

ผลของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย *Phormidium angustissimum* ที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารต่างกัน ที่มีต่อฤทธิ์การกำจัดไรฝุ่น *Dermatophagoides pteronyssinus*
The Effect of Extracts from Cyanobacterium *Phormidium angustissimum* Cultured in Different Media on Acaricidal Activity against House Dust Mite, *Dermatophagoides pteronyssinus*

สุนิรัตน์ เรืองสมบุรณ์¹, อัมร อินทร์สังข์² และ จรงค์ศักดิ์ พุมนวน²

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย *Phormidium angustissimum* ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจน (จาก NaNO_3) และฟอสฟอรัส (จาก K_2HPO_4) แตกต่างกัน ในการกำจัดไรฝุ่นชนิด *Dermatophagoides pteronyssinus* โดยเฉพาะเลี้ยง *P. angustissimum* ในอาหารสูตร BG-11 แบ่งเป็น 5 ชุดการทดลองคือ 1) ชุดควบคุมคืออาหารสูตรปกติ ซึ่งเทียบเป็น NaNO_3 และ K_2HPO_4 ร้อยละ 100 2) มีปริมาณ NaNO_3 ร้อยละ 50 และ K_2HPO_4 ร้อยละ 100 ของชุดควบคุม 3) มีปริมาณ NaNO_3 ร้อยละ 100 และ K_2HPO_4 ร้อยละ 50 ของชุดควบคุม 4) มีปริมาณ NaNO_3 ร้อยละ 200 และ K_2HPO_4 ร้อยละ 100 ของชุดควบคุม และ 5) มีปริมาณ NaNO_3 ร้อยละ 100 และ K_2HPO_4 ร้อยละ 200 ของชุดควบคุม โดยเก็บไซยาโนแบคทีเรียที่เวลาการเลี้ยง 14 วัน (ปลายระยะเจริญเติบโตเต็มที่) และนำสารสกัดด้วยเมทานอลไปทดสอบผลต่อไรฝุ่น ใช้สารสกัด 0-64 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่เลี้ยงในชุดการทดลองที่ 1-5 มีค่า LC_{50} ที่ 24 ชั่วโมง คือ 2.28, 11.29, 5.12, 3.24, และ 5.90 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร

คำสำคัญ: ไนโตรเจน, ฟอสฟอรัส, ไซยาโนแบคทีเรีย, ไรฝุ่น, สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

Abstract

Concentrations of nitrogen (NaNO_3 as N source) and phosphorus (K_2HPO_4 as P source) were varied in culture medium of *Phormidium angustissimum* to evaluate the effect of algal extracts on the mortality of house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus*. *P. angustissimum* was cultured in BG-11 medium with five treatments: 1) 100% NaNO_3 and K_2HPO_4 (control), 2) 50% NaNO_3 and 100% K_2HPO_4 , 3) 100% NaNO_3 and 50% K_2HPO_4 , 4) 200% NaNO_3 and 100% K_2HPO_4 , and 5) 100% NaNO_3 and 200% K_2HPO_4 . Cyanobacterial cells were harvested after 14 days of cultivation (late exponential phase) and then extracted by methanol. The effect of the crude extracts on house dust mite was examined at 0-64 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. The results showed that the 24 hr LC_{50} values of *P. angustissimum* extracts in treatment 1-5 were 2.28, 11.29, 5.12, 3.24, and 5.90 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectively.

Keywords: nitrogen, phosphorus, cyanobacteria, house dust mite, bioactive compound

¹ สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

² สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

คำนำ

ปัจจุบันทั่วโลกมีอัตราผู้ป่วยโรคภูมิแพ้สูงมากถึง 3,600 ล้านคน และกว่าร้อยละ 80 ของผู้ป่วยโรคภูมิแพ้มีสาเหตุมาจากการสูดสารก่อภูมิแพ้พวกผงฝุ่นที่ลอยอยู่ในอากาศเข้าไป สิ่งที่ทำให้เกิดภูมิแพ้คือมูลที่เกิดจากการขับถ่ายของไรฝุ่นที่อยู่ในผงฝุ่น ซึ่งไรฝุ่นหรือไรฝุ่นบ้าน (house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus*) เป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดโรคภูมิแพ้ได้ทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ โดยเมื่อมีการสูดดมมูลไรฝุ่นเข้าไปจะกระตุ้นร่างกายให้เกิดอาการภูมิแพ้ เช่น ผื่นหนังอักเสบ ภูมิแพ้ทางตาที่ผื่นหนังอ่อนแอ น้ำมูกไหล คัดน้ำ ไอ จาม โพรงจมูกอักเสบ เป็นโรคหอบหืด หรือหลอดลมตีบตันทำให้เสียชีวิตได้ ในประเทศไทยพบว่ามีผู้ป่วยเป็นโรคภูมิแพ้ไรฝุ่นประมาณ 10 ล้านคน และมีแนวโน้มผู้ป่วยมากขึ้นทุกปี มีการยืนยันว่าการหลีกเลี่ยงการสัมผัสสัมผัสไรฝุ่นและมูลจะทำให้มีอาการภูมิแพ้ทุเลาลง (กระทรวงสาธารณสุข, 2552) ซึ่งการใช้สารเคมีเพื่อฉีดฆ่าไรฝุ่นนั้นแม้ประสิทธิภาพในการฆ่าสูงโดยมีรายงานไว้เช่น พิษของสารเคมี permethrin และ benzyl benzoate ต่อไรฝุ่นพบว่ามีค่า LD₅₀ เท่ากับ 6.98 และ 4.55 มิลลิกรัมต่อตารางฟุต ตามลำดับ (Sirichit *et al.*, 2002) แต่การใช้สารเคมีนั้นไม่เป็นที่นิยมเนื่องจากวิธีการนี้ยังไม่มีรายงานยืนยันในความปลอดภัยของการใช้ระยะยาว จึงมีความเสี่ยงจากพิษตกค้าง โดยมีรายงานว่าสารกำจัดแมลงที่มีส่วนผสมของ tetramethrin และ permethrin มีค่า LRT₅₀ (lethal residual time) ต่อไรฝุ่นเท่ากับ 4.16 วัน สารที่มีส่วนผสมของ transfuthrin และ dichovos มีค่า LRT₅₀ ต่อไรฝุ่นเท่ากับ 2.91 วัน (Pumnuan and Insung, 2007)

สารก่อภูมิแพ้จากไรฝุ่นมี 2 กลุ่มใหญ่ โดยสารก่อภูมิแพ้กลุ่มแรก นั้นพบมากในมูลของไรฝุ่น มีคุณสมบัติเป็น cysteine proteases สลายตัวได้ง่ายที่อุณหภูมิสูงประมาณ 75 องศาเซลเซียส ส่วนสารก่อภูมิแพ้ที่อีกกลุ่มนั้น พบได้มากในผนังลำตัวและคราบของไรฝุ่น ระดับของสารก่อภูมิแพ้ที่สามารถก่อโรคให้กับผู้ป่วย คือสารจำนวน 2 ไมโครกรัมต่อฝุ่น 1 กรัม และหากสารก่อภูมิแพ้มากกว่า 10 ไมโครกรัมต่อฝุ่น 1 กรัม จะทำให้ผู้ป่วยมีอาการหอบหืดอย่างเฉียบพลัน ในฝุ่นบ้านของคนไทยพบปริมาณของสารก่อภูมิแพ้กลุ่มแรก เฉลี่ย 11 ไมโครกรัมต่อฝุ่น 1 กรัม (Vichyanond, 2002) ดังนั้นทางเลือกที่มีความปลอดภัยในการใช้มากที่สุดคือการใช้สารที่มีอยู่ตามธรรมชาติในการควบคุมไรฝุ่น

มีรายงานการศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรหลายชนิดเพื่อใช้ฉีดพ่นควบคุมไรฝุ่น ซึ่งพบว่าได้รับการยอมรับจากผู้ใช้ เพราะมีประสิทธิภาพสูงและมีความเชื่อมั่นในความปลอดภัยของสารที่มาจากธรรมชาติ ซึ่งนอกจากสมุนไพรแล้ว สาหร่ายยังเป็นวัตถุดิบอีกกลุ่มหนึ่งซึ่งมีอยู่ตามธรรมชาติ และมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายกลุ่มเช่นสารต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส และสารยับยั้งการงอกของพืช (Chamorro *et al.*, 2002; Ruangsomboon *et al.*, 2010; สุรินทร์ และคณะ, ระหว่างตีพิมพ์) และที่สำคัญคือสารกำจัดไรฝุ่น (Samosom *et al.*, 2010a, b)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) หรือไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) ชนิด *Phormidium angustissimum* เป็นสาหร่ายชนิดหนึ่งที่มีรายงานว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดไรฝุ่นได้สูง โดย มีค่า LC₅₀ ที่ 24 ชั่วโมง เท่ากับ 2.28 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร (Samosom *et al.*, 2010) จึงมีความเป็นไปได้ในการนำมาพัฒนาเป็นสารกำจัดไรฝุ่น โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลุ่มหนึ่งที่ *Phormidium* spp. ผลิตได้คือไมโครซิสติน (Teneva *et al.*, 2005) ซึ่งมีรายงานว่ามีความเป็นพิษต่อแพลงก์ตอนสัตว์ และปลา (Zimba *et al.*, 2001) โดยพบว่ามีค่าความเป็นพิษของไมโครซิสตินที่มีต่อไรน้ำ (*Daphnia* spp.) มีค่า LC₅₀ ที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 9.6 - 21.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Demott *et al.*, 1991) นอกจากนี้ Okumura *et al.* (2007) และ Sotero-Santos *et al.* (2006) รายงานว่าไมโครซิสตินมีค่า LD₅₀ ที่ 48 ชั่วโมง ต่อไรน้ำ (*Daphnia pulicaria* และ *Daphnia similis*) เท่ากับ 36-162.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ EC₅₀ ที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 34.2-1380 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ดังนั้นการใช้สารสกัดจาก *P. angustissimum* สามารถกำจัดไรฝุ่นได้ อาจจะมาจากการออกฤทธิ์ของสารไมโครซิสตินส่วนหนึ่งเช่นกัน

มีรายงานถึงปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารพิษไมโครซิสตินโดยไซยาโนแบคทีเรีย เช่น เมื่อเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *Microcystis aeruginosa* ภายใต้สภาวะที่มีปริมาณไนโตรเจนสูง จะทำให้ไซยาโนแบคทีเรียสร้างไมโครซิสตินได้

ปริมาณสูง (Watanabe and Oishi, 1985) และพบว่าเมื่อไนโตรเจนมีปริมาณน้อยหรือถูกจำกัด จะส่งผลอย่างมากต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียบางชนิด แต่บางชนิดก็ไม่ส่งผล อย่างไรก็ตามพบว่าไซยาโนแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Anabaena* และ *Aphanizomenon* สามารถปรับตัวเข้ากับการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของธาตุอาหารต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดี (Rapala et al., 1993) ฟอสฟอรัสเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการผลิตไมโครซิสตินของไซยาโนแบคทีเรียโดยปกติแล้วฟอสฟอรัส เป็นธาตุอาหารหลักที่สำคัญสำหรับไซยาโนแบคทีเรีย มีหน้าที่ในกระบวนการเมตาโบลิซึม (metabolism) เกี่ยวข้องกับขบวนการใช้พลังงาน การถ่ายทอดพลังงาน ขบวนการสร้างกรดนิวคลีอิกของไซยาโนแบคทีเรียโดยมีรายงานว่าการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *Microcystis aeruginosa* ในอาหารที่มีการจำกัดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสพบว่าทำให้มีการสร้างพิษไมโครซิสตินได้ช้าลง โดยการจำกัดฟอสฟอรัสมีผลต่อการสร้างไมโครซิสตินน้อยกว่าการจำกัดไนโตรเจน (Dai et al., 2008) ซึ่งทั้งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสล้วนส่งผลต่อปริมาณไมโครซิสตินแต่ผลนั้นขึ้นกับชนิดของไซยาโนแบคทีเรียเช่นกัน

การวิจัยนี้จึงได้ศึกษาถึงผลของปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในอาหารเลี้ยง *P. angustissimum* ต่อปริมาณสารสกัดหยาบและประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการกำจัดไรฝุ่น เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด ในการนำมาเป็นแนวทางในการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียชนิดนี้เพื่อผลิตสารกำจัดไรฝุ่นในทางการค้าต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย

เพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *P. angustissimum* ซึ่งแยกมาจากบ่อเลี้ยงปลาตก ในอาหาร 5 ชุดการทดลองที่มีความแตกต่างของปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัส คือ 1) เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร BG-11 ปกติ (ลัดดา, 2543) ซึ่งเทียบความเข้มข้นของไนโตรเจน (ใช้ NaNO_3 1.5 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน) และฟอสฟอรัส (ใช้ K_2HPO_4 0.04 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งฟอสฟอรัส) เป็นร้อยละ 100 โดยจัดเป็นชุดควบคุม 2) มี NaNO_3 ร้อยละ 50 และ K_2HPO_4 ร้อยละ 100 ของชุดควบคุม 3) มี K_2HPO_4 ร้อยละ 50 และ NaNO_3 ร้อยละ 100 ของชุดควบคุม 4) มี NaNO_3 ร้อยละ 200 และ K_2HPO_4 ร้อยละ 100 ของชุดควบคุม และ 5) มี K_2HPO_4 เป็นร้อยละ 200 และ NaNO_3 ร้อยละ 100 ของชุดควบคุม โดยเลี้ยงชุดการทดลองละ 3 ข้ว

โดยเพาะเลี้ยงในขวดแก้วขนาด 1 ลิตร ที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส ได้รับแสงต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มแสง 200 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที มีการให้อากาศต่อเนื่อง เพาะเลี้ยง *P. angustissimum* เป็นเวลา 14 วัน ซึ่งเข้าสู่ระยะปลายการเจริญเติบโตเต็มที่ (late exponential phase) จากนั้นเก็บเซลล์โดยใช้ถุงกรองแพลงก์ตอนขนาดช่องตา 40 ไมโครเมตร ล้างด้วยน้ำกลั่นและอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนไซยาโนแบคทีเรียแห้ง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียด และนำไปสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

2. วิธีการเลี้ยงไรฝุ่น

ทำการเก็บรวบรวมตัวเต็มวัยไรฝุ่น *D. pteronyssinus* จากเขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร นำมาเลี้ยงในขวดเลี้ยงไรฝุ่น เก็บขวดเลี้ยงไรฝุ่นไว้ในตู้ควบคุมความชื้นและอุณหภูมิ ทำการเปิดตู้นาน 30 นาทีทุกหนึ่งหรือสองวัน เพื่อให้อากาศภายในตู้ถ่ายเท โดยเลี้ยงไรฝุ่นที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 86 ± 1 อาหารที่ใช้เลี้ยงคืออาหารหนูบดละเอียด จมูกข้าวสาลี และยีสต์ นำตัวเต็มวัยของไรฝุ่นรุ่น 3-4 ไปทำการทดสอบต่อไป

3. การสกัดสารสกัดหยาบจาก *P. angustissimum*

นำ *P. angustissimum* อบแห้งมาสกัดด้วยเมทานอล อัตราส่วน 1:2 (w:v) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองเอาส่วนของสารสกัดนำไประเหยแห้ง เก็บสารสกัดไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดสอบการกำจัดไรฝุ่นต่อไป

4. ทดสอบคุณสมบัติของการกำจัดไรฝุ่นโดยการสัมผัส

นำสารสกัดหยาบมาละลายในเอทานอลร้อยละ 95 และเคลือบสารสกัดในทรงทดสอบไรฝุ่น ที่ความเข้มข้น 0, 0.16, 0.32, 1.6, 3.2, 16, 32, 48 และ 64 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร ทิ้งไว้ให้แห้ง ใช้ฟูกัน 1 เส้นขน สุ่มเขี่ยตัวเต็มวัยของไรฝุ่นเพื่อให้ได้ทั้งเพศผู้และเพศเมียที่มีขนาดใกล้เคียงกันจำนวน 10 ตัว ใส่ลงในทรงทดสอบไรฝุ่น หลังจากนั้นปิดทรงทดสอบไรฝุ่นทั้งสองด้านด้วยผ้ากรอง ในแต่ละความเข้มข้นจะทำการทดสอบ 10 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัว บันทึกผลการทดลองโดยการนับจำนวนไรฝุ่นที่ตายที่ 24 ชั่วโมง

ตรวจการตายของไรฝุ่นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยการใช้ปลายฟูกันเขี่ยบริเวณลำตัว ดูการตอบสนองของไรฝุ่นที่มีชีวิตจะเคลื่อนไหว โดยสามารถเดินได้อย่างน้อยเท่ากับความยาวของลำตัว (Knight *et al.*, 1990) ขณะที่ไรฝุ่นไม่มีชีวิตจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง สีสิ้น เช่น ลำตัวแบน ขาหักงอ ไม่ตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้น หรือขยับขาได้แต่ไม่สามารถเดินได้ภายหลังการสัมผัส (Welty *et al.*, 1988)

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของการตายที่ 24 ชั่วโมง โดยใช้ Duncan's Multiple Range Test หาค่า LC_{50} (50% Lethal Concentration) ด้วยวิธี Probit Analysis ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลผลิตชีวมวลของ *P. angustissimum* และปริมาณสารสกัดหยาบ

ไซยาโนแบคทีเรียสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งเป็นพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม โดยยับยั้งกระบวนการเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิดอื่นได้ (Teneva *et al.*, 2005) สารสกัดไกลโคลิปิดจากไซยาโนแบคทีเรีย *Spirulina maxima* สามารถยับยั้งกระบวนการทำงานของไวรัส (Chamorro *et al.*, 2002) สารสกัดหยาบจากไซยาโนแบคทีเรีย *P. angustissimum* ที่สกัดด้วยเมทานอล มีประสิทธิภาพในการกำจัดไรฝุ่นได้สูง โดยมีค่า LC_{50} ที่ 24 ชั่วโมง เท่ากับ 2.28 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร (Samosorn *et al.*, 2010) นอกจากนี้ *P. angustissimum* ยังสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย เจริญเติบโตได้รวดเร็ว และเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ง่าย เพราะเจริญเติบโตและเกาะกันเป็นกลุ่มขนาดใหญ่ เพียงใช้ผ้าขาวบางกรอง ก็สามารถเก็บเส้นสายของ *P. angustissimum* นี้ได้ จึงเหมาะสมในการนำมาเป็นแหล่งของสารสกัดในการกำจัดไรฝุ่น

ผลการศึกษาพบว่า การเพาะเลี้ยง *P. angustissimum* ในอาหารที่เพิ่มไนโตรเจนและฟอสฟอรัสร้อยละ 200 ให้ผลผลิต (น้ำหนักแห้ง) สูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดที่ลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัส และชุดควบคุม เมื่อลดปริมาณสารอาหารทั้งสองชนิดลง พบว่าผลผลิตของ *P. angustissimum* ที่ได้ลดลง (Table 1) ทั้งนี้เนื่องจากไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของ *P. angustissimum* เมื่อเพิ่มปริมาณธาตุอาหารขึ้นจึงทำให้มีการเจริญเติบโตสูงขึ้น (Schluter, 1998)

เมื่อนำ *P. angustissimum* มาสกัดสารสกัดหยาบพบว่า *P. angustissimum* ที่เลี้ยงในอาหารที่ลดและเพิ่มปริมาณไนโตรเจนให้ปริมาณสารสกัดสูงกว่าและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปริมาณสารสกัดที่ได้จาก *P. angustissimum* ที่เลี้ยงในอาหารชุดควบคุม อาหารที่ลดและเพิ่มฟอสฟอรัส (Table 1) ซึ่ง Lewin (1962) ได้รายงานไว้ว่าเมื่อปริมาณธาตุอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงสาหร่ายต่างกันจะส่งผลต่อปริมาณสารประกอบต่างๆ ในสาหร่ายเช่น ไซมัน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน เป็นต้น ซึ่งการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนเป็นการเพิ่มโปรตีน ส่วนการลดปริมาณไนโตรเจนนั้นเป็นการเพิ่มปริมาณไขมันในสาหร่าย (Zhila *et al.*, 2005) จึงทำให้ปริมาณสารสกัดหยาบเพิ่มขึ้นได้ทั้งในกรณีที่ลดและเพิ่มไนโตรเจน

ในการเพิ่มฟอสฟอรัสนั้นให้ปริมาณสารสกัดหยาบไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม แต่การลดฟอสฟอรัสนั้นทำให้ปริมาณสารสกัดหยาบลดลง ซึ่งเป็นไปได้ว่าการลดฟอสฟอรัสนั้นลดปริมาณ

องค์ประกอบภายในเซลล์ซึ่งเป็นส่วนของสารสกัดหยาบใน *P. angustissimum* ซึ่งตรงข้ามกับบางรายงานวิจัยที่รายงานว่า การลดปริมาณฟอสฟอรัสสามารถเพิ่มองค์ประกอบบางประเภทในเซลล์ เช่นเพิ่มปริมาณไขมันในสาหร่ายสีเขียว *Scenedesmus obliquus* ได้ (Mandal and Mallick, 2009)

Table 1 Biomass (dry weight) and crude extract production of *P. angustissimum* culture under different nitrogen and phosphorus concentrations.

Cultivation conditions	Dry weight (g/l)	Crude extracts (g/100g biomass)
100% NaNO ₃ and 100% K ₂ HPO ₄	0.68±0.01 ^a	2.92±0.02 ^a
50% NaNO ₃ and 100% K ₂ HPO ₄	0.62±0.02 ^b	3.17±0.08 ^b
100% NaNO ₃ and 50% K ₂ HPO ₄	0.61±0.02 ^b	2.11±0.10 ^c
200% NaNO ₃ and 100% K ₂ HPO ₄	0.72±0.01 ^c	3.12±0.12 ^b
100% NaNO ₃ and 200% K ₂ HPO ₄	0.71±0.01 ^c	2.86±0.09 ^a

The different superscript letters in each column are significantly different ($p < 0.05$).

2. ผลของสารสกัดหยาบจากไซยาโนแบคทีเรียในการกำจัดไรฝุ่น

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหรือสารพิษหลักที่พบใน *P. angustissimum* คือไมโครซิสตินซึ่งมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนเป็นองค์ประกอบหลัก จากการศึกษาของ Downing *et al.* (2005) รายงานว่าไนโตรเจนส่งผลต่อการสร้างพิษชนิดไมโครซิสตินของไซยาโนแบคทีเรีย *Microcystis aeruginosa* สำหรับฟอสฟอรัสนั้นมีการส่งผลต่อปริมาณพิษไมโครซิสตินเนื่องจากฟอสฟอรัสมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับขบวนการถ่ายถอดพลังงาน ขบวนการสร้าง nucleic acid ของสาหร่าย (Lewin, 1962) ถ้าขาดฟอสฟอรัสจะทำให้ปริมาณกรดอะมิโนของสาหร่ายลดลง จึงมีความเกี่ยวข้องกับปริมาณพิษไมโครซิสติน

จากการนำสารสกัดหยาบของ *P. angustissimum* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเข้มข้นต่างกัน มาทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดไรฝุ่น พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 64 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตรสามารถกำจัดไรฝุ่นโดยทำให้ไรฝุ่นมีอัตราการตาย ร้อยละ 100 ยกเว้นสารสกัดจาก *P. angustissimum* ที่เลี้ยงในอาหารที่ลดไนโตรเจนลงร้อยละ 50 โดยกำจัดไรฝุ่นได้ร้อยละ 91.3±0.7 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าประสิทธิภาพของสารสกัดจาก *P. angustissimum* ที่เลี้ยงในสภาวะอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มมากขึ้น สารสกัดจากทุกชุดการทดลองจะมีความเป็นพิษต่อไรฝุ่นเพิ่มมากขึ้น (Table 2)

ค่าความเป็นพิษของสารสกัดจาก *P. angustissimum* ที่เลี้ยงในสภาวะควบคุมมีค่าความเป็นพิษสูงที่สุดโดยมีค่า LC₅₀ เพียง 2.28 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร การเพิ่มหรือลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสมีผลทำให้ค่าความสามารถในการกำจัดไรฝุ่นของสารสกัดลดลง (ค่า LC₅₀ เพิ่มสูงขึ้นเป็น 3.24-11.29 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร) ซึ่งอาจเป็นเพราะการผันแปรไนโตรเจนและฟอสฟอรัสจากสูตรอาหารปกติที่เหมาะสมส่งผลให้ชนิดของสารประกอบในเซลล์สาหร่ายเปลี่ยนแปลงไป (Lewin, 1962) โดยมีผลในการลดปริมาณของสารชนิดที่เป็นพิษลง

จากการที่ลดปริมาณไนโตรเจนลงเห็นได้ชัดเจนว่าความเป็นพิษของสารสกัดลดลง ซึ่งอาจเป็นเพราะมีการสร้างพิษไมโครซิสตินได้ลดลง และเมื่อเพิ่มปริมาณไนโตรเจนขึ้นเป็นร้อยละ 200 ความเป็นพิษของสกัดเพิ่มขึ้นจากการมีไนโตรเจนในอาหารเพียงร้อยละ 50 แต่ยังคงมีความเป็นพิษน้อยกว่าสารสกัดที่ได้จาก *P. angustissimum* ที่เลี้ยงในชุดควบคุม (ไนโตรเจนร้อยละ 100) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนให้มากกว่าสูตรอาหารปกตินั้น

ไม่ได้ช่วยในเรื่องการเพิ่มการสร้างสารพิษแต่ไปช่วยด้านการเจริญเติบโตแทน (Table 1) เพราะไนโตรเจนมีหน้าที่หลักคือช่วยในการสังเคราะห์แสง สร้างรงควัตถุ (Lewin, 1962)

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจาก *P. angustissimum* ในการกำจัดไรฝุ่น กับสารสกัดจากสาหร่ายและพืชชนิดอื่นที่ได้มีรายงานมาก่อนนี้ ที่ระดับ LC₅₀ ที่ 24 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดจาก *P. angustissimum* จากการศึกษาครั้งนี้ (LC₅₀ 2.28 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร) มีประสิทธิภาพในการกำจัดไรฝุ่นสูงกว่าสาหร่ายสีน้ำตาล *Dictyota* sp. (12.87 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร) สาหร่ายสีเขียว *Ulva intestinalis* (9.18 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร) และไซยาโนแบคทีเรียบางชนิด *Oscillatoria* sp. (1.81 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร), *Spirulina platensis* (5.13 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร) (อภิัญญา และคณะ, 2553; Samosorn et al., 2010) แม้ประสิทธิภาพของสารสกัดจาก *P. angustissimum* จะต่ำกว่าพืชบก กานพลูซึ่งมีค่า LC₅₀ เพียง 0.09 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร (Insung and Pumnuan, 2009) แต่หากพิจารณาถึงระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงจนถึงเก็บเกี่ยวผลผลิตแล้ว พบว่า *P. angustissimum* ใช้ระยะเวลาเพียง 10-14 วัน จึงเป็นอีกตัวเลือกที่น่าสนใจเช่นกัน และหากมีการหาสภาวะที่เพิ่มประสิทธิภาพของสารสกัดให้สูงขึ้น จะยังมีความเป็นไปได้ในการนำมาแทนพืชบกได้ จึงต้องมีการศึกษาหาสภาวะในการเลี้ยงอื่น ๆ ที่เหมาะสมต่อไป

Table 2 Effect of nitrogen and phosphorus in *P. angustissimum* cultured in different medium on percentage of mortality of house dust mite caused by *P. angustissimum* extract and LC₅₀.

Concentration (µg/cm ²)	100% NaNO ₃ and K ₂ HPO ₄ (Control)	50% NaNO ₃	50% K ₂ HPO ₄	200% NaNO ₃	200% K ₂ HPO ₄
0	0.0±0.0 ^a	0.00±0 ^a	0.0±0 ^a	0.00±0 ^a	0.00±0 ^a
0.16	38.6±0.8 ^a	30.3±1.3 ^{cd}	35.3±1.0 ^{ab}	34.0±0.6 ^{bc}	33.7±2.3 ^{bc}
0.32	51.3±0.6 ^a	38.7±0.7 ^d	49.1±2.3 ^{ab}	44.3±2.0 ^{bc}	40.0±3.1 ^{cd}
1.6	60.7±1.7 ^a	44.2±1.2 ^c	60.7±1.5 ^{ab}	53.2±1.2 ^{bc}	51.7±6.1 ^{bc}
3.2	78.0±0.2 ^a	60.7±0.3 ^e	71.7±2.4 ^{bc}	73.3±1.8 ^b	67.3±2.9 ^{cd}
16	88.5±0.5 ^b	68.0±1.5 ^e	82.8±0.9 ^d	81.5±1.2 ^d	81.8±2.7 ^d
32	98.0±1.8 ^a	82.3±0.7 ^e	99.7±0.3 ^a	89.0±1.5 ^c	89.0±2.5 ^c
48	100.0±0.0 ^a	86.5±2.1 ^b	100.0±0.0 ^a	97.0±1.0 ^a	98.1±0.6 ^a
64	100.0±0.0 ^a	91.3±0.7 ^b	100.0±0.0 ^a	100.0±0.0 ^a	100.0±0.0 ^a
LC ₅₀	2.28	11.29	3.24	5.12	5.90

The different small letters in each row are significantly different ($p < 0.05$).

ดังนั้นจากการทดลองนี้การเลี้ยง *P. angustissimum* ในอาหารสูตร BG-11 ปกติ จึงเป็นทางเลือกที่ดีที่สุดในการเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียชนิดนี้เพื่อผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำหรับกำจัดไรฝุ่น ซึ่งแม้ปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้จะน้อยกว่าชุดที่เลี้ยงโดยเพิ่มและลดไนโตรเจนประมาณ 0.20-0.25 กรัมต่อไซยาโนแบคทีเรียแห้ง 100 กรัม แต่ประสิทธิภาพในการกำจัดไรฝุ่น (LC₅₀ 2.28 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร) สูงกว่าสารสกัดที่ได้จากไซยาโนแบคทีเรียที่เลี้ยงในสภาวะอื่น ๆ (LC₅₀ 3.24-11.29 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร) 1.4-4.9 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

ค่า LC₅₀ ของสารสกัดจาก *P. angustissimum* ที่เลี้ยงในชุดควบคุม มีค่าต่ำที่สุดเท่ากับ 2.28 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร ซึ่งแสดงว่ามีค่าความสามารถในการกำจัดไรฝุ่นสูงที่สุด รองลงมาคือ *P. angustissimum* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีการลดฟอสฟอรัส โดยมีค่า LC₅₀ เท่ากับ 3.24 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร ส่วน *P. angustissimum* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีการลดไนโตรเจนมีค่าความเป็นพิษต่ำที่สุดโดยมีค่า LC₅₀ เท่ากับ 11.29 ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร ทั้งนี้ในการศึกษาครั้งต่อไป การเพิ่มหรือลดปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสควรทำการทดสอบในช่วงความเข้มข้นที่แคบลงกว่าการศึกษาครั้งนี้ และทดสอบผลของความหนาแน่นของไรฝุ่นต่อปริมาณสารสกัด

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา (สกอ.) และสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปี 2554

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงสาธารณสุข. 2552. กรมการแพทย์. คู่มือสุขภาพคนไทยในภาวะวิกฤตเศรษฐกิจ. นนทบุรี: กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, หน้า 34-37.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์, ศักดิ์ชัย ชูโชติ และ ดุสิต เอื้ออำนวย. ผลของระยะเวลา แสง และอุณหภูมิในการเก็บรักษาสารสกัดจากไชยาโนแบคทีเรีย, *Phormidium angustissimum* ต่อความสามารถในการยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดเขียวหวานตั้ง (*Brassica chinensis* var. *parachinensis* Tsen & Lee). วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ระหว่างตีพิมพ์.
- อภิญา สโมสร, สุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์, อัมพร อินทร์สังข์ และ จรุงศักดิ์ พุ่มนวน. 2553. ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายขนาดใหญ่ต่อไรฝุ่น *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart) โดยวิธีสัมผัส. หน้า 184-191. ใน เอกสารการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Chamorro, M.G. and Barron, B.L. 2002. Antiviral activity of *Spirulina maxima* against herpes simplex virus type 2. *Antiviral Research* 56:279-285.
- Dai, R., Huijuan, L., Jinhui, Q., Xu, Z., Jia, R. and Yining, H. 2008. Relationship of energy charge and toxin content of *Microcystis aeruginosa* in nitrogen-limited or phosphorus-limited cultures. *Toxicon* 51: 649-658.
- Demott, W.R., Zhang, Q.X. and Carmichael, W.W. 1991. Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. *Limnology and Oceanography* 36:1346-1357.
- Dowling, T.G., Meyer, C., Gehringger, M.M. and Van De, V.M. 2005. Microcystin content of *Microcystis aeruginosa* is modulated by nitrogen uptake rate relative to specific growth rate or carbon fixation rate. *Environmental Toxicology* 20:257-262.
- Insung, A. and Pumnuan, J. 2009. Acaricidal activity of essential oil of medicinal plants against house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart). *KKU Science Journal* 37:183-191.
- Knight, A.L., Beers, E.H., Hoyt, S.C. and Riedl, H. 1990. Acaricides bioassays with spider mites (Acari: Tetranychidae) on pome fruit: evaluation of methods and selection of discriminating concentrations for resistance monitoring. *Journal of Economic Entomology* 83:1752-1760.
- Lewin, R.A. 1962. *Physiology and Biochemistry of Algae*. Academic Press, London.
- Mandal, S. and Mallick, N. 2009. Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production. *Applied Microbiology and Biotechnology* 84:281-291.
- Okumura, D.T., Sotero-Santos, R.B., Takenaka, R.A. and Rocha, O. 2007. Evaluation of cyanobacteria toxicity in tropical reservoirs using crude extracts bioassay with cladocerans. *Ecotoxicology* 16:263-270.
- Pumnuan, J. and Insung, A. 2007. Persistence of household insecticides to house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart). pp.706-708. In Proceedings of the 2nd KMITL International Conference on Engineering, Applied Sciences and Technology for Sustainable Development. KMITL, Bangkok.
- Rapala, J., Sivonnen, K., Luukkainen, B. and Niemela, S.I. 1993. Anatoxin-a concentration in *Anabaena* and *Aphanizomenon* under different environmental conditions and comparison of growth by toxic and non-toxic *Anabaena* stains-a laboratory study. *Journal of Applied Phycology* 5:581-591.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Ruangsomboon, S., Choochote, S., Taveekijakarn, P. and Worasing, S. 2010. Antibacterial activity of lipophilic and hydrophilic extracts of algae. pp. 231-237. *In* The 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology, Pattaya, Thailand.
- Samosorn, A., Pumnuan, J., Insung, A. and Ruangsomboon, S. 2010a. Effectiveness of cyanobacteria extracts on the house dust mite, *Dermatophagoides Pteronyssinus* (Trouessart) by contact method. pp. 700-703. *In* Proceedings of 16th Asian Agricultural Symposium and 1st International Symposium on Agricultural Technology "Sufficiency Agriculture", Bangkok, Thailand.
- Samosorn, A., Pumnuan, J., Insung, A. and Ruangsomboon, S. 2010b. Effects of nitrogen and phosphorus in culture medium on bioactive compounds of *Oscillatoria* sp. extracts on the house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart). pp. 215-219. *In* The 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology, Pattaya, Thailand.
- Samosorn, A., Pumnuan, J., Insung, A. and Ruangsomboon, S. 2010. Effectiveness of cyanobacteria extracts on the house dust mite, *Dermatophagoides Pteronyssinus pteronyssinus* (Trouessart) by contact method. pp. 700-703. *In* Proceedings of 16th Asian Agricultural Symposium and 1st International Symposium on Agricultural Technology "Sufficiency Agriculture". KMITL, Bangkok.
- Schluter, L. 1998. The influence of nutrient addition on growth rates of phytoplankton groups, and microzooplankton grazing rates in a mesocosm experiment. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 228:53-71.
- Sirichit, W., Malee, U., Vanna, M. and Pisit, C. 2002. Laboratory study of effectiveness of permethrin and benzyl benzoate as acaricides for control of house dust mites. *Chiang Mai Medical Bulletin* 41:43-50.
- Sotero-Santos, R.B., Silva, C.R.D.E., Verani, N.F., Nonaka, K.O. and Rocha, O. 2006. Toxicity of a cyanobacteria bloom in Barra Bonita Reservoir (middle Tiete River, Sao Paulo, Brazil). *Ecotoxicology and environmental safety* 64:163-170.
- Teneva, I., Balik, D., Lyubka, K., Rumen, M. and Rumen, M. 2005. Toxic potential of five freshwater *Phormidium* species (Cyanoprokaryota). *Toxicon* 45:711-725.
- Vichyanond, P. 2002. Pediatric allergy and immunology at Siriraj Hospital. *Journal of the Medical Association of Thailand* 85:569-78.
- Watanabe, M.F. and Oishi, S. 1985. Effects of environmental factors on toxicity of a cyanobacterium (*Microcystis aeruginosa*) under culture conditions. *Applied and Environmental Microbiology* 49:1342-1344.
- Welty, C., Reissig, W.H., Dennehy, T.J. and Weires, R.W. 1988. Comparison of residual bioassay methods and criteria for assessing mortality of cyhexatin-resistant European red mite (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology* 81:442-448.
- Zhila, N.O., Kalacheva, G.S. and Volova, T.G. 2005. Influence of nitrogen deficiency on biochemical composition of the green alga *Botryococcus*. *Journal of Applied Phycology* 17:309-315.
- Zimba, P.V., Khoo, L., Gaunt, P.S., Brittain, S. and Carmichael, W.W. 2001. Confirmation of catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), mortality from *Microcystis* toxins. *Journal of fish Diseases* 24:41-47.