ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

Effect of polysaccharide extract from *Cucurbita moschata Decne* on expansion of microbial culture Pormor-1

นางสาวกัญชลี ศรีมณฑก

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร
ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รับที่...../.....
งานทะเบียนประมวลผล

โครงงานพิเศษปีการศึกษา 2564

เรื่อง

ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

Effect of polysaccharide extract from *Cucurbita moschata Decne* on expansion of microbial culture Pormor-1

ผู้จัดทำ

นางสาวกัญชลี ศรีมณฑก

นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เห็นชอบ/รับรอง

ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย
.....

(ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย)
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

โครงงานพิเศษนี้เป็นลิขสิทธิ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษ

เรื่อง

ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

Effect of polysaccharide extract from *Cucurbita moschata Decne* on expansion of microbial culture Pormor-1

โดย

นางสาวกัญชลี ศรีมณฑก

เสนอ

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
(วิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ)
ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง	ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1
โดย	นางสาวกัญชลี ศรีมณฑก
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
คณะ	วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 โดยทำการทดลองสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ในสภาวะที่แตกต่างกัน 3 สภาวะ คือ การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง , การสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิ 90 – 95 องศาเซลเซียส และ การสกัดด้วย 75% เอทานอลที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่าการสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิ 90 – 95 องศาเซลเซียสได้สารพอลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณมากที่สุด รองลงมา คือ การสกัดด้วย 75% เอทานอลที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส และ การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง ตามลำดับ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 0.5, 0.8, และ 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ดีที่สุด รองลงมา คือ ความเข้มข้นที่ 0.8, 0.5 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ด้วยสูตรอาหาร Minimal Medium(MM)ที่แตกต่างกัน 3 สูตร คือ สูตรอาหาร (MM) มาตรฐานของกรมประมง(มีน้ำตาลซูโครส), สูตรอาหาร (MM) ไม่มีน้ำตาล และ สูตรอาหาร (MM) ที่ทดแทนซูโครสด้วยสารพอลิแซ็กคาไรด์พบว่าสูตรที่ใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์ได้ผลดีที่สุด รองลงมา คือ สูตรมาตรฐานของกรมประมง และ สูตรไม่มีน้ำตาล ตามลำดับ จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองสามารถใช้แทนน้ำตาลซูโครสในสูตรอาหารมาตรฐานของกรมประมงในการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ได้

คำสำคัญ : พอลิแซ็กคาไรด์, ฟักทอง, เชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

กัญชลี ศรีมณฑก
ลายมือชื่อนักศึกษา

ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Effect of polysaccharide extract from *Cucurbita moschata Decne* on expansion of microbial culture Pormor-1
By	Miss. Kancharee Srimontok
Disciplines	Fishery science and aquatic resources
Faculty	Prince of chumphom campus
Advisor	Asst.Prot.Dr. Daungjai Pisuttharachai

Abstract

The effect of polysaccharide extract from pumpkin (*Cucurbita moschata*) on the extension of microbial culture Pomor-1 (*Bacillus subtilis*, *B. megaterium* and *B. licheniformis*) was conducted. Three different conditions were planned to extract polysaccharide from pumpkin including (1) water extraction at room temperature, (2)water extraction at 90-95 ℃ and (3)75% ethanol extraction at 75 ℃. All situations were extracted for 30 minutes. The result displayed that condition 2 returned the highest number of polysaccharides followed by condition 3 and 1, respectively. Next, the polysaccharides were tested for efficiency on the growth of Pomor-1 microorganisms at four different concentrations composed of 0, 0.5, 0.8 and 1 %. It was initiated that polysaccharides affected the growth of all 3 types of bacteria. The concentration of 1 % polysaccharide presented the greatest growth of microorganisms, followed by concentrations of 0.8, 0.5 and 0 %, respectively. For microbial culture Pomor-1 with 3 different Minimal Medium (MM) composed of the standard MM of the Department of Fisheries (contains sucrose in formular), MM without sucrose in formular, and MM with sucrose-replacement polysaccharides in formular. It showed that microorganisms cultured with the polysaccharide formula was the maximum, followed by the standard formula and without sugar formula, respectively. The results indicated that polysaccharides could be used as a substitute for sucrose in the standard formula of the Department of Fisheries in the proliferation of microorganisms Pomor-1.

Key words: Polysaccharide, Cucurbita , Microorganisms Pormor -1

Kancharee Srimontok ..... Duangjai Pisuttharachai

Student's signature Advisor's signature

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ผศ.วรพงษ์ นลินานนท์ และ ผศ.ดร.สายชล เลิศสุวรรณ ที่ให้คำปรึกษาแนะนำและแก้ไขโครงงานพิเศษตลอดจนชี้แนะข้อผิดพลาดบกพร่องในการวิเคราะห์ข้อมูลในการเขียนรายงานทุกขั้นตอน และช่วยเหลือเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ต่าง ทำให้การจัดทำโครงงานพิเศษนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณ นางสาวณฐพร สังขรเขตร นักวิทยาศาสตร์ประจำหลักสูตรวิชาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ ที่ให้ความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการและให้คำแนะนำตลอดจนอบรมสั่งสอนข้าพเจ้ามาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อพิพัฒน์พงษ์ ศรีมณฑก คุณแม่ธนภัทร ศรีมณฑก และทุกคนในครอบครัว ที่ให้การสนับสนุนทั้งกำลังกาย กำลังใจ กำลังทรัพย์ในการศึกษาและอบรมดูแลสั่งสอนให้เป็นคนดี อดทน ในหน้าที่ของตนเอง ขอขอบพระคุณและขอบคุณทุกๆคนที่เกี่ยวข้องตลอดระยะเวลาที่ข้าพเจ้าเริ่มการศึกษาจนสำเร็จการศึกษาในครั้งนี้

นางสาวกัญชลี ศรีมณฑก

พฤษภาคม 2566

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	ก
Abstract	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	-1-
สารบัญตาราง	-2-
สารบัญภาพ	-3-
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
ตรวจเอกสาร	3
ฟักทอง	3
สารพอลิแซ็กคาไรด์	6
เชื้อจุลินทรีย์(ปม.1)	8
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	14
อุปกรณ์และวิธีการ	15
อุปกรณ์	16
วิธีการการทดลอง	19
ผลการทดลอง	24
วิจารณ์ผลการทดลอง	33
สรุปผลการทดลอง	35
อ้างอิง	36
ภาคผนวก	38
ประวัติการศึกษา	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณค่าทางโภชนาการของฟักทอง 100 กรัม	5
2	สูตรอาหาร MM สำหรับขยายหัวเชื้อ ปม.1	21
3	ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน	26
4	ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus subtilis* (BS)	27
5	ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus megaterium* (BM)	28
6	ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus licheniformis* (BL)	29
7	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ BM BSและBLในสูตรต่างๆ	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของฟักทอง	4
2	โครงสร้างของสารพอลิแซ็กคาไรด์	6
3	เปรียบเทียบโครงสร้างการเรียงตัวของอะไมโลเพกทินกันกับไกลโคเจน	7
4	เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*	9
5	เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus megaterium*	11
6	เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis*	12
7	ชุดอุปกรณ์เติมอากาศ	22
8	การเติมอากาศโดยใช้ปั๊มลมต่อเข้ากับชุดกรองอากาศ	22
9	ลักษณะการนับเซลล์ของเชื้อ	23
10	กราฟแสดงผลของสารผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus subtilis* (BS)	31
11	กราฟแสดงผลของสารผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus megaterium* (BM)	31
12	กราฟแสดงผลของสารผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus licheniformis* (BL)	32
13	แผนเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ *Bacillus megaterium* (BM), *Bacillus subtilis* (BS) และ *Bacillus licheniformis* (BL) ในอาหารสูตรต่าง ๆ	32

ภาพผนวกที่

1	การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	39
2	ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด	39
3	ขั้นตอนการทำการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์	40
4	ขั้นตอนการทดสอบความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์ต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย	41
5	ขั้นตอนการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในอาหารสูตรต่างๆ	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ฟักทองชื่อสามัญ Pumpkin ฟักทอง ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cucurbita moschata Duchesne* จัดอยู่ในวงศ์แตง (CUCURBITACEAE)ฟักทองแบ่งออกเป็น 2 ตระกูล ตระกูลแรกก็คือ ตระกูลฟักทองอเมริกัน (Pumpkin) ผลใหญ่ เนื้อยุ่ย และตระกูลสควอช (Squash) ฟักทองเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของอเมริกา(สุรชัย,2535) เป็นพืชผักที่คนไทยคุ้นเคยและนามาบริโภคอย่างหลากหลาย ในปี 2559ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกฟักทอง 49,625 ไร่ ผลผลิตรวม 81,338 ตัน (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2559) ฟักทองเป็นผักวงศ์แตงที่สามารถปลุกได้ดีในภูมิอากาศอบอุ่นและเขตร้อนของโลก เป็นผักที่ให้คุณค่าอาหารสูง นิยมบริโภคส่วนของเนื้อฟักทองเนื้อด้านในเป็นสีเหลืองสดธรรมชาติให้สีสันน่ารับประทาน (ญาณิศา 2556)

พอลิแซ็กคาไรค์ polysaccharide เป็นโพลิเมอร์ที่มีสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลักเกิดจากโมโนแซคคาไรค์ตั้งแต่ 10 โมเลกุลขึ้นไปจนถึง 1000 โมเลกุลมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกพอลิแซ็กคาไรค์ในธรรมชาติส่วนใหญ่ไม่มีสี ไม่มีรส (สุวิทย์ และ ณิฐธิดา , 2556) โครงสร้างมีได้ตั้งแต่เส้นตรงไปจนถึงแตกกิ่งมากมาย พอลิแซ็กคาไรด์มักพบเป็นวิวิธพันธุ์ (heterogeneous) ซึ่งประกอบด้วยการดัดแปลงหน่วยซ้ำ ๆ เล็กน้อย โมเลกุลใหญ่เหล่านี้สามารถมีคุณสมบัติแตกต่างจากโมโนแซ็กคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบได้ ขึ้นอยู่กับโครงสร้าง

กรมประมงโดยศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสาครดำเนินการร่วมมือกับสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ได้ทำการค้นคว้าเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ เรียกว่า "หัวเชื้อจุลินทรีย์ ปม. 1 " โดยคัดเลือกจุลินทรีย์ในกลุ่ม Bacillus(บาซิลลัส) 3 ชนิด คือ B. *subtilis* (BS), 8. *megaterium* (BM) และ B. *licheniformis* (BL)ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ตกค้างและสะสมในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ กรมประมงดำเนินการผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 เพื่อแจกจ่ายให้กับเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทั่วประเทศไทยตั้งแต่ปี 2551 โดยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เกิดจากกิจกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

มีรายงานพอลิแซ็กคาไรด์สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (ภาณุพงษ์,2556) ดังนั้น จึงมีความสนใจที่จะศึกษาการใช้พอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองต่อการเพาะขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ซึ่งมีประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดสารพอลิแซ็กคาไดร์จากฟักทองที่เหมาะสม
2. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงวิธีการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองที่เหมาะสม
2. ทราบถึงระดับความเข้มข้นของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองที่มีผลต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

1.ฟักทอง

ชื่อสามัญ Pumpkin ฟักทอง ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cucurbita moschata Duchesne* จัดอยู่ในวงศ์แตง (CUCURBITACEAE)ฟักทองแบ่งออกเป็น 2 ตระกูล ตระกูลแรกก็คือ ตระกูลฟักทองอเมริกัน (Pumpkin) ผลใหญ่ เนื้อยุ่ย และตระกูลสควอช (Squash) ฟักทองเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของอเมริกา(สุรชัย,2535) เป็นพืชผักที่คนไทยคุ้นเคยและนามาบริโภคอย่างหลากหลาย ในปี 2559 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกฟักทอง 49,625 ไร่ ผลผลิตรวม 81,338 ตัน (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2559) ฟักทองเป็นผักวงศ์แตงที่สามารถปลูกได้ดีในภูมิอากาศอบอุ่นและเขตร้อนของโลก เป็นผักที่ให้คุณค่าอาหารสูง นิยมบริโภคส่วนของเนื้อฟักทองเนื้อด้านในเป็นสีเหลืองสดธรรมชาติให้สีสันน่ารับประทาน (ญาณิศา 2556)โดยฟักทองมีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรต ใยอาหาร และแร่ธาตุหลายชนิด (pongianta ct al 2003)ชื่ออื่นๆ ภาคเหนือ (ฟักเขียว, มะฟักแก้ว) (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) (หมักคี้ส่า, เหลืองเคส่า) (เง้ยว-แม่ฮ่องสอน) ภาคกลาง (ฟักทอง) เลย (มะน้ำแก้ว) ปราจีนบุรี (หมักอื้อ) ภาคใต้ (น้ำเต้า)

มีการจัดลำดับอนุกรมวิธานไว้ดังนี้

Subkingdom Trachobionta

Division Magnoliophyta

Class Magnoliopsiopsida

Subclass Dillenhidae

Order Cucurbitales

Family Cucurbitaceae

Genus *Cucurbita*

Species Cucurbita *moschata*

1.1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไม้เถาล้มลุก มีลำต้นเป็นเถาเลื้อยไปตามดินและต้องการหลักยึด ลำต้นมีขนนุ่ม ปกคลุม แข็ง ปานกลาง ลักษณะกลมหรือเหลี่ยมมนๆ 5 เหลียม สีเขียว และมีมือเอาไว้เกาะ 3 - 4 แขนง ใบ ลักษณะใบเดี่ยว ออกตามเถาเรียงตัวสลับกัน ลักษณะใบรูปร่างกลมหรือรูปไต ปลายใบมน รูปหัวใจกว้างๆ ขอบใบหยักเล็กๆ เว้าเป็นแฉกตื้นๆ หรือเป็นเหลี่ยมห้าเหลี่ยม มีขนปกคลุมอยู่ทั่วทั้งใบสองด้านดอก เป็นดอกเดี่ยว มีสีเหลืองหรือสีเหลืองอมส้ม ออกตามซอกใบ ดอกเพศผู้และดอกเพศเมียเกิดอยู่บนต้นเดียวกัน และมีกลีบรองกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นรูประฆัง ปลายแยกกันเป็น 5 กลีบ ดอกเพศผู้จะมีก้านดอกยาวกว่าดอกเพศเมียผล เป็นผลเดี่ยวตามซอกใบ ก้านผลมีลักษณะเป็น 5 เหลี่ยม เปลือกนอกของผลแข็ง ผลมีรูปร่างและขนาดแตกต่างกัน ตลอดจนสีสันและรสชาติซึ่งขึ้นอยู่กับพันธุ์ ลักษณะผลเป็นพูเล็กๆ ตลอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยรอบ บ้างก็มีรูปร่างกลมแป้น รูปแจกัน หรือรูปถ้วย สีของผลมีตั้งแต่ สีเขียวอ่อน สีเหลืองเข้ม สีเขียวเข้มอมน้ำเงินหรืออมเทา อาจด่างเหลืองเป็นทาง หรือแต้มเป็นจุดกระจายทั่วไป เนื้อในผลมีสีเหลือง สีเหลืองอมเขียวหรือสีส้ม ตรงกลางผลฟูพรุนมีเมล็ดติดอยู่จำนวนมากเมล็ด มีจำนวนมากอยู่ระหว่างเนื้อฟูๆ ตรงระหว่างกลางของผล ลักษณะแบน ขอบแข็งเป็นสัน(โชติอนันต์ และคณะ,2551)

1.2. สรรพคุณ

เปลือกฟักทอง มีฤทธิ์ทางยา หากทานฟักทองทั้งเปลือก จะสามารถกระตุ้นการหลั่งอินซูลินในร่างกาย ซึ่งช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ป้องกันการเกิดเบาหวาน ความดันโลหิต บำรุงตับ บำรุงไต บำรุงดวงตา และสร้างเซลล์ใหม่ทดแทนเซลล์ที่ตายไป ให้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เนื้อฟักทอง ซึ่งมีกากใยสูง อุดมด้วยวิตามินเอและสารต่อต้านการผสมกับออกซิเจนกับเกลือแร่ และ มี “กรดโปรไพโอนิค” กรดนี้ทำให้เซลล์มะเร็งอ่อนแอลง รวมทั้งมีฟอสฟอรัส แคลเซียม วิตามินซี แป้ง และสาร “เบต้าแคโรทีน” ซึ่งช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันให้แข็งแรง และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถช่วยยับยั้งการเกิดมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ และโรคหัวใจ และช่วยต้านความชรา ป้องกันโรคผิวหนัง บรรเทาอาการปวดเมื่อยของข้อเข่า และเอว รวมถึงสามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ควบคุมความดันโลหิต บำรุงตับ และเป็นยาระบายอ่อนๆด้วย

เมล็ดฟักทอง ที่นำมาคั่วเป็นอาหารขบเคี้ยวรสชาติมันๆนั้น ให้โปรตีนมากรองลงมาจากถั่วลิสง มีไขมันต่ำ ให้ธาตุเหล็กสูง นอกจากนั้นก็ยังมีแร่ธาตุอย่างฟอสฟอรัส แมกนีเซียม โพแทสเซียม สังกะสี แคลเซียม วิตามินเอ ใยอาหารและกรดไขมันที่จำเป็น เมล็ดฟักทอง 1 กรัมมีกรด อะมิโนทริปโทเฟนมากเท่ากับที่มีในนมสดปริมาณหนึ่งแก้ว

ภาพที่ 1 ลักษณะของฟักทอง

แหล่งที่: https://medthai.com/ฟักทอง/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์คุณค่าทางโภชนาการ

ฟักทองดิบ 100 กรัม มีคุณค่าทางโภชนาการดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการฟักทอง (ต่อฟักทอง 100 กรัม)

คุณค่าทางโภชนาการ	ปริมาณ	หน่วย
พลังงาน	26	Kcal
คาร์โบไฮเดรต	65	Gm
ธาตุแคลเซียม	21	Gm
น้ำตาล	2.76	Gm
โปรตีน	1	Gm
เส้นใย	0.5	Gm
ไขมัน	0.1	Gm
ธาตุโพแทสเซียน	340	Mg
ธาตุฟอสฟอรัส	44	Mg
ธาตุแมกนีเซียม	12	Mg
ธาตุโซเดียม	1	Mg
ธาตุเหล็ก	0.8	Mg
ธาตุสังกะสี	0.32	Mg
ธาตุแมงกานีส	0.125	Mg
วิตามินบี1	0.05	Mg
วิตามินบี2	0.11	Mg
วิตามินบี3	0.6	Mg
วิตามินบี5	0.298	Mg
วิตามินบี6	0.061	Mg
วิตามินบี9	16	Mg
วิตามินซี	11	Gm
วิตามินอี	0.44	Mg
วิตามินเค	1.1	Mg

แหล่งที่มา : https://medthai.com/ฟักทอง/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.พอลิแซ็กคาไรด์

พอลิแซ็กคาไรค์ polysaccharide เป็นโพลิเมอร์ที่มีสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลักเกิดจากโมโนแซคคาไรค์ตั้งแต่ 10 โมเลกุลขึ้นไปจนถึง 1000 โมเลกุลมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกพอลิแซ็กคาไรค์ในธรรมชาติส่วนใหญ่ไม่มีสี ไม่มีรส (สุวิทย์ และ ณิฐธิดา , 2556) โครงสร้างมีได้ตั้งแต่เส้นตรงไปจนถึงแตกกิ่งมากมาย พอลิแซ็กคาไรด์มักพบเป็นวิวิธพันธุ์ (heterogeneous) ซึ่งประกอบด้วยการดัดแปลงหน่วยซ้ำ ๆ เล็กน้อย โมเลกุลใหญ่เหล่านี้สามารถมีคุณสมบัติแตกต่างจากโมโนแซ็กคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบได้ ขึ้นอยู่กับโครงสร้าง เช่น อาจอสัณฐานหรือละลายน้ำไม่ได้ก็ได้ (Etzler,1999)

พอลิแซ็กคาไรค์แบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่

1.โฮโมพอลิแซ็กคาไรค์ (homopolysaccharide)

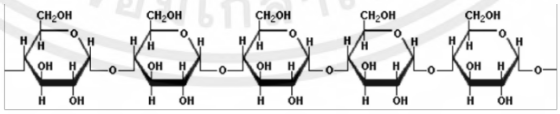
2.เฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (heteropolysaccharide)

โฮอโมพอลิแซ็กคาไรด์ (homopolysaccharide) คือ พอลิแซ็กคาไรด์ที่โมเลกุลประกอบด้วยมอโนแซ็กคาไรด์ชนิดเดียวกันทั้งหมด เช่น แป้ง (starch) ไกลโคเจน (glycogen) และเซลลูโลส (cellulose) ซึ่งในโมเลกุลประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสเท่านั้น และอินูลิน (inulin) คือ พอลิแซ็กคาไรด์ที่โมเลกุลประกอบด้วยน้ำตาลฟรักโทสเท่านั้น (นิธิยา,2562)

แป้ง (Starch) จะประกอบไปด้วยกลูโคสเพียงชนิดเดียว พืชจะสะสมแป้งที่เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง จะได้สาร 2 ชนิด คือ อะไมโลส และ อะไมโลเพกทิน

- อะไมโลส เป็นพอลิเมอร์สายตรงของน้ำตาลกลูโคส ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซดิกชนิด a-1,4 ประมาณ 200-2,000 หน่วย

- อะไมโลเพกทิน เป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสที่จัดเรียงตัวเป็นสายตรงและสายแขนง ด้วยพันธะไกลโคซิดิก 2 ชนิด คือ ส่วนที่เป็นพันธะสายตรง เป็นชนิด a-1,4 เหมือนกับอะไมโลส และส่วนที่เป็นสายแขนงจะเชื่อมต่อด้วยพันธะ ชนิด a-1,6



A. อะไมโลส

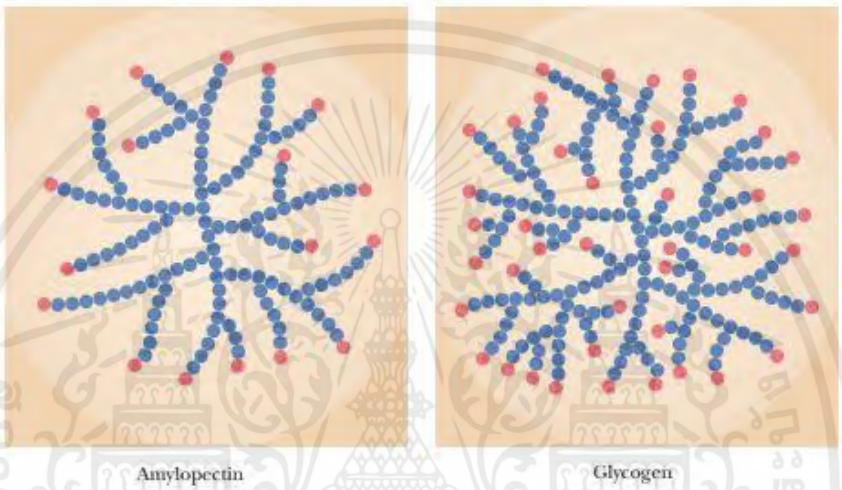
B. อะไมโลเพกทิน

ภาพที่ 2 โครงสร้างของสารพอลิแซ็กคาไรด์

ที่มา: https://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates1.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แป้งจะทดสอบโดยใช้สารละลายไอโอดีน ถ้ามีส่วนผสมของแป้งสารละลายไอโอดีนที่หยดลงไปจะเปลี่ยนจากสีน้ำตาลเป็นสีน้ำเงินเข้มหรือดำ ถ้าไม่มีแป้งจะไม่เปลี่ยนสีของสารละลายไอโอดีนนั่นเอง ไกลโคเจน (glycogen) เป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส ประมาณ 10,000-30,000 โมเลกุล เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก ชนิด (α-1,4) และแอลฟา (α-1,6) มีโครงสร้างเป็นกิ่งก้านคล้ายอะไมโลเกทิน (amylopectin) ในแป้ง (starch) แต่ขนาดโมเลกุลใหญ่กว่ามาก และมีการแตกกิ่งมากกว่าจึงอาจเรียกว่า สตาร์ชสัตว์ (animal starch)



ภาพที่ 3 เปรียบเทียบโครงสร้างการเรียงตัวของอะไมโลเพกทินกับไกลโคเจน
ที่มา: https://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohydrates1.html

ร่างกายมนุษย์ และสัตว์ จะสะสมคาร์โบไฮเดรตในรูปไกลโคเจน โดยสะสมบริเวณตับและกล้ามเนื้อ ใช้สำหรับเป็นแหล่งของพลังงาน ไกลโคเจนในตับยังมีประโยชน์ เพื่อปรับระดับกลูโคสในเลือดให้คงที่ เมื่อปริมาณน้ำตาลในเส้นเลือดลดลง หรือร่างกายขาดสารอาหาร ตับจะเปลี่ยนไกลโคเจนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส

เซลลูโลส (Cellulose) เป็นพอลิเมอร์มีลักษณะสายตรงของน้ำตาลกลูโคสที่แต่ละหน่วยเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก ชนิด b-1,4 พบเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืชและสาหร่ายบางชนิด

อินูลิน (inulin) เป็นคาร์โบไฮเดรตที่สะสมในพืชอีกชนิดที่พบในหัว (tuber) ของ dahlia และ artichoke ประกอบด้วย น้ำตาลฟรุกโทส หลาย ๆ หน่วยเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก ชนิด b-1,2

2 เฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (heteropolysaccharide) คือ พอลิแซ็กคาไรด์ที่โมเลกุลประกอบด้วยมอโนแซ็กคาไรด์มากกว่าหนึ่งชนิด เช่น เฮมิเซลลูโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พอลิแซ็กคาไรด์มีหน้าที่เป็นแหล่งสะสมอาหารทั้งในพืชและสัตว์ ในพืชคาร์โบไฮเดรตถูกสะสมไว้ในรูปแป้ง ส่วนในสัตว์สะสมไว้ในรูปไกลโคเจน นอกจากนั้นพอลิแซ็กคาไรด์ในพืชยังทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์และโครงสร้างของเซลล์พืช เช่น เซลลูโลส เพกทิน (pectin) ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย เช่น เพปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) และพบในเปลือกของพวกกุ้ง ปู แมลง เช่น ไคทิน (chitin)

3.เชื้อจุลินทรีย์

ความสำคัญของเชื้อจุลินทรีย์

ปีงบประมาณ 2551 กรมประมงโดยศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสาครร่วมกับสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ได้ค้นคว้าวิจัยผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุลินทรีย์เรียกว่า "หัวเชื้อจุลินทรีย์ ปม. 1 " โดยคัดเลือกจุลินทรีย์ในกลุ่ม Bacillus(บาซิลลัส) 3 ชนิด คือ B. *subtilis* (BS), B. *megaterium* (BM) และ B. *licheniformis* (BL) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ตกค้างและสะสมในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ กรมประมงดำเนินการผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 เพื่อแจกจ่ายให้กับเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทั่วประเทศไทยตั้งแต่ปี 2551 โดยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เกิดจากกิจกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ต่อมาในช่วงปลายปี 2554 พบการเกิดโรคตายด่วนในกุ้งทะเล หรือโรค EMS (early mortality syndrome) ในประเทศไทย และในปี 2555 มีการแพร่ระบาดมากขึ้นทำให้ผลผลิตกุ้งทะเลของไทยที่มีมากกว่า 6 แสนตันต่อปีลดลงเหลือประมาณ 2 แสนตัน ในปี 2557 ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสาครจึงได้ทำการวิจัยเพื่อแก้ปัญหาโรคตายด่วนในกุ้งทะเล ตั้งแต่ปี 2554-2556 พบว่าจุสินทรีย์บาซิลลัส ในหัวเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 มีประสิทธิภาพในการควบคุมและป้องกัน รวมถึงช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกุ้งต่อเชื้อ *V. parahoemolyticus* (VP) สายพันธุ์ที่ก่อโรค EMS(Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease; AHPND) (ชัยวุฒิ และคณะ, 2558)ผลของการวิจัยนำไปสู่แนวทางการใช้จุลินทรีย์ เพื่อควบคุม ป้องกันและแก้ปัญหาการเกิดโรคตายด่วนของกรมประมง ซึ่งได้รับการตอบรับจากเกษตรกรเป็นอย่างดี ทำให้มีความต้องการหัวเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 เพิ่มสูงขึ้นกองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งได้ดำเนินการผลิตและแจกจ่ายจุสินทรีย์ ปม.1 ทั้งสูตรผงและสูตรน้ำให้แก่เกษตรกรมาอย่างต่อเนื่องจนถึงปัจจุบัน (ชัยวุฒิ,2558)

3.1. *Bacillus subtilis*

เป็นแบคทีเรีย (bacteria) รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) ย้อมติดสีแกรมบวก (gram positive bacteria)(พิมพ์เพ็ญ และ,นิธิยา ม.ป.ม.) เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่ง มีการสร้างสปอร์ มีขนาดของเซลล์ต่างๆ กัน 0.5x1.2-2.5x10 Um มีเอนโดสปอร์ซึ่งมีรูปร่างแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของเชื้อ พบได้ทั่วไปตามพื้นดิน ต้นไม้ส่วนใบ ลำต้นและบริเวณรากพืช เติบโตได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดี เติบโตได้ดีในอาหารหลายชนิด เติบโตได้ดีใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิปกติและพีเอชเป็นกลาง จัดเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรคแก่คนและสัตว์ สามมารถผลิตเอนไซน์หลายชนิดที่สำคัญได้ แก่ amylase และ protease เป็นต้น (Boer and Diderichsen,1991)

การจัดจำแนกหมวดหมู่ทางวิทยาศาสตร์ (Classification and nomenlature) ตาม Bergey'smanaul (Stanley etal ,1989)

Kingdom Procaryotac

Division the Bacteria

Ordre Cytophagaccae

Famity Bacillaceae

Genus *Bacillus*

3.2.1.ลักษณะทั่วไป

Bacillus subtilis เซลลเปนรูปทอนตรง ขนาด 0.3–2.2 x 1.2–7.0 ไมโครเมตรสวนใหญ สามารถเคลื่อนที่ได ติดสีแกรมบวก เปนจุลินทรีย Gram-positive หายใจโดยใชออกซิเจนเปนตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท่าย *B. subtilis* เปน rod-shaped group สามารถที่จะผลิตrobust endospore ในการเปนปฏิปกษตอ microorganism อื่นได มีโครงสรางที่เปนสวนrefractile สูงอยูตรงบริเวณเซลล และเอนโดสปอรมีลักษณะแผกระจายมีการเรียงตัวทั้งแบบโซและแบบเดี่ยว ซึ่งลักษณะโคโลนีของ *B. Subtilis* จะเปนแบบทึบแสง และอาจมีลักษณะขอบขรุขระ เปนสีครีมถึงน้ำตาล (สุวรรณา, 2549)

ภาพที่ 4 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

ที่มา:http://www.kontrollstaemme.de/eshop/single-view/bid/78/produkt/bacillus-subtilis.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.ประโยชนของ *Bacillus subtilis* (BS)

-ย่อยสลายอินทรีย์ไขมัน โปรตีน และคาร์โบไอเดรต ที่ตกค้างในน้ำและดินของบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำได้ดี

-เป็นโพรไบโอติกที่ลดปริมาณเชื้อวิบริโอ (*Vibrio* spp.) และเพิ่มปริมาณแบคทีเรียที่มีประโยชน์เพื่อรักษาสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์น้ำ รวมทั้งกระตุ้นภูมิคุ้มกันของกุ้งต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

-ช่วยลดค่า PH ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์น้ำ ให้เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกควบคุมเชื้อวิบริโอ ป้องกันการเกิดของไบโอฟิล์ม (Biofilm) ของเชื้อวิบริโอ และแบคทีเรียก่อโรคอื่น ๆ ในระบบทางเดินอาหารและบริเวณพื้นบ่อ ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคตายด่วน (EMS) ที่เกิดจากการติดเชื้อ V. *parahaemolyticus* (AHPND) และอาการขี้ขาวในกุ้งทะเล

-ลดการเกิดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ที่เป็นสาเหตุในการเกิดกลิ่นโคลน

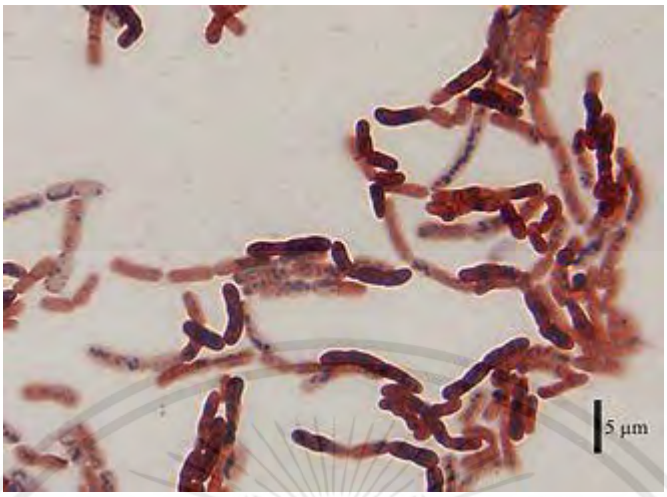
-ลดสารต้านโภชนาการในอาหารเม็ดสำเร็จรูป

-สามารถหมักร่วมกับสับปะรดหรือถั่วเหลือง ได้สารอาหารที่มีประโยชน์ เช่น เอนไซม์ กรดอะมิโน วิตามิน และแร่ธาตุ

3.3. *Bacillus megaterium*

Bacillus megaterium มีรูปรางเปนเซลลรูปทอนขนาดใหญ 1.2-1.5 x 2-5 µm สรางสปอรรูปทรงวงรี ไมทำใหเซลลโปง บางครั้งเซลลอาจเปลี่ยนแปลงรูปรางเปนคลายกระบองสวนกวางของเซลลเปลี่ยนแปลงได ทำใหเกิดลักษณะ pleomorphic สวนของสปอรอิสระ อาจเปนรูปกลมบาง โดยเฉพาะสปอรที่แกๆ สามารถสราง poly-hydroxy butyrate granule ไดในอาหาร Nutrient Agar (NA) ลักษณะโคโลนีกลม สีขาวขุน ขอบเรียบเสนผานศูนยกลางประมาณ 0.3 - 0.6 เซนติเมตร นอกจากนี้ *Bacillus megaterium* ยังใชเปนปุยชีวภาพซึ่งมีความสามารถในการยอยสลายฟอสเฟต ทั้งจากไขมันและจากแรธาตุในดิน ทำใหมีสารประกอบฟอสเฟตละลายน้ำออกมาเปนประโยชนแกแพลงกตอนพืช เปนอยางดี และยังสามารถใชยับยั้งการเจริญเติบโตและยับยั้งการทำลายของเม็ดเลือดของ *V. harveyi* (จรีพร, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus megaterium*

ที่มา: https://en.wikipedia.org/wiki/Bacillus_megaterium

3.3.1ประโยชน์ของเชื้อ *Bacillus megaterium* (BM)

-ย่อยสลายฟอสเฟต และแร่ธาตุในดิน ทำให้ฟอสเฟตละลายน้ำออกมาเป็นประโยชน์ต่อแพลงก์ตอนพืช

-ย่อยสลายอินทรีย์ ไขมัน โปรตีน และ คาร์ไบไฮเดรต ที่ตกค้างในดินและน้ำของบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำได้ดี

-ใช้หมักร่วมกับรำข้าว เพื่อสร้างอาหารธรรมชาติ ก่อนการปล่อยกุ้งลงเลี้ยง

-ยับยั้งการเจริญ และการทำลายเม็ดเลือดกุ้งทะเลของเชื้อ *V. harveyi*

-ทนความเค็มสูงได้ดี

-เป็นโพรไบโอติก กระตุ้นภูมิคุ้มกันและควบคุมเชื้อวิบริโอ

3.4. *Bacillus licheniformis*

Bacillus licheniformis เปนแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปในดินและขนนก นกที่มีแนวโน้มที่จะอยู่บนพื้นดินมากกว่าอากาศ เชน นกกระจอก และในน้ำ เชน เปด *Bacillus licheniformis* เปน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

facultative anaerobic คือสามารถในการทำงานในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือไม่มีออกซิเจนเลยก็ได้ ซึ่งตัวนี้เหมาะสำหรับยอยสลายสารอินทรียที่พื้นบอ ทำใหมีขี้เลนน่อยลงและกำจัดกลิ่นเลนเนาเหม็น *B. licheniformis* มีคุณสมบัติเชนเดียวกับ *B. subtilis* โดยมีลักษณะพิเศษคือสามารถทำงานไดดีทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไมมีออกซิเจนก็ได้ จึงเหมาะที่จะใชในการยอยสลายรวมกับ B. subtilis และพบวา *B. licheniformis* มีความสามารถในการยอยโปรตีนที่มีโครงสราางซับซอนที่ยอยสลายไดยากเชน เคราติน (keratin) ไดดี นอกจากนี้มีการวิจัยนำมาใชเปนโปรไบโอติกเพื่อใชในการเลี้ยงกุงขาวแบบพัฒนา พบวาสามารถลดปริมาณเชื้อ *Vibrio* spp. และเพิ่มปริมาณแบคทีเรียที่มีประโยชนรักษาสมดุลของจุลินทรียในระบบทางเดินอาหาร รวมทั้งเพิ่มภูมิคุมกัน นอกจากนี้พบวา *B.licheniformis* บางสายพันธุยังเปนพวก Denitrifiers สามารถเปลี่ยนไนเตรท (NO_3) ไปเปนไนไตรท (NO_2) จนถึงไนโตรเจน N_2 (ศูนยวิจัยและพัฒนาประมงชายฝงสมุทรสาคร, 2556)

ภาพที่ 6 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis*

ที่มา https://lactospore.com/about-lactospore/bacillus-coagulans/:

3.4.1ประโยชน์ของเชื้อ *Bacillus licheniformis* (BL)

-ย่อยสลายอินทรีย์ได้ดีทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนโดยเฉพาะสามารถย่อยโปรตีนที่มีโครงสร้างซับซ้อนที่ย่อยสลายได้ยาก เช่น เคราติน (Keratin) ได้เป็นอย่างดี

-ย่อยสลายอินทรีย์ โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮดรต ที่ตกค้างในน้ำและดินของบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-เป็นโพรไบโอติกสามารถลดปริมาณเชื้อวิบริโอ และเพิ่มปริมาณแบคที่เรียที่มีประโยชน์เพื่อรักษาสมดุลของจุสินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์น้ำ

-ช่วยกระตุ้นระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อวิบริโอ โดยเฉพาะเชื้อ V. *parahaemoyticus* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรค EMS ในกุ้งทะเล

-ลดปริมาณแอมโมเนียและสารประกอบไนโตรเจนในน้ำ ควบคุมการเกิดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ที่มีสาร Geosmin เป็นสาเหตุของกลิ่นเหม็นโคลนในสัตว์น้ำ

-ควบคุมเชื้อ *Vibrio* spp, *Aeromomas* spp. และ *Streptococcus* spp. ในปลากะพงขาว ปลานิล ปลาทับทิม ปลาซ่อน ปลาดุก ปูทะเล กบ จระเข้ เป็นต้น

-มีเอนไซม์ที่ย่อยสลายโมเลกุลของโปรตีนให้เป็นเพปโทน และเพปไทด์ หรือโปรตีนไฮโดรไลเสต (Protein hydrolysate) ได้กรดอะมิโน ทำให้กุ้งดูดซึมสารอาหารได้เป็นอย่างดี ช่วยในการเจริญเติบโตของกุ้ง

-ช่วยย่อยอาหาร ทำให้สัตว์น้ำดูดซึมสารอาหารได้ดี มีอัตราการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น

- เพิ่มจำนวนใต้ในความเค็มตั้งแต่ 0 - 50 ppt

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อภิชาต และ ประกิตติ์สิน (2551) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบเชิงซ้อนพอลิแซกคาไรด์-โปรตีน (polysaccharide-protein complex) ที่สกัดได้จากเส้นใยของเห็ดตับเต่าดำ (Phaeogyroporus portentosus) ซึ่งเป็นเห็ดที่นิยมบริโภคอย่างแพร่หลายในประเทศไทยเริ่มต้นด้วยการสกัดสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดด้วยน้ำร้อน และตกตะกอนด้วยเอทานอล ผลการทดลองยืนยันว่าสารประกอบเชิงซ้อนที่สกัดได้จากเห็ดตับเต่าดำเป็นแหล่งของสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรมได้

ภาณุพงษ์ และคณะ(2566)เห็ดมีคุณประโยชน์มากมายซึ่งส่วนประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณของปริมาณเกลือแร่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน ตลอดจนส่วนประกอบของกรดอะมิโนโปรตีนของเห็ดและยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพมากมาย ทั้งต้านจุลินทรีย์ ต้านไวรัส ต้านมะเร็ง และต้านอนุมูลอิสระยกตัวอย่างเช่น เห็ดฟาง ที่สามารถช่วยลดการทำลายเม็ดเลือดแดง และเป็นเห็ดที่นิยมบริโภคกันมาก มีการนำเห็ดฟางไปใช้ประโยชน์ทางยา เนื่องจากเห็ดฟางมีพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเนื้องอก มีเลคตินที่มีฤทธิ์ปรับระบบภูมิคุ้มกัน และมีโปรตีนที่มีฤทธิ์กดภูมิคุ้มกัน ด้วยประโยชน์ของเห็ดฟางที่มีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์มีประโยชน์ดังกล่าวข้างต้น ประกอบด้วยสามารถหาวัตถุดิบได้ง่าย ต้นทุนต่ำ ผู้วิจัยจึงมีความสนใจคิดค้นกรรมวิธีการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่เหมาะสมเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อาหาร และยา หรืออุตสาหกรรมอื่นๆที่เกี่ยวข้อง

บุณยกร และคณะ (2564)สาหร่าย *Nostoc commune* Vaucher หรือสาหร่ายเห็ดลาบ เป็นสาหร่ายในกลุ่มไซยาโนแบคทีเรีย หรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ที่อุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยเฉพาะไบโอพอลิเมอร์ (พอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีน) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดสารจากสาหร่าย *N. commune*ด้วยน้ำร้อน และน้ำร้อนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง ในแง่ของสมบัติด้านกายภาพและเคมี น้ำหนักโมเลกุล และพฤติกรรมการไหลของไบโอพอลิเมอร์ที่ได้ทำการศึกษา ทราบว่า สภาวะที่ดีที่สุด ทั้งด้านกายภาพและเคมี ในการสกัดไบโอพอลิเมอร์ด้วยน้ำร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

วัสดุและสารเคมี

1.เชื้อแบคทีเรีย

1.1*Bacillus subtilis* (BS)

1.2 *Bacillus megaterium* (BM)

1.3 *Bacillus licheniformis* (BL)

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1Trypticase soy agar(TSA)

2.2Nutrient Broth(NB)

3.ฟักทอง

4. สารเคมีที่ใช้ทำอาหารเลี้ยงเชื้อ ปม1

4.1.Sucrose

4.2.Dipotassium phosphate(K_2HPO_4)

4.3.Potassium Dihvdrogenphosphate(KH_2PO_4)

4.4.Diammonium phosphate($(NH_4)_2PO_4$)

4.5.Magnesium sulfate $MgSO_4$)

4.6.Sodium chloride($NaCI_4$)

4.7.Ferou Sulfate Heptahydrate ($FeSO_4$ $7H_2O$)

4.8 Manganese(ll)Sulphate 1-Hydrate(Mn_4SO_4 H_2O)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1.สำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 ไมโครเวฟ

1.2 ตู้อบฆ่าเชื้อแบบอบลมร้อน(Hot air oven)

1.3 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ(Autoclave)

1.4 ตู้ปลอดเชื้อ(Laminar Air Flow)

1.5 จานเพาะเชื้อแก้ว(Petri dish glass)

1.6 กระบอกตวง

1.7 ตาชั่งดิจิตอล

1.8 beakre ขนาด 500 ml

1.9 Flask ขนาด 500 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.10 ลำสี

1.11 ฟอยล์

1.12 ถุงพลาสติก

1.13 หนังยาง

1.14 75% แอลกอฮอล์

1.15 ตะเกียงแอลกอฮอล์

2.สำหรับใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

2.1 ตู้เพาะเชื้อ(lncubator)

2.2 ลูปเขี่ยเชื้อ(lnoculation Loop)

2.3 ตะเกียงแอลกอฮอล์

2.4 75% แอลกอฮอล์

2.5 ตู้ปลอดเชื้อ(Laminar Air Flow)

3.สำหรับการสกัดสารพอลีแซ็กคาไรด์

3.1 น้ำกลั่น

3.2 มีด

3.3 เขียง

3.4 เครื่องปั่น

3.5 เตาให้ความร้อน(Hotplate)

3.6 แท่งแก้วคนสาร(Glass Stirring Rod)

3.7 เทอร์โมมิเตอร์(Thetmometer)

3.8 ผ้าขาวบาง

3.9 กระดาษกรอง 0.1 ไมครอน

3.10 ชุดกรองแก้ว(Buchner Funnel Suction Flask)

3.11 ขวด Duran ขนาด 500 ml-1000ml

3.12 เครื่องหมุนเหวี่ยง(Centrifuge)

3.13 Corning tube ขนาด 50 ml

3.14 Parafilm

3.15 beaker ขนาด 50 ml

3.16 ตาชั่งดิจิตอล

3.17 ตู้อบฆ่าเชื้อแบบอบลมร้อน(Hot air oven)

3.18 เอทอล 75 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.สำหรับการทดลองความสามารถของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

4.1 หลอดทดลองฝาเกลียว(Test tube screw cap)

4.2 Micopipette tip

4.3 Micopipette

4.4 เครื่องเขย่าสาร(Shaker)

4.5 กล้องจุลทรรศน์(Microsope)

4.6 สไลด์นับเม็ดเลือด(Counting Chamber)

4.7 น้ำเกลือ

4.8 ตะเกียงแอลกอฮอล์

4.9 75 % แอลกอฮอล์

4.10 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Flow)

4.11 ลูปเขี่ยเชื้อ (Inoculation Loop)

4.12 ตู้อบฆ่าเชื้อแบบอบลมร้อน (Hot air oven)

4.13 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

5. สำหรับการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ BS BM และBL ในอาหารสูตรต่างๆ

5.1 Micro centrifuge tube ขนาด 1.5 ml

5.2 เครื่องให้อากาศ

5.3 Flask ขนาด 250 ml - 1000 ml

5.4 จุกยาง

5.5 เข็มฉีดยา ขนาด 50 ml

5.6 หลอดแก้วให้อากาศ

5.7 สายซีลิโคน

5.8 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Flow)

5.9 ตู้อบฆ่าเชื้อแบบอบลมร้อน (Hot air oven)

5.10 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

5.11 สำลี

5.12 ฟอยล์

5.13 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)

5.14 สไลด์นับเม็ดเลือด (Counting Chamber)

5.15 Micropipette tip

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.16 Micropipette

5.17 ขวด Duran ขนาด 500 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 **ศึกษาปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองด้วยวิธีสกัดที่แตกต่างกัน**

1.1. การศึกษาปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองด้วยวิธีสกัดที่แตกต่างกัน

นำฟักทองมาปลอกเปลือกและล้างน้ำ จากนั้นหันเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปปั่นผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนตัวอย่างฟักทองต่อน้ำ 1:4 (น้ำหนักต่อปริมาณ) โดยทำการเปรียบเทียบการสกัด โดยการสกัดแบบต้มที่อุณหภูมิน้ำร้อนที่ 90-95 °C นาน 30 นาที และ สกัดด้วยน้ำแบบไม่ต้ม (สกัดที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที) และการสกัดด้วย 75% เอทานอล อุณหภูมิ 75 °C เป็นเวลา 30 นาทีจากนั้นกรองกากทำการสกัดซ้ำรวม 3 ครั้ง เมื่อทำการสกัดข้างต้นแล้วนำส่วนน้ำที่ได้จากการสกัดผสมกับ75%เอทานอลในอัตราส่วนตัวอย่างน้ำที่ได้จากการสกัดต่อเอทานอล 1:1 (ปริมาณต่อปริมาณ) จากนั้นนำไปแช่ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 1 คืน และนำไปทำการ Centrifugeที่ความเร็วรอบ 5000 รอบ เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เก็บส่วนตะกอนที่ได้ (พอลิแซ็กคาไรด์) ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งแล้วชั่งน้ำหนัก และคำนวนค่า % Yield ของสารสกัดดังสมการ

$$\% \text{ Yield} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัด}}{\text{น้ำหนักฟักทองที่ใช้}} \times 100$$

1.2 การวิเคราะห์

นำไปน้ำหนักพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน(Analysis of variance) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธีการของ Duncan's newmultiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ B. *subtilis*, B. *megaterium* และB. *licheniformis*

2.1 สายพันธุ์แบคที่เรียที่ใช้ในการทดสอบ

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบมีทั้งหมด 3 สายพันธุ์ คือ B. *subtilis*, B. *megaterium* และ B. *Licheniformis* ซึ่งได้จากกรมประมง

2.2 สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์

สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ โดยทำการสกัดจากฟักทองด้วยวิธีที่ดีที่สุดซึ่งได้จากการทดลองที่ 1 นั่นก็คือการสกัดด้วยน้ำโดยการนำฟักทองมาปลอกเปลือกและล้างน้ำ จากนั้นนั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปปั่นผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนตัวอย่างฟักทองต่อน้ำ 1:4 (น้ำหนักต่อปริมาณ) โดยนำไปต้มที่อุณหภูมิ 90-95 °C เป็นเวลา 30 นาที ทำการสกัดซ้ำรวม 3 ครั้ง เมื่อทำการสกัดข้างต้นแล้วนำส่วนน้ำที่ได้จากการสกัดผสมกับเอทานอล 75% ในอัตราส่วนตัวอย่างน้ำที่ได้จากการสกัดต่อเอทานอล 1:1 (ปริมาณต่อปริมาณ) จากนั้นนำไปแช่ที่อุณหภูมิ 3 °C เป็นเวลา 1 คืน และนำไปทำการ Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 5000 รอบ เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เก็บส่วนตะกอนที่ได้ (พอลิแซ็กคาไรด์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การทดสอบการเจริญของแบคที่เรียทดสอบ

2.3.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, B. megaterium* และB. *licheniformis* มาเขี่ยเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C 18-24 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางเชื้อแบคทีเรียด้วย 0.85% NaCl ปรับความขุนให้ใกล้เคียงกับความขุ่นของ McFarland เบอร์ 1 ($3.0x10^8$)

2.3.2 การทดสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบการเจริญของเชื้อแบคที่เรียแต่ละชนิดโดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองโดยที่ทำการชั่งสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ปริมาณ 0, 0.05, 0.08 และ 0.1 กรัมผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ความเข้มข้นละ 9 มิมิลิตร จากนั้นเติมสารละลายแบคทีเรียจากข้อ 2.3.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0, 0.5, 0.8 และ1% ของปริมาตรอาหารที่ใช้ในการทดลองตามลำดับ จากนั้นนำไปบ่มในตู้ Shaker incubatorที่ความเร็วรอบ 120 rpm ที่อุณหภูมิ 37 °C

2.3.3 การวัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

ทำการวัดการเจริญเติบโตโดยการนับจำนวนเซลล์ด้วย Counting Chamber ที่ 0, 1, 3, 5, 10, 15, 19 และ24 ชั่วโมง โดยดูดเชื้อมา 10 ไมโครลิตร จากแต่ละความเข้มข้น ใส่ลงในไสลด์นับเม็ดเลือด จำนวนเซลล์ของเชื้อทั้งหมดจะได้จากการนับเซลล์ที่ปรากฏในช่องสี่เหลี่ยมเล็กทั้ง4มุมรวมกันกับช่องตรงกลาง(ภาพที่ 9)แล้วบันทึกจำนวนเซลล์แบคที่เรียในแต่ละช่วงเวลาคำนวณค่าการเจริญเติบโตเป็นเซลล์ต่อมิลลิลิต พร้อมสร้างกราฟการเจริญเติบโต

2.4 การวิเคราะห์

นำจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน(Analysis of variance) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธีการของ Duncan's newmultiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

การทดลองที่ 3 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ B. *subtilis*, B. *megaterium* และB. *licheniformis* ในอาหารสูตรต่างๆ

3.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

การเตรียมเชื้อแบคที่เรียแต่ละชนิด โดยนำเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, B. megaterium* และ B. *licheni* มาเขี่ยเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C 18-24 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อที่ได้แต่ละชนิดจำนวน 3 ลูป ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหาร NB ปริมาตร 150 มิลลิลิตรจำนวน 3 ขวด (แยกใส่ 1 เชื้อต่อ 1 ขวด) แล้วเป่าให้อากาศนาน 24 ชั่วโมง

3.2 การเตรียมสูตรอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารที่ใช้ในการทดลองมี 3 สูตรการทดลอง คือ อาหาร Minimal Medium (สูตรกรมประมง) ซึ่งมีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 1), สูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งไม่มีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 2) และสูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากมันฝรั่งแทนน้ำตาล Sucrose (สูตรที่ 3) ซึ่งส่วนประกอบของสูตรอาหารแต่ละสูตรแสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สูตรอาหาร MM สำหรับขยายหัวเชื้อ ปม.1

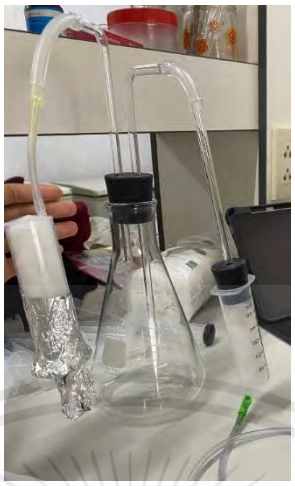
ลำดับ	สาร	สูตรอาหาร(กรัม/ลิตร)		
		สูตรที่1	สูตรที่2	สูตรที่3
1	polysaccharide	-	-	10
2	Sucrose	10	-	-
3	K_2HPO_4	2.5	2.5	2.5
4	KH_2PO_4	2.5	2.5	2.5
5	$(NH_4)_2PO_4$	1	1	1
6	$MgSO_4$	0.2	0.2	0.2
7	$NaCl_4$	0.85	0.85	0.85
8	$FeSO_4\ 7H_2O$	0.01	0.01	0.01
9	$Mn_4SO_4\ H_2O$	0.007	0.007	0.007

เตรียมอาหารตามสูตร ข้อ 1-7 จากนั้นชั่ง $FeSO_4H0$ และ$Mn_4SO_4H_20$ ข้อ 8 และ 9ละลายในบีกเกอร์ (น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เติม $FeSO_4H_201$ กรัม และ น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เติม $Mn_4SO_4H_2$ 0 0.7 กรัม) แล้วดูดสารละลายแต่ละตัวใส่ลงในขวด Duran ที่ผสมอาหารตามสูตร ข้อ 1-7 จำนวน 1 มิลลิลิตร/ลิตร ปิดฝาขวด Duran หลวมๆ แล้วปิดด้วยอลูมิเนียมฟอยล์จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C นาน 2 ชั่วโมง

3.3 การเตรียมอุปกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อ

เตรียมอุปกรณ์เติมอากาศ โดยการประกอบท่อหลอดแก้วสำหรับอากาศเข้าและออก สาซิลิโคน จุกยาง ชุดกรองอากาศ (หลอดฉีดยาขนาด 50 มิลลิลิตร พร้อมสำลี และจุกยาง) จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาประกอบชุดอุปกรณ์เติมอากาศดังภาพที่ 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



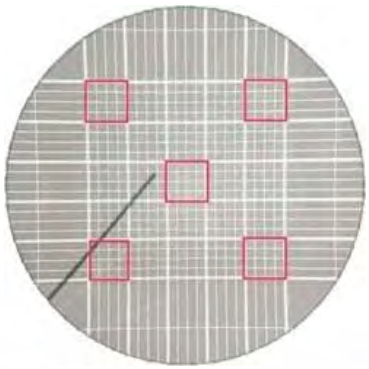
ภาพที่ 7 ชุดอุปกรณ์เติมอากาศ

3.4. การทดสอบการเจริญเติบโตของ *B. subtilis*, *B. megaterium* และ*B. licheniformis* ในอาหารสูตรต่างๆ

นำเชื้อแบคทีเรียที่เป่าให้อากาศครบ 24 ชั่วโมงมาเติมในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหาร MM สูตรต่างๆ ที่เตรียมไว้ ทั้ง 3 สูตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร/ลิตร ปิดขวดรูปชมพู่ให้สนิทด้วยจุกยางและชุดกรออากาศที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (ระหว่างการประกอบชุดกรองอากาศ ต้องมีการลนไฟฆ่าเชื้อบริเวณปากขวดและที่สำลีเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจากอากาศ) หลังจากนั้นเติมอากาศโดยการใช้ปั๊มลมต่อเข้ากับชุดกรองอากาศที่เตรียมไว้ ดังภาพที่ 7 เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้องนาน 48ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการวัดการเจริญเติบโตโดยการนับจำนวนเซลล์ด้วย Counting Chamberการนับปริมาณเซลล์ของเชื้อโดยการเจือจางความเข้มข้นของเชื้อในน้ำเกลือ 0.85% ในอัตราส่วน 1:9(เชื้อ 100 ไมโครลิตรผสมกับน้ำเกลือ 0.859 ปริมาตร 900 ไมโครลิตร) นำเชื้อมา 10 ไมโครลิตร ใส่ลงในไสลด์นับเม็ดเลือด จำนวนเซลล์ของเชื้อทั้งหมดจะได้จากการนับเซลล์ที่ปรากฏในช่องสี่เหลี่ยมเล็กทั้ง4มุมรวมกันกับช่องตรงกลาง(ภาพที่ 9) แล้วบันทึกจำนวนเซลล์แบคทีเรียและคำนวนค่าการเจริญเติบโตเป็นเซลล์ต่อมิลลิลิตร

ภาพที่ 8 การเติมอากาศโดยใช้ปั๊มลมต่อเข้ากับชุดกรองอากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 ลักษณะการนับเม็ดเลือดแดง

แหล่งที่มา : https://www.mitthai.com/topic/viewtopic.php?t=7419

3.5. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการนับจำนวนเซลล์ของเชื้อในแต่ละสูตรอาหารไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธีการของ Duncan's newmultiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

ระยะเวลาทำการ

ใช้เวลาในการศึกษาการทดลองเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์

สถานที่ทำการทดลอง

อาคารเรียนรวมห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ อาคารปฏิบัติการสาขาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนและห้องปฏิบัติการโรคสัตว์น้ำ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองด้วยวิธีสกัดที่แตกต่างกัน

จากการนำฟักทองมาสกัดด้วยสภาวะต่างๆ คือการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 90-95 ℃ นาน 30 นาที และการสกัดด้วย 75% เอทานอล ที่อุณหภูมิ 75 ℃ นาน 30 นาที เพื่อหาสภาวะในการสกัดที่จะทำให้ได้สาร พอลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณที่สูงที่สุด พบว่าปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีต่างๆ มีค่า Yield เท่ากับ 17.2±71.20, 3.77± 0.37 และ 2.12 ± 0.16 % ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 90-95 ℃ มีค่ามากที่สุด และ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องและการสกัดด้วย 75% เอทานอลที่อุณหภูมิ 75 ℃ ($P<0.05$) (ตารางที่3)

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. subtilis*, *B. megaterium* และ*B. Licheniformis*

1. *B. subtilis*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์เชื้อ *B. subtilis* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ผสมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0.5, 0.8 และ 1 % นำไปบ่มในตู้ Shaker incubator นาน0 ,1, 3 ,5, 10 ,15, 19,และ 24 ชั่วโมง มีค่าจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ แสดงไว้ดังตารางที่ 4 และ ภาพที่10 เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของเชื้อ *B. subtilis* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมกับสารสกัดทั้ง 4 ความเข้มข้น นาน 0 และ 1 ชั่วโมงไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ 1, 3, 5, 10, 15,19และ 24 ชั่วโมงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

2. *B. megaterium*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ *B. megaterium* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ผสมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0.5, 0.8 และ 1 % นำไปบ่มในตู้ Shaker incubator นาน 0, 1, 3, 5, 10, 15, 19 และ 24 ชั่วโมง มีค่าจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์แสดงไว้ดังตารางที่ 5 และ ภาพที่ 11 เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของเชื้อ *B. megaterium* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 1 % ที่ทุกชั่วโมงมีปริมาณจุลินทรียสูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ ปริมาณจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารผสมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 0.8 % ($P<0.05$)

3. *B. Licheniformis*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ *B. licheniformis* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ผสมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0.5, 0.8 และ 1 % นำไปบ่มในตู้ Shaker

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

incubator นาน 0, 1, 3, 5, 10, 15, 19 และ 24 ชั่วโมง มีค่าจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์แสดงไว้ดังตารางที่ 6และ ภาพที่ 12 เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของเชื้อ B. *licheniformis* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 1 % ที่ทุกชั่วโมง มีปริมาณ จุลินทรียสูงสุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ ปริมาณจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารผสมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 0.8 % ($P<0.05$)

การทดลองที่ 3 **การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ *B. subtilis*,*B. megaterium* และ*B. licheniformis* ในอาหารสูตรต่างๆ**

1. *B. subtilis*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร Minimal Medium (สูตรกรมประมง) ซึ่งมีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 1), สูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งไม่มีน้ำตา Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 2) และสูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากฟักทองแทนน้ำตาล Sucrose (สูตรที่ 3) ที่อุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ $2.80\pm0.83x10^8$,$0.30\pm0.97x10^8$และ$3.90\pm1.00x10^8$ ตามลำดับ (ตารางที่ 7 ภาพที่ 13) เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของเชื้อ B. *subtilts* ที่เลี้ยงในสูตร อาหารที่ 3 มีปริมาณสูงสุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ จุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 และ 2 ($P<0.05$)

2 .*B. megaterium*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร Minimal Medium (สูตรกรมประมง) ซึ่งมีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 1),สูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งไม่มีน้ำตาลSucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 2 และสูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากฟักทองแทนน้ำตาล Sucrose (สูตรที่ 3) ในอุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ $1.90\pm2.79x10^8$,$0.05\pm0.05x10^8$และ$4.10\pm2.10x10^8$ ตามลำดับ (ตารางที่ 7 ภาพที่ 13) เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของเชื้อ B. *megaterium* ที่เลี้ยงในสูตร อาหารที่ 3 มีปริมาณสูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ จุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 และ 2 ($P<0.05$)

3. *B. Licheniformis*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร Minimal Medium (สูตรกรมประมง) ซึ่งมีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 1), สูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งไม่มีน้ำตาลSucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 2 และสูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากฟักทองแทนน้ำตาล Sucrose (สูตรที่ 3) ในอุณหภูมิห้องนาน 48ชั่วโมงมีค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$3.90\pm1.25x10^{8}$,$2.00\pm5.68x10^{8}$และ$4.90\pm0.50x10^{8}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 7 ภาพที่ 13) เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของเชื้อ B. *Lichenijformis* เลี้ยงในสูตร อาหารที่ 3 มีปริมาณสูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ จุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 และ 2 ($P<0.05$)

ตารางที่ 3 ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองด้วยวิธีสกัดที่แตกต่างกัน

วิธีสกัด	Yield(%)
ต้มด้วยน้ำ	17.27 ± 1.20^{a}
ต้มด้วยเอทานอล	3.77 ± 0.37^{b}
อุณหภูมิห้อง	2.12 ± 0.16^{b}

หมายเหตุ a,b ค่าเฉลี่ยอักษรที่มีพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันกำกับในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus subtilis* (BS)

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารสกัดพอลแซ็กคาไรด์ (%)				P-value
	0	0.5	0.8	1	
0^{ns}	$0.09\pm0.02 \times10^{7}$	$0.09\pm0.02 \times10^{7}$	$0.09\pm0.02 \times10^{7}$	$0.09\pm0.02 \times10^{7}$	1.0000
1^{ns}	$0.27\pm0.03 \times10^{7}$	$0.49\pm0.22 \times10^{7}$	$0.59\pm0.03 \times10^{7}$	$0.41\pm0.19 \times10^{7}$	0.2299
3	$0.39\pm0.08 \times10^{7b}$	$0.58\pm0.15 \times10^{7ba}$	$0.85\pm0.29 \times10^{7b}$	$0.73\pm0.18 \times10^{7b}$	0.0221
5	$0.45\pm0.13 \times10^{7c}$	$0.82\pm0.18 \times10^{7b}$	$1.22\pm0.23 \times10^{7a}$	$1.11\pm0.15 \times10^{7a}$	0.0002
10	$0.35\pm0.05 \times10^{7c}$	$0.78\pm0.15 \times10^{7ba}$	$0.72\pm0.08 \times10^{7b}$	$1.00\pm0.04 \times10^{7a}$	0.0001
15	$0.46\pm0.04 \times10^{7b}$	$0.76\pm1.40 \times10^{7a}$	$0.81\pm1.30 \times10^{7a}$	$0.99\pm0.22 \times10^{7a}$	0.0020
19^{ns}	$0.60\pm0.09 \times10^{7}$	$8.22\pm0.11 \times10^{7}$	$0.75\pm0.15 \times10^{7}$	$0.80\pm0.16 \times10^{7}$	0.1247
24^{ns}	$0.61\pm0.15 \times10^{7}$	$0.74\pm0.18 \times10^{7}$	$0.48\pm0.19 \times10^{7}$	$0.79\pm0.19 \times10^{7}$	0.1168

หมายเหตุ ns = non-significant หมายถึง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

a,b,c ค่าเฉลี่ยอักษรที่มีพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันกำกับในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตาราง 5 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus megaterium* (BM)

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (%)				P-value
	0	0.5	0.8	1	
0	$0.17\pm0.03\times10^{7}$	$0.17\pm0.03\times10^{7}$	$0.17\pm0.03\times10^{7}$	$0.17\pm0.03\times10^{7}$	1.0000
1	$0.73\pm0.01\times10^{7b}$	$0.74\pm0.02\times10^{7b}$	$0.74\pm0.01\times10^{7b}$	$0.98\pm0.02\times10^{7a}$	0.0001
3	$1.03\pm0.03\times10^{7c}$	$1.50\pm0.01\times10^{7b}$	$1.64\pm0.03\times10^{7a}$	$1.66\pm0.04\times10^{7a}$	0.0001
5	$1.22\pm0.08\times10^{7d}$	$2.57\pm0.00\times10^{7c}$	$2.71\pm0.01\times10^{7b}$	$2.87\pm0.05\times10^{7a}$	0.0001
10	$1.19\pm0.01\times10^{7d}$	$2.67\pm0.01\times10^{7c}$	$2.84\pm0.04\times10^{7b}$	$3.00\pm0.03\times10^{7a}$	0.0001
15	$1.36\pm0.05\times10^{7d}$	$2.55\pm0.02\times10^{7c}$	$2.63\pm0.01\times10^{7b}$	$2.70\pm0.04\times10^{7a}$	0.0001
19	$1.30\pm0.02\times10^{7d}$	$1.94\pm0.03\times10^{7c}$	$2.47\pm0.04\times10^{7b}$	$2.57\pm0.02\times10^{7a}$	0.0001
24	$1.22\pm0.04\times10^{7d}$	$2.10\pm0.02\times10^{7c}$	$2.29\pm0.02\times10^{7b}$	$2.63\pm0.01\times10^{7a}$	0.0001

หมายเหตุ a,b, c,d ค่าเฉลี่ยอักษรที่มีพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันกำกับในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางผล 6 ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus licheniformis* (BL)

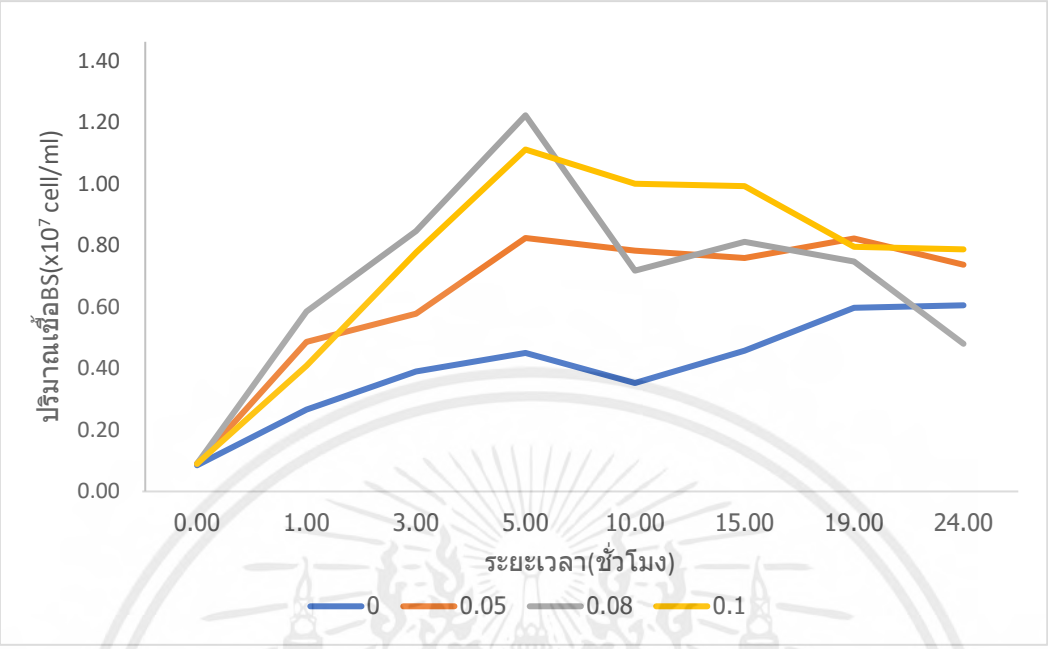
ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (%)				P-value
	0	0.5	0.8	1	
0^{ns}	$0.27\pm0.00 \times10^{7}$	$0.27\pm0.00 \times10^{7}$	$0.27\pm0.00 \times10^{7}$	$0.27\pm0.00 \times10^{7}$	1.0000
1	$0.07\pm0.00 \times10^{7c}$	$0.08\pm0.00 \times10^{7b}$	$0.08\pm0.00 \times10^{7b}$	$1.00\pm0.01 \times10^{7a}$	0.0001
3	$1.01\pm0.04 \times10^{7c}$	$1.52\pm0.03 \times10^{7}$b	$1.64\pm0.06 \times10^{7a}$	$1.68\pm0.05 \times10^{7a}$	0.0001
5	$0.12\pm0.01 \times10^{7a}$	$0.26\pm0.00 \times10^{7c}$	$0.27\pm0.00 \times10^{7b}$	$0.29\pm0.00 \times10^{7a}$	0.0001
10	$1.20\pm0.03 \times10^{7d}$	$2.66\pm0.04 \times10^{7c}$	$2.85\pm0.03 \times10^{7b}$	$3.01\pm0.02 \times10^{7a}$	0.0001
15	$1.33\pm0.03 \times10^{7d}$	$2.54\pm0.03 \times10^{7c}$	$2.62\pm0.04 \times10^{7b}$	$2.71\pm0.03 \times10^{7a}$	0.0001
19	$1.28\pm0.01 \times10^{7d}$	$2.01\pm0.08 \times10^{7c}$	$2.48\pm0.05 \times10^{7b}$	$2.60\pm0.03 \times10^{7a}$	0.0001
24	$1.21\pm0.02 \times10^{7d}$	$2.03\pm0.08 \times10^{7c}$	$2.36\pm0.06 \times10^{7b}$	$2.58\pm0.02 \times10^{7a}$	0.0001

หมายเหตุ a,b, c,d ค่าเฉลี่ยอักษรที่มีพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันกำกับในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

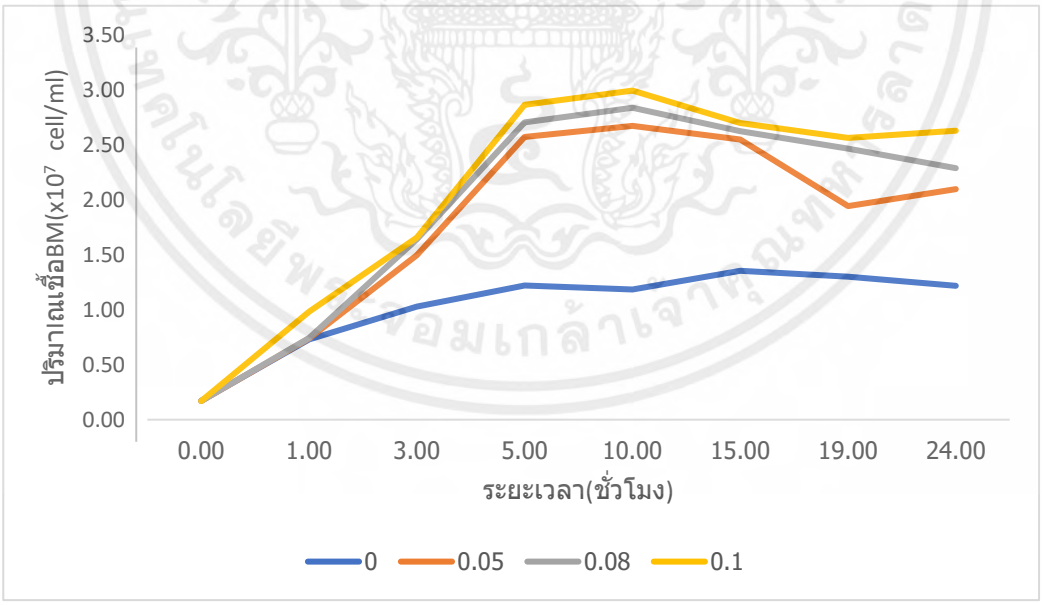
ตารางที่ 7 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ *Bacillus megaterium (BM), Bacillus subtilis (BS)* และ*Bacillus licheniformis (BL)* ในอาหารสูตรต่างๆ

เชื้อ	สูตรมีน้ำตาล	สูตรไม่มีน้ำตาล	พอลิแซ็กคาไรด์	P-value
BS	$2.80\pm0.83 \times10^{8\ b}$	$0.30\pm0.97 \times10^{8\ c}$	$3.90\pm1.00 \times10^{8\ a}$	0.0001
BM	$1.90\pm2.79 \times10^{8\ b}$	$0.05\pm0.05\times10^{8\ c}$	$4.10\pm2.10 \times10^{8\ a}$	0.0033
BL	$3.90\pm1.25 \times10^{8\ a}$	$2.00\pm5.68 \times10^{8\ b}$	$4.90\pm0.50 \times10^{8\ a}$	0.0005

หมายเหตุ a,b,c ค่าเฉลี่ยอักษรที่มีพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันกำกับในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

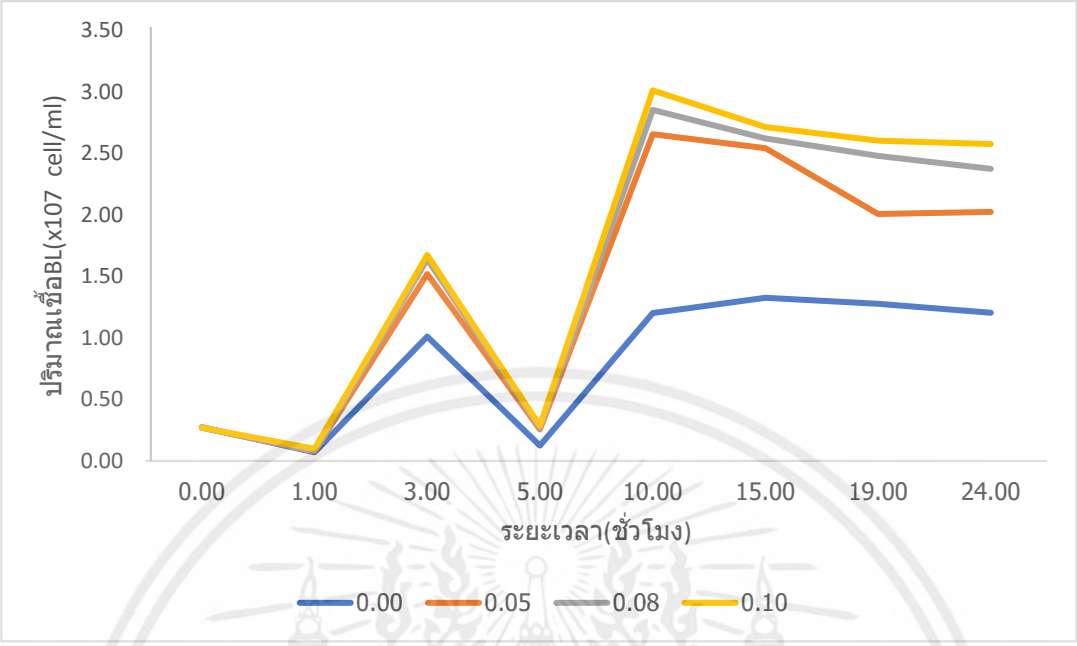


ภาพที่ 10 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus subtilis (BS)*

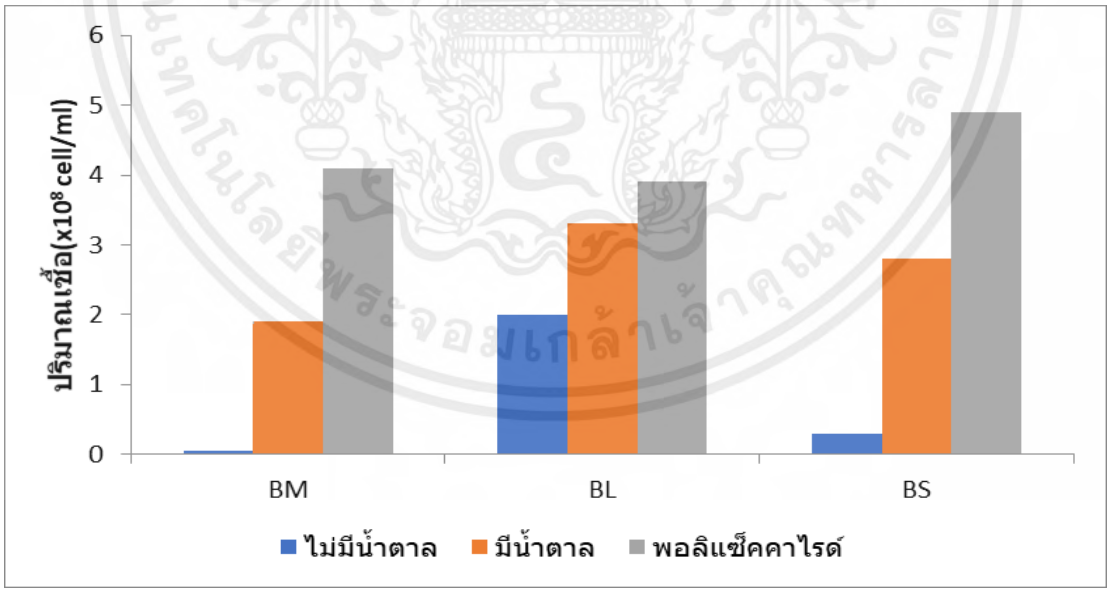


ภาพที่ 11 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus megaterium (BM)*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 12 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus licheniformis* (BL)



ภาพที่ 13 แผนภูมิเปรียบเทียบการเจริญเติบโต*ของ Bacillus megaterium (BM), Bacillus subtilis (BS) และ Bacillus licheniformis (BL)*ในสูตรอาหารต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองด้วยวิธีการต่างๆ คือ การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง, การสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิ 90-95 ℃ และ การสกัดด้วย 75% เอทานอลที่ อุณหภูมิ 75 ℃ พบว่าปริมาณของสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยการสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิ 90-95 ℃ และการสกัดด้วย 75% เอทานอลที่ อุณหภูมิ 75 ℃ สูงกว่าการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับการศึกษาของกนิษฐา (2564) ที่ได้ศึกษาการสกัดด้วยเอทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ25, 50, 75 และ 99.9) และการสกัดด้วยน้ำ (อุณหภูมิห้อง, 50, 75 ℃ และ น้ำต้มเดือด) พบว่า ปริมาณสารสกัดพอลิเซ็กคาไรด์จากผักเชียงดาด้วยวิธีการสกัดจากน้ำต้มเดือดได้ปริมาณสารสกัดสูงที่สุดคือ 320.96±8.98 กรัม, การสกัดด้วย 75% เอทานอลได้ปริมาณสารสกัด 58.50 ±2.92 กรัม และ การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องได้ปริมาณสารสกัด 244.40±6.57 กรัม นอกจากนี้ กนิษฐา (2564) ยังรายงานว่าอุณหภูมิของน้ำและความเข้มข้นของเอทานอลมีผลต่อการสกัดและ ปริมาณของสารพอลิแซ็กคาไรด์ โดยอุณหภูมิของน้ำที่สูงขึ้น และความเข้มข้นของเอทานอลที่มากขึ้น เป็นผลให้ปริมาณสารสกัดมากขึ้นด้วย ดังนั้น จึงเลือกการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองด้วยน้ำอุณหภูมิ 90-95 ℃ เป็นเวลา 30 นาที เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

จากผลการทดลองการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโดยสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 0.5, 0.8 และ 1 % โดยนำสารพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้นต่างๆ ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปเลี้ยงจุลินทรีย์ *B. subtilis*, *B. megaterium* และ *B. licheniformis* พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์แปรผันตรงกับการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ กล่าวคือ หากความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้นมีผลทำให้การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด เพิ่มขึ้นด้วย มีรายงานการศึกษาของ สุดารัตน์ (2564) ได้ศึกษาการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหัวลิง พบว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์มีศักยภาพในการเป็นพรีไบโอติก ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ Lactobacilus ได้บางสายพันธุ์ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Chou et al. (2013) ได้ศึกษาการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากก้านเห็ดเหลือทิ้ง พบว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์ช่วยในการเพิ่มอัตราการมีชีวิตของ *L. acidophilus, L. casei* และ *Bifidobacterium longum* ในระหว่างการเก็บรักษาในโยเกิร์ต และ ปกป้องจุลินทรีย์เหล่านี้จากระบบจำลองของกระเพาะอาหารและน้ำดี ก้านเห็ดจึงเป็นอีกหนึ่งสิ่งที่ใช้สกัดสารที่มีคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติก ดังนั้น จึงเลือกสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 1 % เพื่อใช้ในการทำการทดลองต่อไป โดยการนำมาทดสอบการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ใช้แทนน้ำตาล Sucrose ในสูตรอาหารของกรมประมง (Minimal Medium) ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. subtilis*, *B. megaterium* และ *B. licheniformis* สรุปได้ว่าสารสกัดที่สกัดได้มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโต และ กระตุ้นการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ดังนั้นสามารถใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองแทนน้ำตาล Sucrose ในสูตรอาหารของกรมประมง (Minimal Medium)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพื่อช่วยในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ได้ เนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis*, *B. megaterium* และ *B. licheniformis* ทั้ง 3 ชนิด ที่ใช้ในการ ทดลองสามารถผลิตเอมไซม์อะไมเลส โดยตัวของเชื้อมีความสามารถเปลี่ยนแป้งที่มีสารพอลิแซ็กคาไรด์เป็นส่วนประกอบเป็นน้ำตาล Glucose ซึ่งน้ำตาล Glucose เป็นหน่วยย่อยของน้ำตาล Sucrose (วัชรินทร์, 2558) ที่ใช้ในสูตรอาหารของกรมประมง ทำให้การย่อยน้ำตาลของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis*, *B. megaterium* และ *B. licheniformis* โดยใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์จากระบวนการทำงานของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด เปลี่ยนเป็นน้ำตาล Glucose ซึ่งได้ผลดีกว่าการใช้น้ำตาล Sucrose จากสูตรของกรมประมงที่มีโมเลกุลใหญ่และมีกระบวนการย่อยที่เป็นไปได้ยากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองฟักทองมาสกัดด้วยสภาวะต่าง ๆ พบว่าวิธีสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดีที่สุด คือวิธีการต้มด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ซึ่งจะได้ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่มากที่สุด

จากการทดลองสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด พบว่าความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์มีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคที่เรีย โดยอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสาร พอลิแซ็กคาไรด์สามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ ความเข้มข้นที่ดีที่สุดคือ 1.0.8 และ0.5 %ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียว ดังนั้นความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

จากการทดลองอาหารสูตรต่างๆ ต่อการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสูตรอาหารที่มีสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากฟักทองแทนน้ำตาล Sucrose ในสูตรของกรมประมง ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าสูตรที่มีน้ำตาลของกรมประมง และสูตรที่ไม่มีน้ำตาล ดังนั้น การใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์สามารถใช้แทนน้ำตาลในการทำหัวเชื้อ ปม.1 ได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กมลภัทร สมบุญ, สิทธิพงศ์ กลันทกพันธ์, ธนพัฒน์ศิริสัญลักษณ์, กรรณิกา แก้วส่องแสงและ อัญมณี อาวุชานนท์. 2555. **การประเมินสารเบต้าแคโรทีนของฟักทองช่วงอายุการพัฒนาผลที่แตกต่างกัน**

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2559. **สถานการณ์การปลูกฟักทอง รายจังหวัด ปี 2559**. กรมส่งเสริมการเกษตร. สืบค้นเมื่อ 28 มีนาคม 2565 แหล่งที่มา http://production.doae.go.th

ปณาลี ภู่วรกุลชัย. 2558. **การศึกษาปริมาณสารเบต้าแคโรทีนและการประเมินความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของฟักทองด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ** ชนิด AFLP. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พอลิแซ็คคาไรด์ที่ผลิตภายในเซลล์จากเห็ดแครง(Schizophyllum commune) โดยสภาวะของสารอาหารที่เหมาะสม **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี** มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 31(4):336-343

ภูวไนย ไชยชุมภู,วชิรญา อิ่มสบาย,วรลักษณ์ ประยูรมหิศร,ยงยุทธ พลับจะโปะและอัญมณี อาวุชานนท์ 2562. การประเมินปริมาณสารเบต้าแคโรทีนของฟักทองพันธุ์ลูกผสมชั่วรุ่นที่ 1 ที่เหมาะสมต่อการแปรรูป **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า**

เมดไทย. 2020 .**ฟักทอง สรรพคุณและประโยนย์ของฟักทอง 30** ข้อ สืบค้นเมือ 19 เมษายน 2566 . แหล่งที่มาhttps://medthai.com/ฟักทอง/

สุดารัตน์ ธิคำ,เพ็ญนภา ทะวะดี, ศิริวรรณ ใจสีคำ และ วรรณพร คลังเพชร 2564. การสกัดโพลิแซ็คคาไรด์จากเห็ดหัวลิงด้วยกระบวนการอัตราซาวด์ร่วมกับความร้อนและผลต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก **วารสารเกษตรนเรศวร**

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์,นิธิยา รัตนาปนนท์ ม.ป.ป. Bacillus subtilis สืบค้นเมือวัน 4 พฤษาคม 2566 แหล่งที่มา: https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/6203/bacillus-subtilis

เกรียงศักดิ์ พูนสุข. 2549. **จุลินทรียกับการเพาะเลี้ยงกุง.** แหลงที่มา :www.nicaonline.com., 20 กันยายน 2557.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศูนยวิจัยและพัฒนาประมงชายฝงสมุทรสาคร 2556. **หัวเชื้อจุลินทรีย ปม.1**. แหลงที่มา : http://www.fisheries.go.th/cfsamutsa/index.php?option=com_content&view=article&id=48&Itemid=58, 20 พฤศจิกายน 2557.

มินตรา ศีลอุดม. 2551. **ประสิทธิภาพของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* sp**. ที่แยกไดจากลำไสกุงขาวแวนนาไมในการควบคุมเชื้อ Vibrio harveyi. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร ครั้งที่ 46 สาขาประมง. กรุงเทพฯ. หนา 91-99.

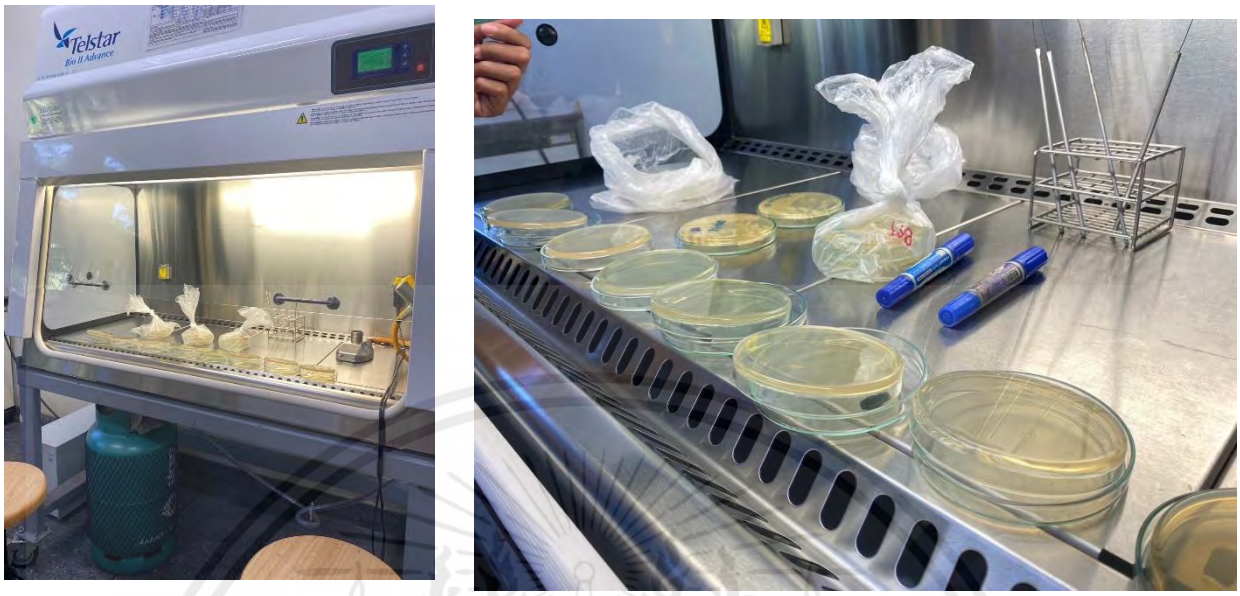
ชัยวุฒิ สุดทองคง ชมพูนุท หลักดี ปาณิสรา เอกจีน ปารณีย์ กิ่งชา ซรินทร์ เพียงไทสง วัชพลจำรัสชูเกียรติ และไกรวุฒิ ปิ่นแก้ว. 2558. **ผลของ *Bacillus subtilis*, *B.megaterium*และ *B.licheniformis* ในผลิตภัณฑ์หัวเชื้อจุสินทรีย์ ปม.1** ต่อเชื้อ Vibrioparahaemolyticus สายพันธุ์ก่อโรค EMS/AHPND. ใน: รายงานการประชุมวิชาการประมง ประจำปี 2558. 9 - 10 มิถุนายน 2558. หน้า 84 - 95.

Vinoj, G., B. Vaseeharan, B. DavidJayaseelan, P. Rajakumaran and C. Ravi. 2013.Inhibitory effects of Bacillus licheniformis (DAB1) and Pseudomonas aeruginosa (DAP1) against Vibrio parahaemolyticus isolated fromFenneropenaeus indicus. **Aquaculture**. 21: 1121–1135.

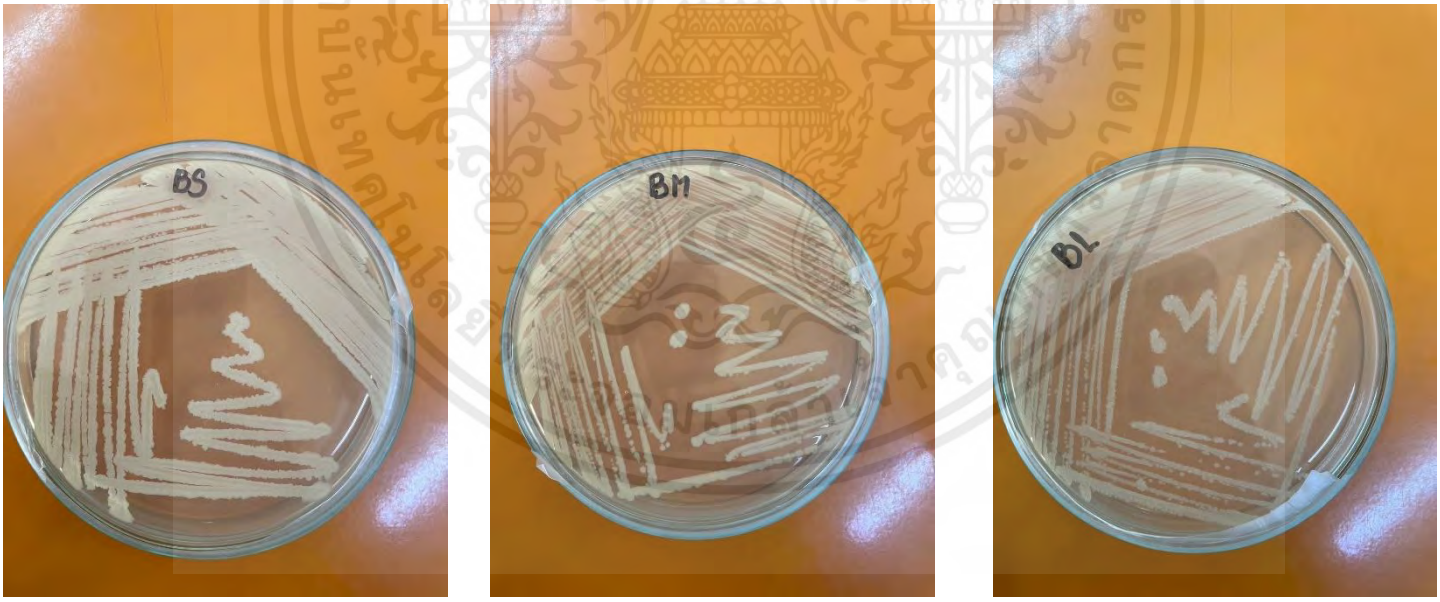
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

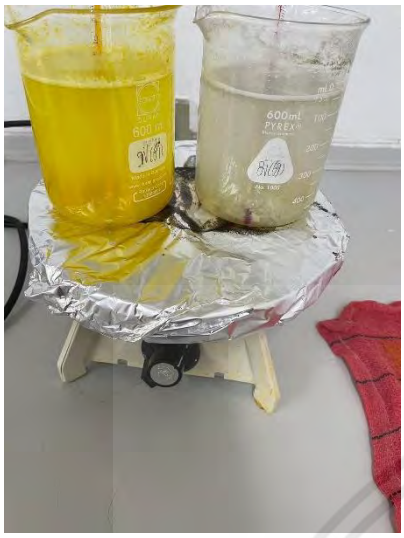


ภาคผนวกที่ 1 การเตรียมเชื้อ



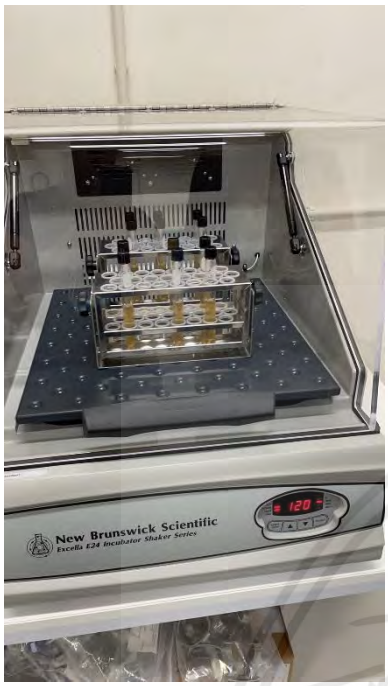
ภาคผนวกที่ 2 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียคือ *B. subtilis (BS), B.megaterium (BM)* และ *B. licheniformis (BL)*

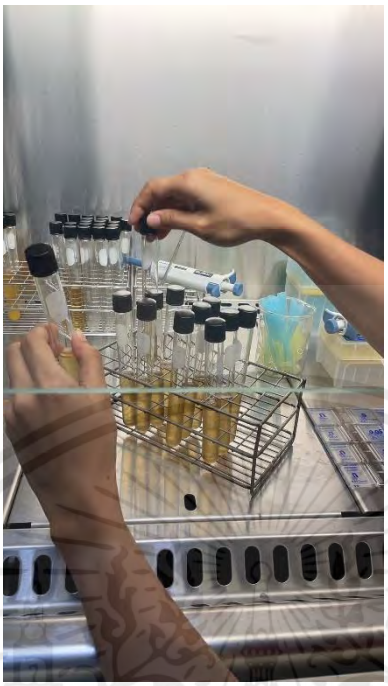
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

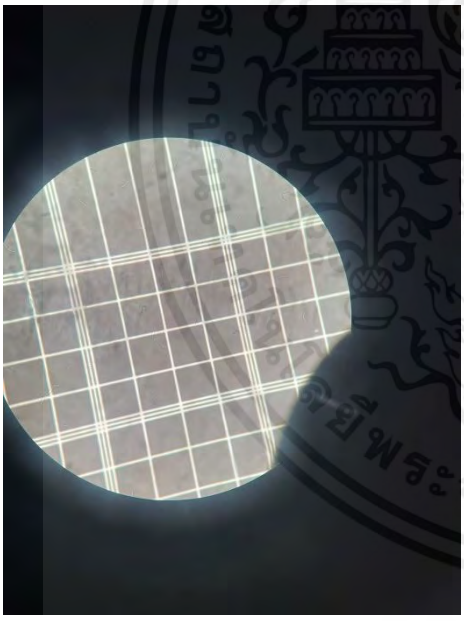


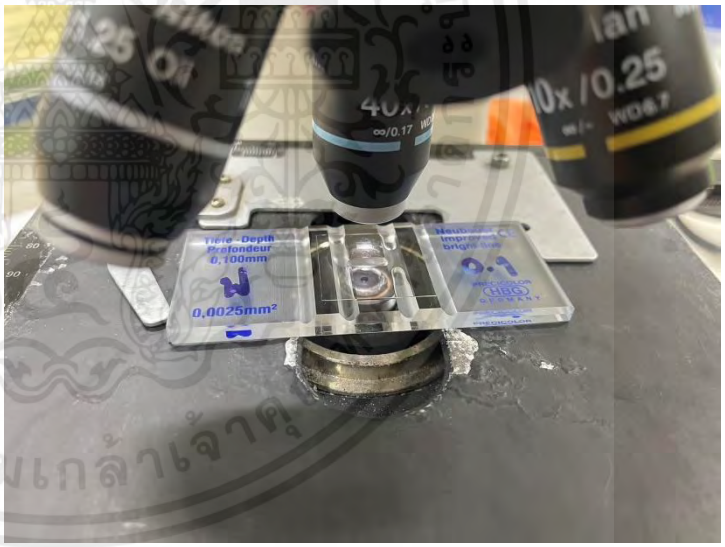
ภาคผนวกที่ 3 ขั้นตอนการทำการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



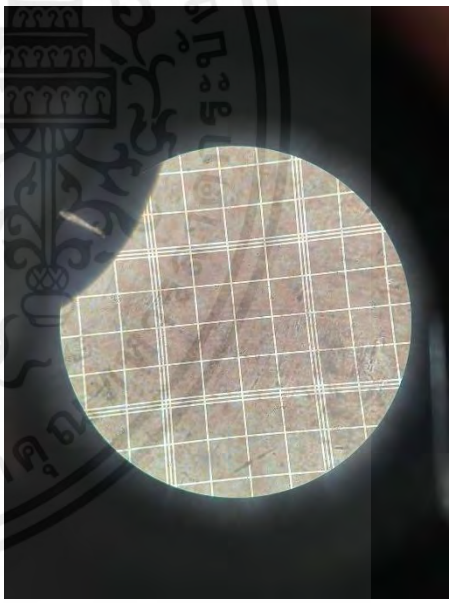






ภาคผนวกที่ 4 ขั้นตอนการทดสอบความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวกที่ 5 ขั้นตอนการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในสูตรอาหารต่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติการศึกษา

ชื่อ	นางสาวกัญชลี ศรีมณฑก
เกิดวันที่	31 กรกฎาคม 2543
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลพังงา 436 ต.ท้ายช้าง อ.เมือง จ.พังงา 82000
ที่อยู่	65/73 หมู่ที่ 5 ถ.สุราษฎร์-ปากน้ำ ต.บางกุ้ง อ.เมืองสุราษฎร์ธานี จ.สุราษฎร์ธานี
ประวัติการศึกษา	ประกาศนียบัตรมัธยมศึกษาตอนปลาย คณิต-อังกฤษ โรงเรียนสุราษฎร์ธานี ๒
	วท.บ (วิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังวิทยาเขตชุมพร เขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้