

การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก
ที่มีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล
STUDY ON ANTIBACTERIAL ACTIVITY FROM GREEN
MICROALGAE EXTRACTS AGAINST FISH PATHOGENS
OF THE NILE TILAPIA

มณิรัตน์ เพ็ชรเส็ง
เอกนารี ไกรเทพ

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก
ที่มีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล
STUDY ON ANTIBACTERIAL ACTIVITY FROM GREEN
MICROALGAE EXTRACTS AGAINST FISH PATHOGENS
OF THE NILE TILAPIA

มณีนรัตน์ เพ็ชรเลี้ยง
เอกนารี ไกรเทพ

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

STUDY ON ANTIBACTERIAL ACTIVITY FROM GREEN
MICROALGAE EXTRACTS AGAINST FISH PATHOGENS
OF THE NILE TILAPIA

MANEERAT PETSENG

AEKNAREE KRAITEP

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 2017

หัวข้อโครงการพิเศษ การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กที่มีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล

Study on Antibacterial Activity from Green Microalgae Extracts Against Fish Pathogens of The Nile Tilapia.

ชื่อนักศึกษา นางสาวมณิรัตน์ เพ็ชรเส็ง รหัสนักศึกษา 57050875
นางสาวเอกนารี ไกรเทพ รหัสนักศึกษา 57050925




ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2560

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.วีณา ชูโชติ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร. จิตติ ท่าไว ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร. วรกฤต วรรณันทกิจ กรรมการ	
ผศ. วีณา ชูโชติ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงการพิเศษ	การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กที่มีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล
ชื่อนักศึกษา	นางสาวมณิรัตน์ เพ็ชรแสง รหัสนักศึกษา 57050875 นางสาวเอกนารี ไกรเทพ รหัสนักศึกษา 57050925
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. วีน่า ชูโชติ

บทคัดย่อ

การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก 11 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 3, *Chlorella* sp. 5, *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. A, *Chlorella* sp. N11-59, *Chlorococcum* sp. AB1, *Chlorococcum* sp. Unknown A, *Chlamydomonas* sp. B1-59, *Chlamydomonas* sp. P และ *Scenedesmus* sp. F14 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ในระยะการเจริญคงตัว (Stationary phase) เพื่อทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล 4 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* และ *Aeromonas hydrophila* จากการทดลองพบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. A, *Chlorococcum* sp. AB1 และ *Scenedesmus* sp. F14 มีค่าการเจริญเข้าสู่ระยะการเจริญคงตัวเร็วที่สุดที่วันที่ 16 ของการทดลอง และเมื่อทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. VB55 ให้ผลออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้กว้างที่สุด (สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus*, *Strep. agalactiae* และ *A. hydrophila*) สารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. N11-59 ให้ผลการออกฤทธิ์ที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* (MIC) เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และให้ผลความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Strep. agalactiae* (MBC) เท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และไม่มีสาหร่ายสายพันธุ์ใดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*

คำสำคัญ : การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย, สารสกัด, สาหร่ายสีเขียว, MIC, MBC

Title	Study on Antibacterial Activity from Green Microalgae Extracts Against Fish Pathogens of The Nile Tilapia.
Students	Miss Maneerat Petseng Student ID 57050875 Miss Aeknaree Kraitep Student ID 57050925
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2017
Advisor	Asst. Prof. Weena Choochote

Abstract

Study on antibacterial crude extracts from eleven green microalgae strains: *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 3, *Chlorella* sp. 5, *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. A, *Chlorella* sp. N11-59, *Chlorococcum* sp. AB1, *Chlorococcum* sp. Unknown A, *Chlamydomonas* sp. B1-59, *Chlamydomonas* sp. P and *Scenedesmus* sp. F14 extracted with dichloromethane in the stationary phase. To study the inhibition of fish pathogenic bacteria in four genera of tilapia: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* and *Aeromonas hydrophila*. The results showed that, *Chlorella* sp. A, *Chlorococcum* sp. AB1 and *Scenedesmus* sp. F14 were the high growth (the stationary phase at 16 days of experiment). To tested by agar disc diffusion technique, *Chlorella* sp. VB55 extract was exhibited against *Stap. aureus*, *Strep. agalactiae* and *A. hydrophila*. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were tested, *Chlorella* sp. N11-59 crude extract was inhibited against *Stap. aureus* and *Strep. agalactiae* at MIC 12.5 mg/ml and MBC 25 mg/ml. All green microalgae crude extract was uninhibited against *E.coli*.

Keywords : Antibacterial, extracts, green microalgae, MIC, MBC.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้เป็นการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กที่มีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล ซึ่งโครงการพิเศษนี้จะไม่สามารถลุล่วงไปได้ด้วยดีหากไม่ได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลดังต่อไปนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ. วีนา ชูโชติ อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร. จิตติ ท่าไว ประธานกรรมการ และ ผศ.ดร. วรกฤต วรรณนทกิจ กรรมการ ที่ให้คำปรึกษา ความรู้ต่างๆ เกี่ยวกับการทดลอง ข้อเสนอแนะ การตอบข้อซักถามของผู้จัดทำ ข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นในการทดลอง และกรุณาช่วยตรวจแก้ไขรูปแบบโครงการพิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ นางสาวบุปผา จงพัฒน์ นักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่อนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิลเพื่อปฏิบัติโครงการพิเศษนี้จนโครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณภาคชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาให้ใช้สถานที่เพื่อปฏิบัติโครงการพิเศษครั้งนี้จนโครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาที่อบรมสั่งสอน อุปการะเลี้ยงดู และเป็นกำลังใจให้ผู้จัดทำตลอดมาจนโครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการ ภาคชีววิทยาประยุกต์ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งให้คำปรึกษา แก้ไขเครื่องมือที่บกพร่อง และอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการต่างๆ

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ชั้นปีที่ 4 ที่ให้ความช่วยเหลือ เป็นกำลังใจ และอำนวยความสะดวกต่างๆ จนโครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่ารายงานฉบับนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้ หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับโครงการพิเศษนี้

นางสาวมณิรัตน์ เพ็ชรเส้ง

นางสาวเอกนารี ไกรเทพ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูปภาพ	ช
สารบัญตาราง	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae)	3
2.1.1 สาหร่าย <i>Chlorella</i> sp.	3
2.1.2 สาหร่าย <i>Scenedesmus</i> sp.	4
2.1.3 สาหร่าย <i>Chlamydomonas</i> sp.	5
2.1.4 สาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp.	6
2.2 ปลานิล	7
2.3 เชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล	8
2.3.1 <i>Aeromonas hydrophila</i>	9
2.3.2 <i>Streptococcus agalactiae</i>	9
2.3.3 <i>Escherichia coli</i>	11
2.3.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	11
2.4 ยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาโรคในปลานิล	12
2.4.1 ออกซีเตตราไซคลิน (Oxytetracycline)	12

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.4.2 เอนโรฟลอกซาซิน (Enrofloxacin)	13
2.4.3 อะม็อกซิซิลลิน (Amoxicillin)	13
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการทดลอง	15
3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	15
3.2 วิธีดำเนินการทดลอง	16
3.2.1 จุลินทรีย์	16
3.2.2 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่ายและการเพาะเลี้ยง	16
3.2.3 การศึกษาการเจริญของสาหร่าย	17
3.2.4 การศึกษาปริมาณสารสกัดจากสาหร่ายที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค	17
3.2.5 การศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคด้วยสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 11 สายพันธุ์	17
- การเตรียมเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ใช้ทดสอบ	17
- การเตรียมแผ่นทดสอบ	18
- การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคด้วยวิธี Agar disc diffusion	18
- การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสาหร่ายที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (Minimal Inhibitory Concentration : MIC)	18
- การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสาหร่ายที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum bactericidal concentration:MBC)	18
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	19
4.1 ผลการศึกษาการเจริญของสาหร่าย	19
4.2 ผลของปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก	22
4.3 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคด้วยสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก	22
4.4 การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสาหร่ายที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (Minimal Inhibitory Concentration: MIC)	39

สารบัญ(ต่อ)

4.5 การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสาหร่ายที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum bactericidal concentration: MBC)	41
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	44
เอกสารอ้างอิง	46
ภาคผนวก ก.	50
ภาคผนวก ข.	55
ภาคผนวก ค.	66
ภาคผนวก ง.	89

สารบัญรูปร่าง

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงลักษณะของเซลล์ของ <i>Chlorella</i> sp.	4
2.2 แสดงลักษณะเซลล์ของ <i>Scenedesmus</i> sp.	5
2.3 แสดงลักษณะเซลล์ของ <i>Chlamydomonas</i> sp.	6
2.4 แสดงลักษณะเซลล์ของ <i>Chlorococcum</i> sp.	7
2.5 แสดงลักษณะปลานิล	8
2.6 แสดงลักษณะปลานิลที่ติดเชื้อ <i>Aeromonas hydrophila</i>	9
2.7 แสดงลักษณะปลานิลที่ติดเชื้อ <i>Streptococcus agalactiae</i>	10
2.8 แสดงลักษณะเชื้อ <i>Escherichia coli</i>	11
2.9 แสดงลักษณะเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i>	11
2.10 แสดงโครงสร้างเคมีของออกซีเตตราไซคลิน	13
2.11 แสดงโครงสร้างเคมีของเอนโรฟลอกซาซิน	13
2.12 แสดงโครงสร้างเคมีของอะม็อกซิซิลลิน	14
4.1 ค่าการดูดกลืนแสง (ที่ 560 นาโนเมตร) ของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. VB55, <i>Chlorella</i> sp. 5, <i>Chlorella</i> sp. U, <i>Chlorella</i> sp. 3, <i>Chlorella</i> sp. A, <i>Chlorella</i> sp. N11-59	19
4.2 ค่าการดูดกลืนแสง (ที่ 560 นาโนเมตร) ของสาหร่าย <i>Chlamydomonas</i> sp. P, <i>Chlamydomonas</i> sp. B1-59, <i>Chlorococcum</i> sp. UnknownA, <i>Chlorococcum</i> sp. AB1 และ <i>Scenedesmus</i> sp. F14	20
4.3 จำนวนเซลล์ของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. VB55, <i>Chlorella</i> sp. 5, <i>Chlorella</i> sp. U, <i>Chlorella</i> sp. 3, <i>Chlorella</i> sp. A และ <i>Chlorella</i> sp. N11-59	20
4.4 จำนวนเซลล์ของสาหร่าย <i>Chlamydomonas</i> sp. P, <i>Chlamydomonas</i> sp. B1-59, <i>Chlorococcum</i> sp. UnknownA, <i>Chlorococcum</i> sp. AB1 และ <i>Scenedesmus</i> sp. F14	21
4.5 ปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. VB55, <i>Chlorella</i> sp. 5, <i>Chlorella</i> sp. U, <i>Chlorella</i> sp. 3, <i>Chlorella</i> sp. A และ <i>Chlorella</i> sp. N11-59	21
4.6 ปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Chlamydomonas</i> sp. P, <i>Chlamydomonas</i> sp. -59, <i>Chlorococcum</i> sp. UnknownA, <i>Chlorococcum</i> sp. AB1 และ <i>Scenedesmus</i> sp. F14	22

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.7 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. U ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Stap. aureus</i> , <i>Strep. agalactiae</i> , <i>E. coli</i> และ <i>A. hydrophila</i>	27
4.8 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. N11-59 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Stap. aureus</i> , <i>Strep. agalactiae</i> , <i>E. coli</i> และ <i>A. hydrophila</i>	28
4.9 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. P ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Stap. aureus</i> , <i>Strep. agalactiae</i> , <i>E. coli</i> และ <i>A. hydrophila</i>	29
4.10 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlamydomonas</i> sp. B1-59 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Stap. aureus</i> , <i>Strep. agalactiae</i> , <i>E. coli</i> และ <i>A. hydrophila</i>	30
4.11 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Scenedesmus</i> sp. F14 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Stap. aureus</i> , <i>Strep. agalactiae</i> , <i>E. coli</i> และ <i>A. hydrophila</i>	31
4.12 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp. Unknown A ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Stap. aureus</i> , <i>Strep. agalactiae</i> , <i>E. coli</i> และ <i>A. hydrophila</i>	32
4.13 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. 3 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Stap. aureus</i> , <i>Strep. agalactiae</i> , <i>E. coli</i> และ <i>A. hydrophila</i>	33
4.14 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp. AB1 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Stap. aureus</i> , <i>Strep. agalactiae</i> , <i>E. coli</i> และ <i>A. hydrophila</i>	34
4.15 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. A ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Stap. aureus</i> , <i>Strep. agalactiae</i> , <i>E. coli</i> และ <i>A. hydrophila</i>	35
4.16 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. VB55 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Stap. aureus</i> , <i>Strep. agalactiae</i> , <i>E. coli</i> และ <i>A. hydrophila</i>	36
4.17 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. 5 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Stap. aureus</i> , <i>Strep. agalactiae</i> , <i>E. coli</i> และ <i>A. hydrophila</i>	37
ค-1 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorella</i> sp. VB55 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Stap. aureus</i>	66

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

ภาพที่	หน้า
ค-30 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlamydomonas</i> sp. B1-59 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Stap. aureus</i>	80
ค-31 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlamydomonas</i> sp. B1-59 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Strep. agalactiae</i>	81
ค-32 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlamydomonas</i> sp. B1-59 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>E. coli</i>	81
ค-33 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlamydomonas</i> sp. B1-59 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>A. hydrophila</i>	82
ค-34 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp. Unknown A ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Stap. aureus</i>	82
ค-35 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp. Unknown A ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Strep. agalactiae</i>	83
ค-36 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp. Unknown A ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>E. coli</i>	83
ค-37 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp. Unknown A ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>A. hydrophila</i>	84
ค-38 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp. AB1 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Stap. aureus</i>	84
ค-39 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp. AB1 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Strep. agalactiae</i>	85
ค-40 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp. AB1 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>E. coli</i>	85
ค-41 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Chlorococcum</i> sp. AB1 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>A. hydrophila</i>	86

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

ภาพที่	หน้า
ค-42 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Scenedesmus</i> sp. F14 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Stap. aureus</i>	86
ค-43 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Scenedesmus</i> sp. F14 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>Strep. agalactiae</i>	87
ค-44 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Scenedesmus</i> sp. F14 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>E. coli</i>	87
ค-45 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย <i>Scenedesmus</i> sp. F14 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>A. hydrophila</i>	88

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก	24
4.2 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค <i>E. coli</i> , <i>Stap. aureus</i> , <i>A. hydrophila</i> และ <i>Strep. agalactiae</i> ด้วยสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กที่สกัดด้วยสารละลายไตรโคลอโรมีเทนที่มีความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ	25
ข.1 ตารางแสดงผลการวัดการเจริญของสาหร่ายด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร	55
ข.2 ตารางแสดงผลการวัดการเจริญของสาหร่ายด้วยการนับจำนวนเซลล์	57
ข.3 ตารางแสดงผลการวัดปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย (กรัมต่อมิลลิลิตร)	61
ข.4 ตารางแสดงผลปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กและปริมาณน้ำหนักแห้ง	64
ข.5 ตารางแสดงผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กที่สกัดด้วยสารละลายไตรโคลอโรมีเทนที่มีความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อ แผ่นทดสอบ	65
ง-1 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Chlorella sp.</i> VB55 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	89
ง-2 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Chlorella sp.</i> 5 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	89
ง-3 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Chlorella sp.</i> U ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	90
ง-4 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Chlorella sp.</i> 3 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	91
ง-5 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Chlorella sp.</i> A ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	91
ง-6 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Chlorella sp.</i> N11-59 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	92
ง-7 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Chlamydomonas sp.</i> P ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	93
ง-8 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Chlamydomonas sp.</i> B1-59 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	93

สารบัญตาราง(ต่อ)

ง-9 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Chlorococcum sp. UnknownA</i> ที่ระดับความเข้มข้นละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	94
ง-10 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Chlorococcum sp. AB1</i> ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	95
ง-11 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย <i>Scenedesmus sp. F14</i> ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	95
ง-12 แสดงปริมาณสารสกัดของสาหร่าย <i>Chlorella sp. VB55</i> ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	96
ง-13 แสดงปริมาณสารสกัดของสาหร่าย <i>Chlorella sp. 5</i> ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	97
ง-14 แสดงปริมาณสารสกัดของสาหร่าย <i>Chlorella sp. U</i> ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	97
ง-15 แสดงปริมาณสารสกัดของสาหร่าย <i>Chlorella sp. 3</i> ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	98
ง-16 แสดงปริมาณสารสกัดของสาหร่าย <i>Chlorella sp. A</i> ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	99
ง-17 แสดงปริมาณสารสกัดของสาหร่าย <i>Chlorella sp. N11-59</i> ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	99
ง-18 แสดงปริมาณสารสกัดของสาหร่าย <i>Chlamydomonas sp. P</i> ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	100
ง-19 แสดงปริมาณสารสกัดของสาหร่าย <i>Chlamydomonas sp. B1-59</i> ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	101
ง-20 แสดงปริมาณสารสกัดของสาหร่าย <i>Chlorococcum sp. UnknownA</i> ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	101
ง-21 แสดงปริมาณสารสกัดของสาหร่าย <i>Chlorococcum sp. AB1</i> ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	102
ง-22 แสดงปริมาณสารสกัดของสาหร่าย <i>Scenedesmus sp. F14</i> ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)	103

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการพิเศษ

ปลาไนล เป็นปลาน้ำจืดชนิดหนึ่งที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ เนื่องจากปลาไนลเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว เมื่อมีรสชาติดี เป็นที่นิยมบริโภคกันอย่างกว้างขวาง จึงทำให้มีการเพาะเลี้ยงปลาไนล เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทางน้ำและการระบาดของโรคนั้น เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียซึ่งเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดอัตราการตายในการเพาะเลี้ยงมากที่สุด ได้แก่เชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus agalactiae* ถึงแม้ในปัจจุบันมีการใช้ยาปฏิชีวนะเช่น ออกซิเตตราไซคลิน (Oxytetracycline) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (ครอบคลุมแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบ) มีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน ทำให้แบคทีเรียหยุดการเจริญเติบโตและไม่สามารถแพร่พันธุ์ได้ อย่างไรก็ตาม การใช้ยาชนิดนี้ก็อาจทำให้เกิดสารตกค้างจากยาละลายลงสู่แหล่งน้ำ รวมตัวกับสารต่างๆ และลงสู่ตะกอนดินในบริเวณที่มีการเพาะเลี้ยงปลา ส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนของแหล่งน้ำ และทำให้แบคทีเรียที่มีอยู่เกิดการดื้อยาได้ จึงได้มีการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพใหม่ๆ จากแหล่งธรรมชาติ ไม่ว่าจะเป็นพืช สัตว์ จุลินทรีย์ รวมไปถึงสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย เพราะมีกรดอะมิโน (Amino acid) กรดไขมัน (Fatty acid) เทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) โพลีโรแทนนิน (Phlorotannins) สเตียรอยด์ (Steroids) และสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) ที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส เชื้อรา และสารต้านมะเร็งได้ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายส่วนใหญ่จะถูกนำมาตรวจสอบเพื่อหาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคและต่อต้านการทำงานของยาสังเคราะห์ต่างๆ ตามที่องค์การอนามัยโลก (WHO) รายงาน เกือบร้อยละ 80 ของประชากรโลกยอมรับว่าพึ่งพาการรักษาแบบดั้งเดิมเป็นอันดับแรก ซึ่งการใช้สาหร่ายในการรักษามีมานานมาแล้วตั้งแต่ปีคริสตศักราช 1950 (Neha S. A, 2017) ในโครงการพิเศษนี้จึงได้ทำการศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายขนาดเล็ก และความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาไนลได้

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก

11 สายพันธุ์

1.2.2 เพื่อศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาไนล เพื่อศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาไนลด้วยวิธี Agar disc diffusion MIC และ MBC

1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

ในโครงการพิเศษจะศึกษาการเจริญของสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก 11 สายพันธุ์ เพื่อหาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากสาหร่าย มาศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาชนิดด้วยวิธี Agar disc diffusion MIC (Minimal Inhibitory Concentration) และ MBC (Minimum bactericidal concentration)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ทราบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก 11 สายพันธุ์
- 1.4.2 ทราบผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาชนิดด้วยวิธี Agar disc diffusion MIC และ MBC

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae)

สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) จัดเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็ก โครงสร้างไม่ซับซ้อน รูปร่างของเซลล์ที่หลากหลายแบบ ได้แก่ ทรงกลม ทรงรี และกระสวย อยู่แบบเซลล์เดี่ยว (Unicell) โคลนี (Colony) และเส้นสาย (Filament) พวกที่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือโคลนมีทั้งที่สามารถเคลื่อนไหวได้และเคลื่อนไหวไม่ได้ พวกที่เป็นเส้นสายมีทั้งที่แตกแขนงและไม่แตกแขนง มีนิวเคลียส 1 อันหรือมากกว่า สามารถมองเห็นโครงสร้างของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ มีคลอโรพลาสต์ที่ช่วยในการสังเคราะห์แสงและสร้างอาหารเองได้ สืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ สามารถเจริญเติบโตและพบได้ตามแหล่งน้ำธรรมชาติต่างๆ เช่น แหล่งน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม ตลอดจนในบ่อน้ำเสีย เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถพบสาหร่ายในสภาพแวดล้อมอื่นๆ อีก เช่น ในดิน หิมะ น้ำพุร้อน และสาหร่ายที่ใช้ชีวิตอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ (ลัดดา, 2544) มีความสำคัญต่อระบบนิเวศในฐานะเป็นผู้ผลิต และยังเป็นดัชนีบ่งบอกคุณภาพน้ำอีกด้วย ปัจจุบันได้มีการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เป็นส่วนประกอบสำคัญในเครื่องสำอาง รวมไปถึงเวชภัณฑ์ยาบางชนิด

2.1.1 สาหร่าย *Chlorella* sp.

สาหร่าย *Chlorella* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดี่ยว มีลักษณะเป็นทรงกลมขนาดเล็ก ประมาณ 2 - 10 ไมโครเมตร ไม่มีแฟลกเจลลา โครงสร้างผนังเซลล์ประกอบไปด้วยเซลลูโลส ภายในเซลล์มีรงควัตถุที่ช่วยสังเคราะห์แสงได้ คือ คลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีอยู่ในคลอโรพลาสต์ที่มีลักษณะเป็นรูปถ้วย หรือเป็นแผ่นยูริเมเซลล์ มีการสืบพันธุ์เป็นแบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างออโตสปอร์ (Autospore) สปอร์ที่มีรูปร่างลักษณะเหมือนเซลล์แม่ทุกประการ ภายในเซลล์ที่เจริญเต็มวัยแล้ว สามารถพบได้ทั้งในแหล่งน้ำจืด น้ำเค็ม และน้ำเสีย สาหร่าย *Chlorella* sp. มีการจัดลำดับอนุกรมวิธาน ดังนี้

อนุกรมวิธาน (ยวดี, 2549)

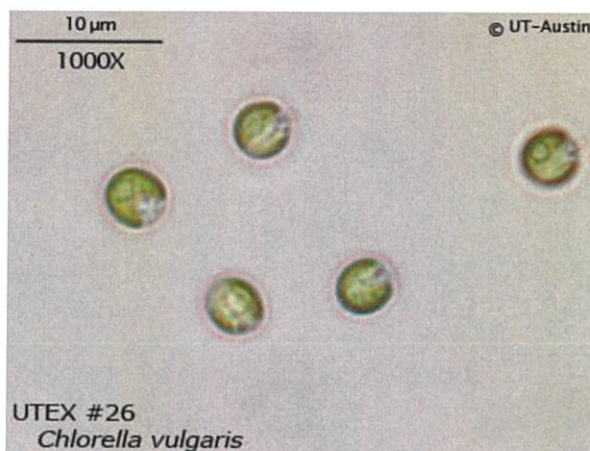
Division: Chlorophyta

Class: Chlorophyceae

Order: Chlorellales

Family: Chlorellaceae

Genus: *Chlorella*



รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Chlorella* sp.
ที่มา: <https://utex.org/products/utex-0026>

สาหร่าย *Chlorella* ได้ถูกพัฒนาให้กลายเป็นหนึ่งในสาหร่ายที่มีการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และสามารถทนต่อสภาวะแปรปรวนที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตได้ (Zhao et al, 2015) ในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา ผลของการรักษาโดยใช้ *Chlorella* ได้รับการรายงานในด้านใช้สมานแผล การดีท็อกซ์ การรักษามะเร็ง การกระตุ้นการเจริญเติบโต และการเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน (Shim et al., 2008) จากการรายงานของกลุ่มงานวิจัยอาหารมีชีวิตสัตว์น้ำจืด สถาบันกลุ่มงานวิจัยอาหารสัตว์น้ำจืด รายงานว่าสาหร่าย *Chlorella* มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบด้วยโปรตีน 60 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 11 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรต 20 เปอร์เซ็นต์ โยอาหาร 0.2 เปอร์เซ็นต์ วิตามินและเกลือแร่ 10 เปอร์เซ็นต์ สารคลอโรฟิลล์ 2 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม เป็นแหล่งอาหารที่ดีของไรแดง โรติเฟอร์ และอาร์ทีเมีย ซึ่งแพลงก์ตอนสัตว์เหล่านี้นิยมใช้เป็นอาหารสำหรับอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน นอกจากนี้ในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่มี *Chlorella* อยู่ด้วย จะช่วยรักษาระบบนิเวศบ่อเลี้ยงให้มีห่วงโซ่อาหารของสัตว์น้ำที่สมดุล ทำให้สัตว์น้ำแข็งแรงและมีอัตราการรอดสูง

2.1.2 สาหร่าย *Scenedesmus* sp.

สาหร่าย *Scenedesmus* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดี่ยว เซลล์มีลักษณะโค้ง เป็นรูปไข่หรือทรงกระบอก ส่วนมากมักพบเซลล์อยู่รวมกัน 2-32 เซลล์ เรียงต่อกันโดยใช้ด้านข้างแตะกัน เซลล์ที่อยู่ริมสุดจะมีหนาม (Spine) ยื่นออกมา อาจมีคลอโรพลาสต์เป็นแผ่นเต็มเซลล์ มีไฟรีโนยด์เป็นอาหารเก็บสะสมไว้และมีนิวเคลียสเซลล์ละ 1 อันเท่ากับจำนวนเซลล์ปกติ พบในแหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหล (ดวงกมล, 2560) สาหร่าย *Scenedesmus* sp. มีการจัดลำดับอนุกรมวิธานดังนี้

อนุกรมวิธาน (ยวดี, 2549)

Division: Chlorophyta

Class: Chlorophyceae

Order: Sphaeropleales

Family: Scenedesmaceae

Genus: *Scenedesmus*



รูปที่ 2.2 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Scenedesmus* sp.

ที่มา:

http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Scenedesmus/quadricauda/sp_01

Singh and Gu (2010) รายงานว่า สาหร่าย *Scenedesmus* เป็นสาหร่ายขนาดเล็กในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวที่มีปริมาณไขมัน 21 เปอร์เซ็นต์ และมีศักยภาพในฐานะของแหล่งผลิตไขมัน นอกจากนี้ผลผลิตอื่นๆที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสาหร่ายยังสามารถไปใช้ประโยชน์ได้อีก ได้แก่ โปรตีนนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์หรืออาหารเสริม คาร์โบไฮเดรตสามารถเปลี่ยนไปเป็นเชื้อเพลิงเอทานอลหรือใช้เพื่อการผลิตกระแสไฟฟ้า ส่วนสารสีที่ได้ เช่นคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ เป็นผลผลิตที่นำไปใช้อุตสาหกรรมยา เป็นต้น (Cheng and Ogden, 2011)

2.1.3 สาหร่าย *Chlamydomonas* sp.

สาหร่าย *Chlamydomonas* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดี่ยว เซลล์เป็นรูปทรงกลมหรือลูกแพร์ ผนังเซลล์ประกอบไปด้วยไกลโคโปรตีน มีจุดตาสีแดง (Eye spot / Stigma) เพื่อทำหน้าที่รับแสง และมีแฟลเจลลา 2 เส้นเพื่อช่วยในการเคลื่อนที่ มีคลอโรพลาสต์ขนาดรูปถ้วยขนาดใหญ่ และมีไพรีนอยด์มีไพรีนอยด์เป็นอาหารเก็บสะสมไว้อยู่ภายในเซลล์ สามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ (Christensen, 1962, 1966) สาหร่าย *Chlamydomonas* sp. มีการจัดลำดับอนุกรมวิธาน ดังนี้

อนุกรมวิธาน (ยวดี, 2549)

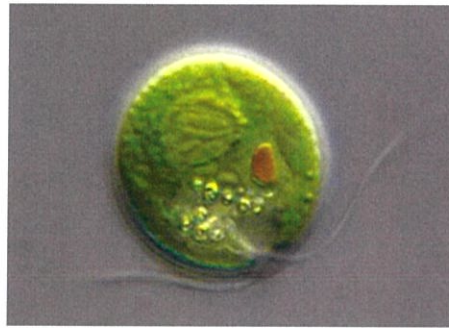
Division: Chlorophyta

Class: Chlorophyceae

Order: Chlamydomonadales

Family: Chlamydomonadales

Genus: *Chlamydomonas*



รูปที่ 2.3 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Chlamydomonas* sp.

ที่มา: <https://th.ilovevaquero.com/obrazovanie/88507-strukturnye-osobennosti-i-stroenie-hlamidomonady.html>

สาหร่าย *Chlamydomonas* มีบทบาทสำคัญในงานวิจัยด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นงานวิจัยเกี่ยวกับการสังเคราะห์แสง การสร้างคลอโรพลาสต์ กลไกการทำงานของแฟลกเจลลา การซ่อมแซมดีเอ็นเอ และการพัฒนาแหล่งไบโอดีเซล หรือพลังงานไฮโดรเจนที่กำลังมีบทบาทสำคัญมากขึ้น ในยุคที่กำลังวิจัยและพัฒนาพลังงานทางเลือก (อัญชลี, 2011) Renukadevi et al. (2011) ได้ทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสาหร่ายชนิดนี้ พบว่าสารสกัดจากสาหร่ายชนิดนี้ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่อาจนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมยาได้ในอนาคต

2.1.4 สาหร่าย *Chlorococcum* sp.

สาหร่าย *Chlorococcum* sp. เป็นสาหร่ายสีเขียวเซลล์เดี่ยว เซลล์มีรูปเป็นทรงกลมรี และมีผนังเซลล์เรียบ เคลื่อนที่ไม่ได้ มีสารพวกเจลาตินห่อหุ้มเซลล์อยู่ มีคลอโรพลาสต์เป็นรูปถ้วยเกือบเต็มเซลล์ พบได้ตามแหล่งน้ำจืด และสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะรุนแรง (อุณหภูมิ, พีเอช) สามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ โดยซุโอสปอร์ (Zoospore) และอะพลาโนสปอร์ (Aplanospores) ที่เกิดจากการแบ่งตัวของโพโทพลาสซึม และการรวมตัวของไอโซแกมีต (Isogametes) (Xin et al., 2017) สาหร่าย *Chlorococcum* sp. มีการจัดลำดับอนุกรมวิธานดังนี้

อนุกรมวิธาน (ยวดี, 2549)

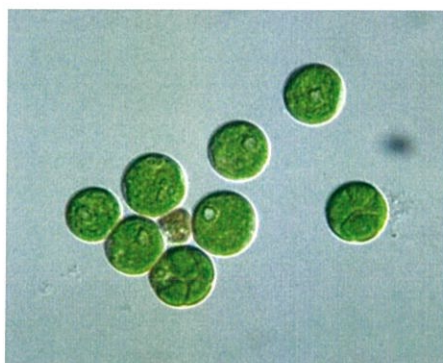
Division: Chlorophyta

Class: Chlorophyceae

Order: Chlorococcales

Family: Chlorococcaceae

Genus: *Chlorococcum*



รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Chlorococcum* sp.

ที่มา: http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Chlorococcum/sp_1c.html

จากงานวิจัยของ Bhagavathy et al. (2011) ได้ทำการทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorococcum* เพื่อวิเคราะห์ความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและบทบาทของสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา พบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Chlorococcum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของสารจะพบว่ามีสารประกอบ ฟีนอลิก ลิโปฟิลิก โปรตีน และโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งเป็นสารที่พบได้บ่อยในการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายอื่นๆ

2.2 ปลานิล

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) จัดเป็นปลาน้ำจืดในตระกูลซิคลิดี (*Cichlidae*) ซึ่งอยู่ในตระกูลเดียวกันกับปลาหมอสีและปลาหมอเทศ มีถิ่นกำเนิดจากทวีปแอฟริกา ปลานิลมีลักษณะลำตัวสีเขียวปนน้ำตาล มีครีบหลัง 1 ครีบ และมีก้านครีบอ่อนและก้านครีบแข็งจำนวนมาก เกล็ดกลางลำตัวมีสีเข้ม ริมฝีปากบนและล่างเท่ากัน และมีจุดสีขาวกับเส้นสีดำที่ครีบก้นและครีบทัดกัน (ชวนพิศและเกวลิน, 2552) ปลานิลจัดเป็นปลาเศรษฐกิจของประเทศไทย เนื่องจากเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว เมื่อมีรสชาติดี เป็นที่นิยมบริโภคกันอย่างกว้างขวาง จึงทำให้ปลานิลถูกเพาะเลี้ยงเป็นภาคอุตสาหกรรมมากขึ้นในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา จากรายงานสถิติการประมงแห่ง

ประเทศไทยปี 2556 พบว่า ปลานิลมีการเพาะเลี้ยงและให้ผลผลิตต่อปีมากที่สุดของปริมาณสัตว์น้ำจืดทั้งหมด โดยผลิตได้มากถึง 217,600 ตัน คิดเป็นมูลค่ารวมทั้งสิ้น 10805.6 ล้านบาท (พนม, 2559) และมีปริมาณการส่งออกปลานิลในรูปแบบต่างๆจากประเทศไทยในช่วงไตรมาสแรกของปี 2555 เป็นจำนวนทั้งสิ้น 1,124.3 ตัน รวมมูลค่าทั้งสิ้น 43.6 ล้านบาท โดยนิยมส่งออกในรูปแบบปลานิลทั้งตัวแช่แข็ง เนื้อปลานิลแบบฟิลเล่ และเนื้อปลานิลสดแช่เย็น (เกวลิน, 2555)

ปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงปลานิลมากขึ้นจนกลายเป็นภาคอุตสาหกรรมเพื่อตอบสนองความต้องการของตลาด จนทำให้เกิดปัญหาต่างๆ ที่อาจส่งผลกระทบต่อ การเจริญและก่อให้เกิดโรคในปลานิล ได้แก่ ความหนาแน่นของจำนวนปลานิลที่มากเกินไปเมื่อเทียบกับพื้นที่เพาะเลี้ยง สภาพอากาศที่แปรปรวน สภาพแวดล้อมของพื้นที่เพาะเลี้ยงที่ไม่ถูกสุขลักษณะ และเกิดการสะสมของเสียพวกสารอินทรีย์เป็นจำนวนมาก ทำให้ปลานิลที่เพาะเลี้ยงมีสภาวะเครียด และอ่อนแอจากสาเหตุต่างๆ จนทำให้เกิดการติดเชื้อจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆได้ง่ายขึ้น ไม่ว่าจะเป็นเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา โปรโตซัว และปรสิตต่างๆ โดยเฉพาะการติดเชื้อจากแบคทีเรีย ซึ่งส่งผลกระทบต่อ การเพาะเลี้ยงปลานิลในประเทศไทยเป็นอย่างมาก



รูปที่ 2.5 แสดงลักษณะปลานิล
ที่มา: <http://www.forfarm.co/98>

2.3 เชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลานิล

การติดเชื้อจากแบคทีเรีย เป็นสาเหตุสำคัญและพบได้มากในการเลี้ยงปลานิล เนื่องจากมีการเลี้ยงที่มากขึ้นจนกลายเป็นอุตสาหกรรม ทำให้การเลี้ยงปลาอยู่ในสภาพหนาแน่น มีสุขาภิบาลที่ไม่เหมาะสม สภาพอากาศที่เปลี่ยนแปลงไป บาดเจ็บจากการขนส่งหรือเคลื่อนย้าย จนทำให้ปลาเกิดอาการเครียด ภูมิคุ้มกันต่ำลง และเกิดการติดเชื้อต่างๆขึ้นได้ ลักษณะการติดเชื้อทางแบคทีเรียจะคล้ายๆกัน จะมีอาการตกเลือด มีแผลตามตัว ครีบกร่อน กกหุบวม มีน้ำในช่องท้อง ไม่กินอาหาร โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่พบบ่อยมี 2 ชนิด ได้แก่

2.3.1 *Aeromonas hydrophila*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ อยู่ในวงศ์แอโรโมนาดาซีอี (Family: Aeromonadaceae) รูปร่างท่อน (Rod-shaped) มีขนาดกว้าง 0.7-0.8 ไมโครเมตร และยาว 1.0-1.5 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ มีแฟลกเจลล่าและพิโลช่วยเคลื่อนที่และยึดเกาะผิวเซลล์หรือสิ่งแวดล้อมที่มันอาศัยอยู่ สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแบ่งเซลล์เป็น 2 ส่วน (Binary fission) เจริญได้ในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobic) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในระหว่าง 25 – 30 องศาเซลเซียส และเจริญได้ในพีเอช 5.5-9.0 ส่วนใหญ่จะพบแบคทีเรียนี้ในแหล่งน้ำที่มีสารอินทรีย์สูง สามารถก่อโรคได้ในคนและในปลาเพราะมีเอ็นที่สร้างสารพิษแอโรไลซิน (Aerolysin) ทำให้เกิดการแตกตัวของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เนื้อเยื่อถูกทำลายและเน่าเปื่อยที่บริเวณหางหรือครีบปลา เกิดการตกเลือด ติดเชื้อที่ตับและไต โดยส่วนใหญ่แล้วแบคทีเรียชนิดนี้จะชอบอยู่ในทางเดินอาหารของปลา

โรคที่เกิดจากเชื้อแอโรโมนาส (*Aeromonas hydrophila*) เป็นโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจมากในการเลี้ยงปลาดุก ปลานิล กบ และปลาน้ำจืดอื่นๆ และพบได้บ่อยในแหล่งเพาะเลี้ยงที่ให้อาหารสด หรือการเลี้ยงแบบผสมผสาน ซึ่งเชื้อตัวนี้จะอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำอยู่แล้ว โดยเฉพาะแหล่งที่มีสารอินทรีย์ปริมาณสูง ปริมาณออกซิเจนต่ำ ความเครียดจากการขนส่งหรือการเคลื่อนย้าย การให้อาหารที่ไม่ดี การมีปรสิตเกาะเยาะๆ ล้วนเป็นสาเหตุให้ปลาเกิดการติดเชื้อขึ้นได้ (ชนกันต์, 2548)



รูปที่ 2.6 แสดงลักษณะปลานิลที่ติดเชื้อ *Aeromonas hydrophila*

ที่มา: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926417304873>

2.3.2 *Streptococcus agalactiae*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม (Cocci) หรือรี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6-1.2 ไมโครเมตร ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ มักพบอยู่เป็นคู่หรือเป็นสาย แบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญได้ในสภาพทั้งที่มีและไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobic) ไม่สร้างเอนไซม์คะตาเลส เชื้อแบคทีเรียนี้ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม Streptococcus กลุ่ม B ตามการจัดจำแนกแบบ Lancefield

classification (การจัดกลุ่มโดยวิธีทาง Serological ตามแอนติเจนที่ปรากฏบนผนังเซลล์แบคทีเรีย) (Josh Slater, 2007) สามารถสร้างสารพิษเบต้าฮีโมไลซิน (β -hemolysin) ทำลายเซลล์เม็ดเลือดแดงได้ เกิดได้ทั้งในปลาน้ำจืดและปลาน้ำเค็ม เมื่อมีการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ จะเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด มีอาการตาโปนและขุ่นขาว มีจุดหรือปื้นเลือดออกที่ครีบน้ำมูกน้อยว่ายน้ำ ลอยนิ่ง ช่องขับถ่ายบวมแดง มีการระบาศรุนแรงในช่วงหน้าร้อน สามารถทำให้ปลาตายจำนวนมากในเวลาอันสั้นหากมีการติดเชื้อรุนแรง สามารถติดต่อไปสู่คนได้ โดยในคนจะเกิดเนื้อเยื่อผิวหนังอักเสบ (Cellulitis) ที่มีมือ แต่ถ้ามีการติดเชื้อในกระแสเลือด จะเกิดเยื่อหัวใจอักเสบได้ (Endocarditis)

โรคติดเชื้อแบคทีเรียสเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus* sp.) มักจะระบาศรุนแรงในช่วงหน้าร้อน สามารถทำให้ปลาตายจำนวนมากในเวลาอันสั้นหากมีการติดเชื้อรุนแรง อย่างไรก็ตามมีรายงานการวิจัยหลายชิ้นที่กำลังพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ นิลุบลและคณะ (2549) ทดลองให้วัคซีนเชื้อตายแก่ปลานิลที่เลี้ยงในกระชังในแม่น้ำชี จังหวัดมหาสารคาม พบว่า ปลาที่ได้รับวัคซีนมีอัตราการรอดสูงกว่าปลาที่ไม่ได้รับวัคซีน



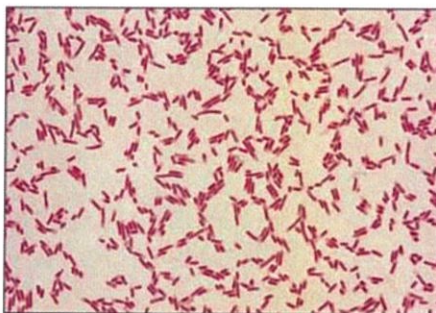
รูปที่ 2.7 แสดงลักษณะปลานิลที่ติดเชื้อ *Streptococcus agalactiae*

ที่มา: <https://www.otopmidyear.com/page-62.php>

โรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียมักจะเป็นการติดเชื้อภายใน ซึ่งต้องรักษาด้วยอาหารผสมยาปฏิชีวนะ โดยทั่วไป ปลาที่ติดเชื้อแบคทีเรียจะมีอาการตกเลือด หรือเป็นแผลบริเวณผิวหนังลำตัว รอบตา และปาก บางครั้งจะพบว่ามีอาการท้องบวม ตาโปน กลุ่มยาที่ใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ ออกซิเตตราไซคลิน เตตราไซคลิน ออกโซลินิคแอซิด (Oxolinic acid) นาลิดิกแอซิด (Nalidixic acid) และซัลฟาเมทออกซินหรือไตรเมทโทพริม (Sulfamethoxin / Trimethoprim) ควรใช้ยาติดต่อกัน 5-14 วันแล้วแต่ชนิดของยา อย่างไรก็ตาม ไม่ควรใช้ยาด้านจุลชีพในการป้องกันโรคมักนัก เพราะจะทำให้เกิดการดื้อยา ควรหยุดใช้ยาอย่างน้อย 21 วันก่อนจับขาย เพื่อไม่ให้ยาเกิดการตกค้างในสัตว์น้ำ

2.3.3 *Escherichia coli*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่ง (Rod shape) มีขนาดยาวตั้งแต่ 2.0-6.0 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ มีแฟลกเจลลาช่วยในการเคลื่อนที่ สามารถเจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobe) สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติและในลำไส้ของสัตว์ มีแคปซูล (Capsule) บางๆ ห่อหุ้มอยู่ จึงทำให้เชื้อแบคทีเรียนี้ทนต่อสภาวะต่างๆ ได้ดี



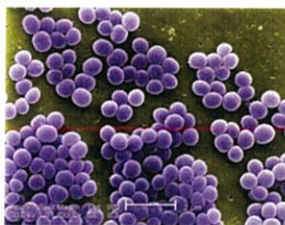
รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะเชื้อ *Escherichia coli*

ที่มา: <https://foodconsulting.co.za/an-introduction-to-escherichia-coli/>

Escherichia coli ส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น (Normal flora) ที่พบบ่อยในบริเวณลำไส้ของคนและสัตว์ โดยส่วนใหญ่ไม่ก่อโรค แต่จะมีบางสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ เมื่อเชื้อชนิดนี้เข้าสู่ระบบของร่างกายทั้งในคนและสัตว์ ได้แก่ โรคทางเดินอาหาร โรคอุจจาระร่วง เกิดเยื่อช่องท้องอักเสบ แผลติดเชื้อ ติดเชื้อในกระแสเลือด ไตเกิดการติดเชื้อ จนอาจไตวายเนื่องจากการติดเชื้ออย่างรุนแรง (Eisentein and Farmer, 1995) ในการรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *Escherichia coli* ต้องใช้ยาปฏิชีวนะที่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งต่อเชื้อชนิดนี้โดยตรง เช่น ยาแอมพิซิลลิน (Ampicillin) และ กานามัยซิน (Kanamycin)

2.3.4 *Staphylococcus aureus*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม มีขนาด 1 ไมโครเมตร เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ไม่สร้างสปอร์และไม่เคลื่อนที่ สามารถเจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobe) *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียสำคัญที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อที่ผิวหนัง เกิดฝีหนอง และแผลติดเชื้อจากการผ่าตัด



รูปที่ 2.9 แสดงลักษณะเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ที่มา: <http://articles.extension.org/pages/28432/staphylococcus-aureus>

Staphylococcus aureus สามารถสร้างเอนไซม์โปรตีเอส (Protease) ที่เร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์โปรตีน ทำให้เกิดการย่อยที่ผิวหนังชั้นอีพิเดอมิส (Epidermis) และสามารถสร้างเอนไซม์โคแอกกูเลส (Coagulase) ทำให้เลือดเกิดการแข็งตัว โดยเปลี่ยนไฟบริโนเจน (Fibrinogen) ให้เป็นไฟบริน (Fibrin) เคลือบบนผนังเซลล์ของแบคทีเรียเพื่อป้องกันตัวจากเม็ดเลือดขาว ทำให้เส้นเลือดอุดตันได้ และยังสร้างสารพิษอัลฟาทอกซิน (Alpha toxin) ทำลายเซลล์เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือด ให้เป็นรูจันเซลล์แตกได้ (ศรียาญจนา, ม.ป.ป.)

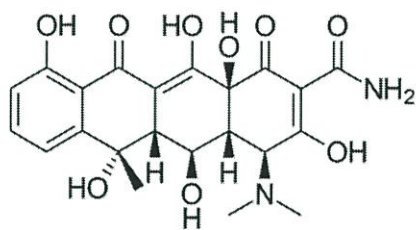
ทศพล และคณะ (ม.ป.ป.) ได้ทำการสุ่มตัวอย่างปลานิลบริเวณลำน้ำพองเพื่อเก็บตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียจากเหงือกและไต โดยพบเชื้อ *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophilla* และ *Streptococcus agalactiae* ที่เหงือกในปลานิลปกติ และพบเชื้อ *Aeromonas hydrophilla*, *Escherichia coli* และ *Streptococcus agalactiae* ที่เหงือกในปลานิลป่วย ส่วนการพบเชื้อที่ไตในปลานิลปกติ จะพบเชื้อ *Escherichia coli* และ *Streptococcus agalactiae* และพบเชื้อ *Escherichia coli* และ *Streptococcus agalactiae* ที่ไตในปลานิลป่วย

2.4 ยาปฏิชีวนะที่ใช้รักษาโรคในปลานิล

ยาปฏิชีวนะ หมายถึง ยาที่ได้จากสารที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ แล้วสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคได้ ส่วนใหญ่จะออกฤทธิ์โดยการทำลายผนังเซลล์หรือเยื่อหุ้มเซลล์ ยับยั้งการสร้างโปรตีน และยับยั้งระบบเมตาบอลิซึม (Metabolism) ของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ซึ่งจะแตกต่างกันตามชนิดของสารและจุลินทรีย์ที่ผลิต กลไกการออกฤทธิ์ของยา รวมทั้งความรุนแรงของโรคที่รักษา (พนาวรรณ, 2554) สำหรับการรักษาโรคในปลานิล มักจะนิยมใช้ยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งได้ทั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ มีด้วยกัน 3 ชนิด คือ ออกซีเตตราไซคลิน (Oxytetracycline) เอนโรฟลอคซาซิน (Enrofloxacin) และ อะม็อกซิซิลลิน (Amoxicillin) (อักษร, 2560, ชนกันต์, 2556)

2.4.1 ออกซีเตตราไซคลิน (Oxytetracycline)

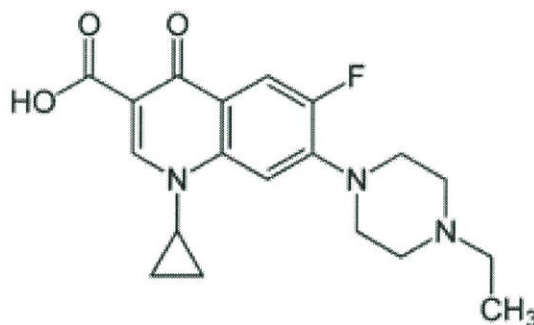
เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่มเตตราไซคลิน (Tetracycline) มีสูตรโมเลกุล $C_{22}H_{24}N_2O_9$ และน้ำหนักโมเลกุล 460.434 กรัมต่อโมล เป็นหนึ่งในยาปฏิชีวนะที่นิยมใช้กันมากที่สุดในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Rigos and Troisi, 2005) สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งได้ทั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ โดยการรวมตัวกับไรโบโซมของเซลล์แบคทีเรีย เพื่อหยุดกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนและขัดขวางการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Medthai, 2017)



รูปที่ 2.10 แสดงโครงสร้างเคมีของออกซีเตตราไซคลิน
ที่มา: <https://en.wikipedia.org/wiki/Oxytetracycline>

2.4.2 เอนโรฟลอกซาซิน (Enrofloxacin)

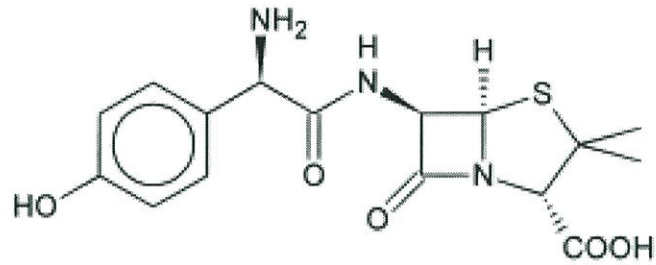
เป็นยาปฏิชีวนะที่ได้จากการสังเคราะห์ในกลุ่มควิโนโลน (Quinolones) มีสูตรโมเลกุล $C_{19}H_{22}FN_3O_3$ และน้ำหนักโมเลกุล 359.4 กรัมต่อโมล ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ สามารถละลายในไขมันได้ดี ทำให้ดูดซึมเข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์ได้ง่ายและรวดเร็ว จากนั้นตัวยาคจะซึมเข้ากระแสเลือดและกระจายไปยังเนื้อเยื่อส่วนต่างๆได้ (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 303 (2550ข))



รูปที่ 2.11 แสดงโครงสร้างเคมีของเอนโรฟลอกซาซิน
ที่มา: <https://en.wikipedia.org/wiki/Enrofloxacin>

2.4.3 อะม็อกซิซิลลิน (Amoxicillin)

เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่มเพนิซิลลิน (Penicillins) มีสูตรโมเลกุล $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ และน้ำหนักโมเลกุล 365.4 กรัมต่อโมล สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ นิยมใช้รักษาโรคติดเชื้อของอวัยวะ เช่น หูชั้นกลางอักเสบเฉียบพลัน และผิวหนังมีแผลเปื่อย ออกฤทธิ์โดยการทำลายผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย (Medthai, 2017)



รูปที่ 2.12 แสดงโครงสร้างเคมีของอะม็อกซิซิลลิน
ที่มา: <https://th.wikipedia.org/wiki/Amoxicillin>

จากงานวิจัยของวินา (2556) ได้ทดลองสกัดสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A0505 ที่สกัดด้วยเมทานอล เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และไดคลอโรมีเทน เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 4 ชนิด คือ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* และ *Bacillus cereus* พบว่า สารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A0505 ที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทนสามารถให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ดีที่สุด

จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. N11-59 และ *Chlamydomonas* sp. B1-59 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *Streptococcus agalactiae* และเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นเชื้อประจำถิ่น (Normal flora) แต่อย่างไรก็ตามก็เคยพบเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ในการก่อโรค ดังนั้นการใช้สารสกัดจากสาหร่ายสายพันธุ์ดังกล่าวจึงน่าจะช่วยลดการติดเชื้อและความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้

ในการทดลอง ควรบ่มเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เพราะเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบในครั้งนี้เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์น้ำ

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการทดลอง

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ยาปฏิชีวนะออกซิเตตราไซคลิน (Oxytetracycline) ; L.A. EAF ปริมาตร 20 กรัม ต่อ100 มิลลิลิตร
2. สารไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) ; AnalaR NORMAPUR ® : analytical reagent ≥ ร้อยละ 99.5
3. ไดมethylซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide) ; SIGMA-ALDRICH : Guarantee analysis ≥ ร้อยละ 99
4. อาหารสูตร BG-11 (ภาคผนวก ก.1)
5. อาหารสูตร Tryptic soy agar (ภาคผนวก ก.2)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ; Olympus : CH30
2. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ; Hermele : Z36HK
3. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ; WTB binder : DE53
4. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ; Hiriyama: Hiclave
5. ตู้บ่มเพาะเลี้ยงเชื้อ (Incubator) ; Memmert: ULE 800
6. เครื่องเขย่า (Orbital shaker) ; Gallenkamp: SH0400
7. ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar air flow) ; M-tech: Cleanline BS-120
8. แผ่นทดสอบ (Filter paper disc) Himedia ขนาด 6 มิลลิเมตร
9. เครื่องซังสารแบบใช้ไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง ; Adventure: AR2140
10. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ; Shimadzu: UV 1280
11. เครื่องกลั่นระเหยสารแบบลดความดัน (Rotary evaporator) ; Heidolph: Hei-VAP
12. เครื่องอ่านค่าไมโครเพลท (Microplate reader) ; Biochrom: EZ Read 2000
13. ภาชนะไมโครเพลท 96 หลุม (96-Well Microplates) ; Nunc™ : MicroWell™ 96-Well Microplates
14. ชุดเพาะเลี้ยงสาหร่ายแบบเป่าให้อากาศ
15. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น พลาสติกแก้ว หลอดทดลอง ปิเปต ปีกเกอร์ ข้อนดักสาร จานเพาะเลี้ยงเชื้อ ลูบเขี่ยเชื้อ กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ไมโครปิเปต หลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์

3.2 วิธีดำเนินการทดลอง

3.2.1 จุลินทรีย์

สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กที่ใช้ในการทดลองจากห้องปฏิบัติการ 11 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 3, *Chlorella* sp. 5, *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. A, *Chlorella* sp. N11-59, *Chlorococcum* sp. AB1, *Chlorococcum* sp. Unknown A, *Chlamydomonas* sp. B1-59, *Chlamydomonas* sp. P และ *Scenedesmus* sp. F14

แบคทีเรียก่อโรค 4 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ที่ได้รับอนุเคราะห์จากภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2.2 การเตรียมหัวเชื้อสาหร่ายและการเพาะเลี้ยง

(1.) การเตรียมหัวเชื้อสาหร่าย

เตรียมหัวเชื้อสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กทั้ง 11 สายพันธุ์ ในอาหารเหลวสูตร BG-11 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บรรจุในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นใช้ลูปเขี่ยเชื้อถ่ายตัวอย่างสาหร่ายจากหลอดอาหารเอียง 1-2 ลูป ลงในฟลาสก์อาหารเหลวที่เตรียมไว้ นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ให้แสงสว่างและเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาทีตลอดเวลา จนกระทั่งสาหร่ายเจริญและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรได้ 0.3-0.5 จึงนำไปเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณต่อไป

(2.) การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณสาหร่าย

นำหัวเชื้อสาหร่ายที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรได้ 0.5 ที่เตรียมไว้ทั้ง 11 สายพันธุ์ ไปเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในถังเพาะเลี้ยงสาหร่าย ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ลงในถังเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีอาหารเหลวสูตร BG-11 ปริมาตร 4 ลิตร ให้อากาศโดยใช้เครื่องเป่าให้อากาศ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง และให้แสงสว่างที่ 5,000 ลักซ์ตลอดเวลา ทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายเพื่อวัดการเจริญของสาหร่ายในทุก 2 วันของการเพาะเลี้ยง จนกระทั่งสาหร่ายเจริญอยู่ในระยะการเจริญคงตัว (Stationary phase) จึงทำการเก็บเกี่ยวเซลล์สาหร่ายเพื่อนำไปทำสารสกัดในขั้นตอนต่อไป

3.2.3 การศึกษาการเจริญของสาหร่าย

เก็บตัวอย่างสาหร่ายในถังเพาะเลี้ยงจากข้อ 3.2.2 (2.) ทุก 2 วันๆละ 5 มิลลิลิตร จนสาหร่ายเข้าสู่ระยะการเจริญคงตัวเพื่อวัดการเจริญ โดยการวัดความหนาแน่นของเซลล์ จำนวนเซลล์ และน้ำหนักเซลล์แห่งดังนี้

การวัดค่าความหนาแน่นของเซลล์ โดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาว คลื่น 560 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง

นับจำนวนเซลล์ด้วยสไลด์ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemocytometer)

วัดน้ำหนักเซลล์แห้งโดยนำตัวอย่างสาหร่ายปริมาตร 1 มิลลิลิตร ไปปั่นเหวี่ยง ให้เซลล์ตกตะกอน จากนั้นนำไปอบที่ตู้อบลมร้อน 70 องศาเซลเซียส และชั่งน้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้ออกมา

วิเคราะห์อัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่าย

3.2.4 การศึกษาปริมาณสารสกัดจากสาหร่ายที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

นำเซลล์สาหร่ายที่เก็บเกี่ยวได้จากข้อ 3.2.2 (2.) มาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที และอบเซลล์ให้แห้งที่ตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นบดให้ละเอียดโดยใช้โกร่งบด นำเซลล์สาหร่ายที่บดแล้วมาสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนในอัตราส่วนสาหร่าย 1 กรัม : ไดคลอโรมีเทน 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองแยกส่วนใสและตะกอนเซลล์ออกจากกันด้วยชุดเครื่องกรองระบบสุญญากาศ นำส่วนใสไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสารแบบลดความดันที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ชั่งน้ำหนักและบันทึกผลน้ำหนักของสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 11 สายพันธุ์ แล้วนำไคเมทิลซัลฟอกไซด์มาละลายกับสารสกัดสาหร่ายที่ได้ในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ ให้มีความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

3.2.5 การศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคด้วยสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 11 สายพันธุ์

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ใช้ทดสอบ

เตรียมอาหารสูตร Tryptic soy agar ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และเทอาหารใส่จานเพาะเชื้อ ทิ้งไว้จนอาหารแข็ง จากนั้นเตรียมสารแขวนลอยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด คือ *E. coli*, *A. hydrophila*, *Stap. aureus* และ *Strep. agalactiae* นำมาเจือจางในน้ำกลั่น แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ให้ได้ค่าเท่ากับ 0.3 จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งที่เตรียมไว้โดยวิธี Spread plate

การเตรียมแผ่นทดสอบ

เตรียมสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 11 สายพันธุ์ ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (30 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ) และเตรียมแผ่นทดสอบที่เป็นตัวควบคุม ด้วยตัวทำละลายไคเมทิลซัลฟอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 99 และยาปฏิชีวนะออกซิเตตราไซคลิน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม (30 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ) ตามลำดับ

(1.) การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคด้วยวิธี Agar disc diffusion

นำแผ่นทดสอบที่เตรียมไว้ มาวางบนผิวหน้าอาหารแข็งที่ได้ Spread plate ด้วยเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบ 4 ชนิด คือ *E. coli*, *A. hydrophila*, *Stap. aureus* และ *Strep. agalactiae* บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ ตรวจสอบผลการยับยั้งการเจริญโดยการวัดขนาดของบริเวณยับยั้ง

(2.) การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสาหร่ายที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (Minimal inhibitory concentration : MIC)

เตรียมสารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 11 สายพันธุ์ ให้มีความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25 และ 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ลงบนภาดไมโครเพลท 96 หลุม แล้วเติมเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบ 4 ชนิด คือ *E. coli*, *A. hydrophila*, *Stap. aureus* และ *Strep. agalactiae* หลุมละ 50 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นอ่านผลค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำที่สุดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยเครื่องอ่านภาดไมโครเพลท (ชิตเวตและคณะ, 2548)

(3.) การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสาหร่ายที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum bactericidal concentration : MBC)

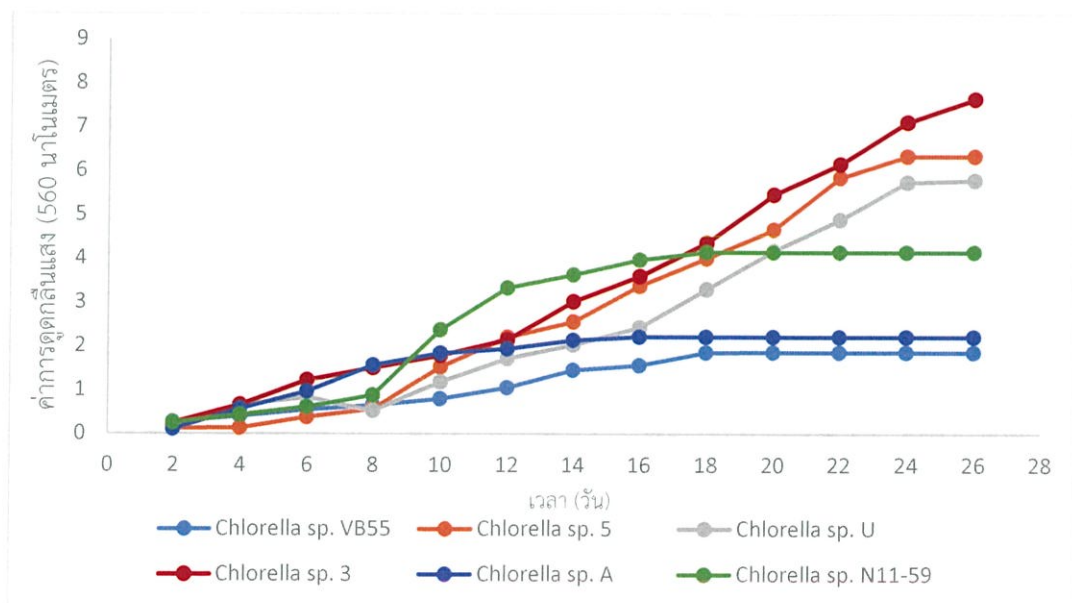
นำสารสกัดสาหร่ายที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากข้อ 3.2.5 (2.) ทั้ง 11 สายพันธุ์ มาทำการเพาะเชื้อต่อบนอาหารแข็ง Tryptic soy agar ด้วยวิธี Spread plate ตรวจสอบผลการเกิดโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ

บทที่ 4

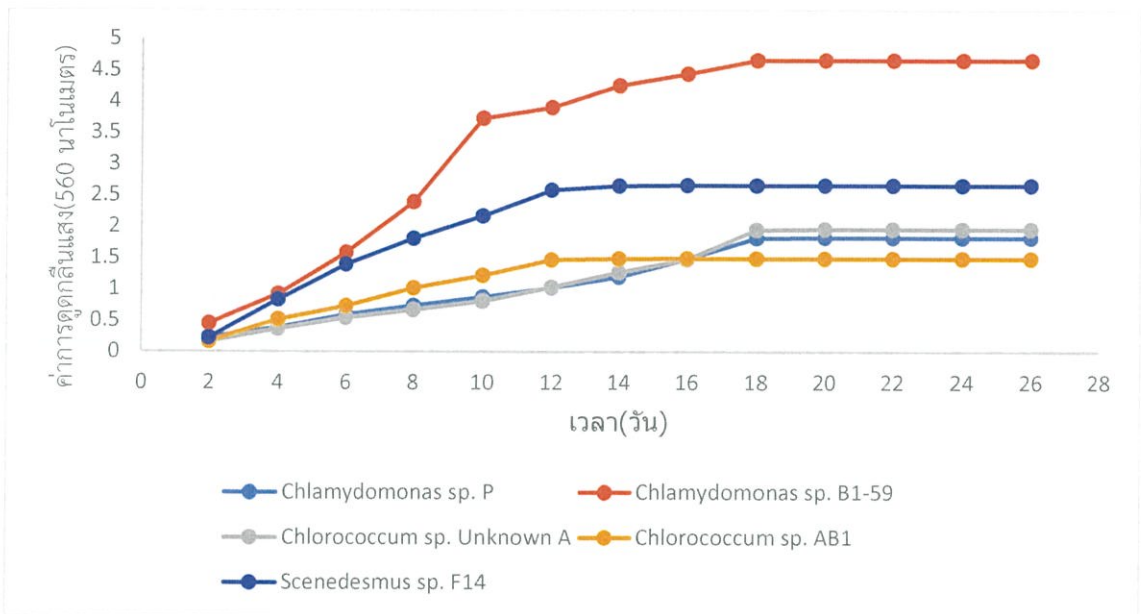
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการศึกษาการเจริญของสาหร่าย

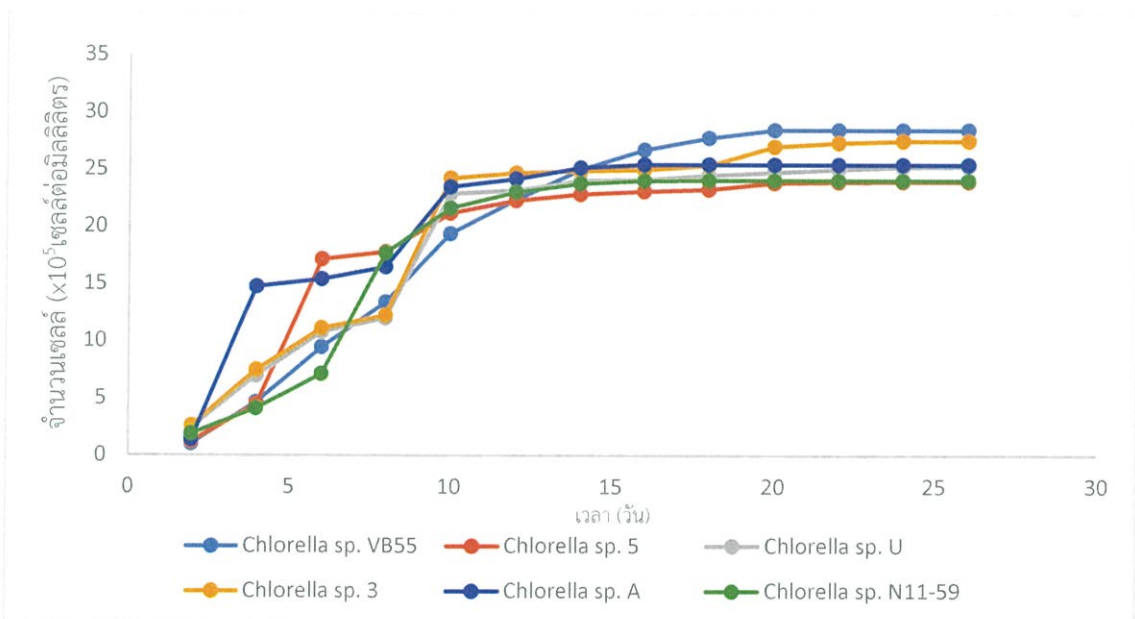
การวัดการเจริญของสาหร่ายโดยการวัดการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร การนับจำนวนเซลล์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ และการชั่งน้ำหนักแห้ง โดยการวัดการเจริญทั้ง 3 วิธี พบว่า สาหร่ายที่เข้าสู่ระยะการเจริญคงตัวได้เร็วที่สุดคือ *Chlorella* sp. A, *Scenedesmus* sp. F14 และ *Chlorococcum* sp. AB1 ที่เข้าสู่ระยะการเจริญคงตัว ในวันที่ 16 ของการทดลอง รองลงมาคือ *Chlamydomonas* sp. B1-59 และ *Chlorella* sp. N11-59 เข้าสู่ระยะการเจริญคงตัวในวันที่ 18 ของการทดลอง *Chlorella* sp. VB55, *Chlamydomonas* sp. P, และ *Chlorococcum* sp. UnknownA ที่เข้าสู่ระยะการเจริญคงตัวในวันที่ 20 ของการทดลอง *Chlorella* sp. 5 เข้าสู่ระยะการเจริญคงตัวในวันที่ 24 ของการทดลอง และลำดับสุดท้ายคือ *Chlorella* sp. U และ *Chlorella* sp. 3 เข้าสู่ระยะการเจริญคงตัวในวันที่ 26 ของการทดลอง ดังแสดงในรูป 4.1 - 4.6 จากการทดลองของยวดี และคณะ(2557) พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp., *Chlamydomonas* sp. และ *Scenedesmus* sp. ที่เพาะเลี้ยงโดยอาหารสูตร N-8 มีค่าการเจริญเข้าสู่ระยะคงตัว (Stationary phase) ตั้งแต่วันที่ 10 ของการทดลอง ซึ่งใช้ระยะเวลาที่สั้นกว่า อาจเป็นผลมาจากสูตรอาหารที่แตกต่างกัน



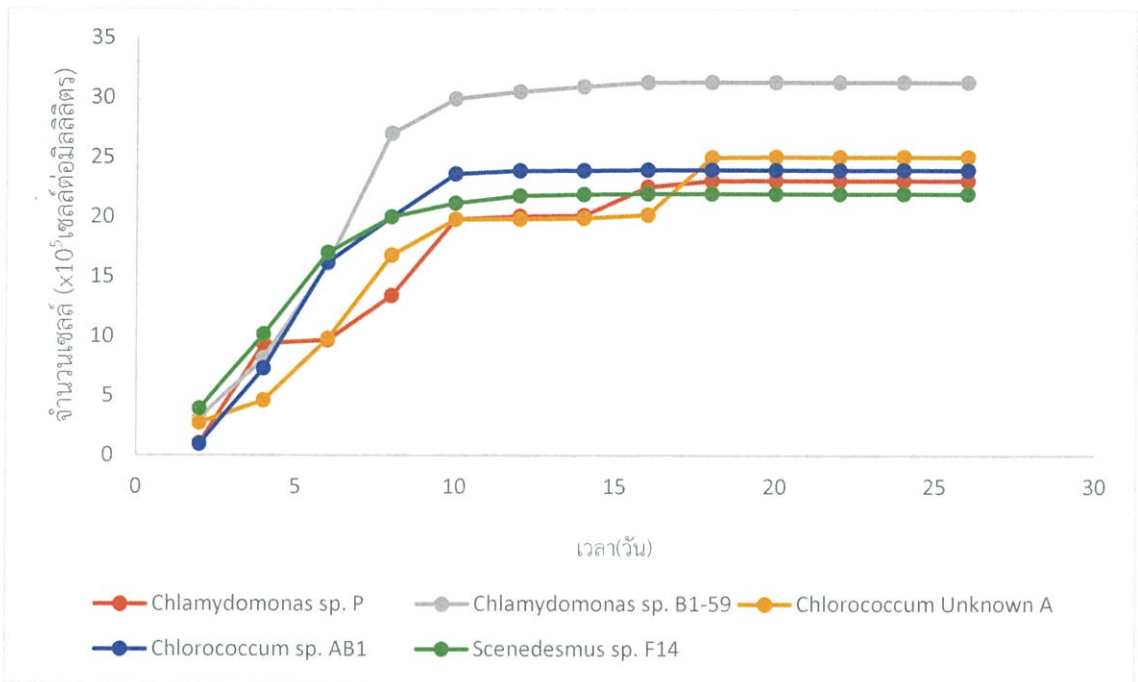
รูปที่ 4.1 ค่าการดูดกลืนแสง (ที่ 560 นาโนเมตร) ของสาหร่าย *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. 5, *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 3, *Chlorella* sp. A, *Chlorella* sp. N11-59



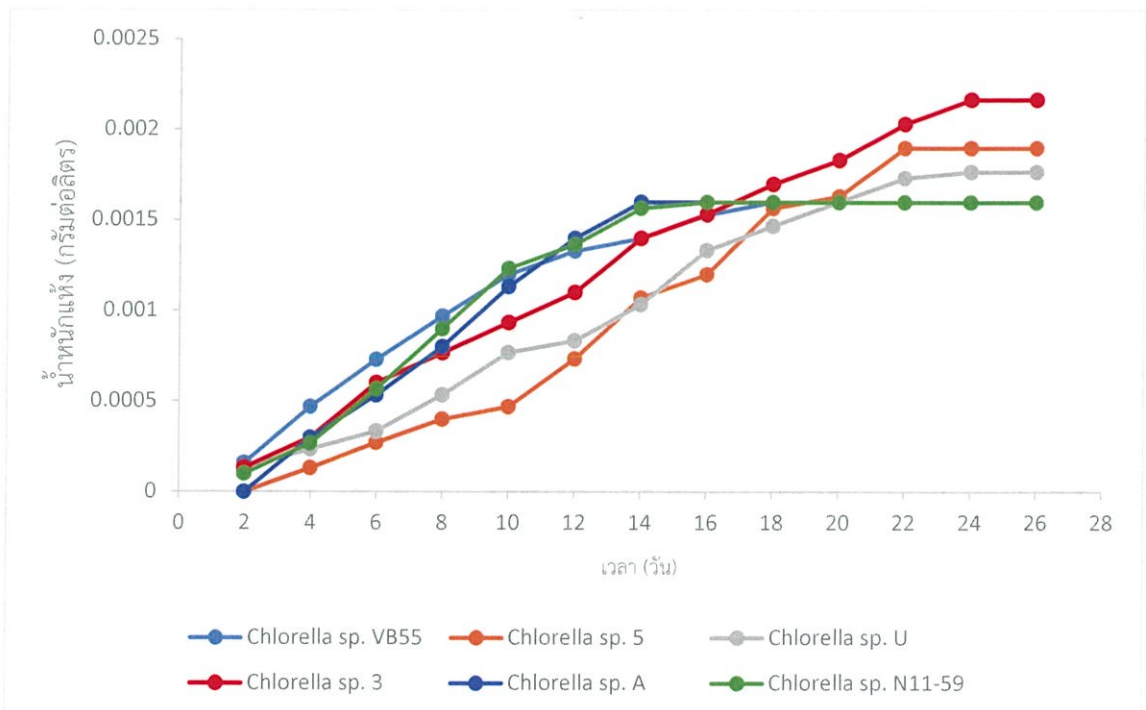
รูปที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสง (ที่560 นาโนเมตร) ของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P, *Chlamydomonas* sp. B1-59, *Chlorococcum* sp. UnknownA, *Chlorococcum* sp. AB1 และ *Scenedesmus* sp. F14



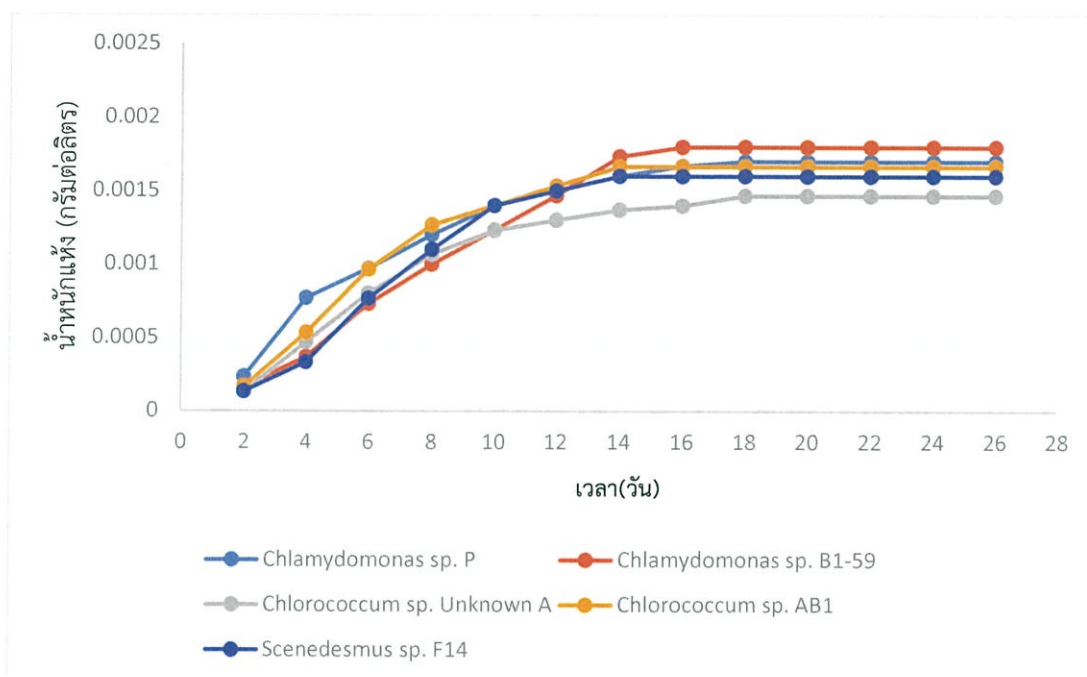
รูปที่ 4.3 จำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. 5, *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 3, *Chlorella* sp. A และ *Chlorella* sp. N11-59



รูปที่ 4.4 จำนวนเซลล์ของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P, *Chlamydomonas* sp. B1-59, *Chlorococcum* sp. UnknownA, *Chlorococcum* sp. AB1 และ *Scenedesmus* sp. F14



รูปที่ 4.5 ปริมาณน้ำหนักรวมของสาหร่าย *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. 5, *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 3, *Chlorella* sp. A และ *Chlorella* sp. N11-59



รูปที่ 4.6 ปริมาณน้ำหนักรวมของสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P, *Chlamydomonas* sp. B1-59, *Chlorococcum* sp. UnknownA, *Chlorococcum* sp. AB1 และ *Scenedesmus* sp. F14

4.2 ผลของปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก

ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสาหร่ายที่สกัดจากไดคัลโรวีเทน จากการทดลองพบว่าปริมาณสารสกัดมากที่สุดคือสาหร่าย *Chlorella* sp. A, มีปริมาณ 6.0535 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ *Chlorella* sp. 3 และ *Chlorella* sp. N11-59 ซึ่งมีปริมาณน้ำหนักรวมสารสกัด 4.1797 และ 4.0964 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4.1) โดย Pratt et al. (1944) ได้ทำการสกัดเซลล์โดยใช้คลอโรฟอร์มพบว่าได้ปริมาณสารสกัด 1-8 มิลลิกรัมต่อลิตร และจากการทดลองของ ชิตเวต และคณะ (2548) ได้ทำการสกัดสาหร่าย *Chlorella* sp. A0505 โดยใช้เมทานอล และเฮกเซน ได้ปริมาณสารสกัด 38.30 และ 56.30 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสารสกัดที่ได้มีปริมาณมากกว่า ชิตเวตและคณะ (2548) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการใช้สารสกัดแตกต่างกัน ทำให้ได้สารสกัดออกมามากกว่า (ตารางที่ 4.1)

4.3 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคด้วยสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก

ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคด้วยวิธี Agar disc diffusion

นำสารสกัดจากสาหร่ายที่ความเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (30 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ) จากการทดลองพบว่า ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคมมากกว่าที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อ

มิลลิลิตร พบว่า *Staphylococcus aureus* ถูกยับยั้งการเจริญมากที่สุด จากสารสกัด *Chlorella* sp. U โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 9.16 ± 1.44 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Chlorella* sp. N11-59, *Chlamydomonas* sp. B1-59, *Chlorella* sp. VB55 และ *Chlamydomonas* sp. P มีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 9.00 ± 0 , 8.66 ± 0.57 , 8.00 ± 0 , 8.00 ± 0 และ 7.33 ± 0.08 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสาหร่าย *Chlorella* N11-59 ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้มากที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 8.00 ± 0 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Chlamydomonas* sp. B1-59, *Chlorella* sp. VB55 และ *Chlorella* sp. U โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 7.66 ± 0.57 , 7.00 ± 0 และ 7.00 ± 0 มิลลิเมตร ตามลำดับ เชื้อ *Streptococcus agalactiae* ถูกยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคมากที่สุดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร *Chlorella* sp. U โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 10.00 ± 3.46 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Chlorella* sp. N11-59, *Chlamydomonas* sp. B1-59 และ *Chlorella* sp. VB55 โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 9.33 ± 0.57 , 8.33 ± 0.57 และ 7.83 ± 0.28 ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ถูกยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคมากที่สุดโดย *Chlamydomonas* sp. B1-59 และ *Chlorella* sp. N11-59 โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง 7.66 ± 0.28 และ 7.66 ± 0.57 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Chlorella* sp. VB55 และ *Chlorella* sp. U โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 7.16 ± 0.28 และ 7.00 ± 0 มิลลิเมตร ตามลำดับ ต่อมาคือเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ถูกยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคด้วยสาหร่ายเพียงชนิดเดียวคือ *Chlorella* sp. VB55 มีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง 8.00 ± 0 และ 7.00 ± 0 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนเชื้อ *Escherichia coli* พบว่าจากผลการทดลองไม่มีสารสกัดจากสาหร่ายชนิดใดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญ (ตารางที่ 4.2) ซึ่งจากผลการทดลองของ Hristo et al. (2013) ที่ทำการสกัดสารจากเซลล์ *Scenedesmus obliquus*, *Scenedesmus incrustatus* และ *Chlorella* sp ด้วยน้ำ และทดสอบด้วยเชื้อ *Staphylococcus aureus* มีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งถึง 16, 18 และ 22 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งการทดลองพบว่า ได้เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งต่ำกว่า Hristo et al. (2013)

จากการทดลองของ Thamilvanan et al. (2016) ได้ทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียว 3 ชนิด คือ *Chlorella vulgaris*, *Desmococcus olivaceus* และ *Chlorococcum humicola* ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล เพื่อทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก 2 ชนิด คือ *Styphlococcus areus* และ *Entococcus faecalis* และแบคทีเรียแกรมลบ 2 ชนิด คือ *Enterobacter aerogens* และ *Klebsiella pneumonia* ด้วยวิธี Agar disc diffusion ผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากสาหร่าย *C. humicola* สามารถให้ผลออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่กว้างที่สุด โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. areus*, *E. faecalis* และ *E. aerogens* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 11, 9.5 และ 8.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ

จากการทดลองของพรพิมล และคณะ (2558) ได้นำสาหร่ายทะเลที่พบในประเทศไทย 14 ชนิด โดยแบ่งเป็นสาหร่ายสีเขียว 3 ชนิด คือ *Bryopsis pennata*, *Carlerpa racemose* และ

Ulva rigida สาหร่ายสีน้ำตาล 8 ชนิด คือ *Padina australis*, *P. minor*, *P. tetrastomatica*, *Padina* sp., *Lobophora australis*, *Sargassum binderi*, *S. longifructum*, *S. polycystum* และ *Turbinaria conoides* และสาหร่ายสีแดง 2 ชนิด คือ *Acanthophora spicifera* และ *Hypnea* sp. มาสกัดสารเพื่อทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว *Propionibacterium acnes* ด้วยวิธี Agar disc diffusion ที่ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัม ผลการทดลอง พบว่าสารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล *P. minor*, *L. australis* และ *P. tetrastomatica* มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ดีที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเท่ากับ 12.83 ± 0.75 , 12.2 ± 0.34 และ 11.6 ± 0.36 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กและปริมาณน้ำหนักแห้ง

สาหร่าย	ปริมาณน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักสารออกฤทธิ์ทาง ชีวภาพ (กรัมต่อลิตร)
<i>Chlorella</i> sp. VB55	3.8099 ± 0.06^a	0.3754 ± 0.04^a
<i>Chlorella</i> sp. 5	3.5207 ± 0.08^a	1.2260 ± 0.20^b
<i>Chlorella</i> sp. U	3.3476 ± 0.33^a	1.8488 ± 0.18^b
<i>Chlorella</i> sp. 3	3.4077 ± 0.43^a	4.1797 ± 0.80^c
<i>Chlorella</i> sp. A	3.3187 ± 0.78^a	6.0535 ± 1.10^d
<i>Chlorella</i> sp. N11-59	3.5014 ± 0.45^a	4.0964 ± 0.28^c
<i>Chlamydomonas</i> sp. P	4.1103 ± 0.24^b	1.1805 ± 0.22^b
<i>Chlamydomonas</i> sp. B1-59	4.4400 ± 0.40^b	1.1805 ± 0.19^b
<i>Chlorococcum</i> sp. Unknown A	5.0880 ± 0.24^c	$0.562.6 \pm 0.02^a$
<i>Chlorococcum</i> sp. AB1	4.3264 ± 0.08^b	$0.556.8 \pm 0.17^a$
<i>Scenedesmus</i> sp. F14	4.0553 ± 0.15^b	$0.829.4 \pm 0.19^a$

*หมายเหตุ: อักษรต่างกันแสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับที่ร้อยละ 95

ตารางที่ 4.2 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus agalactiae* ด้วยสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กที่สกัดด้วยสารละลายไดคลอโรมีเทนที่มีความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

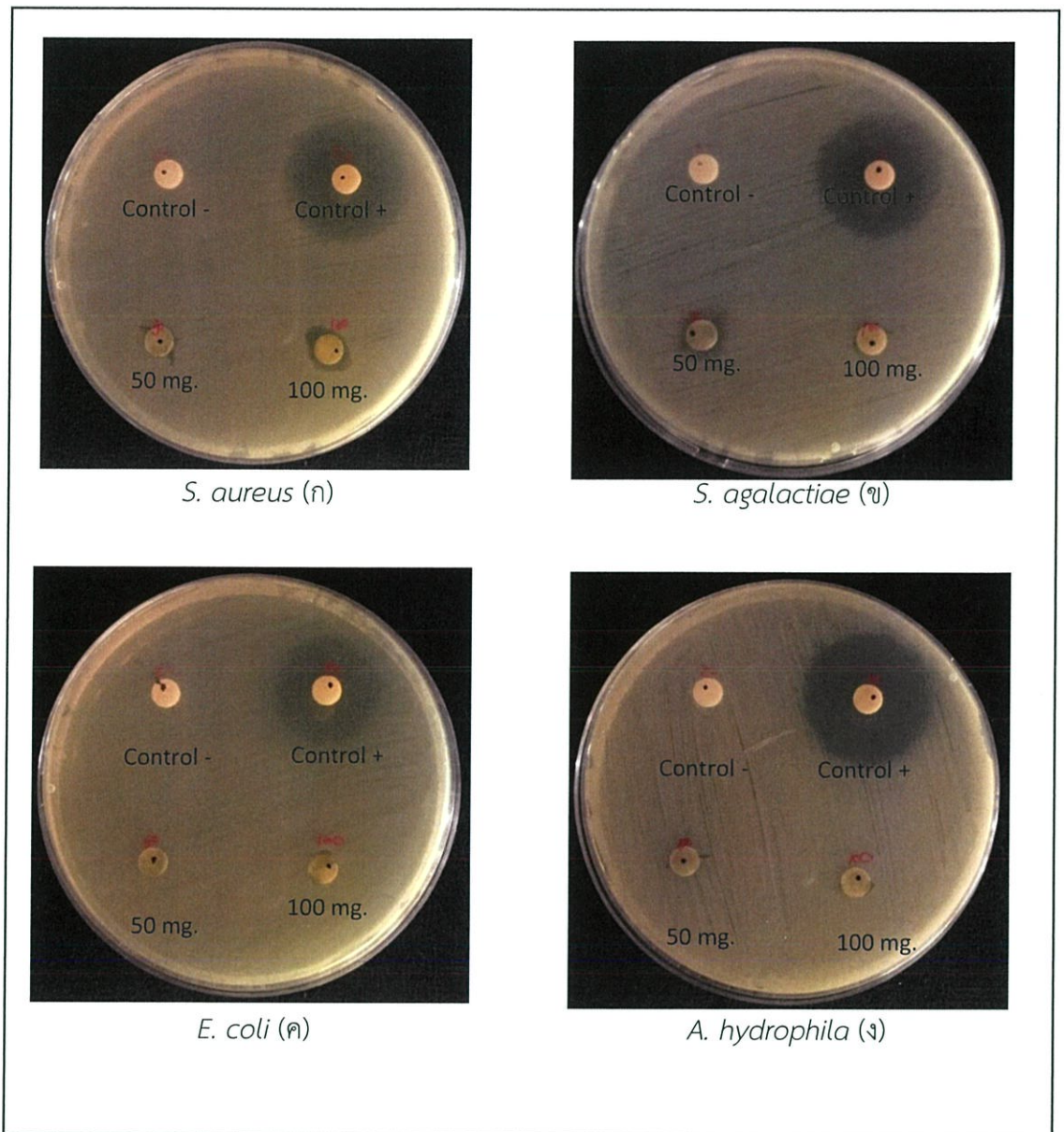
สารสกัดจากสาหร่าย	ความเข้มข้น สารสกัด (mg/ml.)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (มิลลิเมตร)			
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>S. agalactiae</i>
<i>Chlorella sp.</i> VB55	50	-	7.00 ± 0	7.33 ± 0.57	7.16 ± 0.28
	100	-	8.00 ± 0	9.16 ± 0.28	7.83 ± 0.28
<i>Chlorella sp.</i> 5	50	-	-	-	-
	100	-	-	-	-
<i>Chlorella sp.</i> U	50	-	7.00 ± 0	-	7.00 ± 0
	100	-	9.16 ± 1.44	-	10.00 ± 3.46
<i>Chlorella sp.</i> 3	50	-	-	-	-
	100	-	-	-	-
<i>Chlorella sp.</i> A	50	-	-	-	-
	100	-	-	-	-
<i>Chlorella sp.</i> N11-59	50	-	8.00 ± 0	-	7.66 ± 0.57
	100	-	9.00 ± 0	-	9.33 ± 0.57

ตารางที่ 4.2 (ต่อ) ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila* และ *Streptococcus agalactiae* ด้วยสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กที่สกัดด้วยสารละลายไดคลอโรมีเทนที่มีความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

<i>Chlamydomonas</i> sp. P	50	-	-	-	-
	100	-	7.33 ± 0.28	-	-
<i>Chlamydomonas</i> sp.B1-59	50	-	7.66 ± 0.57	-	7.66 ± 0.28
	100	-	8.66 ± 0.57	-	8.33 ± 0.57
<i>Chlorococcum</i> sp. Unknown A	50	-	-	-	-
	100	-	-	-	-
<i>Chlorococcum</i> sp. AB1	50	-	-	-	-
	100	-	-	-	-
<i>Scenedesmus</i> sp. F14	50	-	-	-	-
	100	-	-	-	-
Oxytetracycline(control)	50	19.69 ± 1.13	21.57 ± 1.73	25.21 ± 1.65	21.18 ± 1.97

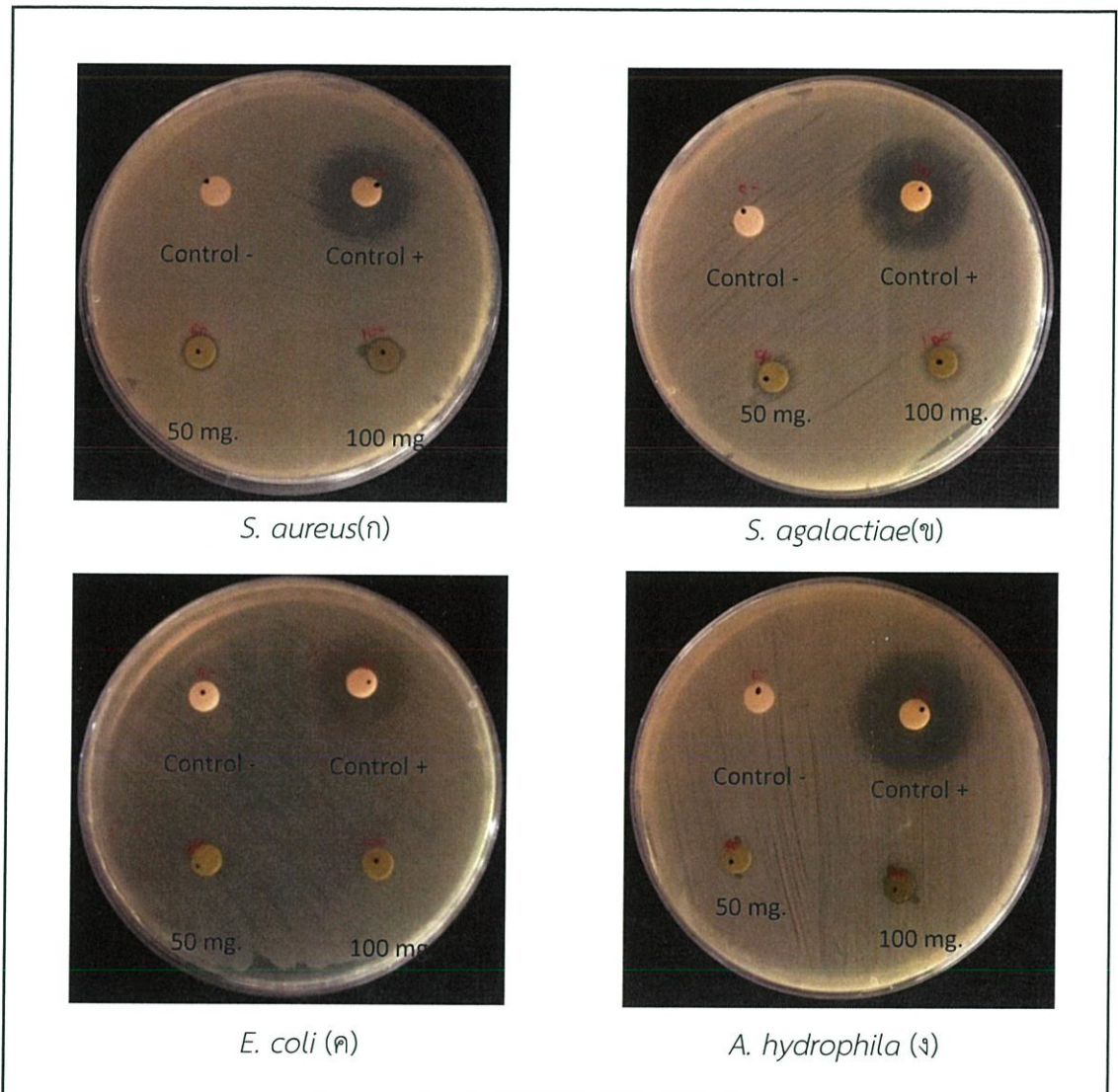
หมายเหตุ : - = ไม่เกิดบริเวณยับยั้งเชื้อ.

ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



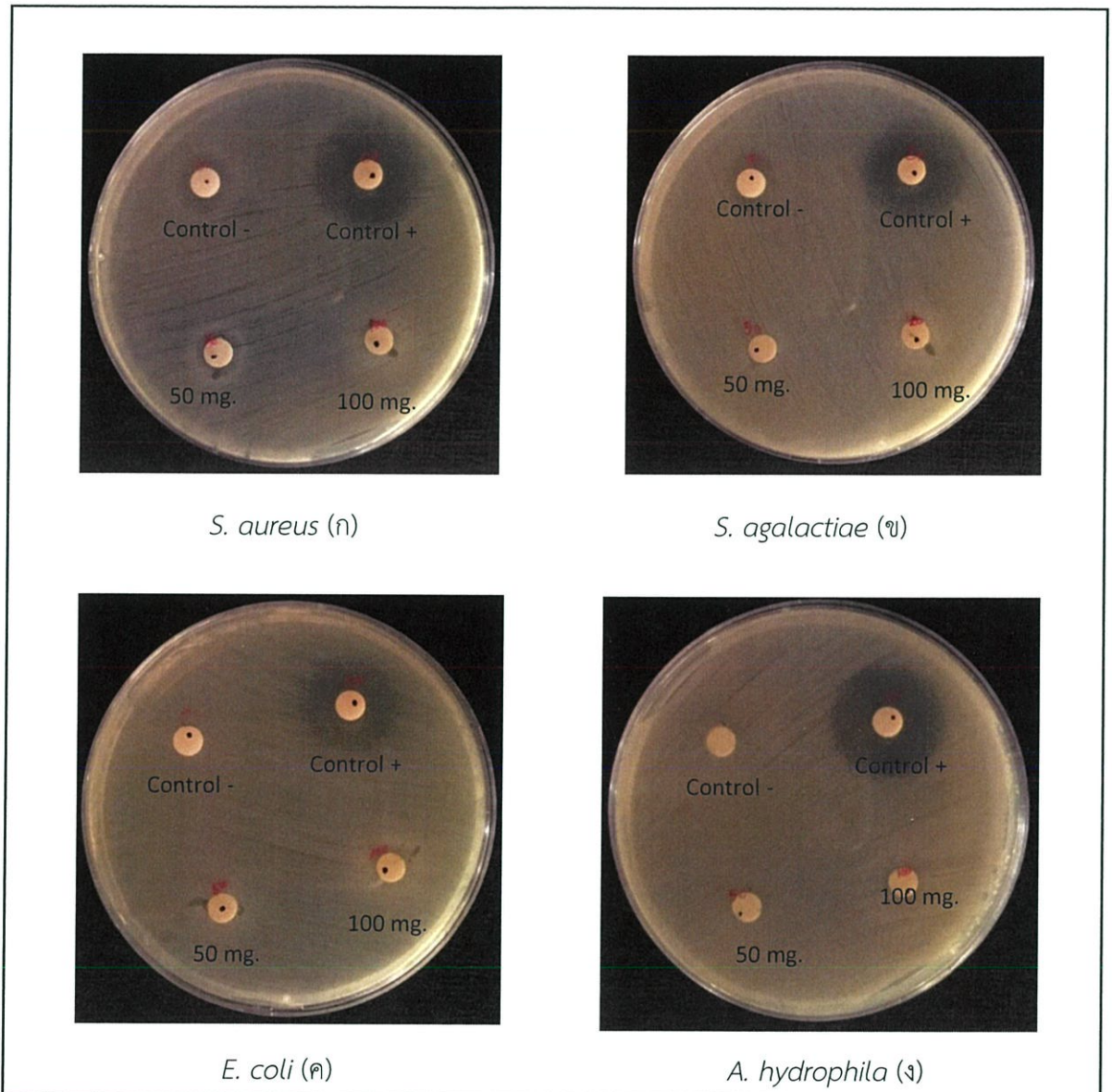
รูปที่ 4.7 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. U ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* (ก), *Strep. agalactiae* (ข), *E. coli* (ค) และ *A. hydrophila* (ง)

สาหร่าย *Chlorella* sp. N11-59 มีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Stap. aureus* 8 และ 9 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Strep. agalactiae* 7.66 และ 9.33 มิลลิเมตร และไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *A. hydrophila*



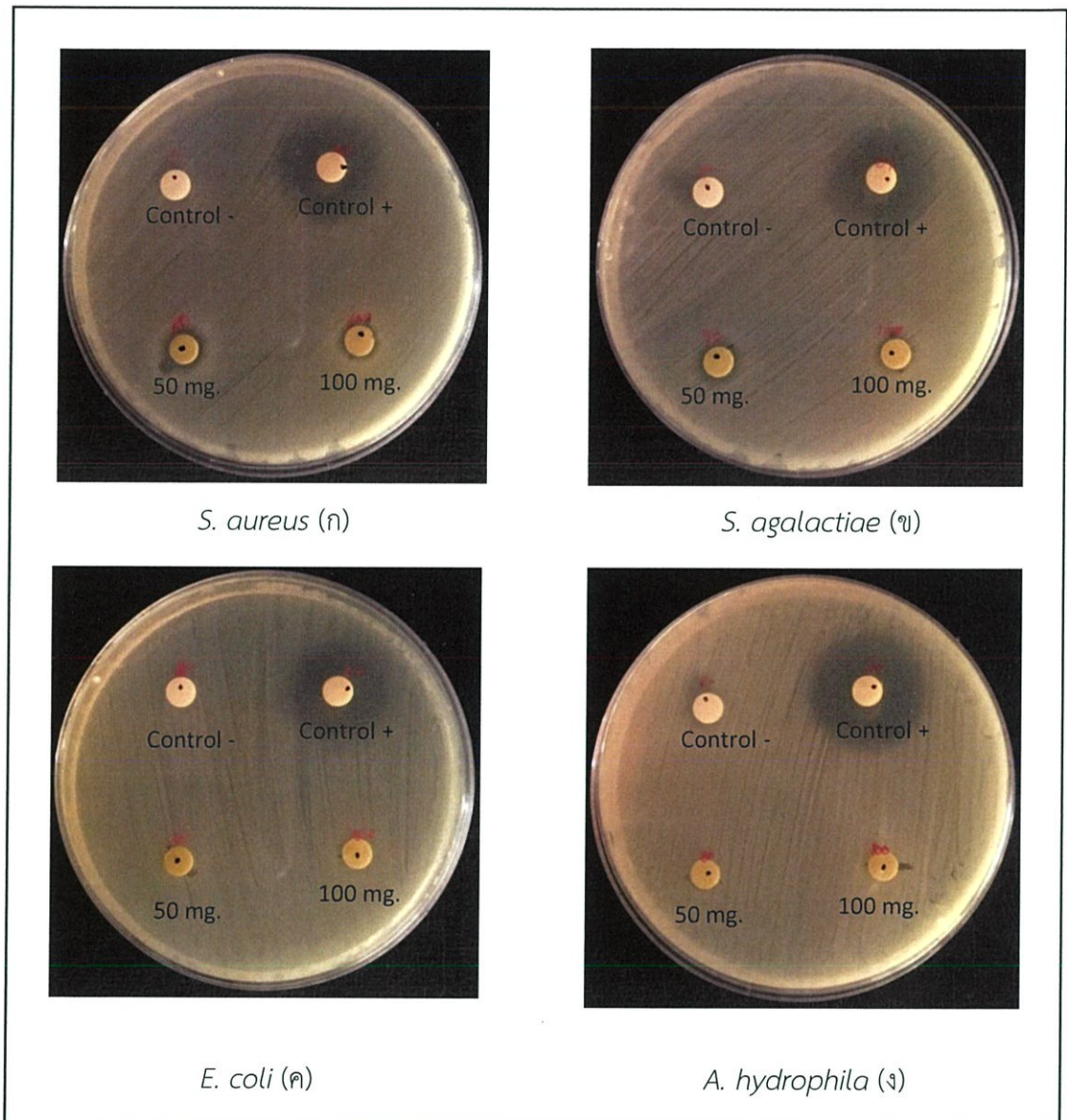
รูปที่ 4.8 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. N11-59 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* (ก), *Strep. agalactiae* (ข), *E. coli* (ค) และ *A. hydrophila* (ง)

สาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* เพียงชนิดเดียว ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 7.33 มิลลิเมตร และไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ



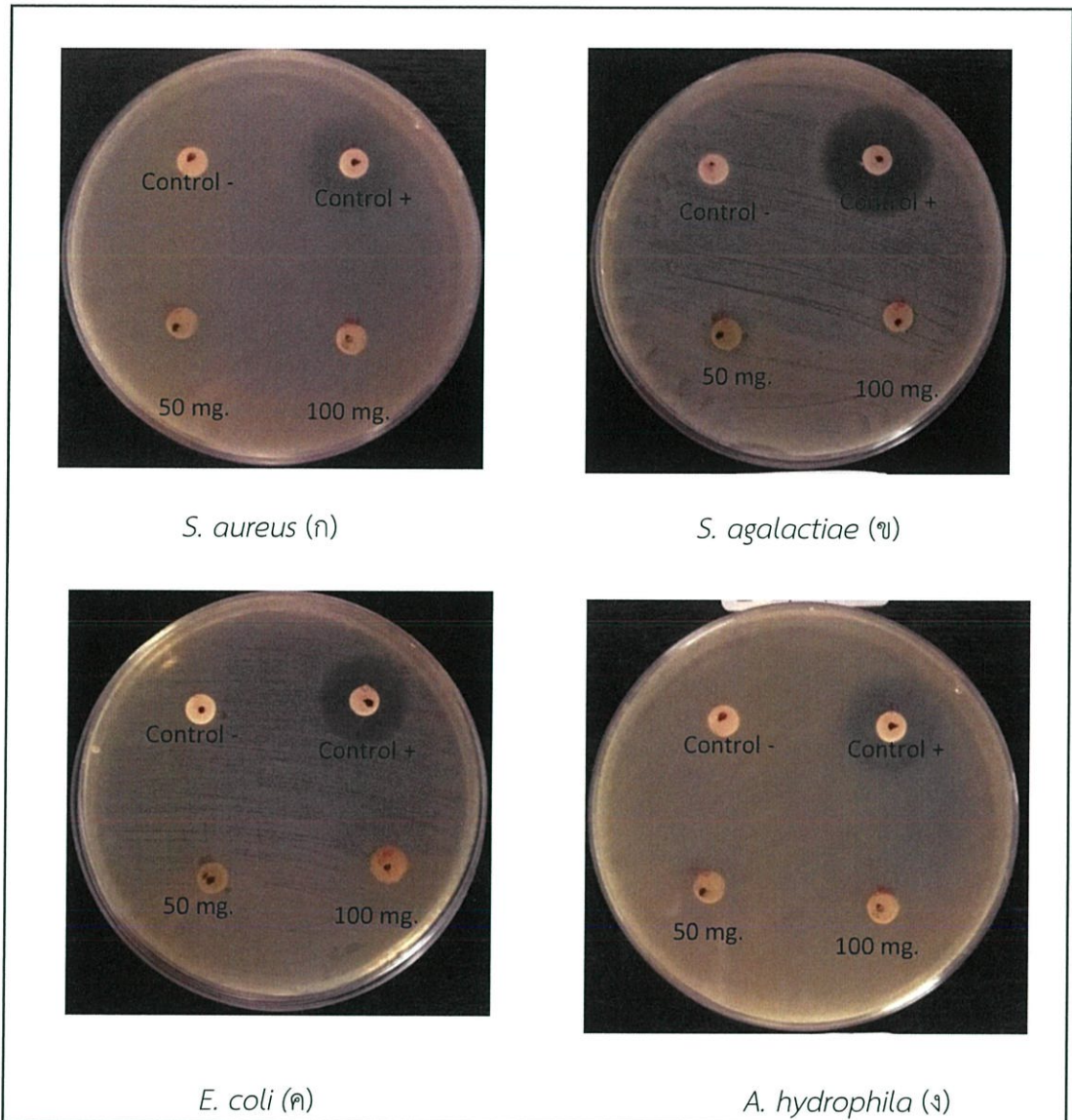
รูปที่ 4.9 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. P ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* (ก), *Strep. agalactiae* (ข), *E. coli* (ค) และ *A. hydrophila* (ง)

สำหรับสาย *Chlamydomonas* sp. B1-59 มีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Stap. aureus* 7.66 และ 8.66 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิกรัม ตามลำดับ มีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Strep. agalactiae* 7.66 และ 8.33 มิลลิเมตร และไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ *A. hydrophila*



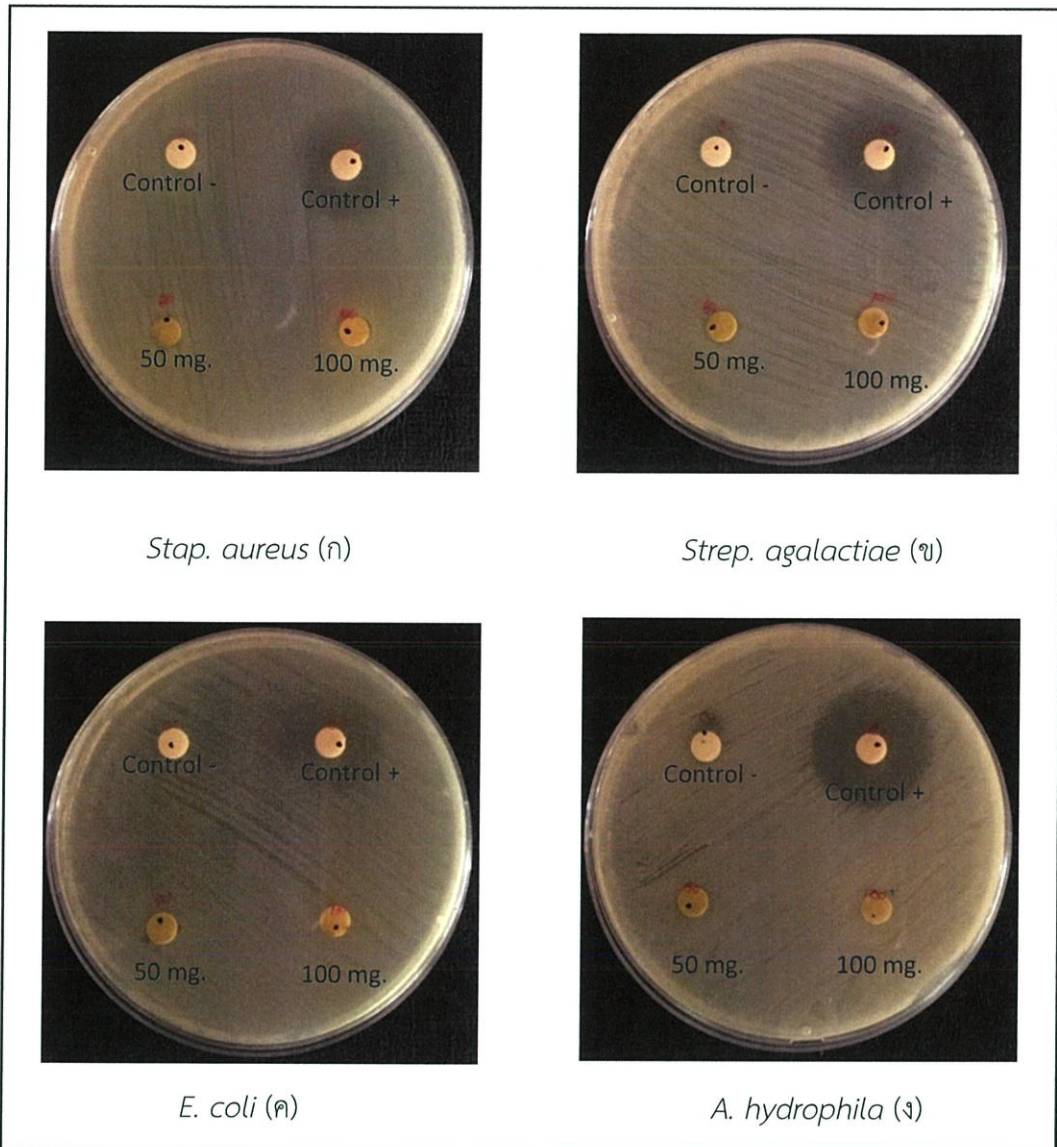
รูปที่ 4.10 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. B1-59 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* (ก), *Strep. agalactiae* (ข), *E. coli* (ค) และ *A. hydrophila* (ง)

สาหร่าย *Scenedesmus* sp. F14 ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์



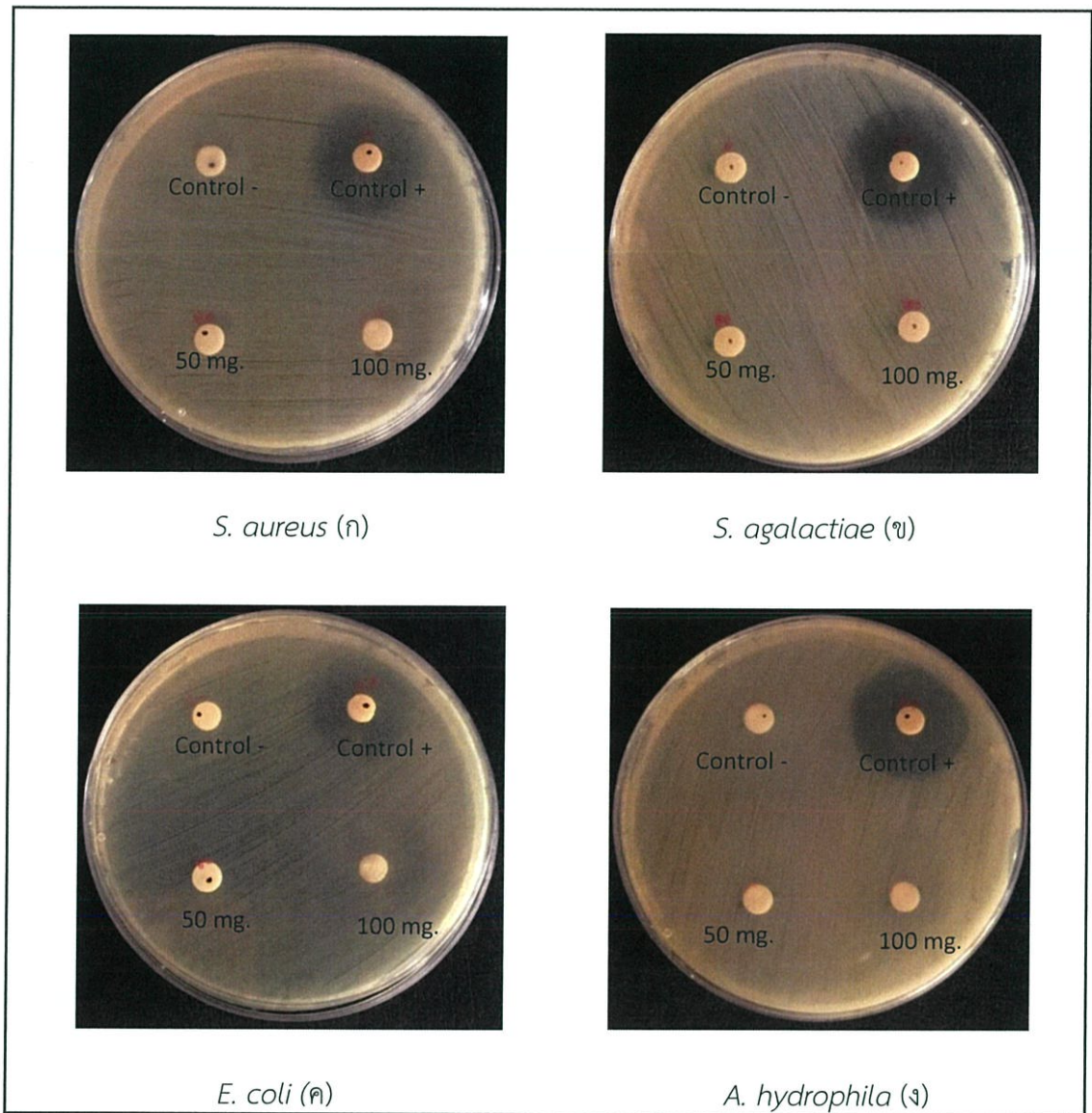
รูปที่ 4.11 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Scenedesmus* sp. F14 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* (ก), *Strep. agalactiae* (ข), *E. coli* (ค) และ *A. hydrophila* (ง)

สาหร่าย *Chlorococcum* sp. Unknown A ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์



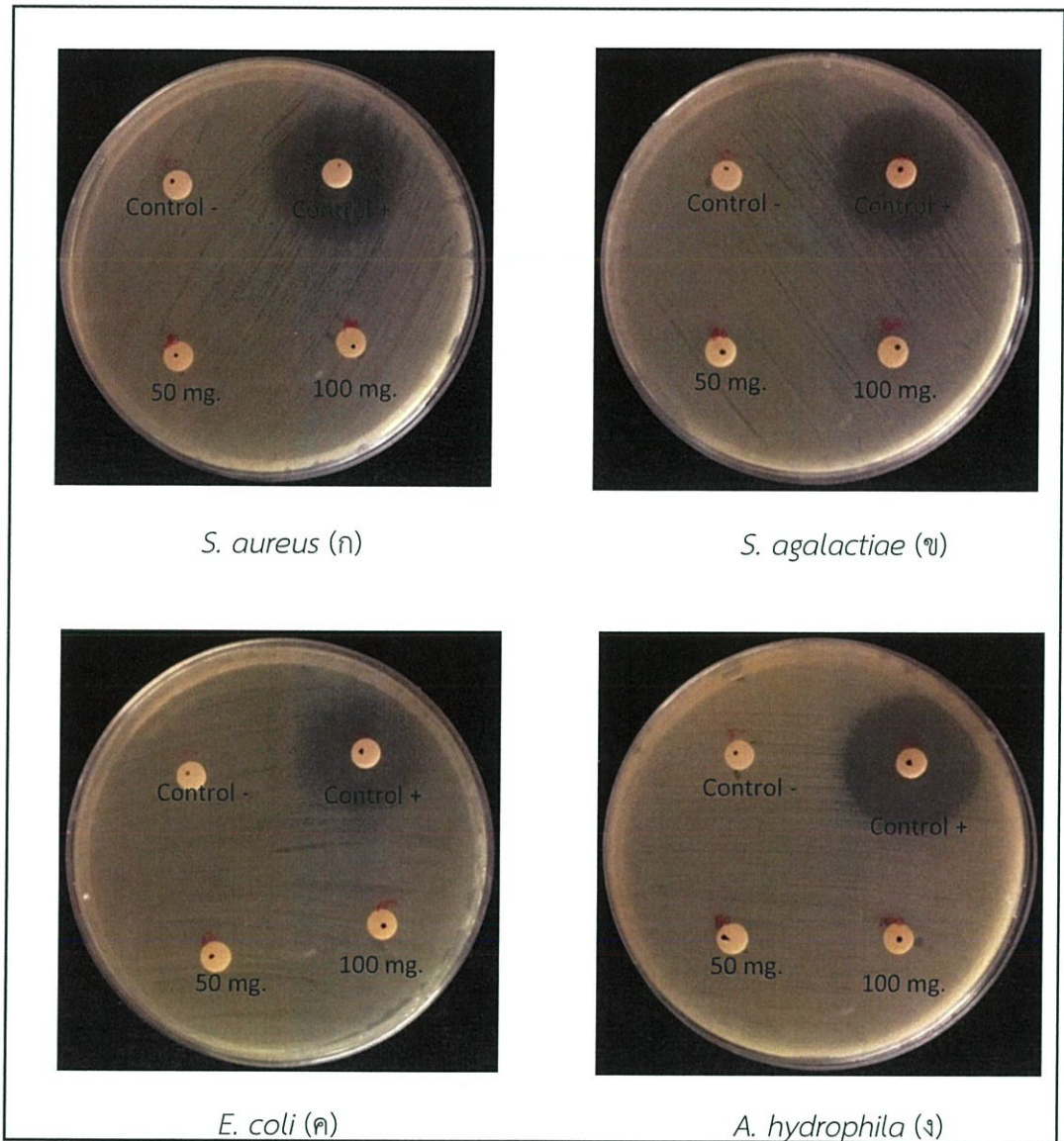
รูปที่ 4.12 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorococcum* sp. Unknown A ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* (ก), *Strep. agalactiae* (ข), *E. coli* (ค) และ *A. hydrophila* (ง)

สำหรับ *Chlorella* sp. 3 ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์



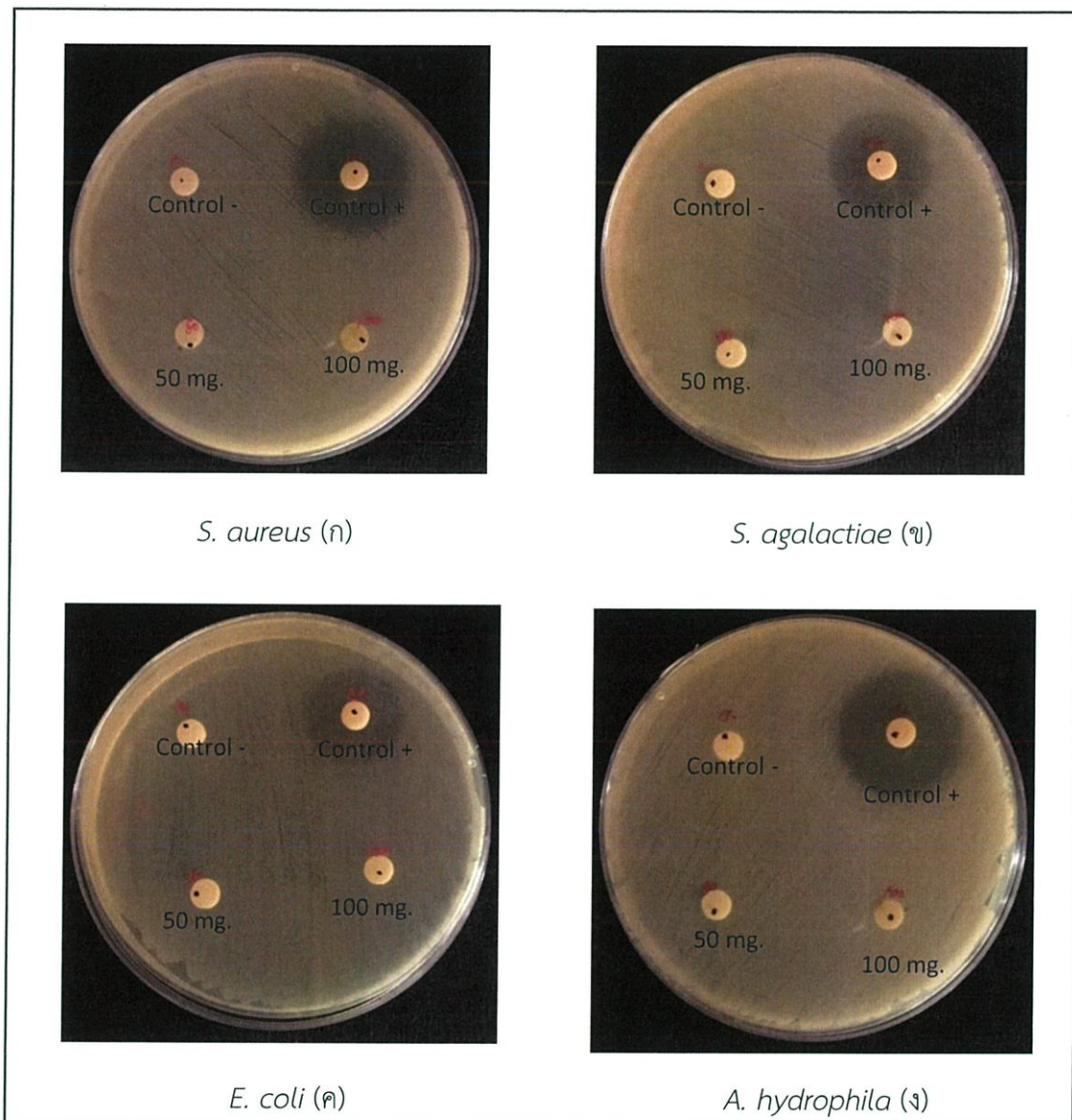
รูปที่ 4.13 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 3 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เรีย *Stap. aureus* (ก), *Strep. agalactiae* (ข), *E. coli* (ค) และ *A. hydrophila* (ง)

สาหร่าย *Chlorococcum* sp. AB1 ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์



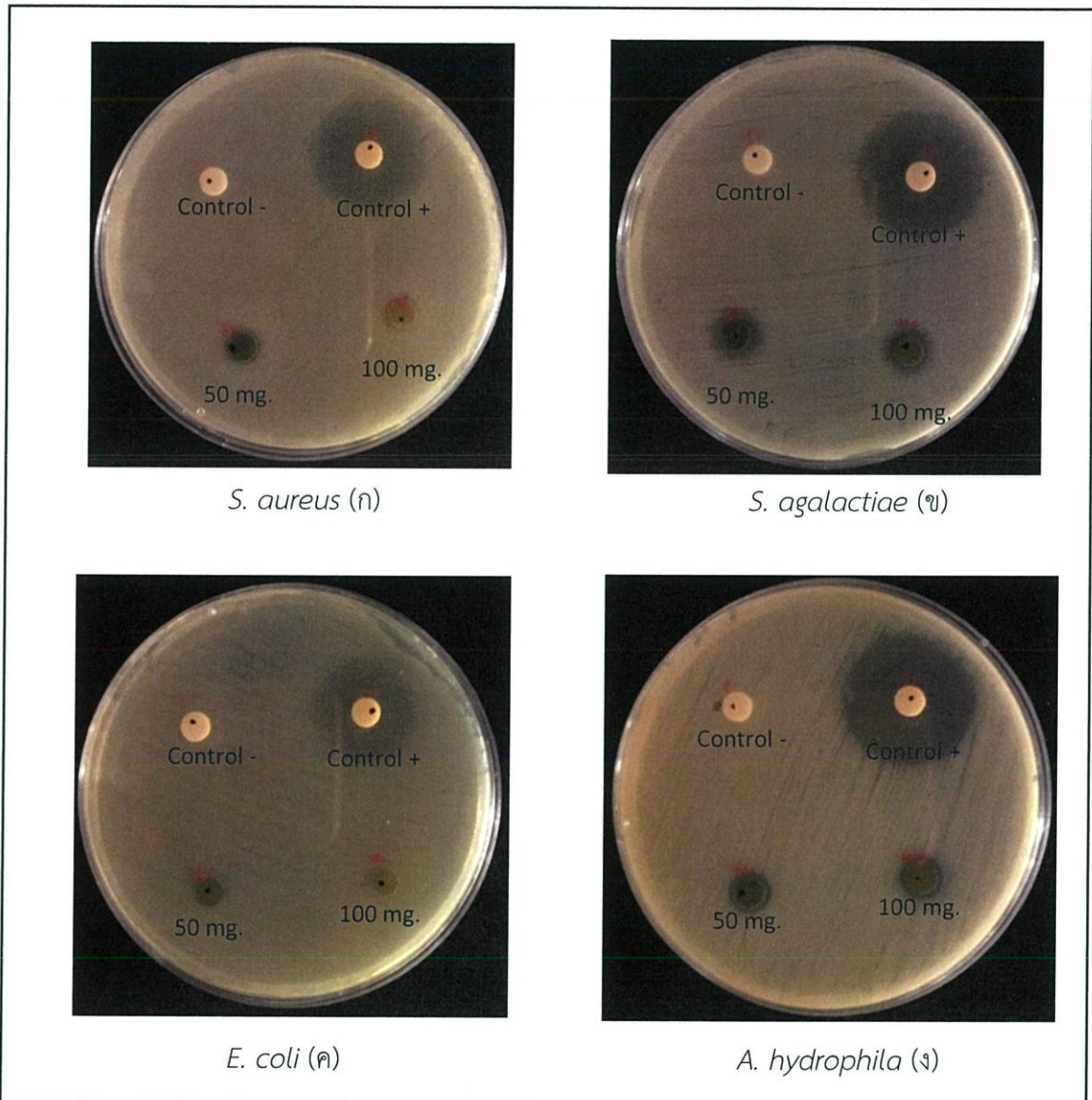
รูปที่ 4.14 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorococcum* sp. AB1 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* (ก), *Strep. agalactiae* (ข), *E. coli* (ค) และ *A. hydrophila* (ง)

สาหร่าย *Chlorella* sp. A ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์



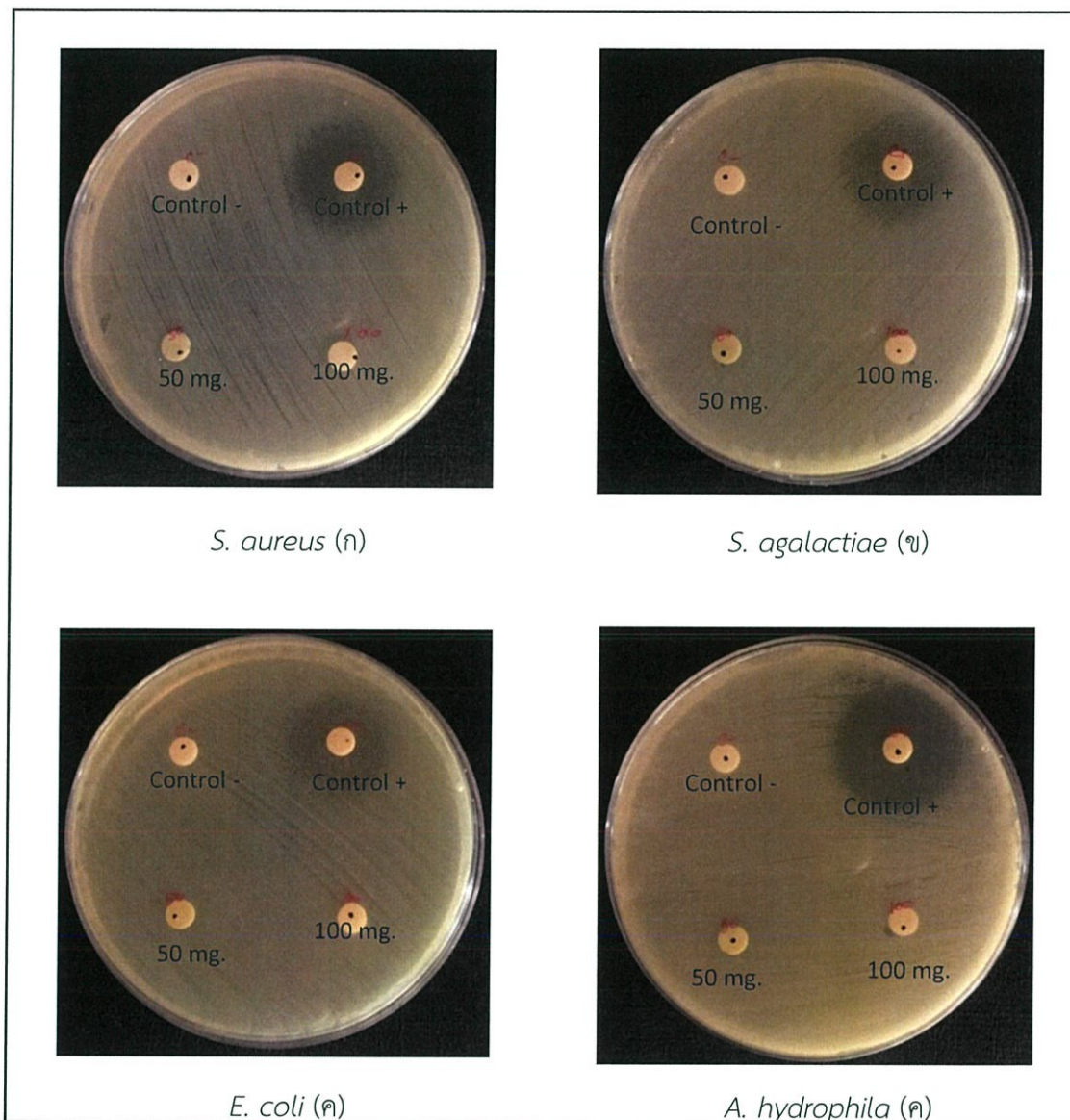
รูปที่ 4.15 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* (ก), *Strep. agalactiae* (ข), *E. coli* (ค) และ *A. hydrophila* (ง)

สาหร่าย *Chlorella* sp. VB55 มีเส้นผ่านศูนย์กลางในการยับยั้งเชื้อ *Stap. aureus* 7 และ 8 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ *Strep. agalactiae* 7.16 และ 7.83 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ *A. hydrophila* 7.33 และ 9.16 และไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli*



รูปที่ 4.16 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. VB55 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* (ก), *Strep. agalactiae* (ข), *E. coli* (ค) และ *A. hydrophila* (ง)

สาหร่าย *Chlorella* sp. 5 ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์



รูปที่ 4.17 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* (ก), *Strep. agalactiae* (ข), *E. coli* (ค) และ *A. hydrophila* (ง)

จากผลการทดลองพบว่าสาหร่ายที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Stap. aureus* สูงสุดคือ *Chlorella* sp. N11-59 ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 8 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Chlamydomonas* sp. B1-59, *Chlorella* sp. U และ *Chlorella* sp. VB55 ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 7.66, 7.00 และ 7.00 ตามลำดับ และสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งต่ำสุด คือ 7.33 มิลลิเมตร

สาหร่ายที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Strep. agalactiae* มากที่สุดคือ *Chlorella* sp. N11-59 และ *Chlamydomonas* sp. B1-59 ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม มีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 7.66 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *Chlorella* sp. VB55 และ *Chlorella* sp. U ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม มีเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง 7.16 มิลลิเมตร และมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งต่ำสุด 7.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ

สาหร่ายที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. hydrophila* มีเพียงชนิดเดียว คือ *Chlorella* sp. VB55 ที่ความเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งอยู่ที่ 7.33 และ 9.16 มิลลิเมตร ตามลำดับ และไม่มีสาหร่ายชนิดใดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้

ซึ่งจะเห็นได้ว่า สาหร่ายที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุดคือสาหร่าย *Chlorella* sp. N11-59 ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Stap. aureus* และ *Strep. agalactiae* ได้ที่เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งมากกว่าสารสกัดจากสาหร่ายสายพันธุ์อื่นๆ และสาหร่ายที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ได้ทั้ง *Stap. aureus* *Strep. agalactiae* และ *A. hydrophila* คือสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. VB55 (ตาราง 4.2) จากการทดลองของ Hristo et al. (2013) ที่พบว่าสาหร่าย *Chlorella* sp. และ *Scenedesmus* sp. ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* เช่นเดียวกัน ซึ่งตรงกับผลการทดลองที่ได้ และผลที่เกิดจากการที่ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรไม่สัมพันธ์อาจเป็นผลเนื่องมาจากการละลายของสารโดยใช้โดเมทิลซัลฟอกไซด์ทำให้ฤทธิ์เกิดความคลาดเคลื่อน

4.4 การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสาหร่ายที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค (Minimal inhibitory concentration: MIC)

จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากสาหร่ายที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Stap. aureus* ได้ดีที่สุดคือสารสกัด *Chlorella* sp. N11-59 โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญที่ความเข้มข้นต่ำสุด 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และฤทธิ์การยับยั้งการเจริญรองลงมาคือสารสกัด *Chlamydomonas* sp. B1-59 และสารสกัด *Chlorella* sp. VB55 ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สาหร่ายที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Strep. agalactiae* ได้ดีที่สุด มี 3 ชนิดด้วยกันคือสารสกัด *Chlorella*

sp. U, *Chlorella* sp. N11-59 และสารสกัด *Chlamydomonas* sp. B1-59 ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากสาหร่ายที่มีฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราคือสารสกัด *Chlorella* sp. VB55 ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากสาหร่ายที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. hydrophila* ได้ดีที่สุดคือสารสกัด *Chlorella* sp. VB55 ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพียงชนิดเดียว จากการทดลองของ Hristo et al. (2013) พบว่า จากการทำให้ MIC ไม่พบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Stap. aureus* จากสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. และ *Scenedesmus* sp. เมื่อเทียบกับการทดลองนี้ พบว่าสารสกัดจาก *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. U และสารสกัด *Chlorella* sp. N11-59 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Stap. aureus* ที่ความเข้มข้น 50 25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Bhagavathy S. et al. (2011) ได้ทำการทดลองและเปรียบเทียบความสามารถของสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในอาหาร (Food-borne pathogens) พบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Gloeocapsa* sp. และ *Synechocystis* sp. ที่สกัดด้วยน้ำ สามารถให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) 1.56 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และกรดไขมันของสาหร่าย *Synechocystis* sp. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* และยีสต์ *Candida albicans* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 2.50, 1.25 และ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากการทดลองของ Xavier et al. (2012) ได้ทำการทดลองสารสกัดจากสาหร่ายทะเล คือ *Sargassum wightii* (*S. wightii*), จากสาหร่ายสีเขียว คือ *Chaetomorpha linum* (*C. linum*) และจากสาหร่ายสีน้ำตาล คือ *Padina gymnospora* (*P. gymnospora*) ที่เมืองทุติโคริน ประเทศอินเดีย เพื่อใช้ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในคน 10 ชนิด โดยแบ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ คือ *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), *Salmonella Typhi* (สายพันธุ์ B), *Erwinia amylovora* (MTCC2760), *Enterobacter aerogenes* (MTCC111), *Proteus vulgaris* (MTCC1771), *Klebsiella pneumonia* (ATCC15380) และ *Escherichia coli* (ATCC25922) แบคทีเรียแกรมบวก คือ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* (MTCC441) และ *Enterococcus faecalis* (ATCC29212) พบว่า สารสกัดจากสาหร่ายทะเล *S. wightii* ที่สกัดด้วยอะซิโตนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *Stap. aureus* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

การทดลองของ Saidani et al. (2012) ได้ทำการเก็บตัวอย่างสาหร่าย 4 ชนิดจากชายฝั่งทะเล Bejaia ประเทศแอลจีเรีย คือ สาหร่ายสีน้ำตาล *Cystoseira tamariscifolia* และ *Padina pavonica* สาหร่ายสีแดง *Rhodomela confervoides* และสาหร่ายสีเขียว *Ulva lactuca* มาสกัดและทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราและยีสต์ *Aspergillus niger*, *Mucor ramanianus* และ *Candida albicans* ผลการทดลอง พบว่า สารสกัดจากสาหร่ายสีแดง *R. confervoides* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *M. ramanianus* และเชื้อยีสต์ *C. albicans* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถยับยั้งเชื้อรา *A. niger* ความ

เข้มข้นต่ำสุด 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดจากสาหร่าย *P. pavonica* และ *U. lactuca* สามารถยับยั้งเชื้อราและยีสต์ *A. niger*, *M. ramanianus* และ *C. albicans* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 1.2, 0.1 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากการทดลองของ Entesar (2016) ได้ทำการสกัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 4 ชนิด คือ *Nostoc caeruleum*, *Spirulina platensis*, *Cylindrospermum majus* และ *Oscillatoria formosa* และสาหร่ายสีเขียว 1 ชนิด คือ *Chlorella vulgaris* เพื่อทดสอบยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* และ *Streptococcus pyogenes* เชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Escherichia coli* และทดสอบยับยั้งการเจริญของเชื้อราและยีสต์ *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Geotricum candidum* และ *Trichophyton mentagrophytes* ผลการทดลอง พบว่า สาหร่ายสีเขียว *C. vulgaris* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *G. candidum* และเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) เท่ากับ 0.98 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ *C. albicans* และเชื้อแบคทีเรีย *Strep. pyogenes* ที่ความเข้มข้น 1.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *N. caeruleum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *G. candidum* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.98 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4.5 การทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสำหรับที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum bactericidal concentration: MBC)

จากการทดลองเพื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากสาหร่ายที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย พบว่า สารสกัดจากสาหร่ายที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* ที่ความเข้มข้นต่ำสุดคือ *Chlorella* sp. VB55 โดยมีฤทธิ์ที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากสาหร่ายที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Strep. agalactiae* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด คือ *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. N11-59 และ *Chlamydomonas* sp. B1-59 โดยมีฤทธิ์ที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Strep. agalactiae* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากสาหร่ายที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด คือ *Chlorella* sp. VB55 โดยมีฤทธิ์ที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากสาหร่ายเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (ปริญา และ อมรรัตน์, 2556) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาหร่าย 3 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากสาหร่ายทะเล สารสกัดจากสาหร่ายไก่อ และสารสกัดจากสาหร่ายเห็ดลาบ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* เมื่อนำมาทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) พบว่าสารสกัดจากสาหร่ายทะเล, สารสกัดจากสาหร่ายไก่อ และสารสกัดจากสาหร่ายเห็ดลาบสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.5, 0.5 และ 0.35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำผลของ MIC ไปหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (MBC) โดยนำหลอดจากการทดสอบ MIC ที่ไม่มีความขุ่นของเชื้อแบคทีเรียไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร NA ด้วยเทคนิค Spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดจากสาหร่ายทะเลและสารสกัดจากสาหร่ายไก่อสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* ได้ดีที่สุด ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดจากสาหร่ายเห็ดลาบ ที่ระดับความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการทดลองของ Alwathnani and Perveen (2017) ได้ทำการเตรียมสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella vulgaris* โดยใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ อะซิโตน, เมทานอล, คลอโรฟอร์ม และไดเมทิลอีเทอร์ เพื่อทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25928, *Streptococcus pyogenes* grp A (แยกเชื้อทางคลินิก) และ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ผลการทดลองพบว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุดสารสกัดจากสาหร่าย *C. vulgaris* ที่สกัดด้วยไดเอทิลอีเทอร์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. pyogenes* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าความเข้มข้นต่ำสุดสารสกัดจากสาหร่าย *C. vulgaris* ที่สกัดด้วยอะซิโตน สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

กิริติญาและยิ่งมณี (2555) ได้นำสารสกัดของโพรพอลิส นมผึ้ง และสารสกัดของฟ้าทะลายโจร ทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร คือ *E. coli*, *Proteus valgalis*,

Klebsella pneumoniae, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Enterobacter aerogenes* และ *Pseudomonas aeruginosa* ผลการทดลองพบว่า สารสกัดของโพรพอลิสสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Shi. flexneri*, *Ent. aerogenes*, *P. vulgaris* และ *E. coli* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *S. flexneri* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด (MBC) 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดของนมผึ้งสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Shi. flexneri*, *K. Pneumonia* และ *Ent. aerogenes* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด (MBC) 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดของฟ้าทะลายโจรสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Sal. typhi*, *Shi. flexneri*, *Ent. aerogenes*, *P. vulgaris*, *Ps. aeruginosa* และ *E. coli* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด (MBC) 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *K. pneumonia* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งการทดลองนี้สามารถเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการรักษาโรคได้

การทดลองของ Thangapandi and Thipparamalai (2013) ได้ทำการสกัดสารฟুকอยแดน (Fucooidan) จากสาหร่ายสีน้ำตาล *Sargassum wightii* เพื่อทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Vibrio cholerae*, *Proteus proteus*, *Shigella sonnie*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* และ *Klebsiella sp.* พบว่า สารฟুকอยแดนสามารถยับยั้งการเจริญและฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *V. cholerae* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC และ MBC) เท่ากับ 31.25 และ 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสามารถยับยั้งการเจริญและฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรค *P. aeruginosa* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด เท่ากับ 62.5 และ 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากการทดลองของ Gorkem and Basaran (2014) ได้นำสาหร่ายสีน้ำตาล 2 ชนิด คือ *Cystoseira compressa* และ *Padina pavonica* มาสกัดและทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่มีการดื้อยาปฏิชีวนะเมทิซิลลิน *Staphylococcus aureus* (MRSA) ที่พบในโรงพยาบาลจากประเทศตุรกี พบว่า สารสกัดจากสาหร่าย *C. compressa* ที่สกัดโดยเอทานอลสามารถให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) 3.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และให้ผลการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นต่ำสุด (MBC) 6.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากสาหร่าย *P. pavonica* สามารถให้ผลยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 6.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และให้ผลการฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นต่ำสุด 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากสาหร่ายที่ได้จากการทดลองนั้นมีความเข้มข้นมากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ถึงจะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ ซึ่งสารสกัดที่มีความเข้มข้นมากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จัดเป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งน้อย ไม่เหมาะที่จะนำไปทำเป็นสารบริสุทธิ์เพื่อใช้เป็นสารปฏิชีวนะยับยั้งจุลินทรีย์ แต่สามารถใช้ควบคู่ไปกับอาหารเลี้ยงปลานิลได้ เพราะสาหร่ายมีคุณค่าทางอาหารสูง มีโปรตีน ไขมัน วิตามิน เกลือแร่ และยังสามารถช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในปลานิลได้ จากการทดลองของ Sabreen et al. (2017) ได้นำเซลล์สาหร่ายแห้ง *Chlorella sp.* และ *Spirulina sp.* ผสมกับอาหารที่ใช้เลี้ยงปลานิลที่ถูกทำให้เกิดการติดเชื้อ

จากแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* เป็นเวลา 9 สัปดาห์ โดยทำการตรวจผลวัดปริมาณ เอนไซม์ในเลือดทั้งก่อนและหลังการทดลอง พบว่า สาหร่ายทั้งสองชนิดสามารถกระตุ้นระบบ ภูมิคุ้มกัน ลดค่าเอนไซม์ในเลือด และเพิ่มอัตราการอยู่รอดของปลานิลได้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กที่มีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล จำนวน 11 สายพันธุ์ ได้แก่ *Chlorella* sp. U, *Chlorella* sp. 3, *Chlorella* sp. 5, *Chlorella* sp. VB55, *Chlorella* sp. A, *Chlorella* sp. N11-59, *Chlorococcum* sp. AB1, *Chlorococcum* sp. Unknown A, *Chlamydomonas* sp. B1-59, *Chlamydomonas* sp. P และ *Scenedesmus* sp. F14 เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค 4 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Aeromonas hydrophila* และ *Escherichia coli* พบว่า

1. สาหร่ายที่มีค่าการเจริญเติบโตเข้าสู่ช่วงระยะการเจริญคงตัว (Stationary phase) เร็วที่สุดคือสาหร่าย *Chlorella* sp. A, *Scenedesmus* sp. F14 และ *Chlorococcum* sp. AB1 โดยเข้าสู่ช่วงระยะการเจริญคงตัวในวันที่ 16 ของการทดลอง
2. สารสกัดจากสาหร่ายที่ให้ผลออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้กว้างที่สุดคือสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. VB55 โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus*, *Strep. agalactiae* และ *A. hydrophila* ได้
3. สารสกัดจากสาหร่ายที่ให้ผลการออกฤทธิ์ที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) คือสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. N11-59 โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
4. สารสกัดจากสาหร่ายที่ให้ผลการออกฤทธิ์ที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) คือสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. N11-59 โดยสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Strep. agalactiae* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
5. สารสกัดจากสาหร่ายทั้ง 11 สายพันธุ์ไม่มีฤทธิ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาและนำไปประยุกต์ใช้เป็นอาหารเสริมควบคู่ไปกับการเพาะเลี้ยงปลานิลเพื่อเสริมสร้างความแข็งแรงและป้องกันโรคจากการติดเชื้อแบคทีเรีย
2. ควรศึกษาการนำไปใช้เพาะเลี้ยงร่วมในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารของปลากุ้ง และแพลงก์ตอนสัตว์

3. ควรทดสอบความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดให้มากกว่า 1 สายพันธุ์ เพื่อให้การทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายครอบคลุมมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- กิริติญา เอี่ยมถาวรและ ยี่งมณี ตระกูลพั้ว. 2555. “การยับยั้ง การเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโพรพอลิส นมผึ้ง และฟ้าทะลายโจร”. *Pharmacy Profession in Harmony*. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. (4): 122-119.
- จิรรัตน์ พรหมนารถ และสุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2556. “ผลของความเข้มข้นของไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตไขมันของ สาหร่ายสีเขียวขนาดเล็ก *Scenedesmus dimorphus*”. *วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง*. 7 (S1): 92-101.
- ชนกันต์ จิตมนัส. 2548. *เอกสารประกอบการสอนวิชาโรคปลา*. คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 142.
- ชิตเวต แสงสวัสดิ์, ทะนงศักดิ์ บุญขันธุ์และ นกมล ภัคดี. 2548. “ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella sp.*” *วิทยานิพนธ์ปริญญาบัณฑิต*. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ดวงกมล เรือนงาม. 2560. “สภาวะที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสาหร่าย *Scenedesmus armatus* และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารที่สกัด”. *วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม*. 12 (1): 59-70.
- ทศพล จุฬาลักษณ์านุกุล, พงษ์ธรรม จรุงพงษ์, สมยศ วงศ์ษา และ สมโภชน์ วีระกุล. มปป. “การสำรวจเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในปลานิลบริเวณลำ น้ำพอง”. *คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*.
- นิลบล กิจอันเจริญ, ชุตินา หาญจวนิช และ นงนุช สุวรรณเพ็ง. 2549. “ประสิทธิภาพของการให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ในการป้องกันโรคสเตรปโตคอคโคซิสในปลานิล”. *วารสารวิจัย มข*. 11: 53 – 61.
- ปริญญา มูลสิน และ อมรรัตน์ วงษ์กลม. 2556. “การศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากสาหร่ายเพื่อเพิ่มมูลค่า ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง”. *โครงการวิจัยสาขาวิชาชีววิทยา สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี*.
- พนาวรรณ คุณติสุข. 2011. “การใช้ยาปฏิชีวนะ (Antibiotic drugs) อย่างถูกต้องและเหมาะสม”. *Journal of Hematology and Transfusion Medicine*. 21: 3. 193-196.
- พนม กระจ่างพจน์. 2559. “การพัฒนาพันธุ์ปลานิลทนโรคสเตรปโตคอคโคซิส โดยใช้เทคโนโลยีการปรับปรุงพันธุ์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล (ระยะที่ 2)”. *กองวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ กรมประมง*.
- พรพิมล เพ็ชรโยธิน, จันทนา ไพรบูรณ์ และ อนงค์ จีร์ภัทร์. 2558. “ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว (*Propionibacterium acnes*) จากสารสกัดของสาหร่ายทะเล”. *วารสารวิจัยและพัฒนา มจร*. 38 (3): 273 – 282.
- ยุวดี พิรพรพิศาล. 2549. *สาหร่ายวิทยา (Phycology)*. กรุงเทพฯ: ภาคชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. 2553. *แพลงค์ตอน (Plankton)*. กรุงเทพฯ : ภาคชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

- เลิศพงษ์ บุญชู. 2548. “การพัฒนาระบบวัดความไวของแบคทีเรียต่อสารต้านจุลชีพโดยเทคนิค Disc diffusion”. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาอุปกรณ์ทางการแพทย์ ภาควิชาฟิสิกส์ อุตสาหกรรมและอุปกรณ์ การแพทย์บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.
- วีณา ชูโชติ. 2556. “ผลของสารสกัดสาหร่าย *Chlorella* spp. ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค”. วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง. 22 (2): 102-114.
- ศรียาญจนา คล้ายเรือง. มปป. “แบคทีเรียก่อโรค”. เอกสารประกอบการสอน ชว 330 จุลชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- อัญชลี ศิริขจรกิจ. 2011. “สาหร่ายเซลล์เดียวแคลมมิโดโมนาส (*Chlamydomonas reinhardtii*) กับงานวิจัยทางพันธุศาสตร์,” *Thai Journal of Genetics*. 4 (1): 9-21.
- Alwathnani, H. and Perveen, K. 2017. “Antibacterial activity and morphological changes in human pathogenic bacteria caused by *Chlorella vulgaris* extracts”. *Biomedical Research*. 28 (4): 1610-1614.
- Bhagavathy, S., Sumathi, P. and Jancy, S.B. 2011. “Green algae *Chlorococcum humicola*-a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity”. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. S1-S7.
- Cheng, K.C. and Ogden, K.L. 2011. “Renewable and Sustainable Energy Reviews”. *The American Institute of Chemical Engineers*. 4: 5.
- Entesar, A.A. 2016. “Antimicrobial Activity of Microalgal Extracts Isolated From Baharia Oasis, Egypt”. *Global Advanced Research Journal of Microbiology*. 5(3). 033-041.
- Foteini, K., Pavlos, M., Maroudio, K. and Pascal, D. 2011. “Antibacterial activity in microalgae cultures”. *Aquaculture Research*. 1-8.
- Gorkem, D. and Basaran, D. 2014. “Antibacterial activity of two brown algae (*Cystoseira compressa* and *Padina pavonica*) against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*”. *British Microbiology Research Journal* 4 (8): 918-923.
- Hristo, M.N., Liliana, G.G., Ivan, I. Iliev, P., Pilarski, S., Jaromir, L., Iva V., Tsvetkova, M.S., Ninova, N. and Vesselin, K.K. 2013. “Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria”. *International Journal of Food Science and Technology*, 48: 1533-1540.
- Hend, A. and Kahkashan, P. 2017. “Antibacterial activity and morphological changes in human pathogenic bacteria caused by *Chlorella vulgaris* extracts”. *Biomedical Research*. 28 (4): 1610-1614.

- Jayashree, J., Nilotpala, P., Rati, R. N., Bishnu, P.D., Lala, B.S., Prasanna, K.P., and Barada, K.M. 2014. "Microalga *Scenedesmus* sp.: A Potential Low-Cost Green Machine for Silver Nanoparticle Synthesis". **Journal of Microbiology and Biotechnology**. 24 (4): 522–533.
- Jorge, M.S. Rocha S., Juan, E., Garcia, C. and Marta, F.H. 2003. "Growth aspects of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana*". **Biomolecular Engineering**. 20: 237- 242.
- Joo, Y.J., Jim, H.D., Park, Y., Kim, K., Seonga, M., Hyeong, W.J., Kim, S. and Sungchul, C. B. 2017. "Autotrophic biofloc technology system (ABFT) using *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* positively affects performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)". **Algal Research**. 27: 259–264.
- Josh, S. 2007. "The cell envelope subtilisin-like proteinase is a virulence determinant for *Streptococcus suis*". **BMC Microbiology**. 10: 42.
- Justella, W.P., Johnson, M. and Solomon, J. 2011. "Antimicrobial activity of certain fresh water microalgae from Thamirabarani River, Tamil Nadu, South India". **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. S170-S173.
- Leal, J.F., Henriques, I.S., Correia, A., Santos, E.B.H. and Esteves, V.I. 2016. "Antibacterial activity of oxytetracycline photoproducts in marine aquaculture's water". **Environmental Pollution**. Xxx: 1-6.
- Gurudeo, T.P. 2016. "Antioxidant Activity of the Freshwater Microalga *Chlamydomonas* sp.". **International Journal of Pure & Applied Bioscience**. 4 (5): 55-58.
- Perez, M.C., Rivas A., Martinez A. และ Rodrigo, D. 2017. "Antimicrobial potential of micro and microalgae against pathogenic and spoilage microorganisms in food". **Food Chemistry**. 7: 1-46.
- Malek, B.H., Kaouther, M., Hichem, B.J., Mahjoub, A., Maha, M. and Boulbaba, S. 2017. "Antimicrobial activity of Tunisian *Euphorbia paralias* L". **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. 7 (7): 629–632.
- Neha, S.A., Suseela, R.M., Toppo, K. และ Laerence, R. 2017. "Antimicrobial activity of some potential green algae strains isolated from Bundelkhand region uttar pradesh". **International Journal of Medicine and Pharmaceutical Science**. 7 (4): 15-26.
- Renukadevi, K.P., Saravana, P.S. and Angayarkanni, J. 2011. "Antimicrobial and antioxidant activity of *Chlamydomonas reinhardtii* sp." **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**. 2(6): 1467-1472.

- Rigos G. and Troisi G.M. 2005. "Antibacterial agents in Mediterranean finfish farming: A synopsis of drug pharmacokinetics in important euryhaline fish species and possible environmental implications". **Reviews in Fish Biology and Fisheries**. 15: 53–73.
- Sabreen, E.F., ElGohary, M.S., Abdelgawad, Y.E., Doaa, M.G., Farag, F. H. and Nagwan, M. 2017. "Contribution of microalgae-enriched fodder for the Nile tilapia to growth and resistance to infection with *Aeromonas hydrophila*". **Algal Research**. 27: 82–88.
- Saidani, K., Bedjou, F., Benabdesselam, F. and Touati, N. 2012. "Antifungal activity of methanolic extracts of four Algerian marine algae species". **African Journal of Biotechnology**. 11 (39): 9496-9500.
- Singh, J. and Gu, S. 2010. "Commercialization potential of microalgae for biofuels production". **Renewable & Sustainable Energy Reviews**. 14: 2596-2610.
- Stephen, J.K. and John M.W. 1989. "Antibacterial activity from marine microalgae in laboratory culture". **British Phycological Journal**. 24 (2): 191-194.
- Shabudeen, S., Ashok, A. and Indhumathi, P. 2015. "The Uses of *Chlorella Vulgaris* as Antimicrobial Agent and as a Diet: the Presence of Bio-active Compounds which caters the Vitamins, Minerals in General". **International Journal of Bio-Science and Bio-Technology**. 7 (1): 185-190.
- Shim A.J., Son A.Y., Park J.M. and Kim M.K. 2008. "Effect of Chlorella intake on Cadmium metabolism in rats". **Nutrition Research and Practice**. 3 (1): 15–22.
- Thangapandi, M. and Thipparamalai, T.A.K. 2013. "Antibacterial effect of fucoidan from *Sargassum wightii* against the chosen human bacterial pathogens". Marudhupandi and Kumar, **International Current Pharmaceutical Journal**. 2 (10): 156-158.
- Thamilvanan D., Karthikeyan D., Muthukumaran M., and Balakumar B.S. 2016. "Antibacterial activity of selected microalgal members of chlorophyceae". **World Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences**. 5 (10): 718 – 729.
- Weston, K, Chen, K., Pourmir, A., Daniel, W.C., Geoffrey L.P. and Tyler W.J. 2014. "Production and characterization of algae extract from *Chlamydomonas reinhardtii*". **Electronic Journal of Biotechnology**. 17: 14–18.
- Vijay, P., David, B., Pravin, P. and Miroslav, G. 2015. "Screening of cyanobacteria and microalgae for their ability to synthesize silver nanoparticles with antibacterial activity". **Biotechnology Reports**. 5: 112–119.

- Xin, X., Huang, G., Liu, X., An, C., Yao, Y., Weger, H., Zhang, P. and Chen, X. 2017. "Molecular toxicity of triclosan and carbamazepine to green algae *Chlorococcum* sp.: A single cell view using synchrotron-based Fourier transform infrared spectromicroscopy". *Environmental Pollution*. 226: 12-20.
- Xavier, D.R., Shanmugavel, S., Kuppu, R. and Sundaram, J. 2012. "Screening of selected marine algae from the coastal Tamil Nadu, South India for antibacterial activity". *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. S140-S146.
- Zhang, W., Cheng, C., Li, C., Shanshan, D., Chunxiao, L., Jinling, D. and Zhiqiang, Z. 2016. "Enantioselective toxic effects of cyproconazole enantiomers against *Chlorella pyrenoidosa*". *Chemosphere*. 159: 50-57.
- Zhao, J., CaoX., Liu, X., Wang, Z., Zhang, C., Jason, C. W. and Xing, B. 2015. Interactions of CuO nanoparticles with the algae *Chlorella pyrenoidosa*: Adhesion, uptake and toxicity. *Nanotoxicology*. 10: 1743 – 5404.
- Zeliha, D., Ferda, F. Y., Ulku, N.K., Guven, O. and Atakan, S. 2009. "Antimicrobial and antioxidant activity of brown algae from the Aegean Sea". *Journal of the Serbian Chemical Society*. 74 (6): 619–628.
- Spectrum Diagnostics, The Creative Approach to Bioscience (ออนไลน์). เข้าถึงข้อมูลได้จาก : [http://www.spectrum-diagnostics.com/data/Lactate_Dehydrogenase\(9+1\)](http://www.spectrum-diagnostics.com/data/Lactate_Dehydrogenase(9+1)).
- ชวนพิศ สิทธิมิ่งค์ และ เกวลิน หนูฤทธิ์ (ออนไลน์). สถานการณ์การเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมและ แนวโน้มในครึ่งปี หลัง ปี 2553. 2553. แหล่งข้อมูล: <http://fisheconomic.blogspot.com/2010/11/>. / ค้นเมื่อวันที่ 10 พฤษภาคม, 2016.
- โรงพยาบาลเลิดสิน (ออนไลน์). แหล่งข้อมูล: www.lerdsin.go.th/upload/TOR20091116_3.doc
- ทีมงาน Siamhealth.net (ออนไลน์). แหล่งที่ข้อมูล: https://www.siamhealth.net/public_html/Health/Lab_interprete/albumin.html ค้นเมื่อวันที่ 15 พฤษภาคม, 2016.
- อภัย ราษฎร์วิจิตร. ออกซิเตตราไซคลิน (Oxytetracycline) (ออนไลน์).. หาหมอ.com. 2015. แหล่งข้อมูล: <http://haamor.com/th/ออกซิเตตราไซคลิน/>. ค้นเมื่อวันที่ 10 พฤศจิกายน, 2016.
- อักษร แสงเทียนชัย(ออนไลน์). ระดับยาต้านจุลชีพและการตกค้างของยาในปลา. 2017. แหล่งข้อมูล: <http://www3.rdi.ku.ac.th/?p=40932>. ค้นเมื่อวันที่ 17 พฤษภาคม, 2016.
- Christensen (ออนไลน์). สำหรับรายสี่เขียว. 2549. แหล่งข้อมูล: <http://www.eduzones.com/knowledge-2-5-28773.html>. ค้นเมื่อวันที่ 25 มิถุนายน, 2016.
- John A. Bukowski, Symptoms to Watch for in Your Dog (ออนไลน์). แหล่งข้อมูล: <http://dawgbusiness.blogspot.com/2012/01/what-is-serum-biochemistry-profile.html>. ค้นเมื่อวันที่ 10 มิถุนายน, 2016.

- MedThai (ออนไลน์). อะม็อกซิซิลลิน (Amoxicillin) สรรพคุณ วิธีใช้ ผลข้างเคียง ฯลฯ. 2017.
 แหล่งข้อมูล: <https://medthai.com/%E0%B8%AD%E0%B8%B0%E0%B8%A1%E0%B9%87%E0%B8%AD%E0%B8%81%E0%B8%8B%E0%B8%B5%E0%B8%8B%E0%B8%B4%E0%B8%A5%E0%B8%A5%E0%B8%B4%E0%B8%99/>. ค้นเมื่อวันที่ 10 มิถุนายน, 2016.
- Unknown. *การเลี้ยงปลาชนิด*. Suratthani Inland Fisheries Research and Development Center. 2014. แหล่งข้อมูล: ค้นเมื่อวันที่ 10 มิถุนายน, 2016.
<http://library.cmu.ac.th/rsc/?writereport.php&contid=3>.
- <https://utex.org/products/utex-0026>
- http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Scenedesmus/quadricauda/sp_01
- <https://th.ilovevaquero.com/obrazovanie/88507-strukturnye-osobennosti-i-stroenie-hlamidomonady.html>
- http://protist.i.hosei.ac.jp/PDB/Images/Chlorophyta/Chlorococum/sp_1c.html
- <http://www.forfarm.co/98>
- <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926417304873>
- <https://www.otopmidyear.com/page-62.php>
- <https://foodconsulting.co.za/an-introduction-to-escherichia-coli/>
- <http://articles.extension.org/pages/28432/staphylococcus-aureus>
- <https://en.wikipedia.org/wiki/Oxytetracycline>
- <https://en.wikipedia.org/wiki/Enrofloxacin>
- <https://th.wikipedia.org/wiki/Amoxicillin>

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ BG-11

สาร	ปริมาณ(กรัมต่อลิตร)
NaNO_3	1.500
K_2HPO_4	0.040
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.075
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.036
Citric acid	0.006
Ferric ammonium citrate	0.006
EDTA (disodium salt)	0.001
NaCO_3	0.020
Trace metal solution	1.000

ละลายส่วนผสมทั้งหมดแล้วปรับ pH ให้ได้เท่ากับ 7.2 จากนั้นจึงใส่ agar ปรับปริมาณน้ำ ให้ครบ 1 ลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อ ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ *Trace metal solution มีส่วนประกอบดังนี้

สาร	ปริมาณ (กรัมต่อลิตร)
H_3BO_3	2.8600
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.8100
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2220
$\text{NaMoO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.0390
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.0790
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.0490

อาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

2. สูตรอาหาร Tryptic Soy Agar (TSA)

สาร	ปริมาณ (กรัมต่อลิตร)
Pancreatic Digest of Casein	15.0000
Enzymatic Digest of Soybean Meal	5.0000
Sodium Chloride	5.0000
Agar	15.0000
Distilled water	1000 ml.
pH	7.3±0.2

ชั่ง TSA 40 กรัม ลงในน้ำ 1 ลิตร และเติมเกลือ NaCl 15 กรัม ต้มให้ละลาย แล้วใส่ในขวดนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข.

ตารางแสดงข้อมูลการทดลอง

ตารางที่ ข.1 ตารางแสดงผลการวัดการเจริญของสาหร่ายด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร

สาหร่าย	วันที่												
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26
<i>Chlorella</i> sp. VB55	0.245	0.36	0.537	0.666	0.777	0.882	1.203	1.428	1.785	1.8	-	-	-
	0.29	0.431	0.574	0.688	0.89	1.217	1.827	1.902	2.169	2.16	-	-	-
	0.293	0.422	0.547	0.622	0.744	1.08	1.347	1.389	1.647	1.65	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	0.276	0.404333	0.552667	0.658667	0.803667	1.059666667	1.459	1.573	1.867	1.87	-	-	-
<i>Chlorella</i> sp. 5	0.103	0.136	0.477	0.548	1.436	2.001	2.361	3.144	3.864	4.756	5.91	6.36	-
	0.146	0.094	0.377	0.519	1.392	2.064	2.412	3.192	3.832	4.34	5.322	5.838	-
	0.13	0.18	0.289	0.668	1.762	2.556	2.895	3.796	4.34	4.912	6.336	6.834	-
ค่าเฉลี่ย	0.126333333	0.136667	0.381	0.578333	1.53	2.207	2.556	3.377333	4.012	4.66933333	5.856	6.344	-
<i>Chlorella</i> sp. U	0.223	0.641	0.825	0.525	1.18	1.71	2.058	2.412	2.988	3.612	4.704	5.16	5.2
	0.249	0.633	0.805	0.519	1.158	1.713	1.974	2.343	3.3	4.252	4.494	5.82	5.9
	0.217	0.695	0.872	0.544	1.206	1.737	2.064	2.52	3.608	4.672	5.46	6.252	6.26
ค่าเฉลี่ย	0.229666667	0.656333	0.834	0.529333	1.181333	1.72	2.032	2.425	3.29866667	4.17866667	4.886	5.744	5.786667

ตารางที่ ข.1 (ต่อ) ตารางแสดงผลการวัดการเจริญของสาหร่ายด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร

<i>Chlorella</i> sp. 3	0.234	0.664	1.185	1.503	1.938	2.319	3.08	3.724	4.55	5.705	6.36	7.378	7.804
	0.285	0.714	1.314	1.506	1.647	2.064	3.132	3.62	4.16	5.43	6.102	7.035	7.61
	0.231	0.605	1.191	1.524	1.791	2.058	2.844	3.448	4.365	5.26	6.036	6.944	7.542
ค่าเฉลี่ย	0.25	0.661	1.23	1.511	1.792	2.147	3.018667	3.5973 33	4.3583 3333	5.465	6.166	7.119	7.652
<i>Chlorella</i> sp. A	0.116	0.578	0.962	1.2	1.504	1.655	1.987	2.105	-	-	-	-	-
	0.116	0.577	0.964	1.4	1.599	1.673	1.844	1.921	-	-	-	-	-
	0.116	0.576	0.986	2.104	2.424	2.508	2.598	2.64	-	-	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	0.116	0.577	0.970667	1.568	1.842333	1.94533 3333	2.143	2.222	-	-	-	-	-
<i>Chlorella</i> sp. N11-59	0.274	0.4227	0.629	0.903	2.618	3.252	3.642	3.958	4.144	-	-	-	-
	0.261	0.453	0.651	0.931	2.252	3.378	3.63	3.987	4.158	-	-	-	-
	0.2548	0.432	0.58	0.83	2.268	3.366	3.642	3.994	4.1667	-	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	0.26326 6667	0.4359	0.62	0.888	2.379333	3.332	3.638	3.9796 67	4.1562 3333	-	-	-	-
<i>Chlamydomonas</i> sp. P	0.208	0.441	0.567	0.684	0.805	0.908	0.984	1.254	1.62	1.63	-	-	-
	0.244	0.362	0.56	0.712	0.85	1.005	1.251	1.539	1.956	1.96	-	-	-
	0.234	0.355	0.646	0.81	0.965	1.151	1.347	1.653	1.875	1.877	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	0.22866 6667	0.386	0.591	0.735333	0.873333	1.02133 3333	1.194	1.482	1.817	1.8223 3333	-	-	-

ตารางที่ ข.1 (ต่อ) ตารางแสดงผลการวัดการเจริญของสาหร่ายด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร

<i>Chlamydomonas</i> sp. B1-59 ค่าเฉลี่ย	0.4077	0.891	1.442	2.096	3.39	3.552	3.75	4.128	4.367	-	-	-	-
	0.4567	0.942	1.716	2.484	3.604	3.924	4.338	4.41	4.622	-	-	-	-
	0.4747	0.92	1.596	2.6	4.196	4.23	4.68	4.8	5.01	-	-	-	-
	0.44636 6667	0.917667	1.584667	2.393333	3.73	3.902	4.256	4.446	4.6663 3333	-	-	-	-
<i>Chlamydomonas</i> sp. Unknown A	0.227	0.336	0.595	0.766	0.922	1.113	1.323	1.47	1.86	1.88	-	-	-
	0.193	0.454	0.589	0.696	0.824	0.981	1.155	1.473	1.896	1.9	-	-	-
	0.065	0.306	0.442	0.541	0.6773	1.001	1.329	1.488	2.103	2.103	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	0.16166 6667	0.365333	0.542	0.667667	0.807767	1.03166 6667	1.269	1.477	1.953	1.961	-	-	-
<i>Chlorococcum</i> sp. AB1	0.274	0.623	0.871	1.166	1.464	1.716	1.744	1.746	-	-	-	-	-
	0.11	0.502	0.727	0.994	1.15	1.344	1.352	1.356	-	-	-	-	-
	0.092	0.413	0.597	0.89	1.04	1.342	1.364	1.368	-	-	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	0.15866 6667	0.512667	0.731667	1.016667	1.218	1.46733 3333	1.486667	1.49	-	-	-	-	-
<i>Scenedesmus</i> sp. F14	0.233	0.883	1.26	1.587	1.941	2.202	2.319	2.334	-	-	-	-	-
	0.197	0.792	1.39	1.836	2.199	2.49	2.643	2.664	-	-	-	-	-
	0.212	0.822	1.53	2.004	2.37	3.06	2.991	2.991	-	-	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	0.214	0.832333	1.393333	1.809	2.17	2.584	2.651	2.663	-	-	-	-	-

ตารางที่ ข.2 ตารางแสดงผลการวัดการเจริญของสาหร่ายด้วยการนับจำนวนเซลล์ (จำนวนเซลล์ $\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

สาหร่าย	วันที่												
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26
<i>Chlorella</i> sp. VB55	1.025	4.12	9.2	12.19	16.74	19.8	22.4	23.7	24.44	24.6	-	-	-
	1.042	4.85	9.5	13.925	20.1	23.14	25.7	27.8	29.1	30	-	-	-
	1.067	4.97	9.7	14.12	21.34	24.2	26.9	28.7	29.8	30.8	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	1.0446 6667	4.6466 67	9.466667	13.41167	19.393 33	22.38	25	26.73333	27.78	28.46666 67	-	-	-
	1.325	4.53	17.04	17.825	21	22.3	22.8	23.1	23.3	23.7	23.78	23.8	-
<i>Chlorella</i> sp. 5	1.011	4.04	16.65	17.2	20.8	21.9	22.6	22.9	23.04	23.82	23.9	23.97	-
	1.422	4.83	17.825	18.4	21.8	22.7	23.1	23.3	23.47	24.01	24.1	24.16	-
	1.2526 66667	4.4666 67	17.17167	17.80833	21.2	22.3	22.83333	23.1	23.27	23.84333 33	23.92667	23.976 67	-
<i>Chlorella</i> sp. U	2.4544	6.7741	10.7981	11.9874	22.864 5	23.1458	24.0087	24.112	24.441	24.7443	25.0456	25.219 85	25.252 14
	2.4578	7.015	10.80021	12.00043	22.887 4	23.14976	24.0147	24.1218	24.44431	24.7486	25.0769	25.219 94	25.300 14
	2.4581 2	7.0774	10.80346	12.00521	22.899 3	23.15014	24.0203	24.1304	24.498	24.7751	25.01143	25.220 01	25.310 55
ค่าเฉลี่ย	2.4567 73333	6.9555	10.80059	11.99768	22.883 73	23.14856 667	24.01457	24.1214	24.46110 33	24.756	25.04464	25.219 94	25.287 61

ตารางที่ ข.2 (ต่อ) ตารางแสดงผลการวัดการเจริญของสาหร่ายด้วยการนับจำนวนเซลล์ (จำนวนเซลล์ $\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิเมตร)

<i>Chlorella</i> sp. 3	2.5778	7.443	11.1014	12.2564	24.2413	24.6664	24.8887	25.0034	25.343	27.012	27.343	27.57501	27.575 32
	2.6102	7.488	11.11052	12.26787	24.24465	24.6876	24.88924	25.0104	25.3787	27.0443	27.35362	27.52987	27.532 2
	2.61145	7.5114	11.20074	12.2772	24.24501	24.6962	24.89001	25.0112	25.3987	27.0541	27.36124	27.50366	27.504 16
ค่าเฉลี่ย	2.599816 667	7.4808	11.13755	12.26716	24.24365	24.6834	24.88932	25.00833	25.37346 67	27.0368	27.35262	27.53618	27.537 23
<i>Chlorella</i> sp. A	1.425	14.9	15.5	16.225	23.4	24.1	25.2	25.6	-	-	-	-	-
	1.398	14.27	14.72	16.09	23	23.8	24.8	25.1	-	-	-	-	-
	1.429	15.14	16.05	17.14	24.1	24.7	25.5	25.7	-	-	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	1.417333 333	14.77	15.42333	16.485	23.5	24.2	25.16667	25.46667	-	-	-	-	-
<i>Chlorella</i> sp. N11-59	2.075	4.925	10.5	19.65	22.1	23.6	24.5	24.8	24.86	-	-	-	-
	1.85	3.875	6.325	18.45	21.8	23.1	23.93	24.08	24.1	-	-	-	-
	1.85	3.6	4.675	15.025	21	22.4	23.01	23.24	23.28	-	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	1.925	4.133333	7.166667	17.70833	21.63333	23.03333	23.81333	24.04	24.08	-	-	-	-
<i>Chlamydomo- nas</i> sp. P	1.001	9.36	9.62	12.3	19.78	19.99	20.02	22.48	22.795	22.8	-	-	-
	1.011	9.39	9.74	13.845	19.796	20.06	20.15	22.5	23.34	23.4	-	-	-
	1.0098	9.37	9.68	14.01	19.8	20.073	20.17	22.58	22.98	23	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	1.007266 667	9.373333	9.68	13.385	19.792	20.041	20.11333	22.52	23.03833 33	23.06666 67	-	-	-

ตารางที่ ข.2 (ต่อ) ตารางแสดงผลการวัดการเจริญของสาหร่ายด้วยการนับจำนวนเซลล์ (จำนวนเซลล์ $\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

<i>Chlamydomonas</i> sp. B1-59	2.75	7.98	15.475	24.25	27.8	28.4	29.07	29.72	29.78	2.75	-	-	-
	2.975	8.04	15.725	25.35	28.9	29.7	29.96	30.11	30.16	2.975	-	-	-
	3.725	8.35	17.05	31.375	33.04	33.4	33.8	34.04	34.08	3.725	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	3.15	8.123333	16.08333	26.99167	29.91333	30.5	30.94333	31.29	31.34	3.15	-	-	-
<i>Chlamydomonas</i> sp. Unknown A	2.6784	4.4562	9.75532	16.7742	19.7887	19.8005	19.893	20.144	24.912	24.987	-	-	-
	2.735	4.6732	9.7664	16.80036	19.7912	19.8042	19.8997	20.182	24.9987	25.078	-	-	-
	2.7668	4.69728	9.78874	16.80078	19.80073	19.8412	19.9001	20.199	25.087	25.1045	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	2.72673	4.608893	9.770153	16.79178	19.79354	19.8153	19.8976	20.175	24.99923	25.0565	-	-	-
<i>Chlorococcum</i> sp. AB1	1.01	6.8	15.5	19.9	23.8	24	24.04	24.08	-	-	-	-	-
	0.97	7.6	16.7	20.11	23.64	23.9	23.95	23.97	-	-	-	-	-
	0.89	7.5	16.4	20	23.37	23.68	23.7	23.76	-	-	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	0.95666	7.3	16.2	20.00333	23.60333	23.86	23.89667	23.93667	-	-	-	-	-
<i>Scenedesmus</i> sp. F14	3.8	9.98	16.9	19.9	21.1	21.59	21.74	21.8	-	-	-	-	-
	3.97	10	17.04	20.01	21.16	21.78	21.9	21.98	-	-	-	-	-
	4	10.54	17.1	20.1	21.2	21.97	22.09	22.11	-	-	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	3.92333	10.17333	17.01333	20.00333	21.15333	21.78	21.91	21.96333	-	-	-	-	-

ตารางที่ ข.3 ตารางแสดงผลการวัดปริมาณน้ำหนักรวมของสาหร่าย (กรัมต่อมิลลิลิตร)

สาหร่าย	วันที่												
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26
<i>Chlorella</i> sp. VB55	0.0002	0.0004	0.0007	0.0008	0.0012	0.0014	0.0014	0.0016	0.0016	0.0016	-	-	-
	0.0001	0.0006	0.0008	0.001	0.0012	0.0013	0.0014	0.0015	0.0016	0.0016	-	-	-
	0.0002	0.0004	0.0007	0.0011	0.0012	0.0013	0.0014	0.0015	0.0016	0.0016	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	0.00016667	0.00047	0.00073	0.00097	0.0012	0.0013333	0.0014	0.00153	0.0016	0.0016	-	-	-
<i>Chlorella</i> sp. 5	0	0.0002	0.0003	0.0005	0.0006	0.0009	0.0012	0.0015	0.0016	0.0016	0.0019	0.0019	-
	0	0.0001	0.0003	0.0004	0.0004	0.0007	0.0009	0.0009	0.0015	0.0016	0.0019	0.0019	-
	0	0.0001	0.0002	0.0003	0.0004	0.0006	0.0011	0.0012	0.0016	0.0017	0.0019	0.0019	-
ค่าเฉลี่ย	0	0.00013	0.00027	0.0004	0.00047	0.0007333	0.00107	0.0012	0.001567	0.001633	0.0019	0.0019	-
<i>Chlorella</i> sp. U	0.0002	0.0003	0.0004	0.0004	0.0005	0.0006	0.0007	0.0012	0.0015	0.0015	0.0016	0.0016	0.0016
	0.0001	0.0002	0.0002	0.0003	0.0008	0.0009	0.0011	0.0015	0.0015	0.0017	0.0017	0.0017	0.0017
	0.0001	0.0002	0.0004	0.0009	0.001	0.001	0.0013	0.0013	0.0014	0.0016	0.0019	0.002	0.002
ค่าเฉลี่ย	0.000133333	0.000233	0.000333	0.000533	0.000767	0.0008333 33	0.001033	0.001333	0.001466 67	0.0016	0.001733	0.001767	0.001767

ตารางที่ ข.3 (ต่อ) ตารางแสดงผลการวัดปริมาณน้ำหนักรวมของสาหร่าย (กรัมต่อมิลลิเมตร)

<i>Chlorella</i> sp. 3	0.0001	0.0003	0.0008	0.001	0.0012	0.0012	0.0015	0.0015	0.0017	0.0018	0.0021	0.0023	0.0023
	0.0003	0.0004	0.0006	0.0007	0.0009	0.0012	0.0014	0.0016	0.0017	0.0019	0.0021	0.0022	0.0022
	0	0.0002	0.0004	0.0006	0.0007	0.0009	0.0013	0.0015	0.0017	0.0018	0.0019	0.002	0.002
ค่าเฉลี่ย	0.00013 3333	0.0003	0.0006	0.000767	0.000933	0.0011	0.0014	0.001533	0.0017	0.001833 33	0.002033	0.002167	0.002167
<i>Chlorella</i> sp. A	0	0.0003	0.0005	0.0007	0.001	0.0014	0.0015	0.0015	-	-	-	-	-
	0.0001	0.0005	0.0007	0.0009	0.0013	0.0013	0.0016	0.0016	-	-	-	-	-
	0	0.0001	0.0004	0.0008	0.0011	0.0015	0.0017	0.0017	-	-	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	0	0.0003	0.000533	0.0008	0.001133	0.0014	0.0016	0.0016	-	-	-	-	-
<i>Chlorella</i> sp. N11-59	0.0001	0.0003	0.0007	0.001	0.0013	0.0014	0.0015	0.0016	0.0016	-	-	-	-
	0.0001	0.0002	0.0005	0.0009	0.0011	0.0013	0.0016	0.0016	0.0016	-	-	-	-
	0.0001	0.0003	0.0005	0.0008	0.0013	0.0014	0.0016	0.0016	0.0016	-	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	0.0001	0.000267	0.000567	0.0009	0.001233	0.00136 6667	0.001567	0.0016	0.0016	-	-	-	-
<i>Chlamydomonas</i> sp. P	0.0002	0.0006	0.0009	0.0011	0.0013	0.0014	0.0016	0.0016	0.0017	0.0017	-	-	-
	0.0002	0.0009	0.001	0.0012	0.0015	0.0016	0.0016	0.0017	0.0017	0.0017	-	-	-
	0.0003	0.0008	0.001	0.0013	0.0014	0.0015	0.0016	0.0017	0.0017	0.0017	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	0.00023 333	0.00077	0.00097	0.0012	0.0014	0.0015	0.0016	0.00167	0.0017	0.0017	-	-	-

ตารางที่ ข.3 (ต่อ) ตารางแสดงผลการวัดปริมาณน้ำหนักร้างของสาหร่าย (กรัมต่อมิลลิตร)

<i>Chlamydomonas</i> sp. B1-59	0.0002	0.0004	0.0007	0.001	0.0013	0.0014	0.0017	0.0018	0.0018	0.0002	-	-	-
	0.0001	0.0003	0.0007	0.0009	0.0011	0.0015	0.0018	0.0018	0.0018	0.0001	-	-	-
	0.0002	0.0004	0.0008	0.0011	0.0013	0.0015	0.0017	0.0018	0.0018	0.0002	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	0.00016 6667	0.000367	0.000733	0.001	0.001233	0.00146 6667	0.001733	0.0018	0.0018	0.000166 667	-	-	-
<i>Chlamydomonas</i> sp. Unknown A	0.0003	0.0005	0.0009	0.001	0.0011	0.0012	0.0013	0.0013	0.0014	0.0014	-	-	-
	0.0001	0.0004	0.0008	0.0011	0.0013	0.0014	0.0014	0.0015	0.0015	0.0015	-	-	-
	0	0.0005	0.0007	0.0011	0.0013	0.0013	0.0014	0.0014	0.0015	0.0015	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	0.00013 333	0.00047	0.0008	0.00107	0.00123	0.0013	0.00137	0.0014	0.001467	0.001467	-	-	-
<i>Chlorococcum</i> sp. AB1	0.0002	0.0005	0.0009	0.0012	0.0014	0.0015	0.0016	0.0016	-	-	-	-	-
	0.0001	0.0005	0.001	0.0014	0.0015	0.0016	0.0017	0.0017	-	-	-	-	-
	0.0002	0.0006	0.001	0.0012	0.0013	0.0015	0.0017	0.0017	-	-	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	0.00016 6667	0.000533	0.000967	0.001267	0.0014	0.00153 3333	0.001667	0.001667	-	-	-	-	-
<i>Scenedesmus</i> sp. F14	0.0001	0.0004	0.0008	0.0011	0.0014	0.0015	0.0016	0.0016	-	-	-	-	-
	0.0002	0.0003	0.0007	0.001	0.0013	0.0015	0.0016	0.0016	-	-	-	-	-
	0.0001	0.0003	0.0008	0.0012	0.0015	0.0015	0.0016	0.0016	-	-	-	-	-
ค่าเฉลี่ย	0.00013 3333	0.000333	0.000767	0.0011	0.0014	0.0015	0.0016	0.0016	-	-	-	-	-

ตารางที่ ข.4 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กและปริมาณน้ำหนักแห้ง

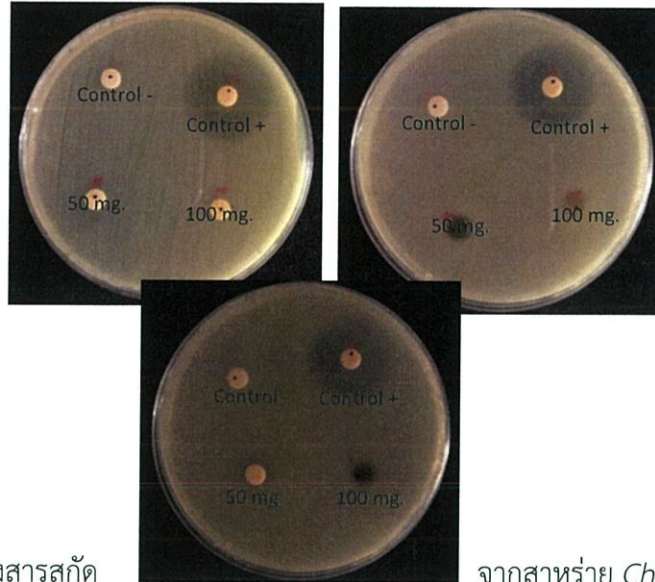
สาหร่าย	ปริมาณน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			ค่าเฉลี่ย	น้ำหนักสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (มิลลิกรัมต่อลิตร)			ค่าเฉลี่ย
<i>Chlorella</i> sp. VB55	3.8430	3.8520	3.7349	3.8099	0.3575	0.3946	0.3741	0.3754
<i>Chlorella</i> sp. 5	3.5168	3.6123	3.4331	3.5207	1.3317	1.2123	1.1341	1.2260
<i>Chlorella</i> sp. U	3.3476	3.8322	3.9912	3.3476	1.9420	1.8421	1.7623	1.8488
<i>Chlorella</i> sp. 3	3.9098	3.1892	3.1242	3.4077	4.0137	4.2131	3.4124	4.1797
<i>Chlorella</i> sp. A	3.6048	3.9222	2.4293	3.3187	6.2334	6.5135	5.4138	6.0535
<i>Chlorella</i> sp. N11-59	3.3466	3.1428	4.0148	3.5014	4.2452	4.0829	3.9612	4.0964
<i>Chlamydomonas</i> sp. P	4.3890	4.0211	3.9210	4.1103	1.1203	1.1004	1.3210	1.1805
<i>Chlamydomonas</i> sp. B1-59	4.4844	4.8210	4.0146	4.4400	0.9243	0.8349	1.0291	1.1805
<i>Chlorococum</i> sp. Unknown A	5.3000	5.1427	4.8214	5.0880	0.5663	0.5691	0.5524	0.5626
<i>Chlorococum</i> sp. AB1	4.2773	4.2773	4.4248	4.3264	0.5388	0.6492	0.4824	0.5568
<i>Scenedesmus</i> sp. F14	4.0416	3.9111	4.2132	4.0553	0.8357	0.7314	0.9213	0.8294

ตารางที่ ข.5 ผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กที่สกัดด้วยสารละลายไดคลอโรมีเทนที่มีความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อแผ่นทดสอบ

สาหร่าย	ความเข้มข้น	<i>S. aureus</i>			ค่าเฉลี่ย	<i>S.agalactiae</i>			ค่าเฉลี่ย	<i>E. coli</i>			ค่าเฉลี่ย	<i>A. hydrophila</i>			ค่าเฉลี่ย
<i>Chlorella</i> sp. VB55	100	8	8	8	8	8	8	7.5	7.83333	0	0	0	0	9.5	9	9	9.16666
	50	7	7	7	7	7.5	7	7	7.16667	0	0	0	0	7	7	8	7.33333
<i>Chlorella</i> sp. 5	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chlorella</i> sp. U	100	7.5	10	10	9.166667	8	8	14	10	0	0	0	0	10	0	0	0
	50	7	7	7	7	7	7	7	7	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chlorella</i> sp. 3	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chlorella</i> sp. A	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chlorella</i> sp. N11-59	100	9	9	9	9	9	10	9	9.33333	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	8	8	8	8	8	7	8	7.66667	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chlamydomonas</i> sp. P	100	7.5	7.5	7	7.333333	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chlamydomonas</i> sp. B1-59	100	8	9	9	8.666667	9	8	8	8.33333	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	7	8	8	7.666667	8	7.5	7.5	7.66667	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chlamydomonas</i> sp. Unknown A	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chlorococcum</i> sp. AB1	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Scenedesmus</i> sp. F14	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Oxytetracycline	50				21.57				21.18				19.69				25.21

ภาคผนวก ค.

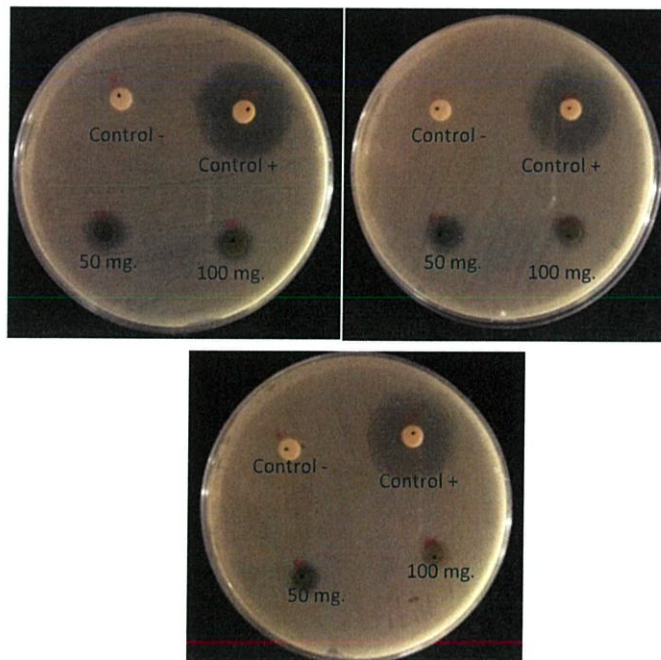
ภาพผลการทดลอง



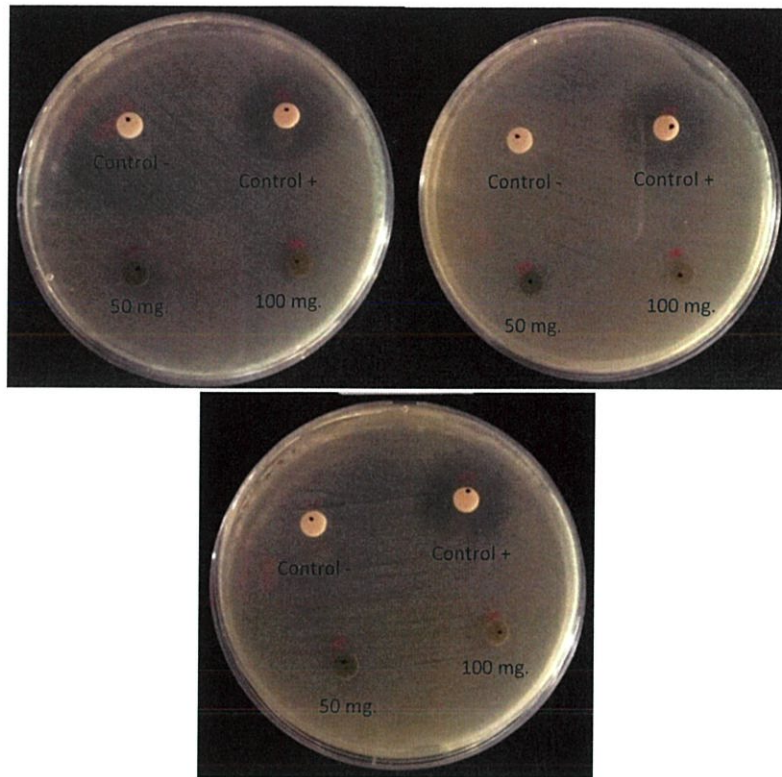
ภาพที่ ค-1 ผลของสารสกัด

จากสาหร่าย *Chlorella* sp. VB55 ที่

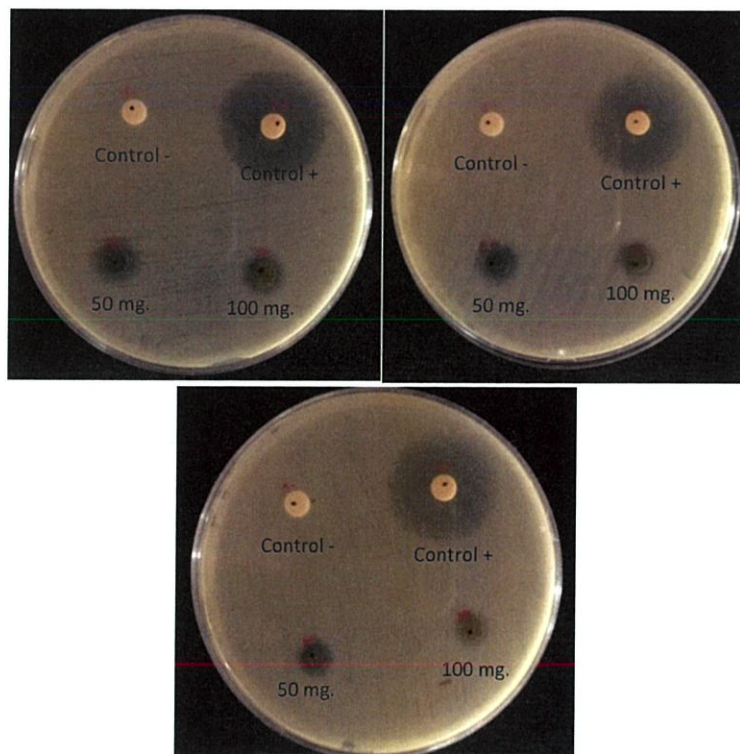
ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus*



ภาพที่ ค-2 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. VB55 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Strep. agalactiae*



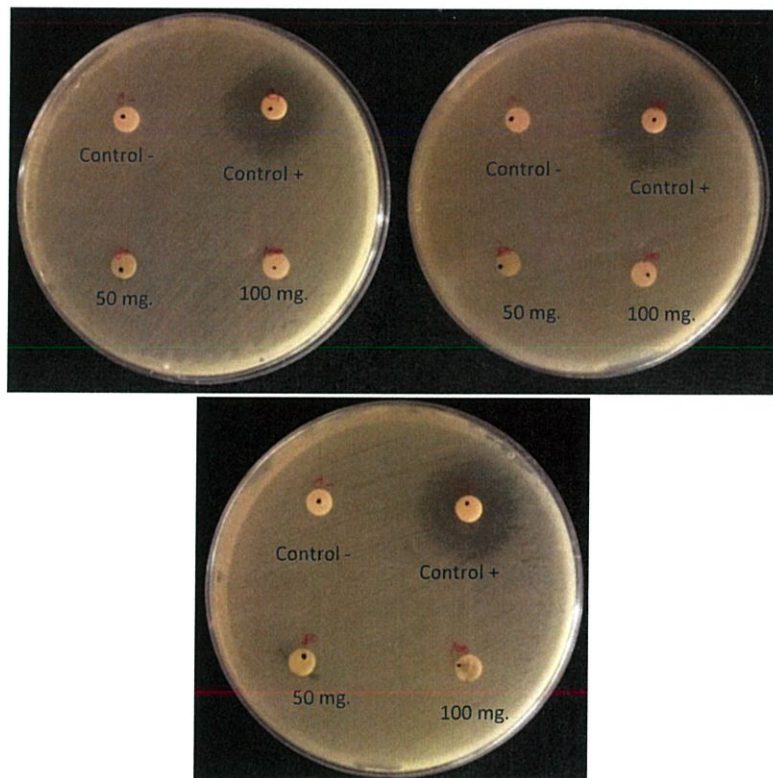
ภาพที่ ค-3 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. VB55 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*



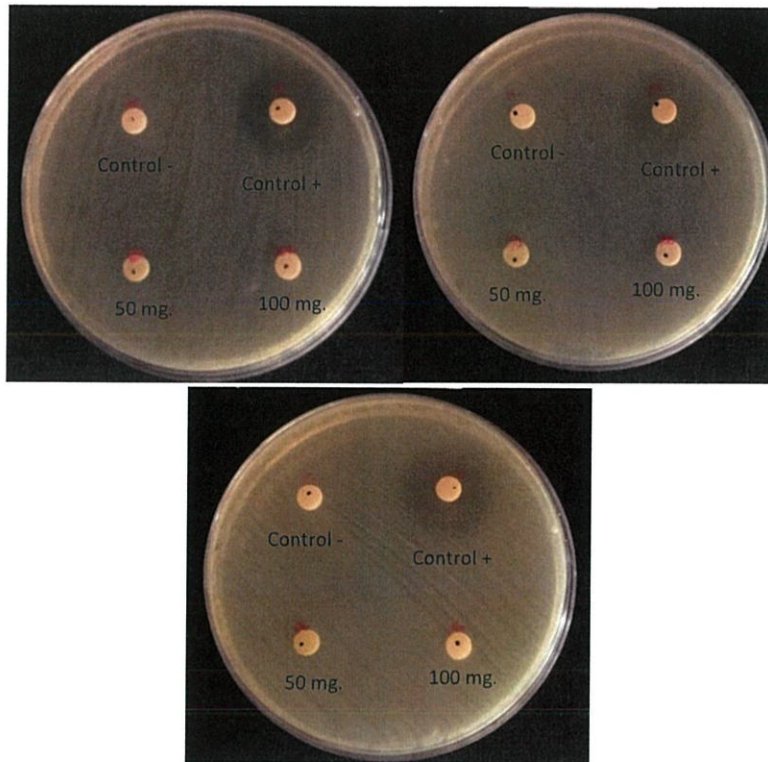
ภาพที่ ค-4 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. VB55 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*



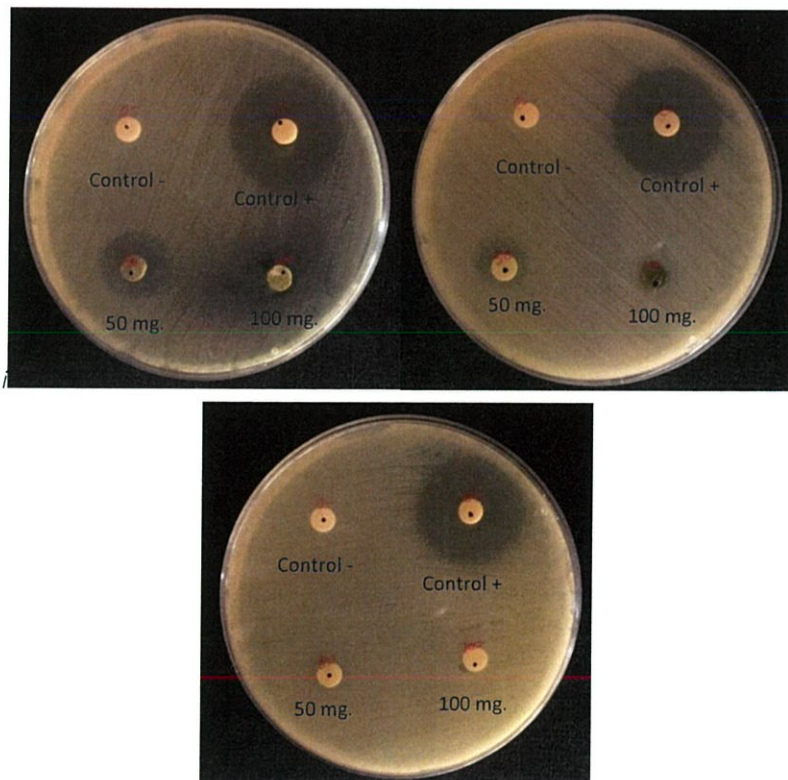
ภาพที่ ค-5 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus*



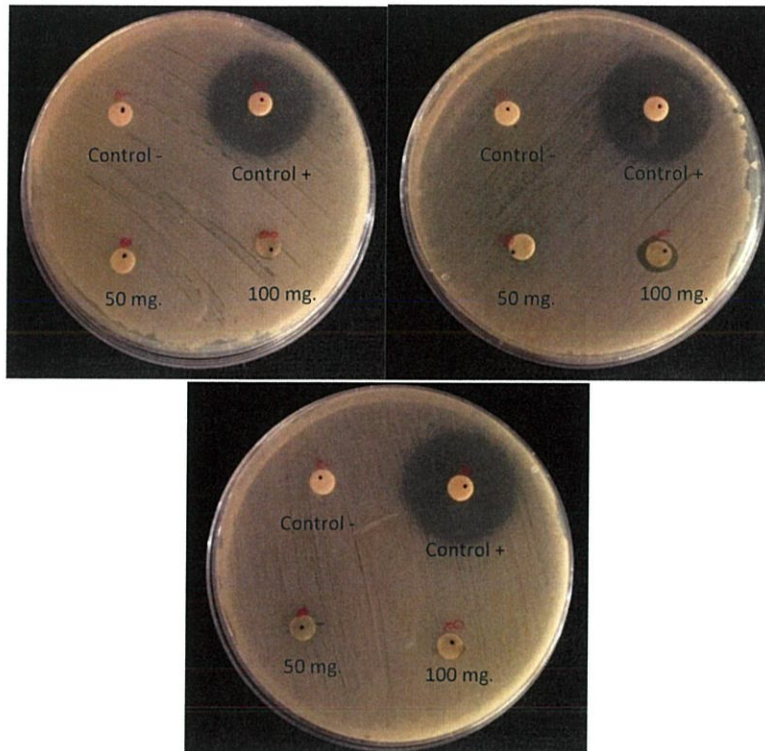
ภาพที่ ค-6 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Strep. agalactiae*



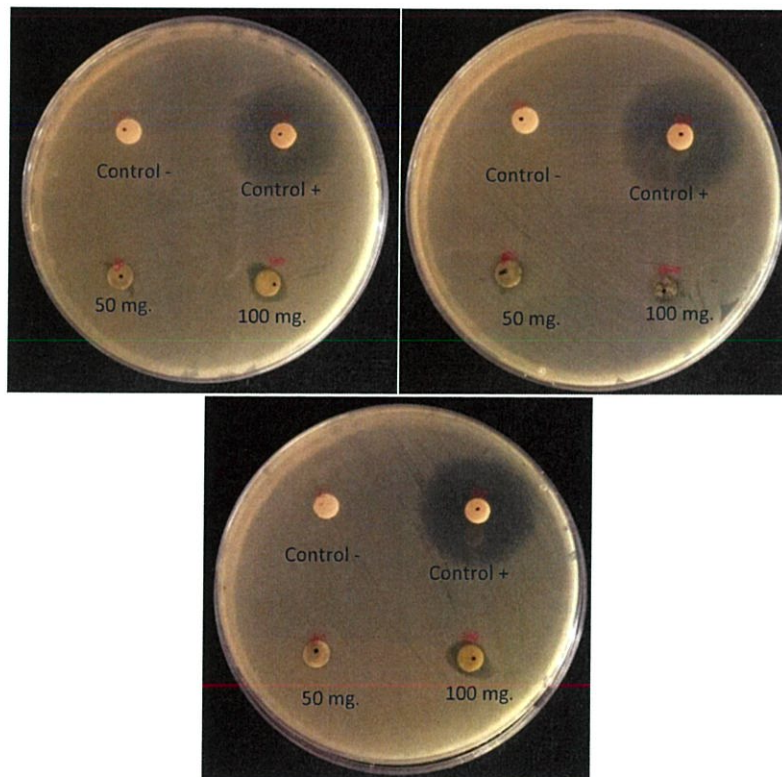
ภาพที่ ค-7 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*



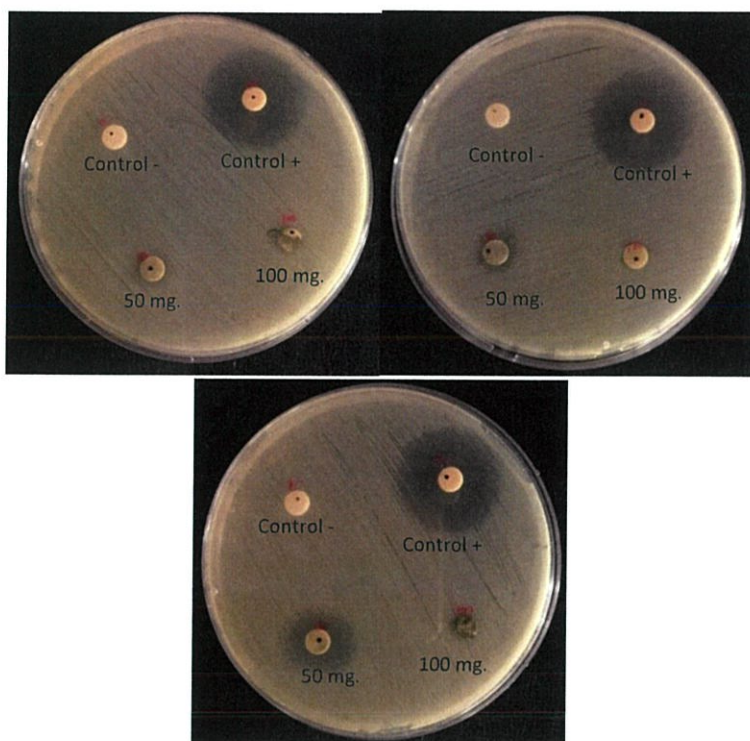
ภาพที่ ค-8 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 5 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*



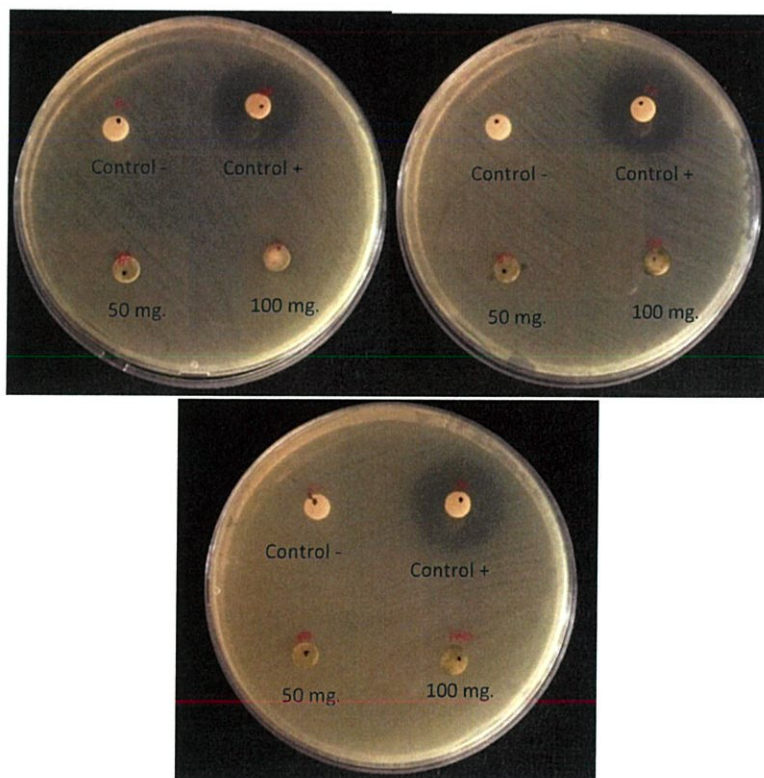
ภาพที่ ค-9 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. U ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus*



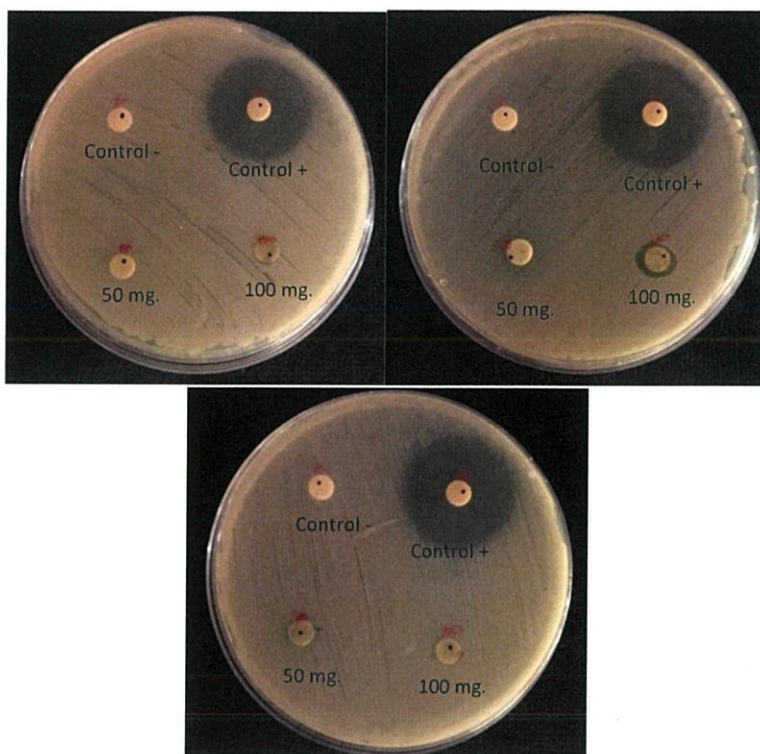
ภาพที่ ค-10 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. U ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus*



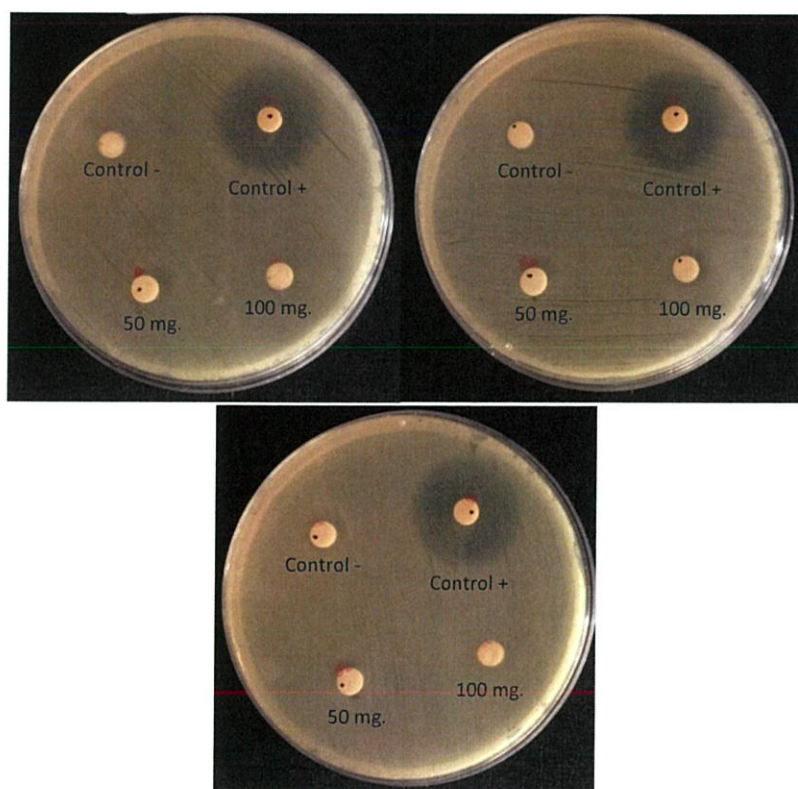
ภาพที่ ค-11 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. U ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Strep. agalactiae*



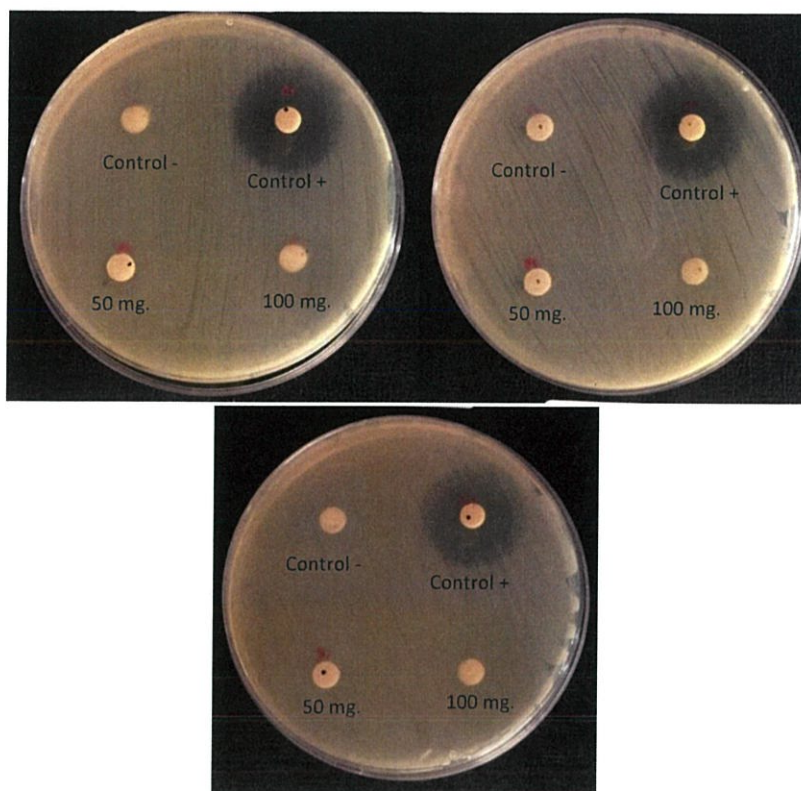
ภาพที่ ค-12 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. U ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coil*



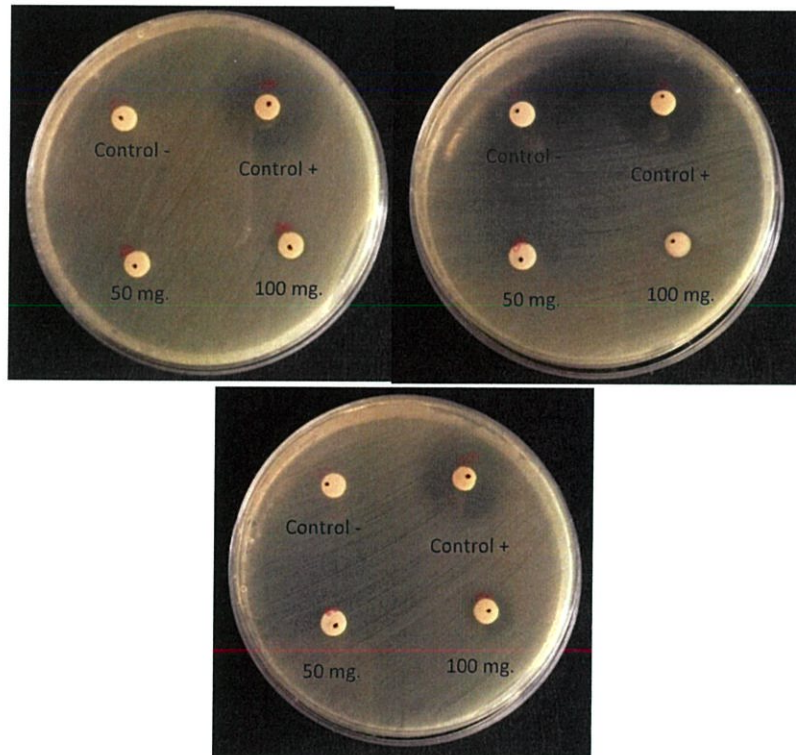
ภาพที่ ค-13 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. U ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*



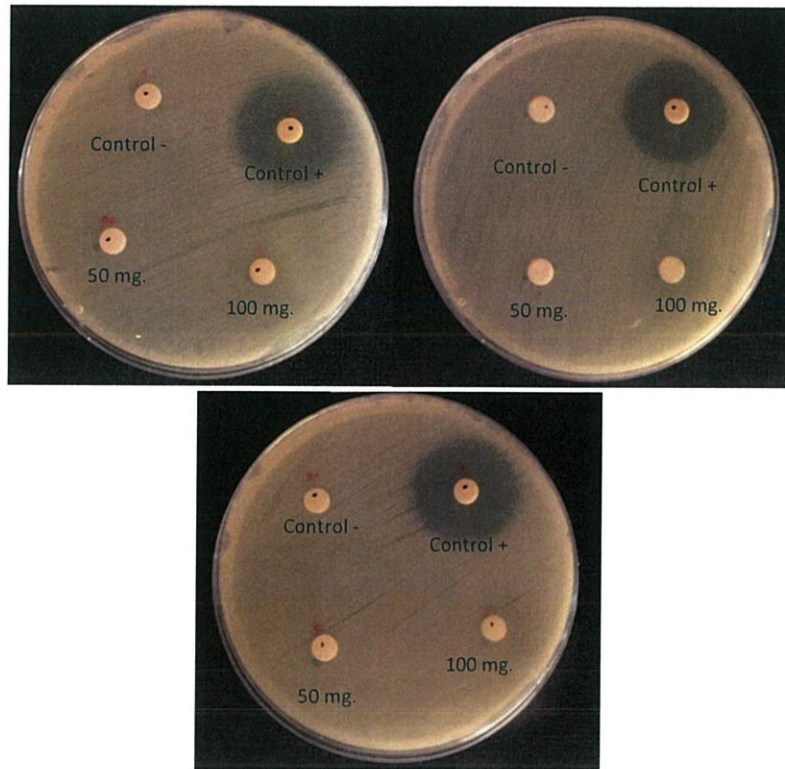
ภาพที่ ค-14 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 3 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus*



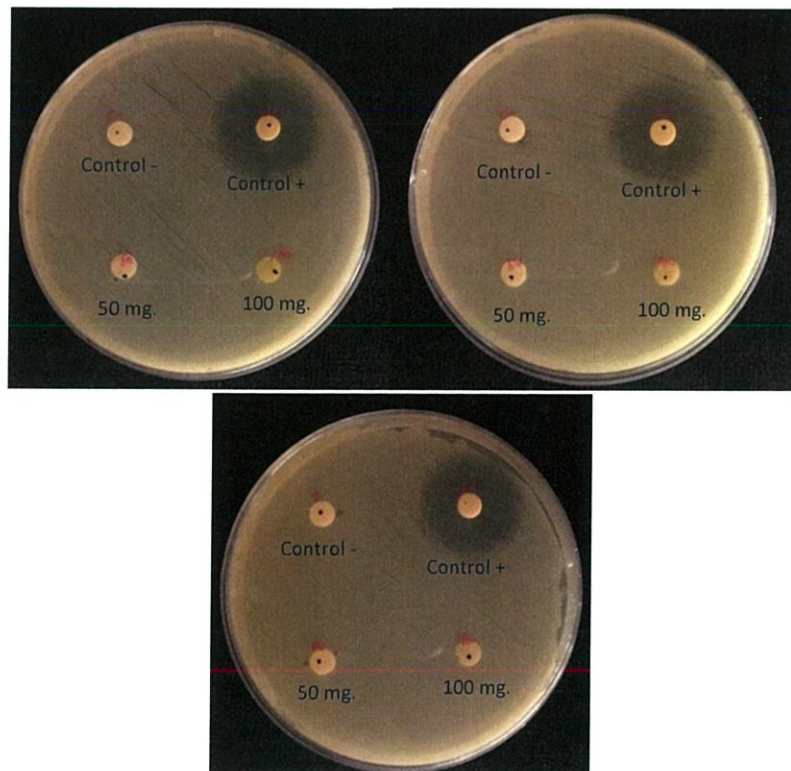
ภาพที่ ค-15 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 3 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Strep. agalactiae*



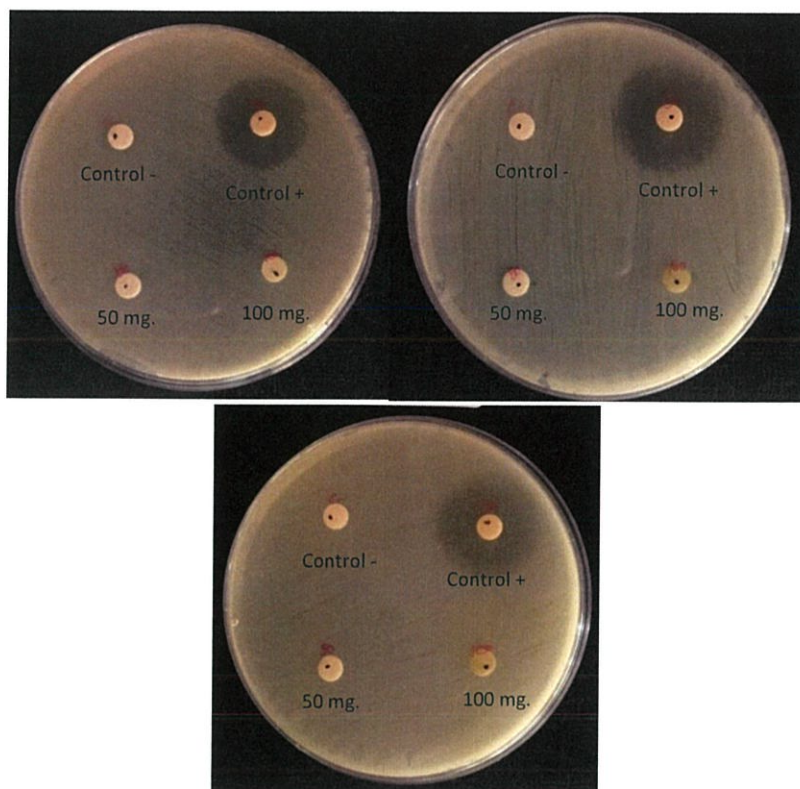
ภาพที่ ค-16 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 3 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*



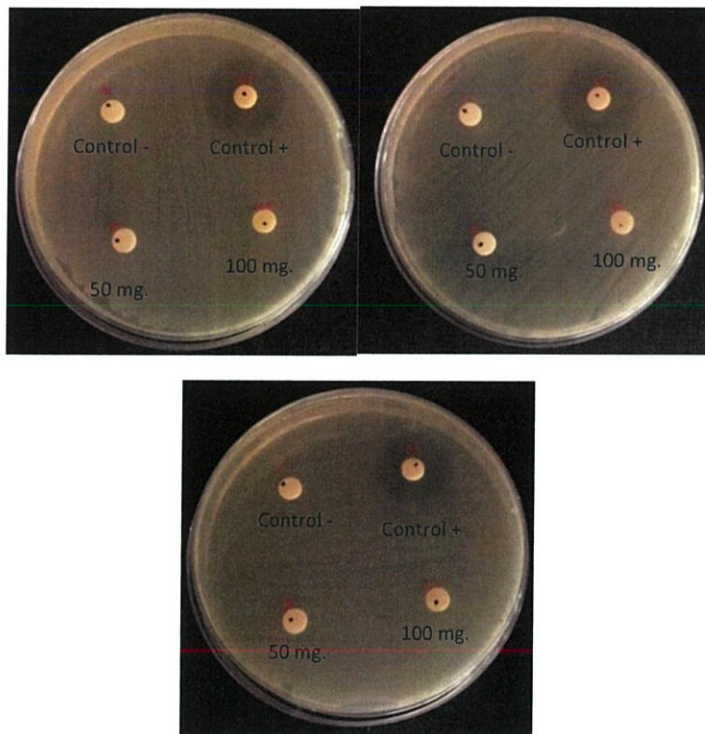
ภาพที่ ค-17 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. 3 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*



ภาพที่ ค-18 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staph. aureus*



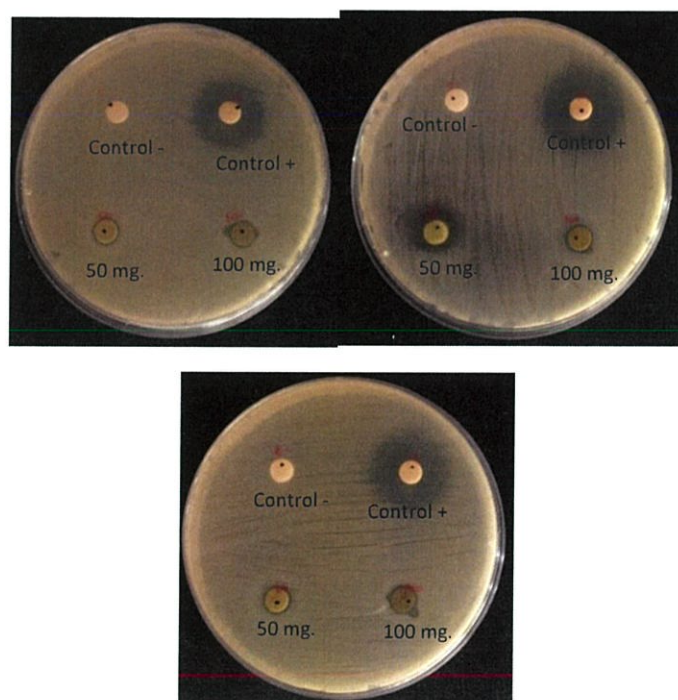
ภาพที่ ค-19 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Strep. agalactiae*



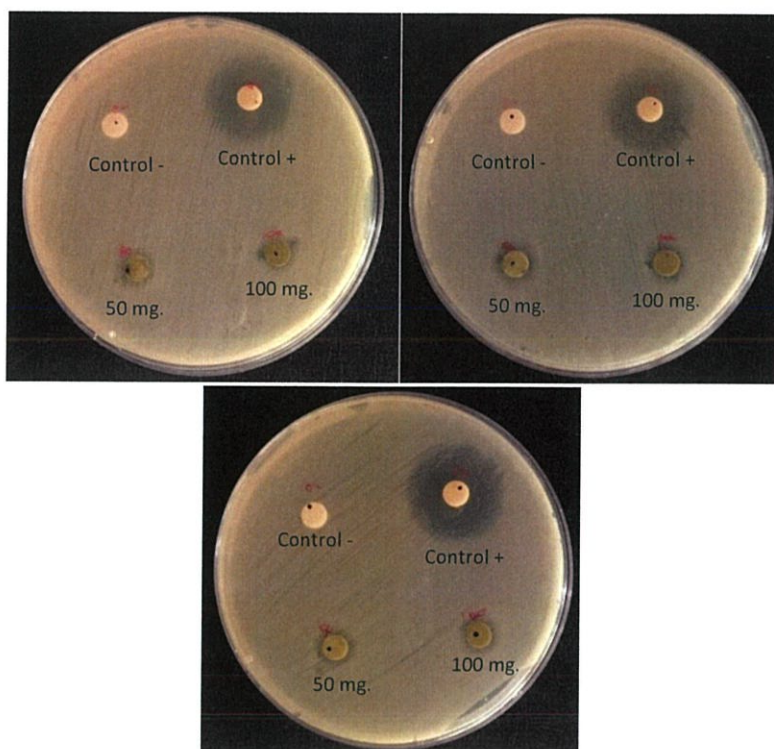
ภาพที่ ค-20 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*



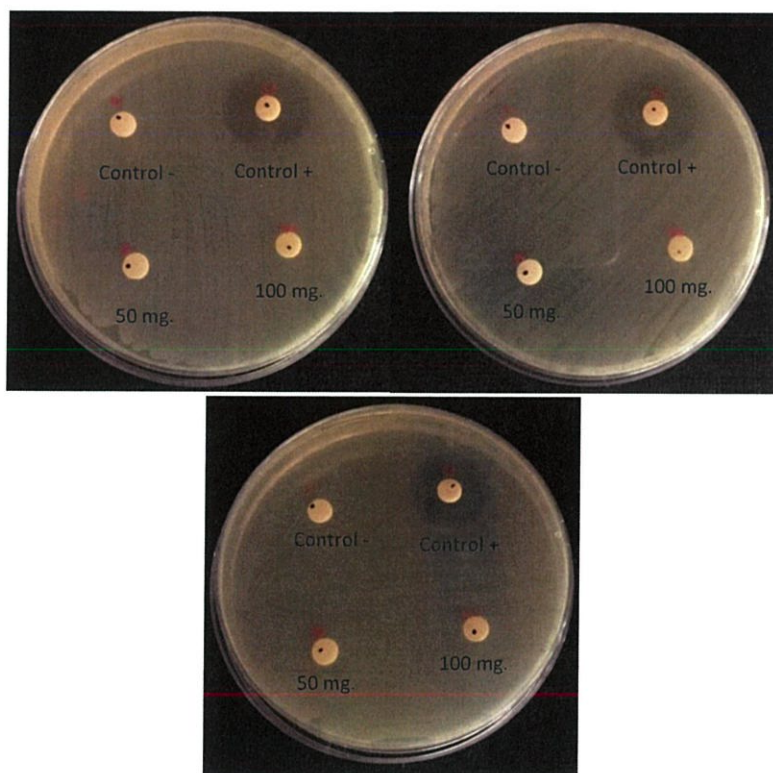
ภาพที่ ค-21 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. A ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*



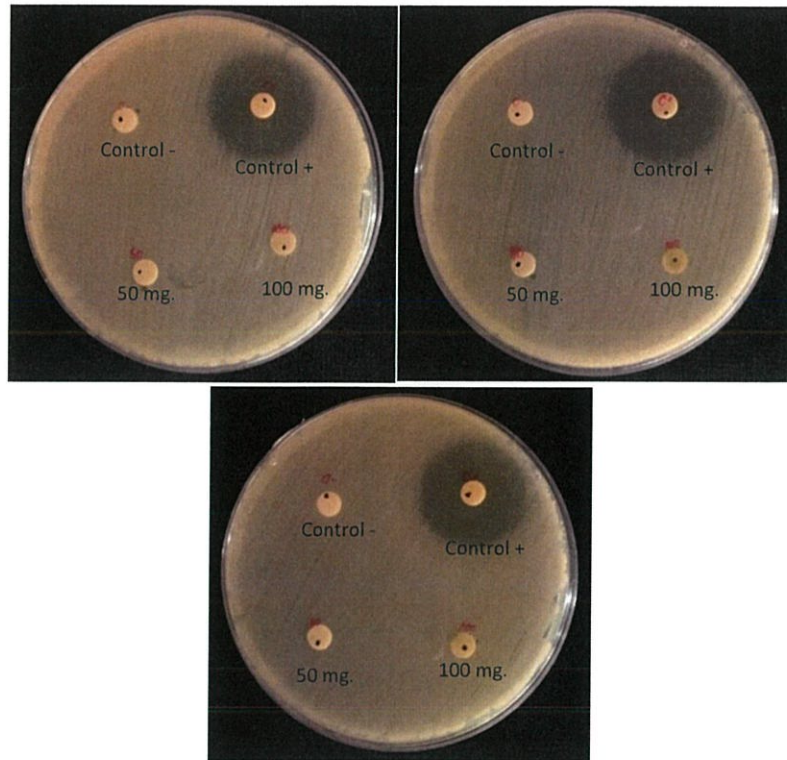
ภาพที่ ค-22 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. N11-59 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus*



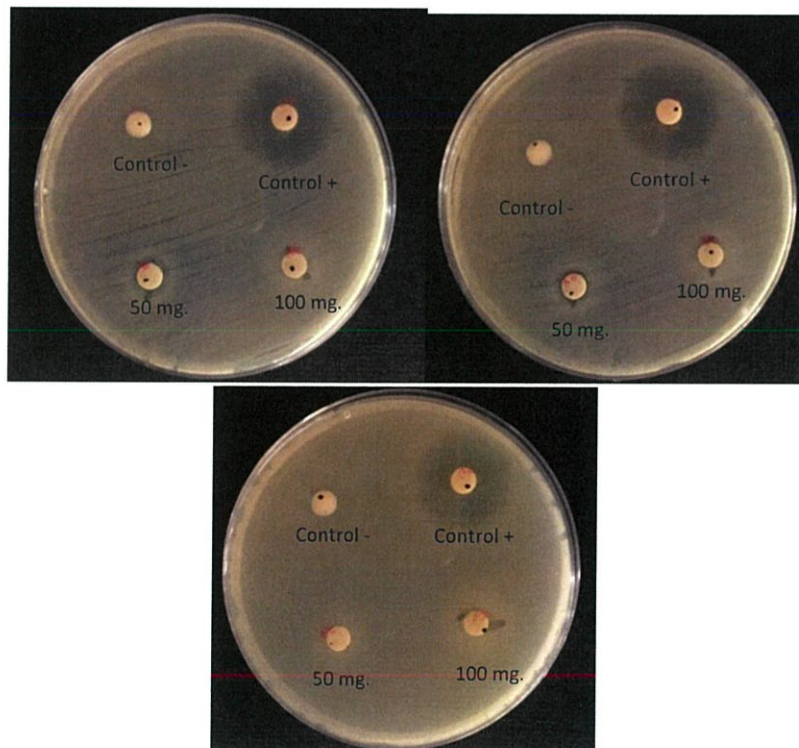
ภาพที่ ค-23 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. N11-59 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Strep. agalactiae*



ภาพที่ ค-24 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. N11-59 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*



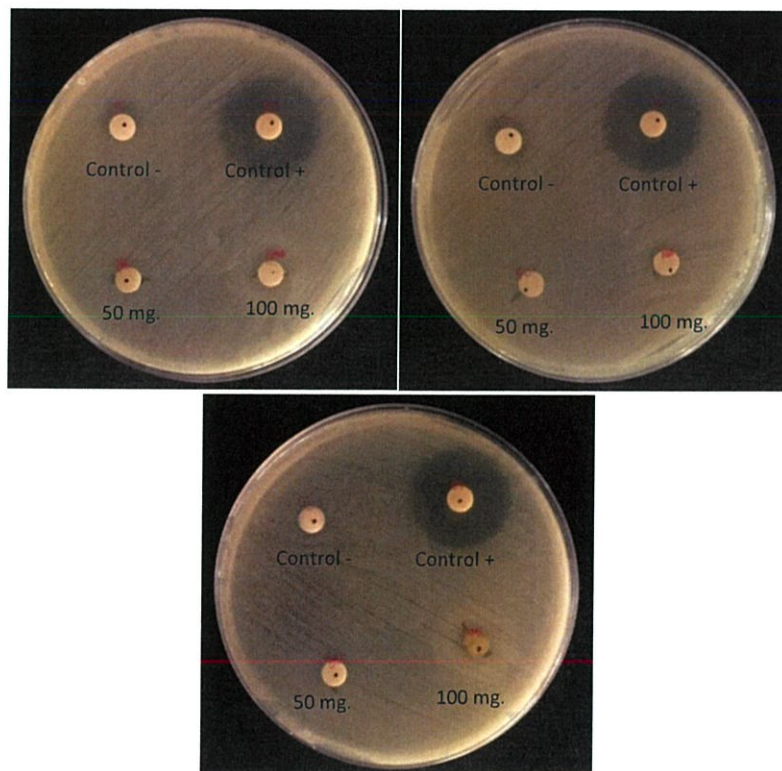
ภาพที่ ค-25 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorella* sp. N11-59 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*



ภาพที่ ค-26 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus*



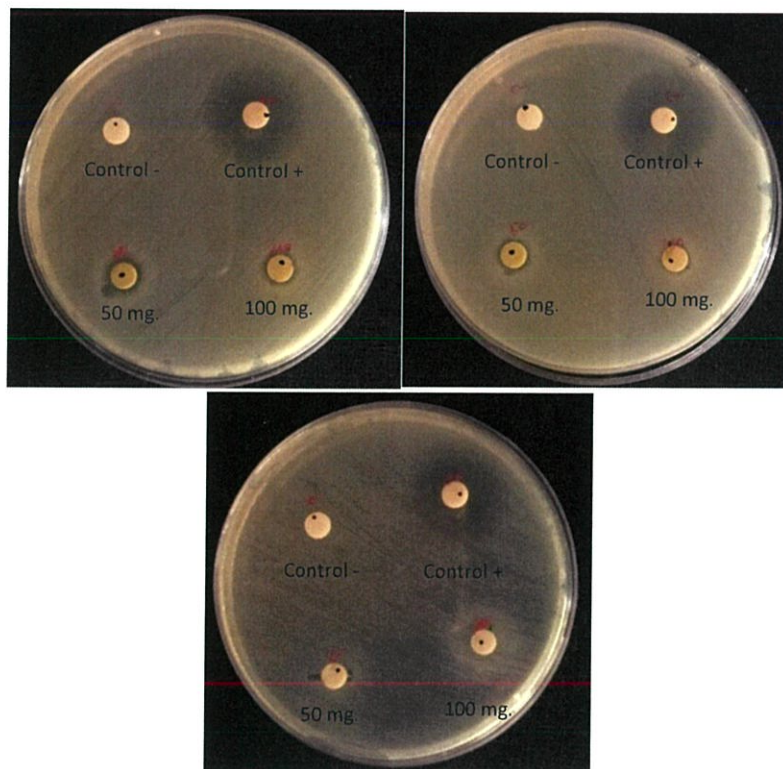
ภาพที่ ค-27 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Strep. agalactiae*



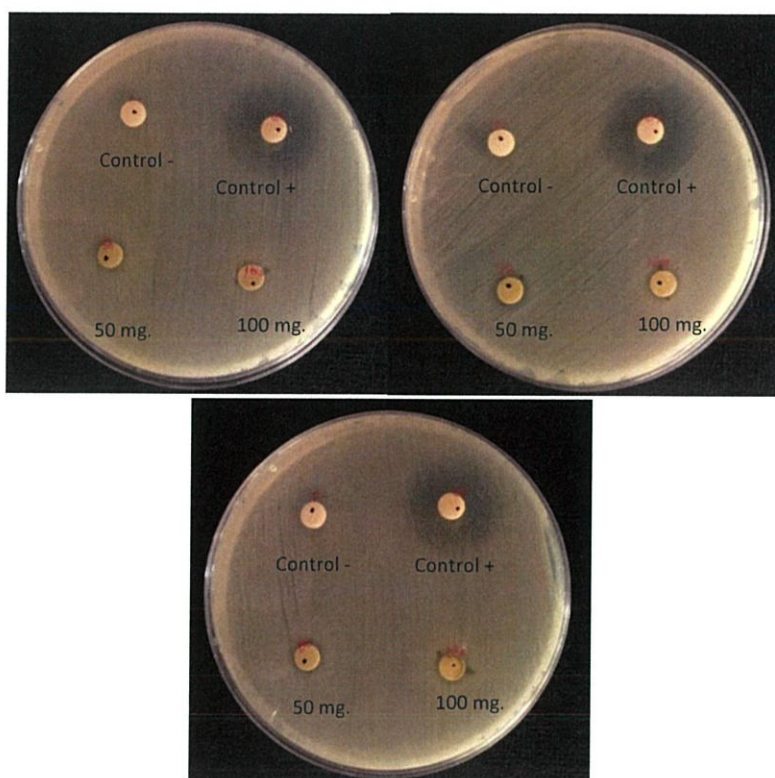
ภาพที่ ค-28 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*



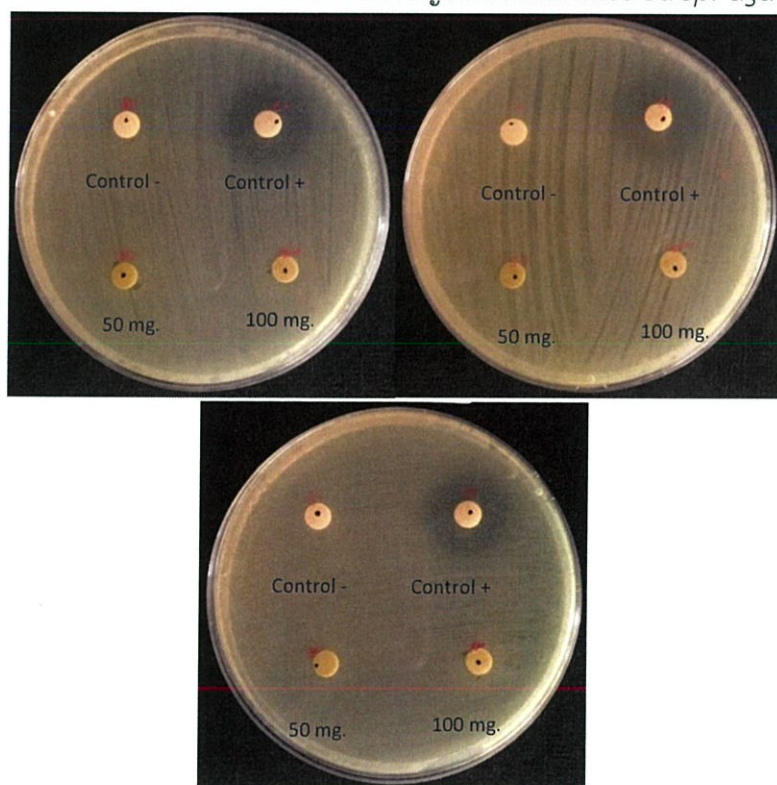
ภาพที่ ค-29 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. P ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*



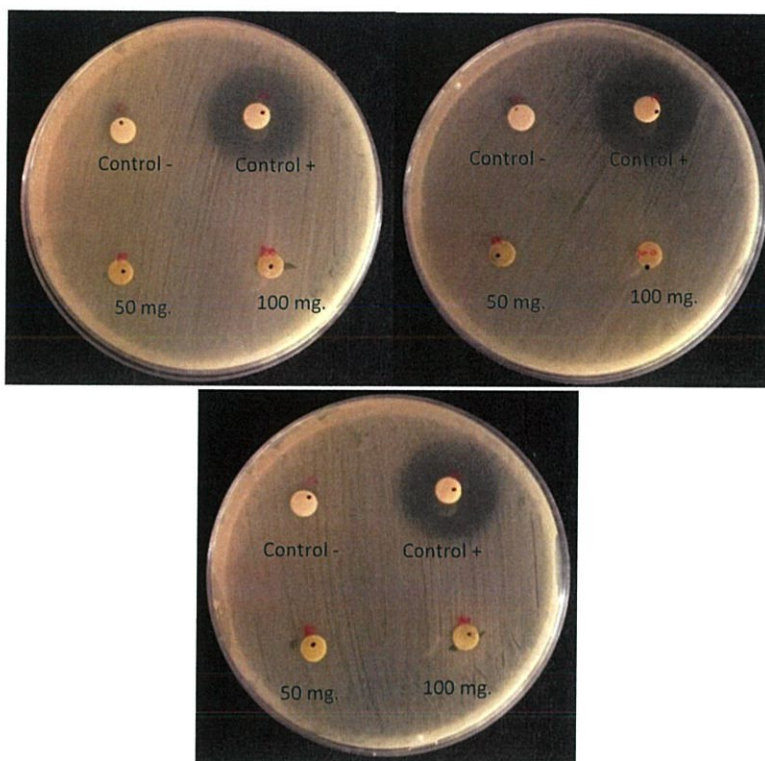
ภาพที่ ค-30 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. B1-59 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus*



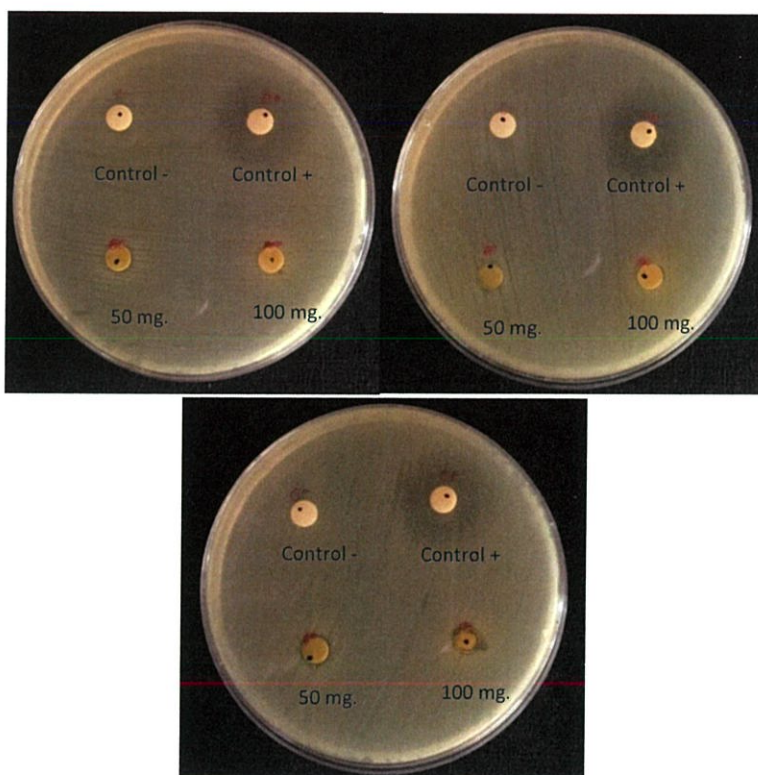
ภาพที่ ค-31 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. B1-59 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Strep. agalactiae*



ภาพที่ ค-32 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. B1-59 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*



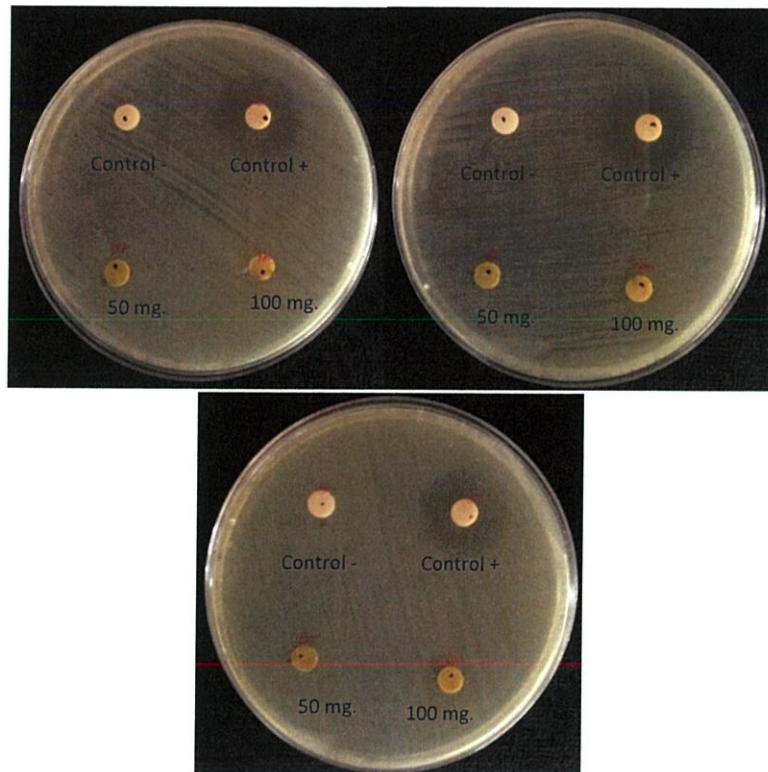
ภาพที่ ค-33 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlamydomonas* sp. B1-59 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*



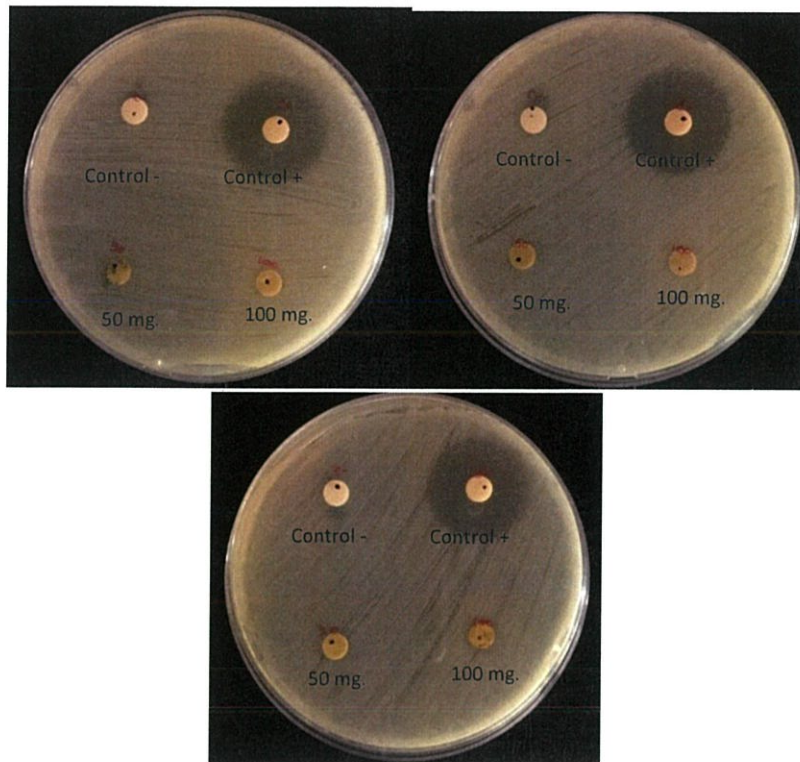
ภาพที่ ค-34 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorococcum* sp. Unknown A ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus*



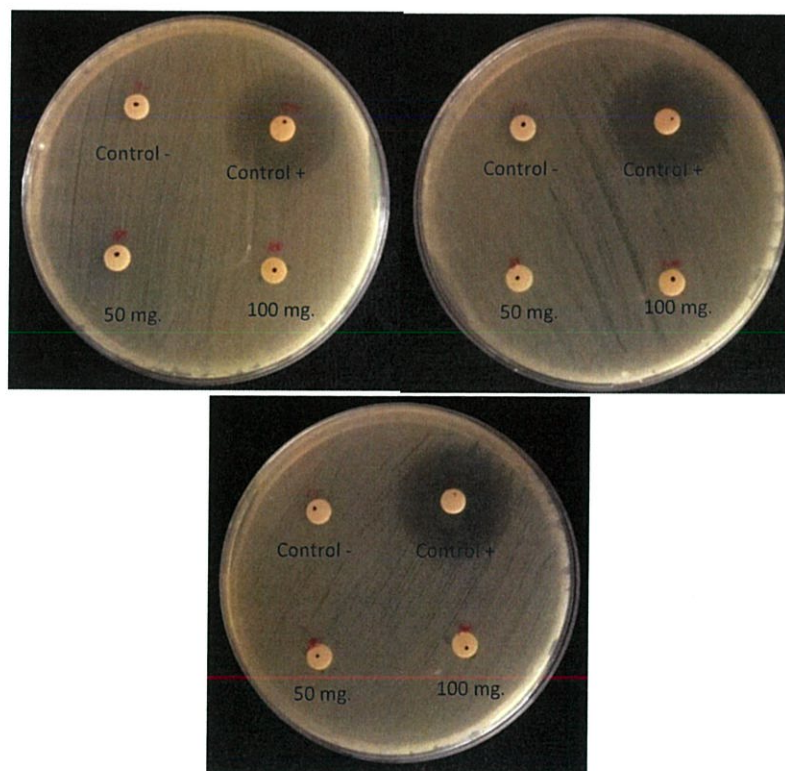
ภาพที่ ค-35 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorococcum* sp. Unknown A ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Strep. agalactiae*



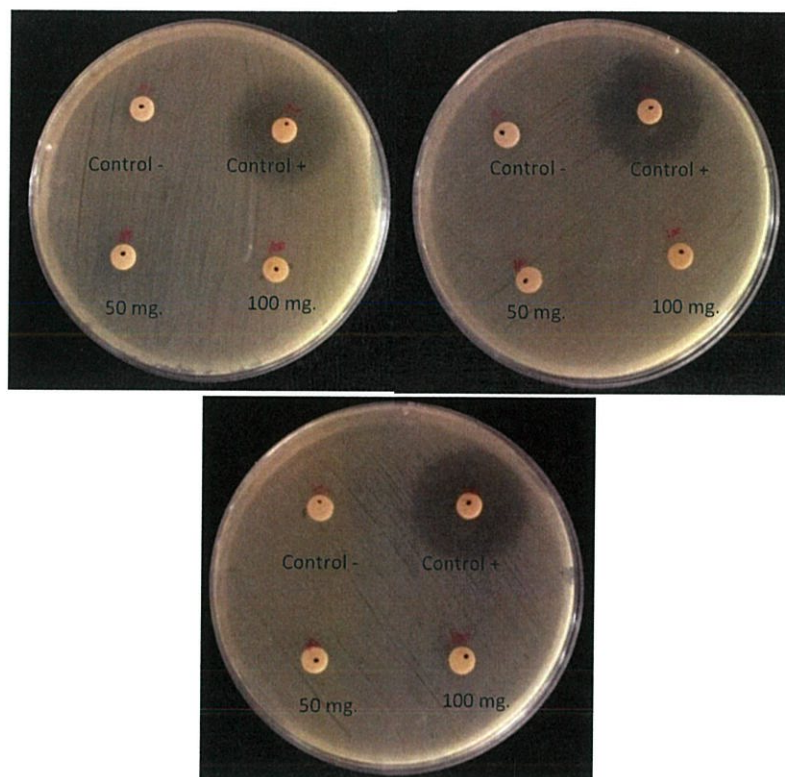
ภาพที่ ค-36 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorococcum* sp. Unknown A ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*



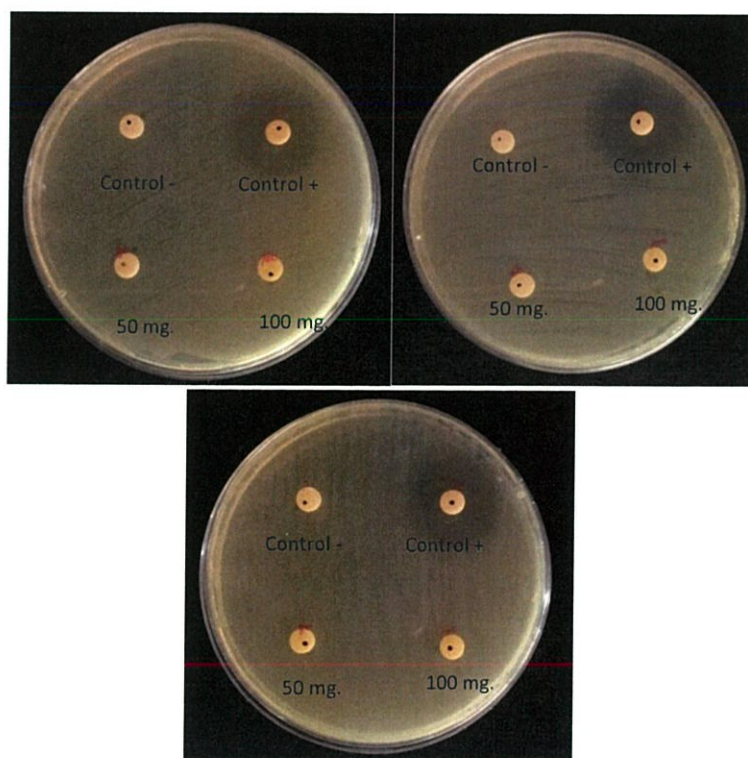
ภาพที่ ค-37 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorococcum* sp. Unknown A ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*



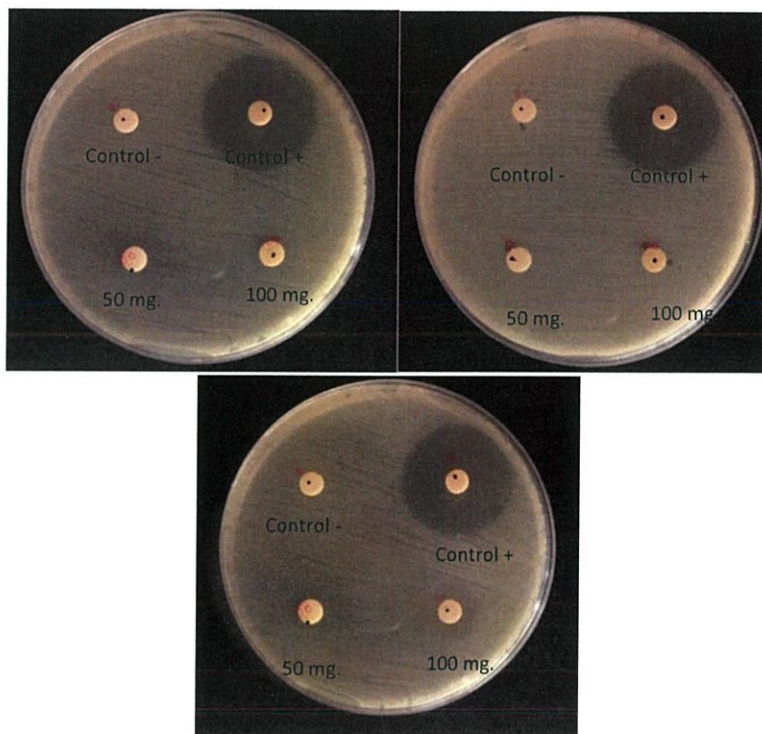
ภาพที่ ค-38 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorococcum* sp. AB1 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus*



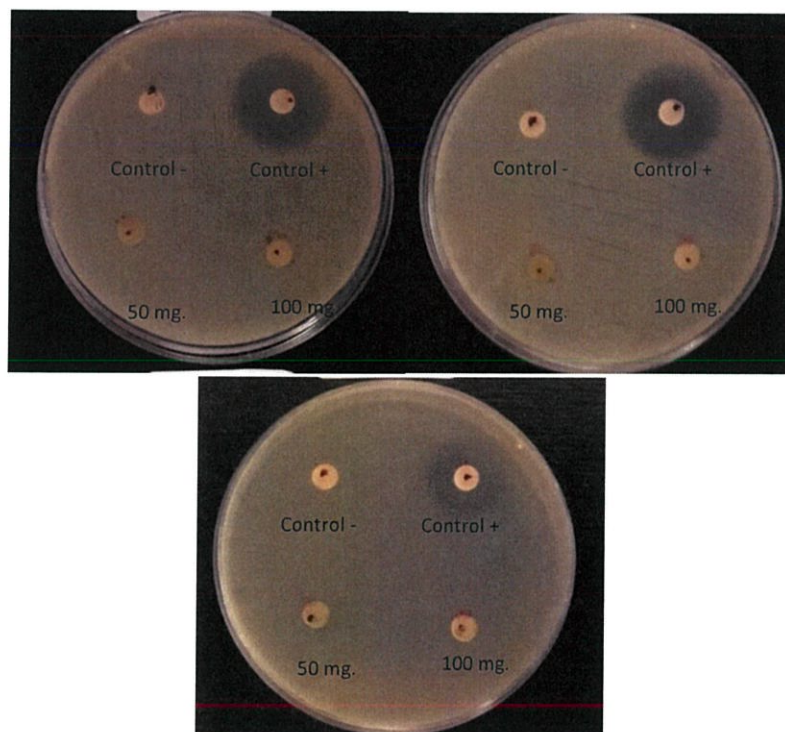
ภาพที่ ค-39 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorococcum* sp. AB1 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Strep. agalactiae*



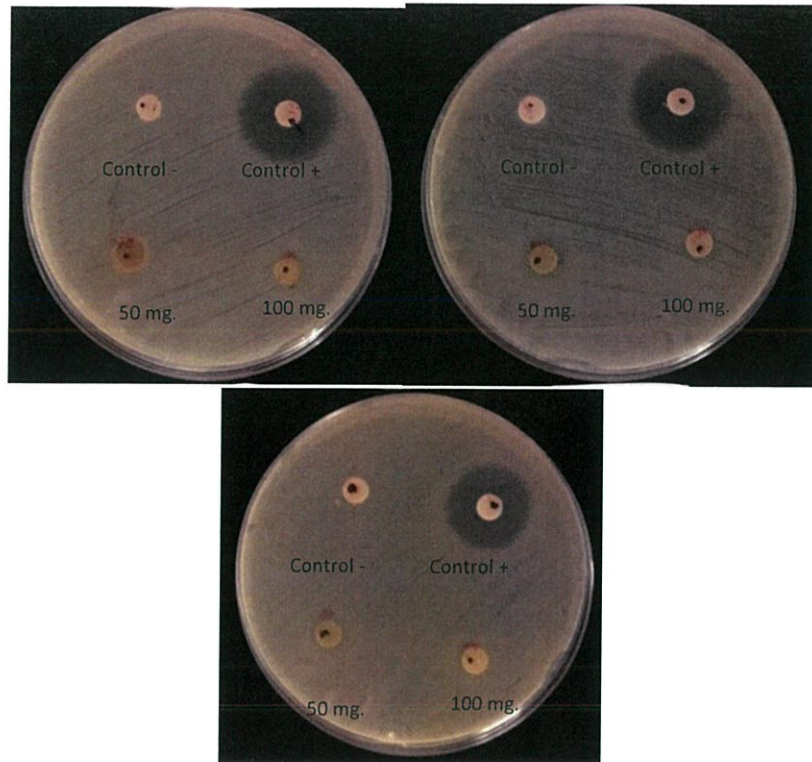
ภาพที่ ค-40 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorococcum* sp. AB1 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*



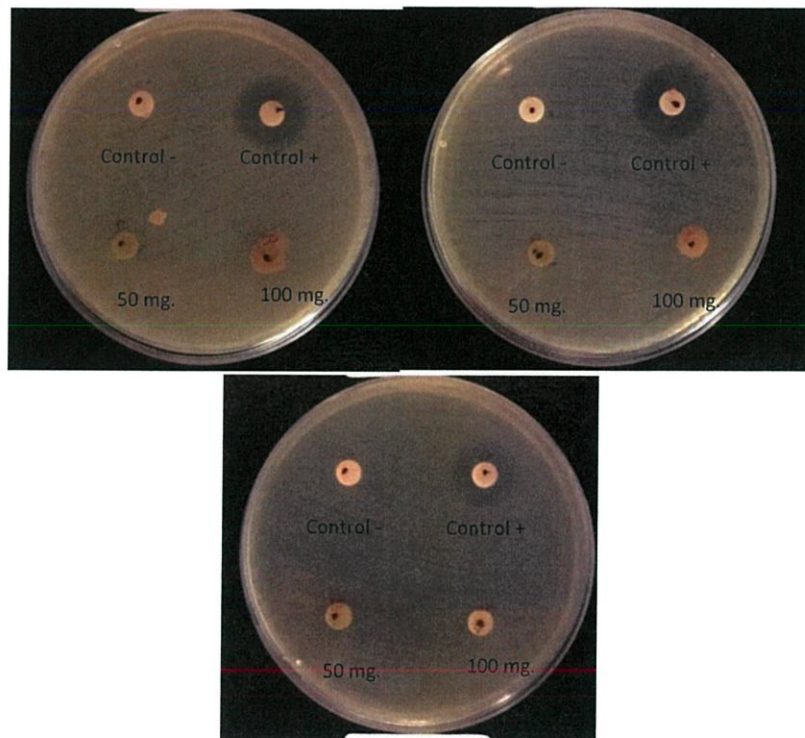
ภาพที่ ค-41 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Chlorococcum* sp. AB1 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*



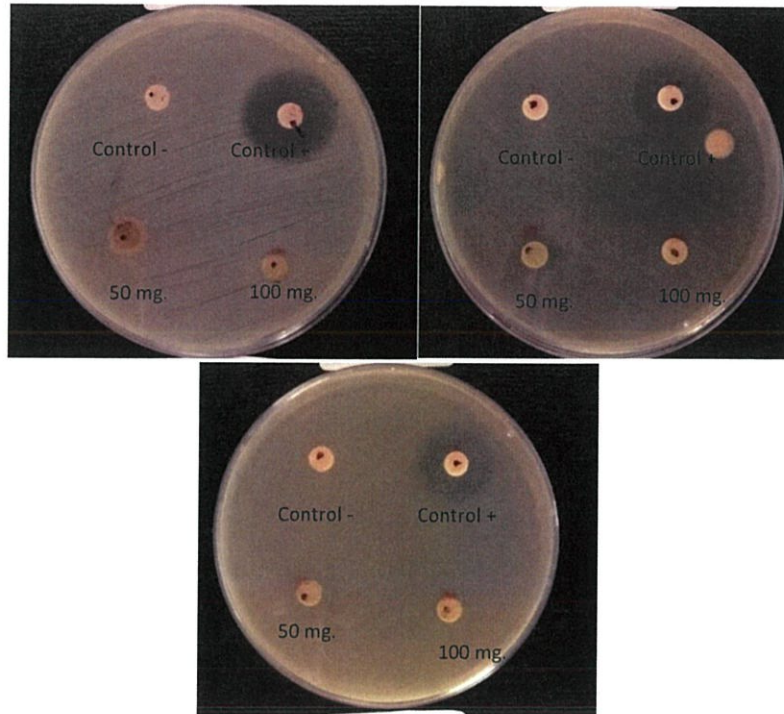
ภาพที่ ค-42 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Scenedesmus* sp. F14 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Stap. aureus*



ภาพที่ ค-43 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Scenedesmus* sp. F14 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Strep. agalactiae*



ภาพที่ ค-44 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Scenedesmus* sp. F14 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*



ภาพที่ ค-45 ผลของสารสกัดจากสาหร่าย *Scenedesmus* sp. F14 ที่ความเข้มข้น 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*

ภาคผนวก ง.

การวิเคราะห์ทางข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ง-1 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสารห่วย *Chlorella sp. VB55* ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ที่ระดับนัยสำคัญ 0.5)

Statistics

Chlorella sp. VB55		
N	Valid	3
	Missing	0
Mean		3.8433
Median		3.8430
Std. Deviation		.00855
Range		.02
Minimum		3.83
Maximum		3.85

Chlorella sp. VB55

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	3.83	1	33.3	33.3	33.3
	3.84	1	33.3	33.3	66.7
	3.85	1	33.3	33.3	100.0
Total		3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-2 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสารห่วย *Chlorella sp. 5* ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ที่ระดับนัยสำคัญ 0.5)

Chlorella sp. 5

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		3.43 ^a
Range		.18
Minimum		3.43
Maximum		3.61

Chlorella sp. 5

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	3.43	1	33.3	33.3	33.3
	3.52	1	33.3	33.3	66.7
	3.61	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-3 แสดงปริมาณน้ำหนักรวมของสารห่วย *Chlorella sp.* U ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ที่ระดับนัยสำคัญ 0.5)

Statistics

Chlorella sp . U

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		3.35 ^a
Range		.64
Minimum		3.35
Maximum		3.99

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlorella sp . U

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	3.35	1	33.3	33.3	33.3
	3.83	1	33.3	33.3	66.7
	3.99	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-4 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสารห่วย *Chlorella sp. 3* ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ที่ระดับนัยสำคัญ 0.5)

Statistics

Chlorella sp. 3

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		3.12 ^a
Range		.79
Minimum		3.12
Maximum		3.91

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlorella sp. 3

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	3.12	1	33.3	33.3	33.3
	3.19	1	33.3	33.3	66.7
	3.91	1	33.3	33.3	100.0
Total		3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-5 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสารห่วย *Chlorella sp. A* ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ที่ระดับนัยสำคัญ 0.5)

Chlorella sp. A

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		2.43 ^a
Range		1.49
Minimum		2.43
Maximum		3.92

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlorella sp. A

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	2.43	1	33.3	33.3	33.3
	3.60	1	33.3	33.3	66.7
	3.92	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-6 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสารห่วย *Chlorella sp.* N11-59 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ที่ระดับนัยสำคัญ 0.5)

Statistics

Chlorella sp. N11-59

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		3.14 ^a
Range		.87
Minimum		3.14
Maximum		4.01

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlorella sp. N11-59

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	3.14	1	33.3	33.3	33.3
	3.35	1	33.3	33.3	66.7
	4.01	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-7 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสารห่วย *Chlamydomonas sp. P* ที่ระดับความเข้มข้น ร้อนละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)

Statistics

Chlamydomonas sp. P

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		3.92 ^a
Range		.47
Minimum		3.92
Maximum		4.39

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlamydomonas sp. P

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	3.92	1	33.3	33.3	33.3
	4.02	1	33.3	33.3	66.7
	4.39	1	33.3	33.3	100.0
Total		3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-8 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสารห่วย *Chlamydomonas sp. B1-59* ที่ระดับความเข้มข้น ร้อนละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)

Chlamydomonas sp. B1-59

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		4.01 ^a
Range		.81
Minimum		4.01
Maximum		4.82

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlamydomonas sp. B1-59

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	4.01	1	33.3	33.3	33.3
	4.48	1	33.3	33.3	66.7
	4.82	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-9 แสดงปริมาณน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Chlorococcum sp. Unknown A* ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ที่ระดับนัยสำคัญ 0.5)

Chlorococcum sp. UnknownA

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		4.82 ^a
Range		.48
Minimum		4.82
Maximum		5.30

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlorococcum sp. UnknownA

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	4.82	1	33.3	33.3	33.3
	5.14	1	33.3	33.3	66.7
	5.30	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-10 แสดงปริมาณน้ำหนักรักษาของสารห่วย *Chlorococcum sp. AB1* ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับนัยสำคัญ 0.5)

Chlorococcum sp. UnknownA

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		4.82 ^a
Range		.48
Minimum		4.82
Maximum		5.30

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlorococcum sp. UnknownA

	Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid 4.82	1	33.3	33.3	33.3
5.14	1	33.3	33.3	66.7
5.30	1	33.3	33.3	100.0
Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-11 แสดงปริมาณน้ำหนักรักษาของสารห่วย *Scenedesmus sp. F14* ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับนัยสำคัญ 0.5)

Scenedesmus sp. F14

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		3.91 ^a
Range		.30
Minimum		3.91
Maximum		4.21

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Scenedesmus sp. F14

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	3.91	1	33.3	33.3	33.3
	4.04	1	33.3	33.3	66.7
	4.21	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-12 แสดงปริมาณสารสกัดของสาหร่าย *Chlorella sp.* VB55 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ที่ระดับนัยสำคัญ 0.5)

Chlorella sp. VB55

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		.36 ^a
Range		.04
Minimum		.36
Maximum		.39

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlorella sp. VB55

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	.36	1	33.3	33.3	33.3
	.37	1	33.3	33.3	66.7
	.39	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-13 แสดงปริมาณสารสกัดของสารห่วย *Chlorella sp. 5* ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)

Chlorella sp. 5

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		1.13 ^a
Range		.20
Minimum		1.13
Maximum		1.33

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlorella sp. 5

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1.13	1	33.3	33.3	33.3
	1.21	1	33.3	33.3	66.7
	1.33	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-14 แสดงปริมาณสารสกัดของสารห่วย *Chlorella sp. U* ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)

Chlorella sp . U

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		1.76 ^a
Range		.18
Minimum		1.76
Maximum		1.94

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlorella sp . U

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1.76	1	33.3	33.3	33.3
	1.84	1	33.3	33.3	66.7
	1.94	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-15 แสดงปริมาณสารสกัดของสารหว่าย *Chlorella sp. 3* ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ที่ระดับนัยสำคัญ 0.5)

Chlorella sp. 3

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		3.41 ^a
Range		.80
Minimum		3.41
Maximum		4.21

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlorella sp. 3

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	3.41	1	33.3	33.3	33.3
	4.01	1	33.3	33.3	66.7
	4.21	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-16 แสดงปริมาณสารสกัดของสารห่วย *Chlorella sp. A* ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)

Chlorella sp. A

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		5.41 ^a
Range		1.10
Minimum		5.41
Maximum		6.51

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlorella sp. A

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	5.41	1	33.3	33.3	33.3
	6.23	1	33.3	33.3	66.7
	6.51	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-17 แสดงปริมาณสารสกัดของสารห่วย *Chlorella sp. N11-59* ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ที่ระดับในนัยสำคัญ 0.5)

Chlorella sp. N11-59

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		3.96 ^a
Range		.28
Minimum		3.96
Maximum		4.25

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlorella sp. N11-59

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	3.96	1	33.3	33.3	33.3
	4.08	1	33.3	33.3	66.7
	4.25	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-18 แสดงปริมาณสารสกัดของสารห่อย *Chlamydomonas sp. P* ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ที่ระดับนัยสำคัญ 0.5)

Chlamydomonas sp. P

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		1.10 ^a
Range		.22
Minimum		1.10
Maximum		1.32

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlamydomonas sp. P

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1.10	1	33.3	33.3	33.3
	1.12	1	33.3	33.3	66.7
	1.32	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-19 แสดงปริมาณสารสกัดของสารห่วย *Chlamydomonas* sp. B1-59 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับนัยสำคัญ 0.5)

Chlamydomonas sp. B1-59

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		.83 ^a
Range		.19
Minimum		.83
Maximum		1.03

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlamydomonas sp. B1-59

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	.83	1	33.3	33.3	33.3
	.92	1	33.3	33.3	66.7
	1.03	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-20 แสดงปริมาณสารสกัดของสารห่วย *Chlorococcum* sp. Unknown A ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 95 (ที่ระดับนัยสำคัญ 0.5)

Chlorococcum sp. UnknownA

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		.55 ^a
Range		.02
Minimum		.55
Maximum		.57

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlorococcum sp. UnknownA

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	.55	1	33.3	33.3	33.3
	.57	1	33.3	33.3	66.7
	.57	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-21 แสดงปริมาณสารสกัดของสารห่วย *Chlorococcum sp.* AB1 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ที่ระดับนัยสำคัญ 0.5)

Chlorococcum sp. AB1

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		.48 ^a
Range		.17
Minimum		.48
Maximum		.65

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Chlorococcum sp. AB1

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	.48	1	33.3	33.3	33.3
	.54	1	33.3	33.3	66.7
	.65	1	33.3	33.3	100.0
	Total	3	100.0	100.0	

ตารางที่ ง-22 แสดงปริมาณสารสกัดของสารห่วย *Scenedesmus sp.* F14 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ที่ระดับนัยสำคัญ 0.5)

Scenedesmus sp. F14

N	Valid	3
	Missing	0
Mode		.73 ^a
Range		.19
Minimum		.73
Maximum		.92

a. Multiple modes exist. The smallest value is shown

Scenedesmus sp. F14

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	.73	1	33.3	33.3	33.3
	.84	1	33.3	33.3	66.7
	.92	1	33.3	33.3	100.0
Total		3	100.0	100.0	



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงการพิเศษ

วันที่ 25 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2561

ข้าพเจ้า นางสาวมนิรัตน์ เพ็ชรเส็ง รหัสประจำตัว 57050875

นางสาวเอกนารี ไกรเทพ รหัสประจำตัว 57050925

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา

ขอรับรองว่าโครงการพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวขนาดเล็กที่มีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาไนล์

ชื่อภาษาอังกฤษ Study on Antibacterial Activity from Green Microalgae Extracts Against Fish Pathogens of The Nile Tilapia.

ปีการศึกษา 2560 เป็นผลงานวิจัยที่ได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่น และได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงการพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว โปรแกรมอักขรวิธี..... 0.19 %

ลงชื่อ..... (สนิทพันธ์ พิธีเส็ง)

(สนิทพันธ์ พิธีเส็ง)

นักศึกษา

ลงชื่อ..... (อรรถาเดชน์ ไกรเทพ)

(อรรถาเดชน์ ไกรเทพ)

นักศึกษา

ข้าพเจ้า ศ. / รศ. / ผศ. / ดร. / อ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ
ได้ตรวจสอบโครงการพิเศษของนักศึกษาข้างต้นแล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหา
สมบูรณ์ จึงขอลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....

ประธานกรรมการ

ลงชื่อ.....

กรรมการ

ลงชื่อ.....

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา