ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

Effect of polysaccharide extract from *Musa sapientum* Linn. on expansion of microbial culture Pormor-1

นายศุภกร ชนะอักษร

โครงร่างโครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพร เขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร
ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

Effect of polysaccharide extract from *Musa sapientum* Linn. on expansion of microbial culture Pormor-1

นายศุภกร ชนะอักษร

โครงร่างโครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพร เขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร
ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รับที่...../.....

งานทะเบียนและประมวลผล

โครงงานพิเศษปีการศึกษา 2565

เรื่อง

ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

Effect of polysaccharide extract from *Musa sapientum* Linn. on expansion of microbial culture Pormor-1

ผู้จัดทำ

นายศุภกร ชนะอักษร

นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังวิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เห็นชอบ/รับรอง

ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย

(ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย)
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

โครงงานพิเศษนี้เป็นลิขสิทธิ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษปีการศึกษา 2565

เรื่อง

ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1
Effect of polysaccharide extract from *Musa sapientum* Linn. on expansion of microbial culture Pormor-1

โดย

นายศุภกร ชนะอักษร

เสนอ

ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังวิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ)

ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง	ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนาง ต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1
โดย	นายศุภกร ชนะอักษร
สาขาวิชา	เทคโนโลยีการเกษตร
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย

บทคัดย่อ

การเรียนรู้ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 (*B. subtilis, B. megaterium* และ *B. licheniformis*) โดยทำการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ในสภาวะที่มีรูปแบบไม่เหมือนกัน 3 สภาวะคือ การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง, การสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิ 90-95 ℃ และการสกัดด้วย 75% เอทานอลที่อุณหภูมิ 75 ℃ เป็นเวลา 30 นาที ค้นพบว่าการคัดแยกด้วยน้ำอุณหภูมิ 90-95 ℃ ได้สารพอลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณมากที่สุด จากนั้นนำสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางที่ได้ไปทดสอบประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ปม. 1 ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 0.5, 0.8 และ 1 % ค้นพบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ส่งผลต่อวิวัฒนาการในการเจริญเติบโตของเชื้อทั้ง 3 ชนิดโดยที่ความเข้มข้น 1 % ส่งผลต่อการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี ลำดับถัดมาคือ ความเข้มที่ 0.8, 0.5 และ 0 % ตามลำดับ สำหรับการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ด้วยสูตรอาหาร Minimal Medium (MM) ที่แตกต่างกัน 3 สูตร คือสูตรอาหาร MM มาตรฐานของกรมประมง (มีน้ำตาลซูโครส), สูตรอาหาร MM ไม่มีน้ำตาล และ สูตรอาหาร MM ที่ทดแทนซูโครสด้วยสารพอลิแซ็กคาไรด์ พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยสูตรที่ใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์มีปริมาณไม่แตกต่างจากสูตรมาตรฐานของกรมประมง จากการวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดสอบเล็งเห็นว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์ของกล้วยเล็บมือนางใช้แทนน้ำตาลซูโครสในสูตรอาหารมาตรฐานของกรมประมงในการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ได้

คำสำคัญ : พอลิแซ็กคาไรด์, กล้วยเล็บมือนาง, เชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

ศุภกร ชนะอักษร
.....
ลายมือชื่อนักศึกษา

ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย
.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Effect of polysaccharide extract from *Musa sapientum* Linn. on expansion of microbial culture Pormor-1
By	Mr. Suppakorn Chanaaksorn
Major	Agricultural Technology (Fishery Science and Aquatic Resources)
Faculty	Prince of Chumphon Campus
Advisor	Asst.Prof.Dr.Daungjai Phisuttharachai

Abstract

The effect of polysaccharide extract from Kluai Leb Mu Nang (*Musa sapientum*) on the expansion of microbial culture Pomor-1 (*B. subtilis*, *B. megaterium* and *B. licheniformis*) was performed. The different conditions were prepared to extract polysaccharide from Kluai Leb Mu Nang including water extraction at room temperature, water extraction at 90-95 °C and 75% ethanol extraction at 75 °C. All conditions were extracted for 30 minutes. The result presented that water extraction at 90-95 °C has the highest of polysaccharides. Next, the polysaccharides extracted from Kluai Leb Mu Nang were tested for efficiency on the growth of Pomor-1 microorganisms at four different concentrations composed of 0, 0.5, 0.8 and 1 %. Result showed that polysaccharides affected the growth of all 3 types of bacteria. The concentration of 1 % polysaccharide presented the greatest growth of all 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 the number of microorganisms cultured with the polysaccharide formula was not different from the standard MM of the Department of Fisheries. lt indicated that polysaccharides extracted from Kluai Leb Mu Nang could be used as a substitute for sucrose in the standard formula of the Department of Fisheries in the proliferation of microorganisms Pomor-1.

Keywords: Polysaccharide, Kluai Leb mu Nang, Microorganisms Pormor-1

Suppakorn Chanaaksorn.
Student's signature

Duangjai Pisuttharachai
Advisor's signature

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอเรียนกราบขอบพระคุณ คณะอาจารย์ ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ผศ.วรพงษ์ นลินานนท์ และ ผศ.ดร.สายชล เลิศสุวรรณ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและให้ทักษะในการทำโครงงานพิเศษนี้เป็นอย่างดี และได้มีการตรวจสอบข้อบกพร่องของการวิเคราะห์ข้อมูลและการเขียนรายงานทุกขั้นตอน ทำให้การทำโครงงานพิเศษครั้งนี้สำเร็จไปได้ด้วยดีขอขอบคุณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์เอื้อเฟื้อสถานที่ในการเก็บผลการทดลองให้กับผู้จัดทำเป็นอย่างสูง ขอขอบคุณเพื่อนๆในสาขาที่ให้การช่วยเหลือและคำปรึกษาแก่คณะผู้จัดทำ

ท้ายที่สุดนี้ข้าพเจ้าขอเรียนกราบขอบพระคุณ บุคคลในครอบครัวที่ให้การส่งเสริมในการเรียนรู้และดูแลอบรมสั่งสอนให้อดทน ขยันหมั่นเพียร ไม่ท้อต่ออุปสรรค ขอบคุณเพื่อนร่วมทำโครงงานพิเศษ และเพื่อนๆทุกคนที่เกี่ยวข้องตลอดระยะเวลาที่ข้าพเจ้าเริ่มการศึกษาจนสำเร็จการศึกษาในครั้งนี้

นายศุภกร ชนะอักษร

พฤษภาคม 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	ก
Abstract	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	-1-
สารบัญตาราง	-2-
สารบัญ	-3-
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
ตรวจเอกสาร	3
เชื้อจุลินทรีย์ (ปม.1)	3
สารพอลิแซ็กคาไรด์	9
กล้วยเล็บมือนาง	11
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	14
อุปกรณ์และวิธีการ	15
อุปกรณ์	15
วิธีการทดลอง	19
ผลการทดลอง	24
วิจารณ์ผลการทดลอง	33
สรุปผลการทดลอง	35
เอกสารอ้างอิงและสิ่งอ้างอิง	36
ภาคผนวก	39
ประวัติทางการศึกษา	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณค่าทางโภชนาการของกล้วยเล็บมือนางสุกปริมาณ 100 กรัม	13
2	สูตรอาหาร MM สำหรับการขยายหัวเชื้อ ปม.1	21
3	ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางด้วยวิธีสกัดที่แตกต่างกัน	26
4	ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus subtilis* (BS)	27
5	ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus megaterium* (BM)	28
6	ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus licheniformis* (BL)	29
7	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ BS, BM และ BL ในอาหารสูตรต่างๆ	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (BS)	4
2	เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus megaterium* (BM)	6
3	เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* (BL)	8
4	โครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์	9
5	ลักษณะผลของกล้วยเล็บมือนาง	12
6	ชุดอุปกรณ์เติมอากาศ	22
7	การเติมอากาศโดยใช้ปั๊มลมต่อเข้ากับชุดกรองอากาศ	23
8	ลักษณะการนับเซลล์ของเชื้อ	23
9	กราฟแสดงผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนาง ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus subtilis* (BS)	31
10	กราฟแสดงผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนาง ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus megaterium* (BM)	31
11	กราฟแสดงผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนาง ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus licheniformis* (BL)	32
12	แผนภูมิเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ BS, BM และ BL ในอาหารสูตรต่างๆ	32

ภาคผนวกที่		หน้า
1	การเตรียมเชื้อเพื่อใช้ในการทดลอง	40
2	ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ที่ใช้ในการทดลอง	40
3	ขั้นตอนการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์	41
4	ขั้นตอนการทดสอบความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย	42
5	ขั้นตอนการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในสูตรอาหารแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

สารจุลินทรีย์ ปม.1 ที่กรมประมงทำเป็นสารจุลินทรีย์ในกลุ่มบาซิลัส (Bacillus) 3 ชนิด คือ *Bacillus. subtilis, Bacillus. megaterium* และ *Bacillus.* licheniformis นำมาผสมผสานตามลำดับวิธีทางวิทยาศาสตร์ สามารถนำมาบำบัด ซ่อมแซมคุณภาพน้ำ และ ดิน รวมถึงนำมาเป็นโปรไบโอติก (probiotics) โดยการเทผสมผสานลงในอาหารกุ้งให้เข้ากัน เพื่อก่อให้เกิดภูมิคุ้มกันและยับยั้งโรค ซึ่งพบบ่อยจากแบคทีเรียก่อโรคในกุ้ง จึงมีความคาดการณ์ว่าจะบรรเทาความเสี่ยงจากการเกิดโรคได้ (เสาวภา, 2563)

กล้วยเล็บมือนาง (Kluai Leb Mu Nang) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Musa sapientum* Linn. เป็นกล้วยประจำภูมิภาคของภาคใต้ เป็นที่รู้จักของผู้คนในภูมิภาคนั้น ทั้งนี้ผลกล้วยมีสมบัติเฉพาะตัว ขนาดเล็ก ทำให้เหมาะแก่การรับประทาน ผลผลิตกล้วยเล็บมือนางเป็นสีเหลืองอร่าม ผิวสัมผัสมีความคล้ายคลึงกับกล้วยหอม มีรสชาติที่หวานและมีกลิ่นหอม เป็นแหล่งกำเนิดในประเทศในแถบภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อาทิ พม่า ไทย กัมพูชา มาเลเซีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ คำว่า เล็บมือนาง เกิดจากก้านของเกสรเพศเมียเปรียบเสมือนเล็บบริเวณปลายผลของกล้วยเล็บมือนาง ลักษณะของผลกล้วยคล้ายนิ้วมือเทียบเคียงนิ้วมือของหญิงสาว ทั้งนี้คนโบราณเชื่อว่าการเก็บเกี่ยวผลผลิตกล้วยเล็บมือนางนั้นต้องมีก้านเกสรเพศเมียติดมาด้วย เพราะทำให้กล้วยเล็บมือนางมีคุณลักษณะครบถ้วน (puechkaset, 2016)

ตัวสารพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) เป็นโมเลกุลคาร์โบไฮเดรตสายยาวที่รวมตัวกันด้วยหน่วยมอนอเมอร์ซ้ำๆ มาเกี่ยวเนื่องกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก โครงสร้างเริ่มต้นโดยเส้นตรงไปจนถึงแตกกิ่งมากมาย พอลิแซ็กคาไรด์อาจพบเป็นวิวิธพันธุ์ (heterogeneous) ซึ่งก่อรูปด้วยการดัดแปลงหน่วยซ้ำๆ เล็กน้อย โมเลกุลใหญ่เหล่านี้สามารถมีคุณสมบัติแตกต่างจากโมโนแซ็กคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบได้ ขึ้นอยู่กับโครงสร้าง เช่น อาจอสัณฐานหรือละลายน้ำไม่ได้ก็ได้เมื่อโมโนแซ็กคาไรด์ในพอลิแซ็กคาไรด์เป็นประเภทเดียวกัน เรียกว่า โฮโมพอลิแซ็กคาไรด์ หรือ โฮโมไกลแคน แต่เมื่อมีโมโนแซ็กคาไรด์มากกว่าหนึ่งชนิด อาจกล่าวว่า เฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ หรือ เฮเทอโรไกลแคน (Wikipedia, 2566)

มีรายงานพอลิแซ็กคาไรด์สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (พรเพชร, 2557) ดังนั้นจึงมีความเล็งเห็นที่จะเรียนรู้การใช้พอลิแซ็กคาไรด์ของกล้วยเล็บมือนางต่อการเพาะขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ซึ่งมีประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1.เพื่อเรียนรู้รูปแบบการคัดแยกสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่กล้วยเล็บมือนางได้อย่างเหมาะสม

2.เพื่อเรียนรู้ผลจากสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่กล้วยเล็บมือนางต่อเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.เข้าใจขั้นตอนของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนาง

2.ทราบถึงระดับสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางที่มีที่มาต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

1.เชื้อจุลินทรีย์

1.1 เชื้อจุลินทรีย์ Probiotics

เชื้อจุลินทรีย์ Probiotics เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์บางชนิดที่แยกจากธรรมชาติ ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับและประยุกต์ใช้ในการดูแลเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นส่วนมาก โดยเฉพาะนำมาปรับใช้การเลี้ยงกุ้งทะเล ที่ส่งผลกระทบความรุนแรงเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก ซึ่งทั้งนี้เกิดจากอุปสรรคของสิ่งแวดล้อมในสังคมอีกทั้งเหตุโรคระบาด กรมประมงจึงนำจุลินทรีย์มาใช้เพื่อปรับสมดุลให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมและระบบทางเดินอาหารในลำไส้ของกุ้ง โดยมีประโยชน์ในการสลายตัวของสารอินทรีย์ต่างๆในน้ำ รวมถึงยับยั้งปริมาณเชื้อที่มาจากสิ่งแวดล้อมที่เป็นสาเหตุต่อกระบวนการย่อยสารอาหารของกุ้ง จึงบรรเทาการเสี่ยงจากเหตุเกิดโรค รวมถึงลดปริมาณการนำยาปฏิชีวนะมาใช้ ปีงบประมาณ 2551 ศูนย์ค้นคว้าและปฏิรูปประมงชายฝั่งสมุทรสาครได้นำแนวปฏิบัติจากกรมประมงให้สร้างหัวเชื้อจุลินทรีย์ (ปม.1) ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Bacillus โดยนำตัวสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดสรรว่ามีคุณภาพในการย่อยสลายตัวสารอินทรีย์เป็นสิ่งตกค้างสะสมในบ่อเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จำนวน 100,000 ซอง เพื่อแจกจ่ายให้กับเกษตรเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทั่วประเทศ (Jirapat, 2009)

1.2 เชื้อจุลินทรีย์ (ปม.1)

ตัวเชื้อสารจุลินทรีย์ (ปม.1) เป็นเชื้อจุลินทรีย์ Probiotics ของจุลินทรีย์จากธรรมชาติที่เป็นผลดีพบได้ในแหล่งพื้นที่ธรรมชาติทั่วไป สามารถนำมาสืบพันธุ์เพื่อใช้สร้างสมดุลตัวสารจุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อม โดยมีขั้นตอนในการยับยั้ง และ การแตกตัวของสารอินทรีย์ในน้ำ ยับยั้งจำนวนเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคที่มาจากสิ่งแวดล้อม รวมถึงกระบวนการย่อยสลายในลำไส้ของสัตว์ในน้ำ เพื่อบรรเทาการเสี่ยงต่อโรค อีกทั้งลดปริมาณยาปฏิชีวนะ ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับรวมถึงนิยมนำมาใช้กันเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

โดยในปี 2557 ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดสุพรรณบุรีได้ผลิตหัวเชื้อของสารจุลินทรีย์ (ปม.1) แบบน้ำ โดยคัดเลือกแบคทีเรียในกลุ่ม Bacillus 3 ชนิด คือ *B. subtilis, B. megaterium* และ *B. licheniformis* จึงมีแหล่งจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่ผ่านการคัดสรรว่ามีคุณภาพสูงเพื่อสลายตัวของสารอินทรีย์จากการตกค้างสั่งสมในบ่อ และแจกจ่ายแก่เกษตรกรที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ
(กรมประมง, ม.ป.ป)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

เชื้อ *Bacillus subtilis* คือ ตัวแบคทีเรียที่เกิดแอนโดสปอร์ที่มีสิ่งคงทนต่อสภาวะในสิ่งแวดล้อม ซึ่งเป็นเหตุไม่พึงประสงค์ต่อวิวัฒนาการเติบโต อาจป้องกันรวมถึงยับยั้งโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา รวมถึงแบคทีเรียหลายชนิด มีกระบวนการในการยับยั้งโรค เช่น แอนแทรคโนสในพริก โรคเหี่ยวสาเหตุจากตัวเชื้อแบคทีเรีย Ralstonia ในพืชตระกูลมะเขือ เช่น พริก มะเขือเทศ มะเขือเปราะ มะเขือยาว เป็นต้น (รัตนาภรณ์, 2565)

Bacillus subtilis คือแบคทีเรีย (bacteria) รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) ย้อมติดสีแกรมบวก (gram positive bacteria) อยู่ในวงศ์ Bacillaceae ซึ่งอาจสร้างแคปซูล (capsule) สร้างสปอร์ได้ (bacterial spore) ซึ่งมีรูปแบบโครงสร้างที่มีความคงทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่คู่ควรต่อวิวัฒนาการในการเติบโต รวมทั้งแหล่งที่อยู่อาศัยที่พบได้โดยมากในดิน

1.3.1 ลำดับอนุกรมวิธานของ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

Kingdom : Monera

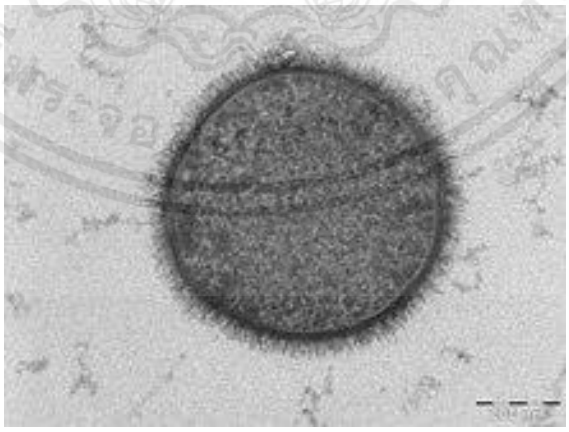
Division : Bacilli

Order : Bacillales

Family : Bacillaceae

Genus : *Bacillus*

Species : *B. subtilis*



ภาพที่ 1 TEM micrograph ของเซลล์ *B. subtilis*

ใน cross-section (scale bar = 200 nm)

แหล่งที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/Bacillus_subtilis

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.2 คุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

1.สามารถเข้าทำลายโดยตรง รวมถึงอาจสร้างสารปฏิชีวนะได้หลากหลายชนิด อีกทั้งยังสามารถแย่งนำเอาธาตุอาหารที่ดีกว่าจุลินทรีย์ทั่วไปในสภาพแวดล้อมที่ขาดแคลนได้เป็นอย่างดี

2.ซึ่งเป็นเชื้อในจุลินทรีย์ที่ส่วนมากดำรงและพบในพืชโดยไม่ส่งผลกระทบในพืชที่อาศัยอยู่

3.มีความพิเศษต่อการเปลี่ยนแปลง อีกทั้งยังคงทนของสิ่งแวดล้อมที่ดัดแปลง โดยการสร้างสปอร์ รวมถึงทนต่อสภาพอากาศที่ร้อนชื้นได้เป็นอย่างดี

4.*Bacillus subtilis* บางสายพันธุ์มีวิวัฒนาการในการผลิตสารพวก Toxic metabolite บางชนิดมีผลดีเมื่อเอามาใช้ผลักดันให้เกิดความทนทานของพืชต่อตัวเชื้อโรคที่เป็นสาเหตุเพื่อการเข้าทำลาย

1.3.3 ประโยชน์ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

เพื่อป้องกันและยับยั้งโรคของพืชที่เป็นเชื้อรา รวมถึงตัวแบคทีเรียหลากหลายชนิด (เทคโนโลยีชาวบ้าน, 2561) ดังนี้

Alternaria spp.
Fusarium spp.
Cercospora spp.
Erwinia spp.
Colletotrichum spp.
Ralstonia solanacearum
Xanthomonas campestris
Phytophthora palmivora
Rhizoctonia sp.
Acrocylindrium oryzae
Pyricularia oryzae

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ตัวเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus megaterium*

ตัวเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus megaterium* คือ *B. megaterium* ที่มีอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมรอบตัวเรา นอกจากจะเป็นแบคทีเรียจากดินที่เจอมาก ซึ่ง endophyte ก็อาจค้นเจอในสารอาหารแหล่งต่างๆ ด้วยเหตุนี้การแยกมูลวัวในหนอนผีเสื้อจักรพรรดิและเศษขี้ผึ้ง

ในทศวรรษที่ 1960 ก่อนการใช้ *Bacillus subtilis* เพื่อจุดประสงค์นี้ *B. megaterium* เป็นสิ่งมีชีวิตต้นแบบในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกสำหรับการเรียนรู้อย่างจริงจังเกี่ยวกับชีวเคมี การสร้างสปอร์ รวมถึงแบคทีเรีย เมื่อเร็วๆ นี้ความนิยมได้เริ่มเพิ่มขึ้นในด้านเทคโนโลยีชีวภาพสำหรับกำลังการผลิตโปรตีนลูกผสม สายพันธุ์นี้ได้รับการโอนเมื่อเร็วๆ นี้ลงในประเภท Priestia ขั้นตอนการตั้งชื่อที่สมบูรณ์ คือ *Priestia megaterium* (Wikipedia, ม.ป.ป.)

1.4.1 ลำดับทางอนุกรมวิธานของ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus megaterium*

Kingdom : Monera

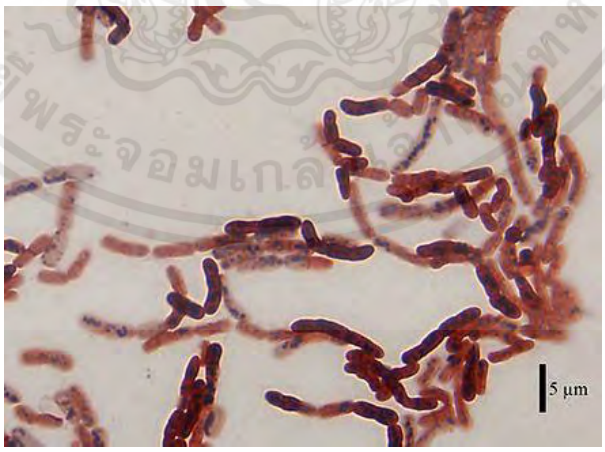
Division : Bacilli

Order : Bacillales

Family : Bacillaceae

Genus : *Bacillus*

Species : *B. megaterium*



ภาพที่ 2 *Bacillus megaterium* เซลล์ย้อมด้วย safranin

แหล่งที่มา : https://hmong.in.th/wiki/Bacillus_megaterium

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4.2 ลักษณะทั่วไป

Bacillus megaterium เป็นชนิดของแบคทีเรียแกรมบวกซึ่งมีรูปลักษณ์คล้ายแท่งแกรมบวก ซึ่งส่วนใหญ่สร้างสปอร์แบบ แอโรบิก ซึ่งเจอได้จากแหล่งที่อยู่หลากหลาย ตามขนาดเซลล์สูงสุด 4 μm รวมถึงมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 μm *B. megaterium* เป็นหนึ่งในแบคทีเรียที่ใหญ่ที่สุดที่รู้จัก เซลล์จึงพบในคู่และโซ่ที่เซลล์สอดคล้องกันโดย polysaccharides ที่ผนังเซลล์

1.4.3 ลักษณะเฉพาะ

B. megaterium เติบโตที่อุณหภูมิตั้งแต่ 3 °C ถึง 45 °C โดยมีค่าที่เหมาะสมอยู่ที่ 30 °C แยกได้จากทะเลสาบที่มีความร้อนใต้พื้นดินแอนตาร์กติกค้นพบสิ่งเติบโตในอุณหภูมิ 63 °C เป็นที่ยอมรับว่าเป็นเอนโดไฟต์และเป็นตัวแทนที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งทางชีวภาพต่อโรคพืช การคงอยู่ของไนโตรเจนจึงเป็นการบ่งบอกถึงสายพันธุ์ของ *B.* megaterium

B. megaterium เป็นสิ่งที่ดำรงอยู่ทางอุตสาหกรรมที่สำคัญมานานหลายทศวรรษ สร้างเพนิซิลลินอะมิเดสที่ใช้ทำเพนิซิลลินสังเคราะห์รวมถึงเอ็มไซม์หลากชนิด เช่น อะไมเลสที่ใช้ในอุตสาหกรรมการอบและกลูโคสดีไฮโดรจีเนสที่นำมาทดสอบปริมาณน้ำตาลในเลือด นอกจากนี้ยังผลิตเอนไซม์สำหรับปรับเปลี่ยนคอร์ติโคสเตียรอยด์ ดุจดังดีไฮโดรจีเนสของกรดอะมิโนหลากหลายชนิด ทั้งนี้ยังเป็นการผลิตไพรูเวตวิตามินบี 12 รวมถึง โมเลกุลซึ่งเป็นคุณสมบัติทำลายตัวเชื้อราวมถึงต้านไวรัส สารที่ออกฤทธิ์ที่มีชีวภาพเหล่านี้หลายชนิด ได้แก่ ไซคลิกไลโปเปปไทด์ ซึ่งเป็นของตระกูล surfactin, iturin และ fengycin lipopeptide ซึ่งผลิตโดยบาซิลลัสอีกหลายชนิด
(Wikipedia, 2560)

1.5 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis*

เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* คือ *Bacillus licheniformis* เป็นชนิดของแบคทีเรียที่พบมากในดินอีกทั้งขนนกที่มีแนวทางที่จะอยู่บนดินมากกว่าอากาศ เช่น นกกระจอกและในน้ำ เช่น เป็ด *Bacillus licheniformis* เป็น facultative anaerobic คือ มีประสิทธิภาพในการทำงานทั้งในสภาวะที่มี O_2 หรือไม่มี O_2 ซึ่งเหมาะต่อการสลายตัวในสารอินทรีย์ในพื้นบ่อ เป็นผลให้มีขี้เลนน้อยลง อีกทั้งยับยั้งกลิ่นเลนในพื้นบ่อ (ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสาคร, 2556)

1.5.1 ลำดับทางอนุกรมวิธานของ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis*

Kingdom : Monera

Division : Bacilli

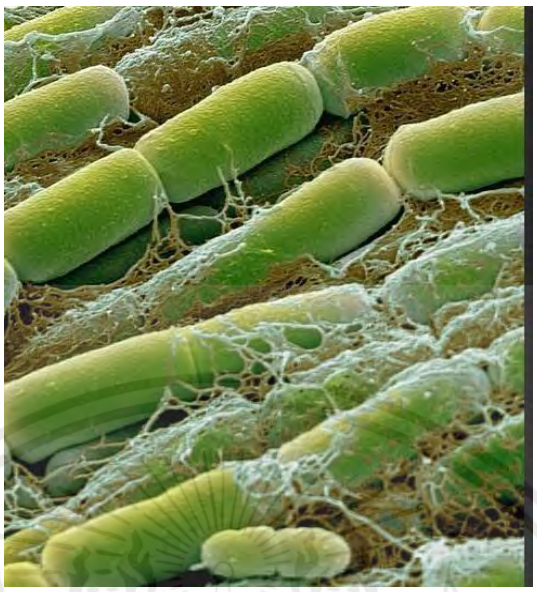
Order : Bacillales

Family : Bacillaceae

Genus : *Bacillus*

Species : *B. licheniformis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis*

แหล่งที่มา : http://th.fengchengroup.net/enzymes-and-bio-products/probiotics/bacillus-licheniformis-or-b-licheniformis.html

1.5.2 ลักษณะทั่วไป

Bacillus Licheniformis หรือ *B. Licheniformis* เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่ง แบคทีเรียแกรมบวก ขนาดของแบคทีเรียคือ 0.8um * (1.5-3.5) um รูปแบบของเซลล์เป็นรูปแท่งและเดี่ยวสปอร์อยู่ใกล้กลางและวงรี Sporocyst มีการแตกตัวเล็กน้อยในพื้นที่ของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะแบนเรียบขอบเป็นสีขาวรวมถึงมีผิวหยาบมากเส้นผ่านศูนย์กลางของแบคทีเรียกลุ่มนี้จะอยู่ที่ 3mm ภายใน 24 ชั่วโมง

1.5.3 ลักษณะเฉพาะ

Bacillus Licheniformis หรือ *B. Licheniformis* สามารถปรับอาณานิคมของแบคทีเรียสามารถส่งเสริมร่างกายที่สร้างสารที่ใช้งานต้านเชื้อแบคทีเรียฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคมันสามารถเกิดสารยับยั้งเป็นฟังก์ชั่นพิเศษของออกซิเจนยึดทางชีวภาพ ทั้งนี้ยังลดการเจริญเติบโตรวมถึงการสืบพันธุ์ของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค (frankrenful, 2002)

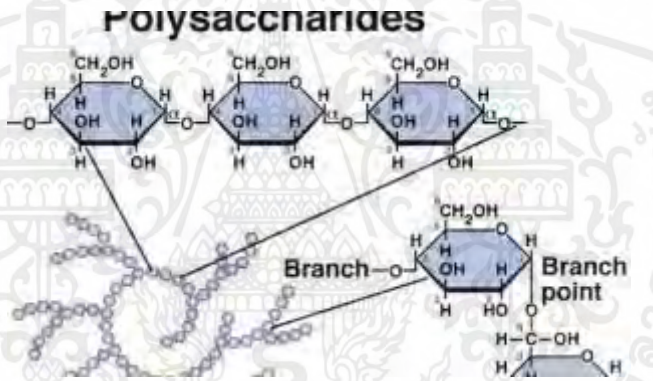
B. licheniformis มีเอกลักษณ์เช่นเดียวกับ *B. subtilis* โดยมีคุณสมบัติพิเศษ คือสามารถทำงานได้เป็นอย่างดีทั้งในสภาพที่มี O_2 และไม่มี O_2 ซึ่งเหมาะแก่การสลายตัวร่วมกับ *B. subtilis* และ พบว่า *B. licheniformis* เกิดคุณสมบัติทำละลายสลายโปรตีนที่ต่างกันซึ่งสลายตัวได้ยาก เช่น เคราติน (keratin) ได้ดี อีกทั้งยังมีการวิจัยที่นำโปรไบโอติกมาใช้ในการเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนา ค้นพบว่าอาจยับยั้งปริมาณเชื้อ *Vibrio spp.* เพิ่มพื้นที่สัดส่วนในแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ต่อจุลินทรีย์ (ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสาคร, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.สารพอลิแซ็กคาไรด์

พอลิแซ็กคาไรด์ (อังกฤษ : polysaccharide) เป็นโมเลกุลคาร์โบไฮเดรตสายยาวที่ร่วมด้วยด้วยหน่วยมอนอเมอร์ซ้ำๆ มาสัมพันธ์กันด้วยพันธะไกลโคซิดิก โครงสร้างมีได้ตั้งแต่เส้นตรงไปจนถึงแตกกิ่งมากมาย พอลิแซ็กคาไรด์อาจพบเป็นวิวิธพันธุ์ (heterogeneous) อาจร่วมด้วยการดัดแปลงหน่วยซ้ำๆ เล็กน้อย โมเลกุลใหญ่เหล่านี้สามารถมีคุณสมบัติแตกต่างจากโมโนแซ็กคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบได้ ขึ้นอยู่กับโครงสร้าง เช่น อาจอสัณฐานหรือละลายน้ำไม่ได้ก็ได้

เมื่อโมโนแซ็กคาไรด์ในพอลิแซ็กคาไรด์เป็นชนิดเดียวกัน เรียกพอลิแซ็กคาไรด์นั้นว่า โฮโมพอลิแซ็กคาไรด์ หรือ โฮโมไกลแคน แต่เมื่อมีโมโนแซ็กคาไรด์มากกว่าหนึ่งชนิด จะเรียกว่า เฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ หรือ เฮเทอโรไกลแคน ตัวอย่างมีพอลิแซ็กคาไรด์สะสม เช่น แป้งและไกลโคเจน และพอลิแซ็กคาไรด์โครงสร้าง เช่น เซลลูโลสและไคติน (ภาพที่ 4) (Wikipedia, 2566)



ภาพที่ 4 โครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์

แหล่งที่มา : https://v4i.rweb-images.com/www.cancerathailand.com

2.1 ฮอโมพอลิแซ็กคาไรด์ (homopolysaccharide)

คือ พอลิแซ็กคาไรด์ที่โมเลกุลประกอบด้วยมอโนแซ็กคาไรด์ชนิดเดียวกันทั้งหมด เช่น แป้ง (starch) ไกลโคเจน (glycogen) และเซลลูโลส (cellulose) ซึ่งในโมเลกุลประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสเท่านั้น และอินูลิน (inulin) คือ พอลิแซ็กคาไรด์ที่โมเลกุลประกอบด้วยน้ำตาลฟรักโทสเท่านั้น

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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

ร่างกายมนุษย์ และสัตว์ จะสะสมคาร์โบไฮเดรตในรูปไกลโคเจน โดยสะสมบริเวณตับและกล้ามเนื้อ ใช้สำหรับเป็นแหล่งของพลังงาน ไกลโคเจนในตับยังมีประโยชน์ เพื่อปรับระดับกลูโคสในเลือดให้คงที่ เมื่อปริมาณน้ำตาลในเส้นเลือดลดลง หรือร่างกายขาดสารอาหาร ตับจะเปลี่ยนไกลโคเจนให้เป็นน้ำตาลกลูโคส

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

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

2.2 เฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (heteropolysaccharide)

คือ พอลิแซ็กคาไรด์ที่โมเลกุลประกอบด้วยมอโนแซ็กคาไรด์มากกว่าหนึ่งชนิด เช่น เฮมิเซลลูโลส (นิธิยา, 2562)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.กล้วยเล็บมือนาง

กล้วยเล็บมือนาง (Lebmuernang Banana) เป็นพืชในตระกูลกล้วย กำเนิดจากกล้วยป่ากลายพันธุ์ เป็นผลไม้ล้มลุกมีลำต้นเดี่ยวตั้งตรง มีเอกลักษณ์เฉพาะตัว รูปทรงกลม ใบขนาน มีรูปลักษณ์แบนสั้น มีเครือและหัวปลีที่ปลายยอด ทรงกลมรีมีขนาดเล็ก ปลายมีลักษณะเรียวแหลม จัดเรียงในหวีมีลักษณะรูปทรงคล้ายนิ้วมือ เนื้อสัมผัสสีเหลืองนิ่ม มีรสหวานหอม ซึ่งมีต้นกำเนิดในพื้นที่เขตร้อนในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปัจจุบันมีอยู่แพร่หลายในประเทศทั่วโลก ทั้งนี้ในประเทศไทยนิยมปลูกกันในแถบภาคใต้ มีประโยชน์รวมถึงมีสรรพคุณนำมารักษาโรค รับประทาน รวมถึงประกอบอาหารได้หลากหลายชนิด (Jom, 2559)

คำว่า เล็บมือนาง ตั้งชื่อที่เกิดจากก้านของเกสรเพศเมียเปรียบเสมือนเล็บบริเวณปลายผลของกล้วยเล็บมือนาง รูปร่างของผลกล้วยคล้ายนิ้วมือเปรียบได้เหมือนนิ้วมือของผู้หญิง ทั้งนี้คนโบราณเชื่อว่าการเก็บเกี่ยวผลผลิตกล้วยเล็บมือนางนั้นต้องมีก้านเกสรเพศเมียติดมาด้วย เพราะทำให้กล้วยเล็บมือนางมีคุณลักษณะครบถ้วนสมบูรณ์ รวมถึงมีรสชาติที่หวานหอม (puechkaset, 2559)

3.1 ลำกับอนุกรมวิธานของกล้วยเล็บมือนาง

Kingdom : Metaphyta
Division : Trachaeophyta
Class : Angiospermae
Order : Scitamineae
Family : Musaceae
Genus : *Musa*
Species : *Musa sapientum* Linn.

3.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น มีลำต้นเดี่ยว ตั้งตรง ลำต้นมีรูปร่างกลม มีกาบคล้ายเปลือกหุ้มอยู่รอบๆ ผิวสัมผัสเรียบ มีสีชมพูอมแดง อีกทั้งมีหน่อโผล่มาจากดิน

ราก มีเส้นรากเป็นรากแก้ว รากมีรูปทรงกลม ทั้งนี้มีรากแขนงฝอยๆสีน้ำตาลร่วมด้วย

ใบ มีลักษณะเป็นใบเลี้ยงเดี่ยว รูปใบขนาน มีลักษณะเฉพาะตัวแบนสั้นคล้ายใบตอง มีสีเขียวอ่อน ก้านใบใหญ่อยู่กลางใบ ก้านชูอีกทั้งมีใบแบนสั้นอยู่รอบๆ ปลายใบมน ขอบใบมีผิเรียบ ลักษณะผิวใบเรียบมันมีสีเขียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดอก มีดอกเป็นช่อ ออกผลเป็นเครือ มีปลีกล้วยที่ปลายยอด ลักษณะคล้ายรูปทรงไข่ มีใบหุ้มสีแดงอมม่วงเรียกว่าหัวปลี มีดอกสีขาวเรียงซ้อนกันภายในหัวปลี อยู่เรียงกันคล้ายนิ้วมือ อีกทั้งปลายดอกมีสีเหลืองรวมทั้งเปลี่ยนเป็นผล

ผล มีรูปทรงรี ขนาดเล็ก ปลายผลเรียวเรียงอยู่ภายในหวี มีพื้นผิวเรียบ ผลอ่อนหรือที่ยังไม่สุกจะมีเปลือกสีเขียวเข้ม ส่วนผลที่สุกจะมีเปลือกสีเหลืองและมีเนื้อสีเหลืองทอง รสชาติหวานหอม (ภาพที่ 5)

เมล็ด มีรูปทรงกลมสีดำแข็ง ซ่อนอยู่ภายในเนื้อกล้วย ทั้งนี้ บางสายพันธุ์อาจไม่มีเมล็ด (Jom, 2559)

ภาพที่ 5 ลักษณะผลของกล้วยเล็บมือนาง
แหล่งที่มา : https://puechkaset.com/wp-content/uploads/2016

3.3 ประโยชน์และสรรพคุณกล้วยเล็บมือนาง

มีฟอสฟอรัส มีวิตามินเอ มีวิตามินซี มีวิตามินบี1 มีวิตามินบี2 มีวิตามินบี3 มีวิตามินบี5 มีวิตามินบี6 มีวิตามินบี9 มีแคลเซียม มีเหล็ก มีแมกนีเซียม มีคาร์โบไฮเดรต มีสังกะสี มีไขมัน มีโปรตีน มีโพแทสเซียม มีสังกะสี มีเส้นใย มีพลังงาน มีไฟเบอร์ มีเบต้าแคโรทีน มีน้ำตาลซูโครส ฟรุทโทส กลูโคส

ช่วยประคองความแก่ชรา บำรุงผิวกาย รักษาโรคเลือดจาง บำรุงสมอง ผ่อนคลายลดอาการซึมเศร้า ปกป้องโรคความดันโลหิตสูง ขับถ่ายคล่อง แก้อาการฟ้องผูกท้องเฟ้อ รักษาอาการจุกเสียดภายในท้อง รวมถึงรักษาแผลในกระเพาะอาหาร อีกทั้งยังลดน้ำตาลในเลือด ให้คุณค่าทางโภชนาการและพลังงานแก่ร่างกาย (กรมการแพทย์, 2565)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 คุณค่าทางโภชนาการ

กล้วยเล็บมือนางสุกปริมาณ 100 g มีคุณสมบัติทางโภชนาการ ดังต่อไปนี้ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางโภชนาการจากกล้วยเล็บมือนางสุกปริมาณ 100 g

สารอาหาร (Nutrient)	ปริมาณ (Amount)	หน่วย (Unit)
สารอาหารหลัก (Main nutrients)		
พลังงาน (Energy)	124	Kcal
น้ำ (Water)	66	g
โปรตีน (Protein)	1.39	g
ไขมัน (Fat)	0.32	g
คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)	26.59	g
เส้นใยอาหาร (Dietary fiber)	4.8	g
เถ้า (Ash)	0.91	g
แร่ธาตุ (Minerals)		
ไอโอดีน (Iodine)	2.18	µg
วิตามิน (Vitamins)		
เบต้าแคโรทีน (Beta carotene)	0	µg
วิตามินเอรวม (Total vitamin A (RAE)	0	µg
ไทอามีน (Thiamin)	0.02	mg
ไรโบฟลาวิน (Riboflavin)	0.09	mg
ไนอาซิน (Niacin)	0.86	mg
วิตามินซี (Vitamin C)	18	mg
วิตามินอี (Vitamin E)	0.11	mg

แหล่งที่มา : https://thaifcd.anamai.moph.go.th/nss/view.php?fID=05020

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พรพิมล(2558) การศึกษาสารสกัดหยาบจากเส้นใยเชื้อเห็ดตับเต่าเพื่อใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสกัดเส้นใยเชื้อเห็ดตับเต่าด้วยโดยการสกัดเย็นด้วยวิธีการหมักและการสกัดรอนด้วยวิธีการกลั่นแบบไหลกลับจากนำน้ำมาตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ด้วย 95% เอทานอล สารสกัดที่ได้แยกได้เป็น 4 ประเภท คือ พอลิแซ็กคาไรด์สกัดเย็น น้ำสกัดเย็น พอลิแซ็กคาไรด์สกัดร้อน และน้ำสกัดร้อน จากนั้นทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging capacity และ วิธี Reducing power ผลการทดสอบพบว่าจากน้ำสกัดร้อนมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด (IC50 = 85.59 μg/mL) และมีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ได้ดีที่สุด จากการวิเคราะห์โครงสร้างสารโดยวิธีฟูเรียร์ทรานฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปีพบว่า สารสกัดทั้ง 4 ส่วนเป็นสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีทั้ง α-configuration และ β-configuration ซึ่งจากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่าสารสกัดจากเส้นใยเชื้อเห็ดตับเต่ามีศักยภาพในการใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติได้

พรเพชร(2557) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดสารเมือกจากกระเจี๊ยบเขียว เห็ดหูหนูดำ ผักปลัง และผักกูด โดยเปรียบเทียบอุณหภูมิของน้ำที่ใช้ในการสกัด คือ น้ำอุณหภูมิห้องและน้ำอุณหภูมิ 80°C ที่อัตราส่วนผัก ต่อน้ำ 1:1 โดยน้ำหนัก เพื่อสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดสารเมือกและนำมาวัดความหนืด จากการศึกษาพบว่าอุณหภูมิของน้ำที่เหมาะสมในการสกัดสารเมือกของกระเจี๊ยบเขียว เห็ดหูหนูดำ และ ผักปลัง คือ 80°C และน้ำที่เหมาะสมในการสกัดสารเมือกจากผักกูด คือ น้ำที่อุณหภูมิห้อง ตกตะกอนสารเมือกจากผักทั้ง 4 ชนิดที่สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิที่เหมาะสม จากการศึกษาและอบแห้งองค์ประกอบทางเคมีด้านปริมาณความชื้นโปรตีน ไขมัน กาก เถ้า และคาร์โบไฮเดรตของสารสกัดผงพอลิแซ็กคาไรด์ของกระเจี๊ยบเขียว มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 10.6 22.8 1.6 2.6 11.4 และ 51.0 ตามลำดับองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดผงพอลิแซ็กคาไรด์ของ เห็ดหูหนูดำ มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 6.7 9.8 1.8 16.5 4.7 และ 60.5 ตามลำดับ องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดผงพอลิแซ็กคาไรด์ของ ผักปลัง มีค่าเฉลี่ยร้อยละ 4.2 14.8 1.7 2.5 13.8 และ 63.0 ตามลำดับ ส่วนผักกูดไม่สามารถตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ได้ความหนืดที่ได้หลังการคืนรูปสารสกัดผงพอลิแซ็กคาไรด์ของกระเจี๊ยบเขียว เห็ดหูหนูดำ และผักปลัง มีค่าเท่ากับ 8.30 3.45 และ 1.90 cP ตามลำดับ

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
    2.1 Trypticase soy agar (TSA)
    2.2 Nutrient broth (NB)
3. กล้วยเล็บมือนาง
4. สารเคมีที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ ปม.1
    4.1 Sucrose
    4.2 Dipotassium phosphate (K_2HPO_4)
    4.3 Potassium Dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)
    4.4 Diammonium phosphate ($(NH_4)_2PO_4$)
    4.5 Magnesium sulfate ($MgSO_4$)
    4.6 Sodium chloride (NaCl)
    4.7 Ferous Sulfate Heptahydrate ($FeSO_4.H_2O$)
    4.8 Manganese (II) Sulphate 1-Hydrate ($Mn_4SO_4.H_2O$)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. สำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
    1.1 ไม่โครเวฟ
    1.2 ตู้อบฆ่าเชื้อแบบอบลมร้อน (Hot air oven)
    1.3 ตู้นึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)
    1.4 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Flow)
    1.5 จานเพาะเชื้อแก้ว (Petri dish glass)
    1.6 กระบอกตวง
    1.7 ตาชั่งสารดิจิตอล
    1.8 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 500 ml.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.9 ขวดรูปชมพู่ (Flask) ขนาด 500 ml.

1.10 สำลี

1.11 ฟอยล์ห่ออาหาร

1.12 ถุงพลาสติก

1.13 หนังยาง

1.14 แอลกอฮอล์ 75 %

1.15 ตะเกียงแอลกอฮอล์

2. สำหรับใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

2.1 ตู้เพาะเชื้อ (Incubator)

2.2 ลูปเขี่ยเชื้อ (Inoculation Loop)

2.3 แอลกอฮอล์ 75 %

2.4 ตะเกียงแอลกอฮอล์

2.5 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Flow)

3. สำหรับการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์

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 (Thermometer)

3.8 ผ้าขาวบาง

3.9 กระดาษกรองขนาด 0.1 ไมครอน

3.10 ชุดกรองแก้ว (Buchner Funnel Suction Flask)

3.11 ขวด Duran ขนาด 500 ml. – 1000 ml.

3.12 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)

3.13 Corning tube ขนาด 50 ml.

3.14 Parafilm

3.15 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 500 ml.

3.16 ตาชั่งสารดิจิตอล

3.17 ตู้อบฆ่าเชื้อแบบอบลมร้อน (Hot Air Oven)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.18 75% เอทานอล

4. สำหรับการทดลองสารคัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์ต่อสิ่งเจริญเติบโตในเชื้อจุลินทรีย์

4.1 หลอดทดลองชนิดฝาเกลียว (Test tube screw cap)

4.2 Micropipette tip

4.3 Micropipette

4.4 เครื่องเขย่าสาร (Shaker)

4.5 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)

4.6 สไลด์นับเม็ดเลือด (Counting Chamber)

4.7 น้ำเกลือ

4.8 แอลกอฮอล์ 75 %

4.9 ตะเกียงแอลกอฮอล์

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 และ BL ในอาหารสูตรต่างๆ

5.1 Micro Centrifuge tube ขนาด 1.5 ml.

5.2 เครื่องให้อากาศ

5.3 ขวดรูปชมพู่ (Flask) ขนาด 250 ml. - 1000 ml.

5.4 จุกยาง

5.5 เข็มฉีดยา ขนาด 50 ml.

5.6 หลอดแก้วให้อากาศ

5.7 สายซิลิโคน

5.8 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Flow)

5.9 ตู้อบฆ่าเชื้อแบบอบลมร้อน (Hot Air Oven)

5.10 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

5.11 สำลี

5.12 ฟอยล์ห่ออาหาร

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 ศึกษาปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางด้วยวิธีสกัดที่แตกต่างกัน

1.1 การศึกษาปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางด้วยวิธีสกัดที่แตกต่างกัน

นำกล้วยเล็บมือนางมาปลอกเปลือกและล้างน้ำ จากนั้นหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปปั่นผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนตัวอย่างกล้วยเล็บมือนางต่อน้ำ 1:4 (น้ำหนักต่อปริมาณ) โดยทำการเปรียบเทียบการสกัด โดยการสกัดแบบต้มที่อุณหภูมิน้ำร้อนที่ 90-95 ℃ นาน 30 นาที และ สกัดด้วยน้ำแบบไม่ต้ม นาน 30 นาที (สกัดที่อุณหภูมิห้อง) และการสกัดด้วย 75% เอทานอล อุณหภูมิ 75 ℃ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรองกาก ทำการสกัดซ้ำรวม 3 ครั้ง เมื่อทำการสกัดข้างต้นแล้วนำส่วนน้ำที่ได้จากการสกัดผสมกับ 75% เอทานอล ในอัตราส่วนตัวอย่างน้ำที่ได้จากการสกัดต่อเอทานอล 1:1 (ปริมาณต่อปริมาณ) จากนั้นนำไปแช่ที่อุณหภูมิ 4 ℃ เป็นเวลา 1 คืน และนำไปทำการ Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 5000 รอบ เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิ 4 ℃ เก็บส่วนตะกอนที่ได้ (พอลิแซ็กคาไรด์) ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งแล้วชั่งน้ำหนัก

1.2 การวิเคราะห์

นำน้ำหนักสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีการของ Duncan’s new multiple range test

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. subtilis*, *B. megaterium* และ *B. licheniformis*

2.1 สายพันธุ์แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

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

2.2 สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์

สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ โดยทำการสกัดสารจากกล้วยเล็บมือนางด้วยวิธีที่ดีที่สุดซึ่งได้จากการทดลองที่ 1 นั่นก็คือการสกัดด้วยน้ำโดยการนำกล้วยเล็บมือนางมาปลอกเปลือกและล้างน้ำ จากนั้นหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปปั่นผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนตัวอย่างกล้วยเล็บมือนางต่อน้ำ 1:4 (น้ำหนักต่อปริมาณ) โดยทำการเปรียบเทียบการสกัด โดยการสกัดแบบต้มที่อุณหภูมิน้ำร้อนที่ 90-95 ℃ นาน 30 นาที และไม่ต้ม (สกัดที่อุณหภูมิห้อง) และการสกัดด้วย 75% เอทานอล อุณหภูมิ 75 ℃ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรองกาก ทำการสกัดซ้ำรวม 3 ครั้ง เมื่อทำการสกัดข้างต้นแล้วนำส่วนน้ำที่ได้จากการสกัดผสมกับ 75% เอทานอล ในอัตราส่วนตัวอย่างน้ำที่ได้จากการสกัดต่อเอทานอล 1:1 (ปริมาณต่อปริมาณ) จากนั้นนำไปแช่ที่อุณหภูมิ 3 ℃

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเวลา 1 คืน และนำไปทำการ Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 5000 รอบ เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิ 4 ℃ เก็บส่วนตะกอนที่ได้ (พอลิแซ็กคาไรด์)

2.3 การทดสอบการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ

2.3.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis*, *B. megaterium* และ *B. licheniformis* มาเขี่ยเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 ℃ 18 – 24 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางเชื้อแบคทีเรียด้วย 0.85 % NaCl ปรับความขุ่นให้ใกล้เคียงกับความขุ่นของ McFarland เบอร์ 1 ($3.0x10^8$)

2.3.2 การทดสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดโดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางโดยทำการชั่งสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ประมาณ 0, 0.05, 0.08 และ 1 กรัม ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ความเข้มข้นละ 9 ml จากนั้นเติมสารละลายแบคทีเรียจากข้อ 2.3.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0, 0.5, 0.8 และ 1 ℃ ของปริมาตรอาหารที่ใช้ในการทดลองตามลำดับ จากนั้นนำไปบ่มในตู้ Shaker incubator ที่ความเร็วรอบ 120 rpm ที่อุณหภูมิ 37 ℃

2.3.3 การวัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

ทำการวัดการเจริญเติบโตโดยการนับจำนวนเซลล์ด้วย Counting Chamber ที่ 0, 1, 3, 5, 10, 15, 19 และ 24 ชั่วโมง โดยดูดเชื้อมา 10 ไมโครลิตร จากแต่ละความเข้มข้น ใส่ลงในสไลด์นับเม็ดเลือด จำนวนเซลล์ของเชื้อทั้งหมดจะได้จากการนับเซลล์ที่ปรากฏในช่องสี่เหลี่ยมเล็กทั้ง 4 มุม รวมกันกับช่องตรงกลาง แล้วบันทึกจำนวนเซลล์แบคทีเรียในแต่ละช่วงเวลาคำนวณค่าการเจริญเติบโตเป็นเซลล์ต่อมิลลิลิตรพร้อมสร้างกราฟการเจริญเติบโต

2.4 การวิเคราะห์

นำจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีการของ Duncan’s new multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

3.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด โดยนำเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis*, *B. megaterium* และ *B. licheniformis* มาเขี่ยเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 ℃ 18–24 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อที่ได้แต่ละชนิดจำนวน 3 ลูป ใส่ในรูปชมพู่ที่มีอาหาร NB ปริมาตร 150 มิลลิลิตร จำนวน 3 ขวด (แยกใส่ 1 เชื้อต่อ 1 ขวด) แล้วเป่าให้อากาศนาน 24 ชั่วโมง

3.2 การเตรียมสูตรอาหาร

อาหารที่ใช้ในการทดลองมี 3 สูตรการทดลอง คือ อาหาร Minimal Medium (สูตรกรมประมง) ซึ่งมีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 1) สูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งไม่มีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 2) และสูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากกล้วยเล็บมือนางแทนน้ำตาล Sucrose (สูตรที่ 3) ซึ่งส่วนประกอบของสูตรอาหารแต่ละสูตรแสดง (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 สูตรอาหาร MM สำหรับการขยายหัวเชื้อ ปม.1

ลำดับ	สาร	สูตรอาหาร (กรัม/ลิตร)		
		สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3
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	0.85	0.85	0.85
8	$FeSO_4.H_2O$	0.01	0.01	0.01
9	$Mn_4SO_4.H_2O$	0.007	0.007	0.007

เตรียมอาหารตามสูตร ข้อ 1-7 จากนั้นชั่ง $FeSO_4.H_2O$ และ $Mn_4SO_4.H_2O$ ข้อ 8 และ 9 ละลายในบีกเกอร์ (น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เติม $FeSO_4.H_2O$ 1 กรัม และ น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เติม $Mn_4SO_4.H_2O$ 0.7 กรัม) แล้วดูดสารละลายแต่ละตัวใส่ลงในขวด Duran ที่ผสมอาหารตามสูตร ข้อ 1-7 จำนวน 1 มิลลิลิตร/ลิตร ปิดฝาขวด Duran หลวมๆ แล้วปิดด้วยอลูมิเนียมฟอยล์จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 ℃ นาน 2 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การเตรียมอุปกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อ

เตรียมอุปกรณ์เติมอากาศ โดยการประกอบท่อหลอดแก้วสำหรับอากาศเข้า และ ออก สายซิลิโคน จุกยาง ชุดกรองอากาศ (หลอดฉีดยาขนาด 50 มิลลิลิตร พร้อมสำลี และจุกยาง) จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาประกอบชุดอุปกรณ์เติมอากาศ (ภาพที่ 6)

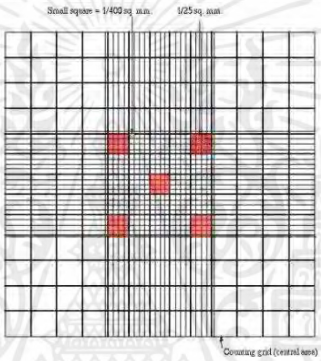
ภาพที่ 6 ชุดอุปกรณ์เติมอากาศ

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

นำเชื้อแบคทีเรียที่เป่าให้อากาศครบ 24 ชั่วโมงมาเติมในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหาร MIM สูตรต่างๆที่เตรียมไว้ ทั้ง 3 สูตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร/ลิตร ปิดขวดรูปชมพู่ให้สนิทด้วยจุกยางและชุดกรองอากาศที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (ระหว่างการประกอบชุดกรองอากาศ ต้องมีการลนไฟฆ่าเชื้อบริเวณปากขวดและที่สำลีเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจากอากาศ) หลังจากนั้นเติมอากาศโดยการใช้ปั๊มลมต่อเข้ากับชุดกรองอากาศที่เตรียมไว้ (ภาพที่ 7) เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการวัดการเจริญเติบโตโดยการนับจำนวนเซลล์ด้วย Counting Chamber การนับปริมาณเซลล์ของเชื้อโดยการเจือจางความเข้มข้นของเชื้อในน้ำเกลือ 0.85% ในอัตราส่วน 1:9 (เชื้อ 100 ไมโครลิตรผสมกับน้ำเกลือ 0.85% ปริมาตร 900 ไมโครลิตร) นำเชื้อมา 10 ไมโครลิตร ใส่ ลงในสไลด์นับเม็ดเลือด จำนวนเซลล์ของเชื้อทั้งหมดจะได้จากการนับเซลล์ที่ปรากฏในช่องสี่เหลี่ยม เล็กทั้ง 4 มุมรวมกันกับช่องตรงกลาง (ภาพที่ 8) แล้วบันทึกจำนวนเซลล์แบคทีเรียและคำนวณค่าการเจริญเติบโตเป็นเซลล์ต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 7 การเติมอากาศโดยใช้ปั๊มลมต่อเข้ากับชุดกรองอากาศ



ภาพที่ 8 ลักษณะการนับเซลล์ของเชื้อ

แหล่งที่มา : https://dp.lnwfile.com/_/dp/_raw/ja/92/8z.jpg

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการนับจำนวนเซลล์ของเชื้อในแต่ละสูตรอาหารไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธีการของ Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

ระยะเวลาทำการ

ใช้เวลาในการศึกษาการทดลองเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์

สถานที่ทำการทดลอง

อาคารเรียนรวมห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ B107, B108, B115, B206, B311 อาคารปฏิบัติการสาขาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน และอาคารปฏิบัติการสาขาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำห้องปฏิบัติการโรคสัตว์น้ำ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางด้วยวิธีสกัดที่แตกต่างกัน

จากการนำกล้วยเล็บมือนางมาสกัดด้วยสภาวะต่างๆ คือการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 90-95 ℃ นาน 30 นาที และการสกัดด้วย 75% เอทานอล ที่อุณหภูมิ 75 ℃ นาน 30 นาที เพื่อหาสภาวะในการสกัดที่จะทำให้ได้สาร พอลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณที่สูงที่สุด พบว่าปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีต่างๆ มีค่า Yield เท่ากับ 19.23 ± 6.37, 0.79 ± 0.25 และ 4.27 ± 2.80 % ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 90-95 ℃ มีค่ามากที่สุด และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง ($P<0.05$) และการสกัดด้วย 75% เอทานอลที่อุณหภูมิ 75 ℃ ($P>0.05$) (ตารางที่ 3)

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. subtilis, B. megaterium และ B. licheniformis*

1. เชื้อ *B. subtilis*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* 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 มีค่าจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ แสดงไว้ดัง (ตารางที่ 4) และ (ภาพที่ 9) เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของเชื้อ *B. subtilis* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 1 % ที่ทุกชั่วโมง มีปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารชุดควบคุมที่ไม่ผสมพอลิแซ็กคาไรด์

2. เชื้อ *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 มีค่าจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์แสดงไว้ดัง (ตารางที่ 5) และ (ภาพที่ 10) เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของเชื้อ *B. megaterium* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 1 % ที่ทุกชั่วโมง มีปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารผสมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 0.8 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เชื้อ *B. licheniformis*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ *B. licheniformis* 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 มีค่าจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์แสดงไว้ดัง (ตารางที่ 6) และ (ภาพที่ 11) เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของเชื้อ *B. licheniformis* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 1 % ที่ทุกชั่วโมง มีปริมาณจุลินทรีย์สูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารผสมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 0.8 %

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

1. *B. subtilis*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของเชื้อ *B. subtilis* ที่เลี้ยงในอาหาร Minimal Medium (สูตรกรมประมง) ซึ่งมีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 1), สูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งไม่มีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 2) และ สูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากกล้วยเล็บมือนางแทนน้ำตาล Sucrose (สูตรที่ 3) ในอุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ $0.30 \pm 0.10 \times 10^8$, $2.80 \pm 0.08 \times 10^8$ และ $3.50 \pm 1.00 \times 10^8$ ตามลำดับ (ตารางที่ 7) และ (ภาพที่ 12) เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของจุลินทรีย์ *B. subtilis* ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ 3 มีปริมาณจุลินทรีย์แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 2 แต่ไม่แตกต่างกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1

2. *B. megaterium*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของเชื้อ *B. megaterium* ที่เลี้ยงในอาหาร Minimal Medium (สูตรกรมประมง) ซึ่งมีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 1), สูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งไม่มีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 2) และ สูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากกล้วยเล็บมือนางแทนน้ำตาล Sucrose (สูตรที่ 3) ในอุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ $0.05 \pm 0.01 \times 10^8$, $1.90 \pm 0.20 \times 10^8$ และ $1.90 \pm 0.06 \times 10^8$ ตามลำดับ (ตารางที่ 7) และ (ภาพที่ 12) เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของจุลินทรีย์ *B. megaterium* ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ 3 มีปริมาณจุลินทรีย์แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 2 แต่ไม่แตกต่างกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. *B. licheniformis*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของเชื้อ *B. licheniformis* ที่เลี้ยงในอาหาร Minimal Medium (สูตรกรมประมง) ซึ่งมีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 1), สูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งไม่มีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 2) และ สูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากกล้วยเล็บมือนางแทนน้ำตาล Sucrose (สูตรที่ 3) ในอุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ $2.00 \pm 0.60 \times 10^8$, $3.30 \pm 0.10 \times 10^8$ และ $2.30 \pm 0.40 \times 10^8$ ตามลำดับ (ตารางที่ 7) และ (ภาพที่ 12) เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของจุลินทรีย์ *B. licheniformis* ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ 3 มีปริมาณจุลินทรีย์แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 2 แต่ไม่แตกต่างกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1

ตารางที่ 3 ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางด้วยวิธีสกัดที่แตกต่างกัน

วิธีสกัด	**Yield (%)**
ต้มด้วยน้ำ	19.23 ± 6.37^{a}
ต้มด้วยเอทานอล	0.79 ± 0.25^{b}
อุณหภูมิห้อง	4.27 ± 2.80^{b}

หมายเหตุ a,b ค่าเฉลี่ยอักษรที่มีพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันกำกับในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus subtilis* (BS)

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (%)				P-value
	0	0.5	0.8	1	
0[ns]	$0.20 \pm 0.04 \times 10^{7}$	$0.20 \pm 0.04 \times 10^{7}$	$0.20 \pm 0.04 \times 10^{7}$	$0.20 \pm 0.04 \times 10^{7}$	1.0000
1	$0.22 \pm 0.06 \times 10^{7\ b}$	$0.29 \pm 0.18 \times 10^{7\ ab}$	$0.51 \pm 0.09 \times 10^{7\ a}$	$0.52 \pm 0.21 \times 10^{7\ a}$	0.2060
3	$0.33 \pm 0.23 \times 10^{7\ b}$	$0.38 \pm 0.16 \times 10^{7\ b}$	$0.53 \pm 0.15 \times 10^{7\ ab}$	$0.74 \pm 0.16 \times 10^{7\ a}$	0.0297
5	$0.49 \pm 0.20 \times 10^{7\ c}$	$0.59 \pm 0.09 \times 10^{7\ cb}$	$0.86 \pm 0.07 \times 10^{7\ ab}$	$1.04 \pm 0.36 \times 10^{7\ a}$	0.0129
10	$0.36 \pm 0.12 \times 10^{7\ b}$	$0.50 \pm 0.28 \times 10^{7\ ab}$	$0.58 \pm 0.09 \times 10^{7\ ab}$	$0.65 \pm 0.07 \times 10^{7\ a}$	0.1238
15	$0.36 \pm 0.22 \times 10^{7\ b}$	$0.45 \pm 0.21 \times 10^{7\ ab}$	$0.40 \pm 0.20 \times 10^{7\ ab}$	$0.71 \pm 0.18 \times 10^{7\ a}$	0.1190
19[ns]	$0.46 \pm 0.16 \times 10^{7}$	$0.47 \pm 0.14 \times 10^{7}$	$0.74 \pm 0.14 \times 10^{7}$	$0.86 \pm 0.22 \times 10^{7}$	0.2561
24	$0.45 \pm 0.20 \times 10^{7\ b}$	$0.66 \pm 0.28 \times 10^{7\ b}$	$0.85 \pm 0.28 \times 10^{7\ ab}$	$1.13 \pm 0.30 \times 10^{7\ a}$	0.0233

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

a,b,c,d ค่าเฉลี่ยอักษรที่มีพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันกำกับในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 5 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus megaterium* (BM)

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (%)				P-value
	0	0.5	0.8	1	
0^{ns}	$0.40 \pm 0.02 \times 10^{7}$	$0.40 \pm 0.02 \times 10^{7}$	$0.40 \pm 0.02 \times 10^{7}$	$0.40 \pm 0.02 \times 10^{7}$	1.0000
1	$0.76 \pm 0.01 \times 10^{7\ c}$	$1.02 \pm 0.03 \times 10^{7\ ab}$	$1.00 \pm 0.01 \times 10^{7\ b}$	$1.04 \pm 0.01 \times 10^{7\ a}$	0.0001
3	$1.03 \pm 0.03 \times 10^{7\ c}$	$1.51 \pm 0.00 \times 10^{7\ b}$	$1.67 \pm 0.04 \times 10^{7\ a}$	$1.68 \pm 0.03 \times 10^{7\ a}$	0.0001
5	$1.18 \pm 0.02 \times 10^{7\ d}$	$2.50 \pm 0.02 \times 10^{7\ c}$	$2.60 \pm 0.02 \times 10^{7\ b}$	$2.74 \pm 0.06 \times 10^{7\ a}$	0.0001
10	$1.19 \pm 0.01 \times 10^{7\ d}$	$2.69 \pm 0.01 \times 10^{7\ c}$	$2.78 \pm 0.02 \times 10^{7\ b}$	$2.97 \pm 0.03 \times 10^{7\ a}$	0.0001
15	$1.29 \pm 0.01 \times 10^{7\ d}$	$2.46 \pm 0.03 \times 10^{7\ c}$	$2.60 \pm 0.03 \times 10^{7\ b}$	$2.74 \pm 0.01 \times 10^{7\ a}$	0.0001
19	$1.17 \pm 0.03 \times 10^{7\ d}$	$1.94 \pm 0.04 \times 10^{7\ c}$	$2.51 \pm 0.04 \times 10^{7\ b}$	$2.58 \pm 0.02 \times 10^{7\ a}$	0.0001
24	$1.20 \pm 0.04 \times 10^{7\ d}$	$2.05 \pm 0.05 \times 10^{7\ c}$	$2.29 \pm 0.02 \times 10^{7\ b}$	$2.59 \pm 0.02 \times 10^{7\ a}$	0.0001

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

ตารางที่ 6 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus licheniformis* (BL)

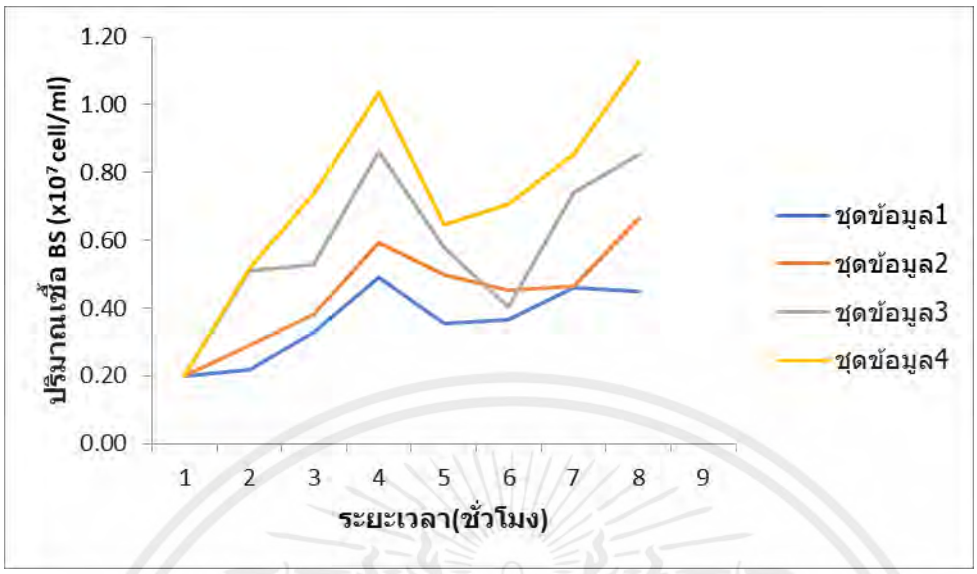
ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (%)				P-value
	0	0.5	0.8	1	
0^{ns}	$0.40 \pm 0.03 \times 10^{7}$	$0.40 \pm 0.03 \times 10^{7}$	$0.40 \pm 0.03 \times 10^{7}$	$0.40 \pm 0.03 \times 10^{7}$	1.0000
1	$0.78 \pm 0.01 \times 10^{7\ b}$	$1.03 \pm 0.06 \times 10^{7\ a}$	$1.01 \pm 0.03 \times 10^{7\ a}$	$1.06 \pm 0.04 \times 10^{7\ a}$	0.0001
3	$1.04 \pm 0.01 \times 10^{7\ c}$	$1.52 \pm 0.03 \times 10^{7\ b}$	$1.66 \pm 0.03 \times 10^{7\ a}$	$1.67 \pm 0.03 \times 10^{7\ a}$	0.0001
5	$1.17 \pm 0.03 \times 10^{7\ d}$	$2.50 \pm 0.04 \times 10^{7\ c}$	$2.58 \pm 0.05 \times 10^{7\ b}$	$2.76 \pm 0.04 \times 10^{7\ a}$	0.0001
10	$1.19 \pm 0.03 \times 10^{7\ d}$	$2.68 \pm 0.03 \times 10^{7\ c}$	$2.78 \pm 0.03 \times 10^{7\ b}$	$2.98 \pm 0.04 \times 10^{7\ a}$	0.0001
15	$1.29 \pm 0.02 \times 10^{7\ d}$	$2.44 \pm 0.04 \times 10^{7\ c}$	$2.62 \pm 0.04 \times 10^{7\ b}$	$2.72 \pm 0.03 \times 10^{7\ a}$	0.0001
19	$1.17 \pm 0.03 \times 10^{7\ d}$	$1.96 \pm 0.04 \times 10^{7\ c}$	$2.52 \pm 0.07 \times 10^{7\ b}$	$2.60 \pm 0.03 \times 10^{7\ a}$	0.0001
24	$1.17 \pm 0.04 \times 10^{7\ d}$	$2.02 \pm 0.03 \times 10^{7\ c}$	$2.35 \pm 0.04 \times 10^{7\ b}$	$2.56 \pm 0.01 \times 10^{7\ a}$	0.0001

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

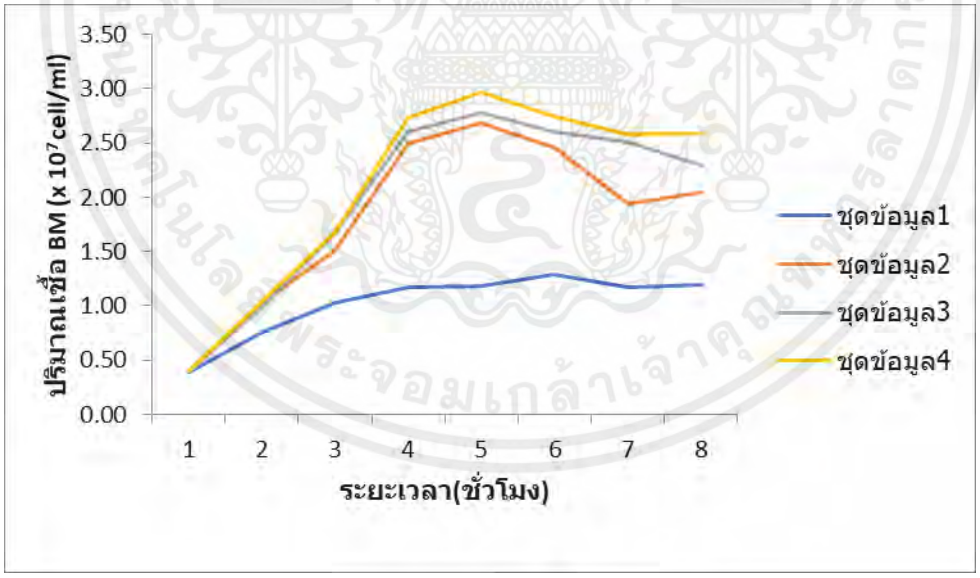
ตารางที่ 7 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ *Bacillus subtilis* (BS), *Bacillus megaterium* (BM) และ *Bacillus licheniformis* (BL) ในอาหารสูตรต่างๆ

เชื้อ	สูตรไม่มีน้ำตาล	สูตรมีน้ำตาล	พอลิแซ็กคาไรด์	P-value
BS	$0.30 \pm 0.10 \times 10^{8\ b}$	$2.80 \pm 0.08 \times 10^{8\ a}$	$3.50 \pm 1.00 \times 10^{8\ a}$	0.0001
BM	$0.05 \pm 0.01 \times 10^{8\ b}$	$1.90 \pm 0.20 \times 10^{8\ a}$	$1.90 \pm 0.06 \times 10^{8\ a}$	0.0001
BL	$2.00 \pm 0.60 \times 10^{8\ b}$	$3.30 \pm 0.10 \times 10^{8\ a}$	$2.30 \pm 0.40 \times 10^{8\ b}$	0.0038

หมายเหตุ a,b ค่าเฉลี่ยอักษรที่มีพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันกำกับในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

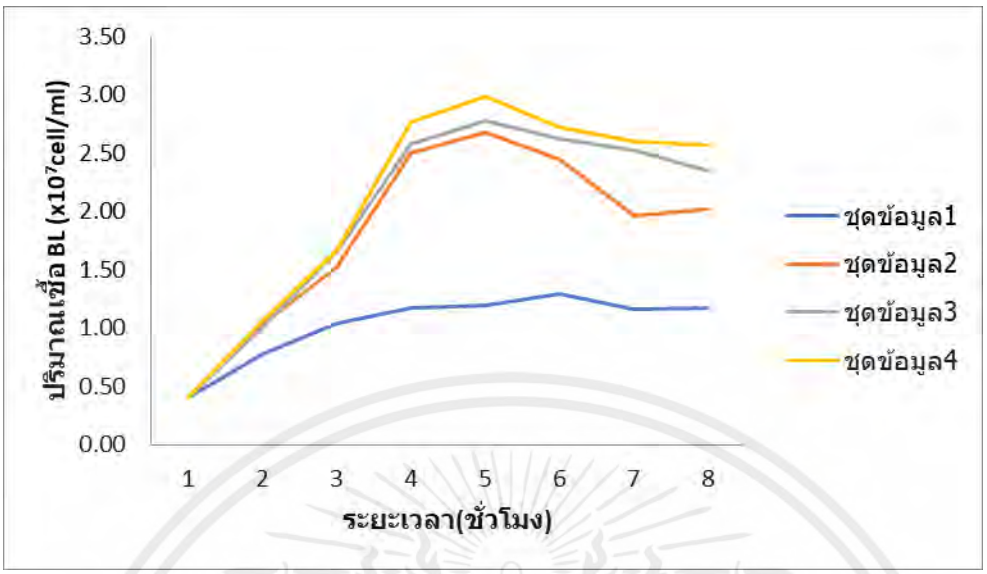


ภาพที่ 9 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus subtilis* (BS)

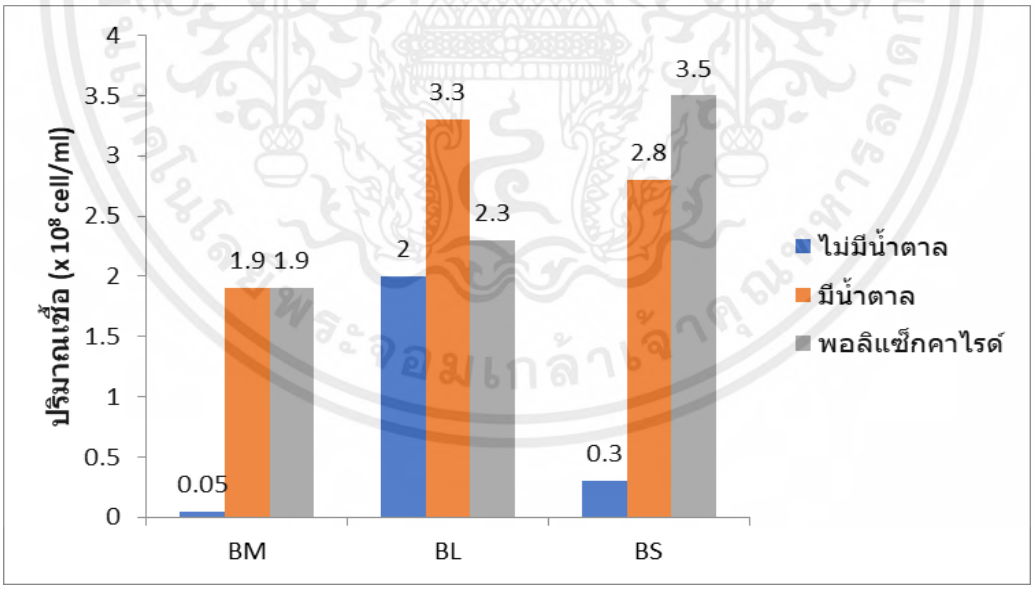


ภาพที่ 10 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus megaterium* (BM)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 11 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus licheniformis* (BL)



ภาพที่ 12 แผนภูมิเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ *Bacillus megaterium* (BM), *Bacillus licheniformis* (BL) และ *Bacillus subtilis* (BS)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางด้วยวิธีการต่างๆ คือ การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง, การสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิ 90-95 ℃ และ การสกัดด้วย 75% เอทานอลที่ อุณหภูมิ 75 ℃ พบว่าปริมาณของสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยการสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิ 90-95 ℃ และการสกัดด้วย 75% เอทานอลที่ อุณหภูมิ 75 ℃ สูงกว่าการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับ งานวิจัยของกนิษฐา (2564) ที่ได้ศึกษาการสกัดด้วยเอทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 25, 50, 75 และ 99.9) และการสกัดด้วยน้ำ (อุณหภูมิห้อง, 50, 75 ℃ และ น้ำต้มเดือด) พบว่า ปริมาณสารสกัดพอลิเซ็กคาไรด์จากผักเขียงดาด้วยวิธีการสกัดจากน้ำต้มเดือดได้ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์สูงที่สุดคือ 320.96+8.98 กรัม, การสกัดด้วย 75% เอทานอลได้ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ 58.50 +2.92 กรัม และ การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องได้ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ 244.40+6.57 กรัม นอกจากนี้ กนิษฐา (2564) ยังรายงานว่าอุณหภูมิของน้ำและความเข้มข้นของเอทานอลมีผลต่อการสกัด และ ปริมาณของสารพอลิแซ็กคาไรด์ โดยอุณหภูมิของน้ำที่สูงขึ้น และความเข้มข้นของเอทานอลที่มากขึ้น เป็นผลให้ปริมาณสารพอลิแซ็กคาไรด์มากขึ้นด้วย ดังนั้น จึงเลือกการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จาก กล้วยเล็บมือนางด้วยน้ำอุณหภูมิ 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 หากความเข้มข้นของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์สูงขึ้นมีผลทำให้การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดเพิ่มขึ้นด้วย มีรายงานการศึกษาของ สุดารัตน์ (2564) ได้ศึกษาการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหัวลิง พบว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์มีศักยภาพในการเป็นพรีไบโอติก ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacilus* ได้บางสายพันธุ์ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Chou et al. (2013) ได้ศึกษาการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากก้านเห็ดเหลือทิ้ง พบว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์ช่วยในการเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของ *L. acidophilus, L. casei* และ *Bifidobacterium longum* ในระหว่างการเก็บรักษาในโยเกิร์ต และ ปกป้องจุลินทรีย์เหล่านี้จากระบบจำลองของกระเพาะอาหารและน้ำดี ก้านเห็ดจึงเป็นอีกหนึ่งสิ่งที่ใช้สกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติก ดังนั้น จึงเลือกสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 1 % เพื่อใช้ในการทำการทดลองต่อไป โดยการนำมาทดสอบการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ใช้แทนน้ำตาล Sucrose ในสูตรอาหารของกรมประมง (Minimal Medium) ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. subtilis, B. megaterium* และ *B. licheniformis* สรุปได้ว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ กระตุ้นการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ดังนั้นสามารถใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางแทนน้ำตาล Sucrose ในสูตรอาหารของกรมประมง (Minimal Medium) เพื่อช่วยในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ได้ เนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, B. megaterium* และ *B. licheniformis* ทั้ง 3 ชนิด ที่ใช้ในการ ทดลองสามารถผลิตเอมไซม์อะไมเลสโดยตัวของเชื้อมีความสามารถเปลี่ยนแป้งที่มีสารพอลิแซ็กคาไรด์เป็นส่วนประกอบเป็นน้ำตาล Glucose ซึ่งน้ำตาล Glucose เป็นหน่วยย่อยของน้ำตาล Sucrose (วัชรินทร์, 2558) ที่ใช้ในสูตรอาหารของกรมประมง ทำให้การย่อยน้ำตาลของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, B. megaterium* และ *B. licheniformis* โดยใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์จากกระบวนการทำงานของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด เปลี่ยนเป็นน้ำตาล Glucose ซึ่งได้ผลดีกว่าการใช้น้ำตาล Sucrose จากสูตรของกรมประมงที่มีโมเลกุลใหญ่และมีกระบวนการย่อยที่เป็นไปได้ยากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองนำกล้วยเล็บมือนางมาสกัดด้วยสภาวะต่างๆ พบว่าวิธีสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดีที่สุด คือ วิธีการต้มด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 90-95 ℃ ซึ่งจะได้ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่มากที่สุด

จากการทดลองสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด พบว่าความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์มีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารพอลิแซ็กคาไรด์สามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ ความเข้มข้นที่ดีที่สุด คือ 1, 0.8 และ 0.5 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียว ดังนั้น ความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

จากการทดลองอาหารสูตรต่างๆ ต่อการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสูตรอาหารที่มีสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากกล้วยเล็บมือนางแทนน้ำตาล Sucrose ในสูตรของกรมประมง ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดีพอๆกับสูตรที่มีน้ำตาลของกรมประมง แต่ดีกว่าสูตรที่ไม่มีน้ำตาล ดังนั้น การใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์สามารถใช้แทนน้ำตาลในการทำหัวเชื้อ ปม.1 ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิงและสิ่งอ้างอิง

PRD กรมประชาสัมพันธ์. 2565. **กล้วยเล็บมือนาง เรื่องกล้วยๆ แต่ประโยชน์ไม่กล้วยนะ**, สืบค้นเมื่อ 1 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://www.prd.go.th/th/content/category/detail/id/9/iid/137994

รัตนาภรณ์ สารภี. 2565. **การใช้เชื้อ Bacillus เพื่อการผลิตพืชให้เกิดประสิทธิภาพ**, สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา.

ไก่แก้ว สุธรรมมา และ นิพนธ์ ทวีชัย. ม.ป.ป. **การผลิตผงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* (BS)**, สืบค้นเมื่อ 1 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: http://www3.rdi.ku.ac.th/exhibition/52/04-plant/gaigaew/plant_00.html

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. ม.ป.ป. ***Bacillus subtilis***, สืบค้นเมื่อ 3 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/6203/bacillus-subtilis

ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดสุพรรณบุรี. ม.ป.ป. **หัวเชื้อจุลินทรีย์ (ปม.1)**, สืบค้นเมื่อ 3 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20161123131035_file.pdf

Summawattana Jirapat. 2009. **การผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ (ปม.1)**, สืบค้นเมื่อ 3 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://www.gotoknow.org/posts/267154

Wikipedia. ม.ป.ป. ***Bacillus subtilis***, สืบค้นเมื่อ 3 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://th.wikipedia.org/wiki/Bacillus_subtilis

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wikipedia. ม.ป.ป. **บาซิลลัสเมกาเทอเรียม**, สืบค้นเมื่อ 3 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://hmong.in.th/wiki/Bacillus_megaterium

กิตติยา กลัดสมบูรณ์, ชลธิชา คำอยู่ และ อุมาพร เดชน้อย. 2557. **ผลของ Bacillus sp. 3 ชนิดในการยับยั้งเชื้อ Vibrio parahaemolyticus**, จุลนิพนธ์, คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร, มหาวิทยาลัยศิลปากร, วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี.

Frankrenful. 2002. ***Bacillus Licheniformis* หรือ *B. Licheniformis***, สืบค้นเมื่อ 3 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: http://th.fengchengroup.net/enzymes-and-bio-products/probiotics/bacillus-licheniformis-or-b-licheniformis.html

Wikipedia. ม.ป.ป. **พอลิแซ็กคาไรด์**, สืบค้นเมื่อ 10 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://th.wikipedia.org/wiki/พอลิแซ็กคาไรด์

Cancera. ม.ป.ป. **พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide)**, สืบค้นเมื่อ 10 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://www.cancerathailand.com/17590233/psk-คือ-อะไร

ณัฐพงษ์ บุญปอง. 2563. **เคมีที่เป็นพื้นฐานของสิ่งมีชีวิต**, สืบค้นเมื่อ 10 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://www.scimath.org/lesson-biology/item/10559-2019-08-28-02-42-02

Jom. 2016. **กล้วยเล็บมือนาง**, สืบค้นเมื่อ 20 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://www.thai-thaifood.com/th/กล้วยเล็บมือนาง/

Puechkaset. 2016. **กล้วยเล็บมือนาง ประโยชน์ และการปลูกกล้วยเล็บมือนาง**, สืบค้นเมื่อ 20 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://puechkaset.com/กล้วยเล็บมือนาง/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักโภชนาการ กรมอนามัย. 2561. **กล้วยเล็บมือนาง, สุก (Banana, Leb-muenang variety , ripe)**, สืบค้นเมื่อ 20 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://thaifcd.anamai.moph.go.th/nss/view.php?fID=05020

พรเพชร ใจชื่น และ วิสุทธนา สมุทรศรี. 2557. **อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดสารเมือกจากกระเจี๊ยบเขียว เห็ดหูหนูดำ ผักปลัง และผักกูด**, รายงานวิจัยปริญญาตรี, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร. กรุงเทพฯ. ประเทศไทย

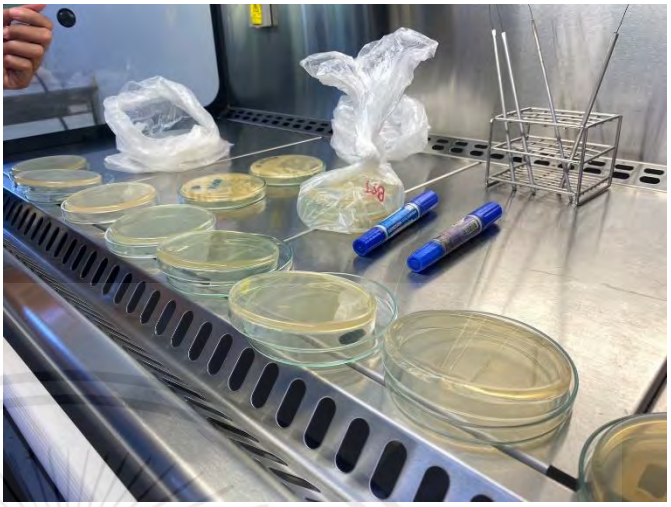
พรพิมล กิจวิชา. 2558. **การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบพอลแซ็กคาไรด์จากเส้นใยของเชื้อเห็ดตับเต่า**, ปัญหาพิเศษ, โครงการจัดตั้งภาควิชาเคมี, คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สาวภา สุราวุธ, กัญญารัตน์ สุนทรา และ วิญญู ภักดี. 2563. **การขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 และผลของเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ต่อการควบคุมโรคตับอักเสบเฉียบพลันในกุ้งขาวแวนนาไม**, งานวิจัยปริญญาตรี, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

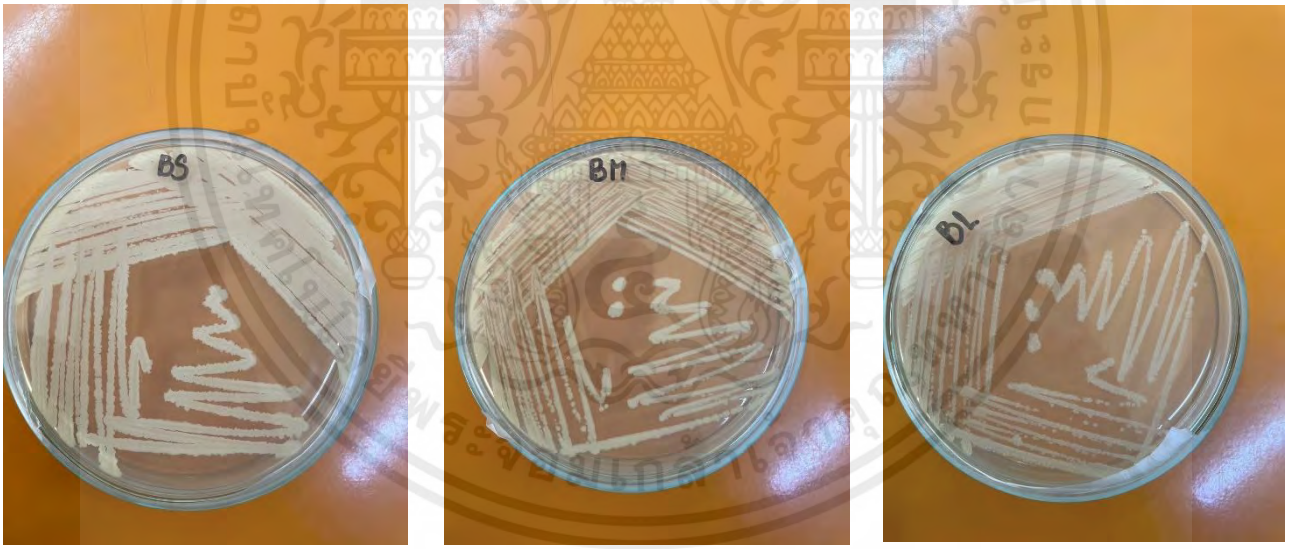
ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวกที่ 1

การเตรียมเชื้อเพื่อใช้ในการทดลอง

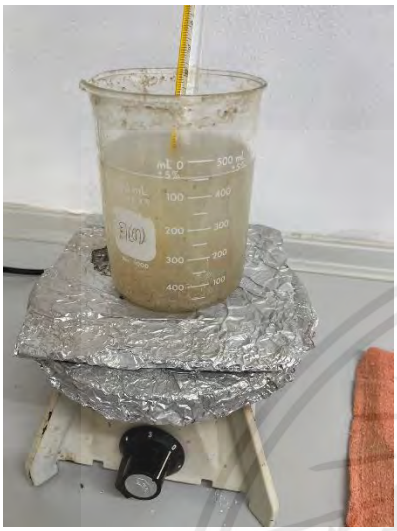


ภาคผนวกที่ 2

ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ที่ใช้ในการทดลอง คือ

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

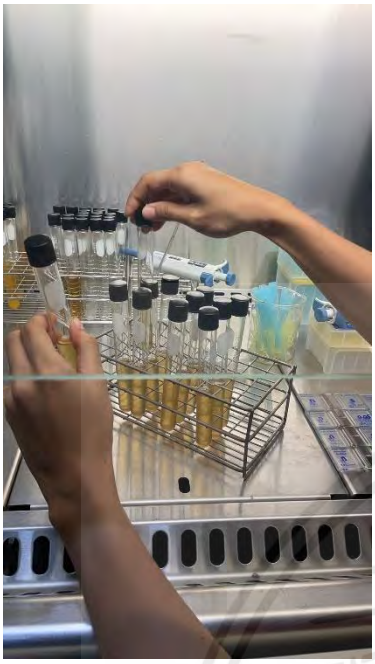
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

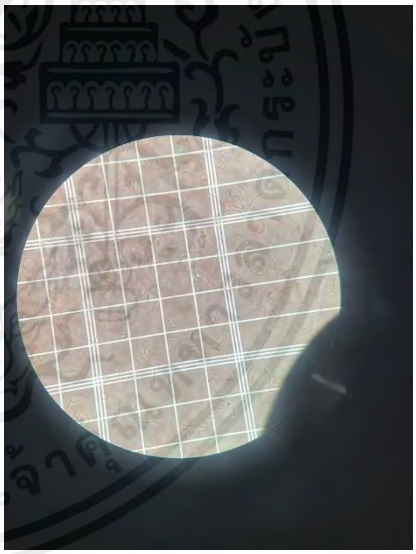


ภาคผนวกที่ 3

ขั้นตอนการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์โดยใช้วิธีการต้มโดยสารละลายแต่ละชนิดตามที่กำหนดไว้ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) เพื่อแยกสารพอลิแซ็กคาไรด์ออกจากน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

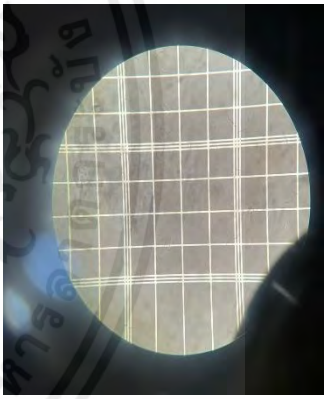




ภาคผนวกที่ 4

ขั้นตอนการทดสอบความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ทั้ง 3 ชนิด คือ *B. subtilis* (BS), *B. megaterium* (BM) และ *B. licheniformis* (BL)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวกที่ 5

ขั้นตอนการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในสูตรอาหารแต่ละชนิดที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติทางการศึกษา

ชื่อ นายศุภกร ชนะอักษร

เกิดวันที่ 7 กันยายน 2543

ที่อยู่ 194/1 ถ.พานิชสัมพันธ์ ม.2 ต.บางพระ อ.ปากพนัง จ.นครศรีธรรมราช 80140

ประวัติการศึกษา

ชั้นประถมศึกษา	โรงเรียนอนุบาลหลวงครูวิทยา	จังหวัดนครศรีธรรมราช
ชั้นมัธยมต้นศึกษา	โรงเรียนปากพนัง	จังหวัดนครศรีธรรมราช
ชั้นมัธยมปลายศึกษา	โรงเรียนปากพนัง	จังหวัดนครศรีธรรมราช

ระดับอุดมศึกษา วท.บ. วิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร
เขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้