

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารสี
SCREENING OF BACTERIA WITH PIGMENT PRODUCTION



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SCREENING OF BACTERIA WITH PIGMENT PRODUCTION



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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้ภายในเท่านั้น กรุณาอย่านำออกนอกระบบโดยไม่ได้รับอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารสี
	Screening of bacteria with pigment production
ชื่อนักศึกษา	นางสาวนันทยา อ่อนนุ่ม รหัสนักศึกษา 56050849
	นางสาวสุธาวิณี มาไกล รหัสนักศึกษา 56050939
	นางสาวอรณิชา ทยานุวัฒน์วงศ์ รหัสนักศึกษา 56050949
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. ดวงกมล เรืองงาม

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร. จิตติ ท่าไว	
ประธานกรรมการ	
ดร. สมพิศ สอนโยธา	
กรรมการ	
ผศ.ดร. ดวงกมล เรืองงาม	
กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูในแผนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารสี		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวนันทยา อ่อนนุ่ม	รหัสนักศึกษา	56050849
	นางสาวสุธาวิณี มาไกล	รหัสนักศึกษา	56050939
	นางสาวอรณิชา ทยานุวัฒน์วงศ์	รหัสนักศึกษา	56050949
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)		
ปีการศึกษา	2559		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. ดวงกมล เรือนงาม		

บทคัดย่อ

ในการศึกษาเพื่อหาเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารสีจากดินป่าชายเลนของจังหวัดเพชรบุรี สามารถแยกเชื้อได้จำนวน 9 ไอโซเลต ได้แก่ C1-2 G1-2 G1-9 G1-10 G1-11 G2-2 H1-1 I2-1 I3-1 และจังหวัดสุราษฎร์ธานี สามารถแยกเชื้อได้จำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ Ch1-2B Ch3-2 Ch3-3 เชื้อเหล่านี้ถูกกำหนดโดยการวิเคราะห์ลักษณะทางอนุกรมวิธานเบื้องต้น ได้แก่ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะการเจริญ สารสกัดหยาบทั้งเซลล์และน้ำหมักของเชื้อจำนวน 12 ไอโซเลตถูกนำมาศึกษาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธีเอกาติสก์ดิฟฟิวชัน (agar disc diffusion) จากการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดหยาบจากเซลล์และน้ำหมักของเชื้อ Ch3-3 มีค่า IC_{50} ดีที่สุดซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0161 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.0076 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อคิดเทียบกับสารมาตรฐาน BHT พบว่าสารสกัดหยาบจากเซลล์ของเชื้อ Ch3-3 ที่ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเท่ากับสารมาตรฐาน BHT ที่ความเข้มข้น 34.3573 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่ามากที่สุด แต่สารสกัดหยาบจากน้ำหมักของเชื้อ G1-11 ที่ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเท่ากับสารมาตรฐาน BHT ที่ความเข้มข้น 16.4580 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดหยาบจากน้ำหมักของเชื้อ Ch3-3 และจากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์พบว่าไม่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทั้ง 7 ชนิด

คำสำคัญ

แบคทีเรีย ป่าชายเลน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารสี แอคติโนมัยสีท
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาดูเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Screening of bacteria with pigment production	
Students	Miss Nanthaya Onnoom	Students ID 56050849
	Miss Suthawinee Maklai	Students ID 56050939
	Miss Onnicha Thayanuwadtanawong	Students ID 56050949
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)	
Departments	Biology	
Faculty	Science	
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)	
Academic Year	2559	
Advisor	Asst. Prof. Dr. Duangkamol Ruen-ngam	

Abstract

In this study to find bacteria and actinomycetes can produce pigments from mangrove soil of Phetchaburi have 9 isolated include C1-2 G1-2 G1-9 G1-10 G1-11 G2-2 H1-1 I2-1 I3-1 and Suratthani have 3 isolated include Ch1-2B Ch3-2 Ch3-3. Study morphology and growth characteristics. The extract of cell and broth of 12 isolated to studies bioassay. Testing the effects of antioxidants activities by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. Studies of antimicrobial activities by agar disc diffusion method. The test to influence of antioxidants find cell and broth to the best of values IC_{50} is isolated Ch3-3 values 0.0161 mg/ml and 0.0076 mg/ml respectively. The compared with standard substances BHT to find that extracts from infected Ch3-3 concentration 1000 μ g/ml antioxidant activity of the substances BHT concentration 34.3573 μ g/ml most valuable but broth G1-11 concentration 1000 μ g/ml antioxidant activity of the substances BHT concentration 16.4580 μ g/ml with antioxidant activity than broth Ch3-3 and studies of inhibiting microorganisms find to no effects.

Keywords : pigment, mangrove forest, bacteria, actinomycetes, antioxidant

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดีโดยได้รับความกรุณาจาก ผศ.ดร.ดวงกมล เรืองงาม อาจารย์ที่ปรึกษาและ รศ.ดร. จิตติ ท่าวัว ที่ได้ช่วยเหลือให้ความรู้และคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ระหว่างการดำเนินการค้นคว้าวิจัย ให้ความอนุเคราะห์ทั้งอุปกรณ์ สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง และอำนวยความสะดวกในการดำเนินการวิจัย ตลอดจนตรวจทานแก้ไขโครงการพิเศษให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ในการทำโครงการพิเศษมาโดยตลอด ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณอาจารย์ทั้งสองท่านเป็นอย่างสูงและรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาของอาจารย์เป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบพระคุณประธานกรรมการและกรรมการ ที่ให้คำปรึกษาและข้อมูลอันเป็นประโยชน์ต่อการค้นคว้าวิจัยให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการ ภาควิชาชีววิทยาทุกท่านที่ให้การเอื้อเฟื้ออุปกรณ์สำหรับใช้ในการทดลอง และอำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ ในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ บิดา มารดา พี่ชายและญาติพี่น้อง รวมทั้งเพื่อนๆ และผู้มีส่วนร่วมที่ให้การสนับสนุนข้าพเจ้าในทุกๆ ด้าน และคอยเป็นกำลังใจให้มาโดยตลอด จนทำให้ข้าพเจ้าสามารถทำวิทยานิพนธ์สำเร็จได้ด้วยดี

นันทยา อ่อนนุ่ม

สุธาวิณี มาไกล

อรณิชา ธยานุวัฒน์วงศ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	ก
1.1 ความสำคัญและความเป็นมาของโรงงานพิเศษ	ก
1.2 วัตถุประสงค์ของโรงงานพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโรงงานพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
2.1 รงควัตถุ (Pigment)	2
2.2 แอคติโนมัยสีท (Actinomycetes)	7
2.2.1 สัณฐานวิทยาของแอคติโนมัยสีท	8
2.3 การศึกษาอนุกรมวิธานเบื้องต้นของเชื้อ	12
2.3.1 ลักษณะทางฟิโนไทป์	12
2.3.2 ลักษณะทางจีโนไทป์	12
2.4 อนุมูลอิสระ (free radicals)	12
2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants)	13
2.6 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity determination)	14
2.6.1 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ	14
2.6.2 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ	16
2.7 สารปฏิชีวนะ	18
2.7.1 กลุ่มของสารปฏิชีวนะที่ผลิตโดยแอคติโนมัยสีท	19
2.8 การทดสอบสารสีที่ค้นพบในแบคทีเรีย	23
2.8.1 การวัดสี	23
2.8.2 การวิเคราะห์ทางสเปกโตรสโกปี	24
2.8.3 หลักในการหาปริมาณของสารกับปริมาณของแสงที่ถูกดูดกลืน	25
2.8.4 หลักการวิเคราะห์สีจากภาพถ่าย	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้จัดทำเนื้อหาไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ไปยังผู้อื่นและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.9 การสกัด	25
2.9.1 การสกัดด้วยวิธีการแช่	25
2.9.2 การสกัดสารด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัด	26
2.9.3 การสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยในการสกัด	26
2.10 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารสี	27
2.10.1 แหล่งคาร์บอน	27
2.10.2 แหล่งไนโตรเจน	27
2.10.3 เกลือ	27
2.10.4 อุณหภูมิและพีเอช	27
2.11 ป่าชายเลน (mangroves)	27
2.11.1 ชนิดและการแพร่กระจายของป่าชายเลน	28
2.11.2 การแพร่กระจายตัวของป่าชายเลน	30
2.12 งานวิจัยสารสีจากแบคทีเรีย	31
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงาน	35
3.1 เครื่องมือ	35
3.2 สารเคมี	35
3.3 เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ	36
3.4 การเก็บตัวอย่างและตัวอย่างที่ใช้ในการแยกเชื้อ	36
3.5 การแยกเชื้อแบคทีเรียที่สร้างสารสี	37
3.6 การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียผลิตสารสี	37
3.7 การสกัดสารสี	38
3.8 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity)	38
3.9 การเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรีย	41
3.10 สถานที่ทำการทดลอง	41
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	42
4.1 ผลการแยกเชื้อที่ผลิตสารสี	42
4.2 การศึกษาอนุกรมวิธานเบื้องต้นของเชื้อ	42
4.3 ผลของการสกัดสารสี	50

4.3.1 ผลจากการสกัดสารสีในส่วนของน้ำหมัก
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
4.3.2 ผลจากการสกัดสารสีในส่วนของตัวเซลล์
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
4.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity)	52
4.4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH	52
4.4.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยวิธีเอกาติสก์ดิสก์ฟิวชัน (agar disc diffusion)	73
บทที่ 5 สรุปลวิจัยและข้อเสนอแนะ	76
เอกสารอ้างอิง	78
ภาคผนวก	81
ภาคผนวก ก	82
ภาคผนวก ข	84
ภาคผนวก ค	85
ภาคผนวก ง	94
ภาคผนวก จ	109



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 งานวิจัยสารสีจากแบคทีเรีย	32
4.1 การเก็บตัวอย่างและการแยกเชื้อที่ผลิตสารสี	42
4.2 ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอสกีโนมัยสีทบนอาหาร yeast extract – malt extract agar ระยะเวลา 21 วัน	49
4.3 ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร yeast extract – malt extract agar ระยะเวลา 21 วัน	50
4.4 สารสีในส่วนของน้ำหมักที่เชื้อแต่ละไอโซเลตผลิตได้	50
4.5 สารสีในส่วนของตัวเซลล์	51
4.6 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของ C1-2	52
4.7 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส G1-2	54
4.8 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส G1-9	55
4.9 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส G1-10	57
4.10 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส G1-11	58
4.11 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส G2-2	60
4.12 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส H1-1	61
4.13 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส I2-1	63
4.14 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส I3-1	64
4.15 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส Ch1-2B	66
4.16 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส Ch3-2	67
4.17 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส Ch3-3	69
4.18 การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบในส่วนของน้ำหมักและตัวเซลล์ด้วยวิธี DPPH	70
4.19 ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบกับความเข้มข้นของสาร BHT ที่ให้การต้านอนุมูลอิสระเท่ากัน	72
4.20 ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบโดยวิธี Agar disc diffusion	74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ลักษณะของเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) และเส้นใยอากาศ (aerial mycelium)	9
2.2 ขั้นตอนการสร้างโคโลนีของแอสเพอร์จิลลินัม	9
2.3 ลักษณะโคโลนีของแอสเพอร์จิลลินัม	10
2.4 ลักษณะของสปอร์แบบเดี่ยว (single spore) และสปอร์แบบสายโซ่สั้น (short chain)	11
2.5 โครงสร้างพื้นฐานสารกลุ่ม Aminoglycosides	19
2.6 โครงสร้างสารปฏิชีวนะ Streptomycin	20
2.7 โครงสร้างพื้นฐานสารกลุ่ม Tetracycline	20
2.8 โครงสร้างพื้นฐานสารกลุ่ม Chloramphenicol	21
2.9 โครงสร้างพื้นฐานสารกลุ่ม Macrolide	21
2.10 โครงสร้างสารปฏิชีวนะ Erythromycin	22
2.11 โครงสร้างสารปฏิชีวนะ Nystatin	22
2.12 L-a-b Chart ของ CIE Lab scale	23
2.13 L*-a*-b* Chart ของ Hunter Lab	24
2.14 ป่าชายเลน	28
4.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต C1-2	43
4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต G1-2	43
4.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต G1-9	44
4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต G1-10	44
4.5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต G1-11	45
4.6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต G2-2	45
4.7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต H1-1	46
4.8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต I2-1	46
4.9 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต I3-1	47
4.10 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต Ch1-2B	47
4.11 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต Ch3-2	48
4.12 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลต Ch3-3	48
4.13 ตัวอย่างสีสารสกัดหยาบจากน้ำหมัก	51
4.14 ตัวอย่างสีสารสกัดหยาบจากเซลล์	52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.15 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์ เชื้อโอโซเลต C1-2 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต C1-2 และ BHT ที่ความเข้มข้น ต่างๆ	53
4.16 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจาก เซลล์เชื้อโอโซเลต C1-2 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต C1-2	53
4.17 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์ เชื้อโอโซเลต G1-2 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต G1-2 และ BHT ที่ความเข้มข้น ต่างๆ	54
4.18 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจาก เซลล์เชื้อโอโซเลต G1-2 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต G1-2	55
4.19 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์ เชื้อโอโซเลต G1-9 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต G1-9 และ BHT ที่ความเข้มข้น ต่างๆ	56
4.20 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจาก เซลล์เชื้อโอโซเลต G1-9 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต G1-9	56
4.21 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์ เชื้อโอโซเลต G1-10 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต G1-10 และ BHT ที่ความเข้มข้น ต่างๆ	57
4.22 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจาก เซลล์เชื้อโอโซเลต G1-10 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต G1-10	58
4.23 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์ เชื้อโอโซเลต G1-11 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต G1-11 และ BHT ที่ความเข้มข้น ต่างๆ	59
4.24 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจาก เซลล์เชื้อโอโซเลต G1-11 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต G1-11	59
4.25 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์ เชื้อโอโซเลต G2-2 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต G2-2 และ BHT ที่ความเข้มข้น ต่างๆ	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.26 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต G2-2 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต G2-2	61
4.27 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต H1-1 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต H1-1 และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ	62
4.28 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต H1-1 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต H1-1	62
4.29 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต I2-1 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต I2-1 และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ	63
4.30 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต I2-1 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต I2-1	64
4.31 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต I3-1 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต I3-1 และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ	65
4.32 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต I3-1 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต I3-1	65
4.33 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต Ch1-2B สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต Ch1-2B และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ	66
4.34 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต Ch1-2B และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต Ch1-2B	67
4.35 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต Ch3-2 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต Ch3-2 และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ	68
4.36 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต Ch3-2 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต Ch3-2	68
4.37 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต Ch3-3 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต Ch3-3 และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ	69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่

หน้า

- 4.38 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจาก
เซลล์เชื้อไอโซเลต Ch3-3 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อไอโซเลต Ch3-3 70



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและความเป็นมาของโครงการพิเศษ

มนุษย์เราให้ความสนใจและเอาใจใส่เกี่ยวกับเรื่องสุขภาพกันมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการรับประทานอาหารของมนุษย์เราในปัจจุบันพบว่ามีความเสี่ยงต่อโรคต่างๆ มากมาย เช่น การรับประทานอาหารประเภทเนื้อสัตว์เป็นประจำจะมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ หลอดเลือดแข็งตัว และมะเร็ง เพราะเนื้อสัตว์มีของเสียที่เกิดจากขบวนการเผาผลาญอาหารที่เรียกว่า “อนุมูลอิสระ” (free radical) เป็นจำนวนมาก โดยอนุมูลอิสระเป็นสารที่เกิดจากกระบวนการเผาผลาญอาหารในร่างกาย รวมถึงจากมลพิษต่างๆ เช่น โอโซน โลหะหนัก ควันบุหรี่ อนุมูลอิสระเหล่านี้ จะทำลายโครงสร้างและหน้าที่ของผนังเซลล์ก่อให้เกิดความผิดปกติต่างๆ เช่น โรคชรา (แก่ก่อนวัย) โรคหลอดเลือดและหัวใจขาดเลือด ผนังหลอดเลือดแข็งตัว (atherosclerosis) โรคเสื่อมของระบบต่างๆ ในร่างกาย รวมถึงการกลายพันธุ์ (mutation) ของเซลล์ ซึ่งอาจพัฒนาไปเป็นเซลล์มะเร็งได้ ร่างกายของเราจึงมีกลไกในการควบคุมสารนี้และผลผลิตของสารอนุมูลอิสระเพื่อไม่ให้ลุกลาม ร่างกายจะมีกลไกในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยใช้สาร 2 ชนิด ได้แก่ เอนไซม์และสารที่ไม่ใช่เอนไซม์ ซึ่งเอนไซม์ในร่างกายเราที่ใช้ในการกำจัดอนุมูลอิสระมีอยู่อย่างจำกัด เราจึงต้องรับประทานสารกำจัดอนุมูลอิสระพวกที่ไม่ใช่เอนไซม์ สารดังกล่าว ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระ หรือมีอีกชื่อว่า “Antioxidant” (บุหรัน, 2556)

ปัจจุบันมีการนำจุลินทรีย์มาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ มากยิ่งขึ้น ความสามารถในการผลิตสารรงควัตถุถือเป็นเอกลักษณ์อย่างหนึ่งของจุลินทรีย์ และสารรงควัตถุบางชนิดก็เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์ เช่น แคโรทีนอยด์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นสารที่มีสีเหลือง ส้ม หรือแดง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างย่อยของแคโรทีนอยด์แต่ละชนิด ซึ่งมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ (วีระศักดิ์, 2556 อ้างถึง Paiva และ Russell, 1999)

จากที่ได้กล่าวมาแล้ว จะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ที่สร้างรงควัตถุเป็นแหล่งของสารสีธรรมชาติที่น่าสนใจ และควรได้รับการศึกษาให้แพร่หลายมากขึ้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการคัดกรองและศึกษาคุณสมบัติในด้านการต้านอนุมูลอิสระของจุลินทรีย์ โดยเน้นไปที่แบคทีเรียที่สร้างรงควัตถุที่แยกได้ในพื้นที่โครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ยอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ตำบลแหลมผักเบี้ย อำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรีและจังหวัดสุราษฎร์ธานี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษ

1. เพื่อแยกและคัดกรองเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารสีและสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีจากดินป่าชายเลน
2. เพื่อทดสอบวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเชื้อแบคทีเรียได้

1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

1. ศึกษาตัวอย่างที่เก็บจากป่าชายเลนในโครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมผักเป็ดอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดเพชรบุรี และจังหวัดสุราษฎร์ธานี
2. ศึกษาเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารสีและสารต้านอนุมูลอิสระได้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถทราบสายพันธุ์แบคทีเรียที่สามารถผลิตสารสีและสารต้านอนุมูลอิสระได้ดี



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 รงควัตถุ (Pigment)

รงควัตถุ หมายถึง สารสี ที่ผลิตจากสิ่งมีชีวิต หรือสารเคมี มีหลักฐานยืนยันการใช้ รงควัตถุตั้งแต่ดึกดำบรรพ์โดยพบการเขียนขีดภายในถ้ำ โดยใช้แร่ธาตุอื่นๆ มากกว่า 3,000 ปี มีหลักฐานอย่างแน่นอนว่าศิลปะจะใช้สารสี จากพืช และสัตว์ และยังมีการเลือกใช้สารสีที่เกิดจาก สารอนินทรีย์ เมื่อ 100 ปี ที่ผ่านมา (Daniel, 1986)

การจำแนกสารรงควัตถุโดยส่วนมากจะจำแนกตามแหล่งเพราะว่าคุณสมบัติของรงควัตถุ แต่ละกลุ่มจะมีคุณลักษณะและตำแหน่งที่แตกต่างกันโดยแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ รงควัตถุที่ได้จาก ธรรมชาติ (natural pigment) และรงควัตถุที่ได้จากการสังเคราะห์ รงควัตถุที่ได้จากธรรมชาติ จะได้จากสิ่งมีชีวิตที่มีสีจากการดูดซึมสารรงควัตถุที่ได้จากสิ่งมีชีวิต ประกอบด้วย รงควัตถุที่ได้จากพืช และรงควัตถุที่ได้จากสัตว์ โครงสร้างของสิ่งมีชีวิตโดยส่วนใหญ่ที่มีสีเช่น ผีเสื้อ , ตา, ขน และผม จะประกอบด้วยรงควัตถุที่เป็น melanin ซึ่งมีชื่อเรียกเฉพาะว่า Chromatophore รงควัตถุที่ได้จาก การสังเคราะห์ แบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ รงควัตถุที่ได้จากสารอนินทรีย์ และรงควัตถุที่ได้จาก สารอนินทรีย์ (Daniel, 1986)

2.1.1 รงควัตถุที่ได้จากธรรมชาติ (Natural Pigment)

2.1.1.1 รงควัตถุจากพืช

รงควัตถุที่พบในพืชโดยส่วนใหญ่จะประกอบด้วย แคโรทีน (สีแดงส้ม สีเหลือง) แอนโทไซยานิน (สีแดง , น้ำเงิน และม่วง) และคลอโรฟิลล์ (สีเขียว) สีแดงและสีเหลืองเกิดจากใบไม้ ในฤดูใบไม้ร่วง ซึ่งจะมีแอนโทไซยานิน รงควัตถุที่ได้จากสิ่งมีชีวิตจะมีการดูดซับแสงในช่วงความยาวคลื่นที่ต่างกัน ซึ่งทำให้เห็นสีที่มองเห็นในรงควัตถุโดยส่วนมากจะเป็นตัวล่อเพื่อให้แมลงเข้ามาใกล้ และถ่ายละอองเกสร

- คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) เป็นกลุ่มของรงควัตถุที่มีสีเขียว มีหน้าที่จับพลังงานแสง (primary light-accepting pigments) เพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงซึ่งเกิดขึ้นในคลอโรพลาสต์ คลอโรฟิลล์แบ่งออกเป็น 4 ชนิด คือ คลอโรฟิลล์เอมีสีเขียวแกมน้ำเงินพบในพืชชั้นสูงทุกชนิด คลอโรฟิลล์บีมีสีเขียวแกมเหลือง พบในพืชชั้นสูงทุกชนิดและสาหร่ายสีเขียว (green algae) คลอโรฟิลล์ซีพบในสาหร่ายสีน้ำตาล (brown algae) และสาหร่ายสีทอง (golden algae) แต่ไม่พบ ในพืชชั้นสูง คลอโรฟิลล์ดีพบในสาหร่ายสีแดง (red algae) แต่ไม่พบในพืชชั้นสูง

โดยทั่วไปในพืชชั้นสูงจะพบทั้งคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีอยู่ด้วยกันและมี เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า สัดส่วนประมาณ 2.5-3.5 ต่อ 1 โมเลกุลของคลอโรฟิลล์ประกอบด้วยส่วนหัวของ porphyrin ring ซึ่ง ไม่วากรรมใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มี Mg อยู่ตรงกลางและส่วนหางซึ่งเป็น long chain hydrocarbon เรียกว่า phytol ส่วนคลอโรฟิลล์ บีแตกต่างจากคลอโรฟิลล์เอที่ aldehyde group (-CHO) ซึ่งจะแทนที่ methyl group (CH₃) ที่ตำแหน่งที่ 3 เท่านั้น คลอโรฟิลล์เป็นพวกที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) จึงไม่ละลายในน้ำสังเคราะห์แสงได้ (Goowin, 2002)

- แคโรทีนอยด์ (Carotenoid) เป็นรงควัตถุกลุ่มใหญ่พบอยู่ร่วมกับคลอโรฟิลล์ใน chloroplasts และ chromoplasts ให้สีแดง ส้มและเหลือง และเป็นรงควัตถุในใบไม้ที่เปลี่ยนสีในฤดูใบไม้ร่วง (autumn leaf pigmentation) แคโรทีนอยด์จะประกอบด้วย แคโรทีน (มีรงควัตถุสีส้มและพบในแครอท) ลูทีน (มีรงควัตถุสีเหลืองพบในผักและผลไม้) ไลโคปีน (มีรงควัตถุสีแดง มีมากในมะเขือเทศ) แคโรทีนอยด์มีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ และส่งเสริมการมองเห็นของมนุษย์ (Ball, 2002)

- แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) เป็นสารที่มีสีตั้งแต่สีน้ำเงินเข้มในสภาวะเป็นด่าง (pH>7) มีสีม่วงเมื่อเป็นกลาง (pH 7) และจะเปลี่ยนเป็นสีแดงถึงส้มได้ในสภาวะเป็นกรด (pH<7) เป็นสารสีที่พบได้ทั่วไปในดอกไม้ ผลไม้บางชนิด ใบหรือลำต้นของพืชบางชนิดที่มีสีจัดในปริมาณเพียงน้อยนิดก็สามารถแสดงสีได้ในความเข้มข้นสูง มนุษย์ในบางพื้นที่รู้จักใช้สารตัวนี้มาเป็นเวลานานแล้วในกิจกรรมต่างๆ เช่น ไทยใช้สีจากดอกอัญชันทำขนมจีน ใช้สีของเปลือกไม้และใบไม้บางชนิดในการย้อมผ้าให้มีสีต่างๆ ด้วยการใช้ยางไม้และปูนขาวในการแต่งสี ยุโรปใช้ผลไม้ป่า (wild berry) ในการทำเครื่องสำอางและทำขนม ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะเป็นอนุพันธ์หนึ่งของแอนโทไซยานิน ที่พบได้ในธรรมชาติ

- เบตาเลน (Betalain) เป็นรงควัตถุสีแดงและสีเหลือง คล้ายกับแอนโทไซยานินเป็นสารที่ละลายน้ำ ที่แตกต่างกับแอนโทไซยานินก็คือสารประกอบ indole derive ที่ได้จากการสังเคราะห์ของ tyrosine pigment ที่พบจะมีเฉพาะ Caryophyllales (ประกอบด้วย Caetus และ amaranth) และไม้ปรากฏร่วมกับพืชที่พบแอนโทไซยานิน เบตาเลนจะมีสีแดงเข้มและใช้เป็นสารเติมสีให้กับอาหาร

- แแซฟรอนหรือหญ้าฝรั่น (Saffron) เป็นสารที่มีรงควัตถุมีสีน้ำตาล สีแดงเหลืองได้จากสารของ *Crocus sativus* ซึ่งจะปลูกกันมากในอเมริกาเหนือ สเปน อิหร่าน และฝรั่งเศส แแซฟรอนจะเป็นสารที่มีประสิทธิภาพมากกว่าสารตัวอื่น โดยจะมีฤทธิ์การต่อต้านอนุมูลอิสระทำลายจุลินทรีย์ และสามารถนำไปใช้ในการย้อมสีได้โดยใช้ที่ระดับ 1-260 ppm (Daniel, 1986)

2.1.1.2 รงควัตถุจากสัตว์

สีที่อยู่ในสัตว์จะมีปริมาณที่น้อย มนุษย์ใช้สีของสัตว์โดยสีของสัตว์แต่ละชนิดที่ได้จะได้จากเพศของสัตว์และบริเวณอื่นๆ ของสัตว์ ยกตัวอย่าง เช่น สีแดงที่แผงคอของนกแอมมิงเบิร์ด เฉพาะเพศผู้เท่านั้นที่จะมีขนสีแดงที่แผงคอ ส่วนเพศเมียจะมีขนแผงคอสีขาว (Martha, 2002) หน้าที่ในการสร้างสีจะแสดงให้เห็นชัดเจนในเอฟหรือตัวอ่อนของซาลาแมนเดอร์ หรือการมีจุดแดงของตัวนิ่วซึ่งสีที่สร้างจะเป็นตัวล่อให้หนอนเข้ามาใกล้และจับกินเป็นอาหารในขณะเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใช้เห็นใบเขียวประยงค์เห็นการค้ำ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีที่โดดเด่นจะเป็นสัญญาณเตือนอันตรายให้แก่ผู้ที่มาล่าพวกมันเป็นอาหาร เพราะที่ผิวจะมีพิษด้วยเช่นกัน เมื่อโตเต็มวัยสีที่ผิวหนังก็จะเปลี่ยนไป

การสร้างสีของสัตว์บางชนิด มีไว้เพื่อป้องกันอันตรายต่างๆ จากสัตว์นักล่าอื่นที่จะมากินตัวมันเอง

2.1.1.3 รงควัตถุจากจุลินทรีย์

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า มีทั้งพวกที่เป็นเซลล์เดี่ยวและหลายเซลล์ พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมทั้งในดิน น้ำ อากาศ ทะเลลึก ปล่องภูเขาไฟ และทั้งในและนอกร่างกายมนุษย์และสัตว์ จุลินทรีย์มีอยู่มากมายหลายชนิดสามารถแบ่งเป็นกลุ่มๆ ได้คือ แบคทีเรีย , รา , สาหร่าย , โปรโตซัว และไวรัส ซึ่งโดยทั่วไปแล้วจุลินทรีย์ที่มีการสร้างรงควัตถุจะอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรีย เชื้อรา และสาหร่าย เมื่อวางอาหารเลี้ยงเชื้อไว้ในอากาศประมาณ 30 นาที หรือการนำน้ำจากแม่น้ำมาทำการเจือจางเพาะเลี้ยงลงในอาหารแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จะมีโคโลนีสีต่างๆมากมายปรากฏขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อโคโลนี สีเหลืองและสีชมพูจากจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนมากจะเป็นจุลินทรีย์พวกแกรมบวก มีรูปร่างกลมเล็ก ในทางตรงกันข้ามสีของโคโลนีที่เพาะเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากแหล่งน้ำ โดยส่วนมากจะเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง เช่น *Flavobacterium* sp., *Cytophaga* sp., *C. violaceum*, *Serratia* sp. และ *Pseudomonas* sp. (Logan, 1994)

จุลินทรีย์โดยทั่วไปที่มีการศึกษาการสร้างรงควัตถุพบว่า จะสร้างรงควัตถุในกลุ่มแคโรทีนอยด์ ซึ่งมีทั้งสารสีส้ม สีเหลือง และสีแดง โดยส่วนใหญ่ซึ่งสามารถพบได้ทั้งแบคทีเรีย เชื้อรา และสาหร่าย ลักษณะของจุลินทรีย์ที่เป็นแหล่งสารสี ได้แก่

1. สามารถเจริญได้เร็ว ขยายพันธุ์ได้ดี
2. มีความสามารถผลิตผลิตภัณฑ์ได้สูง ได้ผลสม่ำเสมอ และไม่ควรรีให้ผลพลอยได้ที่ไม่จำเป็นหรือไม่ต้องการ
3. ควรเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถใช้วัตถุดิบหาง่าย และราคาถูกที่มีอยู่แล้วในท้องถิ่นได้ดี
4. มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ดีมีช่วง pH และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตกว้าง
5. เป็นจุลินทรีย์ที่มีลักษณะทางด้านพันธุกรรมที่คงที่ไม่เปลี่ยนแปลงง่าย
6. ควรเป็นเชื้อที่เลี้ยงง่าย ตายยาก และเก็บได้นาน
7. ควรเป็นเชื้อบริสุทธิ์ปราศจากฟาจ (phage) หรือทนต่อการทำลายของฟาจ (phage) หรือจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น แบคทีเรียควรเป็นพันธุ์ต้านทานฟาจ (phage) สาหร่ายก็ควรทนต่อการเข้าทำลายของแบคทีเรียหรือรา
8. ต้องเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อโรคในคน และไม่สร้างสารพิษให้กับผลิตภัณฑ์นั้น ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารสี

1. แบคทีเรีย แบคทีเรียที่สามารถผลิตสีได้อาจจำแนกตามลักษณะของสีที่ผลิตดังนี้

กลุ่มแคโรทีนอยด์ จะมีสีเหลือง ส้ม หรือแดงส้ม ตัวอย่างของแบคทีเรียที่ผลิตสีในกลุ่มนี้ได้เช่น

- *Streptomyces chrestomyceticus* ผลิต Lycopene
- *Flavobacterium* sp. ผลิต Lutein
- *Mycobacterium pheli* ผลิต Unidentified xanthophylls
- *Mycobacterium lacticola* ผลิต Astaxantin
- *Rhodococcus maris* ผลิต Canthaxanthin

วิตามิน B12 จะมีสีแดงคล้ำ (เป็นผลึกของปรีซิม) ตัวอย่างของแบคทีเรียที่ผลิตสีในกลุ่มนี้ได้เช่น

- *Pseudomonas* sp.
- *Streptomyces* sp.
- *Proteus* sp.

เหลืองเขียวเรืองแสง ตัวอย่างของแบคทีเรียที่ผลิตสีในกลุ่มนี้ได้เช่น

- *Clostridium butylicum* (เป็นจุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตวิตามิน B12 ในอุตสาหกรรม)
- *Clostridium acetobutylicum*
- *Lactobacillus* spp.
- *Acetobacter* sp.

Prodigiosin สีแดงเลือดนก ผลิตโดย *Serratia marcescens*

Indigoids สีคราม ผลิตโดย *Pseudomonas putida*

2. รา ที่สามารถผลิตสีได้อาจจำแนกตามลักษณะของสีที่ผลิตดังนี้

monascorubin (สีแดง) และ monascoflavin (สีเหลือง) ผลิตจาก *Monascus purpureus*

แคโรทีนอยด์

- *Mucor macedo* ผลิต carotene
- *Rhodosporidium* ผลิต torelene
- *Dacrymyces deliquescens* ผลิต lutein

วิตามิน B2

- *Ashbya gossypii*
- *Ermothecium ashbyii*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ยีสต์ ที่สามารถผลิตสีได้จากจำแนกตามลักษณะของสีที่ผลิตดังนี้

วิตามิน B2

- *Candida urborea*
- *Candida flareri*
- *Rhodoturula* sp. ผลิต torelene
- *Phaffia rhodozyma* ผลิต astaxanthin

4. สาหร่าย

- *Rhodophyta* sp. (สาหร่ายสีแดง) ผลิต ไฟโตอิริทริน (สีแดง)
- *Spirulina* sp. ผลิตรงควัตถุ 3 ชนิด คือ

1. คลอโรฟิลล์ เอ เป็นรงควัตถุสีเขียว รวมอยู่กับโปรตีนและไขมันของเนื้อเยื่อ คลอโรพลาสต์ มีคุณสมบัติไวต่อแสง ความร้อน และออกซิเจน

2. แคโรทีนอยด์ เป็นรงควัตถุสีเหลือง ส้ม และแดง ซึ่งเป็นสารประกอบ ไฮโดรคาร์บอนที่ไม่มีออกซิเจน แคโรทีนอยด์สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ตามลักษณะ โครงสร้างทางเคมี คือ

2.1 แคโรทีน (รงควัตถุสีแดงส้ม) แคโรทีน แบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ แอลฟาแคโรทีน เบต้าแคโรทีน และเอปซิลอนแคโรทีน โดยเบต้าแคโรทีน จะเป็นตัวที่พบได้ใน สาหร่ายทุกชนิด

2.2 แซนโทฟิลล์(รงควัตถุสีเหลือง) มีชื่ออีกอย่างว่า ออกซิแคโรทีน (Oxycarotene) หรือ แคโรทีนอล (Carotenol) เป็น Antioxidant ช่วยป้องกันโรคมะเร็ง ชะลอความ แก่ เป็นสารช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกัน

2.3 ไฟโคไซยานิน คือ ไฟโคบิลิน + โปรตีน = ไฟโคบิลิโปรตีน (ไฟโคบิลิ-โซม) ละลายในน้ำได้เป็นสารสีแดง และน้ำเงิน

2.2 แอคติโนมัยสีท (Actinomycetes)

ชื่อ “actinomycete” มาจากภาษากรีก ระหว่างคำว่า “akktis” แปลว่า รังสีบีม (ray beam) และคำว่า “mykes” แปลว่า รา (fungus) เชื้อแอคติโนมัยสีทจัดเป็นแบคทีเรียแกรม บวกลักษณะสัณฐานวิทยาคล้ายเชื้อรา คือ มีเส้นใยแตกกิ่งออกมาและบางชนิดมีการสร้างสปอร์เป็น สิ่งมีชีวิตที่มีปริมาณเบสกวานีนกับไซโตซีนสูง (มากกว่าร้อยละ 50) เชื้อแอคติโนมัยสีทมีหลายสปีชีส์ที่ สามารถผลิตสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) เช่น สารต้านมะเร็ง สารปฏิชีวนะที่ใช้ในด้านการ แพทย์ เกษษวิทยา และเกษตรกรรม

แอคติโนมัยสีทดำรงชีวิตอยู่ในดิน ในปุ๋ยหมัก น้ำ โคลนตม และบริเวณรากพืช
แบคทีเรียที่เรี่ยรายอยู่สลายอินทรีย์วัตถุจากซากพืชซากสัตว์ให้เป็นสารใหม่กลับคืนสู่สิ่งแวดล้อมและเป็น
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียที่มีประโยชน์ในหลายด้านโดยธรรมชาติ ปริมาณของแบคทีเรียแอกติโนมัยสียที่พบในดินขึ้นอยู่กับชนิดและสภาพของดินการเจริญของแอกติโนมัยสียถูกยับยั้งได้ด้วยสารปฏิชีวนะที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแต่จะไม่ถูกยับยั้งด้วยสารปฏิชีวนะที่ยับยั้งการเจริญของรา แอกติโนมัยสียมีบทบาทที่สำคัญ คือ ช่วยย่อยสลายอินทรีย์วัตถุในธรรมชาติโดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วยย่อยส่วนประกอบของพืชและสัตว์ที่ทนทานต่อการย่อยสลาย เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และไคติน

วัฏจักรของแอกติโนมัยสียจะเริ่มจากการสร้างเส้นใยใต้พื้นผิวอาหาร เพื่อใช้สารอาหารในการเจริญเติบโต และภายหลังจะมีการสร้างเส้นใยอากาศเพื่อใช้สืบพันธุ์ หรือในกรณีที่มีการขาดอาหาร การขาดน้ำหรือการสะสมสารที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (เกษม และคณะ, 2552)

2.2.1 สันฐานวิทยาของแอกติโนมัยสีย

2.2.1.1 เส้นใย (mycelium)

แอกติโนมัยสียมีลักษณะเป็นเส้นใยคล้ายราแต่มีขนาดเล็กกว่า ขนาดประมาณ 0.5 ถึง 1.5 ไมโครเมตร มีการสร้างผนังกันเส้นใยแบบต่างๆ ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อและมีการเจริญโดยสามารถแตกแขนงบริเวณปลาย โครงสร้างหลักในเส้นใยพบว่าไนไซโตพลาสซึมจะประกอบไปด้วยสายดีเอ็นเอ ไรโบโซม และสารต่างๆรวมอยู่ด้วยกัน โดยส่วนของผนังเซลล์ที่อยู่ติดกับส่วนของไซโตพลาสซึมทำให้เกิดเป็นไมโซโซม ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่ติดกับโครงสร้างของผนังเซลล์ ผนังเซลล์ของเส้นใยมีคุณสมบัติเป็นผนังชั้นเดียว ความหนาประมาณ 10 ถึง 20 นาโนเมตร และมีการสร้างผนังกันหรือเรียกว่า septum ซึ่งสร้างในขณะที่เส้นใยเจริญ (เกษม และคณะ, 2552)

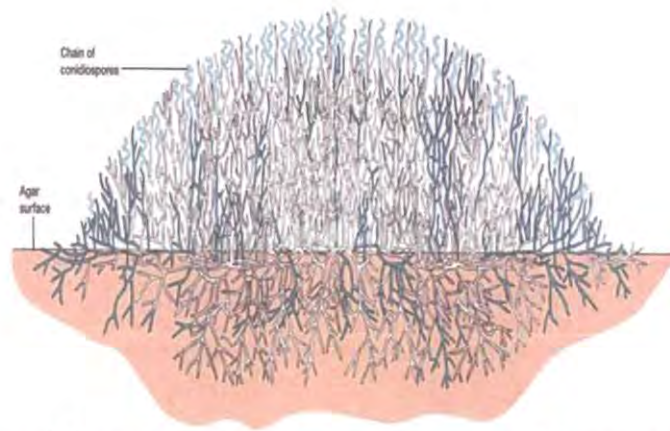
การแตกสาขาของเส้นใยเป็นแบบ monopodial เป็นแบบที่พบได้บ่อยที่สุด พบในสกุลสเตรปโตมัยเซส (*Streptomyces*) แบบ dichotomous พบในสกุลแอกติโนไบฟีดา (*Actinobifida*) และแบบ verticillate พบในสกุลสเตรปโตเวติซิลเลียม (*Streptovercillum*) เส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยสีย แบ่งเป็นสองชนิด คือ

1. เส้นใยอาหาร (substrate mycelium) เป็นเส้นใยที่แข็งเนื่องจากต้องใช้แหล่งลงในอาหาร หนาประมาณ 10 ถึง 20 นาโนเมตร (ดังแสดงในรูปที่ 2.1)

2. เส้นใยอากาศ (aerial mycelium) มีลักษณะที่อ่อนนุ่มเนื่องจากมีชั้นของไฟบรัสหุ้ม (fibrous sheath) มีลักษณะที่แตกต่างจากเส้นใยอาหาร คือ

- เส้นใยอากาศมีผนังบางกว่าเส้นใยอาหาร
- เส้นใยอากาศมักมีสีเข้มกว่า มีการสร้างรงควัตถุ (pigment)
- มีการแตกสาขา (branching) น้อยกว่าเส้นใยอาหาร
- เส้นใยอากาศมีการสร้างสปอร์และมีการแตกกิ่งก้านของเส้นใย
- เส้นใยอากาศเป็นเส้นใยที่ไม่ชอบน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 ลักษณะของเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) และ เส้นใยอากาศ (aerial mycelium)
ที่มา : <http://classroom.sdmesa.net/eschmid/Lecture16-Microbio.htm> (8/10/2554)

2.2.1.2 โคลนี (colony)

โคลนีของแอกติโนมัยสีทเกิดจากการรวมตัวกันของเส้นใย ทำให้เส้นใยมีความหนาแน่นเกิดเป็นโคลนีสำหรับการสร้างโคลนีเริ่มจากการลงเชื้อในอาหารแข็ง อาจเกิดจากสปอร์ อับสปอร์ ส่วนของเส้นใย (รูปที่ 2.2ก) จากนั้นพัฒนาเป็นเส้นใยอาหาร (รูปที่ 2.2ข) และเจริญโดยการแทงผ่านอาหารขึ้นมาเป็นเส้นใยอากาศ (รูปที่ 2.2ค) ต่อมาได้มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะโคลนี เช่น การสร้างสปอร์



รูปที่ 2.2 ขั้นตอนการสร้างโคลนีของแอกติโนมัยสีท

ที่มา : Vobis (1997)

ลักษณะของโคลนีมีความแตกต่างกันบางสายพันธุ์อาจมีลักษณะนูน แบนติดกับอาหารแข็งหรือบางสายพันธุ์มีลักษณะเป็นแผ่นราบผิวหน้าอาจจะเรียบ แตก ขรุขระ นูน เหี่ยวย่น หรือเป็นเม็ดเล็กๆ โคลนีของแต่ละชนิดจะมีสีที่แตกต่างกัน ส่วนการเจริญจะขึ้นเป็นแผ่นยาวตามรอยขีด ขึ้นเป็นกระจุกอัดแน่นหรือขึ้นเป็นจุดๆ กระจายๆ หรือผสมกัน ลักษณะการเจริญของเชื้อบนอาหารแข็งไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(surface culture) และในอาหารเหลว (submerge culture) มีลักษณะที่ต่างกัน คือ การเจริญในอาหารเหลวเซลล์จะเจริญจับกันเป็นกลุ่มของเส้นใยที่มีรูปร่างเป็นเม็ด (pellets) (ศิริรัตน์ ทองอุ่น, 2552) ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 ลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีท

ที่มา : <https://www.microbiologyinpictures.com/bacterial%20colonies.html>

โดยทั่วไปลักษณะการเจริญของเชื้อบนอาหารแข็งจะมีลักษณะของโคโลนีที่แตกต่างกันขึ้นกับชนิดของเชื้อ สามารถพบได้ 3 แบบ คือ

1. โคโลนีแบบหยาบหรือเรียบยึดเกาะกับผิวหน้าอาหารอย่างหลวมๆเป็นการสร้างเส้นใยอากาศปกคลุมผิวหน้าอาหาร มักพบในแอคติโนมัยสีทที่มีการเจริญในระยะ transient mycelial มีการเจริญของไมซีเลีย (mycelia) ที่ไม่แน่นอน
2. โคโลนีไม่มีเส้นใยอาหารมีแต่เส้นใยอากาศที่สามารถยึดเกาะกับอาหารด้วยส่วนที่ยึดเกาะพิเศษที่เรียกว่า holdfast
3. โคโลนีมีลักษณะเกาะกันแน่นคล้ายแผ่นหนังเส้นใยอากาศค่อนข้างโปร่งและยึดกับอาหารด้วยเส้นใยที่แทงลงไปในอาหาร

2.1.1.3 สปอร์ (spore)

แอคติโนมัยสีทสร้างสปอร์โดยสามารถแบ่งออกเป็น 3 แบบตามลักษณะโครงสร้างภายนอก คือ สปอร์เดี่ยว ลักษณะเป็นสาย และสร้างสปอร์ในอับสปอร์ สปอร์แต่ละชนิดของเชื้อแอคติโนมัยสีทมีการเจริญและพัฒนาอยู่บนก้านชูสปอร์ (sporophore) ทั้งที่มีลักษณะเป็นก้านชูอันเดียวหรือแตกกิ่งก้านสาขา ซึ่งอาจแตกมาจากเส้นใยที่เจริญลงไปในอาหารหรือเส้นใยที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร ส่วนถุงหุ้มสปอร์ (sporangium) ถูกสร้างอยู่บนก้านชูสปอร์ตรงบริเวณเกือบปลายหรือบริเวณปลายสุดของเส้นใย

1. การสร้างสปอร์แบบเดี่ยว (single spore) การสร้างสปอร์ในลักษณะนี้เรียกว่า monosporous พบในหลายสกุล ในสกุลเทอร์โมโมโนสปอรา (*Thermomonospora*) สร้างสปอร์เดี่ยวบนเส้นใยอากาศที่ปลายก้านชูสปอร์ที่แตกแขนงหรือไม่แตกแขนง การแตกแขนงทำให้เกิดการแยกสารเป็นแอคติโนมัยสีทที่ส่งไปสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าสร้างเป็นกลุ่มของสปอร์ (แสดงในรูป 2.4)
- ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การสร้างสปอร์แบบสายโซ่สั้น (chain) พบมากในการสืบพันธุ์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทส่วนใหญ่และสามารถใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสปอร์แบบสายโซ่สั้นนี้ ซึ่งได้แก่ ความยาว และ/หรือจำนวนสปอร์ เช่น di/bisporous oligosporous หรือ polysporous ในการจำแนกเชื้อ เช่น การบอกความแตกต่างของสกุลไมโครโมนอสปอรา (*Micromonospora*) กับสกุลไมโครไบสปอรา (*Microbispora*) หรือการบอกความแตกต่างของสกุลสเตรปโตมัยเซส (*Streptomyces*) แต่ละชนิดจากลักษณะของการสร้างสปอร์แบบสายโซ่สั้นของสเตรปโตมัยเซส (*Streptomyces*) (แสดงในรูป 2.4)

3. การสร้างสปอร์ภายในถุงหุ้มสปอร์ (sporangia/sporangium) สปอร์จะเจริญและพัฒนาอยู่ภายในถุงหุ้มสปอร์ จนกระทั่งถึงสภาวะที่ต้องมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศถุงหุ้มสปอร์จะแตกออกและปลดปล่อยสปอร์ออกมาโดยทั่วไปถุงหุ้มสปอร์จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 ถึง 50 ไมโครเมตร ถุงหุ้มสปอร์มีหลายลักษณะ เช่น ทรงกรวย ทรงกระบอก ทรงกลม เป็นต้น (เกษมและคณะ, 2552)



รูปที่ 2.4 ลักษณะของสปอร์แบบเดี่ยว (single spore) และสปอร์แบบสายโซ่สั้น (short chain)

Monosporous ก : *Micromonospora* ข : *Thermomonospora*

ค : *Saccharomonospora*

Bisporous ง : *Microbispora*

Oligosporous จ : *Nocardia brevicatena* ฉ : *Catenulospores*

ที่มา : Vobis (1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การศึกษาอนุกรมวิธานเบื้องต้นของเชื้อ

การศึกษาอนุกรมวิธานของเชื้อจุลินทรีย์สามารถทำได้โดยการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานหลายส่วน (polyphasic taxonomy) ซึ่งประกอบด้วยการศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์ (phenotype) และจีโนไทป์ (genotype) โดยมีรายละเอียดดังนี้

2.3.1 ลักษณะทางฟีโนไทป์

เป็นลักษณะต่างๆ ที่ปรากฏให้เห็น เช่น ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะการเจริญ ลักษณะทางสรีรวิทยา และการทดสอบทางชีวเคมี

2.3.2 ลักษณะทางจีโนไทป์

ข้อมูลในสารพันธุกรรม (DNA) ของเชื้อแบคทีเรีย มีความสำคัญต่อการศึกษาการจัดระบบ (systemetic) ของเชื้อแบคทีเรียเป็นอย่างมาก การศึกษาระบบของแบคทีเรียมักนิยมศึกษาข้อมูลของ 16S rRNA gene บนสายดีเอ็นเอ เพื่อสืบหาสายวิวัฒนาการของเชื้อโดยการวิเคราะห์จากต้นไม้แห่งสายวิวัฒนาการ (phylogenetic tree)

2.4 อนุมูลอิสระ (free radicals)

อนุมูลอิสระ (free radicals) หมายถึง สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอม หรือโมเลกุล พบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อมในสิ่งมีชีวิต และในเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์หรือจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจน ทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุล กลายเป็นอนุมูลอิสระและว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามาก และสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา (ดังสมการ 1 และ 2)



อนุมูลอิสระที่สำคัญที่สุดที่เกิดในเซลล์ใช้ออกซิเจน ได้แก่ oxygen radical , อนุพันธ์ของ oxygen radical (เช่น superoxide radical และ hydroxyl radical), hydrogen peroxide, transition metals (โลหะ ทรานซิชัน), carbonate radical ($CO_3^{\cdot-}$), nitrate radical (NO_3^{\cdot}), methyl radical (CH_3^{\cdot}), superoxide radical ($O_2^{\cdot-}$), peroxy radical (ROO^{\cdot}), reactive oxygen species (ROS) เป็นต้น นอกจากนี้อนุมูลอิสระ สามารถทำลายชีวโมเลกุลทุกประเภท ทั้งในเซลล์และส่วนประกอบของเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น ลิพิด (lipid) โปรตีน (protein) เอนไซม์ (enzyme) ดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) เซลล์เมมเบรน (cell membrane)

คอลลาเจน (collagen) ไมโทคอนเดรีย (mitochondria) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissues) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ซึ่งเป็นสาเหตุให้เซลล์ตาย การเกิดการกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอในเซลล์และก่อให้เกิดโรคต่างๆ ได้แก่ ไมวากรรมใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคชรา (aging) โรคมะเร็ง (cancer) โรคหัวใจขาดเลือด (coronary heart disease) โรคความจำเสื่อม (Alzheimer's disease) โรคข้ออักเสบ (arthritis) โรคภูมิแพ้ (allergies) โรคความดันโลหิต โรคเหน็บชา โรคเกี่ยวกับสายตา ความผิดปกติของปอดและระบบประสาท โรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจ โรคเกี่ยวกับ ความผิดปกติของผิวหนัง และโรคลำไส้อักเสบ เป็นต้น อนุมูลอิสระนอกจากจะเกิดภายในสิ่งมีชีวิตแล้วอนุมูลอิสระสามารถเกิดจากภายนอกสิ่งมีชีวิตหรือในสิ่งแวดล้อม ได้แก่ การได้รับเชื้อโรค เช่น การติดเชื้อโรคไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรีย โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (immune diseases) เช่น ข้ออักเสบ รูมาตอยด์ เป็นต้น จากรังสี เช่น รังสีอัลตราไวโอเล็ต รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา จากมลภาวะ เช่น คาร์บอนฟูรี แก๊สจากท่อไอเสีย เช่น ไนโตรไดออกไซด์ ไนโตรเจน ไดออกไซด์ เขม่าจากเครื่องยนต์ ฝุ่นจากกระบวนการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่มีอุณหภูมิสูงๆ กลับมาใช้ซ้ำ การทำให้เกิดอาหารประเภทเกรียมไหม้หรือเกิดจากการปิ้งย่าง จากยาบางชนิด เช่น โดโซรูบิซิน (doxorubicin) เพนิซิลลามิน (penicillamine) พาราเซตามอล (paracetamol)

2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระถือว่ามีสำคัญต่อกระบวนการออกซิเดชันอนุมูลอิสระ หรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบการป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป ซึ่งมีทั้งที่เป็นเอนไซม์และไม่เป็นเอนไซม์ สารประกอบที่ละลายในน้ำและสารประกอบที่ละลายในไขมัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) เสริมฤทธิ์ (synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ เป็นต้น ตัวอย่างแสดงการดักจับอนุมูลอิสระ ดังสมการ 3 และ 4



โดย R^{\bullet} และ RO^{\bullet} คือ อนุมูลอิสระ และ AH คือ สารต้านอนุมูลอิสระ

แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระมี 2 แหล่ง ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เกิดจากการกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี โดยเป็นสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ propyl gallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylate hydroxyanisole, BHT

เอ็กส(butylated hydroxytoluene) และ tertiary butylhydroquinone สารสังเคราะห์ดังกล่าวนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารและยา อย่างไรก็ตามการใช้สารเหล่านี้ในปริมาณที่สูงเกินไปอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และโพลีฟีนอลิกอื่นๆ ก็มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แข็งแกร่งไม่แพ้สารสังเคราะห์ และที่สำคัญคือ สารเหล่านี้สามารถให้ประโยชน์ต่อสุขภาพได้มากกว่าการยับยั้งอนุมูลอิสระเพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตามการใช้สารเหล่านี้ในปริมาณที่สูงเกินไปอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และโพลีฟีนอลิกอื่นๆ ก็มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แข็งแกร่งไม่แพ้สารสังเคราะห์ และที่สำคัญคือ สารเหล่านี้สามารถให้ประโยชน์ต่อสุขภาพได้มากกว่าการยับยั้งอนุมูลอิสระเพียงอย่างเดียว

นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติเปลี่ยนแปลงไป สารสังเคราะห์นี้มีสภาพคงตัวกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติแต่มีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยในการบริโภค ขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตทั้งพืช และสัตว์ ซึ่งเป็นได้ทั้ง เอนไซม์ วิตามินและสารอื่นๆ ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นวิตามิน เช่น vitamin C (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไฮโดรฟิลาซิม) vitamin E (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เมมเบรน) และ glutathione (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระที่ไฮโดรฟิลาซิมและเมมเบรน) ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ ได้แก่ glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase และ glutathione transferase ซึ่งทำหน้าที่ทำให้โมเลกุลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นออกซิเจนและน้ำ ส่วนเอนไซม์ superoxid dismutase (SOD) สามารถเปลี่ยน $O_2^{\cdot-}$ เป็น H_2O_2 สารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ ได้แก่ carotenoids และ ubiquinones เป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถป้องกันอนุมูลอิสระออกซิเจนทั้งภายในเซลล์และภายนอกเซลล์

ในภาวะปกติร่างกายของคนเราจะมีกลไกการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระโดยการสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณสารอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุลและอีกส่วนได้จากสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายรับประทานเข้าไปจำพวกวิตามิน เบต้าแคโรทีน และแคโรทีนอยด์ รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งสารดังกล่าวได้จากพืชผักและผลไม้ ตัวอย่างอาหารที่มีเบต้าแคโรทีนสูง ได้แก่ ผักใบเขียว เช่น ตำลึง และผักบุ้ง อาหารที่มีซีลีเนียม เช่น แครอท มะละกอสุก มะม่วงสุก มะเขือเทศ ฟักทอง อาหารที่มีวิตามินซี (vitamin C หรือ ascorbic acid) สูง ได้แก่ พืชผักสีเขียว และผลไม้รสเปรี้ยว เช่น ตำลึง ผักบุ้ง พริกหยวก ฝรั่ง มะขามป้อม ส้ม มะนาว สับปะรด (วิตามินซีจากพืชผักดังกล่าวมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระที่แรงมากและละลายน้ำได้ดี) วิตามินอี (vitamin E หรือ tocopherol) ละลายได้ดีในน้ำมัน โดยวิตามินอีมีในน้ำมันจากเมล็ดพืชชนิดต่างๆ เช่น รำละเอียด ในพวกธัญพืชที่ไม่ขัดขาว ข้าวโพด ข้าวกลอง ถั่วแดง ถั่วเหลือง ผักกาดหอม เมล็ดทานตะวัน งา น้ำมันรำข้าว

2.6 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity determination)

วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ ในแต่ละประเภทจะมีหลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีมีความจำเพาะแตกต่างกัน โดยปกติมักใช้หลายวิธีร่วมกันในการตรวจสอบและสรุปผล

2.6.1 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพเป็นการทดสอบเพื่อหาชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในตัวอย่างโดยอาศัยหลักการต่างๆ เช่น การทำให้เกิดสี การทำให้เกิดตะกอน ไม่วากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถของการละลายในตัวทำละลาย และการถูกดูดซับโดยตัวดูดซับ วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่นิยม ได้แก่ การตรวจวัดสารโพลีฟีนอลชนิดต่างๆ (เช่น Shinoda test และ Pew test) โครมาโตกราฟีแบบชั้นบาง (thin layer chromatography, TLC) และการตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ โดยใช้เครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC)

2.6.1.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารโพลีฟีนอลชนิดต่างๆ โดยการทำให้เกิดสี (colorimetric assay) เป็นวิธีการนำสารเคมีชนิดต่างๆ มาทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง และดูสีที่เกิดขึ้นหลังจากการเกิดปฏิกิริยา ตัวอย่างของวิธีนี้ ได้แก่

(1) วิธี Shinoda test เป็นการทดสอบปฏิกิริยากับไซยานิดินส์ (cyanidins reaction) โดยการทำให้ปฏิกิริยาของสารตัวอย่างกับผงแมกนีเซียมหรือวงแหวนแมกนีเซียม (magnesium ribbon) กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น และออกทิลแอลกอฮอล์ (octyl alcohol) ซึ่งจะเกิดการแยกชั้น ถ้าเกิดสีแดงแสดงว่ามีสารจำพวกฟลาโวนอล (flavonol) ฟลาวาโนน (flavanone) ฟลาวาโนนอล (flavanonol) หรือแซนโทน (xanthone) หรือถ้าเกิดสีแดงแสดงว่ามีสารจำพวกฟลาโวน (flavones) ชาลโคน (chalcone) หรือออโรน (ourone)

(2) วิธี Pew test หรือการทดสอบของพิว เป็นการทำให้ปฏิกิริยาระหว่างสารตัวอย่างกับผงสังกะสี (zinc dust) และกรดไฮโดรคลอริก ถ้าเกิดสีแดงเข้มภายใน 2-5 นาที แสดงว่ามีสารฟลาวาโนนอล (flavanonol) และฟลาโวนอล-3-ไกลโคไซด์ (flavonol-3-glycoside) แต่ถ้าเป็นสีจางๆ แสดงว่ามีสารฟลาวาโนน (flavanone) และฟลาโวนอล (flavonol)

วิธีการทั้งสองมีข้อดี คือ ทำให้หลายตัวอย่างพร้อมกัน ขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ไม่ซับซ้อน และใช้ต้นทุนต่ำในการวิเคราะห์สารตัวอย่าง แต่มีข้อเสีย คือ มีความไว (sensitivity) และความแม่นยำ (precision) ต่ำ และเหมาะสมสำหรับวิเคราะห์สารตัวอย่างที่บริสุทธิ์ เพราะสารหลายๆ ชนิดอยู่ด้วยกัน สีที่เกิดขึ้นสามารถบอกรวมกันได้ วิธีการดังกล่าวข้างต้นได้ถูกนำมาวิเคราะห์หาสารโพลีฟีนอล ตัวอย่างเช่น เกสรตัวผู้ของบัวหลวง และย่านาง พบว่ามีสารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.6.1.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารโพลีฟีนอลด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบชั้นบาง (thin layer chromatography, TLC) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารและวิเคราะห์สารโพลีฟีนอลในเชิงคุณภาพ (qualitative analysis) โดยอาศัยหลักการ เคลื่อนที่ของสารด้วยตัวทำละลายหรือตัวพา (mobile phase) กับการถูกดูดซับโดยตัวดูดซับ (adsorbent หรือ stationary phase) ซึ่งอัตราการเคลื่อนที่ของสาร ตัวอย่างบนตัวดูดซับขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของสารตัวอย่างกับตัวทำละลาย และความสามารถในการดูดซับของตัวดูดซับที่มีต่อสารตัวอย่างในแต่ละชนิด สารตัวอย่างที่แตกต่างกันจะถูกละลายและถูกดูดซับได้ไม่เท่ากัน โดยสารที่ละลายในตัวทำละลายได้ดีและถูกดูดซับน้อยจะเคลื่อนที่เร็วกว่า R_f เข้าใกล้ 1.0 (R_f = ระยะทางที่สารตัวอย่าง

เคลื่อนที่/ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่) ส่วนสารที่ละลายในตัวทำละลายได้น้อยและถูกดูดซับได้ดีจะเคลื่อนที่ช้ากว่า R_f จะเข้าใกล้ 0 ซึ่งตัวดูดซับที่นิยมใช้ คือ ซิลิกาเจล และตัวทำละลายหรือตัวพาที่ไม่ไวกรีนใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุเปลี่ยนแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำมาใช้ในการแยกสารมีหลายชนิด ทั้งนี้อาจมีการใช้ตัวทำละลายเพียงชนิดเดียวหรือหลายชนิดผสมกันเพื่อให้เกิดการแยกที่ดีที่สุด ตัวอย่างของตัวทำละลาย เช่น น้ำ เอทานอล เมทานอล เอทิลอะซิเตท กรดฟอร์มิก คลอโรฟอร์ม สารตัวอย่างบางชนิดสามารถแยกโดยใช้ TLC แล้วสามารถมองเห็นสีได้ด้วยตาเปล่า ได้แก่ แอนโทไซยานิน (anthocyanin) ชาลโคน (chalcone) และออโรน (ourone) แต่บางชนิดต้องนำแผ่น TLC ไปทำปฏิกิริยาต่อกับไอของแอมโมเนีย หรือส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) หรือฉีดพ่นด้วยสารต่างๆ เช่น สารละลายโพลิน สารละลายวานิลลินในกรดซัลฟูริก สารละลายวานิลลินในกรดไฮโดรคลอริก สารละลายโพแทสเซียมไอโอเดต สารละลายกิบบส์ (Gibbs reagent) และสารละลาย DPPH ข้อดีของวิธีนี้ คือ ใช้สารตัวอย่างในปริมาณน้อย วิเคราะห์สารหลายชนิดได้พร้อมกัน ใช้เวลาในการวิเคราะห์สั้น ขั้นตอนไม่ยุ่งยากซับซ้อน ใช้ต้นทุนต่ำในการวิเคราะห์ตัวอย่าง สามารถแยกองค์ประกอบต่างๆ ในสารตัวอย่างได้ทั้งที่มีสีและไม่มีสี แต่มีข้อเสียคือ มีความไวและความแม่นยำต่ำและในกรณีที่องค์ประกอบต่างๆ ในตัวอย่างมีค่า R_f ใกล้เคียงกันมาก จะไม่สามารถแยกองค์ประกอบต่างๆ เหล่านั้นออกจากกันได้ หรือแยกได้แต่ไม่บริสุทธิ์

2.6.1.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ โดยใช้เครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC) ใช้หลักการคล้ายกับเทคนิคของ TLC โดยเครื่อง HPLC มีส่วนของปั๊มมาช่วยให้ตัวทำละลายหรือเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) และตัวดูดซับหรือเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) บรรจุเป็นทรงกลมเล็กๆ หรือเรียกว่าคอลัมน์ (column) โดยสารตัวอย่างแต่ละชนิดจะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ หรือ stationary phase ได้แตกต่างกัน คอลัมน์ต่างชนิดกันแยกสารได้แตกต่างกัน ซึ่งสารที่ถูกดูดซับได้น้อยจะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ออกมาก่อน ส่วนสารที่ถูกดูดซับได้ดีจะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ออกมาทีหลัง องค์ประกอบอีกส่วนที่สำคัญ คือ ส่วนตรวจวัดสัญญาณ (detector) มีหน้าที่ตรวจวัดสัญญาณของสารตัวอย่างที่แยกออกมาแต่ละชนิด ซึ่งสัญญาณที่ตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค (peak) เรียกว่าโครมาโตแกรม (chromatogram) โดยส่วนตรวจวัดสัญญาณสามารถตรวจวัดด้วย UV, fluorescence, IR เป็นต้น ซึ่งแต่ละชนิดจะมีความจำเพาะเจาะจงกับสารแตกต่างกัน การแยกสารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้เครื่อง HPLC สามารถตรวจหาสารได้ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณในเวลาเดียวกัน อีกทั้งสามารถหาสารหลายชนิดไปพร้อมๆ กันทั้งนี้ต้องมีสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบโดยสารชนิดเดียวกันจะมีพีคออกมาในระยะเวลา (retention time) เดียวกันเสมอ ข้อดีของวิธีนี้ คือ สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ วิเคราะห์สารหลายชนิดได้พร้อมกัน และวิเคราะห์ สารได้ในปริมาณต่ำๆ แต่มีข้อเสีย คือ มีค่าใช้จ่ายสูง เนื่องจากเครื่อง HPLC มีราคาค่อนข้างแพง และ mobile phase ต้องใช้ประเภท HPLC grade

2.6.2 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณเป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่างๆ วิธีที่นิยม ได้แก่ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำละลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH[•]) วิธีการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS^{•+}) และการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) ซึ่งวิธีการดังกล่าวใช้

ข้างต้นจะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน และวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจ โดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือจากค่าการดูดกลืนแสง สารอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ เช่น ABTS^{•+} และ DPPH[•] การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ หาได้จากอัตราส่วนของการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน (เช่น trolox, vitamin C และ ferrous sulfate) หน่วยของการ วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณแสดงได้ 2 แบบ คือ (1) แบบปริมาณความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในตัวอย่าง ซึ่งค่าตัวเลขสูงก็แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และ (2) แบบปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลง 50% (IC₅₀, 50% of inhibitory concentration) โดยค่าตัวเลขต่ำแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ทั้งสองแบบสามารถแสดงหน่วยได้หลากหลาย ได้แก่ $\mu\text{M}/\text{mg}$, mM/mg , $\mu\text{M}/\text{mL}$, mM/mL เป็นต้น

2.6.2.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay) เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมี โดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระในที่นี้ก็คืออนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH[•], diphenylpicrylhydrazyl radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัว และมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่อ DPPH[•] ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอล (สารที่ให้อิเล็กทรอนิกส์) จะทำให้สีม่วงจางลงจนเป็นสีเหลือง (ดังสมการ 5) ซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ที่มีดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ทำให้สามารถหาการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูตรคำนวณได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงจากการใส่ตัวอย่างเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น (ก่อนใส่สารตัวอย่าง) ดังนี้



$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = [(A_0 - A_s) / A_0] \times 100$$

โดย A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น และ

A_s = ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากเติมสารตัวอย่าง

สารมาตรฐานที่ใช้ในการเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือ โทรล็อกซ์ (trolox, 6-hydroxy 2,5,7,8-tetramethylchlorman-2-carboxylic acid) แสดงค่าเป็น TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) มีหน่วยเป็น mM/mg หรือ $\mu\text{M}/\text{mg}$ ข้อดีของวิธีนี้ คือ ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ส่วนข้อเสีย คือ DPPH[•] ค่อนข้างเสถียรไม่ว่าต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง และต้องวัดในปฏิกิริยาที่เปนแอลกอฮอล์ ซึ่งจะทำให้โปรตีนตกตะกอน จึงไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือดได้ อีกทั้งสารปนเปื้อนและโลหะจะรบกวน (interfere) ซึ่งสามารถเป็นตัวรบกวนแล้วทำให้สีของอนุมูลอิสระ DPPH[•] จางลงได้เช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใช้เห็นประโยชน์ในการนำเอกสารนี้ไปเผยแพร่หรือใช้เพื่อวัตถุประสงค์อื่นใด กรุณาแจ้งเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS radical cation decolorization assay) เป็นวิธีการวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS^{•+}, 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical) เป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงินสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เนื่องจากสีของ ABTS^{•+} ปกติจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูง จึงต้องทำการเจือจาง ABTS^{•+} ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากนั้นนำ ABTS^{•+} ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่างที่ละลายด้วยเอทานอลเจือจาง ซึ่งจะทำให้สีจางลง (ดังสมการ 6) และตั้งทิ้งไว้ เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา จึงสามารถหาความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} ซึ่งวิธีการคำนวณและการเทียบกับสารมาตรฐาน trolox กระทำเช่นเดียวกับวิธี DPPH ข้อดีของวิธีการนี้ คือ ABTS^{•+} ละลายได้ดีในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ จึงทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว และทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH กว้าง ส่วนข้อเสีย คือ ABTS^{•+} ไม่เป็นสารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและต้องมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อนถึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระ



2.6.2.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay) วิธีการนี้อาศัยหลักการของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อน [Fe(III)(TPTZ)₂]³⁺ ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น [Fe(II)(TPTZ)₂]²⁺ (ดังสมการ 7) ซึ่ง [Fe(II)(TPTZ)₂]²⁺ มีความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ปริมาณของ [Fe(II)(TPTZ)₂]²⁺ ที่เกิดขึ้นสามารถประมาณความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ในรูป FRAP value เทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต (FeSO₄) ซึ่งขั้นตอนโดยละเอียดของวิธีการนี้ได้แก่ การทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน [Fe(III)(TPTZ)₂]³⁺ ประกอบด้วยนำสารละลาย TPTZ (2,4,6-tri (2-pyridyl)-striaizine) ที่ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกเจือจางมาทำปฏิกิริยากับสารละลายอะซิเทตบัฟเฟอร์ และสารละลายเฟอร์ริกไตรคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต จากนั้นทำการรีดิวซ์เฟอร์ริกโดยการเติมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตหรือสารตัวอย่าง (สารต้านอนุมูลอิสระ) และตั้งทิ้งไว้ในที่มืด วิธีการนี้เป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาน้อย ไม่แพง และสามารถทำซ้ำแล้วให้ผลเหมือนเดิม แต่ข้อเสีย คือ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาเคมีที่ไม่เกี่ยวข้องกับสภาวะร่างกาย และสารละลายที่ใช้อ้างอิงต้องใช้น้ำปราศจากไอออน (deionized water)



2.7 สารปฏิชีวนะ

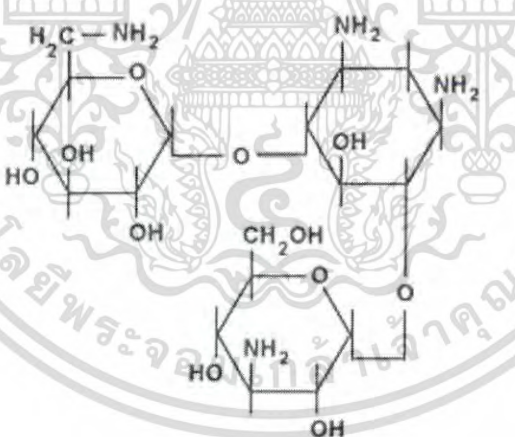
สารปฏิชีวนะ หมายถึง สารประกอบอินทรีย์ที่สร้างโดยจุลินทรีย์ โดยส่วนมากจะเป็นสารเอกสทุติยภูมิที่มีมวลโมเลกุลต่ำ สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค (microbistatic) หรือฆ่าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์ก่อโรค (microbicidal) ได้โดยใช้ความเข้มข้นต่ำ (Demain, 1999) แอคติโนมัยซีทเป็นกลุ่มที่มีความสำคัญในการผลิตสารทุติยภูมิที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ สารปฏิชีวนะในการต่อต้านแบคทีเรีย รา ไวรัส สารปราบแมลงและศัตรูพืช รวมถึงสารต้านมะเร็งและสารกดระบบภูมิคุ้มกันอีกด้วย ในการสร้างสารปฏิชีวนะของแอคติโนมัยซีทพบว่ากลุ่มที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้มากที่สุดคือ *Streptomyces*, *Actinoplanes* และ *Nocardioform* (Okami และ Hotta, 1988)

2.7.1 กลุ่มของสารปฏิชีวนะที่ผลิตโดยแอคติโนมัยซีท

1. สารปฏิชีวนะกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ (Aminoglycosides)

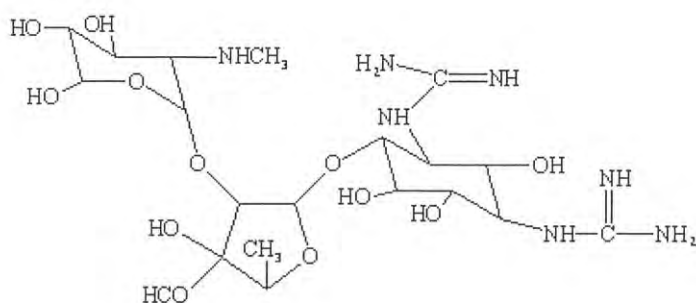
สูตรโครงสร้างประกอบด้วยน้ำตาลอะมิโนที่เชื่อมต่อกันแบบ glycoside linkage กลไกการออกฤทธิ์เป็นแบบ bactericide ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนโดยจับกับไรโบโซม สารในกลุ่มนี้ที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ streptomycin ผลิตโดย *Streptomyces griseus*, neomycin ผลิตโดย *S. fradiae*, kanamycin ผลิตโดย *S. kanamyceticus*, Tobramycin ผลิตจาก *Streptomyces* sp., Paromomycin ผลิตโดย *S. rimosus*, Gentamicin ผลิตจาก *Micromonospora purpura* และ netilmicin ผลิตโดย *Micromonospora* sp. (Scholar และ Pratt, 2000 ; Edwards, 1980) โครงสร้างพื้นฐานสารกลุ่ม aminoglycosides และสารปฏิชีวนะ streptomycin แสดงดังรูปที่ 2.5 และ รูปที่ 2.6



รูปที่ 2.5 โครงสร้างพื้นฐานสารกลุ่ม Aminoglycosides

ที่มา : http://archive.microbelibrary.org/asmonly/details_print.asp?id=2677&lang.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

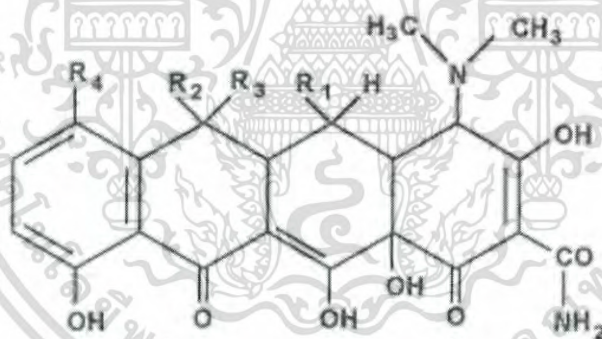


รูปที่ 2.6 โครงสร้างสารปฏิชีวนะ Streptomycin

ที่มา : http://www.textbookofbacteriology.net/antimicrobial_4.html.

2. สารปฏิชีวนะกลุ่มเตตราไซคลิน (Tetracycline)

ชื่อมาจาก hydronaphthacene nucleus ที่มีวงต่อกัน 4 วง กลไกการออกฤทธิ์เป็นแบบ bacteriostatic ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนโดยจับกับไรโบโซมและ mRNA สารปฏิชีวนะ tetracycline สามารถผลิตจาก *Streptomyces* ได้หลายสปีชีส์ (Scholar และ Pratt, 2000) โครงสร้างพื้นฐานสารกลุ่ม tetracycline แสดงดังรูปที่ 2.7



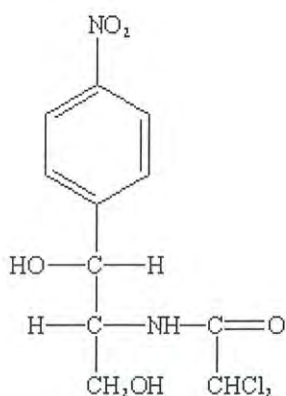
รูปที่ 2.7 โครงสร้างพื้นฐานสารกลุ่ม Tetracycline

ที่มา : http://archive.microbelibrary.org/asmonly/details_print.asp?id=2677&lang.

3. สารปฏิชีวนะกลุ่มคลอแรมเฟนิคอล (Chloramphenicol)

กลไกการออกฤทธิ์เป็นแบบ bacteriostatic จะยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนอย่างรวดเร็ว แต่ไม่มีผลต่อการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก chloramphenicol เป็นสารปฏิชีวนะตัวแรกที่เป็น broad spectrum ผลิตโดย *Streptomyces venezuelae* ที่แยกได้จากดิน (Scholar และ Pratt, 2000) โครงสร้างพื้นฐานสารกลุ่ม chloramphenicol แสดงดังรูปที่ 2.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการเรียนการสอน เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

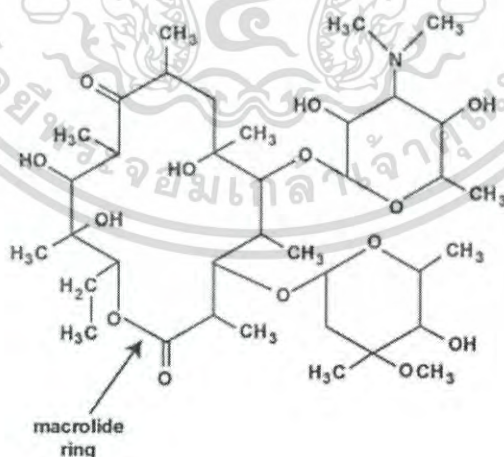


รูปที่ 2.8 โครงสร้างพื้นฐานสารกลุ่ม Chloramphenicol

ที่มา : http://www.textbookofbacteriology.net/antimicrobial_4.html.

4. สารปฏิชีวนะกลุ่มมาโครไลด์ (Macrolide)

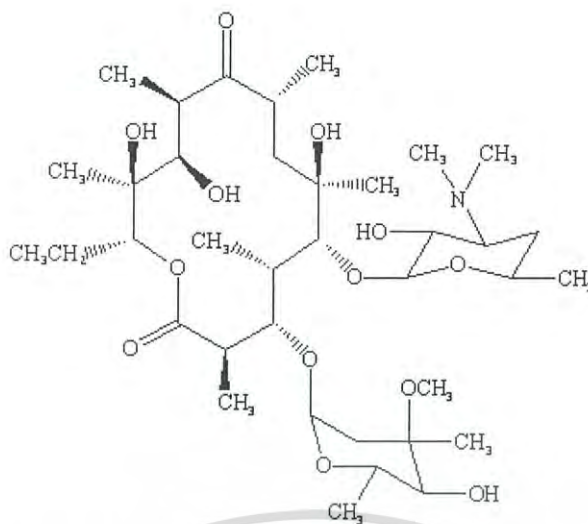
มีโครงสร้างโมเลกุลขนาดใหญ่ประกอบด้วยอะตอมคาร์บอนมากกว่า 20 อะตอมขึ้นไป โดยมี macrocyclic lactone ring เป็นองค์ประกอบ จำแนกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ 16 member's macrolides และ 14 member's macrolides กลไกการออกฤทธิ์เป็นแบบ bacteriostatic ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนโดยจับกับ 50S subunit ของ 70S ribosome สารในกลุ่มนี้ที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ erythromycin และ lincomycin ผลิตโดย *Streptomyces erythreus* และ *S. linconensis* ตามลำดับ (ดวงพร, 2530 ; Nakajima, 1999) โครงสร้างพื้นฐานสารกลุ่ม macrolides และสารปฏิชีวนะ erythromycin แสดงดังรูปที่ 2.9 และ 2.10 ตามลำดับ



รูปที่ 2.9 โครงสร้างพื้นฐานสารกลุ่ม Macrolide

ที่มา : http://archive.microbelibrary.org/asmonly/details_print.asp?id=2677&lang.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

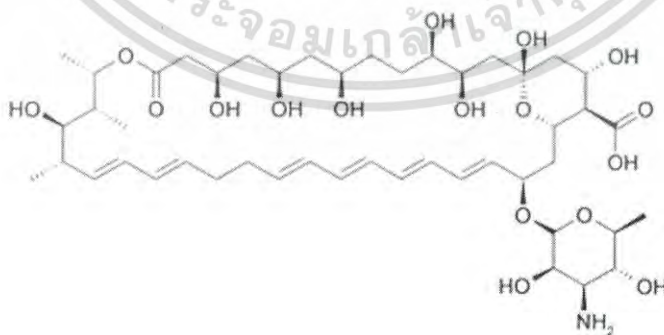


รูปที่ 2.10 โครงสร้างสารปฏิชีวนะ Erythromycin

ที่มา : http://www.textbookofbacteriology.net/antimicrobial_4.html.

5. สารปฏิชีวนะกลุ่มโพลีอีน (Polyene)

โครงสร้างพื้นฐานเป็นสารประกอบขนาดใหญ่ ประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำ คือ ส่วนที่มีหมู่ hydroxyl group และส่วนที่เป็น lipophilic คือ ส่วนที่มีพันธะคู่ต่อกัน 4-7 พันธะ กลไกการออกฤทธิ์มีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้คุณสมบัติเยื่อเลือกผ่าน (selective permeability) สูญเสียไป สารที่สำคัญในกลุ่มนี้ ได้แก่ nystatin และ amphotericin ผลิตโดย *S. noursei* และ *S. nodosus* ตามลำดับ สารปฏิชีวนะทั้งสองชนิดนี้สามารถยับยั้งการเจริญของราและยีสต์ แต่ไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย โปรโตซัว หรือไวรัส (Scholar และ Pratt, 2000; Edwards, 1980; ดวงพร, 2530) สารปฏิชีวนะ nystatin แสดงดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 โครงสร้างสารปฏิชีวนะ Nystatin

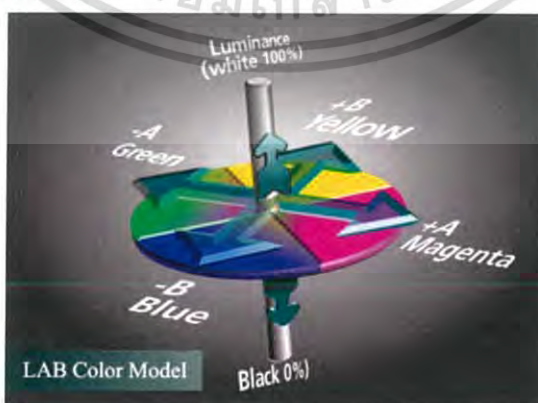
ที่มา : <http://twistedbacteria.blogspot.com/2008/03/women-scientists.html>.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

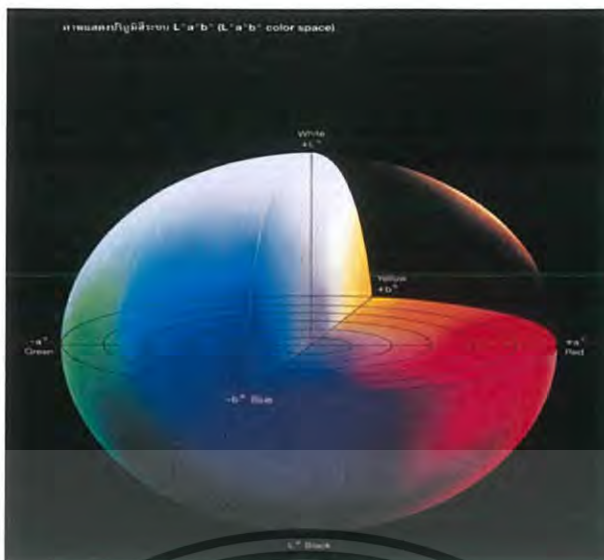
2.8 การทดสอบสารสีที่ค้นพบในแบคทีเรีย

2.8.1 การวัดสี

ในปัจจุบันนิยมใช้เครื่องมือในการวัดแทนการใช้การรับรู้ของมนุษย์ เช่น การใช้เครื่องวัดสี (colorimeters) และสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometers) เป็นต้น จึงได้มีการพัฒนาอุปกรณ์เพื่อใช้วัดสีที่มีมาตรฐานและลดความไม่เป็นกลางเนื่องจากปัจจัยของแหล่งกำเนิดแสงและผู้สังเกตการณ์ องค์กรที่มีบทบาทสำคัญในการกำหนดมาตรฐานด้านสี คือ Commission International de l'Eclairage (CIE) หรือในชื่ออังกฤษว่า International Commission on Illumination (<http://www.cie.co.at/cie/>) มีสำนักงานใหญ่อยู่ในประเทศฝรั่งเศส องค์กรนี้ได้กำหนดมาตรฐานการวัดสีซึ่งเป็นที่ยอมรับอย่างกว้างในวงการวิชาการและการวิจัย คือระบบ CIE Lab scale ในระยะเริ่มแรก CIE ได้กำหนดสเกลการวัดสีเป็น X-Y-Z ซึ่งใช้บรรยายสีแดง (Red) เขียว (Green) และ น้ำเงิน (Blue) แต่เนื่องจากระบบสีดังกล่าวไม่สามารถบรรยายถึงลักษณะความมืด-สว่างของสีได้ CIE ได้พัฒนาต่อมาเป็นระบบ X-Y-L ซึ่งบรรยายถึงค่าสีแดง เขียว และความสว่าง (lightness) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามระบบดังกล่าวก็ยังขาดส่วนที่บรรยายถึงค่าสีน้ำเงิน CIE จึงได้พัฒนาระบบสีต่อมาจนเป็นระบบที่ยอมรับและใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน คือระบบ $L^*a^*b^*$ ซึ่งเป็นระบบการบรรยายสีแบบ 3 มิติ โดยที่แกน L^* จะบรรยายถึงความสว่าง (lightness) จากค่า $+L^*$ แสดงถึงสีขาว จนไปถึง $-L^*$ แสดงถึงสีดำ แกน a^* จะบรรยายถึงแกนสีจากเขียว ($-a^*$) ไปจนถึงแดง ($+a^*$) ส่วนแกน b^* จะบรรยายถึงแกนสีจากน้ำเงิน ($-b^*$) ไปเหลือง ($+b^*$) ลักษณะการบรรยายสีของ CIE แสดงได้ดังรูปที่ 2.13 และ 2.14 นอกจากนี้ บริษัท Hunter lab ในอเมริกาก็เป็นอีกองค์กรหนึ่งซึ่งทำการวิจัยและพัฒนาระบบการวัดสี จนในที่สุดได้ระบบของ Hunter lab เอง ซึ่งเรียกว่า การวัดสีระบบ Hunter lab scale ซึ่งบรรยายแกนใน 3 มิติเช่นเดียวกับระบบ CIE โดยที่ Hunter lab จะใช้สเกล L-a-b บรรยายลักษณะสีเช่นเดียวกับ $L^*a^*b^*$ ของ CIE ข้อแตกต่างระหว่างระบบสีของ CIE และ Hunter lab คือสูตรการคำนวณค่าสี ซึ่งทั้ง L-a-b และ $L^*a^*b^*$ ล้วนมีพื้นฐานการคำนวณมาจากค่าจากระบบ X-Y-Z ทั้งสิ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เฉพาะในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.13 $L^*a^*b^*$ Chart ของ Hunter Lab
ที่มา : <https://www.pballtechno.com/article/>

2.8.2 การวิเคราะห์ทางสเปกโตรสโกปี

โดยปกติสสารสามารถดูดกลืนรังสีหรือแสงได้แตกต่างกัน ทำให้วัตถุเหล่านั้นมีสีที่แตกต่างกันออกไปด้วย นักวิทยาศาสตร์สนใจคุณสมบัติดังกล่าวและนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณ (Dubois, 1956) โดยเฉพาะเทคนิคการวิเคราะห์ทางสเปกโตรสโกปี (Willard และคณะ, 1984) ซึ่งเป็นการแยกการตรวจสอบและการบันทึกของพลังงานที่เปลี่ยนไปเกี่ยวกับนิวเคลียส อะตอม ไอออน หรือโมเลกุล พลังงานที่เปลี่ยนไปเกิดจากการแผ่ออกไป การดูดกลืน การกระเจิงของการแผ่รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า หรือของอนุภาค เทคนิคนี้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการวิเคราะห์อย่างกว้างขวาง โดยอาศัยการเกิดอันตรกิริยากับสารเหล่านี้ ซึ่งเกิดเมื่อให้ลำแสงผ่านเข้าไปยังสารละลาย หรือวัตถุใดวัตถุหนึ่ง จะพบว่าบางส่วนของรังสีนั้นถูกดูดกลืน บางส่วนผ่านทะลุ บางส่วนเกิดการสะท้อนกลับ และบางส่วนเกิดการกระเจิงอย่างใดอย่างหนึ่ง หรือหลายอย่างพร้อมกัน สเปกโตรสโกปีเป็นวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงหรือรังสีของสารซึ่งอยู่ในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 190-800 นาโนเมตร ซึ่งเป็นการวัดในช่วงความยาวคลื่นแสงอุลตราไวโอเลตถึงวิสิเบิลโดยใช้ตัวสารตัวอย่าง ได้แก่ สารประกอบเชิงซ้อนของสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ ทั้งที่มีสีและไม่มีสี สมบัติการดูดกลืนแสงของสารดังกล่าว สามารถนำมาใช้วิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและปริมาณอย่างกว้างขวาง เนื่องจากวิธีนี้ให้ความถูกต้องแม่นยำดี และมีความไวต่อการตรวจวัดสูง โดยอาจทำการวิเคราะห์ในรูปแบบของธาตุหรือโมเลกุล (Nelson, 1944)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.3 หลักในการหาปริมาณของสารกับปริมาณของแสงที่ถูกดูดกลืน

ในการวัดปริมาณของแสงที่ถูกดูดกลืนด้วยสารตัวอย่าง (Roe 1934) ทำได้โดยให้ลำแสงผ่านเข้าไปในสารตัวอย่าง แล้ววัดปริมาณของแสงที่ผ่านทะลุออกมาโดยเปรียบเทียบกับแสงที่ทะลุออกมาเมื่อไม่มีสารตัวอย่าง และหาปริมาณสารจากการดูดกลืนแสงของสารที่ความยาวคลื่นเหมาะสม และอาศัยกฎของเบียร์และแลมเบิร์ต (Robyt และ White 1990) ที่ว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายจะเป็นปฏิกิริยาโดยตรงกับความเข้มข้น ซึ่งจะนำไปตามกฎดังกล่าวหรือไม่ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารที่วัดนั้นต้องอยู่ในช่วงที่เหมาะสม เช่นกัน ดังนั้นความถูกต้องในการวัดค่าการดูดกลืนแสงจะได้รับการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น ซึ่งสารนั้นดูดกลืนแสงได้มากที่สุดจึงจะมีความถูกต้องและแม่นยำมากที่สุด และควรวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นซึ่งค่าโมลาร์แอบซอร์ปติวิตี (molar absorptivity ; ϵ) มีค่าคงที่ ถ้า ϵ ไม่คงที่ จะทำให้เกิดความเบี่ยงเบนไปจากกฎของเบียร์ (Robyt และ White 1990)

2.8.4 หลักการวิเคราะห์สีจากภาพถ่าย

เป็นกระบวนการที่จัดการข้อมูลของรูปภาพโดยคอมพิวเตอร์ (Adobe Premere LE 1994) ทำได้โดยการแบ่งรูปภาพในแนวนอนให้เป็นบริเวณที่มีขนาดเล็กที่เป็นองค์ประกอบที่เล็กที่สุดของภาพเรียกว่าพิกเซล (pixel หรือ picture element) ในคอมพิวเตอร์ภาพใดๆ ที่แสดงได้โดยลักษณะดังกล่าวจะเป็นลักษณะกริด (digital grid หรือ bitmap) แต่ละพิกเซลในกริดจะถูกระบุโดยตำแหน่งตัวเลขของแถวในแนวนอนและคอลัมน์ในแนวตั้ง โดยกำหนดให้พิกเซลที่อยู่มุมบนด้านซ้ายสุดของกริด ตำแหน่งของแถวในแนวนอนเท่ากับศูนย์ และคอลัมน์ในแนวตั้งเท่ากับศูนย์ ระบบการจัดการข้อมูลของรูปภาพโดยคอมพิวเตอร์ในการศึกษาในครั้งนี้ใช้ ระบบสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน (RGB color model) ในระบบนี้ (Image-Pro Plus 3.0 1997) สีแสดงในเทอมของปริมาณแสงสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน เช่น สีแดงบริสุทธิ์จะแสดงค่าของ 255/000/000 โดย 255 เป็นค่าสูงสุดของระดับแสงสีแดง โดยไม่มีค่าของแสงสีเขียว แสงสีน้ำเงินเจือปนเลย ดังนั้นค่าแสงสีเขียวคือ 000 เช่นเดียวกับค่าแสงสีน้ำเงินคือ 000 ดังนั้นค่าโดยรวมที่เป็นไปได้สูงสุดในระบบสีนี้คือ 256x256x256 ซึ่งจะเท่ากับ 16.7 ล้านสี โดยค่า 000/000/000 คือสีขาวและค่า 255/255/255 คือ ค่าสีดำ

2.9 การสกัด

2.9.1 การสกัดด้วยวิธีการแช่

การสกัดด้วยวิธีการแช่ เป็นวิธีดั้งเดิมที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณมากในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระโดยการแช่วัสดุที่ต้องการสกัดลงในตัวทำละลายอินทรีย์ที่บรรจุในภาชนะที่มีฝาปิดมิดชิด เพื่อป้องกันการระเหยของตัวทำละลายอินทรีย์ วิธีนี้จัดเป็นวิธีที่ง่ายที่สุดแต่ใช้เวลานาน

ยังคงใช้วิธีนี้ในการเลือกชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสมและอัตราส่วนตัวทำละลายกับวัสดุที่ต้องการสกัด

ไม่สกัดให้มีได้ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.2 การสกัดสารด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัด

การสกัดสารด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัดเป็นวิธีที่ใช้คลื่นเสียงความถี่สูงหรืออัลตราโซนิก (Ultrasonic) ร่วมกับตัวทำละลายอินทรีย์หรือน้ำในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากวัตถุดิบ เครื่องมือชนิดนี้มีลักษณะเป็นแท่งทรงกระบอกมีขนาดความยาวและมีคลื่นความถี่ที่แตกต่างกันไป เครื่องมือดังกล่าวจะปล่อยคลื่นเสียงความถี่สูงออกมาในตัวพาซึ่งในที่นี้คือ น้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์ กระบวนการดังกล่าวจะทำให้เกิดฟองก๊าซซึ่งเกิดการหดตัวและขยายตัวเป็นวัฏจักร เมื่อฟองก๊าซขยายตัวจะดึงสารที่อยู่ภายในวัสดุออกมาละลายในตัวทำละลาย และในขณะที่ฟองก๊าซแตกออกจะเกิดความดันและความร้อนอย่างมากในบริเวณนั้นซึ่งจะมีผลทำให้เนื้อเยื่อของวัสดุฉีกขาด ด้วยอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้สารต้านอนุมูลอิสระที่ต้องการสกัดละลายในตัวทำละลายได้ดีขึ้น การสกัดด้วยวิธีนี้จะมีประสิทธิภาพดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการได้แก่ ความถี่ของคลื่นเสียงที่ใช้ถ้าใช้ความถี่สูงจะใช้เวลาน้อยในการสกัด สมบัติที่แตกต่างกันของตัวทำละลาย ได้แก่ ความดันไอ ตัวทำละลายที่มีความดันไอสูงสามารถสกัดได้ดีกว่าตัวทำละลายที่มีความดันไอต่ำ อุณหภูมิที่ใช้ซึ่งการสกัดเกิดได้ดีเมื่อมีอุณหภูมิสูง และความเข้มของคลื่นเสียงที่ใช้ โดยทั่วไปวิธีนี้จะใช้สกัดสารกลุ่มเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary Metabolites) ของพืช วิธีนี้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพทำให้สกัดสารได้ปริมาณมาก

2.9.3 การสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยในการสกัด

ในอดีตและปัจจุบันเครื่องไมโครเวฟใช้มากในวงการอาหารเพื่อใช้ในการถนอมอาหาร โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ความร้อนเพื่อทำให้อาหารสุก ใช้ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร และช่วยในการลดความชื้นในอาหารประเภทผักและผลไม้หรือเครื่องไมโครเวฟที่ประดิษฐ์ขึ้นเฉพาะเพื่อย่อยวัสดุที่มีระบบควบคุมอุณหภูมิและความดันเป็นอย่างดี นอกจากการถนอมอาหารและการย่อยวัสดุแล้ว ในปัจจุบันวิธีนี้ใช้ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชที่รู้จักกันดีในรูปแบบของวิธีการสกัดที่รวดเร็ว (Accelerated Solvent Extraction, ASE)

หลักการของวิธีนี้ คือ การใช้คลื่นไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าร่วมกับตัวทำละลาย อินทรีย์ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ เมื่อวัตถุดิบวางตัวอยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้าแล้วนั้นด้วย สมบัติความเป็นขั้วของโมเลกุลภายในวัตถุดิบเองที่ต้านการเคลื่อนที่ทำให้เกิดความร้อนขึ้น ซึ่งมีผลต่อเนื้อเยื่อของวัตถุและมีผลต่อการละลายของสารที่ต้องการและด้วยสมบัติของตัวทำละลายที่แตกต่างกันทำให้มีพฤติกรรมที่แตกต่างกันไปเมื่ออยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า เช่น การดูดซับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า การสะท้อน การส่งผ่านคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เป็นต้น ปัจจัยที่ผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด ได้แก่ เวลา อุณหภูมิ กำลังของคลื่นไมโครเวฟ คุณสมบัติวัตถุดิบ องค์ประกอบที่เป็นความชื้น ความคงตัวของวัตถุดิบ สมบัติของตัวทำละลาย และสมบัติสารที่ต้องการสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารสี

การผลิตสารสีโดยแบคทีเรียขึ้นอยู่กับปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น อาหารและสิ่งแวดล้อม

2.10.1 แหล่งคาร์บอน

จากการศึกษาของ Mohanasrinivasan และคณะ (2013) ได้ทำการศึกษาการผลิตสารสีโดยเชื้อ *Streptomyces coelicolor* MSIS1 พบว่าการผลิตสารสีจะถูกควบคุมโดยแหล่งคาร์บอน โดยมีแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมคือ D-glucose , L-arabinose , Sucrose ทำให้เชื้อเจริญอย่างรวดเร็ว

2.10.2 แหล่งไนโตรเจน

Mohanasrinivasan และคณะ (2013) ได้ทำการศึกษาการผลิตสารสีโดยเชื้อ *Streptomyces coelicolor* MSIS1 พบว่า มีการเติมแหล่งไนโตรเจนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อคือโปรตีนสกัดจากเนื้อวัว 2 กรัม เพื่อที่จะช่วยเพิ่มการผลิตสารสีมากขึ้น

2.10.3 เกลือ

จากการศึกษาของ Samyuktha และคณะ (2016) ได้ศึกษาความเข้มข้นของเกลือ NaCl ต่อการเจริญและการผลิตสารสี พบว่าปริมาณ NaCl ในอาหารที่เหมาะสมคือ 2% และ 8% เพื่อปรับความเข้มข้นของเกลือของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เป็นไปตามที่แบคทีเรียต้องการ

2.10.4 อุณหภูมิและพีเอช

จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตสารสีที่แตกต่างกัน เช่น *Streptomyces coelicolor* MSIS1 ที่แยกได้จากดิน พบว่าปรับพีเอชอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง เป็น 7.5-7.8 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีผลผลิตของสารสีสูงถึง 9 กรัม/ลิตร (Mohanasrinivasan และคณะ (2013) ส่วนการศึกษาของ Samyuktha และคณะ (2016) พบว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พีเอช 6.0-7.0 จะให้ผลผลิตของสารสีที่สูงสุด ในขณะที่ Gargi และคณะ (2010) พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พีเอช 7 จะให้ผลผลิตสารสีสูงที่สุด

2.11 ป่าชายเลน (mangroves)

ป่าชายเลน คือ ระบบนิเวศที่ประกอบไปด้วยพันธุ์พืช พันธุ์สัตว์ หลายชนิด ดำรงชีวิตร่วมกันในสภาพแวดล้อมที่เป็นดินเลน น้ำกร่อย และมีน้ำทะเลท่วมถึงอย่างสม่ำเสมอ ดังนั้น จึงพบป่าชายเลนปรากฏอยู่ทั่วไปตามบริเวณที่เป็นชายฝั่งทะเล ปากแม่น้ำ ทะเลสาบ และรอบเกาะแก่งต่างๆ ในพื้นที่ชายฝั่งทะเล พันธุ์ไม้ที่มีมากและมีบทบาทสำคัญที่สุดในป่าชายเลน คือ ไม้โกงกาง ป่าชายเลนจึงมีชื่อเรียกอีกอย่างว่า ป่าโกงกาง ในระบบนิเวศ ป่าชายเลนประกอบด้วยสิ่งมีชีวิตและสิ่งไม่มีชีวิต สิ่งไม่มีชีวิต ประกอบไปด้วย พวกธาตุอาหาร เกลือแร่ น้ำ พวกซาก-พืช ซากสัตว์ ยักรวม

ไปถึงสภาพภูมิอากาศ เช่น อุณหภูมิ แสง ฝน ความชื้น เป็นต้น และ สิ่งมีชีวิต ประกอบด้วย ผู้ผลิต เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูโรงเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ผู้บริโภค และผู้ย่อยสลาย ผู้ผลิตในที่นี้หมายถึงสิ่งมีชีวิตที่สามารถสังเคราะห์แสงเองได้ ได้แก่ พืชพันธุ์ไม้อากรมต่างๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีเหตุเปลี่ยนแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม้ต่างๆ ในป่าชายเลน รวมไปถึง ไตอะตอม แพลงก์ตอนพืช และสาหร่าย ผู้บริโภค คือ สิ่งมีชีวิตที่ไม่สามารถสร้างอาหารเองได้ต้องพึ่งพาอาศัยพวกอื่น ได้แก่ พวกสัตว์หน้าดินขนาดเล็ก เช่น แพลงก์ตอนสัตว์ ปู ไล้เดือนทะเล และสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ เช่น ปลา กุ้ง ปู รวมไปถึง นก สัตว์เลื้อยคลาน และสัตว์เลื้อยลูกด้วยนม ซึ่งบางชนิดเป็นพวกกินอินทรีย์สารบางชนิดเป็นพวกกินพืช บางชนิดเป็นพวกกินสัตว์ และบางชนิดเป็นพวกที่กินทั้งพืชและสัตว์ ส่วนประกอบของสิ่งมีชีวิตที่สำคัญในระบบนิเวศป่าชายเลนอีกอย่าง คือ ผู้ย่อยสลาย ซึ่งหมายถึงพวกจุลินทรีย์ทั้งหลายที่ช่วยในการทำลายหรือย่อยสลายซากพืชและซากสัตว์ให้เน่าเปื่อย ผุพัง จนในที่สุดจะสลายตัวเป็นธาตุอาหารและปุ๋ย ซึ่งสะสมเป็นแหล่งอาหารในดินเพื่อเป็นประโยชน์ต่อผู้ผลิตต่อไป ซึ่งได้แก่ รา แบคทีเรีย ในป่าชายเลนผู้ย่อยสลายยังรวมถึง ปู และหอยบางชนิดด้วย (รูปที่ 2.15)



รูปที่ 2.14 ป่าชายเลน

ที่มา : <http://www.travelinneed.com/2016>

ในระบบนิเวศป่าชายเลน สิ่งไม่มีชีวิตและสิ่งมีชีวิตในป่าชายเลนเหล่านี้จะมีความสัมพันธ์ระหว่างกันอย่างซับซ้อน ทั้งในแง่การหมุนเวียนของธาตุอาหารและการถ่ายทอดพลังงาน แต่สามารถอธิบายง่ายๆ ได้ว่าเมื่อผู้ผลิต คือ พันธุ์พืช เจริญเติบโตจากแสงเคราะห์แสง ส่วนของต้นไม้โดยเฉพาะใบไม้ กิ่งไม้และเศษไม้ จะร่วงหล่นทับถมในน้ำและดิน และถูกย่อยสลายโดยผู้ย่อย สลายกลายเป็นอินทรีย์วัตถุ ในที่สุดก็จะกลายเป็นแร่ธาตุอาหารของผู้บริโภคพวกกินอินทรีย์สาร พวกกินอินทรีย์สารนี้จะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วกลายเป็นแหล่งอาหารโปรตีนอันอุดมสมบูรณ์แก่สัตว์น้ำเล็กๆ และสัตว์เล็กๆ เหล่านี้จะเจริญเติบโตขึ้นกลายเป็นอาหารของพวกกุ้ง ปู และปลา ขนาดใหญ่ขึ้นไปเรื่อยๆ ตามลำดับ หรือบางส่วนก็จะตายและผุพังสลายตัวเป็นธาตุอาหารสะสมอยู่ในป่านั่นเอง ความสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นนี้จะถูกปรับให้เป็นไปอย่างสมดุลภายในระบบ ถ้าไม่ถูกรบกวนจากภายนอก

2.11.1 ชนิดและการแพร่กระจายของป่าชายเลน

ป่าชายเลนประกอบด้วยชนิดพรรณไม้หลายชนิด และเป็นไม้ไม่ผลัดใบ (evergreen species) มีการปรับตัวของลักษณะทางสรีรวิทยาเพื่อสามารถเจริญอยู่ในน้ำเค็ม ลักษณะคล้ายพืชทะเลทราย เนื่องจากไม่สามารถดูดน้ำจืดไปใช้ได้สะดวกอย่างน้ำจืดจึงต้องเก็บกักน้ำที่ดูดขึ้นไปไว้ไม่വാกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในลำต้นให้ได้มากที่สุด เห็นได้จากลักษณะของใบซึ่งมักมีคิวตินเคลือบหนา มีปากใบแบบจมเพื่อลดการคายน้ำ และมักมีขนปกคลุมผิวใบทั้งนี้เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำออกจากใบ บางชนิดมีการเก็บกักน้ำไว้ในเซลล์พิเศษของใบ ซึ่งทำให้ใบมีลักษณะอวบน้ำ นอกจากนี้เซลล์ของพืชในป่าชายเลนยังมีความเข้มข้นของเกลือแร่สูงกว่าเซลล์ปกติทั่วไป รวมทั้งมีต่อมขับเกลือทำหน้าที่ควบคุมความเข้มข้นของเกลือแร่ในเซลล์ใบให้อยู่ในระดับปกติอีกด้วย เนื่องจากในป่าชายเลนมีการขึ้นลงของน้ำทะเลสม่ำเสมอ ดังนั้นดินในป่าชายเลนจึงมีน้ำท่วมขังอยู่เป็นประจำ ทำให้ออกซิเจนในอากาศไม่สามารถแพร่กระจายลงสู่ดินได้ ซึ่งรากของต้นไม้ป่าชายเลนต้องการออกซิเจนเพื่อใช้ในการดำรงชีวิตและการเจริญเติบโต ดังนั้นต้นไม้จึงต้องพัฒนาวิธีการเพื่อที่รากของมันจะได้รับออกซิเจน ต้นไม้ป่าชายเลนส่วนมากจึงมีรากอากาศ (pneumatophores) โพล์พื้นเหนือดินทำให้ออกซิเจนจึงสามารถผ่านลงทางรากอากาศสู่รากที่อยู่ใต้ดินได้ ไม้ป่าชายเลนส่วนใหญ่ประกอบด้วยไม้สกุลโกงกาง (*Rhizophora* spp.) เป็นไม้เด่น และพันธุ์ไม้ชนิดอื่นอีกกว่า 78 ชนิด

Kathiresan (2013) ได้อธิบายรูปแบบโครงสร้างของป่าชายเลน โดยแบ่งอย่างกว้างๆ ได้ 6 แบบ ได้แก่

1. Overwash forests เป็นลักษณะป่าชายเลนที่ขึ้นบนที่ราบน้ำทะเลท่วมถึง เมื่อน้ำท่วมมีลักษณะคล้ายเกาะ และได้รับอิทธิพลจากกระแสน้ำขึ้นลงอย่างสม่ำเสมอ

2. Fringe forests เป็นลักษณะของป่าชายเลนที่อยู่บนชายฝั่งที่มีความลาดชันน้อย พบทั่วไปบริเวณชายฝั่งของแผ่นดินใหญ่และเกาะใหญ่ มักพบป่าประเภทนี้อยู่บริเวณที่เป็นอ่าวเปิด และได้รับอิทธิพลจากคลื่นลมไม่แรง ป่าชายเลนประเภทนี้ถ้าพบบนเกาะจะอยู่เหนือระดับน้ำทะเลสูงสุด

3. Riverine forests เป็นลักษณะป่าชายเลนที่ขึ้นบนร่องน้ำ หรือทางน้ำจืดที่ไหลลงสู่ทะเล

4. Basin forests เป็นลักษณะป่าชายเลนที่เป็นพื้นที่ต้ำน้ำท่วมและขังอยู่ มักพบขึ้นอยู่บนฝั่งที่ติดปาก สัมผัสกับน้ำจืดจากบนบก และน้ำกร่อยนานกว่าป่าชายเลนที่อยู่ตามชายฝั่ง ป่าชายเลนประเภทนี้มีพืชอิงอาศัยขึ้นอยู่มาก เช่น กัลวี่ไม้

5. Scrub/Dwarf forests เป็นลักษณะป่าชายเลนที่ขึ้นบนบริเวณที่มีปัจจัยจำกัดการเจริญเติบโต โดยทั่วไปจะเป็นไม้พุ่มเตี้ยๆ ประมาณ 2 เมตร มักพบในบริเวณที่แห้งแล้งกว่าบริเวณอื่น

6. Hammock forests เป็นป่าชายเลนที่มีลักษณะคล้าย Basin forests แต่ระดับความสูงของพื้นที่ป่าประเภทนี้จะมากกว่าป่าชายเลนประเภทอื่นๆ

การแบ่งเขตของชนิดของไม้ป่าชายเลน (species zonation) ในป่าชายเลน

Watson (1928) ได้จัดแบ่งเขตไม้ป่าชายเลนในพื้นที่ทางด้านตะวันตกของประเทศมาเลเซีย ออกได้ 5 บริเวณ โดยมีความถี่ของน้ำทะเลท่วมถึงเป็นปัจจัยสำคัญในการแบ่งเขตไม้ป่าชายเลน ดังนี้

1. พื้นที่ที่มีน้ำทะเลท่วมถึงทุกครั้ง บริเวณนี้ไม่มีไม้ป่าชายเลนชนิดใดขึ้นได้ในสภาวะเช่นนี้ ยกเว้นโกงกางใบใหญ่

2. พื้นที่ที่มีน้ำทะเลท่วมถึงในขณะที่มีน้ำขึ้นสูงปานกลาง ไม้ป่าชายเลนที่ขึ้นบริเวณนี้เป็นพวก แสมขาว แสมทะเล ลำพูทะเลและโกงกางใบใหญ่

3. พื้นที่ที่มีน้ำทะเลท่วมถึงในขณะที่มีน้ำขึ้นสูงตามปกติ บริเวณนี้มีไม้ป่าชายเลนเจริญเติบโตได้ดี โดยเฉพาะโกงกางจะขึ้นหนาแน่นมากกว่าชนิดอื่นที่พบในบริเวณนี้ นอกจากนี้ยังพบพวกโปรงแดง ตะบูน และ ถั่วดำ เป็นต้น

4. พื้นที่ที่มีน้ำทะเลท่วมถึงเมื่อน้ำขึ้นสูงสุดเท่านั้น บริเวณนี้จะมีสภาพที่แห้งเกินไปสำหรับไม้โกงกางจะขึ้นได้ แต่จะเหมาะสมกับพวกไม้ถั่ว ตะบูนและตาตุ่ม

5. พื้นที่ที่มีน้ำทะเลท่วมถึงเมื่อน้ำขึ้นสูงสุดเป็นพิเศษเท่านั้น ไม้ป่าชายเลนที่ขึ้นบริเวณนี้เป็นพวกฟังกาหัวสุ่ม หลุมพอทะเล หงอนไก่ทะเล ตาตุ่มและจาก เป็นต้น

2.11.2 การแพร่กระจายตัวของป่าชายเลน

ป่าชายเลนของประเทศไทยขึ้นอยู่กับการจัดกระจายตามชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก ภาคกลาง และภาคใต้ โดยจะพบทั้งทางด้านฝั่งอ่าวไทย และฝั่งด้านทะเลอันดามัน ฝั่งอ่าวไทยในภาคกลางพบป่าชายเลนกระจายตัวบริเวณที่ติดกับชายฝั่งทะเลของจังหวัดสมุทรปราการ กรุงเทพฯ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ และในภาคตะวันออกพบป่าชายเลนขึ้นแพร่กระจายอยู่ตามชายฝั่งทะเลของจังหวัดชลบุรี ระยอง จันทบุรี ตราด และฉะเชิงเทรา ส่วนชายฝั่งภาคใต้ด้านตะวันออกจะพบตามปากน้ำและลำน้ำใหญ่ๆ ในจังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช สงขลา และปัตตานี ในด้านทะเลอันดามันพบแนวป่าชายเลนยาวติดต่อกันตั้งแต่เขตจังหวัดระนอง พังงา ภูเก็ต กระบี่ ตรัง และสตูล จังหวัดที่มีพื้นที่ป่าชายเลนมากที่สุดของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดพังงา สตูล กระบี่ และตรัง

การจำแนกประเภทของป่าชายเลนในประเทศไทยตามโครงสร้างของป่าชายเลนได้ดังนี้

1. ป่าชายเลนที่อยู่บริเวณปากแม่น้ำหรือน้ำกร่อย

ป่าชายเลนประเภทนี้พบขึ้นอยู่ตามริมแม่น้ำและร่องน้ำที่ได้รับอิทธิพลจากน้ำจืดมาก โดยพื้นที่ป่าชายเลนด้านที่ติดกับทะเล จะมีต้นไม้ขึ้นอยู่หนาแน่น และมีจำนวนชนิดต้นไม้มากกว่าบริเวณที่ห่างจากทะเลขึ้นไป หรืออยู่ทางด้านต้นน้ำจืด ได้แก่ ป่าชายเลนในอ่าวปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช เป็นป่าชายเลนที่ขึ้นอยู่ริมแม่น้ำใหญ่ คือ แม่น้ำปากพนัง คลองบางจากและคลองปากนคร ป่าชายเลนปากแม่น้ำกันตัง และแม่น้ำปะเหลียน จังหวัดตรัง ป่าชายเลนในจังหวัดระนอง และจังหวัดพังงา เป็นต้น

2. ป่าชายเลนที่อยู่ริมทะเล

ป่าชายเลนประเภทนี้จะพบตามบริเวณชายฝั่งหรือปากแม่น้ำสายเล็กๆ ซึ่งได้รับอิทธิพลจากน้ำจืดน้อย หรือมีน้ำจืดไหลลงสู่บริเวณป่าชายเลนในปริมาณน้อย น้ำในป่าชายเลนประเภทนี้ส่วนใหญ่จะเป็นน้ำทะเล พื้นที่ป่าชายเลนประเภทนี้ ได้แก่ ป่าชายเลนที่พบขึ้นตามเกาะต่างๆ ซึ่งมีบริเวณขนาดเล็ก (สง่าและคณะ 2530) ได้ทำการแบ่งเขตชนิดไม้ป่าชายเลนในประเทศไทยในแต่ละพื้นที่ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ 2.1 จังหวัดชุมพร มีกลุ่มชนิดไม้ป่าชายเลนขึ้นจากชายฝั่งน้ำลึกเข้าไปด้านในติดป่าดอน สรุปลักษณะนี้ บริเวณด้านนอกติดกับริมน้ำเป็นกลุ่มไม้ลำพู-แสม ถัดไปเป็นกลุ่มโกงกางใบใหญ่ใช้

และตามด้วยกลุ่มโงกทางใบเล็ก-ถั่ว หลังไม้กลุ่มนี้จะเป็นกลุ่มไม้โปร่ง-ตะบูน หลังจากกลุ่มไม้โปร่ง-ตะบูนจะเป็นกลุ่มไม้ตาตุ่มและเป้ง ตามลำดับ

2.2 จังหวัดสุราษฎร์ธานี จากริมน้ำเป็นกลุ่มไม้โงกทาง-แสม ตามด้วยกลุ่มไม้โปร่ง-ตะบูน ถัดจากนี้จะเป็นกลุ่มไม้ตาตุ่มและกลุ่มไม้ฝาด

2.3 จังหวัดนครศรีธรรมราช จากริมน้ำเป็นกลุ่มไม้โงกทางใบเล็ก ถัดไปเป็นกลุ่มไม้โปร่ง-ตะบูน และตามด้วยกลุ่มไม้ฝาด และสุดท้ายจะเป็นกลุ่มไม้โปร่ง

2.4 จังหวัดปัตตานี จากริมน้ำเป็นกลุ่มไม้โงกทางใบเล็ก ตามด้วยกลุ่มไม้โงกทางใบเล็ก-ถั่ว และถัดเข้าไปจะเป็นกลุ่มไม้ตะบูน-ปรงทะเล

2.5 จังหวัดระนอง จากริมน้ำเป็นกลุ่มเล็บมือนาง-รังกะแท้ และถัดเข้าไปจะเป็นกลุ่มไม้ลำพู-แสม ตามด้วยกลุ่มไม้โงกทาง-ถั่ว และถัดจากกลุ่มนี้เข้าไปจะเป็นกลุ่มไม้โปร่ง-ตะบูนและกลุ่มไม้แสม และในเขตสุดท้ายจะเป็นกลุ่มไม้ฝาด และกลุ่มไม้เป้งตามลำดับ

2.6 จังหวัดพังงา จากริมน้ำเป็นกลุ่มไม้ลำพู-แสม และกลุ่มไม้โงกทางใบใหญ่ ตามด้วยกลุ่มไม้โงกทางใบเล็ก-ถั่ว ถัดจากกลุ่มนี้ไปเป็นกลุ่มไม้โปร่ง และกลุ่มไม้โปร่ง-ตะบูน สำหรับเขตสุดท้ายจะเป็นกลุ่มไม้ตาตุ่ม-เป้ง

2.7 จังหวัดกระบี่ จากริมน้ำเป็นกลุ่มไม้โงกทางใบใหญ่และโงกทางใบเล็ก ตามด้วยกลุ่มไม้โปร่ง และถัดไปเป็นกลุ่มไม้โปร่ง-ตะบูน ส่วนเขตสุดท้ายจะเป็นกลุ่มไม้ฝาดและเป้ง

2.8 จังหวัดตรัง จากริมน้ำเป็นกลุ่มไม้ลำพู-แสม และตามด้วยกลุ่มไม้โงกทางและกลุ่มไม้โปร่ง-ตะบูน จะขึ้นแนวหลังสุดของป่าชายเลน

2.9 จังหวัดสตูล จากริมน้ำเป็นกลุ่มไม้ลำพู-แสม ถัดไปเป็นกลุ่มไม้โงกทางและตามด้วยกลุ่มไม้โปร่ง-ตะบูน และกลุ่มไม้ฝาด ส่วนเขตสุดท้ายอยู่ติดกับป่าดอน เป็นกลุ่มไม้เสม็ดและบริเวณที่ป่าถูกทำลายจะมีปรงทะเลขึ้นอยู่อย่างหนาแน่น

สง่า และคณะ (2530) ได้สรุปไว้ว่า การขึ้นอยู่ของกลุ่มไม้ในสังคมป่าชายเลนมีความสัมพันธ์กับสภาพพื้นที่และปัจจัยสิ่งแวดล้อมอย่างชัดเจน กล่าวคือ พวกไม้ลำพู-แสม จะเป็นไม้เบิกนำที่ชอบขึ้นอยู่ริมแม่น้ำ ลักษณะเป็นดินเลนมีทรายผสมและมีน้ำท่วมถึงเป็นประจำ ไม้โงกทางใบใหญ่และโงกทางใบเล็กจะชอบขึ้นอยู่ตามริมแม่น้ำซึ่งเป็นดินเลนหนา เป็นพื้นที่น้ำทะเลท่วมถึงเป็นประจำ เช่นเดียวกับพวกแสม-ลำพู พวกไม้ถั่วและไม้โปร่งชอบขึ้นอยู่ในที่ดินเลนค่อนข้างแข็งมีน้ำทะเลท่วมถึงสำหรับไม้ฝาดและตะบูนชอบขึ้นในที่ดินเลนแข็ง และพื้นที่ระดับค่อนข้างสูงเล็กน้อย ส่วนพวกที่ชอบขึ้นอยู่บนพื้นที่เลนแข็งและมีน้ำทะเลท่วมถึงบางครั้งในรอบเดือน ได้แก่ กลุ่มไม้ตาตุ่ม ไม้เสม็ด ไม้เป้ง สำหรับบริเวณที่ป่าชายเลนถูกถางและทำลายจะพบพวกปรงทะเลขึ้นอยู่อย่างหนาแน่น

2.12 งานวิจัยสารสีจากแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นงานวิจัยเกี่ยวกับสารสีจากแบคทีเรียแสดงไว้ในตารางที่ 2:1 อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 งานวิจัยสารสีจากแบคทีเรีย

เอกสารอ้างอิง	ตัวอย่าง	แบคทีเรีย	อาหารที่ใช้	สารที่ผลิต	การสกัด
Ishita และคณะ (2015)	ดินจากป่าชายเลน	<i>Streptomyces fradiae</i> VITIPMSB	-ใช้ในการแยกเชื้อ Actinomycetes isolation agar และ starch casein agar -ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ SS broth	Melanin pigment	หลังจากบ่ม เก็บเกี่ยวอาหารเลี้ยงเชื้อและปั่นเหวี่ยงที่ 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ในเครื่องปั่นแยกสารชนิดควบคุมอุณหภูมิ เก็บเม็ดเซลล์เพื่อสกัดสารสีที่อยู่ภายในเซลล์ นอกจากนี้เม็ดเซลล์ถูกทำให้เกิด ultra sonification และสารสีภายในเซลล์ถูกสกัดโดยใช้ตัวทำละลายมีขั้วที่แตกต่างกันเช่น เอทิล อะซิเตท คลอโรฟอร์ม เอ็น-บิวทานอล เมทานอล และเอทานอล ในอัตราส่วน 1:1 (w/v)
Samyuktha และคณะ (2016)	ดิน	Bacteria	Nutrient Agar, Nutrient Broth และ Mueller-Hinton Agar	Pigment	สารสีที่แยกได้โดยใช้วิธีการสกัดของเหลวกับของเหลว เพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหาร Nutrient Broth ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 100 มิลลิลิตร เตรียมเป็น 2 ชุด ชุดหนึ่งถูกเก็บไว้ที่สภาวะคงที่ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และอีกชุดในเครื่องปั่นแบบหมุนด้วยการตั้งค่าอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่ 90 รอบต่อนาที พบว่าสีจะเปลี่ยนประมาณ 7 วัน ในตอนท้ายของการบ่ม สารสีถูกสกัดโดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิด้วยสภาวะที่ตั้งไว้ 6000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เก็บ supernatant และทิ้ง pellet นอกจากนี้ pigment supernatant ถูกนำมาผสมกับคลอโรฟอร์มในปริมาณเท่ากันและถูกแยกออกจากกันโดยใช้กรวยแยก และกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)งานวิจัยสารสีจากแบคทีเรีย

เอกสารอ้างอิง	ตัวอย่าง	แบคทีเรีย	อาหารที่ใช้	สารที่ผลิต	การสกัด
Asnani และคณะ (2016)	ดินตะกอน และน้ำ	<i>Streptomyces fradiae</i> strain RSU15	Starch Casein Nitrate (SCN) agar , SCN broth	purple pigment และ hydrolytic enzymes	หลังจากบ่ม นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมากรองได้เป็นสารสีภายนอกเซลล์ ขณะที่เส้นใยที่ได้ถูกสกัดด้วยเอทานอลเพื่อให้ได้สารสีภายในเซลล์
Mohanasrinivasan และคณะ (2013)	ดิน	<i>Streptomyces coelicolor</i> MSIS1	glucose - asparagine , mannitol soya flour medium , GAUSE'S media	blue color pigment	หลังจากบ่มนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใส แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บ pellet ที่ได้มาและแช่ในเมทานอล สารสีถูกสกัดจากเมทานอลโดยใช้ rotary vacuum evaporator และเม็ดสีถูกทำให้แห้งและเก็บไว้ที่ 5 องศาเซลเซียส
Patcharee และคณะ (2012)	ฟองน้ำ	Sponge-associated bacteria Strain CHOB 06-6 KODA 19-6 MAKB 08-4	modified Zobell broth	Zeaxanthin (yellow pigment)	เก็บเกี่ยวเซลล์แบคทีเรียโดยการปั่นเหวี่ยงที่ 5,700 xg ที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และล้างสองครั้งด้วยน้ำกลั่น เม็ดเซลล์ถูกแช่ใน เอทานอล 95% (v/v) และเขย่าเซลล์แขวนลอย 200 รอบ/นาทีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บรวบรวมสารสกัดเอทานอลโดยการปั่นเหวี่ยงที่ 5,700 xg ที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ระเหยแห้งสารสกัดโดยก๊าซไนโตรเจนและนำมาละลายกลับในอะซิโตน

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)งานวิจัยสารสีจากแบคทีเรีย

เอกสารอ้างอิง	ตัวอย่าง	จุลินทรีย์	อาหารที่ใช้	สารที่ผลิต	การสกัด
Sudharshan และคณะ (2013)	ทรายชายฝั่ง	<i>Muricauda</i> sp. YUAB-SO-11 <i>Muricauda</i> sp. YUAB-SO-45	marine agar 2216	Zeaxanthin	เก็บเกี่ยวโดยการปั่นเหวี่ยงที่ 6,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาทีและล้างด้วยน้ำ Milli-Q สองครั้ง และทำให้แห้ง ชีวมวลบดละเอียดถูกทำให้ละลายในส่วนผสมของ sulfoxide dimethyl และเมทานอล [1:1 (v/v)] และเขย่าข้ามคืนในความมืดที่ 50 °C เม็ดสีถูกแยกออกจากเซลล์แขวนลอยโดยการปั่นเหวี่ยง 12,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที ที่ 4 °C กระบวนการนี้จะช้ากว่าจะมั่นใจว่าสกัดเม็ดสีสมบูรณ์ สารสกัดถูกระเหยภายใต้ก๊าซไนโตรเจนในที่มืดและ นำมาละลายกลับด้วยเอทานอล 95% (v/v)
Molka และคณะ (2013)	น้ำทะเลจาก นาเกลือ	<i>Halobacterium</i> <i>halobium</i>	complex medium (DSC-97)	Carotenoid	นำน้ำหมัก 50 ml มาปั่นเหวี่ยง 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ที่ 0 °C เม็ดเซลล์ถูกแยกออกจากสารละลายและสกัดสารในที่มืดด้วยอะซิโตน (100 ml) ที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ butylhydroxytoluene (BHT) (50 mg) แล้วปั่นเหวี่ยง 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาทีที่ 4 °C หลังจากนั้นนำเซลล์แขวนลอยในอะซิโตนผสมกับเฮกเซน (5 ml) และสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 25% (5 ml) จนกระทั่งแยกสำเร็จ ชั้นอะซิโตนที่เป็นของเหลวถูกสกัดออกในขั้นตอนที่สองด้วยเฮกเซนหลังจากกวนไม่กี่นาที สารสกัดจากเฮกเซนที่มันอยต์ถูกทำให้แห้งในเครื่องระเหยสุญญากาศ ชั่งน้ำหนักและละลายในเอทานอล

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงาน

3.1 เครื่องมือ

1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
2. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
3. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
4. เครื่องผสมสาร (vortex)
5. ตู้บ่มเชื้อ (incubator)
6. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow)
7. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
8. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)
9. เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (incubator shaker)
10. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
11. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
12. จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dish)
13. ขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร (Erlenmeyer flask)
14. แท่งแก้วรูปตัวแอล (L-Shape Glass Rod)
15. กระบอกตวง (Cylinder)
16. กรวยแยก (separatory funnel)
17. เครื่องระเหยสารภายใต้ระบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator)

3.2 สารเคมี

1. สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract)
2. สารสกัดจากมอลต์ (malt extract)
3. กลูโคส (glucose)
4. กรดนาลิซิดิก (nalixidic acid)
5. นิสตาติน (nystatin)
6. สารสกัดจากดิน (soil extract)
7. ดิน (humic soil)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. แป้งที่ละลายน้ำได้ (Soluble starch)
9. โพแทสเซียมไนเตรด (KNO_3)
10. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)
11. วุ้น (agar)
12. สารละลายทวิน 80 (Tween 80)
13. น้ำกลั่น (demineralized water)
14. ผงน้ำตาลเทียม
15. คลอโรฟอร์ม (Chloroform)
16. เมทานอล (Methanol)
17. เอทิลอะซิเตท (Ethyl acetates)
18. DPPH solution
19. สารละลายมาตรฐานบิวทิล ไฮดรอกซี โทลูอิน (BHT)

3.3 เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

1. *Bacillus subtilis* ATCC 6633
2. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
3. *Micrococcus luteus* ATCC 9341
4. *Escherichia coli* ATCC 25922
5. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
6. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST 20654
7. *Candida albicans* ATCC 10231

3.4 การเก็บตัวอย่างและตัวอย่างที่ใช้ในการแยกเชื้อ

ตัวอย่างที่นำมาแยกเชื้อแบคทีเรียและแอกติโนมัยสีทที่สามารถผลิตสารสีในตัวอย่างที่เก็บจากดินโดยเก็บตัวอย่างดินจากแหล่งต่างๆดังนี้

ดินป่าชายเลนจากจังหวัดเพชรบุรี จุด A ($12^{\circ}57'22.372''N$, $100^{\circ}02'12.881''E$) เก็บจากบ้านโตนดน้อย ตำบลหนองขนาน อำเภอเมืองเพชรบุรี จุด B และ C ($13^{\circ}00'42.024''N$, $100^{\circ}03'34.528''E$) เก็บจากหาดเจ้าสำราญ ตำบลหาดเจ้าสำราญ อำเภอเมืองเพชรบุรี จุด D ($13^{\circ}03'16.345''N$, $100^{\circ}05'32.076''E$), จุด E ($13^{\circ}03'17.016''N$, $100^{\circ}05'31.528''E$), จุด F ($13^{\circ}03'13.847''N$, $100^{\circ}05'16.814''E$), จุด G ($13^{\circ}02'48.377''N$, $100^{\circ}04'51.651''E$), จุด H

เอกลีกรณชนเฮนเฮกสารทเพนงนลลทหรือกรเซงนเพอการคิโยเทานน เมอนุญาดเทนเบเชบระโฮงนตงนการคาไมวากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(13°02'48.129"N, 100°04'52.301"E) และจุด I (13°03'12.001"N, 100°05'19.418"E) เก็บจากโครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมผักเปื้อน อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ตำบลแหลมผักเปื้อน อำเภอบ้านแหลม

ดินป่าชายเลนจากตำบลพุมเรียง อำเภอยะยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี จุดที่ 1 (9°22'28.7"N, 99°15'56.5"E) จุดที่ 2 (9°22'28.5"N, 99°15'54.9"E) โดยเก็บดินที่อยู่ลึกลงไปประมาณ 2 ถึง 20 เซนติเมตร ตักดินเก็บใส่ถุงพลาสติกประมาณ 100 กรัม มัดปากถุงให้ภายในถุงมีอากาศอยู่ แล้วเก็บไว้ในกระติกที่บรรจุน้ำแข็งระหว่างการเดินทางและเก็บในตู้เย็นเมื่อถึงห้องปฏิบัติการ

3.5 การแยกเชื้อแบคทีเรียที่สร้างสารสี

3.5.1 ชั่งตัวอย่างดินที่เก็บมา 10 กรัม ละลายในน้ำทะเลเทียม 90 มิลลิลิตร (10^{-1}) ผสมให้เข้ากัน และเจือจางต่อเป็น 10^{-2} ถึง 10^{-3} ดูดสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารแข็งสูตร Zhang's starch soil extract (ZSSE) (ภาคผนวก ก) ที่เติมไนสแตติน (Nystatin) ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เปลี่ยนให้หัวผิวหน้าอาหาร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน เพื่อรอให้เชื้อเจริญเติบโต

3.5.2 เมื่อเชื้อแบคทีเรียและเชื้อแอคติโนมัยซีทมีการเจริญมากพอสมควร จากนั้นเลือกโคโลนีที่สนใจมาทำให้เชื้อบริสุทธิ์โดยการขีดลงบนอาหารสูตรยีสต์แเอ็กแทรกท์ - มอลท์แเอ็กแทรกท์ เอการ์ (Yeast extract - Malt extract agar, ISP2) (ภาคผนวก ก) โดยวิธีการครอสสติก (cross streak) แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนกว่าเชื้อจะเจริญเต็มที่ และนำมา cross streak ไปจนกว่าจะได้เชื้อบริสุทธิ์ ดูได้จากเชื้อที่ผลิตสารสีแยกออกมาเป็นโคโลนีเดี่ยว

3.5.3 คัดเลือกโคโลนีของแบคทีเรียที่มีสี 1 โคโลนี มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรยีสต์แเอ็กแทรกท์ - มอลท์แเอ็กแทรกท์ (Yeast extract - Malt extract broth, ISP2 broth) เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ในสภาวะควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน

3.6 การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียผลิตสารสี

เลือกโคโลนีของแบคทีเรียโคโลนีเดี่ยว 1 โคโลนี มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรยีสต์แเอ็กแทรกท์ - มอลท์แเอ็กแทรกท์ (Yeast extract - Malt extract broth, ISP2 broth) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ในสภาวะควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7 การสกัดสารสี

1. การแยกเซลล์และน้ำหมัก นำเชื้อแบคทีเรียและแอคติโนมัยซิสที่เลี้ยงในอาหารเหลว สูตรยีสต์เอ็กแทรกท์ – มอลท์เอ็กแทรกท์ (Yeast extract - Malt extract broth , ISP2 broth) 7-14 วัน นำเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงครบ 7 วันแล้วไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนของเหลวไว้ นำเซลล์ที่ตกตะกอนอยู่ที่หลอดมาล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นสเตอไรด์แล้วปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกน้ำกลั่นออกจากตัวเซลล์ ทำการล้างเซลล์ซ้ำ 2 ครั้ง ในส่วนของเชื้อแอคติโนมัยซิสเมื่อเลี้ยงครบ 14 วัน นำกรองแยกเซลล์ออกจากน้ำหมักด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 น้ำหมักที่กรองแล้ว เก็บใส่ขวด ส่วนเซลล์นำมาล้างเซลล์บนกระดาษกรองด้วยน้ำกลั่นสเตอไรด์ 2 ครั้ง

2. การสกัดสีจากน้ำหมัก วัดปริมาตรน้ำหมักที่กรองแยกได้ ใส่ น้ำหมักที่กรองได้ลงในกรวยแยก แล้วเติม ethyl acetate ในอัตราส่วน ethyl acetate : น้ำหมัก เป็น 1:1 ทำการเขย่า 5 นาที แยกเก็บส่วนใส สกัดซ้ำ 2 ครั้ง นำส่วนใสที่ได้ไประเหย ethyl acetate ออกด้วยเครื่องระเหยสารภายใต้ระบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator) เก็บสารที่ได้ใส่ขวดแก้วขนาดเล็กปิดด้วยฟอยล์เก็บไว้ในโถดูดความชื้น (desiccator) จนสารแห้ง แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

3. การสกัดสีจากเซลล์ นำเซลล์ที่ได้มาแช่ใน Methanol เป็นเวลา 1-2 คืน แล้วกรองเซลล์ออก นำสารที่ได้ไประเหย Methanol ออกด้วยเครื่องระเหยสารภายใต้ระบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator) เก็บสารที่ได้ใส่ขวดแก้วขนาดเล็กปิดด้วยฟอยล์เก็บไว้ในโถดูดความชื้น (desiccator) จนสารแห้ง แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

3.8 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity)

3.8.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay

3.8.1.1. การเตรียมสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์และน้ำหมัก (broth)

เตรียมสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์โดยซึ่งสารสกัดหยาบหนัก 1 มิลลิกรัม ละลายในเมทานอล (methanol) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นทำการเจือจางให้มีความเข้มข้นในช่วง 1,000 – 0.97 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดหยาบจากน้ำหมักซึ่งสารสกัดหยาบหนัก 1 มิลลิกรัม ละลายในเมทานอล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน จากนั้นทำการเจือจางให้มีความเข้มข้นในช่วง 1,000 – 0.97 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.8.1.2. การเตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ให้มีความเข้มข้น 2.0 มิลลิโมลาร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซังสาร DPPH หน้า 7.9 มิลลิกรัม ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนเต็มขวดวัดปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรจนถึงขีดที่กำหนด จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 เทใส่ขวดแล้วเก็บไว้ในที่มืด

3.8.1.3. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานบีเอชที (BHT) โดยใช้ น้ำเป็น ตัวทำละลาย ทำการเจือจางให้มีความเข้มข้นในช่วง 1,000 – 0.97 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เตรียมสารละลายมาตรฐานบิวทิล ไฮดรอกซี โทลูอีน (BHT) โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ทำการเจือจางให้มีความเข้มข้นในช่วง 1,000 – 0.97 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.8.1.4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay

นำสารสกัดหยาบแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 100 ไมโครลิตร หยดลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลท 96 หลุม ทำการผสมสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ จากนั้นหยดสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ (Blank sample) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร หยดลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลท 96 หลุม ทำการหยดสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร หยดลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลท 96 หลุม จากนั้นหยดเมทานอลปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของสารละลาย DPPH ทดสอบ 3 ซ้ำ จากนั้นหยดเมทานอล (Blank DPPH) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของไมโครเพลท 96 หลุม ท่อด้วยฟอยล์แล้วนำไปบ่มในที่มืด 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (Microplate Reader) โดยใช้สารละลายมาตรฐานบีเอชที เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) และเมทานอล เป็นตัวทำชุดควบคุมเชิงลบ (negative control) นำผลค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเปรียบเทียบกับผลของชุดควบคุมเชิงบวกแล้วคำนวณหาร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระ คำนวณร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระ (Free Radical Scavenging) ดังสมการต่อไปนี้

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Blank DPPH}}) - (B_{\text{Sample}} - B_{\text{Blank sample}})] / (A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Blank DPPH}})$$

3.8.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยวิธีเอกาติสก์ดิฟฟิวชัน (agar disc diffusion) (Lorian.1980)

3.8.2.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ และเตรียมอาหารที่ใช้ทดสอบ

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 *Escherichia coli* ATCC 25922 *Micrococcus luteus* ATCC 9341 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Staphylococcus aureus ATCC 25923 Methicillin resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST 20654 และ *Candida albicans* ATCC 10231 โดยใช้ไม้พินสำลีป้ายเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (0.85%NaCl) ที่ปราศจากเชื้อ แล้วปรับความเข้มข้นของเชื้อให้มีความเข้มข้นเท่ากับแม็คฟาร์แลนด์ (McFarland) เบอร์ 0.5 (เทียบเท่ากับการปรับระดับความขุ่น (O.D.) ให้มีค่าอยู่ในช่วง 0.08 ถึง 0.1 วัดที่ความยาวคลื่น 624 นาโนเมตร) ซึ่งจะมีความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 1.5×10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร

เตรียมอาหารทริปติกซอยเอการ์ (Tryptic soy agar) สำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย และอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) สำหรับเลี้ยงยีสต์ ทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที เทลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 20 มิลลิลิตร วนจานเพาะเชื้อให้อาหารกระจายทั่วแล้วทิ้งให้อาหารแข็งตัว

3.8.2. การทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยวิธีเอกาติสก์ดิฟฟิวชัน (agar disc diffusion)

การทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธีเอกาติสก์ดิฟฟิวชัน (Lorian, 1980) โดยอาศัยหลักการแพร่ของสิ่งสกปรกออกมาโดยรอบแผ่นทดสอบ (disc) ในจานเพาะเชื้อที่มีฐานเป็นส่วนประกอบ โดยบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ขึ้นอยู่กับฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารสกัดหยาบ ใช้ไม้พินสำลีที่ปราศจากเชื้อชุบเชื้อแขวนลอยที่เตรียมไว้ในข้อ 3.6.2.1 แล้วทา (swab) ลงบนผิวหน้าอาหารแข็งด้วยวิธีปลอดเชื้อ (aseptic technique) เป็นแนวระนาบ จำนวน 3 ระนาบเพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบกระจายบนผิวอาหารอย่างสม่ำเสมอ เตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบในข้อ 3.5.2 และ 3.5.3 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตรต่อแผ่นทดสอบ (disc) หยดลงบนแผ่นทดสอบ (disc) รोजนแห้งจากนั้นวางลงบนผิวหน้าของอาหารที่ได้ทา (swab) เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบไว้ ทำชุดควบคุมเชิงลบ (negative control) โดยใช้ตัวทำละลายชนิดเดียวกับที่ใช้ละลายสารสกัด และชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) โดยการใช้แผ่นดิสก์ที่มียาปฏิชีวนะสำหรับเชื้อทดสอบนั้น บ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ถึง 24 ชั่วโมงสำหรับเชื้อแบคทีเรีย ส่วนเชื้อยีสต์นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจสอบผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) หน่วยเป็นมิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.9 การเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรีย

เก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียและแอกติโนมัยสัที่มีความบริสุทธิ์ (pure culture) โดยการนำโคโลนีเดี่ยวของเชื้อ streak ลงในหลอดอาหารเอียง (slant) สูตรยีสต์เอ็กแทรกท์ – มอลท์เอ็กแทรกท์เอการ์ (Yeast extract - Malt extract agar, ISP2) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน แล้วแบ่งเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บไว้ใช้งานในช่วงเวลาสั้นๆ ทำการเก็บรักษาเชื้อเพื่อให้ใช้งานได้เป็นเวลาหลายปี โดยนำเชื้อแอกติโนมัยสัที่มีความบริสุทธิ์มาเลี้ยงลงบนอาหารสูตรยีสต์เอ็กแทรกท์ – มอลท์เอ็กแทรกท์เอการ์ (Yeast extract - Malt extract agar, ISP2) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 ถึง 14 วัน หรือจนกระทั่งเชื้อสร้างสปอร์ ตัดชิ้นวันที่มีโคโลนีของเชื้อเจริญอยู่เก็บลงในหลอดที่มีสารละลายกลีเซอรอล (Glycerol) ความเข้มข้นร้อยละ 10 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส และทำการตรวจสอบความมีชีวิตรอดของเชื้อทุกปี

3.10 สถานที่ทำการทดลอง

อาคารวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการแยกเชื้อที่ผลิตสารสี

เมื่อทำการแยกและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจากดินตะกอนป่าชายเลนจังหวัดเพชรบุรี และจังหวัดสุราษฎร์ธานี สามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่ได้ทำการคัดเลือกเชื้อจำนวน 12 ไอโซเลต ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียจากดินตะกอนจากป่าชายเลนจังหวัดเพชรบุรี 9 ไอโซเลต และเชื้อแบคทีเรียจากดินตะกอนป่าชายเลนจังหวัดสุราษฎร์ธานี 3 ไอโซเลต ดังแสดงในตารางที่ 4.1

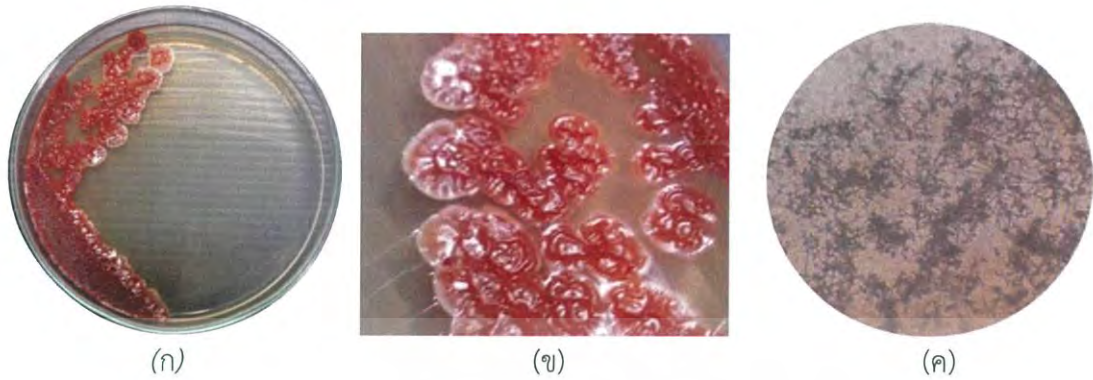
ตารางที่ 4.1 การเก็บตัวอย่างและการแยกเชื้อที่ผลิตสารสี

สถานที่	รหัสเชื้อ
หาดเจ้าสำราญ ตำบลหาดเจ้าสำราญ อำเภอเมืองเพชรบุรี จังหวัดเพชรบุรี	C1-2
โครงการศึกษาวิจัยและพัฒนาสิ่งแวดล้อมแหลมผักเบี้ย อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ตำบลแหลมผักเบี้ย อำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี	G1-2 G1-9 G1-10 G1-11 G2-2 H1-1 I2-1 I3-1
ตำบลพุมเรียง อำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี	Ch1-2B Ch3-2 Ch3-3

4.2 การศึกษาอนุกรมวิธานเบื้องต้นของเชื้อ

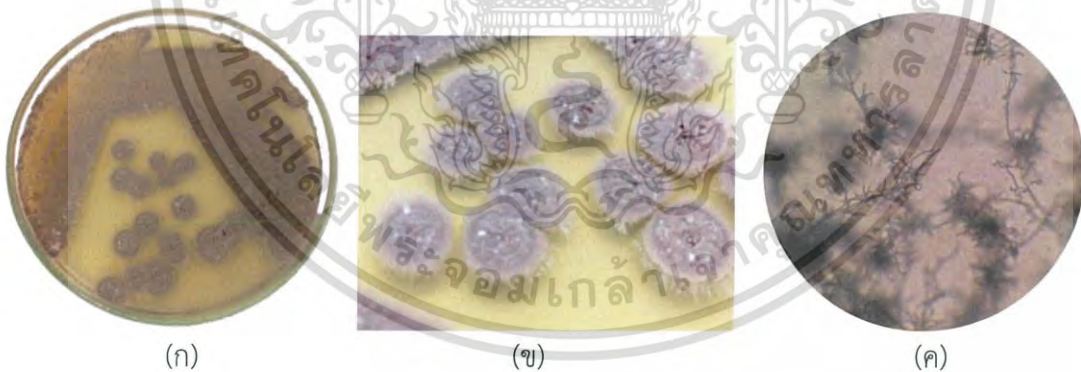
นำเชื้อแอกติโนมัยสีทและแบคทีเรีย 12 ไอโซเลต มาเลี้ยงบนอาหาร yeast extract – malt extract agar เพื่อตรวจสอบการเจริญและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ โดยสังเกตจากการมองเห็นหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเป็นเวลา 21 วัน เพื่อตรวจสอบการเจริญ สีของเส้นใยอากาศ สีของเส้นใยอาหาร ลักษณะสปอร์ และสีของรงควัตถุของเชื้อ พบว่าเชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลต C1-2 เจริญได้น้อยในอาหาร ISP2 ไม่มีการสร้างเส้นใยอากาศ สร้างเส้นใยอาหารสีแดงเข้มอมส้ม (Deep Reddish Orange) และไม่มีการสร้างรงควัตถุ สร้างสปอร์มีลักษณะเป็นสายบิดเป็นเกลียวอยู่บนเส้นใยอาหาร มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อ แอกติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลต C1-2 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 21 วัน
(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

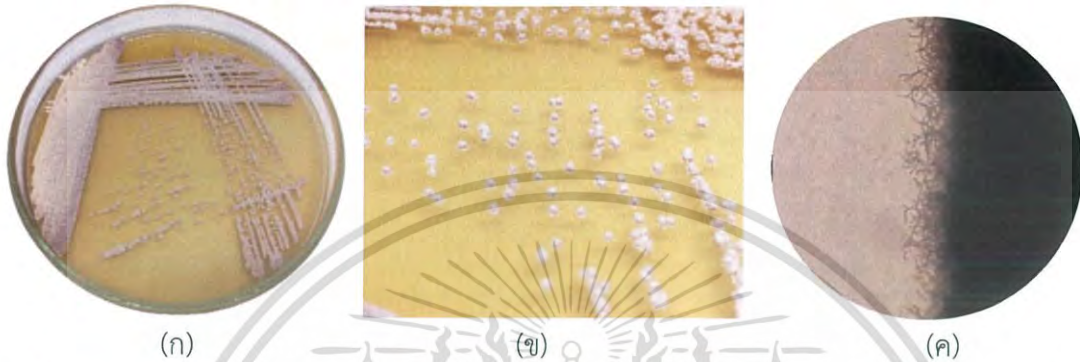
เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลต G1-2 เจริญได้ดีมากในอาหาร ISP2 สร้างเส้นใยอากาศสีเทาอมชมพู (Pinkish Gray) เส้นใยอาหารมีสีแดงสว่าง (Vivid Red) และไม่มีการสร้างรงควัตถุ สร้างสปอร์ลักษณะเป็นสายยาวแตกแขนงเป็นช่อ ปลายโค้งงออยู่บนเส้นใยอาหาร มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อแอกติโนมัยซีทสกุล *Streptomyces*



รูปที่ 4.2 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลต G1-2 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 21 วัน
(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลต G1-9 เจริญได้ดีมากในอาหาร ISP2 สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเหลือง (Yellowish White) เส้นใยอาหารสีส้มเข้มอมเหลือง (Deep Orange Yellow) และไม่มีการสร้างรงวัตถุ สร้างสปอร์ลักษณะเป็นสายตรงสั้นอยู่บนเส้นใยอาหาร มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อแอกติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces*



รูปที่ 4.3 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลต G1-9 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 21 วัน
(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

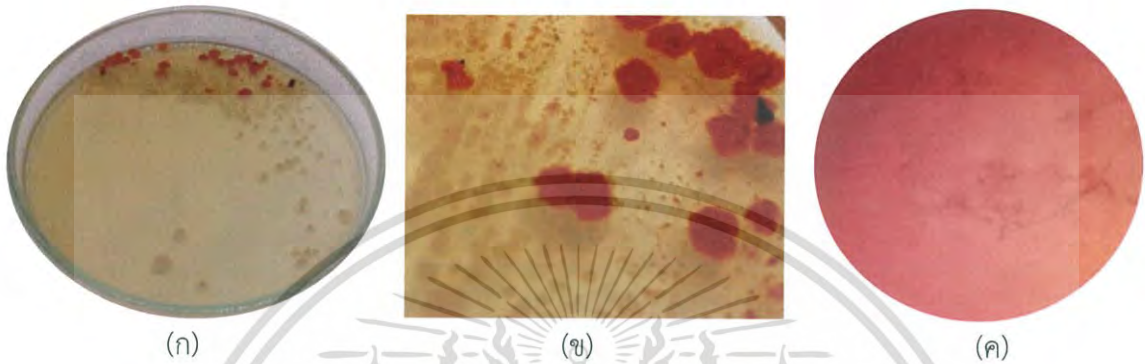
เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต G1-10 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีเป็นสีส้มเข้ม (Strong Orange) เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างรูปร่างค่อนข้างกลม จะพบการเรียงตัวเป็นกลุ่ม เป็นคู่ หรือจับกันเป็นสายโซ่ ไม่มีการสร้างสปอร์



รูปที่ 4.4 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลต G1-10 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 21 วัน
(ค) แสดงลักษณะรูปร่างของเชื้อไอโซเลต G1-10 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยสีทไอโซเลต G1-11 เจริญได้น้อยในอาหาร ISP2 สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมชมพู (Pinkish White) เส้นใยอาหารสีแดงเข้มมาก (Very Deep Red) และไม่มีการสร้างรงควัตถุ สร้างสปอร์ ลักษณะเป็นสายตรงสั้นปลายโค้งงออยู่บนเส้นใยอาหาร มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อแอกติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces*



รูปที่ 4.5 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลต G1-11 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 21 วัน
(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

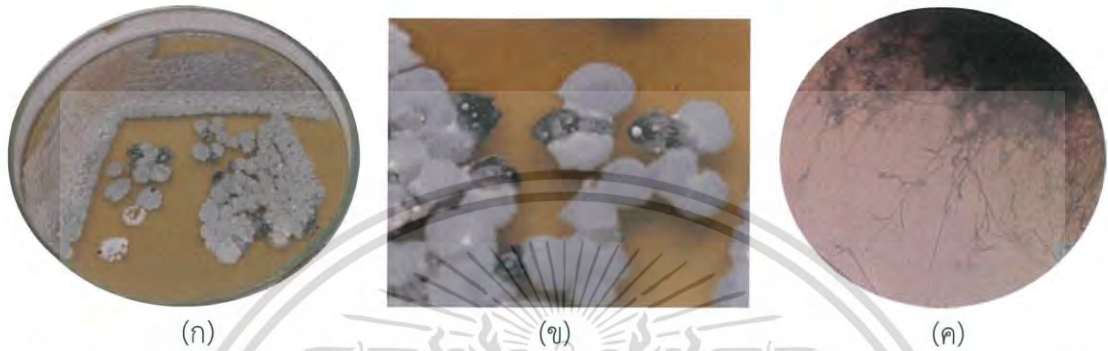
เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต G2-2 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีเป็นสีเหลืองอมเขียว (Vivid Greenish Yellow) เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างกลม ไม่มีการสร้างสปอร์



รูปที่ 4.6 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลต G2-2 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 21 วัน
(ค) แสดงลักษณะรูปร่างของเชื้อไอโซเลต G2-2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลต H1-1 เจริญได้ปานกลางในอาหาร ISP2 สร้างเส้นใยอากาศสีเขียวอมเหลืองเข้ม (Dark Yellowish Green) เส้นใยอาหารสีน้ำตาลอมเหลืองเข้ม (Strong Yellowish Brown) มีการสร้างรงควัตถุสีเหลืองอมส้มเข้ม (Dark Orange Yellow) สร้างสปอร์ลักษณะเป็นสายตรงยาว ปลายโค้งงออยู่บนเส้นใยอาหาร มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อแอกติโนมัยซีท สกุล *Streptomyces*



(ก)

(ข)

(ค)

รูปที่ 4.7 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลต H1-1 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 21 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลต I2-1 เจริญได้ดีมากในอาหาร ISP2 สร้างเส้นใยอากาศสีเขียวสว่าง (Light Green) เส้นใยอาหารสีเขียวเหลืองสว่าง (Light Yellow Green) และไม่มีการสร้างรงควัตถุ สร้างสปอร์ลักษณะเป็นสายตรงยาวอยู่บนเส้นใยอาหาร มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อแอกติโนมัยซีทสกุล *Streptomyces*



(ก)

(ข)

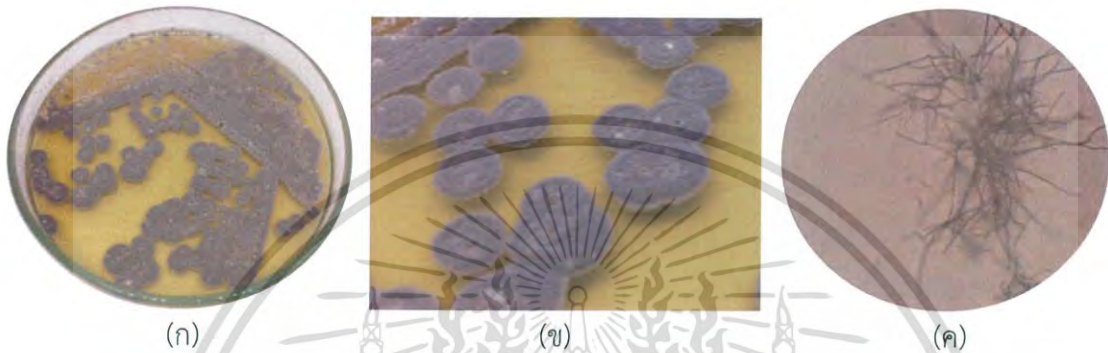
(ค)

รูปที่ 4.8 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลต I2-1 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 21 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลต I3-1 เจริญได้ดีมากในอาหาร ISP2 สร้างเส้นใยอากาศสีเทาหมอก สว่าง (Light Grayish Olive) เส้นใยอาหารสีน้ำตาลอมเหลืองเข้ม (Strong Yellowish Brown) และไม่มี การสร้างรงควัตถุ สร้างสปอร์ลักษณะเป็นสายตรงยาวอยู่บนเส้นใยอาหาร มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อแอก ตติโนมัยซีทสกุล *Streptomyces*



รูปที่ 4.9 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลต I3-1 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 21 วัน
(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

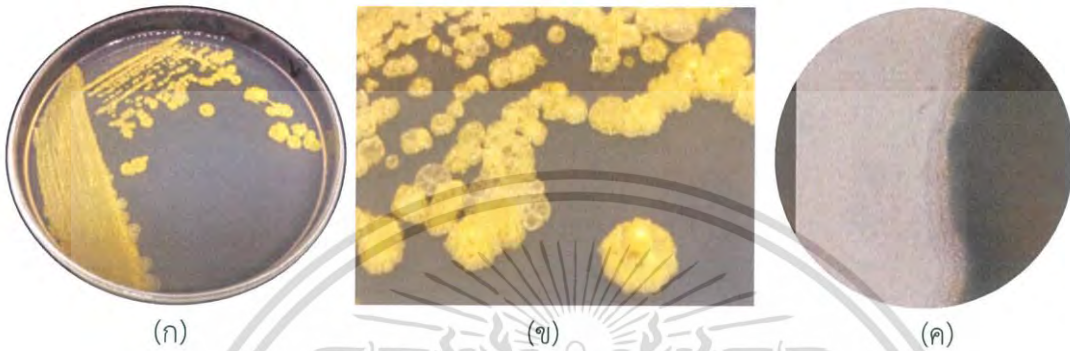
เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต Ch1-2B เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีเป็นสีส้มอมแดงสว่าง (Vivid Reddish Orange) เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างท่อน ไม่มีการสร้างสปอร์



รูปที่ 4.10 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลต Ch1-2B บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 21 วัน
(ค) แสดงลักษณะรูปร่างของเชื้อไอโซเลต Ch1-2B ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต Ch3-2 เจริญได้ปานกลางในอาหาร ISP2 ไม่มีการสร้างเส้นใยอากาศ สร้างเส้นใยอาหารสีเหลืองสว่าง (Vivid Yellow) และไม่มีการสร้างรงควัตถุ สร้างสปอร์มีลักษณะเดี่ยว รูปร่างกลมบนสายเส้นใยอาหารโดยตรง มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อแอกติโนมัยสัทสกุล *Jishengella*



รูปที่ 4.11 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลต Ch3-2 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 21 วัน
(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต Ch3-3 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีเป็นสีส้มเข้ม (Strong Orange) เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างท่อนสั้นๆ ไม่มีการสร้างสปอร์



รูปที่ 4.12 (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลต Ch3-3 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 21 วัน
(ค) แสดงลักษณะรูปร่างของเชื้อไอโซเลต Ch3-3 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ลักษณะการเจริญและสีฐานวิทยาของเชื้อแอสเพอร์จิลลินัมยีสต์บนอาหาร yeast extract – malt extract agar ระยะเวลา 21 วัน

เชื้อ	การเจริญ	สีเส้นใยอากาศ	สีเส้นใยอาหาร	สีรงควัตถุ
C1-2	น้อย	-	แดงเข้มอมส้ม (Deep Reddish Orange, 9.2r 3.9 12.1)	-
G1-2	ดีมาก	เทาอมชมพู (Pinkish Gray, 9.8r 7.4 1.0)	แดงสว่าง (Vivid Red, 5.0r 3.9 15.4)	-
G1-9	ดีมาก	ขาวอมเหลือง (Yellowish White, 4.5y 9.2 1.2)	ส้มเข้มอมเหลือง (Deep Orange Yellow, 8.6yr 6.0 12.1)	-
G1-11	น้อย	ขาวอมชมพู (Pinkish White, 5.8r 9.0 0.8)	แดงเข้มมาก (Very Deep Red, 6.5r 1.7 8.4)	-
H1-1	ปานกลาง	เขียวอมเหลืองเข้ม (Dark Yellowish Green, 0.6g 3.5 5.0)	น้ำตาลอมเหลืองเข้ม (Strong Yellowish Brown, 8.8yr 4.6 8.5)	เหลืองอมส้มเข้ม (Dark Orange, Yellow, 9.3yr 6.0 7.9)
I2-1	ดีมาก	เขียวสว่าง (Light Green, 6.0g 6.4 5.1)	เขียวเหลืองสว่าง (Light Yellow Green, 5.0gy 8.4 5.6)	-
I3-1	ดีมาก	สีเทาหมอกสว่าง (Light Grayish Olive, 7.85y 5.5 2.5)	น้ำตาลอมเหลืองเข้ม (Strong Yellowish Brown, 8.8yr 4.6 8.5)	-
Ch3-2	ปานกลาง	-	สีเหลืองสว่าง (Vivid Yellow, 3.3y 8.0 14.3)	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ลักษณะการเจริญและสีของเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร yeast extract – malt extract agar ระยะเวลา 21 วัน

เชื้อ	การเจริญ	สีโคโลนี
G1-10	ดี	ส้มเข้ม(Strong Orange, 4.3yr 6.5 12.2)
G2-2	ปานกลาง	เหลืองอมเขียว (Vivid Greenish Yellow, 9.1y 8.2 12.0)
Ch1-2B	ดี	ส้มอมแดงสว่าง (Vivid Reddish Orange, 9.8r 5.4 14.5)
Ch3-3	ดี	ส้มเข้ม (Strong Orange, 4.3yr 6.5 12.2)

4.3 ผลของการสกัดสารสี

4.3.1 ผลจากการสกัดสารสีในส่วนของน้ำหมัก

การสกัดสารสีในส่วนของน้ำหมักโดยวิธีการสกัด liquid – liquid extraction ทั้ง 12 ไอโซเลต เพื่อนำส่วนสีที่ได้ไประเหย ethyl acetate ออกด้วยเครื่องระเหยสารภายใต้ระบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator) ได้ผลตามตารางที่ 4.4 และได้ตัวอย่างสีสารสกัดหยาบจากน้ำหมักดังรูปที่ 4.13

ตาราง 4.4 สารสีในส่วนของน้ำหมักที่เชื้อแต่ละไอโซเลตผลิตได้

ไอโซเลต	สีรังควัตถุ
C1-2	สีแดงสด (Vivid Red, 5.0r 3.9 15.4)
G1-2	สีแตงน้ำตาลเข้ม (Deep Reddish Brown, 1.6yr 1.5 8.3)
G1-9	สีส้มเหลือง (Pale Orange Yellow, 9.2yr 8.7 4.4)
G1-10	สีแตงน้ำตาลเข้ม (Deep Reddish Brown, 1.6yr 1.5 8.3)
G1-11	สีแดงเข้ม (Strong Red, 4.0r 4.4 12.1)
G2-2	สีส้มเหลืองสดใส (Brilliant Orange Yellow, 0.1y 8.1 10.5)
H1-1	สีส้มเหลืองสดใส (Brilliant Orange Yellow, 0.1y 8.1 10.5)
I2-1	สีเหลืองสดใส (Brilliant Yellow, 4.4y 8.7 8.9)
I3-1	สีเหลืองน้ำตาลเข้ม (Dark Yellowish Brown, 9.4yr 2.3 3.3)
Ch1-2B	สีแตงส้ม (Deep Reddish Orange, 9.2r 3.9 12.1)
Ch3-2	สีส้มเหลือง (Deep Orange Yellow, 8.6yr 6.0 12.1)
Ch3-3	สีเหลืองสดใส (Light Yellow, 4.3y 8.8 6.8)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 ตัวอย่างสีสารสกัดหยาบจากน้ำหมัก

4.3.2 ผลจากการสกัดสารสีในส่วนของตัวเซลล์

นำตัวเซลล์ทั้ง 12 ไอโซเลต ที่แยกได้มาแช่ในเมทานอลเป็นเวลา 1-2 วัน แล้วระเหยสารเมทานอลออกโดยใช้เครื่องระเหยสารภายใต้ระบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator) ได้ผลตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 สารสีในส่วนของตัวเซลล์

ไอโซเลต	สีรงค์วัตถุ
C1-2	สีแดงเข้มมาก (Very Deep Red, 6.5r 1.7 8.4)
G1-2	สีแดงน้ำตาลเข้ม (Strong Reddish Brown, 0.3yr 3.1 9.9)
G1-9	สีเหลืองสด (Vivid Yellow, 3.3y 8.0 14.3)
G1-10	สีแดงน้ำตาลเข้ม (Deep Reddish Brown, 1.6yr 1.5 8.3)
G1-11	สีชมพูเข้ม (Deep Pink, 2.1r 6.0 11.1)
G2-2	สีเหลืองส้มสด (Strong Orange Yellow, 9.1yr 7.1 11.6)
H1-1	สีส้มเข้ม (Deep Orange, 4.1yr 5.1 11.3)
I2-1	สีส้มพอมเหลือง (Pale Yellowish Pink, 4.2yr 8.6 2.2)
I3-1	สีเหลืองสดใส (Brilliant Yellow, 4.4y 8.7 8.9)
Ch1-2B	สีเหลืองอมชมพูสดใส (Vivid Yellowish Pink, 8.0r 8.0 13.0)
Ch3-2	สีเหลืองสดใส (Vivid Yellow, 3.3y 8.0 14.3)
Ch3-3	สีเหลืองอ่อน (Moderate Yellow, 3.8y 7.1 6.5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 ตัวอย่างสีสารสกัดหยาบจากเซลล์

4.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity)

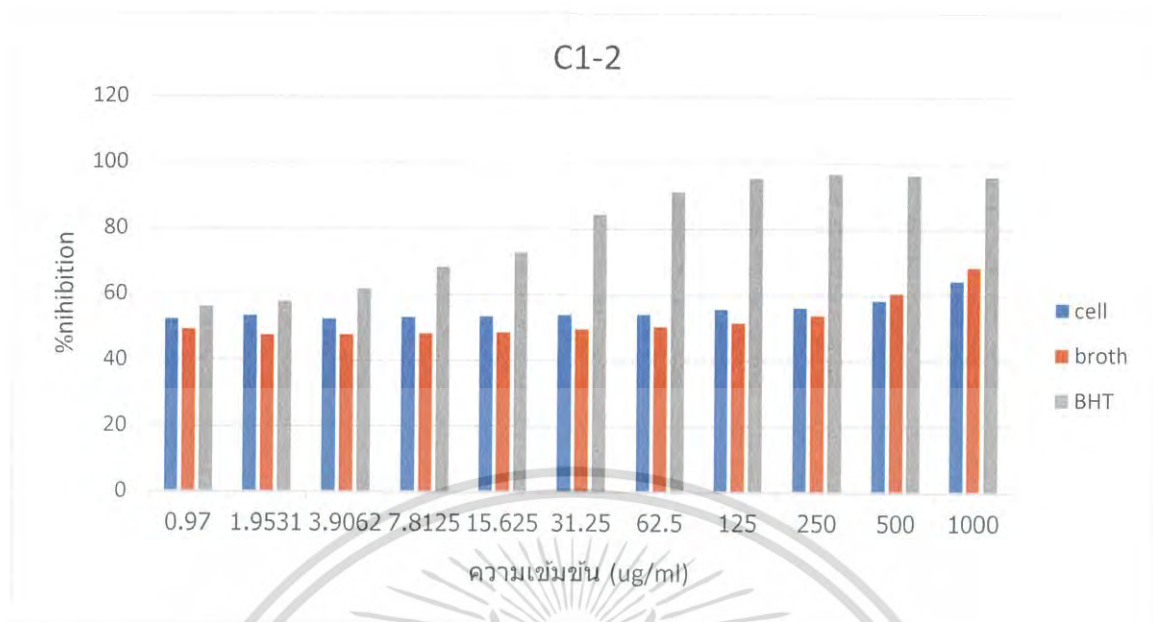
4.4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

นำตัวเซลล์และน้ำหมักทั้ง 12 ไอโซเลตมาทดสอบการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH ได้ผลดังตาราง 4.6 – 4.17

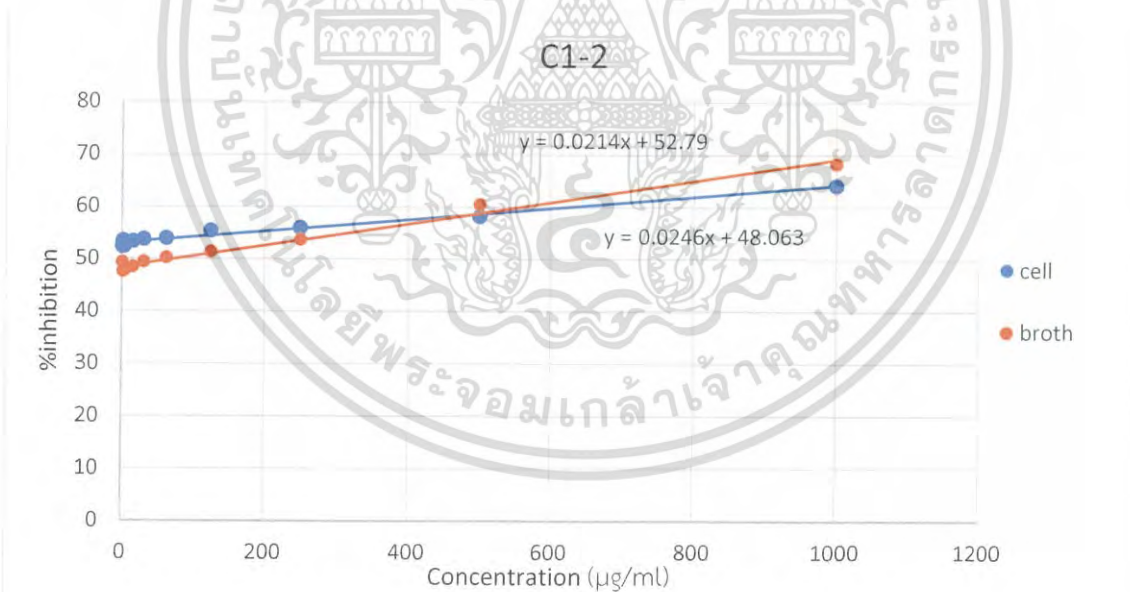
ตาราง 4.6 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของ C1-2

ไอโซเลต	ความเข้มข้นของสารสกัด (ug/ml)	%inhibition		
		cell	broth	BHT
C1-2	0.97	52.3829	49.3664	56.13661
	1.9531	53.4711	47.5482	57.70098
	3.9062	52.438	47.7686	61.6627
	7.8125	53.0716	48.1818	68.34684
	15.625	53.3333	48.4298	72.77585
	31.25	53.7466	49.4353	84.29532
	62.5	53.9532	50.1928	91.22326
	125	55.4545	51.405	95.3272
	250	56.0055	53.719	96.68841
	500	58.2094	60.4408	96.40397
	1000	64.1598	68.2369	95.95701

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.15 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต C1-2 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต C1-2 และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ

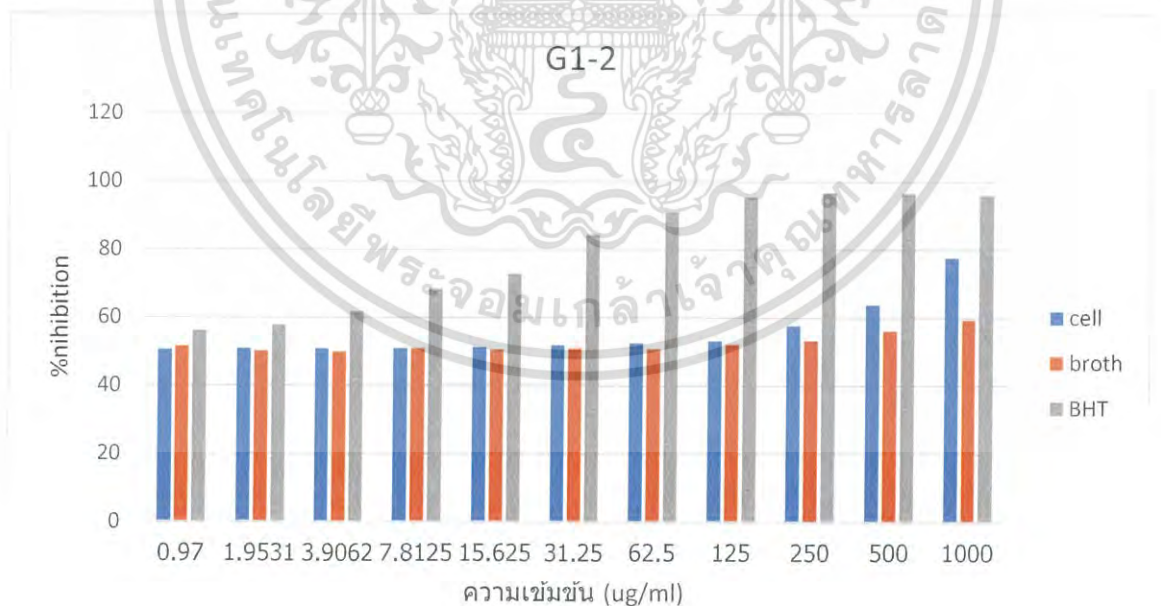


รูปที่ 4.16 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต C1-2 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต C1-2

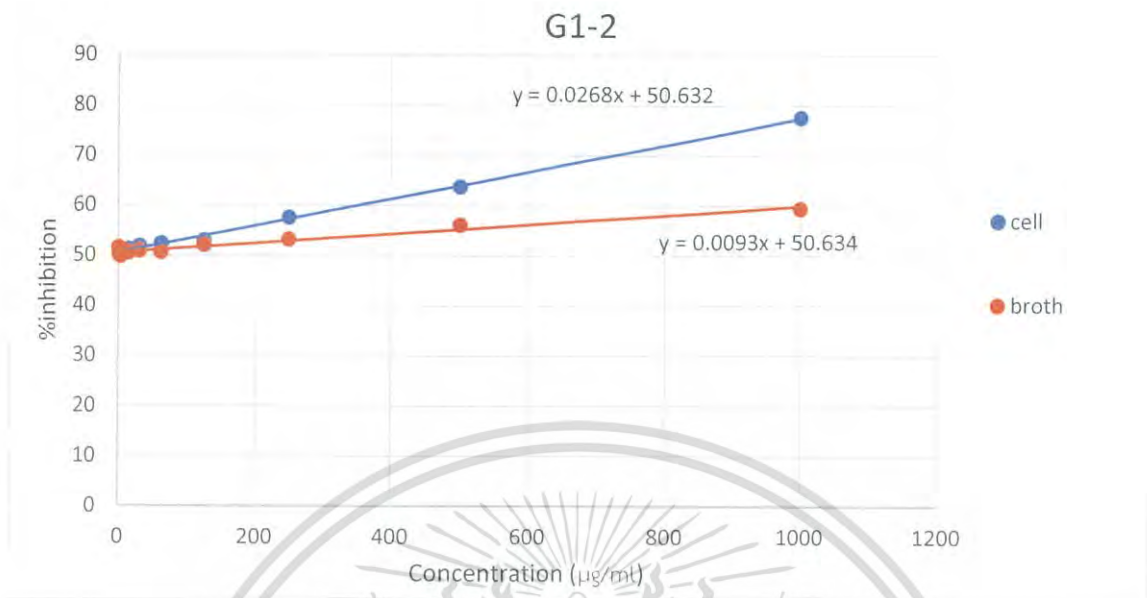
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 4.7 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส G1-2

ไอโซเลต	ความเข้มข้นของสารสกัด (ug/ml)	%inhibition		
		cell	broth	BHT
G1-2	0.97	50.4850	51.5816	56.1366
	1.9531	50.7803	50.1195	57.7010
	3.9062	50.8506	49.8664	61.6627
	7.8125	50.8646	50.8646	68.3468
	15.625	51.2723	50.5413	72.7758
	31.25	51.8347	50.9349	84.2953
	62.5	52.397	50.71	91.2233
	125	53.0718	52.1158	95.3272
	250	57.5988	53.2405	96.6884
	500	63.7565	56.1367	96.404
	1000	77.5622	59.3983	95.957



รูปที่ 4.17 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อไอโซเลต G1-2 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อไอโซเลต G1-2 และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ภายนอกโดยไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

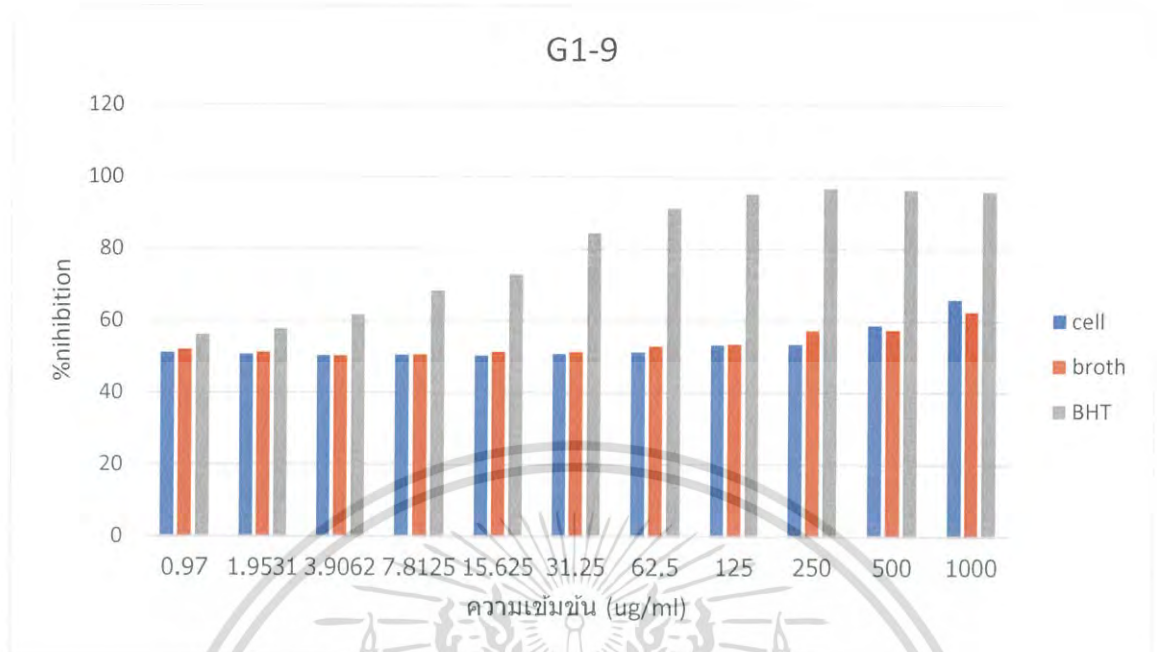


รูปที่ 4.18 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต G1-2 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต G1-2

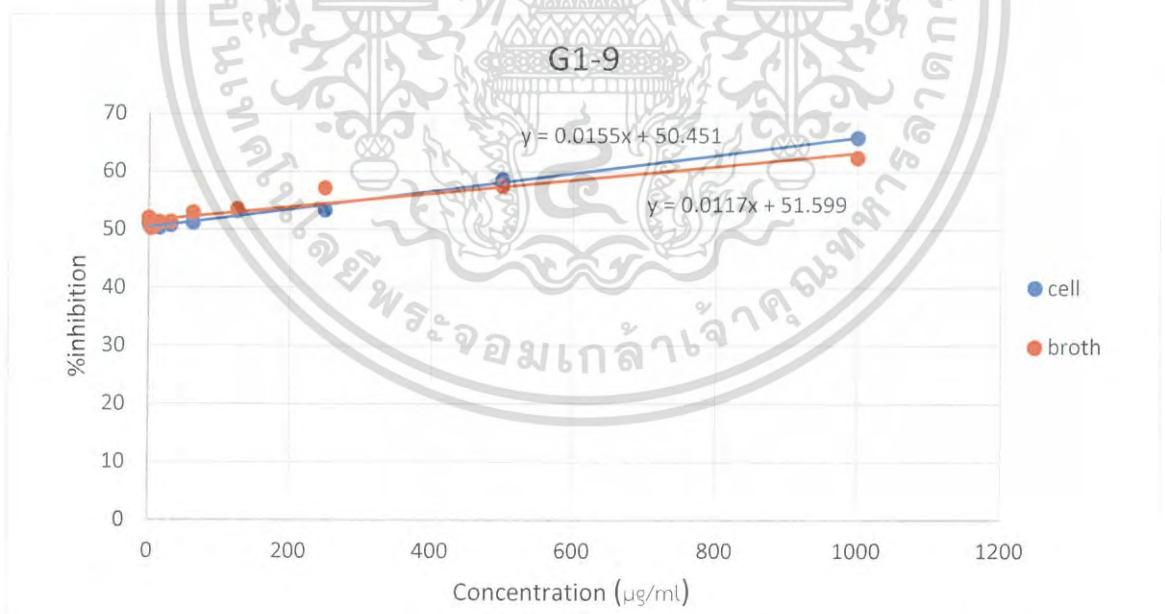
ตาราง 4.8 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส G1-9

ไอโซเลต	ความเข้มข้นของสารสกัด (ug/ml)	%inhibition		
		cell	broth	BHT
G1-9	0.97	51.0835	52.0530	56.1366
	1.9531	50.6416	51.3259	57.7010
	3.9062	50.2994	50.2994	61.6627
	7.8125	50.4562	50.6843	68.3468
	15.625	50.3422	51.3544	72.7758
	31.25	50.7699	51.4115	84.2953
	62.5	51.2119	53.0083	91.2233
	125	53.2364	53.5500	95.3272
	250	53.4075	57.2284	96.6884
	500	58.6541	57.5706	96.4040
1000	65.9253	62.5036	95.9570	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ตามการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.18 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อไอโซเลต G1-9 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อไอโซเลต G1-9 และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ

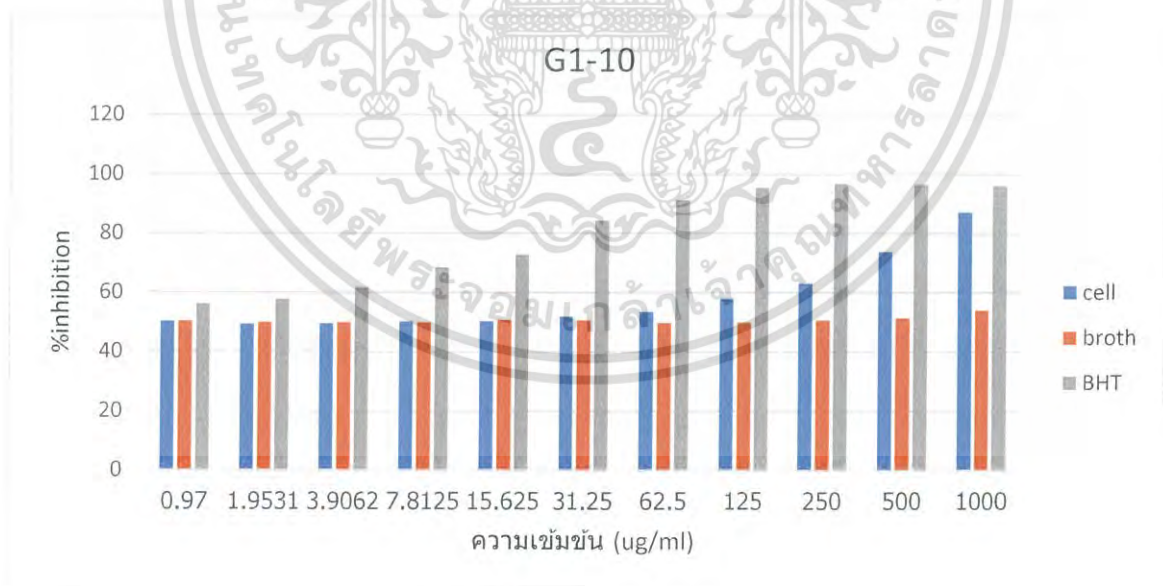


รูปที่ 4.20 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อไอโซเลต G1-9 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อไอโซเลต G1-9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

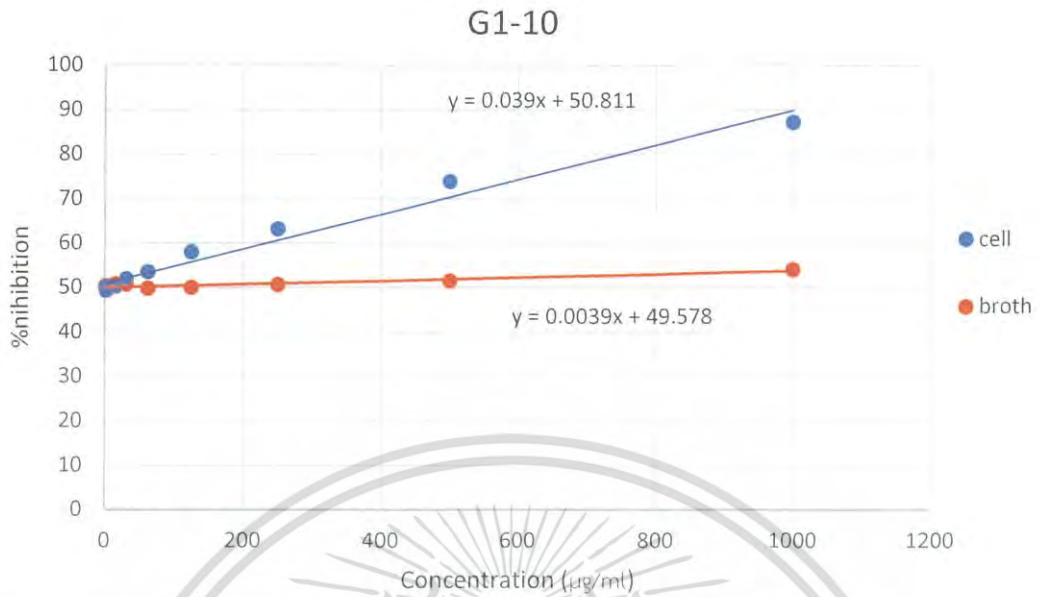
ตาราง 4.9 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส G1-10

ไอโซเลต	ความเข้มข้นของสารสกัด (ug/ml)	%inhibition		
		cell	broth	BHT
G1-10	0.97	50.2188	50.3646	56.1366
	1.9531	49.2951	49.8947	57.7010
	3.9062	49.5382	49.9271	61.6627
	7.8125	50.1215	49.9595	68.3468
	15.625	50.2512	50.7697	72.7758
	31.25	51.8717	50.7373	84.2953
	62.5	53.4921	49.8298	91.2233
	125	57.9647	49.9757	95.3272
	250	63.1502	50.6887	96.6884
	500	73.8778	51.4989	96.4040
	1000	87.1658	54.0593	95.9570



รูปที่ 4.21 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อไอโซเลต G1-10 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อไอโซเลต G1-10 และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

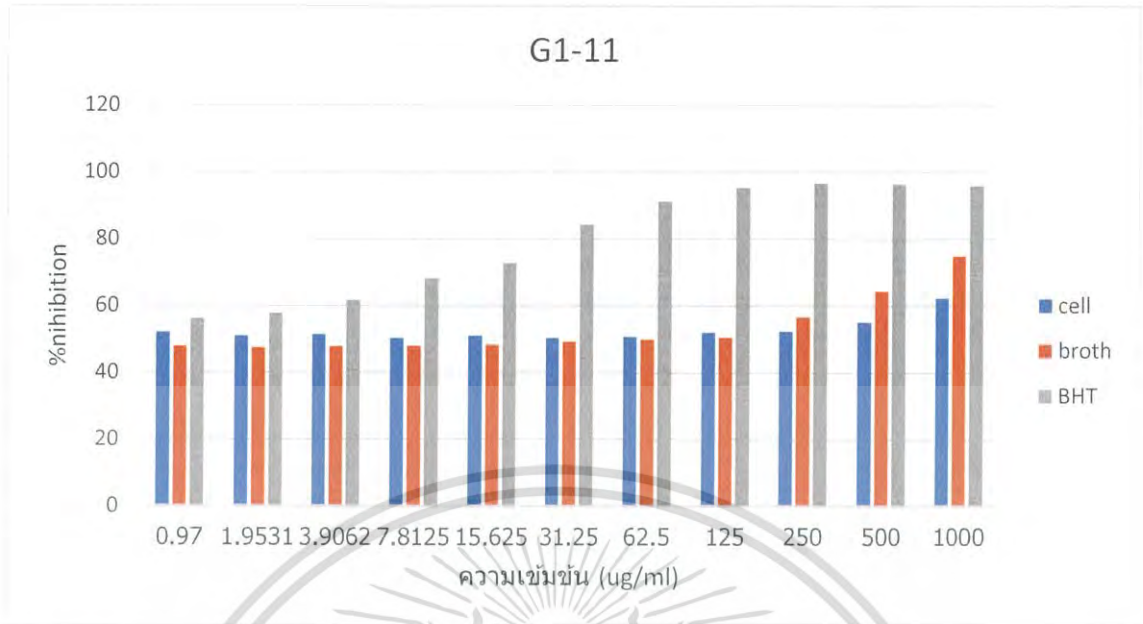


รูปที่ 4.22 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อไอโซเลต G1-10 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อไอโซเลต G1-10

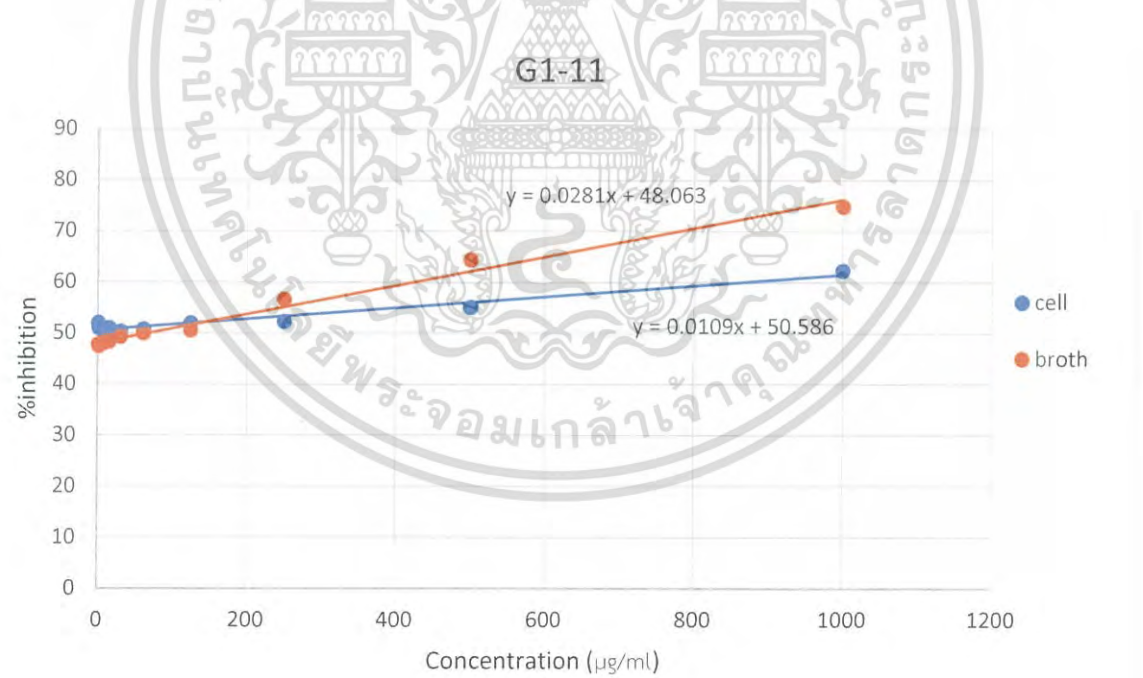
ตาราง 4.10 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส G1-11

ไอโซเลต	ความเข้มข้นของสารสกัด (ug/ml)	%inhibition		
		cell	broth	BHT
G1-11	0.97	51.9627	47.7855	56.1366
	1.9531	50.9406	47.4744	57.7010
	3.9062	51.4294	47.8300	61.6627
	7.8125	50.3629	48.0077	68.3468
	15.625	50.9850	48.3188	72.7758
	31.25	50.3185	49.252	84.2953
	62.5	50.7184	49.963	91.2233
	125	51.9182	50.5407	95.3272
	250	52.2293	56.5842	96.6884
	500	55.0733	64.3608	96.4040
1000	62.2723	74.8482	95.9570	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.23 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต G1-11 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต G1-11 และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ

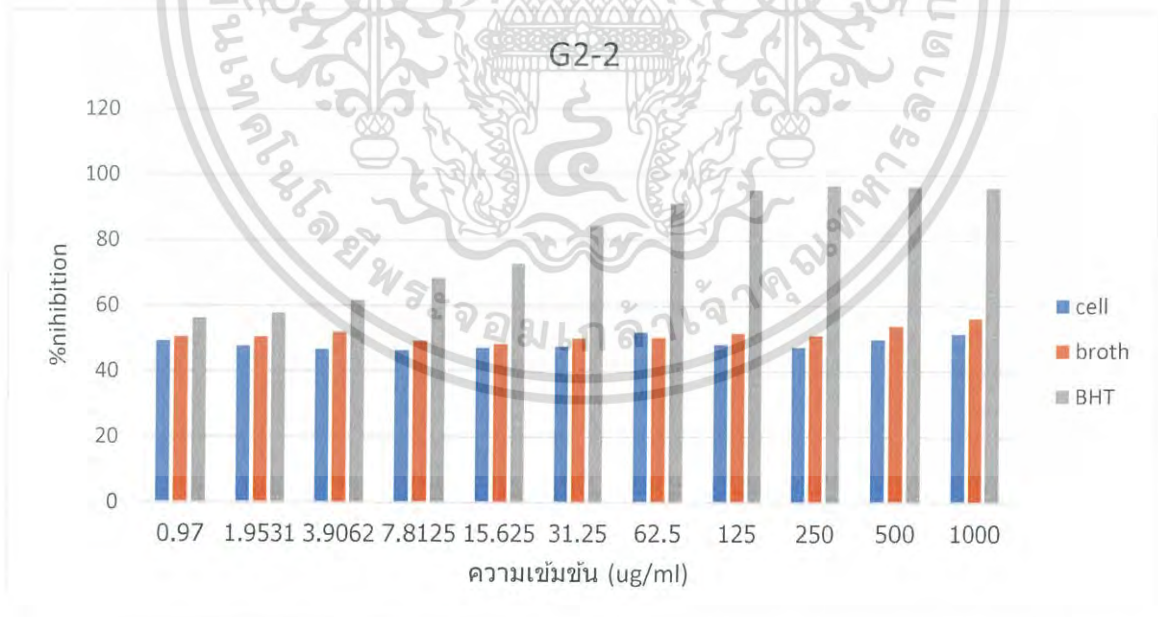


รูปที่ 4.24 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต G1-11 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต G1-11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

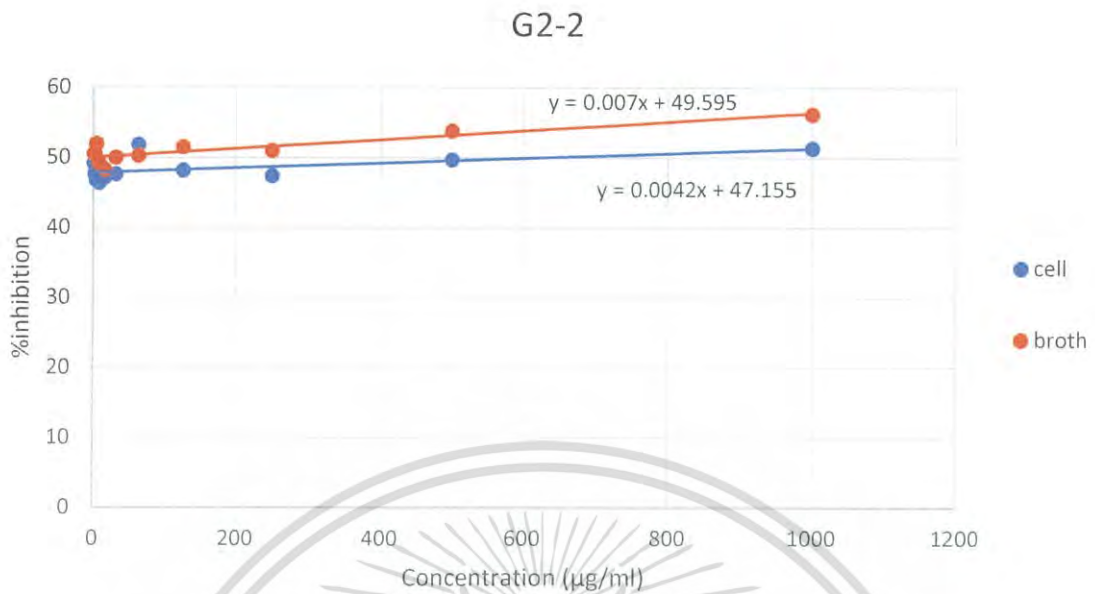
ตาราง 4.11 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส G2-2

ไอโซเลต	ความเข้มข้นของสารสกัด (ug/ml)	%inhibition		
		cell	broth	BHT
G2-2	0.97	49.1602	50.4845	56.1366
	1.9531	47.6098	50.4522	57.7010
	3.9062	46.7054	51.9380	61.6627
	7.8125	46.3501	49.1602	68.3468
	15.625	47.1576	48.2881	72.7758
	31.25	47.5775	50.0000	84.2953
	62.5	51.8088	50.2584	91.2233
	125	48.1589	51.5181	95.3272
	250	47.3837	50.969	96.6884
	500	49.6770	53.7791	96.4040
	1000	51.3243	56.1693	95.9570



รูปที่ 4.25 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อไอโซเลต G2-2 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อไอโซเลต G2-2 และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

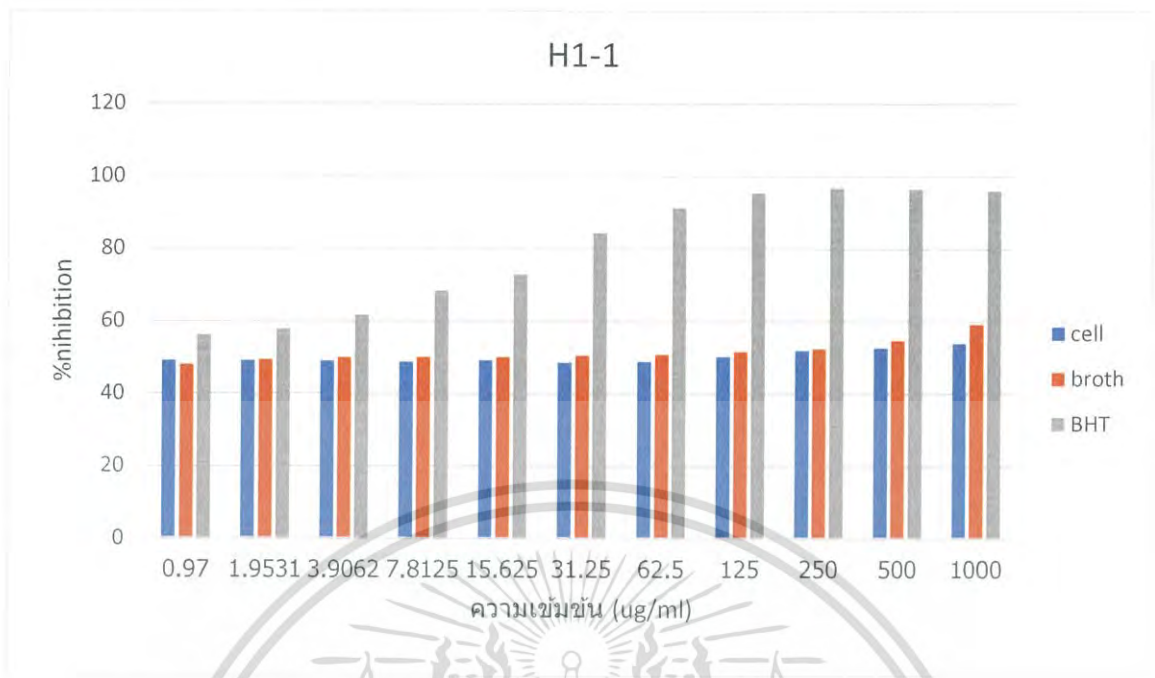


รูปที่ 4.26 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อไอโซเลต G2-2 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อไอโซเลต G2-2

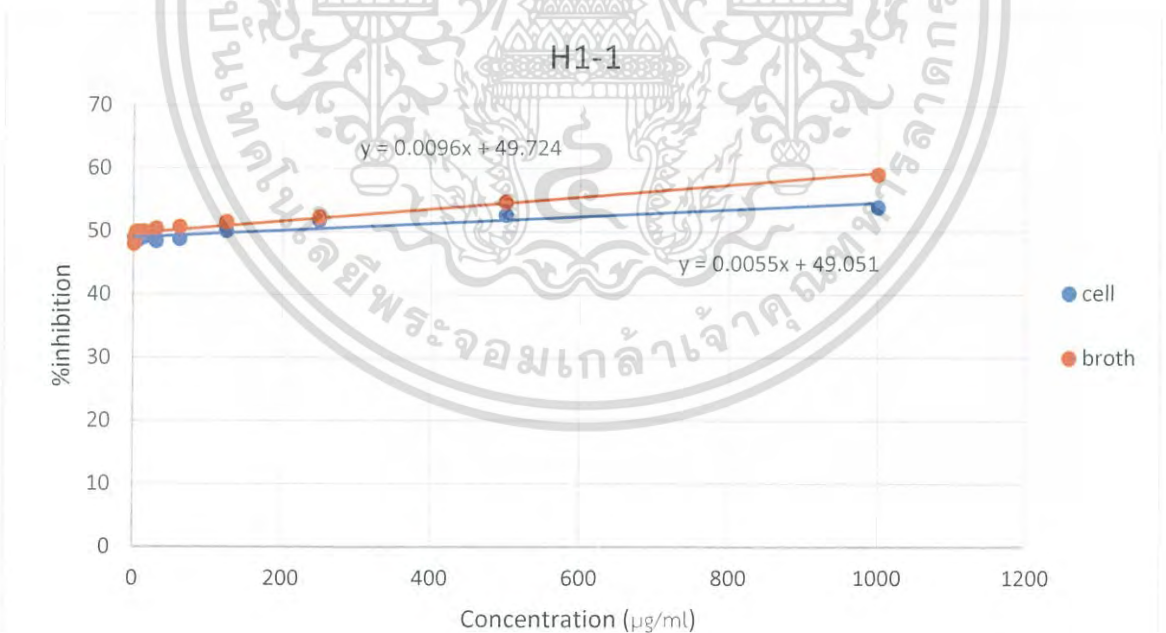
ตาราง 4.12 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส H1-1

ไอโซเลต	ความเข้มข้นของสารสกัด (ug/ml)	%inhibition		
		cell	broth	BHT
H1-1	0.97	49.0659	48.0334	56.1366
	1.9531	49.0659	49.3281	57.7010
	3.9062	48.9676	49.9181	61.6627
	7.8125	48.7381	50.0000	68.3468
	15.625	49.1642	50.0492	72.7758
	31.25	48.4595	50.4916	84.2953
	62.5	48.8201	50.7375	91.2233
	125	50.0819	51.5241	95.3272
	250	51.7863	52.3435	96.6884
	500	52.6057	54.7034	96.4040
1000	53.8840	59.1282	95.9570	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.27 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต H1-1 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต H1-1 และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ

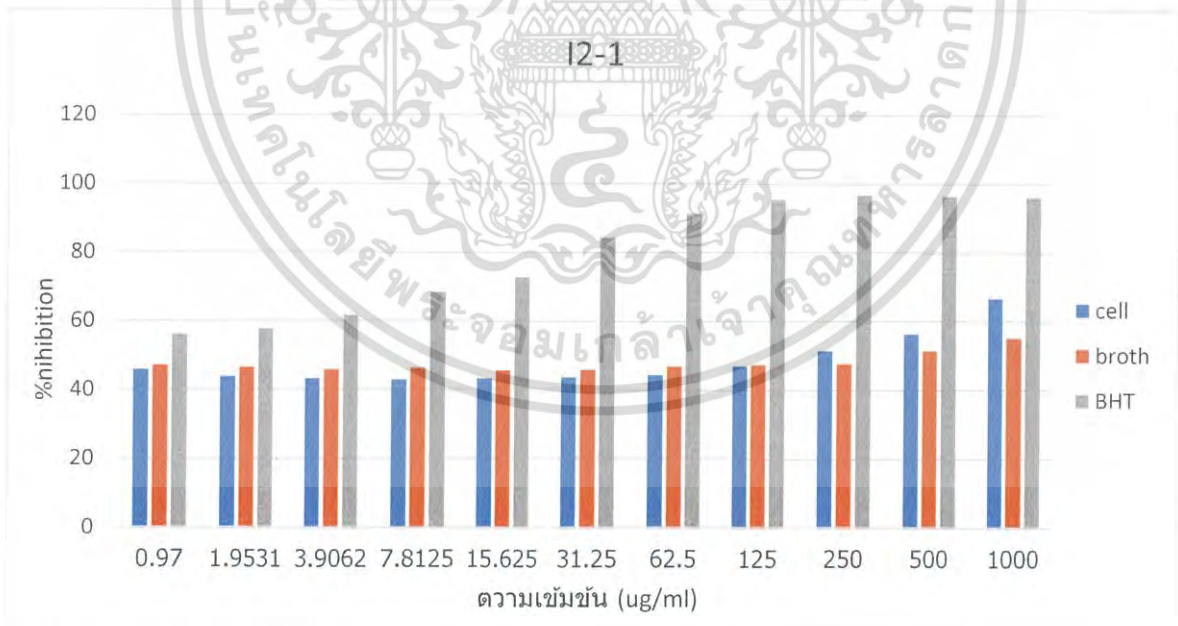


รูปที่ 4.28 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต H1-1 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต H1-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

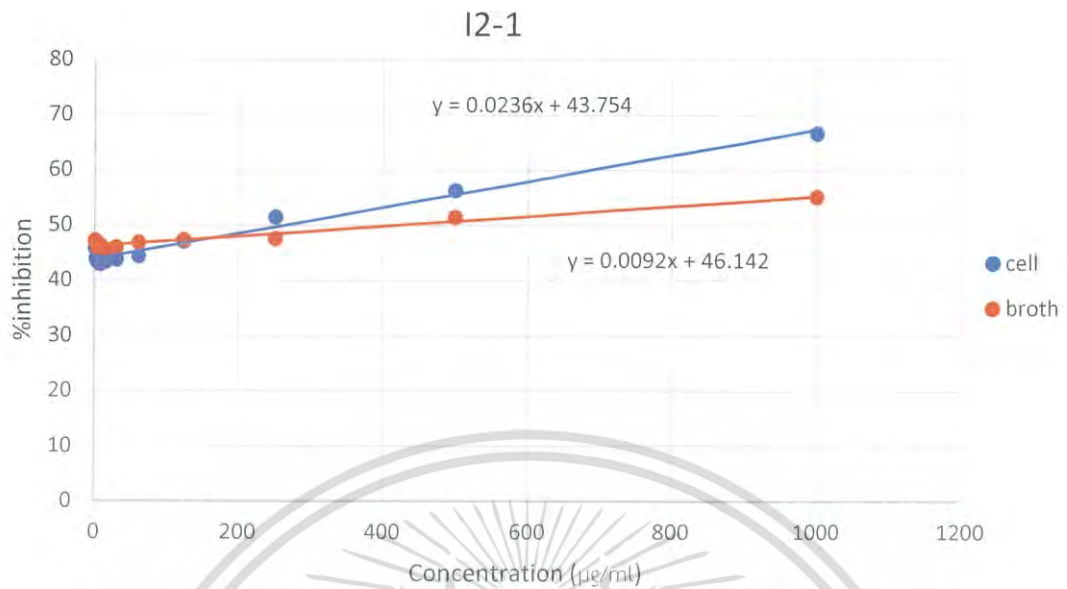
ตาราง 4.13 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส I2-1

ไอโซเลต	ความเข้มข้นของสารสกัด (ug/ml)	%inhibition		
		cell	broth	BHT
I2-1	0.97	45.8082	47.1771	56.1366
	1.9531	43.9042	46.5949	57.7010
	3.9062	43.3063	45.9026	61.6627
	7.8125	42.8814	46.4061	68.3468
	15.625	43.3063	45.6351	72.7758
	31.25	43.6839	45.9026	84.2953
	62.5	44.2976	46.8152	91.2233
	125	46.9411	47.2715	95.3272
	250	51.4728	47.5548	96.6884
	500	56.2878	51.4256	96.4040
	1000	66.6572	55.1863	95.9570



รูปที่ 4.29 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อไอโซเลต I2-1 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อไอโซเลต I2-1 และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

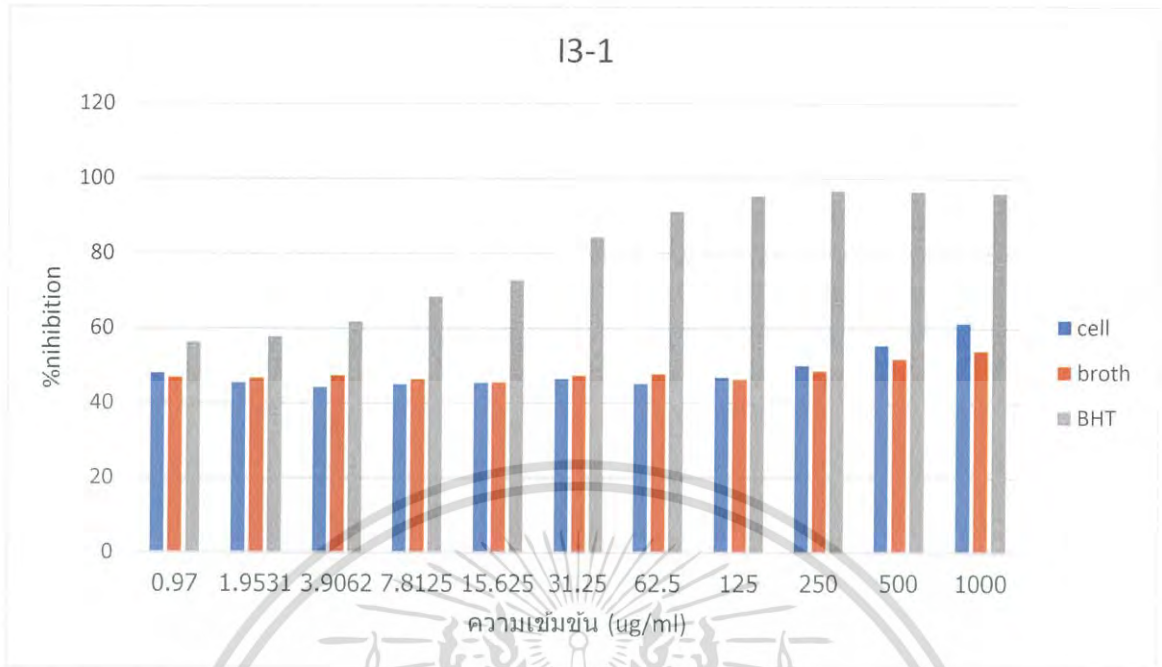


รูปที่ 4.30 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อไอโซเลต I2-1 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อไอโซเลต I2-1

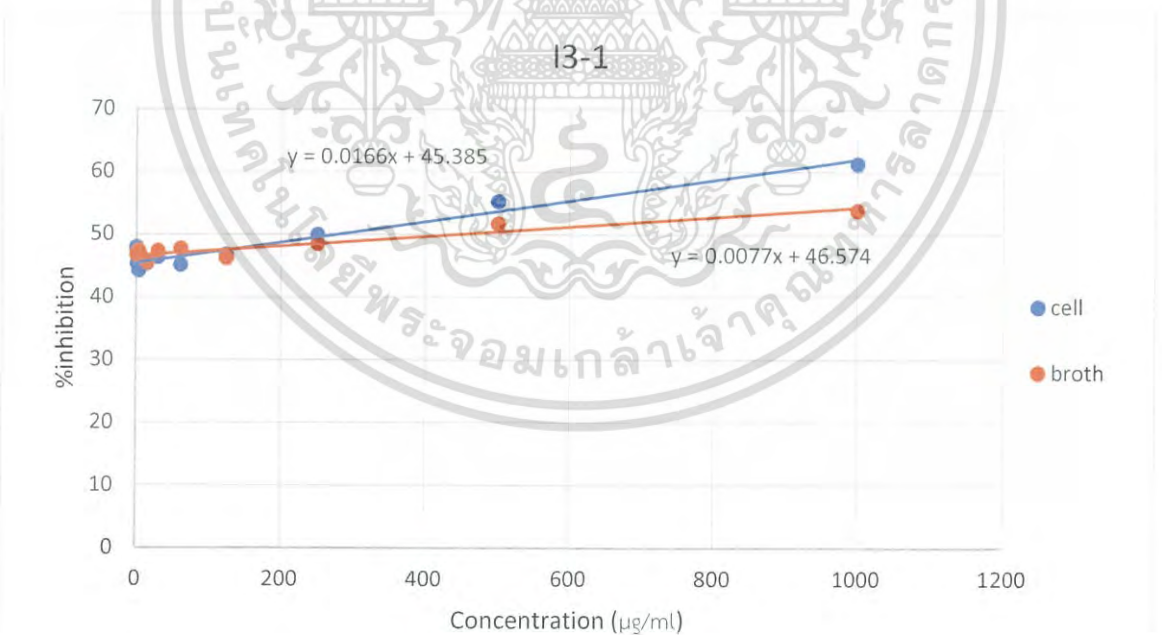
ตาราง 4.14 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส I3-1

ไอโซเลต	ความเข้มข้นของสารสกัด (ug/ml)	%inhibition		
		cell	broth	BHT
I3-1	0.97	47.8955	46.7667	56.1366
	1.9531	45.3475	46.6538	57.7010
	3.9062	44.1703	47.3311	61.6627
	7.8125	44.9444	46.2829	68.3468
	15.625	45.3475	45.4927	72.7758
	31.25	46.3635	47.3149	84.2953
	62.5	45.1056	47.7020	91.2233
	125	46.7828	46.2506	95.3272
	250	49.9436	48.4922	96.6884
	500	55.2653	51.6691	96.4040
	1000	61.2643	53.8300	95.9570

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ตามการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.31 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อไอโซเลต I3-1 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อไอโซเลต I3-1 และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ

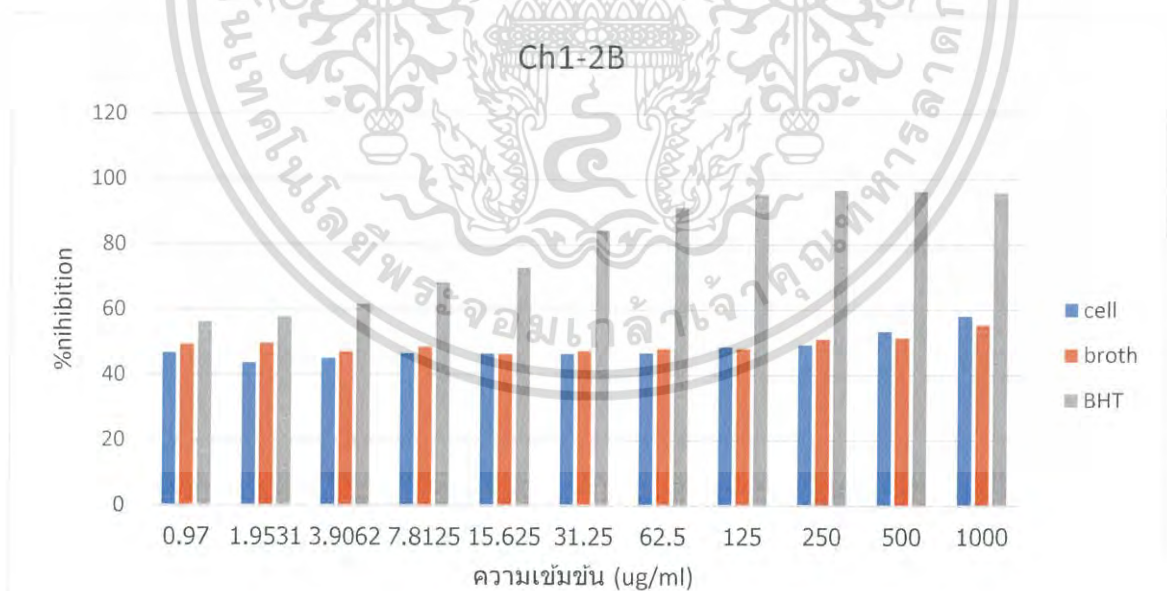


รูปที่ 4.32 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อไอโซเลต I3-1 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อไอโซเลต I3-1

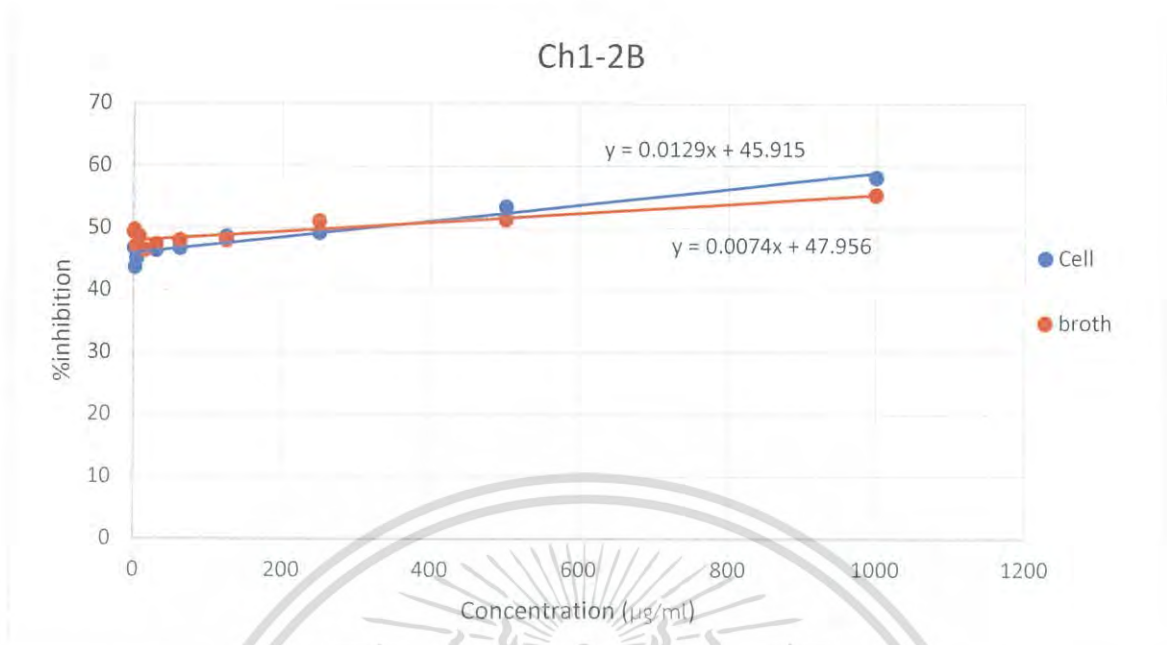
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 4.15 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส Ch1-2B

ไอโซเลต	ความเข้มข้นของสารสกัด (ug/ml)	%inhibition		
		cell	broth	BHT
Ch1-2B	0.97	46.7097	49.3335	56.1366
	1.9531	43.6459	49.6757	57.7010
	3.9062	44.9985	47.1334	61.6627
	7.8125	46.6119	48.6001	68.3468
	15.625	46.4652	46.4163	72.7758
	31.25	46.4001	47.3290	84.2953
	62.5	46.7097	47.9808	91.2233
	125	48.5675	48.0134	95.3272
	250	49.1868	51.0772	96.6884
	500	53.4239	51.4031	96.4040
	1000	58.1500	55.3470	95.9570



รูปที่ 4.33 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาดจากเซลล์เชื้อไอโซเลต Ch1-2B สารสกัดหยาดจากน้ำหมักเชื้อไอโซเลต Ch1-2B และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

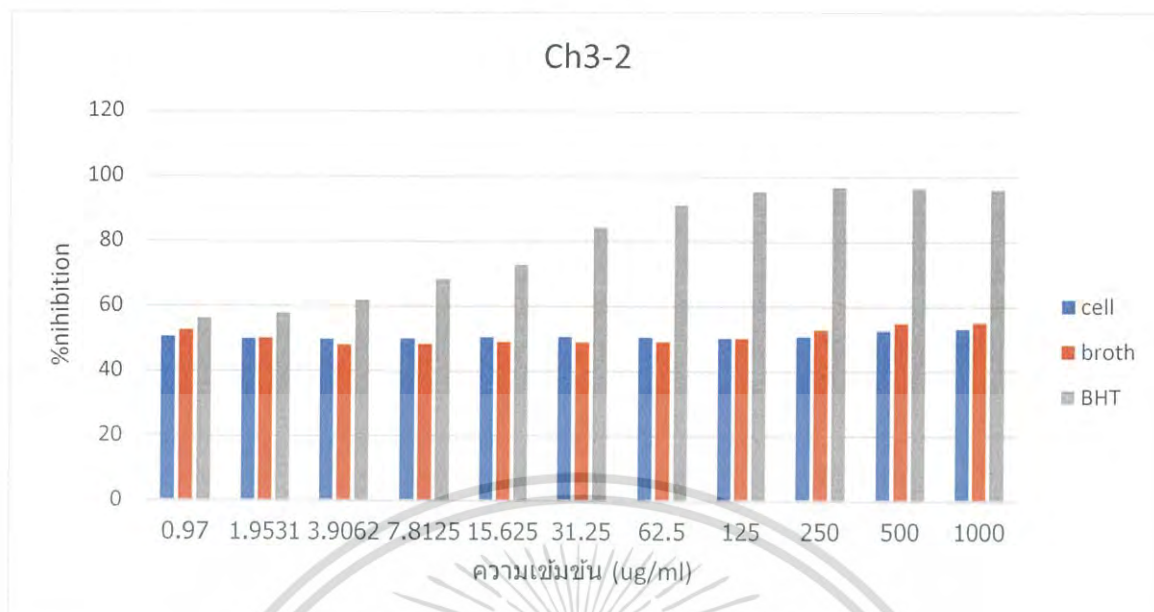


รูปที่ 4.34 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อไอโซเลต Ch1-2B และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อไอโซเลต Ch1-2B

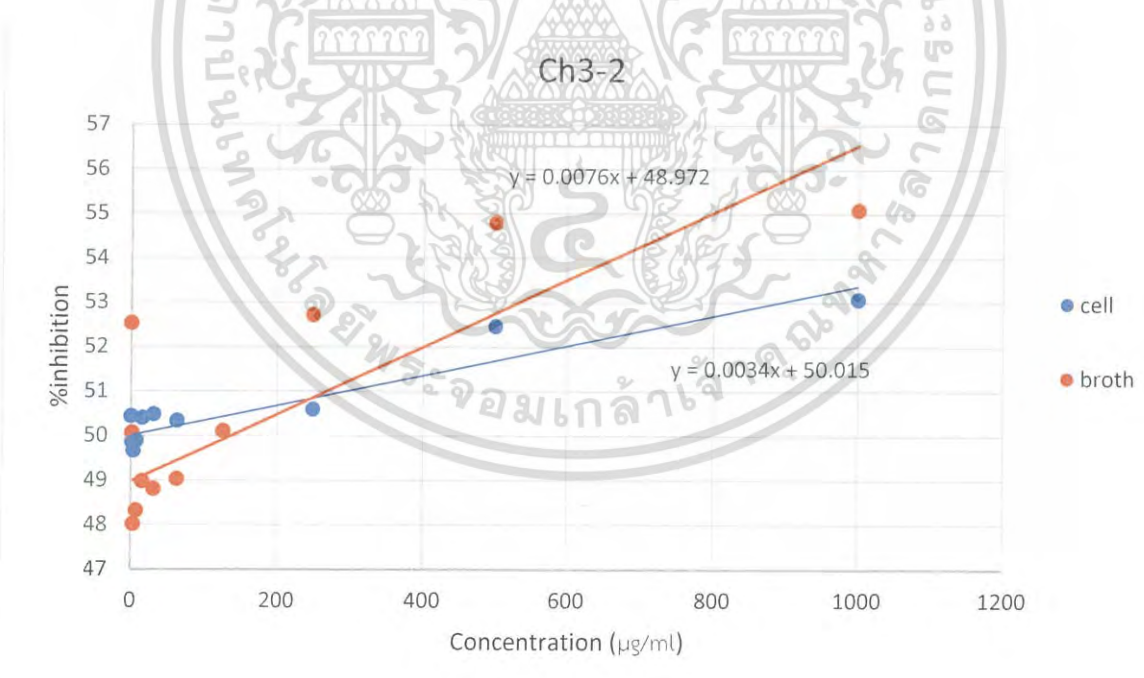
ตาราง 4.16 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส Ch3-2

ไอโซเลต	ความเข้มข้นของสารสกัด (ug/ml)	%inhibition		
		cell	broth	BHT
Ch3-2	0.97	50.4339	52.5301	56.1366
	1.9531	49.8554	50.0723	57.7010
	3.9062	49.6625	48.0161	61.6627
	7.8125	49.8875	48.3213	68.3468
	15.625	50.4018	48.9799	72.7758
	31.25	50.4822	48.8032	84.2953
	62.5	50.3375	49.0281	91.2233
	125	50.0964	50.1044	95.3272
	250	50.5947	52.7229	96.6884
	500	52.4590	54.7952	96.4040
	1000	53.0698	55.0843	95.9570

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ตามการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.35 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต Ch3-2 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต Ch3-2 และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ

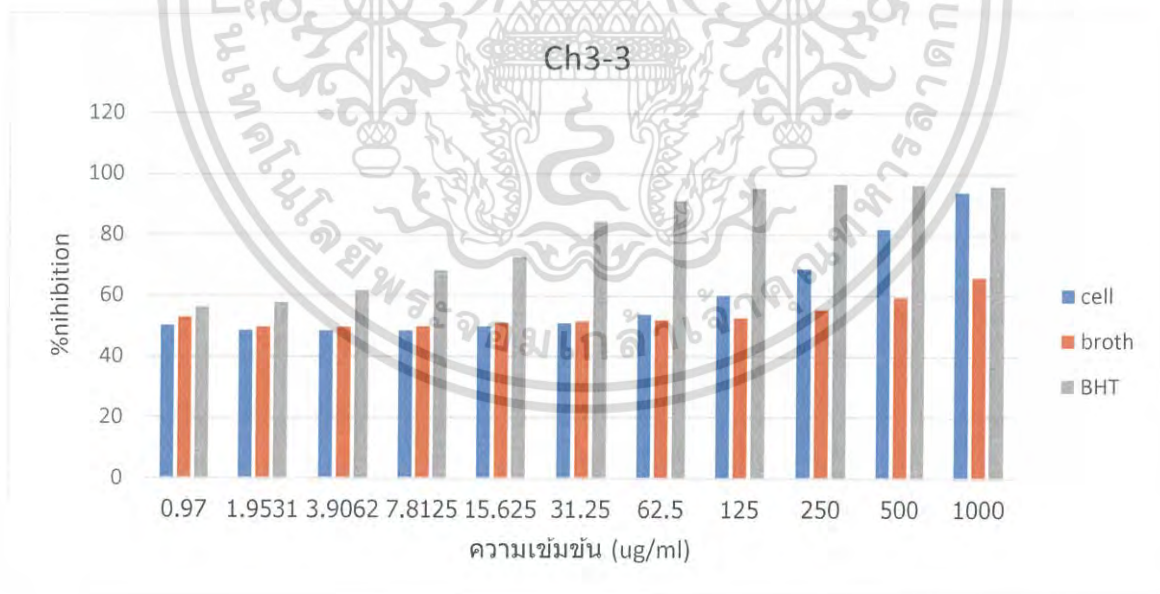


รูปที่ 4.36 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต Ch3-2 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต Ch3-2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

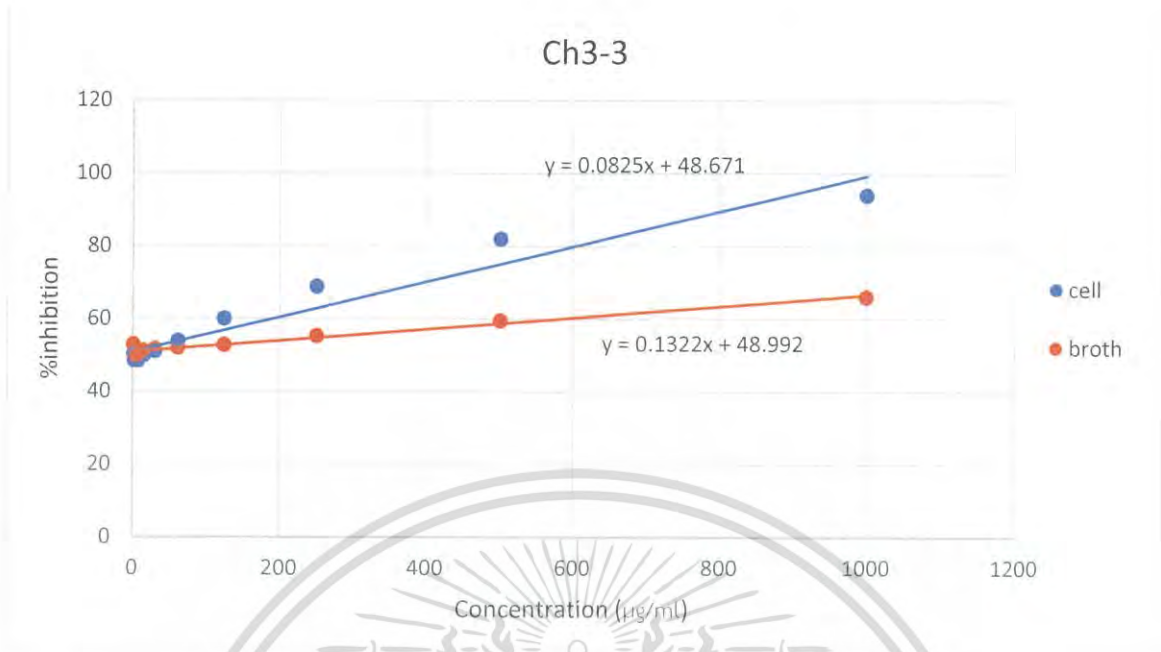
ตาราง 4.17 ผลการต้านอนุมูลอิสระของตัวเซลล์และน้ำหมักของเชื้อรหัส Ch3-3

ไอโซเลต	ความเข้มข้นของสารสกัด (ug/ml)	%inhibition		
		cell	broth	BHT
Ch3-3	0.97	50.1818	52.8788	56.1366
	1.9531	48.5152	49.6818	57.7010
	3.9062	48.4848	49.6061	61.6627
	7.8125	48.4394	49.8788	68.3468
	15.625	49.8485	51.1061	72.7758
	31.25	51.0303	51.6364	84.2953
	62.5	53.8485	52.0455	91.2233
	125	60.0303	52.7879	95.3272
	250	68.8485	55.3636	96.6884
	500	81.9091	59.5152	96.4040
	1000	93.9091	66.0000	95.9570



รูปที่ 4.37 กราฟแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อไอโซเลต Ch3-3 สารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อไอโซเลต Ch3-3 และ BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.38 กราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเซลล์เชื้อโอโซเลต Ch3-3 และสารสกัดหยาบจากน้ำหมักเชื้อโอโซเลต Ch3-3

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบในส่วนของน้ำหมักและตัวเซลล์ พิจารณาค่าในรูปแบบความเข้มข้นของสารละลายผลิตภัณฑ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ หรือ ค่า IC_{50} ที่สามารถคำนวณได้จากสมการเส้นตรง พบว่าในสารสกัดหยาบทั้งในส่วนของน้ำหมักและตัวเซลล์มีค่า IC_{50} ที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.18

ตารางที่ 4.18 การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบในส่วนของน้ำหมักและตัวเซลล์ด้วยวิธี DPPH

โอโซเลต	ค่า IC_{50} (mg/ml)	
	สารสกัดหยาบจากเซลล์	สารสกัดหยาบจากน้ำหมัก
C1-2	-	0.0787
G1-2	-	-
G1-9	-	-
G1-10	-	0.1082
G1-11	-	0.0695

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.18 (ต่อ) การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบในส่วนของน้ำหมักและตัวเซลล์ด้วยวิธี DPPH

ไอโซเลต	ค่า IC ₅₀ (mg/ml)	
	สารสกัดหยาบจากเซลล์	สารสกัดหยาบจากน้ำหมัก
G2-2	0.0473	0.0579
H1-1	0.1725	0.0287
I2-1	0.2122	0.3992
I3-1	0.2655	0.3759
Ch1-2B	0.2717	0.1998
Ch3-2	0.0694	0.0280
Ch3-3	0.0161	0.0076

ผลจากตารางที่ 4.18 ได้ค่า IC₅₀ ดังนี้ ไอโซเลต C1-2 สารสกัดหยาบจากเซลล์ ไม่สามารถหาค่า IC₅₀ ได้ สารสกัดหยาบจากน้ำหมักมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.0787 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไอโซเลต G1-2 ทั้งสารสกัดหยาบจากเซลล์และสารสกัดหยาบจากน้ำหมัก ไม่สามารถหาค่า IC₅₀ ได้ ไอโซเลต G1-9 ทั้งสารสกัดหยาบจากเซลล์และสารสกัดหยาบจากน้ำหมัก ไม่สามารถหาค่า IC₅₀ ได้ ไอโซเลต G1-10 สารสกัดหยาบจากเซลล์ ไม่สามารถหาค่า IC₅₀ ได้ สารสกัดหยาบจากน้ำหมักมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.1082 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไอโซเลต G1-11 สารสกัดหยาบจากเซลล์ ไม่สามารถหาค่า IC₅₀ ได้ สารสกัดหยาบจากน้ำหมักมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.0695 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไอโซเลต G2-2 สารสกัดหยาบจากเซลล์ มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.0473 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากน้ำหมักมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.0579 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไอโซเลต H1-1 สารสกัดหยาบจากเซลล์ มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.1308 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากน้ำหมักมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.0076 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไอโซเลต I2-1 สารสกัดหยาบจากเซลล์ มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.2122 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากน้ำหมักมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.3992 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไอโซเลต I3-1 สารสกัดหยาบจากเซลล์ มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.2655 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากน้ำหมักมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.3759 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไอโซเลต Ch1-2B สารสกัดหยาบจากเซลล์ มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.2717 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากน้ำหมักมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.1998 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไอโซเลต Ch3-2 สารสกัดหยาบจากเซลล์ มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.0694 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากน้ำหมักมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.0280 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไอโซเลต Ch3-3 สารสกัดหยาบจากเซลล์ มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.0161 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากน้ำหมักมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.0076 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ch3-3 สารสกัดหยาบจากเซลล์ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0161 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากน้ำหมักมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0076 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เนื่องจากมีข้อมูลบางข้อมูลที่ไม่สามารถทำการคำนวณค่า IC_{50} ได้ จึงทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดหยาบกับสาร BHT ที่ %inhibition สูงสุดของสารสกัดหยาบ โดยใช้สมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน BHT ($Y = 1.0649x + 57.322$) ได้ผลเป็นดังตารางที่ 4.19

ตารางที่ 4.19 ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบกับความเข้มข้นของสาร BHT ที่ให้การต้านอนุมูลอิสระเท่ากัน

ชื่อรหัส	ส่วนของสารสกัดหยาบ	%inhibition	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (ug/ml)	ความเข้มข้นของสาร BHT (ug/ml)
C1-2	เซลล์	64.1598	1000	6.4210
	น้ำหมัก	68.2369	1000	10.2497
G1-2	เซลล์	77.5622	1000	19.0067
	น้ำหมัก	59.3983	1000	1.9497
G1-9	เซลล์	65.9253	1000	8.0790
	น้ำหมัก	62.5036	1000	4.8658
G1-10	เซลล์	87.1658	1000	28.0250
G1-11	เซลล์	62.2723	1000	4.6486
	น้ำหมัก	74.8482	1000	16.4580
I2-1	เซลล์	66.6572	1000	8.7663
I3-1	เซลล์	61.2643	1000	3.7020
CH1-2B	เซลล์	58.1500	1000	0.7775
Ch3-3	เซลล์	93.9091	1000	34.3573
	น้ำหมัก	66	1000	8.1491

ผลจากตาราง 4.19 ทำการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดหยาบกับสาร BHT ที่ %inhibition สูงสุดของสารสกัดหยาบ ได้ผลดังนี้ สารสกัดหยาบจากเซลล์ C1-2 ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับความเข้มข้นของสาร BHT ที่ 6.4210 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากน้ำหมัก C1-2 ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการต้านอนุมูลอิสระนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิสระเท่ากับความเข้มข้นของสาร BHT ที่ 10.2497 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากเซลล์ G1-2 ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับความเข้มข้นของสาร BHT ที่ 19.0067 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากน้ำหมัก G1-2 ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับความเข้มข้นของสาร BHT ที่ 1.9497 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากเซลล์ G1-9 ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับความเข้มข้นของสาร BHT ที่ 8.0790 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากน้ำหมัก G1-9 ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับความเข้มข้นของสาร BHT ที่ 4.8658 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากเซลล์ G1-10 ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับความเข้มข้นของสาร BHT ที่ 28.0250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากเซลล์ G1-11 ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับความเข้มข้นของสาร BHT ที่ 4.6486 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากน้ำหมัก G1-11 ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับความเข้มข้นของสาร BHT ที่ 16.4580 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากเซลล์ I2-1 ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับความเข้มข้นของสาร BHT ที่ 8.7663 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากเซลล์ I3-1 ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับความเข้มข้นของสาร BHT ที่ 3.7020 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากเซลล์ Ch1-2B ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับความเข้มข้นของสาร BHT ที่ 0.7775 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากเซลล์ Ch3-3 ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับความเข้มข้นของสาร BHT ที่ 34.3573 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากน้ำหมัก Ch3-3 ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับความเข้มข้นของสาร BHT ที่ 8.1491 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4.4.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยวิธีเอกาติสก์ดิฟฟิวชัน (agar disc diffusion)

ในจำนวนเชื้อแอคติโนมัยซีทและแบคทีเรียทั้ง 12 ไอโซเลต มาทดสอบกับเชื้อก่อโรค 7 เชื้อ ได้แก่ *Bacillus subtilis*, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST 2065, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียปรากฏว่าเชื้อทั้ง 12 ไอโซเลต ไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อก่อโรค จากตารางที่ 4.20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 4.20 ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบโดยวิธี Agar disc diffusion

รหัสเชื้อ		บริเวณการยับยั้ง (มิลลิเมตร)						
		<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>M.luteus</i>	<i>B.subtilis</i>	MRSA	<i>S.aureus</i>	<i>C.albicans</i>
C1-2	500 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
	1000 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
G1-2	500 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
	1000 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
G1-9	500 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
	1000 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
G1-10	500 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
	1000 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
G1-11	500 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
	1000 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
G2-2	500 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
	1000 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
H1-1	500 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
	1000 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
I2-1	500 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
	1000 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-

ตาราง 4.20 (ต่อ) ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบโดยวิธี Agar disc diffusion

รหัสเชื้อ		บริเวณการยับยั้ง (มิลลิเมตร)						
		<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>M.luteus</i>	<i>B.subtilis</i>	MRSA	<i>S.aureus</i>	<i>C.albicans</i>
I3-1	500 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
	1000 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
Ch1-2B	500 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
	1000 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
Ch3-2	500 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
	1000 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
Ch3-3	500 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-
	1000 µg/ml	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ

E.coli = *Escherichia coli* ATCC 25922

P.aeruginosa = *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2785

M.luteus = *Micrococcus luteus* ATCC 9341

B.subtilis = *Bacillus subtilis* ATCC 6633

S.aureus = *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

C.albicans = *Candida albicans* ATCC 1023

MRSA = Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST 2065

บทที่ 5

สรุปวิจัยและข้อเสนอแนะ

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตสารสีจากตัวอย่างดินป่าชายเลนบริเวณบ้านโตนดน้อย ตำบลหนองขนาน อำเภอเมืองเพชรบุรี จากหาดเจ้าสำราญ ตำบลหาดเจ้าสำราญ อำเภอเมืองเพชรบุรี และดินป่าชายเลนจากตำบลพุมเรียง อำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีสีโดดเด่นทั้งหมด 12 ไอโซเลต และทำการศึกษาอนุกรมวิธานเบื้องต้น โดยจะแยกเชื้อที่เป็นแอกติโนมัยสีทและแบคทีเรียออกจากกัน

เชื้อแอกติโนมัยสีทที่พบมี 8 ไอโซเลต ดังนี้ C1-2 เจริญได้น้อยในอาหาร ISP2 ไม่มีการสร้างเส้นใยอากาศ สร้างเส้นใยอาหารสีแดงเข้มอมส้ม (Deep Reddish Orange) และไม่มีการสร้างรงควัตถุ สร้างสปอร์มีลักษณะเป็นสายบิดเป็นเกลียวอยู่บนเส้นใยอาหาร มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อ แอกติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* G1-2 เจริญได้ดีมากในอาหาร ISP2 สร้างเส้นใยอากาศสีเทาอมชมพู (Pinkish Gray) เส้นใยอาหารมีสีแดงสว่าง (Vivid Red) และไม่มีการสร้างรงควัตถุ สร้างสปอร์มีลักษณะเป็นสายยาวแตกแขนงเป็นข้อ ปลายโค้งงออยู่บนเส้นใยอาหาร มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อแอกติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* G1-9 เจริญได้ดีมากในอาหาร ISP2 สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมเหลือง (Yellowish White) เส้นใยอาหารสีส้มเข้มอมเหลือง (Deep Orange Yellow) และไม่มีการสร้างรงควัตถุ สร้างสปอร์มีลักษณะเป็นสายตรงสั้นอยู่บนเส้นใยอาหาร มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อแอกติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* G1-11 เจริญได้น้อยในอาหาร ISP2 สร้างเส้นใยอากาศสีขาวอมชมพู (Pinkish White) เส้นใยอาหารสีแดงเข้มมาก (Very Deep Red) และไม่มีการสร้างรงควัตถุ สร้างสปอร์มีลักษณะเป็นสายตรงสั้นปลายโค้งงออยู่บนเส้นใยอาหาร มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อแอกติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* H1-1 เจริญได้ปานกลางในอาหาร ISP2 สร้างเส้นใยอากาศสีเขียวอมเหลืองเข้ม (Dark Yellowish Green) เส้นใยอาหารสีน้ำตาลอมเหลืองเข้ม (Strong Yellowish Brown) มีการสร้างรงควัตถุสีเหลืองอมส้มเข้ม (Dark Orange Yellow) สร้างสปอร์มีลักษณะเป็นสายตรงยาว ปลายโค้งงออยู่บนเส้นใยอาหาร มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อแอกติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* I2-1 เจริญได้ดีมากในอาหาร ISP2 สร้างเส้นใยอากาศสีเขียวสว่าง (Light Green) เส้นใยอาหารสีเขียวเหลืองสว่าง (Light Yellow Green) และไม่มีการสร้างรงควัตถุ สร้างสปอร์มีลักษณะเป็นสายตรงยาวอยู่บนเส้นใยอาหาร มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อแอกติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* I3-1 เจริญได้ดีมากในอาหาร ISP2 สร้างเส้นใยอากาศสีเทาหม่นกอกสว่าง (Light Grayish Olive) เส้นใยอาหารสีน้ำตาลอมเหลืองเข้ม (Strong Yellowish Brown) และไม่มีการสร้างรงควัตถุ สร้างสปอร์มีลักษณะเป็นสายตรงยาวอยู่บนเส้นใยอาหาร มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อแอกติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแบคทีเรียที่พบมี 4 ไอโซเลต คือ เชื้อ G1-10 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีเป็นสีส้มเข้ม (Strong Orange) เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างรูปร่างค่อนข้างกลม จะพบการเรียงตัวเป็นกลุ่ม เป็นคู่ หรือจับกันเป็นสายโซ่ ไม่มีการสร้างสปอร์ G2-2 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีเป็นสีเหลืองอมเขียว (Vivid Greenish Yellow) เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างกลม ไม่มีการสร้างสปอร์ เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต Ch1-2B เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีเป็นสีส้มอมแดงสว่าง (Vivid Reddish Orange) เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างท่อน ไม่มีการสร้างสปอร์ เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต Ch3-2 เจริญได้ดีปานกลางในอาหาร ISP2 ไม่มีการสร้างเส้นใยอากาศ สร้างเส้นใยอาหารสีเหลืองสว่าง (Vivid Yellow) และไม่มีการสร้างรงควัตถุ สร้างสปอร์มีลักษณะเดี่ยวรูปร่างกลมบนสายเส้นใยอาหารโดยตรง มีลักษณะคล้ายคลึงกับเชื้อแอคติโนมัยสีทสกุล *Jishengella* Ch3-3 เจริญได้ดีในอาหาร ISP2 โคโลนีเป็นสีส้มเข้ม (Strong Orange) เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างท่อนสั้นๆ ไม่มีการสร้างสปอร์

จากการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดหยาบจากเซลล์และน้ำหมักของเชื้อ Ch3-3 มีค่า IC₅₀ ดีที่สุดซึ่งมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.0161 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.0076 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อคิดเทียบกับสารมาตรฐาน BHT พบว่าสารสกัดหยาบจากเซลล์ของเชื้อ Ch3-3 ที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเท่ากับสารมาตรฐาน BHT ที่ความเข้มข้น 34.3573 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่ามากที่สุด แต่สารสกัดหยาบจากน้ำหมักของเชื้อ G1-11 ที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเท่ากับสารมาตรฐาน BHT ที่ความเข้มข้น 16.458 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดหยาบจากน้ำหมักของเชื้อ Ch3-3

การทดสอบกิจกรรมการต้านเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ 7 ชนิดได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 *Escherichia coli* ATCC 25922 *Micrococcus luteus* ATCC 9341 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Candida albicans* ATCC 10231 และ Methicillin resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) DMST 20654 โดยใช้วิธี agar disc diffusion พบว่าเชื้อทั้ง 12 ไอโซเลตไม่มีฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

ในการวิจัยครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า ดินป่าชายเลนที่นำมาศึกษาสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตสารสีได้ดีและสารสกัดหยาบที่สกัดได้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี ถือเป็นแหล่งที่เหมาะสมในการแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารสีและสารต้านอนุมูลอิสระได้ ซึ่งผลการวิจัยนี้ทำให้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในงานวิจัยด้านอื่นๆต่อไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

การวัดสี[Online], เข้าถึงได้จาก :

<https://www.pballtechno.com/article/18/%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%A7%E0%B8%B1%E0%B8%94%E0%B8%AA%E0%B8%B5-color-measuring> [1 พฤษภาคม 2560]

จารุวรรณ ฉัตรทอง. 2554. การสกัดสีจาก *Neurospora* sp. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

จิราพร ใจตรง และคณะ. 2554. การคัดกรองและการศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สร้างสารปฏิชีวนะที่แยกจากดินในประเทศไทย. วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ดวงกมล เรืองงาม. 2557. การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง ปี ที่ 23 ; ฉบับที่ 2 : 123-124

นันทวัน เนียมหอม. 2555. “ฤทธิ์ทางชีวภาพและอนุกรมวิธานของเชื้อแอคติโนมัยสีทหายากจากป่าพรุเขตบ่อนในประเทศไทย”. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีปีที่ 21 ; ฉบับที่ 3 ; 277-284

ป่าชายเลนในประเทศไทย[Online], เข้าถึงได้จาก : <http://www.mkh.in.th/index.php/2010-03-22-18-04-43/2010-03-25-13-46-26> [1 พฤษภาคม 2560]

วีระศักดิ์ คงพันธ์ตระกูล. 2556. การผลิตและคุณลักษณะของสารไวโอลาซีนจากแบคทีเรีย *Chromobacterium violaceum* VB.1. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ศศิภา เต็กอวยพร. 2554. การพัฒนาระบบการวิเคราะห์เชิงภาพถ่ายเพื่อตรวจติดตามคุณภาพของผลิตภัณฑ์ขนมปังกรอบ. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยศิลปากร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A Asnani^{1*}, D Ryandini², Suwandri¹ (2016) "Screening of Marine Actinomycetes from Segara Anakan for Natural Pigment and Hydrolytic Activities." **Materials Science and Engineering** 107: 1-3

Gargi Goswami, Surabhi Chaudhuri and Debjani Dutta (2010) "Effect of pH and temperature on pigment product from an isolated bacterium." **Chemical Engineering Transactions** Volume 20

Ishita Chakraborty, Priyanka Redkar, Minki Munjal, S. R. Sathish Kumar and K. V. Bhaskara Rao (2015) "Isolation and characterization of pigment producing marine actinobacteria from mangrove soil and applications of bio-pigments." **Scholars Research Library** 7 (4):93-100

Mohanasrinivasan V., SriramKalyan P., Ipsita Nandi, Subathradevi C., Selvarajan E., Suganthi V. and Jemimah Naine S (2013) "Fermentative production of extracellular pigment from *Streptomyces coelicolor* MSIS1." **Research Journal of Biotechnology** Vol. 8 (4):31-32

Molka Abbes^{1,4,5}, Houda Baati¹, Sonda Guermazi², Concetta Messina³, Andrea Santulli⁴, Neji Gharsallah⁵ and Emna Ammar^{1*} (2013) "Biological properties of carotenoids extracted from *Halobacterium halobium* isolated from a Tunisian solar saltern." Abbes et al. **BMC Complementary and Alternative Medicine** ,13:255

Patcharee Thawornwiriyanun Somboon Tanasupawat Chutiwan Dechsakulwatana Somkiet Techkarnjanaruk Worapot Suntornsuk (2012) "Identification of Newly Zeaxanthin-Producing Bacteria Isolated from Sponges in the Gulf of Thailand and their Zeaxanthin Production." **Applied Biochem Biotechnol**, 167:2357–2368

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

S. Samyuktha and Sayali Naphade Mahajan (2016) "Isolation and identification of pigment producing bacteria and characterization of extracted pigments." *International Journal of Applied Research* ; 2(7): 657-664

Sudharshan Prabhu Rekha PD Chiu-Chung Young Asif Hameed Shih-Yao Lin Arun AB (2013) "Zeaxanthin Production by Novel Marine Isolates from Coastal sand of India and its Antioxidant Properties." *Applied Biochem Biotechnol* , 171:817–831



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

Zhang's Starch Soil Extract (ZSSE) agar

Soluble Starch	5	กรัม
KNO ₃	1	กรัม
Soil extract solution	1	ลิตร
Agar	18	กรัม
pH 7.2		
นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที		
Vitamins mix	1	มิลลิลิตร
Nalixidic acid (ละลายใน 0.2 N NaOH)	25	มิลลิกรัม
Nystatin (223 ไมโครลิตรต่อ 100 มิลลิลิตร)	2.33	มิลลิลิตร
<u>Soil extract</u>		
Humic soil	1	กิโลกรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร
นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที		
กรองด้วยสำลี และทำให้ตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (นำส่วนใสไปใช้)		
นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที		

Yeast extract-Malt extract agar (ISP2)

Yeast extract	4	กรัม
Malt extract	10	กรัม
Glucose	4	กรัม
Agar	20	กรัม
น้ำทะเลเทียม	1	ลิตร
pH 7.3		

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tryptic Soy Agar

Casein peptone	17	กรัม
Soy peptone	3	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Dipotassium phosphate	2.5	กรัม
Dextrose	2.5	กรัม
Agar	20	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร
pH 7.0		

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

สารเคมี

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH

1. การเตรียมสารละลาย DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

1.1 เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.20 มิลลิโมลาร์ (มวลโมเลกุลของ DPPH เท่ากับ 394.32 กรัม) โดยชั่ง DPPH มา 0.0040 กรัม ละลายในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรจนได้ 50 มิลลิลิตร

1.2 ละลายด้วยเครื่องคลื่นเสียงความถี่สูง (sonicator) เป็นเวลา 15 นาที

1.3 กรองผ่านแผ่นกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร หรือใช้กระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 ซ้อนกัน 2 ชั้น

1.4 เก็บไว้ในตู้แช่เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจนกระทั่งนำไปทดสอบปฏิกิริยา

2. การเตรียมกราฟมาตรฐาน BHT

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน BHT ช่วงความเข้มข้น 1,000 - 0.97 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรโดยละลายในตัวทำละลายเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

2.2 นำสารละลายมาตรฐาน BHT ที่ความเข้มข้นต่างๆ ใส่ลงในเพลท (96-well plate) หลุมละ 100 ไมโครลิตร ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างแต่ละความเข้มข้น (Blank) ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (microplate reader)

2.3 จากนั้นเติมสารละลาย DPPH 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุมตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ ในอัตราส่วน 1:1 (v/v)

2.4 บ่มในที่มืดนาน 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์

2.5 นำข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition) คำนวณตั้งสมการ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน กับเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ หรือ รายงานผลเป็นค่าความเข้มข้นสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูล DPPH ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
กระดาศสีมาตรฐาน

กระดาศสีมาตรฐาน (the NBS/IBCC color system, Mundie 1995)

Centroid	Munsell	RGB	Swatch
Red, Pink			
1 Vivid Pink	1r 8.0 13.0	#FF7E93	
2 Strong Pink	1.2r 6.9 8.2	#FD7B7C	
3 Deep Pink	2.1r 6.0 11.1	#F3545E	
4 Light Pink	2.6r 8.5 4.0	#FFBCAD	
5 Moderate Pink	2.8r 7.2 5.3	#EE9086	
6 Dark Pink	2.7r 5.9 6.1	#C76864	
7 Pale Pink	2.0r 8.7 2.1	#FFCBBB	
8 Grayish Pink	2.6r 7.2 2.3	#CF9B8F	
9 Pinkish White	5.8r 9.0 0.8	#F9DBC8	
10 Pinkish Gray	9.8r 7.4 1.0	#C8A696	
11 Vivid Red	5.0r 3.9 15.4	#C10020	
12 Strong Red	4.0r 4.4 12.1	#BF2233	
13 Deep Red	5.1r 2.8 10.1	#7B001C	
14 Very Deep Red	6.5r 1.7 8.4	#4F0014	
15 Moderate Red	3.8r 4.4 9.1	#AB343A	
16 Dark Red	4.0r 2.8 6.8	#681C23	
17 Very Dark Red	2.0r 1.2 4.8	#320A18	
18 Light Grayish Red	5.3r 5.9 3.5	#B17267	
19 Grayish Red	4.0r 4.4 4.8	#8C4743	
20 Dark Grayish Red	2.9r 2.7 2.1	#482A2A	
21 Blackish Red	3.9r 0.8 1.7	#1F0E11	
22 Reddish Gray	7.0r 5.4 1.3	#8B6C62	
23 Dark Reddish Gray	6.0r 3.4 1.0	#523C36	
24 Reddish Black	2.0r 0.9 0.9	#1E1112	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25 Vivid Yellowish Pink	8.0r 8.0 13.0	#FF845C
26 Strong Yellowish Pink	8.4r 7.0 9.5	#FF7A5C
27 Deep Yellowish Pink	5.5r 5.8 12.1	#F64A46
28 Light Yellowish Pink	1.9yr 8.2 4.6	#FFB28B
29 Moderate Yellowish Pink	0.7yr 7.2 4.9	#EE9374
30 Dark Yellowish Pink	7.0r 6.0 6.1	#CC6C5C
31 Pale Yellowish Pink	4.2yr 8.6 2.2	#FFC8A8
32 Grayish Yellowish Pink	1.3yr 7.2 2.4	#D39B85



Reddish Orange, Reddish Brown

33 Brownish Pink	7.0yr 7.1 2.3	#CD9A7B
34 Vivid Reddish Orange	9.8r 5.4 14.5	#F13A13
35 Strong Reddish Orange	9.3r 5.4 12.2	#FFB961
36 Deep Reddish Orange	9.2r 3.9 12.1	#A91D11
37 Moderate Reddish Orange	9.3r 5.5 9.2	#D35339
38 Dark Reddish Orange	9.3r 4.0 9.1	#9B2F1F
39 Grayish Reddish Orange	0.4yr 5.4 6.2	#B85D43
40 Strong Reddish Brown	0.3yr 3.1 9.9	#7F180D
41 Deep Reddish Brown	1.6yr 1.5 8.3	#490005
42 Light Reddish Brown	0.5yr 5.5 4.1	#AA6651
43 Moderate Reddish Brown	9.0r 3.4 5.2	#712F26
44 Dark Reddish Brown	9.6r 1.3 3.6	#321011
45 Light Grayish Reddish Brown	2.9yr 5.4 2.3	#966A57
46 Grayish Reddish Brown	9.0r 3.4 2.4	#5E3830
47 Dark Grayish Reddish Brown	9.0r 2.0 2.0	#371F1C



Orange Brown

48 Vivid Orange	4.1yr 6.5 15.0	#FF6800
49 Brilliant Orange	4.0yr 9.0 12.0	#FFB841
50 Strong Orange	4.3yr 6.5 12.2	#FF6F1A
51 Deep Orange	4.1yr 5.1 11.3	#C34D0A
52 Light Orange	4.8yr 7.8 7.2	#FFA161
53 Moderate Orange	4.6yr 6.5 8.2	#E8793E
54 Brownish Orange	4.1yr 5.0 8.0	#B15124



55 Strong Brown	4.6yr 3.5 7.6	#753313
-----------------	---------------	---------

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางธุรกิจ
 ไม่วารณี่ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

56 Deep Brown	5.6yr 2.4 5.2	#4D220E
57 Light Brown	5.4yr 5.4 4.8	#A86540
58 Moderate Brown	5.6yr 3.5 3.9	#673923
59 Dark Brown	5.3yr 1.6 3.4	#35170C
60 Light Grayish Brown	6.4yr 5.4 2.2	#946B54
61 Grayish Brown	5.5yr 3.5 1.8	#5A3D30
62 Dark Grayish Brown	5.5yr 2.0 1.5	#32221A
63 Light Brownish Gray	7.0yr 5.4 1.2	#8B6D5C
64 Brownish Gray	5.65r 3.4 0.9	#503D33
65 Brownish Black	7.8yr 0.6 0.9	#140F0B



Orange Yellow, Yellowish Brown

66 Vivid Orange Yellow	8.6yr 7.3 15.2	#FF8E00
67 Brilliant Orange Yellow	0.1y 8.1 10.5	#FFB02E
68 Strong Orange Yellow	9.1yr 7.1 11.6	#FF8E0D
69 Deep Orange Yellow	8.6yr 6.0 12.1	#D76E00
70 Light Orange Yellow	9.4yr 8.3 6.8	#FFB961
71 Moderate Orange Yellow	8.7yr 7.2 8.3	#F7943C
72 Dark Orange Yellow	9.3yr 6.0 7.9	#C37629
73 Pale Orange Yellow	9.2yr 8.7 4.4	#FFCA86
74 Strong Yellowish Brown	8.8yr 4.6 8.5	#95500C
75 Deep Yellowish Brown	8.8yr 3.1 5.0	#593315
76 Light Yellowish Brown	8.7yr 6.5 5.0	#BB8B54
77 Moderate Yellowish Brown	9.5yr 4.4 3.9	#7D512D
78 Dark Yellowish Brown	9.4yr 2.3 3.3	#3F2512
79 Light Grayish Yellowish Brown	9.7yr 6.4 2.5	#B48764
80 Grayish Yellowish Brown	9.5yr 4.6 2.1	#785840
81 Dark Grayish Yellowish Brown	8.8yr 2.5 1.6	#3D2B1F



Yellow, Olive Brown

82 Vivid Yellow	3.3y 8.0 14.3	#FFB300
83 Brilliant Yellow	4.4y 8.7 8.9	#FFCF40
84 Strong Yellow	3.7y 7.2 9.3	#E59E1F
85 Deep Yellow	3.7y 5.9 9.1	#B57900



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 86 Light Yellow 4.3y 8.8 6.8 #FFD35F
 ไม่วากรณใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

87 Moderate Yellow	3.8y 7.1 6.5	#D79D41
88 Dark Yellow	3.9y 6.0 6.4	#B07D2B
89 Pale Yellow	4.7y 9.0 3.8	#FFDB8B
90 Grayish Yellow	4.4y 7.2 3.8	#CEA262
91 Dark Grayish Yellow	3.8y 5.9 4.0	#A47C45
92 Yellowish White	4.5y 9.2 1.2	#FFE2B7
93 Yellowish Gray	3.8y 7.4 1.4	#CAA885
94 Light Olive Brown	2.1y 4.9 7.9	#945D0B
95 Moderate Olive Brown	2.7y 3.6 5.5	#64400F
96 Dark Olive Brown	2.0y 1.9 2.2	#302112

Greenish Yellow, Olive

97 Vivid Greenish Yellow	9.1y 8.2 12.0	#F4C800
98 Brilliant Greenish Yellow	9.8y 8.8 9.5	#FFDC33
99 Strong Greenish Yellow	9.2y 7.2 9.2	#CCA817
100 Deep Greenish Yellow	9.2y 5.9 9.2	#9F8200
101 Light Greenish Yellow	9.8y 8.9 7.0	#FFDE5A
102 Moderate Greenish Yellow	9.5y 7.1 6.5	#C4A43D
103 Dark Greenish Yellow	9.4y 5.9 6.3	#9B8127
104 Pale Greenish Yellow	9.5y 9.0 4.2	#FFDF84
105 Grayish Greenish Yellow	9.0y 7.2 3.9	#C4A55F
106 Light Olive	8.2y 5.1 5.6	#846A20
107 Moderate Olive	7.6y 3.8 5.4	#5E490F
108 Dark Olive	8.9y 2.4 3.1	#362C12
109 Light Grayish Olive	7.85y 5.5 2.5	#8B734B
110 Grayish Olive	8.0y 3.6 2.0	#52442C
111 Dark Grayish Olive	9.7y 2.0 1.8	#2B2517
112 Light Olive Gray	6.9y 5.5 1.3	#887359
113 Olive Gray	8.1y 3.5 0.9	#4D4234
114 Olive Black	9.0y 1.1 0.9	#121910

Yellow Green, Olive Green

115 Vivid Yellowish Green	5.4gy 6.8 11.2	#93AA00
116 Brilliant Yellow Green	4.9gy 8.2 9.1	#CED23A
117 Strong Yellow Green	5.4gy 6.0 8.7	#7F8F18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

118 Deep Yellow Green	7.4gy 4.2 7.1	#425E17
119 Light Yellow Green	5.0gy 8.4 5.6	#DCD36A
120 Moderate Yellow Green	4.8gy 6.0 5.0	#8B8940
121 Pale Yellowish Green	3.4gy 8.7 2.4	#F0D698
122 Grayish Yellowish Green	4.4gy 6.0 2.3	#90845B
123 Strong Olive Green	4.0gy 3.0 11.0	#0A4500
124 Deep Olive Green	4.0gy 1.5 11.0	#142300
125 Moderate Olive Green	5.7gy 3.6 4.8	#434B1B
126 Dark Olive Green	8.0gy 2.2 3.6	#232C16
127 Grayish Olive Green	4.6gy 3.5 2.0	#48442D
128 Dark Grayish Olive Green	5.4gy 2.0 1.8	#27261A
129 Vivid Yellowish Green	1.1g 5.9 11.2	#379931

Yellowish Green

130 Brilliant Yellowish Green	0.3g 7.7 8.6	#8CCB5E
131 Strong Yellowish Green	0.4g 5.4 8.7	#478430
132 Deep Yellowish Green	0.9g 3.5 9.0	#00541F
133 Very Deep Yellowish Green	10.0gy 1.5 11.0	#002800
134 Very Light Yellowish Green	0.2g 8.6 4.6	#C6DF90
135 Light Yellowish Green	0.7g 7.4 5.2	#007BA7
136 Moderate Yellowish Green	0.5g 5.5 4.8	#657F4B
137 Dark Yellowish Green	0.6g 3.5 5.0	#304B26
138 Very Dark Yellowish Green	0.3g 1.8 4.3	#132712

Green

139 Vivid Green	3.2g 4.9 11.1	#007D34
140 Brilliant Green	6.2g 6.5 8.3	#47A76A
141 Strong Green	5.8g 4.4 8.7	#006B3C
142 Deep Green	5.1g 3.0 8.1	#004524
143 Very Light Green	6.5g 7.8 4.9	#98C793
144 Light Green	6.0g 6.4 5.1	#719B6E
145 Moderate Green	6.3g 4.5 5.1	#386646
146 Dark Green	6.6g 2.8 4.6	#203A27
147 Very Dark Green	8.0g 1.8 3.0	#16251C

148 Very Pale Green	7.3g 8.8 1.9	#D8DEBA
---------------------	--------------	---------

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์อื่นใด
 ไม่วารณณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

149 Pale Green	7.6g 6.4 1.7	#8D917A
150 Grayish Green	8.8g 4.5 1.8	#575E4E
151 Dark Greenish Yellowish Green	1.0bg 2.9 1.8	#313830
152 Blackish Green	10.0g 1.0 1.4	#141613
153 Greenish White	10.0g 9.2 0.8	#F5E6CB
154 Light Greenish Gray	3.0g 7.5 0.9	#BAAF96
155 Greenish Gray	7.5g 5.5 1.0	#7A7666
156 Dark Greenish Gray	1.5bg 3.5 0.9	#45433B
157 Greenish Black	8.7g 1.0 0.7	#181513

Bluish Green

158 Vivid Bluish Green	5.0bg 5.0 13.0	#00836E
159 Brilliant Bluish Green	2.9bg 6.0 9.6	#009B76
160 Strong Bluish Green	4.6bg 4.5 8.5	#006D5B
161 Deep Bluish Green	2.8bg 2.4 8.3	#00382B
162 Very Light Bluish Green	4.4bg 8.3 4.6	#A0D6B4
163 Light Bluish Green	4.6bg 6.5 4.9	#669E85
164 Moderate Bluish Green	4.6bg 4.5 5.0	#2F6556
165 Dark Bluish Green	4.9bg 2.7 5.0	#013A33
166 Very Dark Bluish Green	3.6bg 1.2 4.0	#001D18
167 Vivid Greenish Blue	5.0b 5.0 13.0	#007BA7

Greenish Blue

168 Brilliant Greenish Blue	4.6b 5.9 7.7	#2A8D9C
169 Strong Greenish Blue	4.9b 4.5 8.4	#00677E
170 Deep Greenish Blue	5.0b 5.0 13.0	#007BA7
171 Very Light Greenish Blue	4.0b 8.0 4.0	#A3C6C0
172 Light Greenish Blue	4.5b 6.5 5.4	#649A9E
173 Moderate Greenish Blue	4.7b 4.5 5.2	#30626B
174 Dark Greenish Blue	3.7b 2.7 5.0	#003841
175 Very Dark Greenish Blue	5.0b 1.5 3.6	#022027

Blue

176 Vivid Blue	5.0b 5.0 14.0	#007CAD
177 Brilliant Blue	1.6pb 5.9 9.4	#4285B4
178 Strong Blue	2.9pb 4.1 10.4	#00538A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางธุรกิจ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มาปรึกษา

179 Deep Blue	2.8pb 2.5 7.9	#002F55
180 Very Light Blue	2.7pb 7.9 6.0	#A6BDD7
181 Light Blue	1.6pb 6.4 6.9	#6C92AF
182 Moderate Blue	3.0pb 4.3 6.8	#395778
183 Dark Blue	2.2pb 1.7 5.5	#002137
184 Very Pale Blue	1.5pb 8.3 3.3	#C1CACA
185 Pale Blue	0.6pb 6.5 2.6	#919192
186 Grayish Blue	0.2pb 4.2 3.0	#4A545C
187 Dark Grayish Blue	9.2b 2.7 2.0	#2C3337
188 Blackish Blue	9.8b 1.3 1.5	#161A1E
189 Bluish White	9.2b 9.1 1.2	#F9DFCF
190 Light Bluish Gray	8.2b 7.5 1.0	#BEADA1
191 Bluish Gray	8.9b 5.5 0.9	#7D746D
192 Dark Bluish Gray	0.3pb 3.6 1.1	#464544
193 Bluish Black	9.6b 1.1 0.8	#151719
Purplish Blue		
194 Very Purplish Blue	7.8pb 2.0 12.5	#20155E
195 Brilliant Purplish Blue	7.3pb 5.1 9.0	#62639B
196 Strong Purplish Blue	8.0pb 4.0 10.9	#474389
197 Deep Purplish Blue	7.8pb 1.5 8.0	#1A153F
198 Very Light Purplish Blue	7.4pb 7.6 5.2	#BAACC7
199 Light Purplish Blue	7.3pb 6.0 6.5	#837DA2
200 Moderate Purplish Blue	7.9pb 3.5 6.5	#423C63
201 Dark Purplish Blue	8.0pb 1.3 4.3	#1A162A
202 Very Pale Purplish Blue	7.0pb 8.0 3.7	#CBBAC5
203 Pale Purplish Blue	7.0pb 6.0 3.9	#8A7F8E
204 Grayish Purplish Blue	6.9pb 3.4 3.8	#413D51
Violet		
205 Vivid Violet	2.0p 5.0 14.0	#884BAE
206 Brilliant Violet	9.9pb 5.1 9.4	#755D9A
207 Strong Violet	0.2p 3.7 10.1	#53377A
208 Deep Violet	1.1p 1.2 8.6	#240935
209 Very Light Violet	2.0p 8.5 7.0	#EEBEF1



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์อื่นใด
 209 Very Light Violet 2.0p 8.5 7.0 #EEBEF1
 ไม่วากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

210 Light Violet	0.5p 5.6 7.1	#876C99
211 Moderate Violet	1.4p 3.6 7.0	#543964
212 Dark Violet	1.4p 1.3 4.9	#22132B
213 Very Pale Violet	9.7pb 7.9 3.7	#D8B1BF
214 Pale Violet	1.3p 6.0 4.0	#957B8D
215 Grayish Violet	1.2p 3.3 3.9	#46394B



Purple

216 Vivid Purple	6.0p 4.5 14.0	#943391
217 Brilliant Purple	6.0p 7.0 11.0	#DD80CC
218 Strong Purple	6.5p 4.3 9.2	#803E75
219 Deep Purple	6.3p 2.7 9.1	#531A50
220 Very Deep Purple	5.0p 1.5 8.0	#320B35
221 Very Light Purple	6.5p 7.8 5.1	#E3A9BE
222 Light Purple	6.2p 6.5 6.5	#BA7FA2
223 Moderate Purple	6.6p 4.5 7.1	#7F4870
224 Dark Purple	6.3p 2.8 4.9	#472A3F
225 Very Dark Purple	6.9p 1.0 4.5	#230D21
226 Very Pale Purple	5.5p 8.2 3.2	#E6BBC1
227 Pale Purple	7.9p 6.4 3.1	#AE848B
228 Grayish Purple	8.1p 4.5 2.7	#72525C
229 Dark Grayish Purple	0.5rp 2.8 2.0	#452D35
230 Blackish Purple	0.8rp 0.9 1.6	#1D1018
231 Purplish White	2.5rp 9.0 0.8	#FADBC8
232 Light Purplish Gray	0.3rp 7.5 1.1	#C8A99E
233 Purplish Gray	1.0rp 5.5 0.9	#88706B
234 Dark Purplish Gray	1.0rp 3.6 1.0	#564042
235 Purplish Black	9.54p 0.9 0.6	#1B1116



Reddish Purple

236 Vivid Reddish Purple	1.0rp 3.0 14.0	#7E0059
237 Strong Reddish Purple	1.3rp 4.4 10.2	#9A366B
238 Deep Reddish Purple	1.0rp 2.8 9.5	#641349
239 Very Deep Reddish Purple	0.9rp 1.9 8.9	#470736
240 Light Reddish Purple	0.7rp 6.0 6.9	#BB6C8A



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
 ไม่วากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

241 Moderate Reddish Purple	0.8rp 4.5 7.0	#8C4566
242 Dark Reddish Purple	1.3rp 2.8 4.8	#4F273A
243 Very Dark Reddish Purple	1.5rp 1.0 4.8	#270A1F
244 Pale Reddish Purple	1.3rp 6.0 4.2	#AC7580
245 Grayish Reddish Purple	1.0rp 4.5 4.2	#7D4D5D

Purplish Pink, Purplish Red

246 Brilliant Purplish Pink	6.0rp 8.5 11.0	#FF97BB
247 Strong Purplish Pink	5.6rp 6.8 9.0	#F6768E
248 Deep Purplish Pink	4.4rp 6.0 12.2	#EB5284
249 Light Purplish Pink	4.6rp 8.0 5.5	#FFA8AF
250 Moderate Purplish Pink	4.6rp 6.8 6.7	#E28090
251 Dark Purplish Pink	6.4rp 5.9 7.0	#C76574
252 Pale Purplish Pink	3.7rp 8.4 3.3	#FDBDBA
253 Grayish Purplish Pink	3.7rp 7.0 3.5	#CC9293
254 Vivid Purplish Red	7.6rp 4.9 13.6	#D5265B
255 Strong Purplish Red	7.3rp 4.4 11.4	#B32851
256 Deep Purplish Red	7.3rp 2.6 10.1	#6F0035
257 Very Deep Purplish Red	6.8rp 1.7 8.0	#470027
258 Moderate Purplish Red	7.1rp 4.5 9.0	#A73853
259 Dark Purplish Red	7.1rp 2.7 6.0	#5B1E31
260 Very Dark Purplish Red	6.6rp 0.9 4.8	#28071A
261 Light Grayish Purplish Red	7.8rp 5.9 4.2	#B27070
262 Grayish Purplish Red	7.0rp 4.5 5.1	#8C4852
263 White	2.5pb 9.5 0.2	#FFC9D7
264 Light Gray	6.7y 7.4 0.2	#C2A894
265 Medium Gray	3.3gy 5.4 0.1	#817066
266 Dark Gray	2.5pb 3.5 0.0	#49423D
267 Black	2.5pb 0.8 0.0	#131313



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1. ผลการทดลองทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

ตาราง 1.1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากเซลล์เชื้อรหีส C1-2

ความเข้มข้นสารสกัดจากเซลล์	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.658	0.587	0.613	0.059
1.9531	0.554	0.61	0.618	0.051
3.9062	0.603	0.63	0.643	0.061
7.8125	0.577	0.616	0.627	0.054
15.625	0.631	0.631	0.664	0.066
31.25	0.611	0.615	0.624	0.057
62.5	0.624	0.627	0.646	0.068
125	0.574	0.601	0.616	0.058
250	0.605	0.602	0.614	0.075
500	0.582	0.587	0.596	0.083
1000	0.545	0.545	0.55	0.113

ตาราง 1.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากน้ำหมักเชื้อรหีส C1-2

ความเข้มข้นสารสกัดจากน้ำหมัก	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.693	0.673	0.654	0.061
1.9531	0.688	0.692	0.68	0.052
3.9062	0.695	0.697	0.657	0.064
7.8125	0.687	0.679	0.627	0.056
15.625	0.744	0.695	0.690	0.069
31.25	0.681	0.666	0.624	0.062
62.5	0.681	0.688	0.651	0.071
125	0.659	0.646	0.637	0.059

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 1.2 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากน้ำหมักเชื้อรหัส C1-2

ความเข้มข้นสารสกัดจากน้ำหมัก	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
250	0.617	0.647	0.624	0.069
500	0.553	0.553	0.528	0.066
1000	0.483	0.472	0.477	0.093

ตาราง 1.3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากเซลล์เชื้อรหัส G1-2

ความเข้มข้นสารสกัดจากเซลล์	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.631	0.638	0.642	0.053
1.9531	0.632	0.649	0.460	0.057
3.9062	0.653	0.651	0.630	0.062
7.8125	0.640	0.620	0.650	0.063
15.625	0.629	0.651	0.641	0.063
31.25	0.632	0.637	0.637	0.064
62.5	0.640	0.634	0.627	0.069
125	0.632	0.629	0.624	0.072
250	0.606	0.580	0.597	0.092
500	0.550	0.562	0.553	0.125
1000	0.479	0.460	0.454	0.198

ตาราง 1.4 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากน้ำหมักเชื้อรหัส G1-2

ความเข้มข้นสารสกัดจากน้ำหมัก	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.596	0.638	0.622	0.056
1.9531	0.649	0.65	0.655	0.06
3.9062	0.668	0.647	0.668	0.067

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานั้น ไม่นับเป็นต้นฉบับให้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 1.4 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากน้ำหมักเชื้อรหัสด G1-2

ความเข้มข้นสารสกัดจากน้ำหมัก	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
7.8125	0.638	0.644	0.64	0.06
15.625	0.645	0.651	0.658	0.065
31.25	0.641	0.632	0.642	0.057
62.5	0.65	0.658	0.637	0.064
125	0.626	0.624	0.625	0.057
250	0.622	0.619	0.616	0.065
500	0.571	0.586	0.589	0.062
1000	0.562	0.546	0.559	0.074

ตาราง 1.5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากเซลล์เชื้อรหัสด G1-9

ความเข้มข้นสารสกัดจากเซลล์	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.623	0.615	0.636	0.058
1.9531	0.643	0.630	0.637	0.063
3.9062	0.643	0.640	0.632	0.057
7.8125	0.648	0.646	0.646	0.068
15.625	0.644	0.641	0.649	0.062
31.25	0.644	0.635	0.644	0.066
62.5	0.638	0.638	0.627	0.068
125	0.623	0.619	0.615	0.072
250	0.610	0.610	0.609	0.065
500	0.554	0.554	0.563	0.071
1000	0.463	0.468	0.469	0.068

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 1.6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากเซลล์เชื้อรหีส G1-9

ความเข้มข้นสารสกัดจากน้ำหมัก	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.574	0.602	0.627	0.054
1.9531	0.609	0.63	0.62	0.056
3.9062	0.638	0.653	0.638	0.062
7.8125	0.641	0.627	0.634	0.058
15.625	0.63	0.633	0.632	0.063
31.25	0.658	0.626	0.634	0.062
62.5	0.623	0.623	0.626	0.075
125	0.613	0.609	0.611	0.068
250	0.561	0.577	0.571	0.07
500	0.561	0.577	0.571	0.07
1000	0.516	0.505	0.516	0.074

ตาราง 1.7 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากเซลล์เชื้อรหีส G1-10

ความเข้มข้นสารสกัดจากเซลล์	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.565	0.567	0.576	0.060
1.9531	0.590	0.583	0.589	0.068
3.9062	0.582	0.583	0.576	0.061
7.8125	0.588	0.585	0.581	0.072
15.625	0.575	0.579	0.574	0.064
31.25	0.566	0.570	0.569	0.073
62.5	0.549	0.548	0.543	0.068
125	0.512	0.503	0.505	0.074
250	0.443	0.448	0.444	0.066
500	0.337	0.351	0.341	0.074
1000	0.200	0.202	0.197	0.068

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 1.9 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากน้ำหมักเชื้อรหัส G1-10

ความเข้มข้นสารสกัดจากน้ำหมัก	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.572	0.546	0.561	0.056
1.9531	0.566	0.584	0.576	0.060
3.9062	0.578	0.576	0.566	0.062
7.8125	0.579	0.573	0.581	0.063
15.625	0.581	0.572	0.571	0.068
31.25	0.578	0.565	0.569	0.064
62.5	0.612	0.581	0.584	0.067
125	0.588	0.581	0.592	0.070
250	0.599	0.583	0.580	0.074
500	0.574	0.572	0.571	0.073
1000	0.567	0.557	0.543	0.078

ตาราง 1.10 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากเซลล์เชื้อรหัส G1-11

ความเข้มข้นสารสกัดจากเซลล์	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.617	0.608	0.630	0.072
1.9531	0.615	0.605	0.633	0.058
3.9062	0.607	0.617	0.604	0.059
7.8125	0.604	0.639	0.660	0.063
15.625	0.610	0.667	0.637	0.072
31.25	0.603	0.588	0.649	0.067
62.5	0.612	0.643	0.679	0.073
125	0.630	0.671	0.584	0.066
250	0.620	0.615	0.603	0.080
500	0.582	0.565	0.617	0.068
1000	0.487	0.576	0.538	0.088

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 1.11 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากน้ำหมักเชื้อรหัส G1-11

ความเข้มข้นสารสกัดจากน้ำหมัก	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.655	0.648	0.642	0.061
1.9531	0.642	0.649	0.656	0.058
3.9062	0.655	0.656	0.657	0.069
7.8125	0.639	0.645	0.651	0.06
15.625	0.658	0.648	0.639	0.067
31.25	0.637	0.63	0.623	0.059
62.5	0.649	0.638	0.627	0.075
125	0.658	0.632	0.607	0.076
250	0.576	0.587	0.597	0.098
500	0.51	0.517	0.524	0.116
1000	0.464	0.467	0.47	0.184

ตาราง 1.12 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากเซลล์เชื้อรหัส G2-2

ความเข้มข้นสารสกัดจากเซลล์	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.603	0.567	0.592	0.063
1.9531	0.590	0.602	0.587	0.052
3.9062	0.624	0.634	0.605	0.071
7.8125	0.615	0.633	0.587	0.058
15.625	0.638	0.621	0.589	0.071
31.25	0.617	0.606	0.583	0.061
62.5	0.616	0.622	0.461	0.069
125	0.599	0.582	0.601	0.059
250	0.610	0.612	0.601	0.065
500	0.577	0.578	0.564	0.054
1000	0.563	0.566	0.559	0.060

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 1.13 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากน้ำหนักเชื้อรหัสด G2-2

ความเข้มข้นสารสกัดจากน้ำหนัก	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.576	0.572	0.581	0.065
1.9531	0.569	0.554	0.570	0.053
3.9062	0.567	0.524	0.589	0.064
7.8125	0.583	0.565	0.583	0.052
15.625	0.581	0.604	0.609	0.064
31.25	0.558	0.564	0.582	0.052
62.5	0.565	0.565	0.592	0.061
125	0.553	0.537	0.573	0.054
250	0.565	0.570	0.579	0.065
500	0.523	0.537	0.534	0.054
1000	0.516	0.517	0.522	0.066

ตาราง 1.14 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากเซลล์เชื้อรหัสด H1-1

ความเข้มข้นสารสกัดจากเซลล์	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.569	0.578	0.573	0.058
1.9531	0.575	0.579	0.561	0.059
3.9062	0.573	0.584	0.573	0.058
7.8125	0.584	0.582	0.575	0.059
15.625	0.576	0.576	0.567	0.059
31.25	0.593	0.592	0.578	0.064
62.5	0.596	0.580	0.585	0.062
125	0.573	0.555	0.573	0.059
250	0.574	0.536	0.500	0.065
500	0.535	0.566	0.546	0.067
1000	0.561	0.545	0.546	0.077

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 1.15 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากน้ำหมักเชื้อรหีส H1-1

ความเข้มข้นสารสกัดจากน้ำหมัก	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.582	0.527	0.591	0.058
1.9531	0.571	0.569	0.575	0.058
3.9062	0.580	0.570	0.570	0.064
7.8125	0.571	0.568	0.576	0.061
15.625	0.584	0.565	0.573	0.066
31.25	0.557	0.559	0.555	0.055
62.5	0.570	0.567	0.560	0.064
125	0.550	0.547	0.554	0.057
250	0.558	0.548	0.544	0.065
500	0.524	0.523	0.524	0.063
1000	0.513	0.471	0.494	0.077

ตาราง 1.16 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากเซลล์เชื้อรหีส I2-1

ความเข้มข้นสารสกัดจากเซลล์	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.626	0.621	0.621	0.055
1.9531	0.644	0.616	0.616	0.050
3.9062	0.662	0.641	0.641	0.070
7.8125	0.672	0.628	0.628	0.057
15.625	0.683	0.633	0.633	0.077
31.25	0.663	0.603	0.603	0.061
62.5	0.666	0.630	0.630	0.075
125	0.627	0.612	0.612	0.060
250	0.581	0.579	0.579	0.066
500	0.521	0.511	0.511	0.054
1000	0.416	0.411	0.411	0.063

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 1.17 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากน้ำหมักเชื้อรหัสน้ำ I2-1

ความเข้มข้นสารสกัดจากน้ำหมัก	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.590	0.612	0.623	0.058
1.9531	0.604	0.613	0.627	0.049
3.9062	0.625	0.626	0.651	0.061
7.8125	0.613	0.609	0.623	0.050
15.625	0.624	0.620	0.665	0.061
31.25	0.619	0.618	0.641	0.053
62.5	0.625	0.628	0.628	0.064
125	0.603	0.578	0.617	0.052
250	0.617	0.610	0.630	0.058
500	0.568	0.574	0.563	0.051
1000	0.534	0.534	0.530	0.058

ตาราง 1.18 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากเซลล์เชื้อรหัสน้ำ I3-1

ความเข้มข้นสารสกัดจากเซลล์	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.594	0.596	0.581	0.057
1.9531	0.607	0.637	0.605	0.052
3.9062	0.633	0.648	0.583	0.064
7.8125	0.637	0.646	0.604	0.060
15.625	0.634	0.637	0.594	0.071
31.25	0.640	0.614	0.593	0.061
62.5	0.652	0.658	0.620	0.076
125	0.624	0.615	0.582	0.057
250	0.584	0.590	0.574	0.065
500	0.554	0.503	0.493	0.054
1000	0.456	0.483	0.450	0.063

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 1.19 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากน้ำหมักเชื้อรหัสน้ำ I3-1

ความเข้มข้นสารสกัดจากน้ำหมัก	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.615	0.604	0.577	0.059
1.9531	0.596	0.604	0.607	0.051
3.9062	0.604	0.601	0.618	0.063
7.8125	0.605	0.574	0.610	0.052
15.625	0.631	0.602	0.625	0.065
31.25	0.598	0.589	0.622	0.059
62.5	0.586	0.623	0.715	0.064
125	0.518	0.587	0.626	0.051
250	0.599	0.589	0.654	0.062
500	0.616	0.556	0.551	0.054
1000	0.542	0.533	0.497	0.060

ตาราง 1.20 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากเซลล์เชื้อรหัสน้ำ Ch1-2B

ความเข้มข้นสารสกัดจากเซลล์	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.593	0.607	0.571	0.055
1.9531	0.598	0.670	0.620	0.053
3.9062	0.641	0.612	0.582	0.064
7.8125	0.645	0.595	0.615	0.059
15.625	0.621	0.609	0.582	0.068
31.25	0.614	0.601	0.571	0.059
62.5	0.622	0.625	0.595	0.069
125	0.591	0.608	0.554	0.058
250	0.598	0.576	0.579	0.065
500	0.532	0.530	0.538	0.057
1000	0.490	0.503	0.489	0.066

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 1.21 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากน้ำหมักเชื้อรหีส Ch1-2B

ความเข้มข้นสารสกัดจากน้ำหมัก	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.578	0.565	0.575	0.058
1.9531	0.557	0.564	0.576	0.051
3.9062	0.579	0.577	0.603	0.062
7.8125	0.574	0.571	0.580	0.051
15.625	0.615	0.578	0.612	0.066
31.25	0.594	0.559	0.592	0.054
62.5	0.570	0.591	0.637	0.067
125	0.595	0.577	0.584	0.054
250	0.542	0.569	0.585	0.065
500	0.570	0.507	0.574	0.053
1000	0.516	0.522	0.524	0.064

ตาราง 1.22 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากเซลล์เชื้อรหีส Ch3-2

ความเข้มข้นสารสกัดจากเซลล์	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.545	0.582	0.566	0.060
1.9531	0.583	0.59	0.566	0.067
3.9062	0.587	0.579	0.551	0.061
7.8125	0.592	0.592	0.589	0.071
15.625	0.579	0.583	0.571	0.063
31.25	0.575	0.586	0.579	0.067
62.5	0.561	0.587	0.578	0.068
125	0.589	0.588	0.581	0.071
250	0.579	0.578	0.578	0.066
500	0.552	0.569	0.560	0.072
1000	0.554	0.572	0.560	0.070

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 1.23 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากน้ำหมักเชื้อรหีส Ch3-2

ความเข้มข้นสารสกัดจากน้ำหมัก	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.514	0.546	0.564	0.063
1.9531	0.562	0.577	0.583	0.062
3.9062	0.601	0.606	0.603	0.064
7.8125	0.589	0.595	0.597	0.059
15.625	0.601	0.604	0.604	0.069
31.25	0.589	0.596	0.596	0.063
62.5	0.630	0.602	0.602	0.067
125	0.591	0.605	0.561	0.068
250	0.597	0.571	0.560	0.066
500	0.539	0.551	0.537	0.069
1000	0.545	0.540	0.528	0.067

ตาราง 1.24 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากเซลล์เชื้อรหีส Ch3-3

ความเข้มข้นสารสกัดจากเซลล์	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.591	0.601	0.596	0.053
1.9531	0.611	0.636	0.603	0.050
3.9062	0.639	0.644	0.606	0.063
7.8125	0.633	0.640	0.604	0.059
15.625	0.643	0.636	0.583	0.069
31.25	0.618	0.602	0.577	0.06
62.5	0.591	0.593	0.545	0.069
125	0.504	0.496	0.489	0.057
250	0.411	0.417	0.401	0.063
500	0.257	0.255	0.246	0.054
1000	0.139	0.135	0.124	0.066

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 1.25 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารสกัดจากน้ำหมักเชื้อรหัส Ch3-3

ความเข้มข้นสารสกัดจากน้ำหมัก	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm			
	ตัวอย่างซ้ำที่ 1	ตัวอย่างซ้ำที่ 2	ตัวอย่างซ้ำที่ 3	Blank
0.97	0.523	0.555	0.576	0.058
1.9531	0.574	0.579	0.604	0.051
3.9062	0.607	0.610	0.634	0.063
7.8125	0.605	0.612	0.618	0.060
15.625	0.608	0.606	0.638	0.080
31.25	0.582	0.584	0.614	0.051
62.5	0.591	0.595	0.626	0.066
125	0.561	0.577	0.584	0.055
250	0.561	0.555	0.551	0.065
500	0.494	0.499	0.499	0.052
1000	0.436	0.439	0.440	0.064

ตาราง 1.26 ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH และ Blank DPPH ของแต่ละเชื้อ

เชื้อ		ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm		
C1-2	DPPH	1.249	1.274	1.292
	Blank	0.067	0.055	0.063
G1-2	DPPH	1.255	1.25	1.237
	Blank	0.075	0.059	0.067
G1-9	DPPH	1.24	1.24	1.243
	Blank	0.07	0.079	0.067
G1-10	DPPH	1.032	1.101	1.095
	Blank	0.071	0.085	0.068
G1-11	DPPH	1.127	1.175	1.196
	Blank	0.063	0.056	0.062

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 1.26 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH และ Blank DPPH ของแต่ละเชื้อ

เชื้อ		ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm		
G2-2	DPPH	1.025	1.09	1.092
	Blank	0.062	0.056	0.059
H1-1	DPPH	1.121	1.083	1.071
	Blank	0.07	0.059	0.061
I2-1	DPPH	1.084	1.12	1.161
	Blank	0.064	0.054	0.061
I3-1	DPPH	1.093	1.101	1.16
	Blank	0.065	0.054	0.062
Ch1-2B	DPPH	1.017	1.062	1.108
	Blank	0.067	0.057	0.063
Ch3-2	DPPH	1.075	1.101	1.11
	Blank	0.069	0.08	0.067
Ch3-3	DPPH	1.139	1.159	1.161
	Blank	0.065	0.054	0.06

ตาราง 1.27 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารละลายมาตรฐาน BHT

ความเข้มข้น BHT	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm		
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3
0.97	0.804	0.814	0.854
1.9531	0.801	0.789	0.805
3.9062	0.689	0.736	0.775
7.8125	0.608	0.62	0.643
15.625	0.549	0.546	0.558
31.25	0.374	0.367	0.345
62.5	0.246	0.267	0.232
125	0.19	0.177	0.176

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 1.27 (ต่อ) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ของสารละลายมาตรฐาน BHT

ความเข้มข้น BHT	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm		
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3
250	0.163	0.156	0.157
500	0.163	0.162	0.165
1000	0.174	0.177	0.161
Blank BHT	0.109	0.106	0.098
DPPH	1.741	1.759	1.735
Blank DPPH	0.109	0.106	0.098








เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

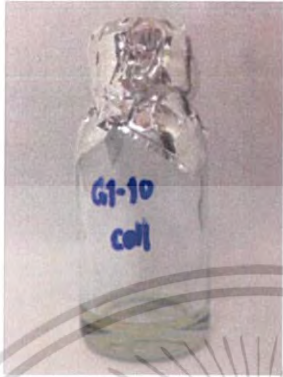



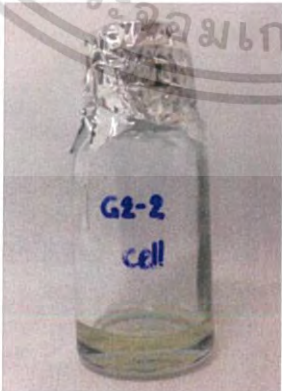
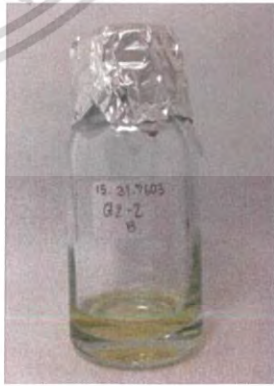
สื่สารสกัดหยาบจากตัวเซลล์และน้ำหมัก

ตารางที่ 1 สื่สารสกัดหยาบจากตัวเซลล์และน้ำหมัก

ชื่อ	สื่สารสกัด	
	ตัวเซลล์	น้ำหมัก
C1-2		
G1-2		
G1-9		

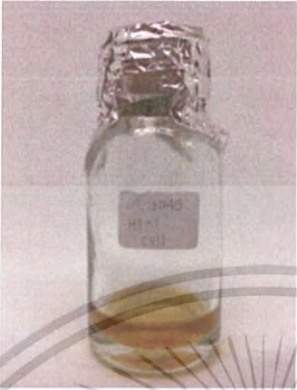

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สแกนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ) สื่อสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์และน้ำหมัก

ชื่อ	สื่อสารสกัด	
	ตัวเซลล์	น้ำหมัก
G1-10		
G1-11		
G2-2		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ) สีสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์และน้ำหมัก

ชื่อ	สีสารสกัด	
	ตัวเซลล์	น้ำหมัก
H1-1		
I2-1		
I3-1		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ) สีสารสกัดหยาบจากตัวเซลล์และน้ำหมัก

ชื่อ	สีสารสกัด	
	ตัวเซลล์	น้ำหมัก
Ch1-2B		
Ch3-2		
Ch3-3		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้