

ผลของสารสกัดจากสาหร่ายสไปรูลีนาต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค
Vibrio parahaemolyticus และ *V. harveyi* ในกุ้งขาวแวนนาไม

Effect of *Spirulina platensis* extract against pathogenic bacteria
Vibrio parahaemolyticus and *V. harveyi* in white shrimp

อมรรัตน์ อุตสาหะ^{1,2} และ ธิญาภรณ์ แก้วทวี^{1,2*}

Amornrath Autsaha^{1,2} and Teeyaporn Keawtawee^{1,2*}

บทคัดย่อ: การศึกษาผลของสารสกัดจากสาหร่ายสไปรูลีนา (*Spirulina platensis*) ในตัวทำละลายอะซิโตน, เมทานอล, เอทานอล และเฮกเซน กับสารโพลีไวนิลไพโรลิโดน ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียชนิด *Vibrio parahaemolyticus* และ *V. harveyi* ในห้องปฏิบัติการ พบว่า สารสกัดในตัวทำละลายเอทานอล ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้ดีที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส เท่ากับ 11.3 ± 1.2 มิลลิเมตร และ สารสกัดในตัวทำละลายอะซิโตน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* ได้ดีที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส เท่ากับ 12.0 ± 0.5 มิลลิเมตร ส่วนค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. harveyi* คือ สารสกัดในตัวทำละลายเฮกเซนที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และสารสกัดในตัวทำละลายอะซิโตนและเฮกเซน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ของสารสกัดในทุกตัวทำละลาย เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้

คำสำคัญ: สาหร่ายสไปรูลีนา, กุ้งขาวแวนนาไม, *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*

ABSTRACT: Study on the effect of *Spirulina platensis* extract in acetone, methanol, ethanol and hexane solvents with polyvinylpyrrolidone on inhibition effect of *Spirulina* extract in vitro against *Vibrio parahemolyticus* and *V. harveyi* was carried out in laboratory. Results showed that, the highest clear zone (11.3 ± 1.2 mm) was observed in ethanol extracts (20 mg/mL) against *V. parahaemolyticus* and in acetone extracts (1 mg/mL) against *V. harveyi* (12.0 ± 0.5 mm). The minimum inhibitory concentration (MIC) of *S. platensis* extracts in hexane solvent against *V. parahaemolyticus* was 2.5 mg/mL and MIC of *S. platensis* extracts in acetone and hexane solvents against *V. harveyi* was 1 mg/mL. Furthermore, the minimum bactericidal concentration (MBC) of crude extracts in all solvents was 20 mg/mL against both bacterial species.

Keywords: *Spirulina platensis*, white shrimp, *V. parahaemolyticus*, *V. harveyi*

¹ ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะทรัพยากรธรรมชาติ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา, 90110

Department of Aquatic Science, Faculty of Natural resources, Prince of Songkla University, Songkhla, 90110

² สาขาความเป็นเลิศการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างยั่งยืน, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา, 90110

บทนำ

กุ้งทะเล โดยเฉพาะกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) เป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจหลักที่สร้างรายได้จากการส่งออกสินค้าสัตว์น้ำให้กับประเทศไทย ต่อมาการเพาะเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมของไทยมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องจากการประสบปัญหาเรื่องโรคระบาดมีการติดเชื้อแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ โดยเฉพาะ *V. parahaemolyticus* และ *V. harveyi* ทำให้กุ้งตายเป็นจำนวนมาก และเมื่อ พ.ศ. 2552 สถานการณ์การเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมเริ่มมีการระบาดของโรคซีขาวและโรคตับเสื่อมหรือโรคตับวายเฉียบพลัน (Early Mortality Syndrome: EMS) (Bansemir et al., 2006) ที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ทำให้เกษตรกรเริ่มกลับมาใช้ยาปฏิชีวนะกันอย่างแพร่หลายมากขึ้น ซึ่งการใช้ยาปฏิชีวนะในฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเกิดการปนเปื้อนในแหล่งน้ำ และมีสารตกค้างอยู่ในตัวสัตว์น้ำ และสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้การใช้ยาปฏิชีวนะติดต่อกันเป็นเวลานาน อาจทำให้แบคทีเรียมีการพัฒนาสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะอีกด้วย (Rigos et al., 2004; Bansemir et al., 2006) มีการใช้สารต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในสัตว์น้ำต่างๆ จากวัตถุดิบธรรมชาติเป็นวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจศึกษากันอย่างแพร่หลาย โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี ต้องไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมที่เลี้ยงน้อยที่สุด (*Spirulina platensis*) สาหร่ายสีโปรุไลนาเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชนิดหนึ่งที่เป็นแหล่งสำคัญของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (El-Sheekh et al., 2008) เช่น สารต้านทานแบคทีเรีย (อรพิน และคณะ, 2544) ทำให้มีการใช้สาหร่ายสีโปรุไลนาในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในหลายรูปแบบ เช่น ใช้เสริมอาหารเพื่อเป็นแหล่งโปรตีน และเพิ่มการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ

ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาหร่ายสีโปรุไลนาในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* และ *V. harveyi* ที่ก่อโรคในกุ้งขาวแวนนาไม เป็นข้อมูลประกอบการลดต้นทุนจากการใช้ปฏิชีวนะของเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้ง ทำให้ผู้บริโภคได้บริโภคกุ้งที่ปลอดภัย และส่งผลให้การเพาะเลี้ยงกุ้งมีความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและยั่งยืน

วิธีการศึกษา

การเตรียมแบคทีเรีย

แบคทีเรียบริสุทธิ์ที่ใช้ทดสอบ 2 ชนิด คือ *V. parahaemolyticus* และ *V. harveyi* ได้รับความอนุเคราะห์จากสัตวแพทย์ ศุภมาตย์ เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดผ่านการทำให้บริสุทธิ์มาแล้ว สามารถถ่ายเชื้อลงอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MHA) และ Nutrient broth (NB) ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การเตรียมสารสกัด

เพาะเลี้ยงสาหร่ายสีโปรุไลนาด้วยสูตรอาหารดัดแปลงสำหรับการเลี้ยงแบบหมวมวล เมื่อปริมาณเซลล์เริ่มเข้าสู่ระยะคงที่ (stationary phase) ใช้เวลาประมาณ 10 วัน จึงเก็บเกี่ยวเซลล์โดยการกรองผ่านถุงกรองขนาดตา 50 ไมครอน ล้างเซลล์สาหร่ายด้วยน้ำสะอาดก่อนนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สาหร่ายที่อบแห้งแล้วนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดเตรียมสารสกัดหยาบโดยแช่ผงสาหร่ายในตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ อะซิโตน, เมทานอล, เอทานอล และเฮกเซน อัตราส่วน 1:5 (w/v) เขย่า เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วกรองแยกตะกอนของสาหร่ายด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำของเหลวที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยแห้งอัตโนมัติ (Rotary Evaporator) ที่อุณหภูมิ 45±1 องศาเซลเซียส จนกระทั่งแห้ง คำนวณน้ำหนักสารสกัดหยาบที่ได้ โดยการชั่งน้ำหนักขวดก่อนและหลังการระเหยแห้ง เติมน้ำสารโพลีไวนิลไพโรลิโดน (polyvinylpyrrolidone) น้ำหนัก 4 เท่าของสารสกัดที่ได้ แล้วนำไประเหยแห้งอีกครั้ง จะได้สารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีโปรุไลนา ลักษณะเหนียวหนืด เก็บใส่ขวดสีชา ปิดฝาให้สนิทแล้วเก็บในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (ดัดแปลงตามวิธีของ Herunsalee and Direkbusarakom, 1993)

ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาหร่ายสีโปรุไลนาต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* และ *V. harveyi* ด้วยวิธี Disc diffusion techniques (invitro)

เตรียมสารสกัดสาหร่ายสไปรูไลนาความเข้มข้น 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 และ 20.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยเจือจางด้วย 10% Dimethyl sulfoxide (DMSO) และเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็งโดยใช้อาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) ระบุตำแหน่งที่จางอาหารแข็งสำหรับวางแผ่นกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จากนั้นใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อจุ่มแบคทีเรียที่เตรียมไว้ข้างต้น นำมา swab ให้ทั่วบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 นาที เพื่อให้ส่วนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง แล้วใช้ปากคีบ (forceps) คีบกระดาษกรองวางบนจานเพาะเชื้อ หยดตัวอย่างสารสกัด *S. platensis* แต่ละความเข้มข้น ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 นาทีเพื่อให้กระดาษกรองแห้ง นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง (ดัดแปลงจาก Birada et al., 2007) วัดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (clear zone) หน่วยเป็น มิลลิเมตร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง รายงานเป็นค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean \pm SD) การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimal Bactericidal Concentration; MBC) ด้วยวิธี Modified microtiter plate broth dilution method (invitro) ปิเปตสารสกัดและเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ลงใน 96 well-plate หลุม

ละ 50 ไมโครลิตร มีหลุมควบคุมเป็น broth ที่ไม่ใช่สารสกัด และใช้ยาปฏิชีวนะ Tetracycline เป็น Positive control ปิดฝาแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย resazulin ปริมาณ 10 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุม แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง การอ่านผลสังเกตสีในแต่ละหลุม หากเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีชมพู แสดงว่า เชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้ หากเป็นสีน้ำเงิน แสดงว่า เชื้อแบคทีเรียอาจจะไม่มีการเจริญเติบโตระบุเป็นผลของ MIC สำหรับการหาค่า MBC ดูดของเหลวในหลุมที่มีสีน้ำเงินมาทดสอบโดยการเชยเชื้อบนอาหารแข็ง Mueller Hinton Agar (MHA) โดยวิธี Spread plate นำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง (ดัดแปลงจาก Sarker et al., 2007) สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อบนอาหาร MHA หากไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อ แสดงว่า สารสกัดที่ทดสอบมีประสิทธิภาพสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้

วิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองไปวิเคราะห์หาความแปรปรวนโดยใช้ One-way ANOVA analysis และเปรียบเทียบความแตกต่าง ของค่าเฉลี่ยระหว่าง

Table 1 Antibacterial activity of solvent extracts from *Spirulina platensis* on *Vibrio parahaemolyticus* and *V. harveyi*.

	Extracts concentration (mg/mL)	Clear zone of inhibition radii (mm)			
		Acetone	Methanol	Ethanol	Hexane
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1.0	10.1 ^a \pm 1.0	10.0 ^a \pm 0.0	7.0 ^c \pm 0.0	9.5 ^b \pm 0.5
	2.5	8.8 ^b \pm 0.8	8.5 ^b \pm 0.5	7.8 ^c \pm 0.3	10.8 ^a \pm 0.8
	5.0	8.3 ^c \pm 0.6	8.3 ^c \pm 0.6	9.2 ^b \pm 0.7	10.1 ^a \pm 0.3
	10.0	7.6 ^c \pm 0.6	8.5 ^b \pm 0.5	10.7 ^a \pm 1.2	10.1 ^b \pm 0.3
	20.0	8.0 ^b \pm 1.0	8.3 ^b \pm 0.6	11.3 ^a \pm 1.2	8.0 ^b \pm 1.0
Positive control*	-	20.0 ^a \pm 0.0	15.7 ^c \pm 1.2	15.7 ^c \pm 1.2	18.0 ^b \pm 0.0
<i>Vibrio haveyi</i>	1.0	12.0 ^a \pm 0.5	10.7 ^b \pm 1.2	8.3 ^b \pm 1.1	8.0 ^b \pm 0.0

Table 2 Minimum inhibitory concentration (MIC) of *Spirulina platensis* extracts on *Vibrio parahaemolyticus* and *V. harveyi*.

Microorganisms	Minimum inhibitory concentration (mg/mL)				
	Acetone	Methanol	Ethanol	Hexane	Positive control*
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	20.0	20.0	5.0	2.5	5.0
<i>Vibrio harveyi</i>	1.0	20.0	5.0	1.0	5.0

* Tetracycline (5 µg/mL)

Table 3 Minimal Bactericidal Concentration (MBC) of solvent extracts from *Spirulina platensis* on *Vibrio parahaemolyticus* and *V. harveyi*.

Microorganisms	Minimum bactericidal concentration (mg/mL)				
	Acetone	ethanol	Ethanol	Hexane	Positive control*
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	20	20	20	20	5
<i>Vibrio harveyi</i>	20	20	20	20	5

* Tetracycline (5 µg/mL)

ชุดการทดลองด้วย Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาหร่ายสไปรูไลนาต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในตัวทำละลายต่างกัน 4 ชนิด ได้แก่ อะซีโตน, เมทานอล, เอทานอล และเฮกเซน พบว่า มีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสในช่วง 7.0 -12.0 มิลลิเมตร โดยประสิทธิภาพของสารสกัดต่อการยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus* สูงสุด คือสารสกัดในตัวทำละลายเอทานอล (11.3 ± 1.2 มิลลิเมตร), สารสกัดในตัวทำละลายเฮกเซน (10.8 ± 0.8 มิลลิเมตร), สารสกัดในตัวทำละลายอะซีโตน (10.1 ± 1.0 มิลลิเมตร) และสารสกัดในตัวทำละลายเมทานอล (10.0 ± 0.0 มิลลิเมตร) ตามลำดับ ($P < 0.05$) และประสิทธิภาพของสารสกัดต่อการยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* สูงสุด คือสารสกัดในตัวทำละลายอะซีโตน (12.0 ± 0.5 มิลลิเมตร), สารสกัดในตัวทำ

ละลายเมทานอล (10.7 ± 1.2 มิลลิเมตร), สารสกัดในตัวทำละลายเอทานอล (10.3 ± 0.5 มิลลิเมตร) และสารสกัดในตัวทำละลายเฮกเซน (9.7 ± 0.6 มิลลิเมตร) ตามลำดับ (Table 1) จากผลการทดสอบพบว่า สารสกัดในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งมีรายงานสนับสนุนผลการทดลองสารสกัดในตัวทำละลาย อะซีโตน, เมทานอล และเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Kulandaivel et al., 2007) นอกเหนือจากตัวทำละลายที่ใช้ทดสอบครั้งนี้ยังพบว่า สารสกัด *S. platensis* ในตัวทำละลายเฮกเซน, เอทานอล อะซีโตน, ไดคลอโรมีเทนและเมทานอลมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เช่นกัน (Kaushik and Chauhan, 2008) ซึ่งการเลือกตัวทำละลายเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่จะทำให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแตกต่างกัน (ตรีชฎา, 2548)

ผลของความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (MIC) ของ *S. platensis* ต่อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1.0-20.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งค่า MIC ต่ำสุดของ

เชื้อ *V. harveyi* คือสารสกัดในตัวทำละลายอะซีโตนและเฮกเซน (1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และสารสกัดในตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอล (5 และ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ตามลำดับ และค่า MIC ต่ำสุดของเชื้อ *V. parahaemolyticus* คือ สารสกัดในตัวทำละลายเฮกเซน (2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร), สารสกัดในตัวทำละลายเอทานอล (5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และสารสกัดในตัวทำละลายอะซีโตนและเมทานอล (20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ตามลำดับ (Table 2) โดยผลการทดสอบแตกต่างจากรายงานฉบับอื่นที่แสดงค่า MIC ต่ำสุดของเชื้อ *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. epidermidis*, *P. mirabilis*, *B. cereus*, *K. pneumoniae* และ *S. flexneri* คือ สารสกัด *S. platensis* ในตัวทำละลายเมทานอล (1.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) (Usharani et al., 2015) และจากการใช้ตัวทำละลายเฮกเซน, เอทิลอะซิเตท, ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของการยับยั้ง (MIC) ของเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* เท่ากับ 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (Kaushik and Chauhan, 2008) ซึ่งแต่ละรายงานจะให้ค่า MIC ที่แตกต่างกันขึ้นกับชนิดของแบคทีเรีย

การทดสอบในครั้งนี้ พบว่า สารสกัด *S. platensis* มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *V. harveyi* ได้ เนื่องจากสาหร่าย *S. platensis* เป็นสาหร่ายชนิดหนึ่งที่มีสารฆ่าเชื้อแบคทีเรียหรือสารที่สามารถยับยั้งจุลชีพได้ (El-Sheekh et al., 2017; Parisi et al., 2009) ซึ่งความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) *V. parahaemolyticus* และ *V. harveyi* คือ 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด (อะซีโตน, เมทานอล, เอทานอล และเฮกเซน) (Table 3) อย่างไรก็ตามสารสกัดจากสาหร่ายจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งหรือฆ่าแบคทีเรียได้ขึ้นอยู่กับสารประกอบภายในของสาหร่ายโดย สาหร่าย *S. platensis* ประกอบไปด้วยสารหลายกลุ่ม ได้แก่ terpenols, sterols, polysaccharides, dibutenolides peptides และ proteins metabolites ซึ่งตรวจพบสารประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Yuan et al., 2005; Bansemir et al., 2006)

สรุป

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสาหร่ายสไปรูลินาต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* และ *V. harveyi* ในหลอดทดลองพบว่า สารสกัดในตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *V. parahaemolyticus* ได้ดีที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเท่ากับ 11.3 ± 1.2 มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดในตัวทำละลายอะซีโตน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ได้ดีที่สุด มีเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเท่ากับ 12.0 ± 0.5 มิลลิเมตร โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สารสกัดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* คือ 2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในตัวทำละลายเฮกเซน ส่วนสารสกัดในตัวทำละลายอะซีโตนและเฮกเซน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *V. harveyi* ได้ นอกจากนี้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สารสกัดสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้คือ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในทุกตัวทำละลาย แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากสาหร่ายสไปรูลินามีความสามารถในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* และ *V. harveyi* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในกุ้งขาวแวนนาไม่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เอกสารอ้างอิง

- ตรีชญา ศิริรักษ์. 2548. ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคกลุ่ม Gram-negative rods ของสารสกัดจากเปลือกผลทับทิม. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาวชิราวุฒยาลังสงขลา นครินทร์, สงขลา
- อรพิน คงภักดีพิกุล, จิรวาณิชไพศาล และสถาพร ดิเรกบุษราคม. 2544. ผลของสารสกัดหยาบจากสไปรูลินาต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียเรืองแสง. 175-183 ในการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 39 สาขาประมง สาขาอุตสาหกรรมเกษตร 5-7 กุมภาพันธ์ 2544. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร

- Bansemir, A., Blume, M., Schroder, S. and Lindequist, U. 2006. Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*. 52: 79-84.
- Birada, S. S., Goun, N. R., Neogi, U. and Saumya, R. 2007. In vitro and In vivo Antibacterial Studies of Medicinal Plant on Motile Aeromonad Septicemia in Fish Caused by *Aeromonas hydrophila*. *Fish. Aquat. Sci.* 6: 417-421.
- El-Sheekh, M. M., Dawah, A. M., El-Rahman, A. M. A., El-Adel, H. M. and El-Hay, R. A. A. 2008. Antimicrobial activity of the cyanobacteria *Anabaena wisconsinense* and *Oscillatoria curviceps* against pathogens of fish in aquaculture. *Ann. Microbiol.* 58: 527-534.
- Herunsalee, A. and Direkbusarakom, S. 1993. Investigation on the bioactive Thai medicinal plants to virus in tiger prawns. p. 104-106: Related Conference of Marine Biotechnology and Aquaculture. 16-20 November 1993. Bangkok.
- Kaushik, P. and Chauhan, A. 2008. In vitro antibacterial activity of laboratory grown culture of *Spirulina platensis*. *Indian. Microbiol.* 48: 348-352.
- Kulandaivel, S., Prakash, R., Anitha, R. and Arunnagendran, N. 2007. Antibacterial activity of *Spirulina platensis* and *Oscillatoria* sp. *Plant and Appl. Microbiol.* 1: 127-129.
- Parisi, A. S., Younes, S., Reinehr, C.O. and Colla, L.M. 2009. Assessment of the antibacterial activity of microalgae *Spirulina platensis*. *App. Pharm. Sci.* 30: 97-301
- Rigos, G., Nengas, I., Alexis, M. and Troisi, G. M. 2004. Potential drug (oxytetracycline and oxolinic acid) pollution from Mediterranean sparid fish farm. *Aquat. Toxicol.* 69: 281-288.
- Sarker, S. D., Nahar, L. and Kumarasamy, Y. 2007. Microtiterplate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods.* 42: 321-324.
- Usharani, G., Srinivasan, G., Sivasakthi, S. and Saranraj, P. 2015. Antimicrobial Activity of *Spirulina platensis* Solvent Extracts Against Pathogenic Bacteria and Fungi. *Adv. Biol. Res.* 5: 292-298.
- YUAN, Y. V., CARRINGTON, M. F. and WALSH, N. A. 2005. Extracts from dulse (*Palmaria palmata*) are effective antioxidants and inhibitors of cell proliferation in vitro. *Food Chem. Toxicol.* 43: 1073-1081.