. *รายงานการวิจัยศักยภาพการผลิตไบโอดีเซลจากน้ำมันที่ได้จากสาหร่าย.* ขอนแก่น : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- พิเชษฐ์ ดวงศรี. 2554. “ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่มีสารสกัดจากสมุนไพรไทย.” *วิทยานิพนธ์ วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.*
- พนิดา รัตนพลที. 2552. “การประยุกต์ใช้สาหร่ายขนาดเล็กเพื่อผลิตไบโอดีเซล.” *วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.*
- โลมไสล วงค์จันทา, สิริดา ปงเมืองมูล, อนุสรณ์ ดิษฐสุวรรณ, ปาริชาติ กัญญาบุญ, จรรยา สุพรรณ, ธรรมรัตน์ อยู่สุข และ เต็มสิริ เคนคำ. 2556. *คู่มือพีซีดี GC-MS.* นครสวรรค์ : คณะกรรมการการจัดการความรู้ (KM) ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- วงศ์ บุญสืบสกุล, ณีภูริมา โฆษิตเจริญกุล, ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ และ รุ่งนภา คงสุวรรณ. 2549. “การควบคุมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. สาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง โดยเชื้อ *Bacillus subtilis* Ehrenberg.” *วารสารวิชาการเกษตร*. 24(2) : 178-197.
- วราทิตย์ ตลสุจิต. 2560. “การคัดแยกและเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็ก *Ankistrodesmus* sp. BPR12 จากอ่างเก็บน้ำบางพระ จังหวัดชลบุรีเพื่อการผลิตไบโอดีเซล.” สาขาวิชาประมง, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก.
- วราภรณ์ อุทอง. 2560. “ผลของสารสกัดหยาบแต่ละชนิดจากใบน้อยหน่า บัวบก และตำลึงต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- วรินนภา สมสนุก. 2556. “การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในประเทศไทย.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วีณา ชูโชติ. 2556. “ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* spp. ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค.” *วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง*. 22(2) : 102-114.
- วีณา ชูโชติ, กิตติคุณ สุคันโธวงศ์, ธนียา แซ่ไอ้ว และสันติสุข ขวัญศิริวิช. 2557. “การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็กที่มีปริมาณไขมันสูง.” *วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง*. 8(1) : 84-92.
- มนัสนันท์ งามถ้อย และพรรณวดี สุวฒิกะ. 2558. “การลดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยสาหร่ายขนาดเล็ก *Chlorella vulgaris* TISTR 8580.” หน้า 1630-1639 ใน การประชุมภาคใหญ่วิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 6. สงขลา : มหาวิทยาลัยหาดใหญ่.
- ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. *สาหร่ายวิทยา*. เชียงใหม่ : โชนาพรินทร์.
- รุ่งนภา คงสุวรรณ, บุรณี พ่วงแพทย์, สุรีย์พร บัวอาจ และ ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์. 2555. “การจัดจำแนกชนิดแบคทีเรีย *Erwinia* สาเหตุโรคน้ำและ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม.” รายงานผลการวิจัยประจำปี พ.ศ. 2555 กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและอารักขาพืช, กรมวิชาการเกษตร
- รองเดช ตั้งตระการพงษ์ และจุลจิตน์ ตั้งการพงษ์. 2559. “ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากใบสาระแหน่โดยตัวทำละลายเอทานอล.” *วารสารวิทยาศาสตร์ มข*. 44(1) : 79-87.
- ฤทัยรัตน์ วิศาลสุวรรณกร. 2548. ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของสาหร่าย *Chlorella* sp. โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอน เมื่อเพาะเลี้ยงในปฏิกรณ์ชีวภาพแสง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ศิราภรณ์ ชื่นบาล, รูปน ชื่นบาล และรุ่งทิพย์ กาวารี. 2557. การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไบโอดีเซลจากจุลสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ในถังปฏิกรณ์ ด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์. รายงานผลการวิจัย สาขาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ศุภศิษย์ อรุณรุ่งสวัสดิ์. (2552). **ชีวเคมีพื้นฐาน**. กรุงเทพฯ : ท็อป.
- ศศิธร วุฒินิษฐ์. 2545. **โรคของผักและการควบคุมโรค**. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุนีรัตน์ เรื่องสมบูรณ์ และจันทรา ตีมาก. 2561. “ผลของอัตราส่วนไนโตรเจนต่อเหล็กที่มีต่อการเจริญและการผลิตไขมันของสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus dimorphus*.” *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*. 36(1) : 77-86.
- สุพัฒนา จันทา และนฤมล พินเนียม ชนะไพฑูริย์. 2561. “ประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบสาบเสือในการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในขิง.” หน้า 920-929. ใน การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับชาติครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.
- สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม. 2561. **รายงานสถานการณ์โรคและภัยสุขภาพจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม**. นนทบุรี : กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข.
- เสาวนิตย์ ชอบบุญ และพัชรี หลุ่มหม่าน. 2552. “การศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินและสาหร่ายสีเขียวในมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา.” รายงานการวิจัย สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.
- อัญชลี ศิริขจรกิจ. 2554. “สาหร่ายเซลล์เดียวแคลมิโดโมนาส (*Chlamydomonas reinhardtii*) กับงานวิจัยทางพันธุศาสตร์.” *วารสารสมาคมพันธุศาสตร์*. 4(1) : 9-21.
- อมรรัตน์ สีสุกกอง, กัลยาภรณ์ จันตรี และ ศรีสุดา หาญภาคภูมิ. 2559. “การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากวัชพืชบางชนิด.” *วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์*. 11(1) : 69-82.
- Abbassy, M.A., Marei, G.I.K. and Rabia, S.M.H. 2014. “Antimicrobial activity of some plant and algal extracts.” *International Journal of Plant and Soil Science*. 3(10) : 1366-1373.
- Akgül, F., Kizilkaya, I.T., Rıza Akgül, R. and Erduğan, H. 2017. “Morphological and molecular characterization of *Scenedesmus*-like species from ergene river basin (Thrace, Turkey).” *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 17 : 609-618.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Alam, A., Ullah, S., Aftab, S., Alam, S., Khan, Y., Rahman, K.U. and Zahoor. 2016. "Evaluation of *Sirogonium sticticum*, *Uronema elongatum*, *Chroococcus turgidus* and *Temnogyra reflexa* for biodiesel production in Pakistan." *Biofuels*. 1-9.
- Ali, D.M. Praveenkumar, R. Shenbagavalli, T. Nivetha, T.M. Ahamed, A.P. Al-Dhabib, N.A. and Thajuddin, N. 2012. "New reports on anti-bacterial and anti-candidal activities of fatty acid methyl esters (FAME) obtained from *Scenedesmus bijugatus* var. *bicellularis* biomass." *The Royal Society of Chemistry*. 2 : 11552–11556.
- Bakar, K., Mohamad, H., Latip J., Tan, H.S. and Heng, g.m. 2017. "Fatty acid compositions of *Sargassum granuliferum* and *dictyota dichotoma* and their anti-fouling activities." *Journal of Sustainability Science and Management*. 12(2) : 8-16.
- Bellinger, E.G. and Sigeo, D.C. 2010. **Fresh water algae: indentification, enumeration and use as bioindicators.** West Sussex : Wiley Blackwell.
- Berberoglu, H., Gomez, P.S. and Pilon, L. 2009. "Radiattion characteristics of botryococcus braunii, Chlorococccum littorale and *Chlorella* sp. used for CO<sub>2</sub> fixation and biofuel production." *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*. 110(17) : 1879-1893.
- Bligh, E.G. and Dryer, W.J. 1959. "A rapid method of total lipid extraction and purification." *Canadian Journal Biochemistry and Physiology*. 37(8) : 911-917.
- Bock, C., Krienitz, L. and Pröschold, T. 2011. "Taxonomic reassessment of the genus *Chlorella* (Trebouxiophyceae) using molecular signatures (barcodes), including description of seven new species." *Fottea*. 11(2) : 293–312.
- Borowitzka, M.A. 1999. "Commercial production of microalgae : ponds, tanks, tubes and fermenters." *Journal of Biotechnology*. 70 : 313-321.
- Cakmak, Y.S., Kaya, M. and Asan-Ozusaglam, M. 2014. "Biochemical composition and bioactivity screening of various extracts from *Dunaliella salina* a green microalga." *EXCLI Journal*. 13 : 679-690.
- Chisti, Y. 2007. "Biodiesel from microalgae." *Biotechnology Advances*. 25(3) : 294-306.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Coratoa, U.D., Salimbenib, R., Pretisb, A.D., Avellab, N., Patrunob, G. 2017. "Antifungal activity of crude extracts from brown and red seaweeds by a supercritical carbon dioxide technique against fruit postharvest fungal diseases." *Postharvest Biology and Technology* 131 : 16-30.
- Davoodbasha, M., Edachery, B., Nooruddin, T., Lee, S.Y. and Kim, J.W. 2018. "An evidence of C16 fatty acid methyl esters extracted from microalga for effective antimicrobial and antioxidant property." *Microbial Pathogenesis*. 115 : 233-238.
- Elings, A., Reddy, P.R., Marimuthu, T., Rossing, W.A.H., Jansen, M.J.W. and Teng, T.S. 1997. "Rice bacterial leaf blight ; field experiment, systems analysis and damage coefficients." *Field Crops Research*. 51 : 113-131.
- Eppo. 2007. "*Xanthomonas oryzae*." *Bulletin Oepp/eppo Bulletin*. 37 : 543-553.
- Floch, J., Lees, M. and Stanley, G.H.S. 1957. "A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues." *The Journal of Biological Chemistry*. 226 : 497-509.
- Ghasemi, Y., Moradian, A., Mohagheghzadeh, A., Shokravi, S. and Morowvat, M.H. 2007. "Antifungal and antibacterial activity of the microalgae from paddy fields in the south of iran : characterization of antimicrobial activity of *Chroococcus dispersus*." *Journal of Biological Sciences*. 7(6) : 904-910.
- Guschina, I.A. and Harwood, J.L. 2006. "Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae." *Progress in Lipid Research*. 45 : 160-186.
- Hamed, S.M., El-Rhman, A.A.A., Abdel-Raouf, N. and Ibraheem, I.B.M. 2018. "Role of marine macroalgae in plant protection & improvement for sustainable agriculture technology." *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 7 : 104-110.
- Henry, B., Jacqueline, M. H., Marco, C., Humberto, T., Luis, S., Roy, S. and Ilena, V. 2012. "Antimicrobial activity of most abundant marine macroalgae of the caribbean coast of costa rica." *Journal of Asian Scientific Research*, 2(5) : 292-299.
- Holt, J.G. and Bergey, D.H. 1994. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. London : William and Wilkins.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Huang, Q. and Allen, C. 2000. "Polygalacturonases are required for rapid colonization and full virulence of *Ralstonia solanacearum* on tomato plants." *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 57(2) : 77-83.
- Hussain, S.Z. and Maqbool, K. 2014. "GC-MS : principle, technique and its application in food science." *International Journal of Current Science*. 13 : 116-126.
- Husain, A. and Kelman A. 1958. "Relation of slime production to mechanism of wilting and pathogenicity of *Pseudomonas solanacearum*." *Phytopathology*. 48 : 155-165.
- Ibraheem, B.M., Seham, M.H., Amal, A.A., Farag, M. F., and Neveen, A.R. 2017. "Antimicrobial activities of some brown macroalgae against some soil borne plant pathogens and in vivo management of *Solanum melongena* root diseases." *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 11(5) : 157-168.
- Isik, O., Sarihan, E., Kusvuran, E., Gul, O. and Erbatur, O. 1999. "Comparison of the fatty acid composition of the freshwater fish larvae *Tilapia zillii*, the rotifer *Brachionus calyciflorus* and the microalgae *Scenedesmus abundans*, *Monoraphidium minutum* and *Chlorella vulgaris* in the algae-rotifer-fish larvae food chains." *Aquaculture*. 174 : 299-311.
- Jena, J., Nayak, M., Panda, H.S., Pradhan, N., Sarika, C., Panda, P.K., Rao, B.V.S.K., Prasad, R.B.N. and Sukla, L.B. 2012. "Microalgae of odisha coast as a potential source for biodiesel production." *World Environment*. 2(1) : 12-17.
- John, D.M., Brook, A.J. and Whitton, B.A. 2002. **The freshwater algal flora of the british isles: an identification guide to freshwater and terrestrial algae.** Cambridge : Cambridge University Press.
- Johnson, M.B. and Wen, Z. 2009. "Production of biodiesel fuel from the microalga *Schizochytrium limacinum* by direct transesterification of algal biomass." *Energy Fuels*. 23(10) : 5179-5183.
- Junying, Z., Junfeng, R. and Baoning, Z. 2013. "Factors in mass cultivation of microalgae for biodiesel." *Chinese Journal of Catalysis*. 34 : 80-100.
- Komárek, J., Kastovsky, J., Mares, J. and Johansen, J.R. 2014. "Taxonomic classification of cyanoprokaryotes (cyanobacterial genera) 2014, using a polyphasic approach." *Preslia*. 86 : 295-335.

เอกสารนี้คืองานลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ฯ หากมีข้อผิดพลาดประการใดขออภัยเป็นอย่างสูง  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Kumar, K.A. and Rengasamy, R. 2000. "Antibacterial activities of seaweed extracts/fractions obtained through a TLC profile against the phytopathogenic bacterium *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*." *Botanica Marina*. 43 : 417-421.
- Lee, R.E. 2008. *Phycology*. New York : Cambridge.
- Liu, D.O.N., Ronald, P.C. and Bogdanove, A.J. 2006. "*Xanthomonas oryzae* pathovars: model pathogens of a model crop." *Molecular Plant Pathology*. 5 : 303-324.
- Lv, H., Qu, G., a, Qi, X., Lu, L., Tian, C. and Ma, Y. 2013. "Transcriptome analysis of *Chlamydomonas reinhardtii* during the process of lipid accumulation." *Genomics* 101 : 229-237
- Najdenski, M.H., Gígova, G.L., Iliev, I.I., Pilarski, S.P., Lukavsk, J., Tsvetkova, V.I., Ninova, S.M and Kussovski, K.V. 2013. "Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria." *International Journal of Food Science and Technology*. 48 : 1533-1540.
- Ou, S.H. 1985. *Rice Disease, 2<sup>nd</sup> Edition*. London : Common Wealth Mycological Institute.
- Paes, C.R.P.S., Faria, G.R., Tinoco, N.A.B., Castro, D.J.F.A., Barbarino, E. and Lourenço, S.O. 2016. "Growth, nutrient uptake and chemical composition of *Chlorella* sp. and *Nannochloropsis oculata* under nitrogen starvation." *Latin American Journal of Aquatic Research Impact*, 44(2) : 275-292.
- Price, K. and Farag, I.H. 2013. "Resources conservation in microalgae biodiesel production." *International Journal of Engineering and Technical Research*. 1(8) : 49-56.
- Prior, P., Allen, C. and Elphinstone, J. 1998. **Bacterial wilt disease : molecular and ecology aspects**. Paris : Inra.
- Richmond, A. 1986. **Handbook of microalgal mass culture**. United Kingdom : Blackwell.
- Salem, M.A.O., Hoballah E.M., Ghazi, M.S. and Hanna, N.S. 2014. "Antimicrobial activity of microalgal extracts with special emphasize on *Nostoc* sp." *Life Science Journal*. 11(12) : 752-758.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Sivakumar, R.S. 2014. "GC- MS analysis and antibacterial potential of white crystalline solid from red algae portieria hornemannii against the plant pathogenic bacteria *Xanthomonas axonopodis* pv. citri (Hasse) Vauterin *et al.* and *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* (smith 1901) dye 1978b." *International Journal of Advanced Research*. 2(3) : 174-183.
- Sneath, P.H., Bread, R.S., Murray, E.G. and Smith, R.N. 1986. **Bergeys manual of determination bacteriology**. London : William and Wilkins.
- Sonawane, S., Dalvi, S. and Pokharkar, R. 2015. Chlorococcalean microalgae *Ankistrodesmus convolutes* biodiesel characterization with Fourier transform-infrared spectroscopy and gas chromatography mass spectroscopy techniques. *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies*. 27 : 57-66.
- Stanier, R.Y., Kunisawa, R., Mandel, M. and Cohen-Bazire, G. 1971. Purification and properties of unicellular blue-green algae (Order Chroococcales). *Bacteriology Reviews*. 35(2) : 171-205.
- Stevenson, W.R., Loria, R., Franc, G.D. and Weingartner, D.P. 2001. "Compendium of potato diseases, 2<sup>nd</sup> Edition." *Plant Pathology*. 51 : 518-521.
- Sushanth, V.R. and Rajashekhar, M. 2015. "Antioxidant and antimicrobial activities in the four species of marine microalgae isolated from arabian sea of karnataka coast." *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*. 44(1) : 69-75.
- Swings, J., Mooter, M.V.D., Vauterin, L., Hoste, B., Gillis, M., Mew, T.W. and K. Kersters, K. 1990. "Reclassification of the causal agents of bacterial blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) and bacterial leaf streak (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola*) of rice as pathovars of *Xanthomonas oryzae* (ex Ishiyama 1922) sp. nov., nom. rev." *International Journal of Systematic Bacteriology*. 40(3) : 309-311.
- Tendencia, E.A. 2004. "Disk diffusion method." *Southeast Asian Fisheries Development Center*. 13-29.
- Thongwai, N. and Kunopakarn, J. 2007. "Growth Inhibition of *Ralstonia solanacearum* PT1J by antagonistic bacteria isolated from soils in the northern part of thailand." *Chiang Mai Journal Science*. 34(3) : 345-354.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tsarenko, P.M., Wasser, S.P. and Nevo, E. 2011. **Algae of ukraine: diversity, nomenclature, taxonomy, ecology and geography volume 3 chlorophyta.** Liechtenstein : Gantner Verlag.

Ugo, D.C., Rocco, S., Agostino, D.P., Nicolla, A. and Giovanni, P. 2017. "Antifungal activity of crude extracts from brown and red seaweeds by a supercritical carbon dioxide technique against fruit postharvest fungal diseases." *Postharvest Biology and Technology.* 131 : 16-30.

Ugwu, C.U., Aoyagi, H. and Uchiyama, H. 2008. "Photobioreactors for mass cultivation of algae." *Bioresource Technology.* 99 : 4021-4028.

Verma, R., Fulekar, M.H. and Pathak, B. 2015. "Effect of different culture media formulations on growth and biodiesel production potential of *Chlorella pyrenoidosa*." *Journal of Algae Biomass Utilization.* 6(3) : 7-15.

Watanabe, S. and Lewis, L.A. 2017. "Phylogenetic Interpretation of Light and Electron Microscopic Features of Selected Members of the Phylogroup Moewusinia (Chlorophyceae), with New Generic Taxonomy." *Phycologia.* 56(3) : 329-353.

Yabuuchi, E., Kosako, Y., Yano, I., Hotta, H. and Nishiuchi, Y. 1995. Transfer of two burkholderia and an alcaligenes species to ralstonia gen. nov. : proposal of *Ralstonia pickettii* (ralston, palleroni and doudoroff 1973) comb. nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. nov. *Microbiology and Immunology.* 39(11) : 897-904.

Yadav, G., Seider, W.D., Soh, L. and Zimmerman, J. 2018. "Process intensification of algae oil extraction to biodiesel." *International Symposium on Process Systems Engineering.* 44 : 1699-1704.

Zullaikah, S., Utomo, A.T., Yasmin, M., Ong, L.K. and Ju, Y.H. 2019. "Ecofuelconversion technology of inedible lipid feedstocks to renewable fuel." *Advances in Eco-Fuels for a Sustainable Environment.* 237-276.

โครงสร้างและองค์ประกอบของเซลล์ *Chlamydomonas* sp. [Online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.yourarticlelibrary.com/biology/useful-notes-on-cyanobacteria3025wordsbiology/7160>. สืบค้นวันที่ 22 มิถุนายน 2562.

โครงสร้างและองค์ประกอบของเซลล์ *Chroococcus*. [Online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.yourarticlelibrary.com/biology/useful-notes-on-cyanobacteria3025wordsbiolo>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นโดยระบบอัตโนมัติ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- โครงสร้างและองค์ประกอบของเซลล์ *Scenedesmus* sp. [Online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.yourarticlelibrary.com/biology/useful-notes-on-cyanobacteria3025-wordsbiology/7160>. สืบค้นวันที่ 22 มิถุนายน 2562.
- โครงสร้างทางเคมีของกรดไขมัน. [Online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0800/fatty-acid>. สืบค้นวันที่ 18 มิถุนายน 2562.
- แคโรทที่มีอาการเน่าและ. [Online]. เข้าถึงได้จาก : [http://agritech.tnau.ac.in/crop\\_protection/carrot\\_phdiseases\\_6.html](http://agritech.tnau.ac.in/crop_protection/carrot_phdiseases_6.html). สืบค้นวันที่ 18 มิถุนายน 2562.
- เซลล์ *E. carotovora* pv. *carotovora* ติดสีแดงของซาฟรานิน (กำลังขยาย 1000 เท่า). [Online]. เข้าถึงได้จาก : [https://www.researchgate.net/figure/Photomicrograph-of-Gram-stained-exponentially-growing-Pectobacterium-Carotovorum-SCC1\\_fig2321952988](https://www.researchgate.net/figure/Photomicrograph-of-Gram-stained-exponentially-growing-Pectobacterium-Carotovorum-SCC1_fig2321952988). สืบค้นวันที่ 18 มิถุนายน 2562.
- เซลล์ *X. oryzae* ติดสีแดงของซาฟรานิน (กำลังขยาย 1000 เท่า). [Online]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.semanticscholar.org/paper/Xanthomonas-oryzae-pv.oryzae%2CBiochemical-Tests%2CJonitLow/c75ecf6c691e326>. สืบค้นวันที่ 18 มิถุนายน 2562.
- ต้นมะเขือเทศที่แสดงอาการเหี่ยวซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (ซ้าย) และ ต้นมะเขือเทศปกติ (ขวา). [Online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www3.rdi.ku.ac.th/exhibition/50/technology/02techno/2tech.html>. สืบค้นวันที่ 18 มิถุนายน 2562.
- ตารางนับจำนวนเซลล์สำหรับรายจริง (กำลังขยาย 100 เท่า) [Online]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.slideshare.net/GovardhanJoshi/hemocytometer>. สืบค้นวันที่ 1 กรกฎาคม 2562
- ใบของต้นข้าวที่เกิดอาการขอบใบแห้งซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *X. oryzae*. [Online]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.opsmoac.go.th/uthaithani-warning-preview-401391791825>. สืบค้นวันที่ 18 มิถุนายน 2562.
- พิมพ์เชิญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. Carboxyl group (-COOH)/หมู่คาร์บอกซิล [Online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/4610/carboxyl-group-cooh>. สืบค้นวันที่ 18 มิถุนายน 2562.
- พิมพ์เชิญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. *Chlorella*/สาหร่ายคลอเรลลา. [Online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/6609/chlorella>. สืบค้นวันที่ 18 มิถุนายน 2562.
- ไพโรจน์ จ๋วงพานิช. 2556. โรคที่เกิดจากแบคทีเรีย. [Online]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.thaika-setsart.com/โรคที่เกิดจากแบคทีเรีย/>. สืบค้นวันที่ 18 มิถุนายน 2562.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- รูปตัวอย่างการทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion และ Agar dilution [Online]. เข้าถึงได้จาก : <https://basicmedicalkey.com/antimicrobial-susceptibility-on-solid-media>. สืบค้นวันที่ 15 กรกฎาคม 2560.
- มันฝรั่งที่มีอาการเน่าและ. [Online]. เข้าถึงได้จาก : [http://www.pestnet.org/fact\\_sheets/potato\\_soft\\_rot\\_296.htm](http://www.pestnet.org/fact_sheets/potato_soft_rot_296.htm). สืบค้นวันที่ 18 มิถุนายน 2562.
- ลักษณะของฮีมาไซโตมิเตอร์ [Online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.zast.net/product/ZAST/HC04/HC04S.html>. สืบค้นวันที่ 1 กรกฎาคม 2562
- ลักษณะเซลล์ของ *Ankistrodesmus* sp. (กำลังขยาย 1000 เท่า). [Online]. เข้าถึงได้จาก : [http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Ankistrodesmus/sp\\_5b.html](http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Ankistrodesmus/sp_5b.html). สืบค้นวันที่ 22 มิถุนายน 2562.
- ลักษณะเซลล์ของ *Chlorococccum* sp. (กำลังขยาย 1000 เท่า). [Online]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.yourarticlelibrary.com/biology/useful-notes-on-cyanobacteria3025-wordsbiology/7160>. สืบค้นวันที่ 22 มิถุนายน 2562.
- ลักษณะของเซลล์ *E. carotovora* pv. *carotovora* (SEM). [Online]. เข้าถึงได้จาก : <https://pixels.com/featured/erwini-carotovora-scimat.html>. สืบค้นวันที่ 18 มิถุนายน 2562.
- ลักษณะของเซลล์ *R. solanacearum* (SEM). [Online]. เข้าถึงได้จาก : [https://www.researchgate.net/figure/Images-of-Ralstoniasolanacearum-strain-UY031-using-transmission-a-and-scanningb\\_fig1\\_290623535](https://www.researchgate.net/figure/Images-of-Ralstoniasolanacearum-strain-UY031-using-transmission-a-and-scanningb_fig1_290623535). สืบค้นวันที่ 18 มิถุนายน 2562.
- ลักษณะของเซลล์ *X. oryzae* (SEM). [Online]. เข้าถึงได้จาก : <https://pdfs.semanticscholar.org/f14f/405556fe08cc29d2c653f82f90356ec49dcd4.pdf>. สืบค้นวันที่ 18 มิถุนายน 2562.
- สถาบันวิจัยอาหารสัตว์น้ำจืด. ม.ป.ป. คลอเรลลา. [Online]. เข้าถึงได้จาก : [https://www.fisheries.go.th/if-inland\\_feed/web2/images/download/chlorella.pdf](https://www.fisheries.go.th/if-inland_feed/web2/images/download/chlorella.pdf). สืบค้นวันที่ 22 มิถุนายน 2562.
- Chroococcus* (กำลังขยาย 1000 เท่า). [Online]. เข้าถึงได้จาก : <http://ccala.bu.tbn.cas.cz/en/chroococcus-sp>. สืบค้นวันที่ 22 มิถุนายน 2562.
- Sinha, A. n.d. "Morphology of *Chlamydomonas* (with diagram) algae." [Online]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.biologydiscussion.com/algae/morphology-of-chlamydomonas-with-diagram-algae/54125>. สืบค้นวันที่ 22 มิถุนายน 2562.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่าย

ก-1 อาหารสูตร N-8 สูตรอาหารเหลว (Verma *et al.* 2015)

สาร	ปริมาณ (g/l)
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.26 กรัม
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0.74 กรัม
$\text{CaCl}_2$	0.01 กรัม
FeEDTA	0.01 กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05 กรัม
$\text{KNO}_3$	1.00 กรัม
Trace metal solution*	1.00 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

\*Trace metal solution

$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$	3.58
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	12.98
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.83
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.20
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ปรับ pH ให้ได้เท่ากับ 6.8 แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหมอนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ก-2 อาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11 สูตรอาหารเหลว (Stanier *et al.* 1971)

สาร	ปริมาณ (g/l)
$\text{NaNO}_3$	1.500 กรัม
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0.040 กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.075 กรัม
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.036 กรัม
Citric acid	0.006 กรัม
Ferric ammonium citrate	0.006 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EDTA (disodium salt)	0.001 กรัม
NaCO <sub>3</sub>	0.020 กรัม
Trace metal solution*	1.00 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

**\*Trace metal solution**

H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2.8600 กรัม
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1.8100 กรัม
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.2220 กรัม
NaMoO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.0390 กรัม
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.0790 กรัม
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.0494 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน แล้วปรับ pH ให้ได้เท่ากับ 7.2 แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

### วิธีการทดลอง

#### ข-1 การวัดค่าการดูดกลืนแสง (ดวงกมล, 2560)

1. เก็บตัวอย่างสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในคิวเวทท์ (Cuvette)
2. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร
3. บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ระยะเวลาในการเพาะ (แกน X) กับค่าการดูดกลืนแสงของสาหร่าย (แกน Y)

#### ข-2 นับจำนวนเซลล์ (ดัดแปลงจาก ดวงกมล, 2560)

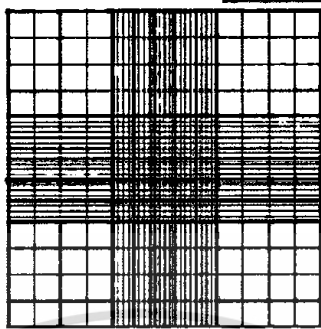
1. เก็บตัวอย่างสาหร่ายที่ต้องการนับจำนวนเซลล์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ในช่องใส่ตัวอย่าง (Loop port) ของฮีมาไซโตมิเตอร์
2. วางสไลด์ทิ้งไว้ 1 นาที เพื่อให้สาหร่ายจม
3. ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยเริ่มจากกำลังขยายต่ำสุดยังกำลังขยายสูงสุด
4. นับจำนวนเซลล์สาหร่ายบนช่องสี่เหลี่ยมตรงกลาง (25 ช่องใหญ่ ภายในมีตารางขนาดเล็ก จำนวน 16 ช่อง)
5. บันทึกจำนวนเซลล์สาหร่ายที่ได้ และนำค่าไปคำนวณปริมาณเซลล์ จากสูตร  
ปริมาณเซลล์สาหร่าย (cell / ml) = จำนวนเซลล์เฉลี่ย  $\times \frac{1}{4} \times 10^6$
6. นำค่าไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการเพาะ (แกน X) กับจำนวนเซลล์สาหร่าย (แกน Y)



#### รูปภาคผนวกที่ ข-1 แสดงลักษณะของฮีมาไซโตมิเตอร์

ที่มา : <http://www.zast.net/product/ZAST/HC04/HC04S.html>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวกที่ ข-2 แสดงตารางนับจำนวนเซลล์สาหร่ายจริง (กำลังขยาย 100 เท่า)

ที่มา : <https://www.slideshare.net/GovardhanJoshi/hemocytometer>

ข-3 การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง (dry cell weight) (ดัดแปลงจาก ดวงกมล, 2560)

1. เก็บตัวอย่างเซลล์สาหร่ายที่ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเซนตริฟิวส์
2. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที รินส่วนใสทิ้ง เติมน้ำกลั่นปั่นเหวี่ยงซ้ำ
3. นำตะกอนเซลล์ที่ได้ไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วใส่ในโถดูดความชื้น เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
4. ชั่งน้ำหนักที่หลอดเซนตริฟิวส์ที่มีเซลล์แห้งของสาหร่ายด้วยเครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง รายงานผลเป็นน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร (กรัมต่อลิตร)  

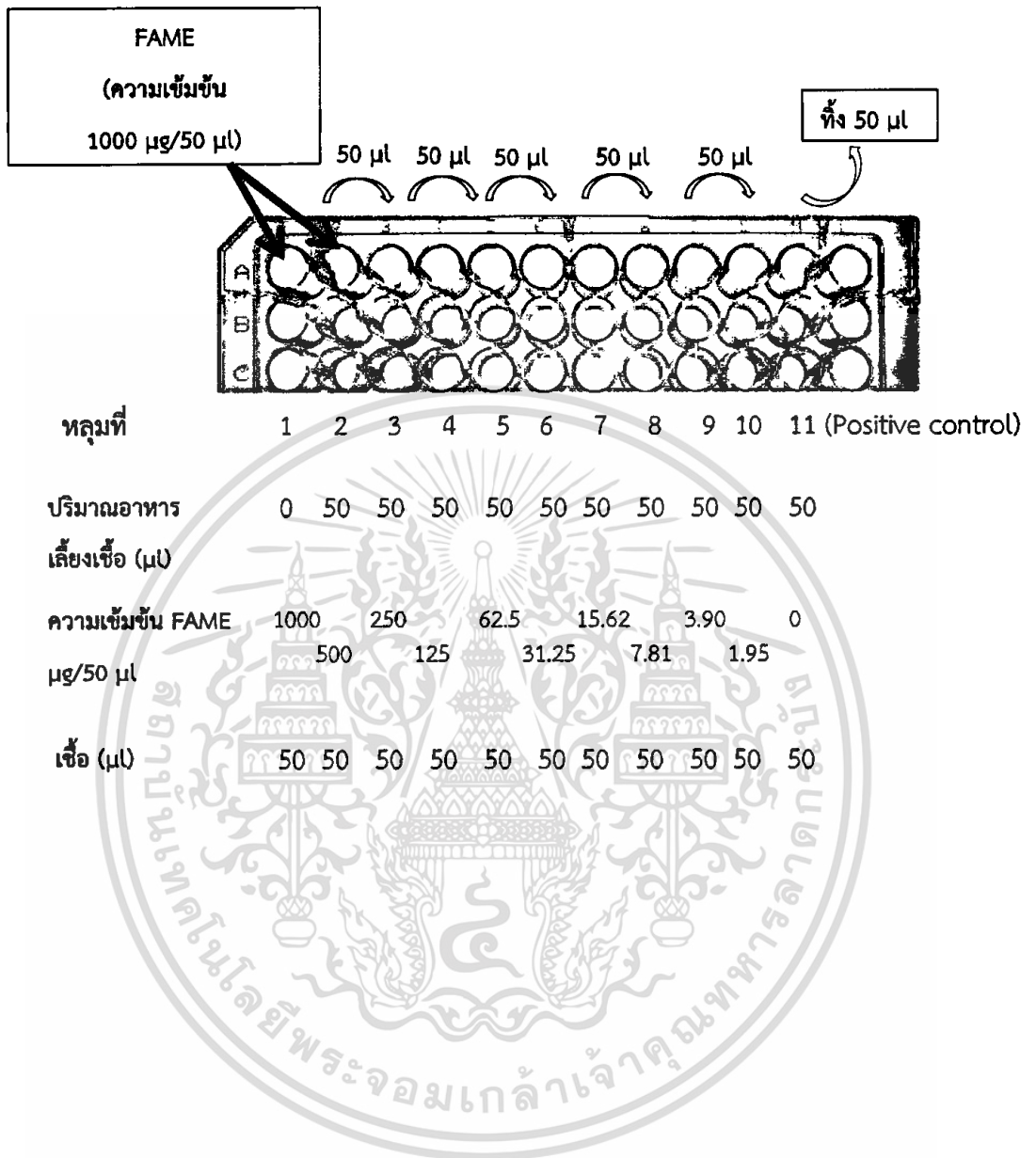
$$\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง} = \text{น้ำหนักหลอดที่มีเซลล์แห้งสาหร่าย} - \text{น้ำหนักหลอดเริ่มต้น}$$
5. นำค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง ไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการเพาะ (แกน X) กับน้ำหนักเซลล์แห้งสาหร่าย (แกน Y)

ข-4 การเตรียมแผ่นยา Streptomycin

ละลายยา Streptomycin น้ำหนัก 25 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 50 มิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นใช้ Micropipette ตูดสารละลายยา 20 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นดิสก์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิตร จะได้แผ่นยาที่มีความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข-5 วิธีเตรียมการทดสอบโดยวิธี MIC (ดัดแปลงจาก รองเดช และจุลจิตรร์, 2559)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค

### ตารางผลการทดลอง

ตารางที่ ค-1 แสดงระยะเวลาเจริญของสาหร่าย 14 สายพันธุ์

ตารางที่ ค- 1.1 แสดงระยะเวลาเจริญของสาหร่าย *Chroococcus* sp. 002

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD 560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ ( $\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.053	0.056	0.056	$0.055 \pm 0.002$	0.705	0.560	0.437	$0.567 \pm 1.340$	0.03	0.04	0.03	$0.03 \pm 0.00$
2	0.113	0.110	0.114	$0.112 \pm 0.002$	1.710	1.812	1.325	$1.616 \pm 0.260$	0.18	0.14	0.096	$0.1387 \pm 0.04$
4	0.438	0.444	0.449	$0.444 \pm 0.006$	3.150	3.730	3.522	$3.467 \pm 0.290$	0.52	0.16	0.16	$0.2800 \pm 0.21$
6	0.563	0.576	0.575	$0.571 \pm 0.007$	4.142	4.315	3.985	$4.147 \pm 0.170$	0.25	0.22	0.45	$0.3067 \pm 0.13$
8	0.740	0.784	0.774	$0.766 \pm 0.023$	6.400	6.812	6.125	$6.446 \pm 0.350$	0.38	0.18	0.38	$0.3133 \pm 0.12$
10	0.778	0.794	0.787	$0.786 \pm 0.008$	6.930	5.415	7.200	$6.515 \pm 0.960$	0.45	0.30	0.31	$0.3533 \pm 0.08$
12	0.816	0.838	0.860	$0.838 \pm 0.022$	6.875	6.480	6.862	$6.739 \pm 0.220$	0.34	0.48	0.30	$0.3733 \pm 0.09$
14	0.828	0.839	0.852	$0.840 \pm 0.012$	6.325	7.325	6.650	$6.767 \pm 0.510$	๗	0.58	0.24	$0.3800 \pm 0.18$

ตารางที่ ค- 1.2 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. 003

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD 560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ ( $\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.096	0.099	0.098	0.098 $\pm$ 0.001	0.201	0.205	0.202	0.203 $\pm$ 0.018	0.06	0.0	0.10	0.10 $\pm$ 0.04
2	0.584	0.604	0.608	0.599 $\pm$ 0.013	1.386	1.388	1.387	1.387 $\pm$ 0.001	0.14	0.26	0.14	0.14 $\pm$ 0.07
4	0.686	0.688	0.69	0.688 $\pm$ 0.002	2.778	2.779	92.780	2.779 $\pm$ 0.001	0.38	0.60	0.14	0.14 $\pm$ 0.23
6	1.364	1.396	1.416	1.392 $\pm$ 0.026	6.010	5.967	5.922	5.966 $\pm$ 0.044	0.74	0.72	0.60	0.60 $\pm$ 0.08
8	1.775	1.784	1.783	1.781 $\pm$ 0.005	6.752	6.753	6.754	6.753 $\pm$ 0.001	0.98	0.80	0.74	0.74 $\pm$ 0.12
10	2.185	2.19	2.187	2.187 $\pm$ 0.003	7.224	7.222	7.223	7.223 $\pm$ 0.001	1.34	0.86	1.00	1.00 $\pm$ 0.25
12	2.191	2.192	2.184	2.189 $\pm$ 0.004	7.253	7.255	7.254	7.254 $\pm$ 0.001	1.06	0.84	1.36	1.36 $\pm$ 0.26

ตารางที่ ค- 1.3 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. 004

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD 560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ ( $\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.160	0.165	0.170	0.165 $\pm$ 0.005	0.561	0.562	0.567	0.563 $\pm$ 0.032	0.02	0.04	0.22	0.09 $\pm$ 0.11
2	0.243	0.245	0.244	0.244 $\pm$ 0.001	0.848	0.849	0.835	0.844 $\pm$ 0.081	0.24	0.20	0.12	0.19 $\pm$ 0.06
4	0.447	0.395	0.425	0.422 $\pm$ 0.026	0.866	0.867	0.867	0.866 $\pm$ 0.008	0.20	0.14	0.24	0.19 $\pm$ 0.05
6	0.631	0.654	0.655	0.647 $\pm$ 0.014	2.112	2.122	2.105	2.113 $\pm$ 0.009	0.52	0.46	0.44	0.47 $\pm$ 0.04
8	0.833	0.915	0.888	0.879 $\pm$ 0.041	2.610	2.625	2.605	2.613 $\pm$ 0.010	0.76	0.86	0.40	0.67 $\pm$ 0.24
10	0.965	1.026	1.250	1.080 $\pm$ 0.150	3.056	3.057	3.056	3.056 $\pm$ 0.001	0.74	0.66	0.90	0.77 $\pm$ 0.12
12	1.239	1.244	1.250	1.244 $\pm$ 0.006	3.240	3.237	3.240	3.239 $\pm$ 0.002	0.84	0.84	0.74	0.81 $\pm$ 0.06
14	1.255	1.245	1.264	1.255 $\pm$ 0.009	3.570	3.625	3.512	3.555 $\pm$ 0.054	0.94	0.62	0.94	0.83 $\pm$ 0.16

ตารางที่ ค- 1.4 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 005

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD 560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ ( $\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	-0.022	-0.022	-0.020	-0.021 $\pm$ 0.001	0.140	0.145	0.137	0.140 $\pm$ 0.038	0.26	0.14	0.12	0.17 $\pm$ 0.08
2	0.459	0.427	0.472	0.453 $\pm$ 0.023	2.125	2.215	2.180	2.173 $\pm$ 0.045	0.22	0.20	0.19	0.20 $\pm$ 0.02
4	0.731	0.734	0.733	0.733 $\pm$ 0.002	3.780	3.795	3.800	3.791 $\pm$ 0.010	0.38	0.22	0.30	0.30 $\pm$ 0.08
6	0.824	0.827	0.831	0.827 $\pm$ 0.004	4.110	4.122	4.125	4.119 $\pm$ 0.008	0.48	0.54	0.42	0.48 $\pm$ 0.06
8	0.898	0.890	0.892	0.893 $\pm$ 0.004	5.975	5.965	6.000	5.980 $\pm$ 0.018	0.36	0.86	0.47	0.56 $\pm$ 0.26
10	1.217	1.219	1.217	1.218 $\pm$ 0.001	6.720	7.225	6.740	6.895 $\pm$ 0.286	1.12	0.38	0.56	0.69 $\pm$ 0.39
12	1.230	1.231	1.243	1.235 $\pm$ 0.007	7.220	7.725	6.565	7.170 $\pm$ 0.582	0.58	0.74	0.76	0.69 $\pm$ 0.10

ตารางที่ ค- 1.5 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 006

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD 560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ ( $\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.057	0.048	0.062	0.057 $\pm$ 0.007	0.185	0.205	0.197	0.195 $\pm$ 0.101	0.74	0.36	0.46	0.52 $\pm$ 0.20
2	0.178	0.179	0.183	0.180 $\pm$ 0.003	0.335	0.342	0.345	0.340 $\pm$ 0.052	0.68	0.54	0.42	0.55 $\pm$ 0.13
4	0.682	0.682	0.686	0.683 $\pm$ 0.002	0.550	0.567	0.560	0.559 $\pm$ 0.087	0.74	0.68	0.62	0.68 $\pm$ 0.06
6	1.166	1.182	1.184	1.177 $\pm$ 0.010	1.100	1.115	1.122	1.112 $\pm$ 0.011	0.52	0.98	1.16	0.89 $\pm$ 0.33
8	1.342	1.408	1.364	1.371 $\pm$ 0.034	1.610	1.617	1.625	1.617 $\pm$ 0.008	1.00	0.84	0.98	0.94 $\pm$ 0.09
10	1.517	1.605	1.596	1.573 $\pm$ 0.048	3.515	3.625	2.475	3.205 $\pm$ 0.634	0.58	0.7	1.58	0.95 $\pm$ 0.55
12	1.753	1.752	1.749	1.751 $\pm$ 0.002	7.515	6.002	2.475	6.474 $\pm$ 2.586	1.02	1.24	1.08	1.11 $\pm$ 0.11
14	1.758	1.769	1.752	1.760 $\pm$ 0.009	7.505	6.675	5.517	6.565 $\pm$ 0.998	0.82	1.2	1.36	1.27 $\pm$ 0.28

ตารางที่ ค- 1.6 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 007

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD 560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ ( $\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิเมตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.020	0.0220	0.020	0.021 $\pm$ 0.001	0.775	0.850	0.825	0.816 $\pm$ 0.382	0.10	0.02	0.04	0.05 $\pm$ 0.04
2	0.254	0.270	0.268	0.264 $\pm$ 0.009	1.143	1.145	1.130	1.139 $\pm$ 0.008	0.14	0.28	0.18	0.20 $\pm$ 0.07
4	0.947	0.960	0.959	0.955 $\pm$ 0.007	2.190	2.193	2.189	2.190 $\pm$ 0.002	0.30	0.42	0.10	0.27 $\pm$ 0.16
6	1.051	1.067	1.072	1.063 $\pm$ 0.011	2.62	2.642	2.612	2.625 $\pm$ 0.016	0.36	0.40	0.24	0.33 $\pm$ 0.08
8	1.234	1.245	1.243	1.241 $\pm$ 0.006	3.145	3.147	3.146	3.146 $\pm$ 0.001	0.24	0.54	0.40	0.39 $\pm$ 0.15
10	1.276	1.284	1.298	1.286 $\pm$ 0.011	3.815	3.817	3.815	3.815 $\pm$ 0.001	0.5	0.68	0.52	0.57 $\pm$ 0.10
12	1.308	1.318	1.32	1.315 $\pm$ 0.006	4.255	4.260	4.257	4.257 $\pm$ 0.003	0.66	0.56	0.52	0.58 $\pm$ 0.07

ตารางที่ ค- 1.7 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. 008

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD 560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ ( $\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.100	0.097	0.094	0.097 $\pm$ 0.003	0.278	0.279	0.280	0.279 $\pm$ 0.010	0.08	0.04	0.02	0.05 $\pm$ 0.03
2	0.205	0.200	0.175	0.193 $\pm$ 0.016	0.421	0.423	0.422	0.422 $\pm$ 0.010	0.06	0.08	0.04	0.06 $\pm$ 0.02
4	0.346	0.299	0.284	0.310 $\pm$ 0.032	8.650	0.930	0.855	0.883 $\pm$ 0.407	0.08	0.12	0.14	0.11 $\pm$ 0.03
6	0.621	0.621	0.618	0.620 $\pm$ 0.002	2.198	2.206	2.226	2.210 $\pm$ 0.014	0.28	0.24	0.2	0.24 $\pm$ 0.04
8	1.040	1.049	1.058	1.049 $\pm$ 0.009	2.916	2.910	2.915	2.916 $\pm$ 0.003	0.16	0.32	0.5	0.33 $\pm$ 0.17
10	1.295	1.300	1.299	1.298 $\pm$ 0.003	4.832	4.836	4.837	4.835 $\pm$ 0.002	0.68	0.74	0.64	0.69 $\pm$ 0.05
12	1.455	1.454	1.451	1.453 $\pm$ 0.002	5.205	5.214	5.215	5.211 $\pm$ 0.005	0.90	0.60	1.04	0.85 $\pm$ 0.22
14	1.469	1.45	1.442	1.454 $\pm$ 0.014	5.101	5.518	6.136	5.585 $\pm$ 0.521	0.58	0.70	1.44	0.91 $\pm$ 0.47

ตารางที่ ค- 1.8 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. 009

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD 560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ ( $\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.076	0.072	0.073	0.074 $\pm$ 0.002	0.194	0.198	0.201	0.197 $\pm$ 0.033	0.07	0.07	0.08	0.07 $\pm$ 0.01
2	0.413	0.441	0.443	0.432 $\pm$ 0.017	0.749 <sup>6</sup>	0.757	0.767	0.758 $\pm$ 0.090	0.14	0.14	0.24	0.17 $\pm$ 0.06
4	0.689	0.692	0.699	0.693 $\pm$ 0.005	1.286	1.310	1.355	1.317 $\pm$ 0.035	0.22	0.22	0.48	0.31 $\pm$ 0.15
6	0.756	0.765	0.77	0.764 $\pm$ 0.007	3.188	3.239	3.355	3.260 $\pm$ 0.086	0.88	0.37	0.37	0.31 $\pm$ 0.15
8	0.769	0.771	0.771	0.770 $\pm$ 0.001	3.515	3.522	3.505	3.514 $\pm$ 0.009	0.40	0.90	0.40	0.54 $\pm$ 0.29
10	1.360	1.359	1.356	1.358 $\pm$ 0.002	4.697	4.706	4.702	4.702 $\pm$ 0.005	0.54	1.04	0.54	0.57 $\pm$ 0.29
12	1.575	1.568	1.553	1.565 $\pm$ 0.011	5.320	5.330	5.870	5.506 $\pm$ 0.315	0.70	0.70	1.30	0.71 $\pm$ 0.29
14	1.562	1.579	1.581	1.574 $\pm$ 0.010	5.797	5.785	5.291	5.624 $\pm$ 0.189	1.28	1.28	0.46	0.90 $\pm$ 0.35

ตารางที่ ค- 1.9 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. 010

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD 560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ ( $\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.115	0.116	0.115	0.115 $\pm$ 0.001	0.182	0.185	0.186	0.184 $\pm$ 0.240	0.10	0.08	0.08	0.09 $\pm$ 0.01
2	0.547	0.557	0.558	0.554 $\pm$ 0.006	1.493	1.497	1.495	1.495 $\pm$ 0.002	0.24	0.10	0.28	0.21 $\pm$ 0.09
4	0.902	0.899	0.904	0.902 $\pm$ 0.003	2.188	2.194	2.199	2.193 $\pm$ 0.006	0.42	0.48	0.34	0.41 $\pm$ 0.07
6	1.366	1.370	1.374	1.370 $\pm$ 0.004	3.412	3.382	3.430	3.408 $\pm$ 0.024	0.52	0.54	0.44	0.50 $\pm$ 0.05
8	1.660	1.667	1.666	1.664 $\pm$ 0.004	4.197	4.201	4.195	4.198 $\pm$ 0.003	0.74	0.74	0.68	0.72 $\pm$ 0.03
10	1.844	1.844	1.842	1.843 $\pm$ 0.001	5.156	5.147	5.115	5.139 $\pm$ 0.022	0.80	0.84	1.00	0.88 $\pm$ 0.11
12	1.977	1.967	1.971	1.972 $\pm$ 0.005	5.504	5.510	5.506	5.507 $\pm$ 0.003	1.00	1.10	1.06	1.05 $\pm$ 0.05
14	1.982	1.975	1.984	1.980 $\pm$ 0.005	5.872	5.892	5.917	5.894 $\pm$ 0.023	1.20	1.18	1.04	1.14 $\pm$ 0.09

ตารางที่ ค- 1.10 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 011

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD 560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ ( $\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมฟอดิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.076	0.074	0.073	0.074 $\pm$ 0.001	0.121	0.123	0.118	0.121 $\pm$ 0.024	0.02	0.02	0.02	0.02 $\pm$ 0.00
2	0.349	0.350	0.350	0.350 $\pm$ 0.001	0.551	0.556	0.558	0.555 $\pm$ 0.034	0.08	0.08	0.08	0.08 $\pm$ 0.00
4	0.626	0.630	0.631	0.629 $\pm$ 0.002	2.115	2.123	2.102	2.113 $\pm$ 0.010	0.22	0.48	0.22	0.31 $\pm$ 0.15
6	0.696	0.713	0.719	0.709 $\pm$ 0.012	2.464	2.456	2.473	2.464 $\pm$ 0.009	0.30	0.30	0.72	0.44 $\pm$ 0.24
8	0.797	0.807	0.822	0.809 $\pm$ 0.013	2.640	2.681	2.612	2.644 $\pm$ 0.035	0.78	0.78	0.22	0.59 $\pm$ 0.32
10	1.206	1.206	1.225	1.212 $\pm$ 0.011	4.687	4.698	4.686	4.690 $\pm$ 0.007	0.81	0.81	1.04	0.89 $\pm$ 0.13
12	1.272	1.274	1.282	1.276 $\pm$ 0.005	5.043	5.041	5.045	5.043 $\pm$ 0.002	0.70	0.70	1.58	0.99 $\pm$ 0.51
14	1.280	1.282	1.278	1.280 $\pm$ 0.002	5.732	5.232	5.232	5.399 $\pm$ 0.289	0.82	1.60	0.82	1.08 $\pm$ 0.45

ตารางที่ ค- 1.11 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorella* sp. 012

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD 560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ ( $\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิเมตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.025	0.025	0.023	0.024 $\pm$ 0.001	0.025	0.030	0.025	0.026 $\pm$ 0.289	0.04	0.06	0.08	0.06 $\pm$ 0.02
2	0.119	0.121	0.119	0.120 $\pm$ 0.001	0.065	0.070	0.075	0.070 $\pm$ 0.500	0.08	0.10	0.10	0.09 $\pm$ 0.01
4	0.146	0.150	0.156	0.151 $\pm$ 0.005	0.140	0.160	0.130	0.143 $\pm$ 0.153	0.10	0.10	0.10	0.10 $\pm$ 0.00
6	0.182	0.182	0.189	0.184 $\pm$ 0.004	0.725	0.775	0.700	0.733 $\pm$ 0.382	0.20	0.14	0.18	0.17 $\pm$ 0.03
8	0.199	0.222	0.232	0.218 $\pm$ 0.017	1.492	1.500	1.550	1.514 $\pm$ 0.031	0.40	0.198	0.20	0.27 $\pm$ 0.12
10	0.233	0.231	0.229	0.231 $\pm$ 0.002	2.240	2.310	2.200	2.250 $\pm$ 0.056	0.52	0.44	0.40	0.45 $\pm$ 0.06
12	0.253	0.232	0.239	0.241 $\pm$ 0.011	2.225	2.450	2.560	2.411 $\pm$ 0.171	0.52	0.40	0.50	0.47 $\pm$ 0.06
14	0.245	0.259	0.246	0.250 $\pm$ 0.008	2.700	2.550	2.615	2.621 $\pm$ 0.075	0.44	0.52	0.48	0.48 $\pm$ 0.04
16	0.257	0.242	0.263	0.254 $\pm$ 0.011	2.800	2.700	3.000	3.750 $\pm$ 0.153	0.42	0.54	0.52	0.49 $\pm$ 0.06

ตารางที่ ค- 1.12 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Chlorococcum* sp. 013

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD 560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ ( $\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.020	0.018	0.018	0.019 $\pm$ 0.001	0.050	0.060	0.050	0.053 $\pm$ 0.577	0.064	0.056	0.07	0.06 $\pm$ 0.01
2	0.174	0.184	0.180	0.179 $\pm$ 0.005	0.105	0.100	0.105	0.103 $\pm$ 0.029	0.102	0.114	0.118	0.11 $\pm$ 0.01
4	0.261	0.299	0.290	0.283 $\pm$ 0.020	0.275	0.290	0.029	0.286 $\pm$ 0.104	0.200	0.240	0.200	0.21 $\pm$ 0.02
6	0.266	0.335	0.329	0.310 $\pm$ 0.038	0.405	0.385	0.400	0.396 $\pm$ 0.104	0.198	0.320	0.320	0.28 $\pm$ 0.07
8	0.323	0.326	0.318	0.322 $\pm$ 0.004	0.515	0.500	0.525	0.513 $\pm$ 0.125	0.198	0.400	0.200	0.27 $\pm$ 0.11
10	0.450	0.468	0.462	0.460 $\pm$ 0.009	0.800	0.855	0.837	0.830 $\pm$ 0.280	0.380	0.400	0.380	0.39 $\pm$ 0.01
12	0.468	0.477	0.481	0.475 $\pm$ 0.007	0.910	0.862	0.872	0.881 $\pm$ 0.250	0.480	0.440	0.500	0.473 $\pm$ 0.03

ตารางที่ ค- 1.13 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 014

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD 560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ ( $\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิเมตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.040	0.042	0.040	0.041 $\pm$ 0.001	0.021	0.020	0.022	0.021 $\pm$ 0.104	0.06	0.08	0.04	0.06 $\pm$ 0.02
2	0.229	0.237	0.238	0.235 $\pm$ 0.005	0.037	0.038	0.035	0.037 $\pm$ 0.126	0.20	0.20	0.40	0.27 $\pm$ 0.12
4	0.329	0.342	0.350	0.340 $\pm$ 0.011	0.083	0.085	0.081	0.083 $\pm$ 0.180	0.04	0.38	0.48	0.30 $\pm$ 0.23
6	0.608	0.636	0.642	0.629 $\pm$ 0.018	0.182	0.187	0.186	0.185 $\pm$ 0.026	0.44	0.4	0.54	0.46 $\pm$ 0.07
8	0.688	0.677	0.684	0.683 $\pm$ 0.006	0.222	0.220	0.224	0.222 $\pm$ 0.02	0.44	0.48	0.52	0.48 $\pm$ 0.04
10	0.775	0.760	0.764	0.766 $\pm$ 0.008	0.285	0.287	0.287	0.286 $\pm$ 0.013	0.44	0.48	0.52	0.48 $\pm$ 0.04
12	0.956	0.965	0.952	0.957 $\pm$ 0.007	0.355	0.360	0.357	0.357 $\pm$ 0.23	0.68	0.58	0.64	0.63 $\pm$ 0.05
14	0.976	0.972	0.971	0.973 $\pm$ 0.003	0.368	0.370	0.371	0.369 $\pm$ 0.016	0.68	0.80	0.64	0.71 $\pm$ 0.08

ตารางที่ ค- 1.14 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 015

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD 560 นาโนเมตร)				จำนวนเซลล์ ( $\times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิตร)				น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.071	0.063	0.060	0.065 $\pm$ 0.005	0.041	0.040	0.041	0.406 $\pm$ 0.063	0.10	0.10	0.11	0.11 $\pm$ 0.01
2	0.335	0.325	0.341	0.334 $\pm$ 0.008	0.280	0.281	0.281	0.281 $\pm$ 0.005	0.42	0.43	0.40	0.42 $\pm$ 0.02
4	0.479	0.463	0.460	0.467 $\pm$ 0.010	0.302	0.300	0.300	0.300 $\pm$ 0.010	0.44	0.42	0.50	0.45 $\pm$ 0.04
6	0.488	0.510	0.502	0.500 $\pm$ 0.011	0.312	0.311	0.315	0.312 $\pm$ 0.021	0.44	0.50	0.52	0.49 $\pm$ 0.04
8	0.698	0.700	0.702	0.700 $\pm$ 0.002	0.348	0.345	0.347	0.347 $\pm$ 0.180	0.54	0.53	0.52	0.53 $\pm$ 0.01
10	1.057	1.07	1.071	1.066 $\pm$ 0.008	0.385	0.362	0.364	0.370 $\pm$ 0.125	0.66	0.58	0.62	0.62 $\pm$ 0.04
12	1.171	1.179	1.172	1.174 $\pm$ 0.004	0.387	0.401	0.400	0.396 $\pm$ 0.079	0.65	0.64	0.62	0.630 $\pm$ 0.02
14	1.186	1.195	1.188	1.190 $\pm$ 0.005	0.436	0.445	0.442	0.441 $\pm$ 0.048	0.68	0.69	0.67	0.68 $\pm$ 0.01

## ภาคผนวก ง

### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ง-1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการศึกษาปริมาณไขมันของสาหร่ายทั้ง 14 สายพันธุ์

ตารางที่ ง-1.1 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย 14 สายพันธุ์

#### Descriptives

สายพันธุ์ สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for		Minimum	Maximum
					Mean			
					Lower Bound	Upper Bound		
002	3	1.033400	.0334000	.0192835	.950430	1.116370	1.0000	1.0668
003	3	.540300	.0236000	.0136255	.481674	.598926	.5167	.5639
004	3	.616600	.0857000	.0494789	.403709	.829491	.5309	.7023
005	3	.403700	.0222000	.0128172	.348552	.458848	.3815	.4259
006	3	.708500	.0229000	.0132213	.651613	.765387	.6856	.7314
007	3	.446800	.0977000	.0564071	.204100	.689500	.3491	.5445
008	3	.457900	.0406000	.0234404	.357044	.558756	.4173	.4985
009	3	.692000	.0579000	.0334286	.548168	.835832	.6341	.7499

สายพันธุ์ สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for		Minimum	Maximum
					Mean			
					Lower Bound	Upper Bound		
010	3	.817200	.0269000	.0155307	.750377	.884023	.7903	.8441
011	3	.767900	.0099000	.0057158	.743307	.792493	.7580	.7778
012	3	1.315300	.2005000	.1157587	.817230	1.813370	1.1148	1.5158
013	3	1.115000	.5264000	.3039172	-.192650	2.422650	.5886	1.6414
014	3	.544900	.0583000	.0336595	.400075	.689725	.4866	.6032
015	3	.519000	.0277000	.0159926	.450189	.587811	.4913	.5467
Total	42	.712750	.2974548	.0458983	.620057	.805443	.3491	1.6414

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.934	13	.226	9.109	.000
Within Groups	.694	28	.025		
Total	3.628	41			

Duncan<sup>a</sup>

สายพันธุ์สาหร่าย	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
005	3	.403700				
007	3	.446800				
008	3	.457900				
015	3	.519000	.519000			
003	3	.540300	.540300			
014	3	.544900	.544900			
004	3	.616600	.616600			
009	3	.692000	.692000			
006	3	.708500	.708500			
011	3		.767900	.767900		
010	3		.817200	.817200		
002	3			1.033400	1.033400	
013	3				1.115000	1.115000
012	3					1.315300
Sig.		.050	.053	.059	.531	.130

ตารางที่ ง-1.2 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณไขมันสาหร่าย (กรัมต่อกรัมเซลล์) ของสาหร่ายทั้ง 14 สายพันธุ์

Descriptives

สายพันธุ์ สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for		Minimum	Maximum
					Mean			
					Lower Bound	Upper Bound		
002	3	.155700	.0014000	.0008083	.152222	.159178	.1543	.1571
003	3	.134500	.0024000	.0013856	.128538	.140462	.1321	.1369
004	3	.101000	.0003000	.0001732	.100255	.101745	.1007	.1013
005	3	.089700	.0132000	.0076210	.056909	.122491	.0765	.1029
006	3	.051800	.0275000	.0158771	-.016514	.120114	.0243	.0793
007	3	.179000	.0121000	.0069859	.148942	.209058	.1669	.1911
008	3	.110600	.0050000	.0028868	.098179	.123021	.1056	.1156
009	3	.109800	.0485000	.0280015	-.010681	.230281	.0613	.1583
010	3	.081400	.0101000	.0058312	.056310	.106490	.0713	.0915
011	3	.156000	.0087000	.0050229	.134388	.177612	.1473	.1647
012	3	.148700	.0346000	.0199763	.062749	.234651	.1141	.1833
013	3	.070500	.0038000	.0021939	.061060	.079940	.0667	.0743
014	3	.079300	.0148000	.0085448	.042535	.116065	.0645	.0941
015	3	.058900	.0118000	.0068127	.029587	.088213	.0471	.0707
<b>Total</b>	<b>42</b>	<b>.109064</b>	<b>.0421989</b>	<b>.0065114</b>	<b>.095914</b>	<b>.122214</b>	<b>.0243</b>	<b>.1911</b>

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.063	13	.005	12.939	.000
Within Groups	.010	28	.000		
Total	.073	41			

Duncan<sup>a</sup>

สายพันธุ์สำหรับ	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
006	3	.051800						
015	3	.058900	.058900					
013	3	.070500	.070500	.070500				
014	3	.079300	.079300	.079300	.079300			
010	3	.081400	.081400	.081400	.081400			
005	3		.089700	.089700	.089700			

สายพันธุ์สาหร่าย	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
004	3			.101000	.101000	.101000		
009	3				.109800	.109800		
008	3				.110600	.110600		
003	3					.134500	.134500	
012	3						.148700	.148700
002	3						.155700	.155700
011	3						.156000	.156000
007	3							.179000
Sig.		.103	.090	.093	.090	.060	.223	.088

ตารางที่ ง-1.3 แสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติร้อยละไขมันของสาหร่าย (กรัมต่อกรัมเซลล์) ของสาหร่าย 14 สายพันธุ์

Descriptives

สายพันธุ์ สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for		Minimum	Maximum
					Mean			
					Lower Bound	Upper Bound		
002	3	15.074351	.3519191	.2031806	14.200136	15.948567	14.7263	15.4300
003	3	24.912341	.6445741	.3721450	23.311131	26.513552	24.2774	25.5661
004	3	16.590658	2.2791804	1.3158854	10.928860	22.252456	14.4240	18.9678
005	3	22.144165	2.0551232	1.1865260	17.038956	27.249374	20.0524	24.1606
006	3	7.400042	4.1227755	2.3802855	-2.841500	17.641585	3.3224	11.5665
007	3	40.062689	1.0176000	.5875116	37.534831	42.590548	39.0451	41.0803
008	3	24.216283	1.0593688	.6116268	21.584665	26.847901	23.1896	25.3055
009	3	15.547926	5.7277896	3.3069409	1.319308	29.776544	9.6672	21.1095
010	3	9.940893	.9091929	.5249227	7.682333	12.199454	9.0219	10.8399
011	3	20.307657	.8712199	.5029991	18.143427	22.471888	19.4327	21.1751
012	3	11.211017	.9323925	.5383170	8.894825	13.527208	10.2350	12.0926
013	3	7.393823	3.5268121	2.0362059	-1.367264	16.154910	4.5266	11.3320
014	3	14.469501	1.1746809	.6782023	11.551432	17.387570	13.2552	15.6001
015	3	11.451490	2.8889028	1.6679088	4.275057	18.627922	8.6153	14.3904
Total	42	17.194488	8.7739437	1.3538489	14.460335	19.928642	3.3224	41.0803

## ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2983.187	13	229.476	37.124	.000
Within Groups	173.078	28	6.181		
Total	3156.266	41			

Duncan<sup>a</sup>

สายพันธุ์สาหร่าย	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
013	3	7.393823						
006	3	7.400042						
010	3	9.940893						
012	3	11.211017	11.211017					
015	3	11.451490	11.451490					
014	3		14.469501	14.469501				

สายพันธุ์สาหร่าย	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
002	3		15.074351	15.074351				
009	3		15.547926	15.547926				
004	3			16.590658	16.590658			
011	3				20.307657	20.307657		
005	3					22.144165	22.144165	
008	3					24.216283	24.216283	
003	3						24.912341	
007	3							40.062689
Sig.		.083	.064	.350	.078	.078	.208	1.000

ตารางที่ ง-2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของปริมาณเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน ของสาหร่าย 14 สายพันธุ์

Descriptives

สายพันธุ์ สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					002	3		
003	3	.090700	.0088000	.0050807	.068840	.112560	.0819	.0995
004	3	.067100	.0206000	.0118934	.015927	.118273	.0465	.0877
005	3	.049200	.0041000	.0023671	.039015	.059385	.0451	.0533
006	3	.048300	.0192000	.0110851	.000605	.095995	.0291	.0675
007	3	.051700	.0150000	.0086603	.014438	.088962	.0367	.0667
008	3	.077800	.0153000	.0088335	.039793	.115807	.0625	.0931
009	3	.109600	.0255000	.0147224	.046254	.172946	.0841	.1351
010	3	.087100	.0377000	.0217661	-.006552	.180752	.0494	.1248
011	3	.155900	.0285000	.0164545	.085102	.226698	.1274	.1844
012	3	.148500	.0343000	.0198031	.063294	.233706	.1142	.1828
013	3	.072400	.0195000	.0112583	.023959	.120841	.0529	.0919
014	3	.067300	.0309000	.0178401	-.009460	.144060	.0364	.0982
015	3	.055400	.0237000	.0136832	-.003474	.114274	.0317	.0791
Total	42	.082800	.0383392	.0059159	.070853	.094747	.0291	.1844

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.045	13	.003	6.585	.000
Within Groups	.015	28	.001		
Total	.060	41			

Duncan<sup>a</sup>

สายพันธุ์สำหรับ	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
006	3	.048300		
005	3	.049200		
007	3	.051700		
015	3	.055400		
004	3	.067100	.067100	
014	3	.067300	.067300	
013	3	.072400	.072400	
008	3	.077800	.077800	

สายพันธุ์สำหรับ	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
002	3	.078200	.078200	
010	3	.087100	.087100	
003	3	.090700	.090700	
009	3		.109600	
012	3			.148500
011	3			.155900
Sig.		.065	.060	.697

ตารางที่ ง-3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืชโดยวิธี Agar disc diffusion ของสาหร่ายทั้ง 14 สายพันธุ์

ตารางที่ ง-3.1 แสดงผลการวิเคราะห์สถิติของผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืชโดยวิธี Agar disc diffusion ต่อเชื้อ *Erwinia carotovora* ของสารสกัดเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันของสาหร่ายทั้ง 14 สายพันธุ์

Descriptives

สายพันธุ์ สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
002	3	7.080000	.5909315	.3411744	5.612045	8.547955	6.6000	7.7400
003	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
004	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
005	3	6.400000	.5196152	.3000000	5.109204	7.690796	6.1000	7.0000
006	3	8.873333	1.6334422	.9430683	4.815638	12.931029	7.0000	10.0000
007	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
008	3	7.386667	2.2986373	1.3271189	1.676535	13.096798	6.0000	10.0400
009	3	9.166667	1.0214369	.5897269	6.629277	11.704057	8.0000	9.9000
010	3	9.206667	1.7773388	1.0261471	4.791512	13.621821	7.1800	10.5000
011	3	9.140000	1.0289801	.5940819	6.583872	11.696128	8.0000	10.0000
012	3	8.153333	.6721111	.3880435	6.483717	9.822950	7.4200	8.7400
013	3	7.073333	.6530952	.3770647	5.450955	8.695712	6.4600	7.7600

สายพันธุ์ สำหรับ	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for		Minimum	Maximum
					Mean			
					Lower Bound	Upper Bound		
014	3	6.560000	.5230679	.3019934	5.260627	7.859373	6.2000	7.1600
015	3	7.873333	.8796211	.5078495	5.688233	10.058433	6.8600	8.4400
Total	42	6.208095	3.5184477	.5429083	5.111670	7.304521	.0000	10.5000

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	476.043	13	36.619	32.534	.000
Within Groups	31.515	28	1.126		
Total	507.558	41			

Duncan<sup>a</sup>

สายพันธุ์ สาหร่าย	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
003	3	.000000			
004	3	.000000			
007	3	.000000			
005	3		6.400000		
014	3		6.560000		
013	3		7.073333	7.073333	
002	3		7.080000	7.080000	
008	3		7.386667	7.386667	7.386667
015	3		7.873333	7.873333	7.873333
012	3		8.153333	8.153333	8.153333
006	3			8.873333	8.873333
011	3				9.140000
009	3				9.166667
010	3				9.206667
Sig.		1.000	.088	.076	.076

ตารางที่ ง-3.2 แสดงผลการวิเคราะห์สถิติของผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืชโดยวิธี Agar disc diffusion ต่อเชื้อ *Ralstonia solanacearum*

Descriptives

สายพันธุ์ สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for		Minimum	Maximum
					Mean			
					Lower Bound	Upper Bound		
002	3	7.546667	1.9070745	1.1010500	2.809231	12.284102	6.2800	9.7400
003	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
004	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
005	3	6.700000	.6761657	.3903844	5.020311	8.379689	6.2800	7.4800
006	3	7.633333	.9638119	.5564570	5.239092	10.027575	6.5400	8.3600
007	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
008	3	7.000000	1.0785175	.6226824	4.320814	9.679186	6.2800	8.2400
009	3	10.060000	1.3286083	.7670724	6.759554	13.360446	8.5400	11.0000
010	3	9.773333	.8013322	.4626494	7.782714	11.763953	9.0000	10.6000
011	3	10.913333	1.2986660	.7497852	7.687268	14.139398	10.0000	12.4000
012	3	10.913333	1.5819397	.9133333	6.983577	14.843089	10.0000	12.7400
013	3	7.940000	.7937254	.4582576	5.968277	9.911723	7.3400	8.8400
014	3	7.066667	.0577350	.0333333	6.923245	7.210088	7.0000	7.1000
015	3	7.913333	1.0519189	.6073256	5.300222	10.526445	6.9000	9.0000
Total	42	6.675714	3.8768067	.5982043	5.467616	7.883812	.0000	12.7400

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	587.170	13	45.167	43.542	.000
Within Groups	29.045	28	1.037		
Total	616.215	41			

Duncan<sup>a</sup>

สายพันธุ์สาหร่าย	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
003	3	.000000		
004	3	.000000		
007	3	.000000		
005	3		6.700000	
008	3		7.000000	
014	3		7.066667	
002	3		7.546667	
006	3		7.633333	

สายพันธุ์สาหร่าย	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
015	3		7.913333	
013	3		7.940000	
010	3			9.773333
009	3			10.060000
011	3			10.913333
012	3			10.913333
Sig.		1.000	.205	.221

ตารางที่ ง-3.3 แสดงผลการวิเคราะห์สถิติของผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพืชโดยวิธี Agar disc diffusion ต่อเชื้อ *Xanthomonas oryzae*

Descriptives

สายพันธุ์ สาหร่าย	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for		Minimum	Maximum
					Mean			
					Lower Bound	Upper Bound		
002	3	9.613333	5.6011903	3.2338488	-4.300795	23.527462	6.2800	16.0800
003	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
004	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
005	3	6.453333	.3233162	.1866667	5.650171	7.256495	6.0800	6.6400
006	3	7.846667	1.1027844	.6366928	5.107198	10.586135	7.2000	9.1200
007	3	.000000	.0000000	.0000000	.000000	.000000	.0000	.0000
008	3	6.726667	.2369247	.1367886	6.138113	7.315220	6.5800	7.0000
009	3	9.786667	2.7037998	1.5610395	3.070056	16.503278	6.9000	12.2600
010	3	8.480000	1.9053609	1.1000606	3.746821	13.213179	7.3600	10.6800
011	3	10.393333	3.3039572	1.9075406	2.185849	18.600818	6.5800	12.4000
012	3	9.633333	2.3854839	1.3772598	3.707463	15.559204	6.8800	11.0800
013	3	6.880000	.3831449	.2212088	5.928215	7.831785	6.4400	7.1400
014	3	6.240000	.1562050	.0901850	5.851965	6.628035	6.0600	6.3400
015	3	6.753333	.2548202	.1471205	6.120325	7.386342	6.4600	6.9200
Total	42	6.343333	3.9966154	.6166912	5.097900	7.588766	.0000	16.0800

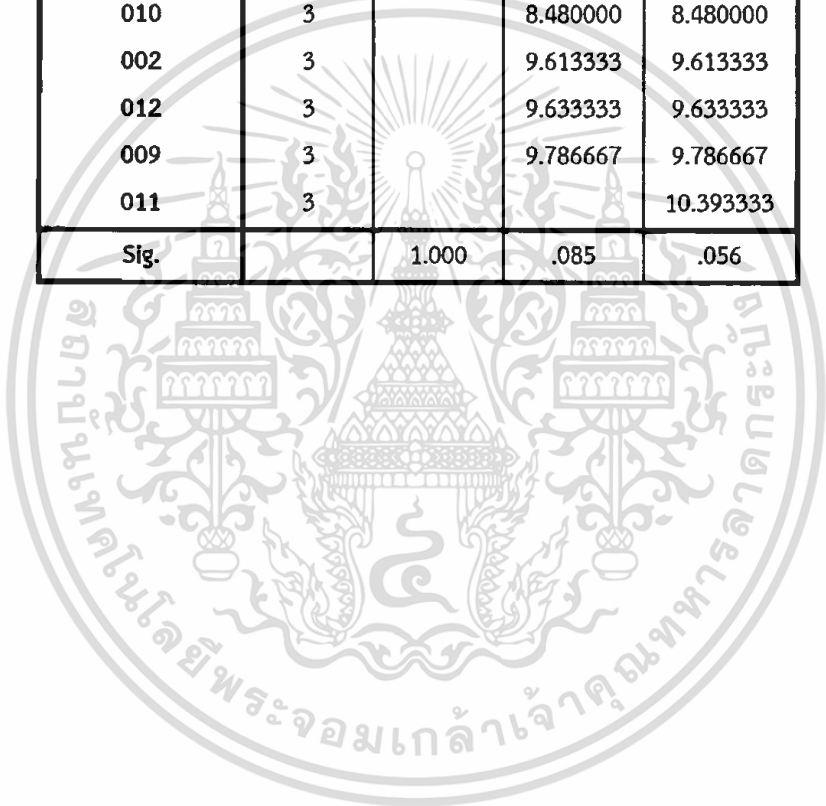
### ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	533.823	13	41.063	9.497	.000
Within Groups	121.068	28	4.324		
Total	654.890	41			

Duncan<sup>a</sup>

สายพันธุ์สำหรับ	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
003	3	.000000		
004	3	.000000		
007	3	.000000		
014	3		6.240000	
005	3		6.453333	6.453333
008	3		6.726667	6.726667
015	3		6.753333	6.753333
013	3		6.880000	6.880000
006	3		7.846667	7.846667

สายพันธุ์สาหร่าย	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
010	3		8.480000	8.480000
002	3		9.613333	9.613333
012	3		9.633333	9.633333
009	3		9.786667	9.786667
011	3			10.393333
Sig.		1.000	.085	.056



## ภาคผนวก จ

### ผลการวิเคราะห์ GC-MS

ตารางที่ จ-1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรสโกปี

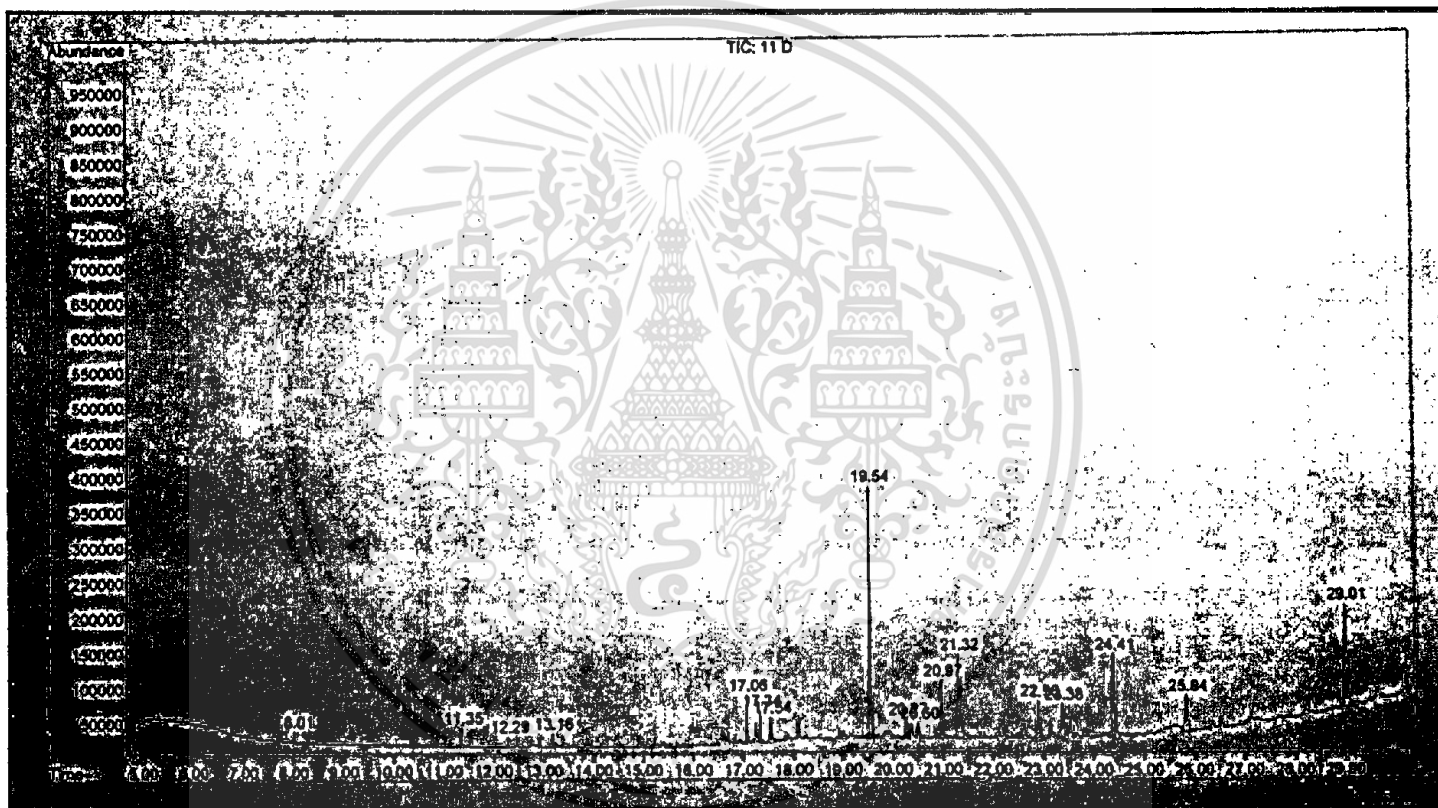
ตารางที่ จ-1.1 แสดงกราฟการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. 009 ด้วยเทคนิค GC-MS



ตารางที่ จ-1.2 แสดงค่าการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. 009 ด้วยเทคนิค GC-MS

ลำดับที่	Retention time	ชนิดสารประกอบ	ร้อยละปริมาณทั้งหมด
1	17.061	Diethylene glycol	3.388
2	17.239	Methoxytriethylene glycol	4.694
3	17.336	Tetradecanoic acid, methyl ester	1.492
4	19.542	Hexadecanoic acid, methyl ester	1.720
5	20.497	7,10-Hexadecadienoic acid, methyl ester	26.648
6	21.323	Triethylene glycol	8.029
7	22.899	Octadecanoic acid, methyl ester	7.520
8	24.415	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	21.818
9	29.006	Pentaethylene glycol	14.835

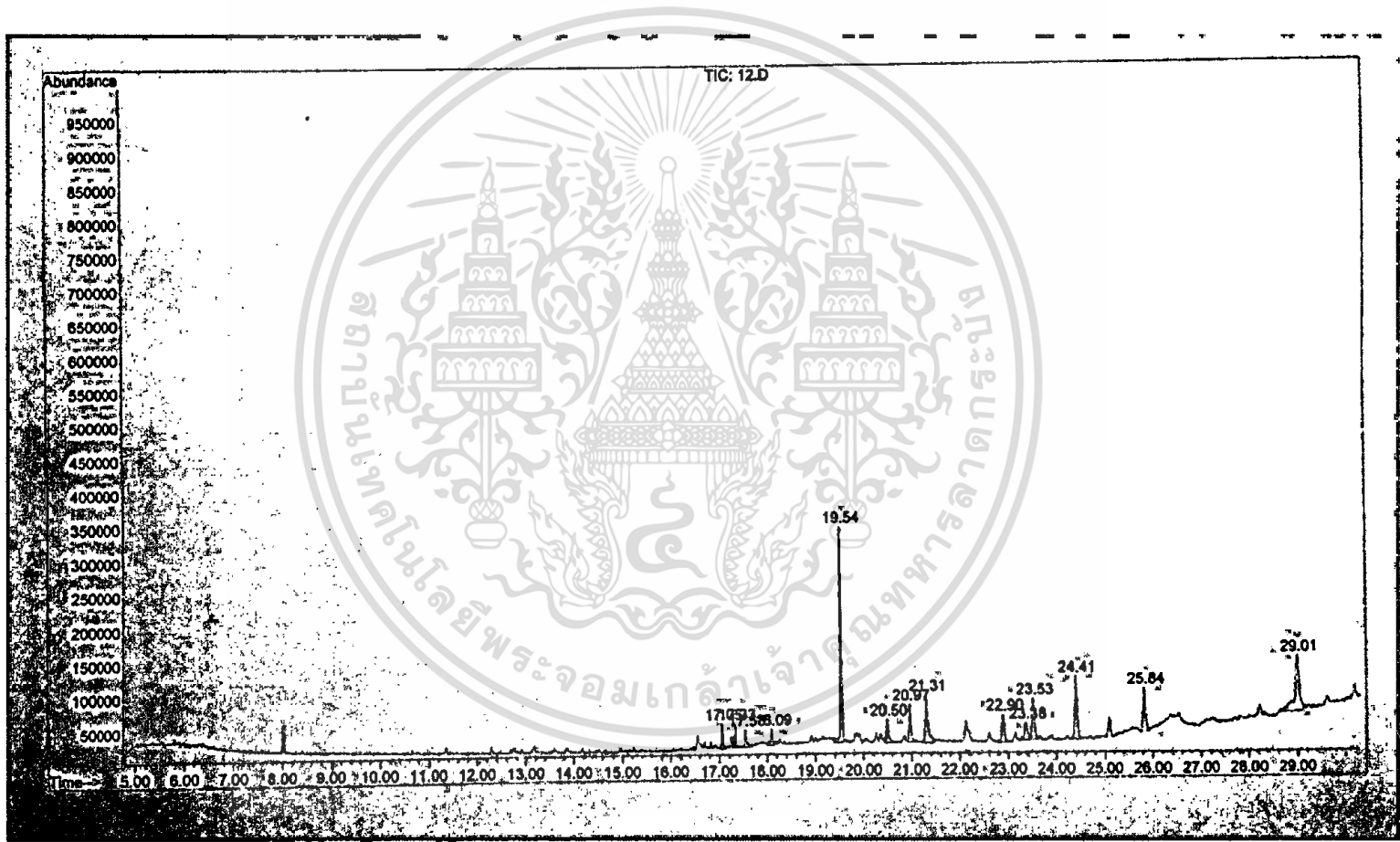
ตารางที่ จ-1.3 แสดงกราฟการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) ของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 011 ด้วยเทคนิค GC-MS



ตารางที่ จ-1.4 แสดงค่าการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) ของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. 011 ด้วยเทคนิค GC-MS

ลำดับที่	Retention time	ชนิดสารประกอบ	ร้อยละปริมาณทั้งหมด
1	8.007	1,4-Dioxane	0.882
2	11.347	Butanoic acid,methyl ester	1.193
3	12.285	Sulfuric acid, dimethyl ester	0.824
4	13.165	Ethylene glycol	2.184
5	17.061	Ethanol	3.952
6	17.366	Tetradecanoic acid, methyl ester	2.460
7	17.541	Ethyltriglycol	2.729
8	19.542	Hexadecanoic acid, methyl ester	19.273
9	20.265	9-Hexadecanoic acid, methyl ester	1.993
10	20.497	7,10- Hexadecadienoic acid, methyl ester	1.939
11	20.972	4,7,10- Hexadecatrienoic acid, methyl ester	6.036
12	21.318	Triethylene glycol	12.443
13	22.904	Octadecanoic acid, methyl ester	5.603
14	23.379	9- Octadecanoic acid, methyl ester	5.512
15	24.415	8,11- Octadecadienoic acid, methyl ester	12.121
16	25.845	9,12,15- Octadecatrienoic acid, methyl ester	5.489
17	29.006	Pentaethylene glycol	15.367

ตารางที่ จ-1.5 แสดงกราฟการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. 012 ด้วยเทคนิค GC-MS



ตารางที่ จ-1.6 แสดงค่าการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมัน (FAME) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. 012 ด้วยเทคนิค GC-MS

ลำดับที่	Retention time	ชนิดสารประกอบ	ร้อยละปริมาณทั้งหมด
1	17.054	Diethylene glycol	2.811
2	17.335	Tetradecanoic acid, methyl ester	2.782
3	17.534	Ethyoxytriethylene glycol	2.621
4	18.090	Propanoic acid, methyl ester	2.365
5	19.542	Hexadecanoic acid, methyl ester	23.126
6	20.497	9,12- Hexadecadienoic acid, methyl ester	3.536
7	20.966	9,12,15- Octadecatrienoic acid, methyl ester	4.884
8	21.311	Triethylene glycol	9.005
9	22.903	Octadecanoic acid, methyl ester	4.742
10	23.378	8- Octadecanoic acid, methyl ester	3.436
11	23.529	9- Octadecanoic acid, methyl ester	7.011
12	24.408	9,12- Octadecadienoic acid, methyl ester	10.507
13	25.838	9,12,15- Octadecatrienoic acid, methyl ester	6.984
14	29.005	3,6,9,12,15- Pentaoxanonadecan	16.190