ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

Effect of polysaccharide extract from *Solanum tuberosum* L. on expansion of microbial culture Pormor-1

นางสาวรสธร เกตุแย้ม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร
ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

Effect of polysaccharide extract from *Solanum tuberosum* L. on expansion of microbial culture Pormor-1

นางสาวรสธร เกตุแย้ม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร
ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รับที่...../.....
งานทะเบียนประมวลผล

โครงงานพิเศษปีการศึกษา 2565

เรื่อง

ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

Effect of polysaccharide extract from *Solanum tuberosum* L. on expansion of microbial culture Pormor-1

ผู้จัดทำ

นางสาวรสธร เกตุแย้ม

นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เห็นชอบ/รับรอง

ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย

.....

(ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย)
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

โครงงานพิเศษนี้เป็นลิขสิทธิ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษ

เรื่อง

ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

Effect of polysaccharide extract from *Solanum tuberosum* L. on expansion of microbial culture Pormor-1

โดย

นางสาวรสธร เกตุแย้ม

เสนอ

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
(วิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ)
ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง	ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1
โดย	นางสาวรสธร เกตุแย้ม
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ
คณะ	วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 (*Bacillus subtilis, B. megaterium* และ*B. licheniformis*) โดยทำการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ในสภาวะที่แตกต่างกัน 3 สภาวะคือ การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง, การสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิ 90-95°C และการสกัดด้วย 75% เอทานอลที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 30 นาที พบว่าการสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิ 90-95°C ได้สารพอลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือการสกัดด้วย 75% เอทานอลที่อุณหภูมิ 75°C และการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง ตามลำดับ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 0.5, 0.8 และ 1% พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อทั้ง 3 ชนิดโดยที่ความเข้มข้น 1% มีผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ดีที่สุด รองลงมาคือ ความเข้มข้นที่ 0.8, 0.5 และ 0% ตามลำดับ สำหรับการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ด้วยสูตรอาหาร Minimal Medium (MM) ที่แตกต่างกัน 3 สูตร คือสูตรอาหาร MM มาตรฐานของกรมประมง (มีน้ำตาลซูโครส), สูตรอาหาร MM ไม่มีน้ำตาล และสูตรอาหาร MM ที่ทดแทนซูโครสด้วยสารพอลิแซ็กคาไรด์ พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยสูตรที่ใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์มีปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือสูตรมาตรฐานของกรมประมง และสูตรไม่มีน้ำตาลตามลำดับ จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งสามารถใช้แทนน้ำตาลซูโครสในสูตรอาหารมาตรฐานของกรมประมงในการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ได้

คำสำคัญ : พอลิแซ็กคาไรด์, มันฝรั่ง, เชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

รสธร เกตุแย้ม
ลายมือชื่อนักศึกษา

ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Effect of polysaccharide extract from *Solanum tuberosum* L. on expansion of microbial culture Pormor-1
By	Miss. Rossatorn Ketyam
Disciplines	Fishery science and aquatic resources
Faculty	Prince of chumphon campus
Advisor	Asst.Prof.Dr. Daungjai Pisuttharachai

Abstract

The effect of polysaccharide extract from potato (*Solanum tuberosum* L.) on the expansion of microbial culture Pomor-1 (*Bacillus subtilis*, *B. megaterium* and *B. licheniformis*) was studied. Three different conditions were designed to extract polysaccharide from potato composed of 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 showed that water extraction at 90-95 °C yielded the highest amount of polysaccharides followed by 75% ethanol extraction at 75 °C and water extraction at room temperature, respectively. After that, the polysaccharides were tested for efficacy on the growth of Pomor-1 microorganisms at 4 different concentrations: 0, 0.5, 0.8 and 1%. It was found that polysaccharides affected the growth of all 3 types of bacteria. The concentration of 1% polysaccharide showed the best growth of microorganisms, followed by concentrations of 0.8, 0.5 and 0 percent, respectively. For microbial culture Pomor-1 with 3 different Minimal Medium (MM), which are 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 found that the number of microorganisms cultured with the polysaccharide formula was the highest, followed by the standard formula and sugar-free formula, respectively. The results indicated that potato polysaccharides could be used as a substitute for sucrose in the standard formula of the Department of Fisheries in the propagation of microorganisms Pomor-1.

Key words: Polysaccharide, Potato *(Solanum tuberosum* L.), Microorganisms Pormor-1

Rossatorn Ketyam
Student's signature

Duangjai Pisuttharachai
Advisor's signature

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ดวงใจ พิสุทธิ์ธาราชัย อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ผศ.วรพงษ์ นลินานนท์ และ ผศ.ดร.สายชล เลิศสุวรรณ ที่ให้คำปรึกษาแนะนำและแก้ไขโครงงานพิเศษตลอดจนชี้แนะข้อผิดพลาดบกพร่องในการวิเคราะห์ข้อมูลในการเขียนรายงานทุกขั้นตอน และช่วยเหลือเอื้อเฟื้อเชื้อจุลินทรีย์ปม.1และอุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปม.1 ทำให้การจัดทำโครงงานพิเศษนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณนางสาวณฐพร สังขรเขตร นักวิทยาศาสตร์ประจำหลักสูตรวิชาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ ที่ให้ความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการและให้คำแนะนำตลอดจนอบรมสั่งสอนข้าพเจ้ามาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ คุณพ่อสมควร เกตุแย้ม คุณแม่อุไร เกตุแย้มและทุกคนในครอบครัว ที่ให้การสนับสนุนทั้งกำลังกาย กำลังใจ กำลังทรัพย์ในการศึกษา อบรมดูแลสั่งสอนให้เป็นคนดี อดทน ในหน้าที่ของตนเอง ขอขอบพระคุณและขอบคุณทุกๆคนที่เกี่ยวข้องตลอดระยะเวลาที่ข้าพเจ้าเริ่มการศึกษาจนสำเร็จการศึกษาในครั้งนี้

นางสาวรสธร เกตุแย้ม

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
เชื้อจุลินทรีย์ (ปม.1)	3
มันฝรั่ง	7
สารพอลิแซ็กคาไรด์	11
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	13
อุปกรณ์และวิธีการ	14
อุปกรณ์	14
วิธีการทดลอง	17
ผลการทดลอง	22
วิจารณ์ผลการทดลอง	31
สรุปผลการทดลอง	33
อ้างอิง	34
ภาคผนวก	37
ประวัติการศึกษา	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	คุณค่าทางโภชนาการของมันฝรั่งดิบ 100 กรัม	10
2	สูตรอาหาร MM สำหรับขยายหัวเชื้อ ปม.1	19
3	ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งด้วยวิธีสกัดที่แตกต่างกัน	24
4	ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus subtilis* (BS)	25
5	ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus megaterium* (BM)	26
6	ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus licheniformis* (BL)	27
7	เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ BM BS และBL ในอาหารสูตรต่างๆ	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*	4
2	เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus megaterium*	5
3	เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis*	6
4	ลักษณะมันฝรั่ง	8
5	โครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์	11
6	ชุดอุปกรณ์เติมอากาศ	19
7	การเติมอากาศโดยใช้ปั๊มลมต่อเข้ากับชุดกรองอากาศ	20
8	ลักษณะการนับเซลล์ของเชื้อ	20
9	ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus subtilis* (BS)	29
10	ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus megaterium* (BM)	29
11	ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus licheniformis* (BL)	30
12	แผนภูมิเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ *Bacillus megaterium* (BM), *Bacillus subtilis* (BS) และ *Bacillus licheniformis* (BL) ในอาหารสูตรต่างๆ	30

ภาพผนวกที่		
1	การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	38
2	ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด	38
3	ขั้นตอนการทำการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์	39
4	ขั้นตอนการทดสอบความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย	40
5	ขั้นตอนการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในอาหารสูตรต่าง ๆ	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

จุลินทรีย์ ปม.1 เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม Bacillus 3 ชนิด คือ *Bacillus subtilis, B. megaterium* และ *B. licheniformis* ที่เอามาผสมกันตามกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ จุลินทรีย์ในกลุ่ม Bacillus ทั้ง 3 ชนิดเป็นจุลินทรีย์ที่มีการย่อยสลายสารอินทรีย์สูง ใช้สำหรับบำบัดสิ่งตกค้างเช่น อินทรีย์สารในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ นอกจากนี้แบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดนี้มีคุณสมบัติความเป็นโปรไบโอติก เพื่อกระตุ้นให้เกิดระบบภูมิคุ้มกันเชื้อไวรัสและแบคทีเรีย (ชัยวุฒิ, 2564)

มันฝรั่ง (potato) เป็นพืชหัว มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Solanum tuberosum* มันฝรั่งเป็นพวกพืชล้มลุก หัวอยู่ใต้ดิน หัวของมันฝรั่งทำหน้าที่เก็บสะสมอาหาร เปลือกมีลักษณะบางเรียบ สีน้ำตาล มีเนื้อข้างในสีเหลืองหรือสีขาวนวล ตามสายพันธุ์ มีถิ่นกำเนิดในอเมริกา และนิยมปลูกกันทั่วโลก ประเทศไทยนิยมปลูกหลายสายพันธุ์ทางภาคเหนือ มีประโยชน์หลากหลาย หัวของมันฝรั่งสามารถทำอาหารได้หลายเมนู ทั้งอาหารหวานและคาว ถือเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก (Thai-Thaifood, 2016)

พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) หรือที่เรียกว่า ไกลเคน (glycan) หมายถึง สายแซ็กคาไรด์ จะมีความแตกต่างกันตามชนิดของมอโนแซ็กคาไรด์ที่มาประกอบ ความยาวของสาย ชนิดของพันธะที่ใช้เชื่อม และระดับของกิ่งก้านสาขา เป็นคาร์โบไฮเดรตที่เกิดจากมอโนแซ็กคาไรด์จำนวน 10 โมเลกุล จนถึง 1,000 โมเลกุล เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก พอลิแซ็กคาไรด์ในธรรมชาติส่วนใหญ่ไม่มีสี ไม่มีรส (Cancera, ม.ป.ป.)

มีรายงานพอลิแซ็กคาไรด์สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ (สุดารัตน์, 2564) ดังนั้น จึงมีความสนใจที่จะศึกษาการใช้พอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งต่อการเพาะขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ซึ่งมีประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่เหมาะสม
2. เพื่อศึกษาผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงวิธีการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่เหมาะสม
2. ทราบถึงระดับความเข้มข้นของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งที่มีผลต่อการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

1.เชื้อจุลินทรีย์ (ปม.1)

1.1 ประวัติความเป็นมา

เชื้อจุลินทรีย์ (ปม.1) โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์จากธรรมชาติที่เป็นประโยชน์พบได้ในสภาพแวดล้อมทั่วไป สามารถนำมาขยายพันธุ์ เพื่อใช้ในการสร้างสมดุลของสิ่งแวดล้อม โดยมีกลไกในการช่วยย่อยสารอินทรีย์ในน้ำ ลดปริมาณของเชื้อโรคในสิ่งแวดล้อมและในระบบร่างกายของสิ่งมีชีวิตน้ำเป็นลดการเกิดโรคและลดการใช้ยาปฏิชีวนะ ในปัจจุบันเป็นที่นิยมนำมาใช้กันเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแบบหนาแน่น (กรมประมง, 2559)

โพรไบโอติกเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ปัจจุบันนำมาใช้ในระบบการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยเฉพาะในระบบการเลี้ยงแบบพัฒนา จากปัญหาการเลี้ยงกุ้งทะเลที่มีความรุนแรงและซับซ้อนมาก ทั้งจากปัญหาในด้านของสภาพแวดล้อมที่เสื่อมโทรมและโรคระบาด กรมประมงจึงมีแนวคิดใช้เชื้อจุลินทรีย์เพื่อสร้างความสมดุลแก่จุลินทรีย์ในสภาพแวดล้อมรอบตัวกุ้ง และในระบบภายในของกุ้ง โดยมีกระบวนการย่อยสารอินทรีย์ในน้ำและลดปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรคในสิ่งแวดล้อมและในกระบวนการทางเดินอาหารของกุ้ง เพื่อลดปัญหาโรคสัตว์น้ำและลดการใช้ยาปฏิชีวนะ (Jirapat, 2009)

ในปี 2557 ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดสุพรรณบุรี ได้ผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ (ปม.1) แบบน้ำโดยคัดเลือกแบคทีเรียในกลุ่ม Bacillus 3 ชนิด คือ *B. subtilis, B. megaterium* และ *B. licheniformis* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่ผ่านระบบการคัดเลือกแล้วว่ามีคุณภาพสูงในกระบวนการทำลายสารอินทรีย์ที่อาจมีการสะสมในบ่อ เพื่อแจกจ่ายให้กับเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ แบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดนี้ยังมีคุณสมบัติในการเป็นโปรไบโอติก เพื่อกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสและแบคทีเรีย นอกจากนี้มีการวิจัยที่นำมาเป็นโปรไบโอติกเพื่อใช้สำหรับการเลี้ยงกุ้งขาวแบบพัฒนา พบว่าใช้ลดจำนวนของเชื้อ Vibrio และเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์รักษาสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร เพิ่มระบบภูมิคุ้มกัน และยังพบว่า *B. licheniformis* บางสายพันธุ์ยังเป็นพวก Denitrifiers สามารถเปลี่ยนไนเตรท (NO_3^-) ไปเป็นไนไตรท์ (NO_2^-) จนถึงไนโตรเจน (N_2)

การนำแบคทีเรียที่มีอยู่ในหัวเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 มาใช้เพื่อเป็นโปรไบโอติก เพื่อป้องกันความเสี่ยงต่อการเกิดโรคในกุ้งขาวแวนนาไมและลดการใช้ยาปฏิชีวนะ ใช้ประโยชน์จากผลิตพันธุ์หัวเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ได้อย่างเต็มที่ ทั้งการบำบัด ปรับปรุงคุณภาพน้ำและดิน (ชัยวุฒิ, 2564)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ลำดับอนุกรมวิธานของเชื้อจุลินทรีย์ปม.1

Knindom: Monera

Division: Bacilli

Order: Bacillales

Family: Bacillaceae

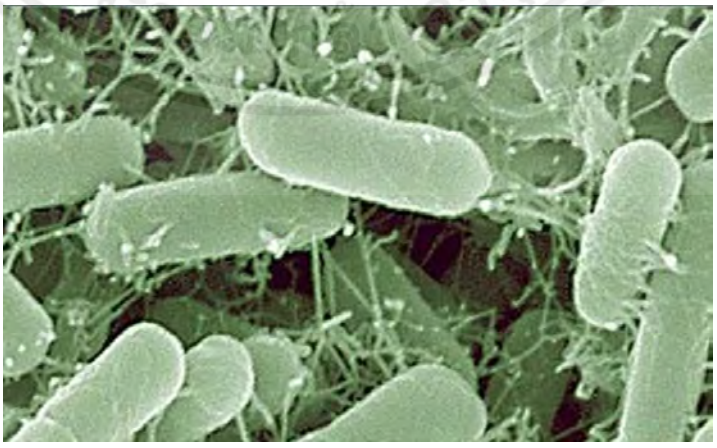
Genus: Bacillus

Species: *B. subtilis*, *B. megaterium* และ *B. subtilis*

1.3 ชีววิทยาของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

เชื้อ *Bacillus subtilis* เป็นแบคทีเรียที่สามารถทำการสร้างแอนโดสปอร์ซึ่งมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมซึ่งไม่เหมาะสมในการเจริญเติบโตได้ดี (ภาพที่ 1) สามารถใช้ในการป้องกันและควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราหลายชนิด มีประโยชน์ในการควบคุมโรค เช่น แอนแทรคโนสในพริก โรคเหี่ยว สาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย Ralstonia ในพืชตระกูลมะเขือ เช่น พริก มะเขือเทศ มะเขือเปราะ มะเขือยาวเป็นต้น (รัตนาภรณ์, 2565)

Bacillus subtilis เป็นแบคทีเรียที่พบอยู่ทั่วไปในน้ำและในดิน มีประโยชน์ต่อวงการแพทย์, ยา, อาหารและทางเกษตรเป็นอย่างมาก เพราะมีการใช้ผลผลิตที่ได้จาก *Bacillus subtilis* อย่างกว้างขวางหลากหลายชนิดเช่น เอนไซม์ สารกำจัดแมลง amino acid nucleotide และ nucleosides เพราะมีความปลอดภัยสูง และไม่เป็นตัวที่ให้เกิดโรค ในด้านการปศุสัตว์ *Bacillus subtilis* ช่วยฟื้นฟูและรักษาสมดุลในลำไส้ของสัตว์, ปรับปรุงระบบของภูมิคุ้มกัน, เพิ่มระบบต้านทานต่อโรคของสัตว์ และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของสัตว์นอกจากนั้นยังยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อโรคชนิดต่างๆ เช่น *Salmonella* และ *Clostridium* ส่งผลดีต่อสุขภาพของสัตว์ (เพ็ณศิริ, 2562)



ภาพที่ 1 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

แหล่งที่มา:http://th.fengchengroup.net/Content/upload/2019213775/20190313102554373287O.jpg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.1 ประโยชน์ของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

ใช้สำหรับป้องกันการเกิดโรคในพืชและการควบคุมการเกิดโรคในพืชที่เกิดจากแบคทีเรียและเชื้อราหลายชนิด เช่น

Xanthomonas campestris	*Phytophthora palmivora*
Alternaria spp.	*Erwinia* spp.
Rhizoctonia sp.	*Cercospora* spp.

1.3.2 คุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*

1. สร้างสารปฏิชีวนะได้หลายชนิด ทำลายโดยตรง และแย่งธาตุอาหารได้ดี

2. เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในพืชโดยไม่ทำให้เกิดผลในด้านลบต่อพืช

3. มีความสามารถในการปรับตัว โดยการสร้างสปอร์ที่ทนต่อสภาพภูมิอากาศได้ดี

4. มีประสิทธิภาพในการผลิตสารพวก Toxic metabolite ที่มีประโยชน์ในการนำมาใช้กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืช (เทคโนโลยีชาวบ้าน, 2561)

1.4 ชีววิทยาของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus megaterium*

Bacillus megaterium มีรูปรางเปนเซลลรูปทอนขนาดใหญ่ 1.2-1.5 x 2-5 µm สร้างสปอรที่ไม่ทำให้เซลล์โปง บางครั้งเซลล์อาจเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นทรงกระบอก (ภาพที่ 2) *B. megaterium* ยังใช่เป็นปุ๋ยในการย่อยสลายฟอสเฟต ทำให้มีปริมาณฟอสเฟตออกมาในปริมาณที่มากและเป็นประโยชน์แกแพลงกตอนพืช อีกทั้งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและหยุดการทำลายเม็ดเลือดของ V. harveyi (จรีพร, 2547)

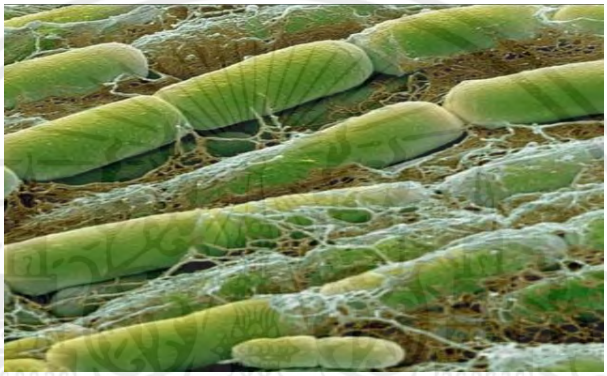
ภาพที่ 2 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus megaterium*

แหล่งที่มา:http://th.fengchengroup.net/Content/upload/2019213775/20190313102421922161 3.jpg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 ชีววิทยาของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis*

B. licheniformis เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในดินและบริเวณขนนก *B. licheniformis* เป็น facultative anaerobic คือสามารถทำงานได้ในทุกสภาวะ (ภาพที่ 3) ซึ่งถือว่าเหมาะสำหรับสลายอินทรียสารที่ก้นบ่อ *B. licheniformis* มีคุณสมบัติเชนเดียวกับ *B. subtilis* ทำให้เหมาะที่จะใช้ในการย่อยสลายร่วมกัน และพบวา *B. licheniformis* สามารถย่อยโปรตีนที่ย่อยสลายได้ยาก เชน เคราติน (keratin) นอกจากนี้พบวา *B. licheniformis* สามารถเปลี่ยน ไนเตรท (NO_3^-) ไปเปนไนไตรท (NO_2^-) จนถึงไนโตรเจน (N_2) (ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝง สมุทรสาคร, 2556)



ภาพที่ 3 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis*

แหล่งที่มา:http://th.fengchengroup.net/Content/upload/2019213775/20190313102 1331568189.jpg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.มันฝรั่ง

2.1 ข้อมูลทั่วไป ถิ่นอาศัย, แหล่งที่พบ

มันฝรั่ง มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศเปรู ทวีปอเมริกาใต้ และเริ่มมีการนำมาปลูกในประเทศไอร์แลนด์เพื่อใช้เป็นอาหาร เรียกมันฝรั่งว่า ไอริชโพเตโต้ มาจนปัจจุบัน ในเวลาต่อมาได้มีการแพร่กระจายไปประเทศต่าง ๆ เกือบทุกทวีปของโลก ส่วนในประเทศไทยมีการนำเข้ามาปลูกในบริเวณภาคเหนือของประเทศ พันธุ์มันฝรั่งที่ปลูกในประเทศไทยปัจจุบันที่นิยมปลูกมี 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์สปุนต้า ต้นสูง โคนต้นมีสีม่วง ดอกมีสีขาว ขนาดของหัวจะมีขนาดที่ยาวและใหญ่ ผิวเรียบ สีเหลือง หากเก็บไว้นานจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม นิยมใช้บริโภคสด จุดเด่นคือ ทนต่อสภาวะที่ขาดแคลนน้ำได้ดี และสายพันธุ์เคนนีเบค เป็นพันธุ์ที่มีอายุปานกลาง ใบใหญ่ พุ่มหนา หัวค่อนข้อนใหญ่ ผิวเรียบ เนื้อสีขาว และทนต่อสภาวะแห้งแล้งได้ดีในระดับปานกลาง (เทคโนโลยีชาวบ้าน, 2561)

2.2 ลำดับอนุกรมวิธานของมันฝรั่ง

มันฝรั่ง มีชื่อในภาษาอังกฤษ ว่า potato เป็นพืชหัว (tuber crop) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Solanum tuberosum* L. มันฝรั่งที่ปลูกในประเทศไทยปัจจุบันนิยมนำมาปลูก 2 สายพันธุ์ คือ พันธุ์สปุนต้า (Spunta) และพันธุ์เคนนีเบค (Kennebec) ซึ่งอยู่ในวงศ์ Solanaceae มีการจัดลำดับอนุกรมวิธานไว้ดังนี้

ลำดับอนุกรมวิธานของมันฝรั่ง

Kingdom: Plantae

Class: Magnoliopsida

Order: Solanales

Family: Solanaceae

Genus: Solanum

Species: *S. tuberosum*

2.3 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

มันฝรั่ง (Potato) เป็นพืชล้มลุกขนาดเล็ก มีรากฝอยและรากแขนง หัวมันฝรั่งสีน้ำตาลอยู่ใต้ดินทรงกลมรี มีหน้าที่เก็บสะสมอาหาร เปลือกบางสีน้ำตาล มีเนื้อด้านในเป็นสีเหลืองหรือขาวนวลตามสายพันธุ์ รสชาติกรอบมัน ในหนึ่งต้นมีหลายหัว นำฝรั่งสามารถนำมาประกอบอาหารได้หลากหลายทั้งคาวและหวาน ประเทศไทยนิยมปลูกหลายสายพันธุทางภาคเหนือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำต้น เป็นพืชล้มลุกขนาดเล็ก ทรงพุ่ม แตกกิ่งก้านมากมาย ลำต้นมีลักษณะกลมๆและตั้งตรง

ราก มีระบบรากฝอยและรากแขนง

ใบ เป็นใบประกอบเรียงสลับ มีก้านใบยาว มีใบย่อย มีลักษณะเป็นทรงรี ใบมีขนอ่อนๆ

ดอก มีดอกเป็นช่อ มีลักษณะคล้ายแตร กลีบดอกสีชมพู สีม่วง หรือสีขาว ตามสายพันธุ์ มีเกสรยาวสีเหลือง กลีบเลี้ยงสีเขียว ดอกของมันฝรั่งจะออกตามซอกใบและปลายยอด

ผล อยู่เป็นพวง เป็นทรงกลมเล็กๆ เปลือกหนา เนื้อมีความฉ่ำ ผลอ่อนเป็นสีเขียว ผลแก่เป็นสีน้ำตาล มีเมล็ดขนาดเล็กอยู่ภายในผล (ภาพที่ 4) (Thai-Thaifood, 2016)

ภาพที่ 4 ลักษณะมันฝรั่ง

แหล่งที่มา: https://www.cooking.in.th/wp-content/uploads/2021/03/มันฝรั่ง-คุณประโยชน์.jpg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 สรรพคุณ

มีคาร์โบไฮเดรต, โพแทสเซียม, ฟอสฟอรัส, วิตามินเอ, วิตามินซี, วิตามินบี1, วิตามินบี2, วิตามินบี3, วิตามินบี5, วิตามินบี6, วิตามินบี9, แคลเซียม, เหล็ก, แมงกานีส, โซเดียม, ไขมัน, น้ำตาล, โปรตีน, สังกะสี, พลังงาน, แมกนีเซียมและวิตามินอี

แร่ธาตุ: มันฝรั่งอุดมไปด้วยโพแทสเซียม เพิ่มน้ำและไอออนให้กับร่างกาย เพิ่มปริมาณแร่ธาตุให้กับผิวหนัง อีทั้งยังมีแคลเซียม เหล็กและฟอสฟอรัส

วิตามิน: มันฝรั่งประกอบไปด้วยวิตามินซีถึง 17 มิลลิกรัม รวมถึงมีวิตามินเอและบี

น้ำ: น้ำในมันฝรั่งมีมากถึง 70-80% ของน้ำหนัก

ส่วนหัวของมันฝรั่งช่วยบำรุงหลอดเลือดให้แข็งแรง ลดความดันโลหิต ลดไขมันในเลือด ลดคอเลสเตอรอล อีกทั้งยังเป็นยาระงับประสาท บำรุงระบบประสาทและสมอง และยังช่วยป้องกันหวัด โรคเลือกออกตามไรฟันเนื่องจากขาดวิตามินซี บำรุงผิวพันให้เปล่งปลั่ง อีกทั้งยังเป็นยาระบายอ่อนๆ เนื่องจากมีส่วนประกอบของกรดกาแล็กทูรอนิก รักษาแผลที่เกิดจากน้ำร้อนลวกและไฟ สารสำคัญในมันฝรั่งคือสารต่อต้านเชื้อราและแบคทีเรีย

ใบของมันฝรั่งสำหรับผู่ที่มีอาการไอสามารถใช้ใบในการลดอาการเกร็งของกล้ามเนื้อและช่วยในเรื่องของการนอนหลับ (sanook, 2023)

ช่วยย่อยอาหาร มันฝรั่งมีคาร์โบไฮเดรตเป็นหลัก ซึ่งมีส่วนช่วยในการทำงานของระบบทางเดินอาหารทำให้เกิดการย่อยได้ง่าย

บำรุงและดูแลผิวพรรณ เนื่องจากมันฝรั่งเป็นแหล่งรวมของวิตามินที่หลากหลาย ได้แก่ วิตามินบีรวม, วิตามินซีและแร่ธาตุ นอกจากนี้มันฝรั่งยังช่วยรักษาสิว จากการนำเยื่อของมันฝรั่งดิบมาบดผสมกับน้ำผึ้ง อีกทั้งวิตามินซียังช่วยในการป้องกันโรคเลือดออกตามไรฟัน

ลดการอักเสบ เนื่องจากมีวิตามินบี6และโพแทสเซียมที่ช่วยลดอาการอักเสบของลำไส้ มีประโยชน์สำหรับผู้ที่เป็นแผลในปาก และยังมีวิตามินซีที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยซ่อมแซมเนื้อเยื่อ

ป้องกันมะเร็ง มันฝรั่งช่วยป้องกันมะเร็งบางรูปแบบเนื่องจากมีสารต้านอนุมูลอิสระฟลาโวนอยด์และวิตามินเอ

ป้องกันโรคหัวใจ มันฝรั่งอุดมไปด้วยวิตามินซีและบีคอมเพล็กซ์ แร่ธาตุและสารต่างๆ เช่น แคโรทีนอยด์ (ลูทีนซีแซนทีน) ซึ่งช่วยบำรุงหัวใจ (Wellness We care, ม.ป.ป.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 คุณค่าทางโภชนาการ

มันฝรั่งดิบ 100 กรัม มีคุณค่าทางโภชนาการดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการของมันฝรั่งดิบ 100 กรัม

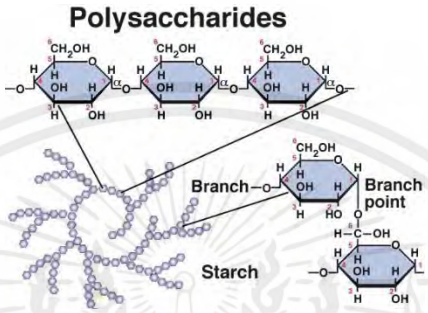
คุณค่าทางโภชนาการ	ปริมาณ	หน่วย
ให้พลังงาน (พลังงานจากไขมัน 0.9 Kcal)	77	Kcal
น้ำ	75	Gm
คาร์โบไฮเดรต	17.47	Gm
แป้ง	15.44	Gm
ใยอาหาร	2.2	Gm
โปรตีน	2	Gm
ไขมัน	0.1	Gm
โพแทสเซียม	421	Mg
ฟอสฟอรัส	57	Mg
แมกนีเซียม	23	Mg
แคลเซียม	12	Mg
โซเดียม	6	Mg
ธาตุเหล็ก	0.78	Mg
สังกะสี (ซิงค์)	0.29	Mg
แมงกานีส	0.153	Mg
วิตามินบี1	0.08	Mg
วิตามินบี2	0.03	Mg
วิตามินบี3	1.05	Mg
วิตามินบี5	0.296	Mg
วิตามินบี6	0.295	Mg
วิตามินบี9	16	µg
วิตามินซี	19.7	Mg
วิตามินอี	0.01	Mg
วิตามินเค	1.9	µg

แหล่งที่มา : https://www.sanook.com/health/27709/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. สารพอลิแซ็กคาไรด์

พอลิแซ็กคาไรด์ เป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน ซึ่งในโมเลกุลจะประกอบด้วยมอโนแซ็กคาไรด์ที่เป็นชนิดเดียวกัน (homopolysaccharide) หรือต่างชนิดกัน (heteropolysaccharide) เรียงต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์เป็นสายยาวตั้งแต่ 10 โมเลกุลขึ้นไปถึงจำนวนหลายร้อยโมเลกุล เช่น สตาร์ช เซลลูโลส และเพกทิน เป็นต้น (ภาพที่ 5) (พิมเพ็ญ, 2555)



ภาพที่ 5 โครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์

ที่มา : https://www.foodnetworksolution.com/uploaded/polysaccharide.jpg

พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) เป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ ประกอบด้วยโมโนแซคคาไรด์จำนวนมาก ตั้งแต่ 10-1,000 โมเลกุล เชื่อมกันด้วย glycosidic linkage ซึ่งพอลิแซ็กคาไรด์ที่พบได้ในธรรมชาติ เช่น แป้ง ไกลโคเจน เซลลูโลส และไคติน

1. แป้ง อยู่ในเซลล์พืช โดยอยู่ในรูปของ "granule" แต่ละ granule ประกอบด้วย อะไมโลส (amylose) ประมาณ 25% มีกลูโคส 100-200 โมเลกุลจับกันเป็นเส้นตรงด้วยพันธะ α 1,4 - glycosidic linkage และ อะไมโลเปคติน (amylopectin) ประมาณ75% มีกลูโคสประมาณ 250-5,000 โมเลกุล ต่อกันเป็นเส้นตรงและเป็นแขนง เป็นแบบ α-1,4 inkage และส่วนที่เป็นแขนงเป็น α-1,6 linkage

เม็ดแป้งไม่ละลายในน้ำเย็น แต่จะมีลักษณะเป็นสารแขวนลอยเมื่อได้รับความร้อนจะทำให้เกิดการแตกตัว และละลายน้ำ ทำให้เอนไซม์ย่อยแป้ง (amylolytic enzyme) สามารถเข้าไปย่อยเม็ดแป้งได้ กระบวนการนี้เรียกว่า gelatinization เมื่อแป้งถูกย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลส (amylase) จะได้เป็นสารที่เรียกว่า ลิมิเตด เด็กซ์ตริน (limited dextrin) เพราะเอนไซม์นี้ย่อยได้เฉพาะแบบพันธะ α-1,4 linkage ไม่สามารถย่อยพันธะแบบ α-1.6 linkage ได้ พันธะแบบนี้ต้องถูกย่อยด้วยเอนไซม์ α-1.6 glucosidase ซึ่งจะช่วยในการย่อยอะไมโลเปคตินให้สมบูรณ์จากนั้นจะกลายเป็น มอลโตสและกลูโคส ตามลำดับ

2. เด็กซ์ตริน (dextin) เป็นผลผลิตขั้นแรกที่เกิดจากการแตกตัวของแป้งโดยความร้อน (dry heat) และละลายน้ำได้ ซึ่งเป็นการสลายแป้งโดยความร้อน จะให้ผลผลิตดังนี้

แป้ง ⟶ เด็กซ์ตริน ⟶ มอลโตส ⟶ กลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ไกลโคเจน (glycogen) ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 5,000-25,000 โมเลกุล เป็นแหล่งสำคัญในการเมตาบอลิซึมของพลังงาน พบมากตับของปลา มีโครงสร้างเหมือนอะไมโลเปคติน (amylopectin) แต่จะมีการแตกแขนงมากกว่า ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ phosphorytase จะได้เป็น glucose-1-phosphate ซึ่งจะถูกเมตาบอไลซ์ต่อไป

4. เซลลูโลส (celulose) พบมากในธรรมชาติ เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช ทนต่อการย่อยด้วยกรด-ด่าง ประกอบด้วยกลูโคสเป็นจำนวนมาก เชื่อมกันด้วยพันธะแบบ β-1,4 inkage ประมาณ 2,000-8,000 โมเลกุล ซึ่งไม่สามารถย่อยด้วยเอนไซม์ของสัตว์ชั้นสูงได้

5. ไคติน (chitin) เป็นโครงสร้างหลักในเปลือกของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังพวกครัส-เตเซีย และยังเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์เชื้อราและสาหร่ายหลายชนิด (ชุติมา, 2555)

3.1 ประเภทขพอลิแซกคาไรด์

3.1.3 Homopolysaccharide เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีโมเลกุลเป็น monosaccharide เชื่อมกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (glycosidic bond) ซึ่งประกอบด้วย อะไมโลส (amylose) อะไมโลเพกทิน (amylopectin) เซลลูโลส (cellulose) พืชสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง ส่วนที่พบในสัตว์ คือ ไกลโคเจน (glycogen)

3.1.2 Heteropolysaccharide เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีโมเลกุลเป็น monosaccharide มากกว่า 1 ชนิด เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ (glycosidic bond) (พิมเพ็ญ, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุดารัตน์ (2564) ได้รายงานผลของพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกโดยการนำผงเห็ดมาทำการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยการอัลตราซาวที่กำลังไฟฟ้า 100, 200 และ 300 วัตต์ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 °C นาน 20, 40 และ 60 นาที แล้วนำสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์มาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลทั้งหมด พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาจะมีผลทำให้ปริมาณเพิ่มขึ้นด้วย และเมื่อทดสอบการการเจริญของแบคทีเรียกรดแลกติค 4 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus bulgaricus*, *L. brevis*, *L. johnsonii* และ *L. plantarum* แล้วยังพบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์มีส่วนช่วยในการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. bulgaricus*, และ *L. brevis* ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

กิตติยา (ม.ป.ป) ได้รายงานผลของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายเตา จากการเป็นพรีไบโอติกโดยนำพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายเตาแห้งและสาหร่ายเตาสดมาย่อยให้ได้โอลิโกแซ็กคาไรด์โดยที่ใช้เอ็มไซม์เพกทิเนส 5 ยูนิต ที่ค่า pH 4.8 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บ่มไว้นาน 40 นาที มีผลให้ค่า DP ลดลงเหลือ 4 และ 6 ตามลำดับ และทดสอบความสามารถในการเป็นพรีไบโอติกโดยการเลี้ยงแบบผสม พบว่าสารทั้งสองช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus fermentum* CM33 และยับยั้งเชื้อก่อโรค *Salmonella enteritidis* ได้

นพรัตน์ (2553) ได้รายงานผลของการสกัดและคุณสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายผักกาดทะเล สาหร่ายขนนก และสาหร่ายผมนาง พบว่าการสกัดจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิดด้วยเอทานอลให้ปริมาณสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำ ส่วนคุณสมบัติของการต้านอนุมูลอิสระทั้งสองวิธี พบว่าการสกัดด้วยเอทานอลให้คุณสมบัติที่ดีกว่าการสกัดด้วยน้ำ สำหรับคุณสมบัติรีโอโลจีนั้นพบว่าพอลิแซ็กคาไรด์มีลักษณะการไหลแบบซูโดพลาสติก ซึ่งใกล้เคียงกับแบบนิวโตเนียน (ความเข้มข้น 4%, w/v) จากการทดลองในครั้งนี้แสดงถึงการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสารให้ความข้นหนืดจากพอลิแซ็กคาไรด์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

สารเคมีและวัสดุ

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. มันฝรั่ง
4. สารเคมีที่ใช้ทำอาหารเลี้ยงเชื้อปม.1
    4.1 Sucrose
    4.2 Dipotassium phosphate (K_2HPO_4)
    4.3 Potassium Dihydrogenphosphate (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 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 beaker ขนาด 500 ml
    1.9 Flask ขนาด 500 ml
    1.10 ลำสี
    1.11 ฟอยล์
    1.12 ถุงพลาสติก
    1.13 หนังยาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.14 75 เปอร์เซ็นต์ แอลกอฮอล์

1.15 ตะเกียงแอลกอฮอล์

2. สำหรับใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

2.1 ตู้เพาะเชื้อ (Incubator)

2.2 ลูปเขี่ยเชื้อ (Inoculation Loop)

2.3 75 เปอร์เซ็นต์ แอลกอฮอล์

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 กระดาษกรอง 0.1 ไมครอน

3.10 ชุดกรองแก้ว (Buchner Funnel Suction Flask)

3.11 ขวด Duran ขนาด 500 ml – 1000 ml

3.12 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)

3.13 Corning tube ขนาด 50 ml

3.14 Parafilm

3.15 beaker ขนาด 500 ml

3.16 ตาชั่งดิจิตอล

3.17 ตู้อบฆ่าเชื้อแบบอบลมร้อน (Hot air oven)

3.18 เอทานอล 75 เปอร์เซ็นต์

4. สำหรับการทดลองความสามารถของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

4.1 หลอดทดลองฝาเกลียว (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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.8 75 เปอร์เซ็นต์ แอลกอฮอล์
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 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 สายซิลิโคน
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
5.16 Micropipette
5.17 ขวด Duran ขนาด 500 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

ชุดการทดลองที่ 1 ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งด้วยวิธีสกัดที่แตกต่างกัน

1.1. การศึกษาปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งด้วยวิธีสกัดที่แตกต่างกัน

นำหัวมันฝรั่งมาปลอกเปลือกและล้างน้ำ หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปปั่นผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนตัวอย่างมันฝรั่งต่อน้ำ 1:4 (น้ำหนักต่อปริมาณ) โดยทำการเปรียบเทียบการสกัด โดยการสกัดแบบต้มที่อุณหภูมิน้ำร้อนที่ 90-95 °C นาน 30 นาที และสกัดด้วยน้ำแบบไม่ต้ม นาน 30 นาที (สกัดที่อุณหภูมิห้อง) และสกัดด้วย 75% เอทานอล อุณหภูมิ 75 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรองกาก ทำการสกัดซ้ำรวม 3 ครั้ง เมื่อทำการสกัดข้างต้นแล้วนำส่วนน้ำที่ได้ผสมกับ 75% เอทานอล ในอัตราส่วนตัวอย่างน้ำที่ได้จากการสกัดต่อเอทานอล 1:1 (ปริมาณต่อปริมาณ) จากนั้นนำไปแช่ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 1 คืน และนำไปทำการ Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 5000 รอบ เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C แล้วเก็บส่วนตะกอนที่ได้ (พอลิแซ็กคาไรด์) ตั้งทิ้งไว้ให้แห้งแล้วชั่งน้ำหนัก และคำนวณ % Yield ของสารสกัดดังสมการ

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

1.2 การวิเคราะห์

นำน้ำหนักพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธีการของ Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

ชุดการทดลองที่ 2 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *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 โดยทำการสกัดจากมันฝรั่งด้วยวิธีที่ดีที่สุดซึ่งได้จากการทดลองที่ 1 นั่นก็คือการสกัดด้วยน้ำโดยการนำมันฝรั่งมาปลอกเปลือกและล้างน้ำ หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปปั่นผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนตัวอย่างมันฝรั่งต่อน้ำ 1:4 (น้ำหนักต่อปริมาณ) โดยนำไปต้มที่อุณหภูมิ 90-95°C นาน 30 นาที ทำการสกัดซ้ำรวม 3 ครั้ง เมื่อทำการสกัดข้างต้นแล้วนำส่วนน้ำที่ได้ผสมกับ 75% เอทานอล ในอัตราส่วนตัวอย่างน้ำต่อเอทานอล 1:1 (ปริมาณต่อปริมาณ) แล้วนำไปแช่ที่อุณหภูมิ 3°C นาน 1 คืน และนำไปทำการ Centrifuge ที่ความเร็วรอบ 5000 รอบ เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เก็บส่วนตะกอนที่ได้ (พอลิแซ็กคาไรด์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การทดสอบการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ

2.3.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

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

2.3.2 การทดสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดโดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งโดยทำการชั่งสารสกัดปริมาณ 0, 0.05, 0.08 และ 0.1 กรัมผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ความเข้มข้นละ 9 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายแบคทีเรียจากข้อ 2.3.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0, 0.5, 0.8 และ1 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาตรอาหารที่ใช้ตามลำดับ จากนั้นนำไปบ่มในตู้ Shaker incubator ที่ความเร็วรอบ 120 rpm ที่อุณหภูมิ 37 °C

2.3.3 การวัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

ทำการวัดการเจริญเติบโตโดยการนับจำนวนเซลล์ด้วย Counting Chamber ที่ 0, 1, 3, 5, 10, 15, 19 และ24 ชั่วโมง โดยดูดเชื้อมา 10 ไมโครลิตรจากแต่ละความเข้มข้น ใส่ลงในไฮลด์นับเม็ดเลือด จำนวนเซลล์ของเชื้อทั้งหมดจะได้จากการนับเซลล์ที่ปรากฏในช่องสี่เหลี่ยมเล็กทั้ง4มุมรวมกันกับช่องตรงกลาง (ภาพที่ 8) แล้วบันทึกจำนวนเซลล์แบคทีเรียในแต่ละช่วงเวลาคำนวนค่าการเจริญเติบโตเป็นเซลล์ต่อมิลลิลิตร พร้อมสร้างกราฟการเจริญ

2.4 การวิเคราะห์

นำจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธีการของ Duncan’s new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

ชุดการทดลองที่ 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 °C 18-24 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อที่ได้แต่ละชนิดจำนวน 3 ลูป ใส่ในขวด Flask ที่มีอาหาร 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 ซึ่งใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากมันฝรั่งแทนน้ำตาล Sucrose (สูตรที่ 3) ซึ่งส่วนประกอบของสูตรอาหารแต่ละสูตรแสดงดังตารางที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 สูตรอาหาร MM สำหรับขยายหัวเชื้อ ปม.1

ลำดับ	สาร	สูตรอาหาร (กรัม/ลิตร)		
		สูตร 1	สูตร 2	สูตร 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 °C นาน 2 ชั่วโมง

3.3 การเตรียมอุปกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อ

เตรียมอุปกรณ์เติมอากาศ โดยการประกอบท่อหลอดแก้วสำหรับอากาศเข้าและออก สายยางซิลิโคน จุกยาง ชุดกรองอากาศ (หลอดฉีดยาขนาด 50 มิลลิลิตร พร้อมสำลี และจุกยาง) จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาประกอบชุดอุปกรณ์เติมอากาศ ดังภาพที่ 6

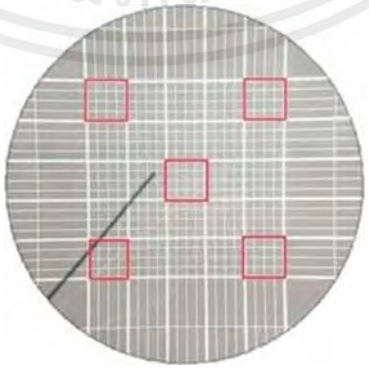
ภาพที่ 6 ชุดอุปกรณ์เติมอากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

นำเชื้อแบคทีเรียที่เป่าให้อากาศครบ 24 ชั่วโมงมาเติมในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหาร MM สูตรต่างๆที่เตรียมไว้ ทั้ง 3 สูตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร/ลิตร ปิดขวดรูปชมพู่ให้สนิทด้วยจุกยางและชุดกรองอากาศที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (ระหว่างการประกอบชุดกรองอากาศ ต้องมีการลนไฟฆ่าเชื้อบริเวณปากขวดและที่สำลีเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจากอากาศ) หลังจากนั้นเติมอากาศโดยการใช้ปั๊มลมต่อเข้ากับชุดกรองอากาศที่เตรียมไว้ ดังภาพที่ 7 เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการวัดการเจริญเติบโตโดยการนับจำนวนเซลล์ด้วย Counting Chamber การนับปริมาณเซลล์ของเชื้อโดยการเจือจางความเข้มข้นของเชื้อในน้ำเกลือ 0.85% ในอัตราส่วน 1:9 (เชื้อ 100 ไมโครลิตรผสมกับน้ำเกลือ 0.85% ปริมาตร 900 ไมโครลิตร) นำเชื้อมา 10 ไมโครลิตร ใส่ลงในสไลด์นับเม็ดเลือด จำนวนเซลล์ของเชื้อทั้งหมดจะได้จากการนับเซลล์ที่ปรากฏในช่องสี่เหลี่ยมเล็กทั้ง4มุมรวมกันกับช่องตรงกลาง (ภาพที่ 8) แล้วบันทึกจำนวนเซลล์แบคทีเรียและคำนวณค่าการเจริญเติบโตเป็นเซลล์ต่อมิลลิลิตร

ภาพที่ 7 การเติมอากาศโดยใช้ปั๊มลมต่อเข้ากับชุดกรองอากาศ



ภาพที่ 8 ลักษณะการนับเซลล์ของเชื้อ

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการนับจำนวนเซลล์ของเชื้อในแต่ละสูตรอาหารไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธีการของ Duncan’s new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

ระยะเวลาทำการ

ใช้เวลาในการศึกษาการทดลองเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์

สถานที่ทำการทดลอง

อาคารเรียนรวมห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ B107, B108, B115, B206 และB311 อาคารปฏิบัติการสาขาวิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนและห้องปฏิบัติการโรคสัตว์น้ำ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งด้วยวิธีสกัดที่แตกต่างกัน

จากการนำมันฝรั่งมาสกัดด้วยสภาวะต่าง ๆ คือการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที, การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 90-95 °C นาน 30 นาที และการสกัดด้วย 75% เอทานอล ที่อุณหภูมิ 75°C นาน 30 นาที เพื่อหาสภาวะในการสกัดที่จะทำให้ได้สารพอลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณที่สูงที่สุด พบว่าปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ มีค่า Yield เท่ากับ 1.73 ± 1.46, 15.04 ± 6.53 และ11.46 ± 0.11 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าปริมาณสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 90-95 °C มีค่ามากที่สุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง($P<0.05$) แต่ไม่แตกต่างกับการสกัดด้วย 75% เอทานอลที่อุณหภูมิ 75 °C ($P>0.05$) (ตารางที่ 3)

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

1. *B. subtilis*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ *B. subtilis* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ผสมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0.5, 0.8 และ 1 เปอร์เซ็นต์ นำไปบ่มในตู้ Shaker incubator นาน 1, 3, 5, 10, 15, 19 และ 24 ชั่วโมง มีค่าจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ *B. subtilis* แสดงไว้ดังตารางที่ 4 และภาพที่ 9 เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของเชื้อ *B. subtilis* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ทั้ง 4 ความเข้มข้น นาน 0, 3, 15, 19 และ24 ชั่วโมงไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ 1, 5 และ 10 ชั่วโมง

2. *B. megaterium*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ *B. megaterium* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ผสมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0.5, 0.8 และ 1 เปอร์เซ็นต์ นำไปบ่มในตู้ Shaker incubator นาน 1, 3, 5, 10, 15, 19, และ 24 ชั่วโมง มีค่าจำนวนเซลล์ของเชื้อ *B. megaterium* แสดงไว้ดังตารางที่ 5 และภาพที่ 10 เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของเชื้อ *B. megaterium* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ที่ทุกชั่วโมง มีปริมาณจุลินทรีย์สูงสุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารผสมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$)

3. *B. Licheniformis*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ *B. Licheniformis* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB ผสมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0.5, 0.8 และ 1 เปอร์เซ็นต์ นำไปบ่มในตู้ Shaker incubator นาน 1, 3, 5, 10, 15, 19 และ 24 ชั่วโมง มีค่าจำนวนเซลล์ของเชื้อ *B. Licheniformis* แสดงไว้ดังตารางที่ 6 และภาพที่ 11 เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของเชื้อ *B. Licheniformis* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อผสมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ที่ทุกชั่วโมง มีปริมาณจุลินทรีย์สูงสุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารผสมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$)

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

1. *B. subtilis*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ *B. subtilis* ที่เลี้ยงในอาหาร Minimal Medium (สูตรกรมประมง) ซึ่งมีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 1), สูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งไม่มีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 2) และสูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากมันฝรั่งแทนน้ำตาล Sucrose (สูตรที่ 3) ในอุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ $2.80 \pm 0.08 \times 10^8$, $0.30 \pm 0.09 \times 10^8$ และ$4.80 \pm 2.02 \times 10^8$ ตามลำดับ (ตารางที่ 7, ภาพที่ 12) เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของจุลินทรีย์ *B. subtilis* ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ 3 มีปริมาณสูงสุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 และ 2 ($P<0.05$)

2. *B. megaterium*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร Minimal Medium (สูตรกรมประมง) ซึ่งมีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 1), สูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งไม่มีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 2) และสูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากมันฝรั่งแทนน้ำตาล Sucrose (สูตรที่ 3) ในอุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ $1.90 \pm 0.15 \times 10^8$, $0.05 \pm 0.01 \times 10^8$ และ$8.00 \pm 6.15 \times 10^8$ ตามลำดับ (ตารางที่ 7, ภาพที่ 12) เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของเชื้อ *B. megaterium* ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ 3 มีปริมาณสูงสุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 และ 2 ($P<0.05$)

3. *B. Licheniformis*

จากการศึกษาจำนวนเซลล์ของเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร Minimal Medium (สูตรกรมประมง) ซึ่งมีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 1), สูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งไม่มีน้ำตาล Sucrose เป็นส่วนประกอบ (สูตรที่ 2) และสูตรอาหาร Minimal Medium ซึ่งใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดจากมันฝรั่งแทนน้ำตาล Sucrose (สูตรที่ 3) ในอุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ $3.30 \pm 0.13 \times 10^8$, $2.00 \pm 0.57 \times 10^8$ และ$3.90 \pm 0.14 \times 10^8$ ตามลำดับ (ตารางที่ 7, ภาพที่ 12) เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าจำนวนของเชื้อ *B. Licheniformis* ที่เลี้ยงในสูตรอาหารที่ 3 มีปริมาณสูงสุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ 1 และ 2 ($P<0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งด้วยวิธีสกัดที่แตกต่างกัน

วิธีสกัด	Yield (%)
อุณหภูมิห้อง	1.73 ± 1.46^{b}
ต้มด้วยน้ำ	15.04 ± 6.53^{a}
ต้มด้วยเอทานอล	11.46 ± 0.11^{a}

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งที่ความเข้มข้นต่าง ๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus subtilis* (BS)

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (%)				P-values
	0	0.5	0.8	1	
0^{ns}	0.32 ± 0.26 x10^{7}	0.32 ± 0.26 x10^{7}	0.32 ± 0.26 x10^{7}	0.32 ± 0.26 x10^{7}	1.0000
1	0.48 ± 0.18 x10$^{7\ b}$	0.37 ± 0.08 x10$^{7\ b}$	0.76 ± 0.16 x10$^{7\ a}$	0.41 ± 0.13 x10$^{7\ b}$	0.0099
3^{ns}	0.53 ± 0.10 x10^{7}	0.61 ± 0.11 x10^{7}	0.67 ± 0.10 x10^{7}	0.56 ± 0.22 x10^{7}	0.5865
5	0.62 ± 0.10 x10$^{7\ b}$	0.83 ± 0.18 x10$^{7\ ab}$	0.91 ± 0.14 x10$^{7\ a}$	0.88 ± 0.14 x10$^{7\ a}$	0.0577
10	0.55 ± 0.13 x10$^{7\ b}$	0.57 ± 0.08 x10$^{7\ b}$	0.80 ± 0.19 x10$^{7\ a}$	0.85 ± 0.06 x10$^{7\ a}$	0.0082
15^{ns}	0.60 ± 0.09 x10^{7}	0.71 ± 0.33 x10^{7}	0.79 ± 0.20 x10^{7}	0.94 ± 0.15 x10^{7}	0.2021
19^{ns}	0.85 ± 0.25 x10^{7}	0.82 ± 0.15 x10^{7}	0.88 ± 0.20 x10^{7}	0.88 ± 0.21 x10^{7}	0.9744
24^{ns}	0.93 ± 0.41 x10^{7}	1.05 ± 0.12 x10^{7}	0.81 ± 0.10 x10^{7}	1.20 ± 0.31 x10^{7}	0.2520

หมายเหตุ ns = non–significant หมายถึง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)
a,b,ab ค่าเฉลี่ยอักษรที่มีพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันกำกับในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 5 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งที่ความเข้มข้นต่าง ๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus megaterium* (BM)

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (%)				P-values
	0	0.5	0.8	1	
0^{ns}	0.50 ± 0.01 x10^{7}	0.50 ± 0.01 x10^{7}	0.50 ± 0.01 x10^{7}	0.50 ± 0.01 x10^{7}	1.0000
1	0.76 ± 0.01 x$10^{7\ d}$	0.99 ± 0.01 x$10^{7\ b}$	0.96 ± 0.01 x$10^{7\ c}$	1.09 ± 0.01 x$10^{7\ a}$	0.0001
3	1.05 ± 0.03 x$10^{7\ d}$	1.53 ± 0.01 x$10^{7\ c}$	1.69 ± 0.03 x$10^{7\ b}$	1.74 ± 0.02 x$10^{7\ a}$	0.0001
5	1.26 ± 0.08 x$10^{7\ d}$	2.59 ± 0.01 x$10^{7\ c}$	2.68 ± 0.05 x$10^{7\ b}$	2.92 ± 0.06 x$10^{7\ a}$	0.0001
10	1.22 ± 0.03 x$10^{7\ d}$	2.73 ± 0.01 x$10^{7\ c}$	2.88 ± 0.05 x$10^{7\ b}$	3.01 ± 0.03 x$10^{7\ a}$	0.0001
15	1.40 ± 0.05 x$10^{7\ c}$	2.60 ± 0.03 x$10^{7\ b}$	2.63 ± 0.01 x$10^{7\ b}$	2.77 ± 0.03 x$10^{\ a}$	0.0001
19	1.24 ± 0.04 x$10^{7\ d}$	1.99 ± 0.04 x$10^{7\ c}$	2.50 ± 0.04 x$10^{7\ b}$	2.63 ± 0.02 x$10^{7\ a}$	0.0001
24	1.24 ± 0.03 x$10^{7\ d}$	2.11 ± 0.01 x$10^{7\ c}$	2.34 ± 0.04 x$10^{7\ b}$	2.61 ± 0.02 x$10^{7\ a}$	0.0001

หมายเหตุ ns = non–significant หมายถึง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)
a,b,c,d ค่าเฉลี่ยอักษรที่มีพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันกำกับในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 6 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งที่ความเข้มข้นต่าง ๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus licheniformis* (BL)

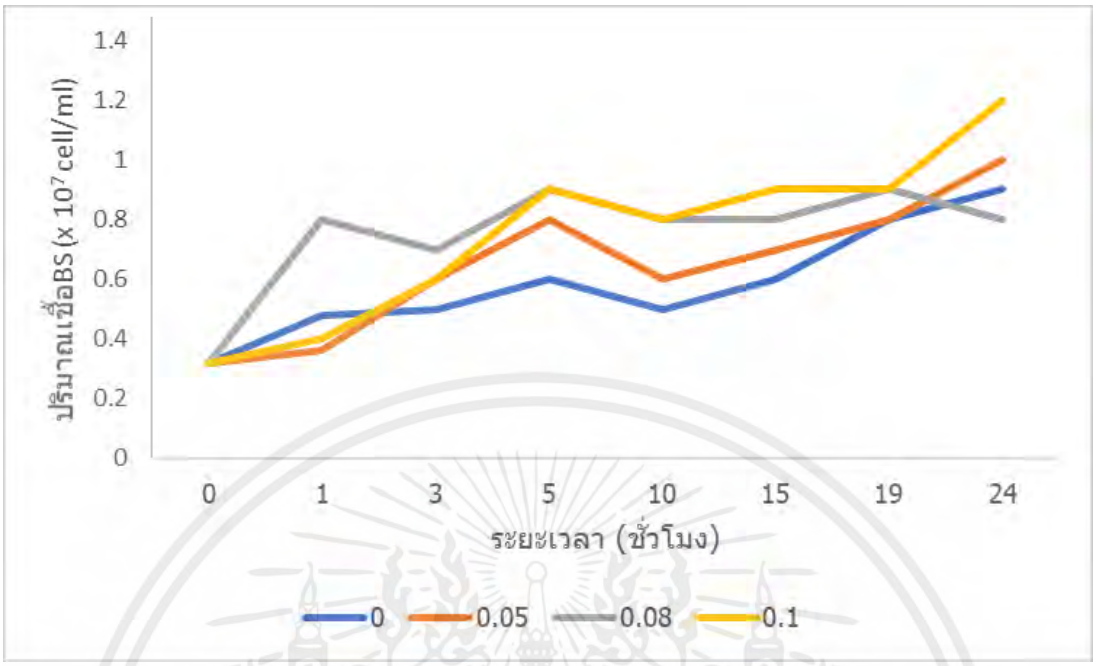
ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ (%)				P-values
	0	0.5	0.8	1	
0^{ns}	$0.48 \pm 0.06 \times 10^{7}$	$0.48 \pm 0.06 \times 10^{7}$	$0.48 \pm 0.06 \times 10^{7}$	$0.48 \pm 0.06 \times 10^{7}$	1.0000
1	$0.77 \pm 0.04 \times 10^{7\ c}$	$1.02 \pm 0.01 \times 10^{7\ b}$	$0.98 \pm 0.01 \times 10^{7\ b}$	$1.08 \pm 0.06 \times 10^{7\ a}$	0.0001
3	$1.06 \pm 0.03 \times 10^{7\ d}$	$1.53 \pm 0.02 \times 10^{7\ c}$	$1.70 \pm 0.04 \times 10^{7\ b}$	$1.77 \pm 0.02 \times 10^{7\ a}$	0.0001
5	$1.28 \pm 0.07 \times 10^{7\ c}$	$2.60 \pm 0.03 \times 10^{7\ b}$	$2.67 \pm 0.07 \times 10^{7\ b}$	$2.92 \pm 0.07 \times 10^{7\ a}$	0.0001
10	$1.24 \pm 0.06 \times 10^{7\ d}$	$2.73 \pm 0.02 \times 10^{7\ c}$	$2.86 \pm 0.06 \times 10^{7\ b}$	$3.05 \pm 0.03 \times 10^{7\ a}$	0.0001
15	$1.36 \pm 0.07 \times 10^{7\ c}$	$2.60 \pm 0.05 \times 10^{7\ b}$	$2.65 \pm 0.03 \times 10^{7\ b}$	$2.84 \pm 0.08 \times 10^{7\ a}$	0.0001
19	$1.25 \pm 0.04 \times 10^{7\ d}$	$2.02 \pm 0.02 \times 10^{7\ c}$	$2.51 \pm 0.05 \times 10^{7\ b}$	$2.66 \pm 0.02 \times 10^{7\ a}$	0.0001
24	$1.22 \pm 0.03 \times 10^{7\ d}$	$2.07 \pm 0.03 \times 10^{7\ c}$	$2.38 \pm 0.06 \times 10^{7\ b}$	$2.59 \pm 0.04 \times 10^{7\ a}$	0.0001

หมายเหตุ ns = non–significant หมายถึง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)
a,b,c,d ค่าเฉลี่ยอักษรที่มีพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันกำกับในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

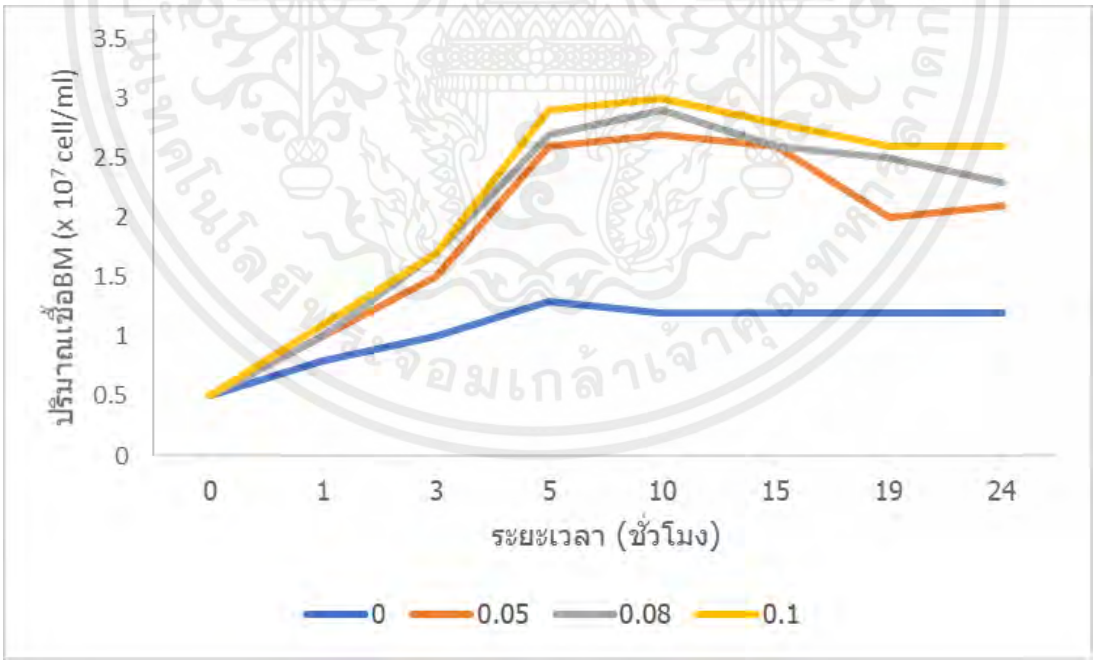
ตารางที่ 7 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ *Bacillus megaterium* (BM), *Bacillus subtilis* (BS) และ *Bacillus licheniformis* (BL) ในอาหารสูตรต่าง ๆ

เชื้อ	สูตรมีน้ำตาล	สูตรไม่มีน้ำตาล	พอลิแซ็กคาไรด์	P-values
BS	$2.80 \pm 0.08 \times 10^{8\ b}$	$0.30 \pm 0.09 \times 10^{8\ c}$	$4.80 \pm 2.02 \times 10^{8\ a}$	0.0274
BM	$1.90 \pm 0.15 \times 10^{8\ b}$	$0.05 \pm 0.01 \times 10^{8\ b}$	$8.00 \pm 6.15 \times 10^{8\ a}$	0.0013
BL	$3.30 \pm 0.13 \times 10^{8\ b}$	$2.00 \pm 0.57 \times 10^{8\ c}$	$3.90 \pm 0.14 \times 10^{8\ a}$	0.0001

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

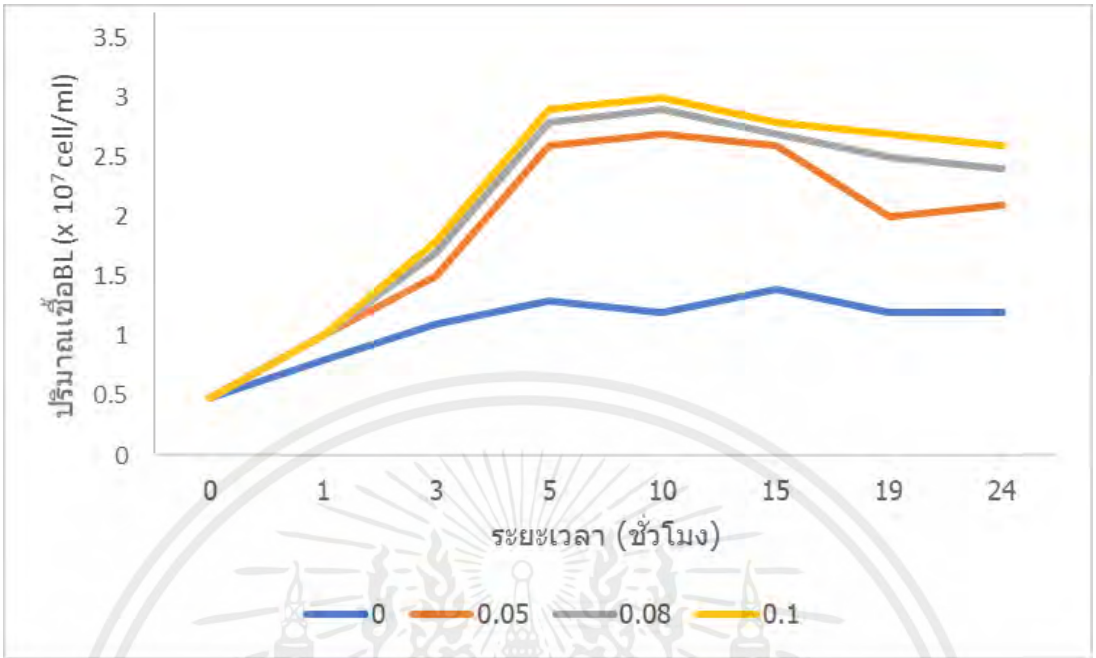


ภาพที่ 9 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งที่ความเข้มข้นต่าง ๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus subtilis* (BS)

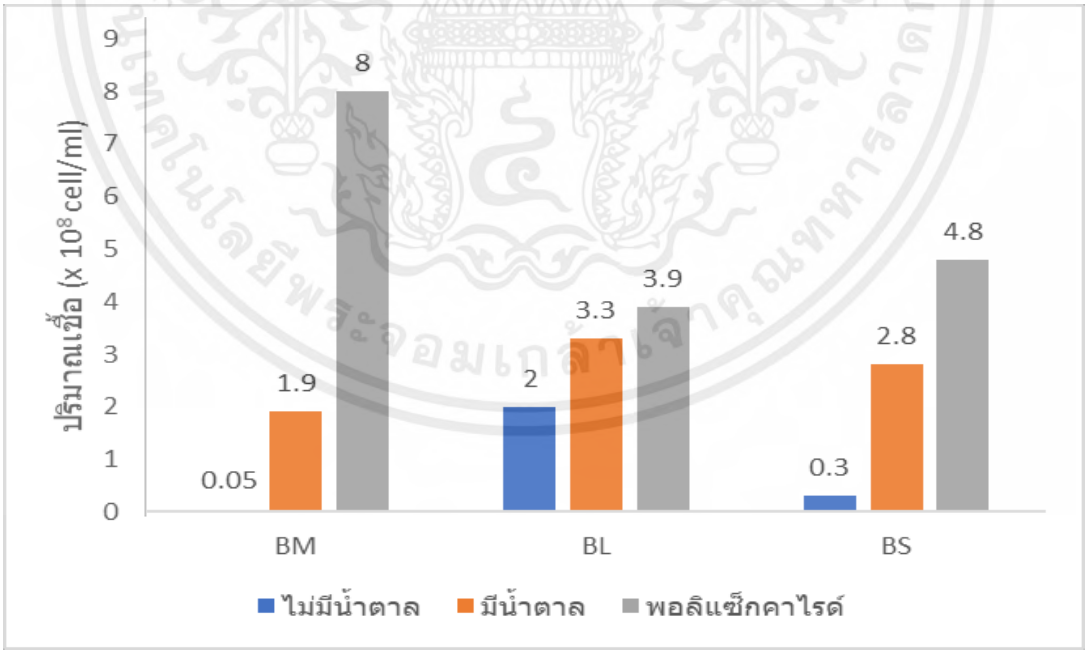


ภาพที่ 10 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งที่ความเข้มข้นต่าง ๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus megaterium* (BM)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 11 ผลของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งที่ความเข้มข้นต่าง ๆต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus licheniformis* (BL)



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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งด้วยวิธีการต่าง ๆ คือ การสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง, การสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิ 90-95°C และการสกัดด้วย 75% เอทานอลที่อุณหภูมิ 75°C พบว่าปริมาณของสารสกัดที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยการสกัดด้วยน้ำอุณหภูมิ 90-95°C และการสกัดด้วย 75% เอทานอลที่อุณหภูมิ 75°C สูงกว่าการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของกนิษฐา (2564) ที่ได้ศึกษาการสกัดด้วยเอทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ25, 50, 75 และ 99.9) และการสกัดด้วยน้ำ (อุณหภูมิห้อง, 50, 75°C และน้ำต้มเดือด) พบว่า ปริมาณสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากผักเชียงดาด้วยวิธีการสกัดจากน้ำต้มเดือดได้ปริมาณสารสกัดสูงที่สุดคือ 320.96±8.98 กรัม, การสกัดด้วย 75% เอทานอลได้ปริมาณสารสกัด 58.50±2.92 กรัมและการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้องได้ปริมาณสารสกัด 244.40±6.57 กรัม นอกจากนี้กนิษฐายังรายงานว่าอุณหภูมิของน้ำและความเข้มข้นของเอทานอลมีผลต่อการสกัดและปริมาณของสารพอลิแซ็กคาไรด์ โดยอุณหภูมิของน้ำที่สูงขึ้นและความเข้มข้นของเอทานอลที่มากขึ้นเป็นผลให้ปริมาณสารสกัดมากขึ้นด้วย ดังนั้น จึงเลือกการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งด้วยน้ำอุณหภูมิ 90-95°C เป็นเวลา 30 นาที เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

จากผลการทดลองการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโดยสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0, 0.5, 0.8 และ1 เปอร์เซ็นต์ โดยนำสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปเลี้ยงจุลินทรีย์ *B. subtilis, B. megaterium* และ *B. licheniformis* พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์แปรผันตรงกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กล่าวคือ หากความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้นมีผลทำให้การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด เพิ่มขึ้นด้วย มีรายงานการศึกษาของสุดารัตน์ (2564) ได้ศึกษาการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดหัวลิงพบว่า พอลิแซ็กคาไรด์มีศักยภาพในการเป็นพรีไบโอติก ช่วยเพิ่มอัตราการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacilus* ได้บางสายพันธุ์ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Chou et al. (2013) ได้ศึกษาการสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากก้านเห็ดเหลือทิ้ง พบว่า พอลิแซ็กคาไรด์ช่วยในการเพิ่มอัตราการมีชีวิตรอดของ *L. acidophilus, L. casei* และ *Bifidobacterium longum* ในระหว่างการเก็บรักษาโยเกิร์ตและปกป้องจุลินทรีย์จากการเลียนแบบของกระเพาะอาหารและน้ำดี ก้านเห็ดจึงเป็นอีกสิ่งที่ใช้สกัดสารซึ่งมีคุณสมบัติในการเป็นพรีไบโอติก ดังนั้นจึงเลือกสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์เพื่อใช้ในการทำการทดลองต่อไป โดยการนำมาทดสอบการขยายเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ใช้แทนน้ำตาล Sucrose ในสูตรอาหารของกรมประมง (Minimal Medium) ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. subtilis, B. megaterium* และ*B. Licheniformis* สรุปได้ว่าสารสกัดที่สกัดได้มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญและกระตุ้นการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ดังนั้นสามารถใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งแทนน้ำตาล Sucrose ในสูตรอาหารของกรมประมง (Minimal Medium) เพื่อช่วยในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 ได้ เนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, B. megaterium* และ*B. Licheniformis* ทั้ง 3 ชนิด ที่ใช้ในการทดสอบสามารถผลิตเอ็มไซม์อะไมเลสโดยตัวของเชื้อมีความสามารถเปลี่ยนแป้งที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีสารพอลิแซ็คคาไรด์เป็นส่วนประกอบเป็นน้ำตาล Glucose ซึ่งน้ำตาล Glucose เป็นหน่วยย่อยของน้ำตาล Sucrose (วัชรินทร์, 2558) ที่ใช้ในสูตรอาหารของกรมประมง ทำให้การย่อยน้ำตาลของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, B. megaterium* และ*B. Licheniformis* โดยใช้สารพอลิแซ็คไรด์โดยกระบวนการทำงานของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดเปลี่ยนเป็นน้ำตาล Glucose ซึ่งได้ผลดีกว่าการใช้น้ำตาล Sucrose จากสูตรของกรมประมงที่มีโมเลกุลใหญ่และมีกระบวนการย่อยที่เป็นไปได้ยากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองนำมันฝรั่งมาสกัดด้วยสภาวะต่าง ๆ พบว่าวิธีสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่ดีที่สุดคือวิธีการต้มด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 90°C ซึ่งจะได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด

จากการทดลองสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด พบว่าความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์มีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดสามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ ความเข้มข้นที่ดีที่สุดคือ 1, 0.8 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อนำเปรียบเทียบกับสภาวะอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียว ดังนั้นความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

จากการทดลองอาหารสูตรต่างๆต่อการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสูตรอาหารที่มีสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากมันฝรั่งแทนน้ำตาล Sucrose ในสูตรของกรมประมง ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าสูตรที่มีน้ำตาลของกรมประมง และสูตรที่ไม่มีน้ำตาล ดังนั้น การใช้สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์สามารถใช้แทนน้ำตาลในการทำหัวเชื้อ ปม.1 ได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

Cancera. ม.ป.ป. **พอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide)**, สืบค้นเมื่อ 24 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://www.cancerathailand.com/17590233/psk-คือ-อะไร

Chou, W.T., Sheih, I.C. & Fang, T.J. (2013). **The applications of polysaccharides from various mushroom wastes as prebiotics in different systems**. Journal of Food Science, 78(7), M1043– M1046.

Sanook. 2023. **ประโยชน์ของ "มันฝรั่ง" ที่หลายคนอาจไม่เคยรู้**, สืบค้นเมื่อ 21 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://www.sanook.com/health/27709/

Summawattana Jirapat. 2009. **การผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ (ปม.1)**, สืบค้นเมื่อ 19 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://www.gotoknow.org/posts/267154

THAI-THAIFOOD. 2016. **มันฝรั่ง**, สืบค้นเมื่อ 21 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://www.thai-thaifood.com/th/มันฝรั่ง/

Wellness We care. ม.ป.ป. **แล้วคุณจะหลงรักมันฝรั่งบด สำหรับการลดน้ำหนัก**, สืบค้นเมื่อ 21 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://wellnesswecare.com/th/article/revive-your-love-for-mashed-potatoes/

Wikipedia. ม.ป.ป. **Potato**, สืบค้นเมื่อ 21 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://en.wikipedia.org/wiki/Potato

กนิษฐา ช้างเสวก. 2564. **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์และฟีนอลิกจากผักเชียงดา**, ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง, มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง. เชียงราย. ประเทศไทย

กรมประมง. 2559. **หัวเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1**, สืบค้นเมื่อ 19 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20161123131035_file.pdf

กิตติยา ภิญโญ. ม.ป.ป. **ศักยภาพของพอลิแซ็กคาไรด์จาหสาหร่ายเตา [*Spirogyra neglecta* (Hassall) Kützing]**, วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต(จุลชีววิทยาประยุกต์), ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. ประเทศไทย

ไก่แก้ว สุธรรมมา, นิพนธ์ ทวีชัย. ม.ป.ป. **การผลิตผงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* (Bs)**, สืบค้นเมื่อ 20 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: http://www3.rdi.ku.ac.th/exhibition/52/04-plant/gaigaew/plant_00.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จรีพร เรืองศรี, ไมตรี วรรณเดช, สุณีย์ หวันเหล็ม, อนิดา สงนุย, สุพัตรา อรุณรัตน, นพรัตน แท่นมาก, จิราพร เพชรรัตน และ กิจการ ศุภมาตย์. 2547. การเกิดโรคและความรุนแรงของเชื้อ *Vibrio harveyi* จากตอนใตของไทยในกุงกุลาดำ. **วารสารสงขลานครินทร วทท**. 26(1): 43-54.

จิตมนัส นิกาจี๊. 2559. **การพัฒนาสูตรและวิธีการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคเน่าเละของผักกาดเขียวปลี**, วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาวิชาพืชศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. นครราชสีมา. ประเทศไทย

ชัยวุฒิ สุดทองคง. 2564. **คู่มือการใช้หัวเชื้อจุลินทรีย์ ปม.1 และปม.2 เพื่อการเพาะเลี้ยงกุ้งทะเล**. กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง. 36 หน้า

ชุติมา ตันติกิตติ. 2555. **แหล่งคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมในอาหารสำหรับปลากะพงขาว (Lates calcarifer Bloch)**, รายงานวิจัยปริญญาตรี, ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา. ประเทศไทย

เทคโนโลยีชาวบ้าน. 2561. **เทคนิคการผลิตมันฝรั่งให้ได้ผลดี**, สืบค้นเมื่อ 21 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://www.technologychaoban.com/agricultural-technology/article_42034

นพรัตน์ มะเห, ปิยรัตน์ ศิริวงษ์ไพศาล, อุไรวรรณ วัฒนกุล. 2553. การสกัดและคุณสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายผมนาง สาหร่ายผักกาดทะเล และสาหร่ายขนนก, รายงานวิจัยปริญญาตรี, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย. สงขลา. ประเทศไทย

พิมเพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, นิธิยา รัตนาปนนท์. 2555. **Polysaccharide / พอลิแซ็กคาไรด์**, สืบค้นเมื่อ 24 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1101/polysaccharide-พอลิแซ็กคาไรด์

เพ็ญศิริ มาริสา. 2562. **ผลการเสริม Bacillus subtilis ในอาหารต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตและจุลินทรีย์ก่อโรคในไก่เนื้อ**, สัมมนาปริญญาตรี, ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. อุบลราชธานี. ประเทศไทย

รัตนาภรณ์ สารภี. 2565. **การใช้เชื้อ Bacillus เพื่อการผลิตพืชให้เกิดประสิทธิภาพ**, สืบค้นเมื่อ 20 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: https://www.rmutl.ac.th/news/19363-2022-07-18

วัชรินทร์ แสงหลู่. 2558. **เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**, สืบค้นเมื่อ 21 พฤษภาคม 2566 แหล่งที่มา: http://cmruir.cmru.ac.th/bitstream/123456789/45/5/C2_391435.pdf

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

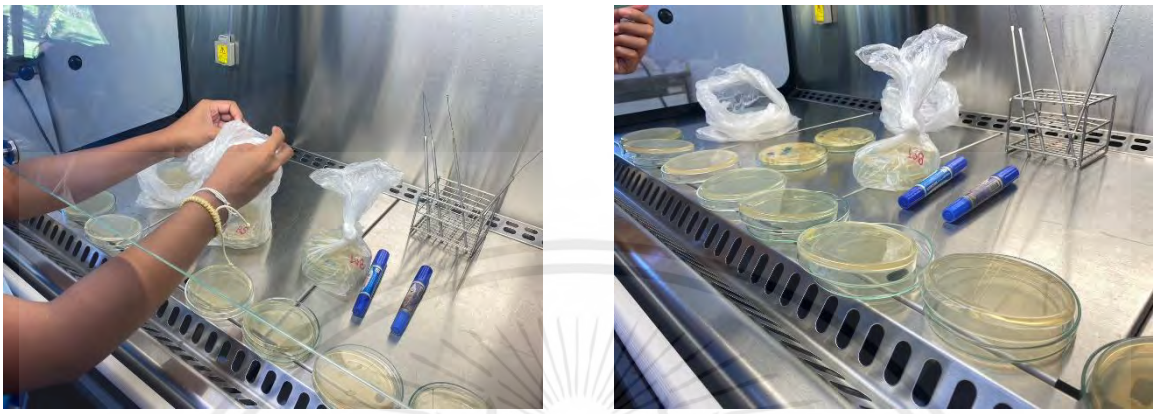
ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝงสมุทรสาคร 2556. **หัวเชื้อจุลินทรีย ปม.1**. แหล่งที่มา: http://www.fisheries.go.th/cfsamutsa/index.php?option=com_content&view=article&id=48&Itemid=58, 20 พฤษภาคม 2566

สุดารัตน์ ธิคำ, เพ็ญนภา ทะวะดี, ศิริวรรณ ใจสีคำ และวรรณพร คลังเพชร. 2564. การสกัดโพลิแซคคาไรด์จากเห็ดหัวลิงด้วยกระบวนการอัลตราซาวด์ร่วมกับความร้อนและผลต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก. **วารสารเกษตรนเรศวร** 18 (ฉบับที่ 1) : 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



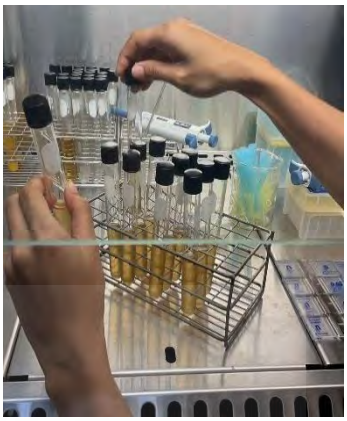
ภาคผนวกที่ 1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

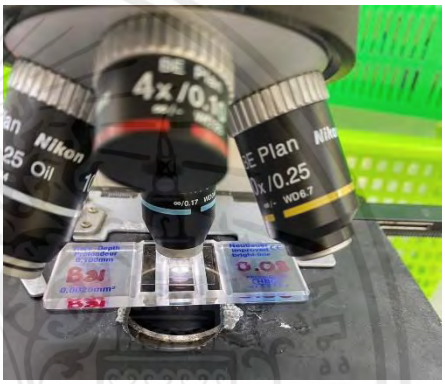
ภาคผนวกที่ 2 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus megaterium* (BM), *Bacillus subtilis* (BS) และ *Bacillus licheniformis* (BL)

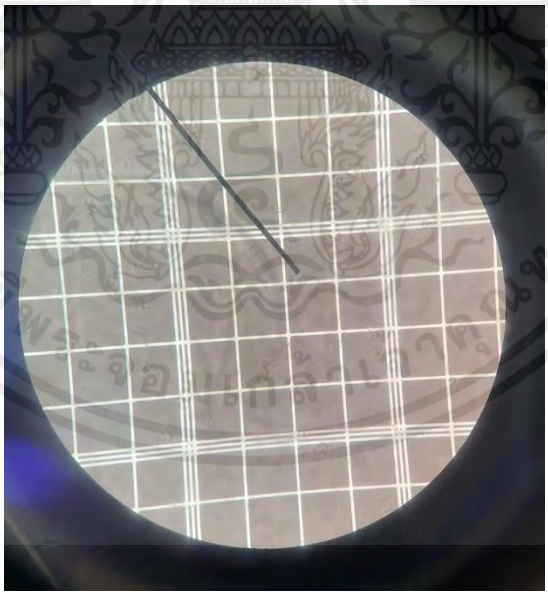
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ 3 ขั้นตอนการทำการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

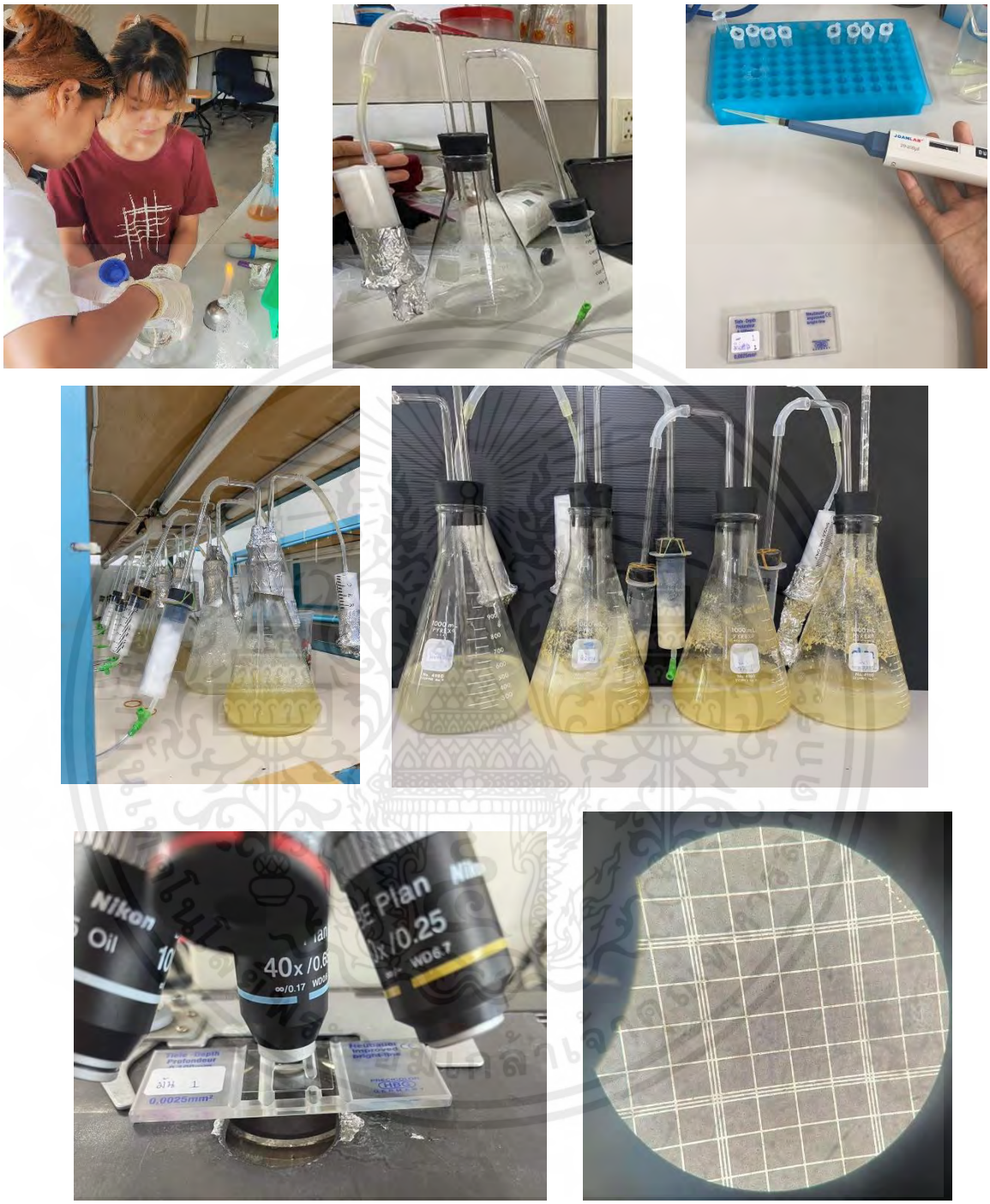






ภาคผนวกที่ 4 ขั้นตอนการทดสอบความเข้มข้นของสารพอลิแซ็กคาไรด์ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวกที่ 5 ขั้นตอนการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในอาหารสูตรต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติการศึกษา

ชื่อ	นางสาวรสธร เกตุแย้ม
เกิดวันที่	5 กุมภาพันธ์ 2544
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลสมุทรปราการ 71 ถ.จักกะพาก ต.ปากน้ำ อ.เมืองสมุทรปราการ จ.สมุทรปราการ
ที่อยู่	28 ซ.ประชาร่วมใจ32 ถ.ประชาร่วมใจ แขวง.ทรายกองดินใต้ เขต.คลองสามวา จ.กรุงเทพมหานคร 10510
ประวัติการศึกษา	ประกาศนียบัตรมัธยมศึกษาตอนปลาย คณิต-วิทย์ โรงเรียนนวมินทราชินูทิศ สตรีวิทยา ๒ วท.บ (วิทยาศาสตร์การประมงและทรัพยากรทางน้ำ) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังวิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้