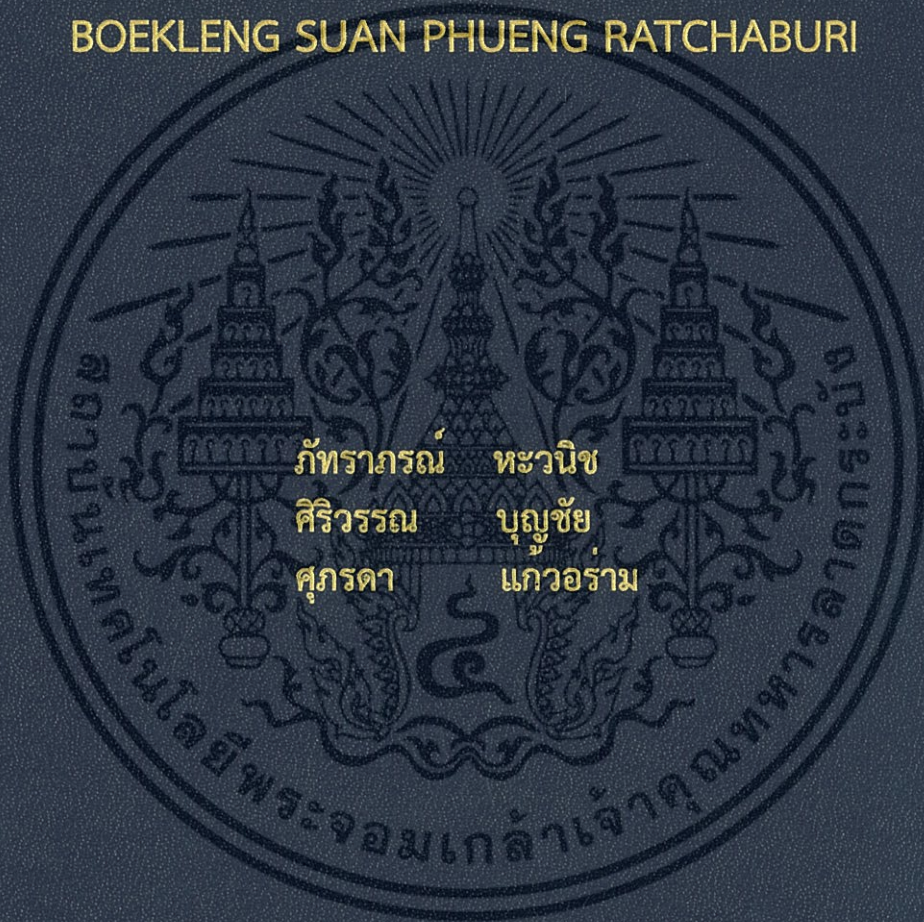


การคัดเลือกและฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อ  
แอกติโนมัยซีทที่แยกได้จากดินธารน้ำร้อนบ่อคลึง  
ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี

SCREENING AND ANTIMICROBIAL OF ACTINOMYCETES  
ISOLATED FROM HOT SPRING SOIL SAMPLE,  
BOEKLENG SUAN PHUENG RATCHABURI



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2559

การคัดเลือกและฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อ  
แอกติโนมัยซีทที่แยกได้จากดินธารน้ำร้อนบ่อคลึง  
ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี

SCREENING AND ANTIMICROBIAL OF ACTINOMYCETES  
ISOLATED FROM HOT SPRING SOIL SAMPLE,  
BOEKLENG SUAN PHUENG



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต  
สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

SCREENING AND ANTIMICROBIAL OF ACTINOMYCETES  
ISOLATED FROM HOT SPRING SOIL SAMPLE,  
BOEKLENG SUAN PHUENG



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE  
IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY  
DEPARTMENT OF BIOLOGY  
FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การคัดเลือกและฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากดินธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี		
	Screening and antimicrobial of Actinomycetes isolated from hot spring soil sample, Boeklueng Suan Phueng Ratchaburi		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวภัทราภรณ์	หะวนิช	รหัสนักศึกษา 56051047
	นางสาวศิริวรรณ	บุญชัย	รหัสนักศึกษา 56051081
	นางสาวศุภรดา	แก้วอร่าม	รหัสนักศึกษา 56051083
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
ปีการศึกษา	2559		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. คณิงกานต์ กลั่นบุศย์		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.วีณา ชูโชติ ประธานกรรมการ	
รศ.ดร.จิตติ ท่าไฉ กรรมการ	
ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	คณิงกานต์ กลั่นบุศย์

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การคัดเลือกและฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากดินธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี		
	Screening and antimicrobial of Actinomycetes isolated from hot spring soil sample, Boeklueng Suan Phueng Ratchaburi		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวภัทรารมณ	หะวนิช	รหัสนักศึกษา 56051047
	นางสาวศิริวรรณ	บุญชัย	รหัสนักศึกษา 56051081
	นางสาวศุภรดา	แก้วอร่าม	รหัสนักศึกษา 56051083
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
ปีการศึกษา	2559		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. คณิงกานต์ กลั่นบุศย์		

### บทคัดย่อ

คัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี 3 วิธี ได้แก่ วิธีที่ 1 อบตัวอย่างดินที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง คัดแยกบนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ได้จำนวน 25 ไอโซเลท วิธีที่ 2 นำตัวอย่างดินไปให้ความร้อนโดยการต้มด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และวิธีที่ 3 นำตัวอย่างดินไปอบที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง คัดแยกบน Zhang'Starch Soil Extract agar (ZSSE) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ได้จำนวน 32 ไอโซเลท จัดกลุ่มได้ทั้งหมด 5 กลุ่มและ 4 กลุ่ม ตามลำดับ โดยอาศัยลักษณะของเส้นใยเหนือผิวอาหารเป็นเกณฑ์ จากนั้นนำเชื้อแอคติโนมัยซีท 32 ไอโซเลทที่เจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทำการทดสอบความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิ 40, 45, 50, 55, 60, 65 และ 70 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้ดีที่ 45 องศาเซลเซียส และทดสอบความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0, 3, 5, 7 และ 10 บนอาหาร Yeast extract – Malt extract agar พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้ดีที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 จากนั้นทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น (pre-test) กับเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Micrococcus luteus* TIRTR 2374 และ *Candida albicans* ATCC 90028 พบว่าจาก 32 ไอโซเลทที่คัดแยกบนอาหาร ZSSE มี 11 ไอโซเลทที่ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น (pre-test) ได้ และไม่พบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งในน้ำหมักและตัวเซลล์เมื่อสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตและเทานอล ตามลำดับด้วยวิธี Agar disk diffusion

**คำสำคัญ :** แอคติโนมัยซีท , ดินน้ำพุร้อน , ฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ

<b>Title</b>	Screening and antimicrobial of Actinomycetes isolated from hot spring soil sample, Boeklueng Suan Phueng Ratchaburi		
<b>Students</b>	Miss Pattraporn	Hawanit	Student ID 56051047
	Miss Siriwan	Boonchai	Student ID 56051081
	Miss Suparada	Kaewaram	Student ID 56051083
<b>Degree</b>	Bachelor of Science (Industrial Microbiology Program)		
<b>Department</b>	Biology		
<b>Faculty</b>	Science		
<b>University</b>	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
<b>Academic</b>	Year 2016		
<b>Advisor</b>	Dr. Khanungkan Klanbut		

### Abstract

The isolation of actinomycetes from hot spring water soil samples, Boeklueng Suan Phueng Ratchaburi by 3 methods. 25 isolates could be isolated by method one on Starch Casein Agar (SCA) at 30 °C after soil was incubated at 70 °C for 1 hour. 32 isolates could be isolated by method two and three on Zhang'Starch Soil Extract agar (ZSSE) at 45 °C after soils were incubated at 70 °C in water bath for 10 minutes and 100 °C for 1 hour respectively. These 25 isolates and 32 isolates could be classified into 5 and 4 groups respectively by the colour of aerial mycelium using NBs/IBCC colour system. We interested in actinomycetes that isolated by 45 °C method, the ability to grow in high temperature experiment was set at 40, 45, 50, 55, 60, 65 and 70 °C and found that at 45 °C was the optimum temperature of this 32 isolates. The ability to grow on Yeast extract – Malt extract agar (YEME), supplemented with NaCl at 0, 3, 5, 7 and 10%, found that they could grow best on medium without NaCl but at higher concentration some of actinomycetes still grew until 7%. Preliminary screened for their antimicrobial activity were examined against microorganism tested *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Micrococcus luteus* TIRTR 2374 and *Candida albicans* ATCC 90028. There were 11 isolates from 32 isolates against microorganism with pre-test method and there were no clear zone with agar disk diffusion method from crude extraction and cellular extraction when using ethylacetate and methanol as solvents respectively.

**Keywords :** Actinomycetes, Hot spring soil, Antimicrobial activity

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษเล่มนี้สำเร็จได้ด้วยดี ด้วยความกรุณาจาก ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ซึ่งท่านได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่างๆ และให้ความช่วยเหลือที่ดีในทุกๆด้าน ตลอดจนชี้แนะแนวทางการแก้ปัญหาต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่อย่างยิ่ง ผู้จัดทำตระหนักถึงความตั้งใจจริงและความทุ่มเทของอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ทางคณะผู้จัดทำจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.วีณา ชูโชติ และ รศ.ดร.จิตติ ท่าวัว ที่กรุณาเป็นประธานกรรมการ และกรรมการ อีกทั้งยังคอยให้คำแนะนำ ในการปรับปรุงแก้ไขโครงการพิเศษเล่มนี้ให้สมบูรณ์จนประสบผลสำเร็จ

ขอขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา นักศึกษาปริญญาโท และเพื่อนๆ สาขา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ที่ให้คำแนะนำ และให้ความช่วยเหลือ จนโครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณพ่อ แม่ ผู้ปกครอง ที่คอยสนับสนุนในด้านการศึกษาแก่ผู้จัดทำ อีกทั้งยังให้ความเข้าใจและเป็นกำลังใจสำคัญให้ผู้จัดทำเสมอมา จนโครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นางสาวภัทราภรณ์                    หะวนิช  
นางสาวศิริวรรณ                    บุญชัย  
นางสาวศุภรดา                        แก้วอร่าม

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ญ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>3</b>
2.1 น้ำพุร้อน	3
2.1.1 ธารน้ำร้อนบ่อคลึง	3
2.1.1.1 ที่ตั้ง	3
2.1.1.2 ลักษณะทางธรณีวิทยา	3
2.1.1.3 ลักษณะทางกายภาพ	3
2.1.1.4 ลักษณะทางเคมี	3
2.2 แอคติโนมายซีทที่แยกได้จากน้ำพุร้อน	4
2.3 ลักษณะทั่วไปของแอคติโนมายซีท	5
2.3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	5
2.3.1.1 ลักษณะโคโลนี	5
2.3.1.2 โครงสร้างภายในของเส้นใย	6
2.3.1.3 การสร้างสปอร์	6
2.3.1.4 ลักษณะการเจริญบนอาหาร	10
2.3.2 ลักษณะทางชีวเคมี	10
2.3.2.1 ความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน	10
2.3.2.2 ความสามารถในการย่อยโปรตีน	10
2.3.2.3 ความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรท	10
2.3.2.4 ความสามารถในการย่อยแป้ง	11
2.3.2.5 ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ	11
2.3.2.6 ความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้น	11
ของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4 การจัดจำแนกประเภทของแอกติโนมัยซีท	11
2.4.1 <i>Nocardioform</i>	11
2.4.2 <i>Multilocularsporangia</i>	11
2.4.3 <i>Actinoplanetes</i>	11
2.4.4 <i>Streptomyces</i> และสกุลที่ใกล้เคียง	12
2.4.5 <i>Moduromycetes</i>	12
2.4.6 <i>Thermomonospora</i> และสกุลที่ใกล้เคียง	12
2.4.7 <i>Thermoactinomycetes</i>	12
2.4.8 กลุ่มอื่นๆ	12
2.5 แอกติโนมัยซีทหายาก (Rare actinomycetes)	12
2.5.1 แฟมิลี <i>Micromonosporaceae</i>	13
2.5.2 แฟมิลี <i>Streptorangiaceae</i>	13
2.5.3 แฟมิลี <i>Pseudonocardiaceae</i>	13
2.5.4 แฟมิลี <i>Thermomonosporaceae</i>	13
2.5.5 แฟมิลี other (unclassified) species	13
2.6 นิเวศวิทยาของแอกติโนมัยซีท	13
2.6.1 สภาพดินที่พบ	13
2.6.2 การทนความแห้งแล้ง	13
2.6.3 การทนความร้อน	13
2.6.4 ความสามารถในการแข่งขัน	14
2.7 Extremophilic/Extremotolerant Actinobacteria	14
2.8 Thermophilic และ Thermotolerant Actinobacteria	14
2.9 คุณสมบัติลักษณะของ Thermophilic และ Thermotolerant Actinobacteria	15
2.10 การแยกแอกติโนมัยซีทจากดิน	15
2.10.1 ปัจจัยที่ควรคำนึงถึงในการแยกเชื้อ	16
2.10.1.1 แหล่งอาศัยของเชื้อและการเก็บรักษาตัวอย่าง	16
2.10.1.2 อาหารที่ใช้ในการแยกเชื้อ	16
2.10.1.3 สารปฏิชีวนะที่ใช้	17
2.10.1.4 สภาพที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ	17
2.10.1.5 เทคนิคจำเพาะต่อการแยกเชื้อแอกติโนมัยซีทสกุลต่างๆ	18
2.10.2 วิธีการกำจัดเชื้อสกุล <i>Streptomyces</i> และจุลินทรีย์ชนิดอื่น	18
2.10.2.1 การให้ความร้อนแห้ง	18
2.10.2.2 การใช้สารเคมีฆ่าเชื้อ	18
2.10.2.3 การใช้แรงหมุนเหวี่ยง	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.10.3 การเพิ่มจำนวนแอกติโนมัยซีทก่อนการแยก	19
2.10.3.1 การบ่มตัวอย่างก่อนการแยก	19
2.10.3.2 การใช้สารเคมีดึ่งดูด	19
2.10.3.3 การใช้เหยื่อล่อ	20
2.11 ประโยชน์ของแอกติโนมัยซีท	20
2.11.1 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่ผลิตโดยแอกติโนมัยซีท	21
2.11.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แยกได้จากแอกติโนมัยซีทหายาก	22
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย</b>	<b>24</b>
3.1 อุปกรณ์	24
3.2 เครื่องมือ	24
3.3 สารเคมี	25
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป	26
3.5 เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ	26
3.6 การเก็บตัวอย่างดิน การแยกเชื้อและการคัดแยกเชื้อ	26
3.6.1 การเก็บตัวอย่างดิน	26
3.6.2 การคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีท	26
3.6.3 การหาคุณสมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่าง	27
3.6.3.1 การหาน้ำหนักดิน	27
3.6.3.2 การหาปริมาณความชื้น	28
3.6.3.3 การวัดค่าความเป็นกรดเบส	29
3.6.4 การแยกเชื้อและการเก็บรักษา	29
3.6.5 การเตรียม spore suspension	29
3.7 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา	29
3.8 การศึกษาลักษณะทางชีวเคมี	30
3.8.1 ความสามารถในการย่อยแป้ง	30
3.8.2 ความสามารถในการย่อยเจลาติน	30
3.8.3 ความสามารถในการย่อยโปรตีน	30
3.8.4 ความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรท	30
3.8.5 ความสามารถในการผลิต H <sub>2</sub> S	31
3.8.6 ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ	31
3.8.7 ความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้น ของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.9 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญ ของจุลินทรีย์เบื้องต้นและการสกัดสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ	31
3.9.1 การทดสอบความสามารถในการยับยั้ง การเจริญของจุลินทรีย์เบื้องต้น	31
3.9.2 การสกัดสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ	31
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล</b>	<b>33</b>
4.1 ผลการเก็บตัวอย่างดินและการแยกเชื้อแอสคิตินมัยซีท	33
4.2 การหาคุณสมบัติทางกายภาพบางประการของดินตัวอย่าง	35
4.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอสคิตินมัยซีทที่คัดแยกได้จาก ดินธารน้ำร้อนบ่อคลิ้ง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี	37
4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอสคิตินมัยซีท	74
4.5 ความสามารถในการเจริญของเชื้อแอสคิตินมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ	79
4.6 ความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ	82
4.7 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เบื้องต้น	85
4.8 การทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดย เทคนิค Agar disc diffusion	93
4.9 รวมผลการทดลองของเชื้อแอสคิตินมัยซีททั้ง 11 ไอโซเลท ที่ได้รับการคัดเลือก	100
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>	<b>111</b>
เอกสารอ้างอิง	113
ภาคผนวก	124
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	125
ภาคผนวก ข กระดาษสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system)	128
ภาคผนวก ค ภาพถ่ายสถานที่เก็บตัวอย่างดิน	148
ภาคผนวก ง ภาพแสดงตัวอย่างผลการทดสอบทางชีวเคมี	153
ภาคผนวก จ ผลการทดลอง	156
ภาคผนวก ฉ การเตรียมสารละลาย McFarland standard No. 0.5	190
ภาคผนวก ช เชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆสำหรับการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ของเชื้อแอสคิตินมัยซีท	191

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	21
4.1	33
4.2	34
4.3	35
4.4	36
4.5	67
4.6	70
4.7	74
4.8	76
4.9	79
4.10	82
4.11	86
4.12	94
ก	128
ข (๑)	156
ข (๒)	157
ข (๓)	158
ข (๔)	159

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ข (๕) แสดงปริมาณความชื้นจากตัวอย่างดินที่ใช้ในการคัดแยกแอกติโนมัยซีทโดยวิธีที่ 1 บริเวณธารน้ำร้อนบ่อคลิ้ง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี	160
ข (๖) แสดงปริมาณความชื้นจากตัวอย่างดินที่ใช้ในการคัดแยกแอกติโนมัยซีทโดยวิธีที่ 2 และ 3 บริเวณธารน้ำร้อนบ่อคลิ้ง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี	161
ค แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ได้จากคัดแยก โดยวิธีที่ 2 และ 3	162
ง แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ ในระดับต่างๆ ที่ได้จากคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3	170
จ แสดงรูปภาพผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่สามารถผลิต สารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ	181
ฉ แสดงรูปภาพผลของฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆจาก สารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเทคนิค Agar disk diffusion	186

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ธารน้ำร้อนบ่อคลึง	4
2.2 การสร้างสปอร์เดี่ยว	7
2.3 ชนิดของสปอร์สายยาวแบบต่างๆ ที่สร้างโดยเชื้อแอกติโนมัยซีทสกุล <i>Streptomyces</i>	8
2.4 รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนเส้นใยอาหาร	9
2.5 รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนเส้นใยอากาศ	10
4.1 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 120	38
4.2 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 122	38
4.3 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 220	39
4.4 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 520	39
4.5 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 522	40
4.6 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 530	40
4.7 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 730	41
4.8 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 820	41
4.9 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 821	42
4.10 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 1020	42
4.11 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 1030	43
4.12 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 1232	43
4.13 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 2120	44
4.14 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 121	44
4.15 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 132	45
4.16 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 230	45
4.17 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 830	46
4.18 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 831	46
4.19 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 1021	47
4.20 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 1630	47
4.21 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 123	48
4.22 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 232	48
4.23 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 235	49
4.24 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 521	49
4.25 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 1520	50
4.26 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 00723	50
4.27 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 00830	51
4.28 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01721	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.29 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01722	52
4.30 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01724	52
4.31 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 02020	53
4.32 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 02030	53
4.33 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 222	54
4.34 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 241	54
4.35 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 432	55
4.36 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 521	55
4.37 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 722	56
4.38 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1322	56
4.39 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1731	57
4.40 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1922	57
4.41 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1941	58
4.42 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1943	58
4.43 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2024	59
4.44 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2025	59
4.45 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2026	60
4.46 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 0431	60
4.47 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 0722	61
4.48 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 422	61
4.49 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 431	62
4.50 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 731	62
4.51 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2021	63
4.52 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 203	63
4.53 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2032	64
4.54 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 0173	64
4.55 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 232	65
4.56 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2023	65
4.57 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1921	66
4.58 แสดงรูปผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก (ก) และผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ (ข)	90
4.59 แสดงรูปผนังเซลล์ของยีสต์	91
4.60 โครงสร้างโมเลกุลของเพนิซิลินซึ่งมี $\beta$ -lactam ring เป็นองค์ประกอบ	91

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.61 แสดงผลการศึกษาเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพไอโซเลทที่ BKH 00830 (ก), ไอโซเลทที่ BKH 01722 (ข) และไอโซเลทที่ BKH 01724 (ค)	92
4.62 แสดงผลการศึกษาเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพไอโซเลทที่ BKH 02030 (ก), ไอโซเลทที่ BKH 241 (ข) และไอโซเลทที่ BKH 1731 (ค)	92
4.63 แสดงผลการศึกษาเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพไอโซเลทที่ BKH 1943 (ก), ไอโซเลทที่ 2025 BKH (ข) และไอโซเลทที่ BKH 2026 (ค)	92
4.64 แสดงผลการศึกษาเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพไอโซเลทที่ BKH 2021 (ก) และไอโซเลทที่ BKH 01730 (ข)	93
4.65 แสดงผลการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ <i>Escherichia coli</i> ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 2021 (ก) และ <i>Micrococcus luteus</i> ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 1731 (ข) ตามลำดับ	98
4.66 แสดงผลการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ <i>Bacillus subtilis</i> ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 1943 (ก) และ <i>Staphylococcus aureus</i> ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 01722 (ข) ตามลำดับ	99
4.67 แสดงผลการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ <i>Candida albicans</i> ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 2026 (ก) และ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 01724 (ข) ตามลำดับ	99
4.68 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 00830	100
4.69 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01722	101
4.70 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01724	102
4.71 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 02030	103
4.72 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 241	104
4.73 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1731	105
4.74 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1943	106
4.75 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2025	107
4.76 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2026	108
4.77 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2021	109
4.78 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 0173	110
ก แสดงลักษณะภูมิประเทศของบริเวณจุดเก็บตัวอย่างดินจากธารน้ำร้อนบ่อคลิ้ง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี	148
ข (๑) แสดงผลทดสอบการย่อยสลายโปรตีนในอาหาร Skim milk agar	153
ข (๒) แสดงผลทดสอบการย่อยสลายแป้งบนอาหาร Inorganic salt-starch agar	153
ข (๓) แสดงผลทดสอบการย่อยสลายเจลาตินในอาหารเหลว Bouillon Gelatin Broth	154
ข (๔) แสดงผลทดสอบการย่อยสลายไนเตรทในอาหารเหลว Peptone KNO <sub>3</sub> broth	154
ข (๕) แสดงผลทดสอบความสามารถในการผลิต H <sub>2</sub> S บนอาหาร Tryptone-Yeast extract agar slant	155

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชบุรี ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
ช (๑)	แสดงรูปร่างลักษณะของเชื้อ <i>Escherichia coli</i>	191
ช (๒)	แสดงรูปร่างลักษณะของเชื้อ <i>Micrococcus luteus</i>	192
ช (๓)	แสดงรูปร่างลักษณะของเชื้อ <i>Bacillus subtilis</i>	192
ช (๔)	แสดงรูปร่างลักษณะของเชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	193
ช (๕)	แสดงรูปร่างลักษณะของเชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i>	194
ช (๖)	แสดงรูปร่างลักษณะของเชื้อ <i>Candida albicans</i>	194



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

แอกติโนมัยซีทจัดอยู่ในกลุ่มโปรคาริโอต เป็นแบคทีเรียแกรมบวก แอกติโนมัยซีทอยู่ในอันดับ *Actinomycetales* ส่วนใหญ่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ มีการสืบพันธุ์โดยการสร้างสปอร์ และมีการสร้างเส้นใยคล้ายเชื้อราโดยส่วนใหญ่จะมีการสร้างเส้นใย 2 ชนิดคือเส้นใยผิวอาหาร (substrate mycelium) และเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) แตกแขนงออกไป แอกติโนมัยซีทที่มีปริมาณของเบสกวานีน (guanine) และไซโตซีน (cytosine) สูงประมาณ 55% โดยแอกติโนมัยซีทจะมีความแตกต่างกับราตรงที่แอกติโนมัยซีทไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสและไมโทคอนเดรียผนังเซลล์ของแอกติโนมัยซีทประกอบไปด้วยมิวโคเปปไทด์ ซึ่งประกอบด้วย N-acetyl glucosamine เชื่อมกับ N-acetyl muramic acid และ diaminopimelic acid ; glutamic acid ; glycine และ alanine (นวลรัตน์, 2554) แอกติโนมัยซีทอาศัยอยู่ทั่วไปตามแหล่งธรรมชาติ เช่น ในดิน น้ำ อากาศ และในเนื้อเยื่อพืช แหล่งที่พบมากได้แก่บริเวณที่มีการสะสมของสารอินทรีย์ เช่น โคลนตะกอนใต้แม่น้ำ ใต้ทะเล ดินบริเวณน้ำพุร้อน หรือป่าชายเลน แอกติโนมัยซีทจะพบมากในดินที่ค่อนข้างเป็นกลาง หรือมีความเป็นกรด-ด่าง ระหว่าง 6.5-8.0 โดยส่วนใหญ่แอกติโนมัยซีทในดิน คือ *Streptomyces* พบประมาณ 70-90% รองลงมา คือ *Nocardia* พบประมาณ 10-30% และ *Micromonospora* 1-15% แอกติโนมัยซีทส่วนใหญ่เป็นพวก mesophile เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-40 องศาเซลเซียส บางสายพันธุ์เป็น thermophile สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูง 45-60 องศาเซลเซียส (ลลิตา, 2554) นอกจากนี้อุณหภูมิยังมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในดินด้วย โดยทั่วไปในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิสูงจะกระตุ้น กิจกรรมต่างๆของจุลินทรีย์ในดินได้ดีกว่าที่อุณหภูมิต่ำ (กฤติมา, 2548) สภาพแวดล้อมของน้ำพุร้อนจะมีความแตกต่างจากที่อยู่บนดิน (terrestrial habitat) อย่างมาก ซึ่งคาดว่าลักษณะทางชีวภาพและการแพร่กระจายของแอกติโนมัยซีทที่แยกได้จากน้ำพุร้อนจะมีความแตกต่างกับแอกติโนมัยซีทที่แยกได้จากดินทั่วไป การวิจัยเกี่ยวกับความหลากหลายของแอกติโนมัยซีทจากน้ำพุร้อน ไม่ได้ให้ความสำคัญในเรื่องของการศึกษาขั้นพื้นฐานเท่าที่ควรแต่ยังจำเป็นต้องนำไปใช้ประโยชน์อีกด้วย นอกจากนี้สภาพแวดล้อมของน้ำพุร้อนยังแสดงให้เห็นว่า น้ำพุร้อนเป็นแหล่งสำคัญที่สามารถสร้างผลิตภัณฑ์ใหม่ๆทางธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งก็คือ สารปฏิชีวนะ (Thawai, 2012)

การผลิตสารปฏิชีวนะอาจจะเป็นปรากฏการณ์ทั่วไปสำหรับแบคทีเรียส่วนใหญ่โดยการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียจะเป็นสาเหตุให้เกิดจุลินทรีย์ที่เป็นตัวการทำให้เกิดโรคเพิ่มขึ้นในปีที่ผ่านมา มีการระบุว่าองค์ประกอบของระบบนิเวศ เช่น thermophiles ทำให้เกิดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ๆ ซึ่งมีสารปฏิชีวนะชนิดใหม่จำนวนมากที่พบได้โดยการคัดแยกจากดินและแหล่งธรรมชาติอื่นๆ สารปฏิชีวนะเป็นสารเมแทบอลิต์ทุติยภูมิ ซึ่งโดยทั่วไปจะผลิตโดยกระบวนการสังเคราะห์ทางชีวภาพ (biosynthetic pathways) หลายขั้นตอน (Khalid *et al.*, 2014) ประโยชน์ของแอกติโนมัยซีทที่รู้จักกันดี คือ สามารถผลิตสารเมแทบอลิต์ เช่น สารปฏิชีวนะและเอนไซม์ได้ จากข้อมูลล่าสุดพบว่าสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่สร้างมาจากแอกติโนมัยซีท (45%) โดยจุลินทรีย์กลุ่มแอกติโนมัยซีทที่สามารถสร้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารปฏิชีวนะได้มากที่สุดในสกุล *Streptomyces* ซึ่งผลิตสารปฏิชีวนะได้ 70% (ประมาณ 8,000 ชนิด) ของสารปฏิชีวนะที่สร้างจากแอกติโนมัยซีททั้งหมด (McCarthy and Williams, 1990) เอนไซม์ที่แอกติโนมัยซีทสามารถผลิตได้มีหลายชนิดได้แก่ xylanase, cellulose, amylase และ chitinase เป็นต้น และยังมีสารสีที่แอกติโนมัยซีทสามารถผลิตได้เพื่อเป็นการใช้ประโยชน์ของแอกติโนมัยซีทอย่างสูงสุด (กิงจันทร์, 2555)

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อทำการคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีทจากดินธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี และกำหนดหมายเลขไอโซเลท
- 2) เพื่อทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางชีวเคมีเบื้องต้นของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่แยกได้จากไอโซเลทต่างๆ
- 3) เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทบนอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือในระดับต่างๆ และการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิที่แตกต่างกัน
- 4) เพื่อศึกษาการทำการสกัดสารทุติยภูมิจากน้ำหมักของเชื้อแอกติโนมัยซีท และฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์บางชนิด จากแอกติโนมัยซีทที่สามารถทำการคัดแยกได้

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแอกติโนมัยซีท จากดินธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี เพื่อศึกษาการคัดเลือกและการเพาะเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีท โดยเริ่มจากการเก็บตัวอย่างดินมาทำการคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีท และกำหนดหมายเลขไอโซเลท แล้วทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางชีวเคมีเบื้องต้นของเชื้อแอกติโนมัยซีท หลังจากนั้นทำการเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือในระดับต่างๆ และการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิที่แตกต่างกัน เพื่อดูความสามารถในการเจริญของแอกติโนมัยซีทที่แยกได้จากไอโซเลทต่างๆ นอกจากนี้ยังนำมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งทางชีวภาพจากน้ำหมักของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแอกติโนมัยซีท ด้วยวิธี Agar disc diffusion

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) สามารถแยกเชื้อแอกติโนมัยซีทจากดินธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี
- 2) สามารถทราบถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางชีวเคมีเบื้องต้นของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่แยกได้จากไอโซเลทต่างๆ
- 3) สามารถทราบถึงการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทบนอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือในระดับต่างๆ และการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิที่แตกต่างกัน
- 4) สามารถทำการสกัดสารทุติยภูมิจากน้ำหมักของเชื้อแอกติโนมัยซีท เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 น้ำพุร้อน (กรมทรัพยากร, 2560)

น้ำพุร้อน เป็นปรากฏการณ์ธรรมชาติที่มีน้ำร้อนไหลขึ้นมาจากใต้ดิน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าภายในโลกยังคงมีความร้อนอยู่ ปัจจุบันพบแหล่งน้ำพุร้อน 112 แหล่ง กระจายอยู่ทั่วไปตั้งแต่ทางภาคเหนือ ภาคตะวันตก ภาคกลาง และภาคใต้ วัตถุอุณหภูมิร้อนที่ผิวดินอยู่ในช่วง 40 – 100 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ น้ำพุร้อนยังสามารถนำมาพัฒนาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เช่น การผลิตกระแสไฟฟ้า ด้านอุตสาหกรรม และการเกษตรกรรมอีกด้วย

#### 2.1.1 ธารน้ำร้อนบ่อคลิ้ง

##### 2.1.1.1 ที่ตั้ง

บ้านบ่อคลิ้ง ตำบลสวนผึ้ง อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี

##### 2.1.1.2 ลักษณะธรณีวิทยา

บริเวณแหล่งน้ำพุร้อนเป็นเหมือนแร่ดีบุกเก่า ประกอบด้วยหินแกรนิตเนื้อดอก หินเพกมาไทต์ และหินแอไฟลต์ แร่ประกอบหินแกรนิต มีขนาดหยาบปานกลางจนถึงหยาบมาก ประกอบด้วยแร่ทิวมาลีน มัสโคไวต์ ไบโอไทต์ ควอตซ์ และเฟลสปาร์ อายุของหินแกรนิตอยู่ระหว่าง จูแรสซิก-ครีเทเชียส

##### 2.1.1.3 ลักษณะทางกายภาพ

เป็นบ่อน้ำอุ่นเกิดอยู่ในหุบเขาริมห้วยบ่อคลิ้ง น้ำพุร้อนเกิดอยู่หลายบริเวณเรียงตัวอยู่ในแนวตามร่องห้วย แล้วไหลไปตามร่องห้วยทิศประมาณ N30E พบสายธารน้ำร้อนน้อยมาก ร่องห้วยลึกประมาณ 50 เซนติเมตร บริเวณปลายร่องห้วยที่อยู่ห่างจากต้นกำเนิดน้ำพุร้อน 130 เมตร จะทำเป็นแอ่งน้ำธรรมชาติ กั้นน้ำร้อนไว้เพื่อใช้เป็นที่อาบน้ำพุร้อน แอ่งน้ำร้อนนี้ลึกประมาณ 1 เมตร นอกจากนี้ได้ต่อท่อน้ำเหล็กจากต้นกำเนิดน้ำพุร้อนไปสู่สระว่ายน้ำที่ก่อด้วยกระเบื้องสำหรับอาบ น้ำพุร้อนที่อยู่ห่างออกไปประมาณ 60 เมตร ต้นกำเนิดของแหล่งน้ำพุร้อน สันนิษฐานว่าน่าจะมีความสัมพันธ์กับรอยเลื่อน และรอยแยก 2 ทิศทาง ได้แก่ รอยเลื่อนในทิศทางตะวันออกเฉียงเหนือ-ตะวันตกเฉียงใต้ และทิศทางตะวันตกเฉียงเหนือ-ตะวันออกเฉียงใต้

##### 2.1.1.4 ลักษณะทางเคมี

น้ำพุร้อนเป็นน้ำใส สะอาด ไม่มีกลิ่นกำมะถันและก๊าซไข่เน่า พบก๊าซฟลูออรีนในน้ำพุร้อน และในลำห้วยบ้างเป็นจำนวนไม่มาก พบแร่แปรสภาพพวกคาร์บอเนตและซิลิกา มองเห็นเป็นตะกอนและคราบผลึกคาร์บอเนตสีขาว บนหินและ ดินรอบๆ บ้างเล็กน้อย ปริมาณของไบคาร์บอเนตและฟลูออไรด์ค่อนข้างสูง ปริมาณซัลเฟตน้อยมาก ปริมาณสารละลายทั้งหมดที่มีอยู่ในน้ำร้อนต่ำมาก



รูปที่ 2.1 ธารน้ำร้อนปอกคลิ่ง

## 2.2 แอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากน้ำพุร้อน

ปัจจุบัน ความต้องการเอนไซม์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมที่มีคุณสมบัติใหม่ๆนั้นเพิ่มสูงขึ้น เช่น การผลิตเอนไซม์ที่ทนต่อสภาวะรุนแรง เนื่องจากคุณสมบัติทางโมเลกุลที่มีลักษณะเฉพาะ ทำให้พวก thermophile มีอัตราเมตาบอลิซึมสูง อีกทั้งความเสถียรทางกายภาพและเคมีของเอนไซม์ และผลผลิตสุดท้ายที่ได้สูงกว่าสายพันธุ์ของ mesophile การเจริญเติบโตของแอคติโนมัยซีทและแบคทีเรียมีความต้องการอาหารน้อยที่สุด และด้วยเหตุนี้แบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิสูงจึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมากที่จะเป็นแหล่งของเอนไซม์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมต่อไป (Chaudhary and Prabhu, 2016)

เอนไซม์อะไมเลส ถูกใช้ในกระบวนการย่อยสลายในโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งกระบวนการนี้จะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิสูง เอนไซม์อะไมเลสที่ทนต่อความร้อนนั้นเป็นที่สนใจมาก จึงได้มีการวิจัยทดลองเก็บตัวอย่างดินน้ำพุร้อนจาก Kotli Azad Jammu และ Kashmir จากการศึกษาสามารถแยกแบคทีเรียได้ 20 สายพันธุ์ เมื่อทำการทดสอบกิจกรรมการสร้างเอนไซม์ย่อยแป้ง พบว่ามี 4 สายพันธุ์ที่เกิดบริเวณใสเป็นวงกว้าง ซึ่งมี 3 สายพันธุ์ เป็นบาซิลลัส และอีก 1 สายพันธุ์ เป็นแอคติโนมัยซีท เมื่อทำการศึกษาต่อไปพบว่า เป็น *Thermoactinomyces sacchari* (Jadoon et al., 2014)

Chaudhary and Prabhu (2016) ได้ทำการคัดแยก thermophilic actinomycetes จากน้ำพุร้อน Vajreshwari ประเทศอินเดีย เพื่อหาเชื้อที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและอะไมเลส พบ 5 ไอโซเลท ที่ให้ผลบวกในการทดสอบกิจกรรมการย่อยแป้งและย่อยเซลลูโลส กิจกรรมของเอนไซม์ในสารสกัดหยาบวัดโดยวิธี DNSA สำหรับ reducing sugar ไอโซเลทที่ 4 มีสภาวะที่เหมาะสมสำหรับกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ที่ 55 องศาเซลเซียส pH 4.8 ส่วนเอนไซม์เซลลูเลส ที่ 55 องศาเซลเซียส pH 9 เอนไซม์อะไมเลสและเซลลูเลสมีเสถียรภาพสูงและมีกิจกรรมการทำงานที่ดีเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ทางการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิสูงขึ้นและสภาวะที่เป็นกรดหรือเบส อาจจะมีการประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์ในด้านต่างๆ เช่น การแปรรูปแป้ง อุตสาหกรรมอาหาร และอุตสาหกรรมสารทำความสะอาด

Al-Dhabi *et al.* (2016) ทำการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ *Streptomyces* sp. Al-Dhabi-1 จากน้ำพุร้อน Tharban ประเทศซาอุดีอาระเบีย จากนั้นทำการจัดจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา การทดสอบทางชีวเคมีวิเคราะห์ลำดับ 16S rRNA และทดสอบฤทธิ์การต้านจุลชีพ แล้ววิเคราะห์สารสกัดจากเชื้อโดยใช้วิธี GC-MS จากการศึกษาพบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. Al-Dhabi-1 ที่แยกได้มีฤทธิ์การต้านจุลชีพที่ตรงกับเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่ใช้ทดสอบ ความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคคือ *S. agalactiae* (<0.039 mg/ml) และความเข้มข้นในระดับต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของรา คือ *Cryptococcus neoformans* (0.078 mg/ml)

## 2.3 ลักษณะทั่วไปของแอกติโนมัยซีท

แอกติโนมัยซีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนใหญ่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ ยกเว้นแอกติโนมัยซีทบางชนิดที่ไม่ต้องการออกซิเจนหรือต้องการเพียงปริมาณเล็กน้อยในการเจริญ มีการสร้างสปอร์และเส้นใยคล้ายเชื้อรา โดยส่วนใหญ่จะมีการสร้างเส้นใย 2 ชนิด คือ เส้นใยผิวอาหาร (substrate mycelium) และเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) แอกติโนมัยซีทที่มีปริมาณของเบสกวานีน (guanine) และไซโตซีน (cytosine) สูงประมาณ 55% โดยแอกติโนมัยซีทจะมีความแตกต่างกับราตรงที่แอกติโนมัยซีทไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสและไมโทคอนเดรีย ผนังเซลล์ของแอกติโนมัยซีทประกอบไปด้วยมิวโคเปปไทด์ ซึ่งประกอบด้วย N-acetyl glucosamine เชื่อมกับ N-acetyl muramic acid และ diaminopimelic acid ; glutamic acid ; glycine และ alanine (นวลรัตน์, 2554) ช่วงระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญหรือช่วงอายุจะยาวนานกว่าแบคทีเรียมาก แอกติโนมัยซีทจึงเจริญได้อย่างช้าๆ อันเป็นลักษณะสำคัญประการหนึ่งของแอกติโนมัยซีท โดยส่วนใหญ่แอกติโนมัยซีทที่อาศัยอยู่ในดินพบว่าเป็น *Streptomyces* อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 25-30 องศาเซลเซียส ส่วนใหญ่เป็นพวก mesophile เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-40 องศาเซลเซียส บางสายพันธุ์เป็น thermophile สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูง 45-60 องศาเซลเซียสมีความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ เช่น เซลลูโลส ไคติน เคราติน และแป้ง เป็นต้น นอกจากนี้ยังเป็นจุลินทรีย์กลุ่มสำคัญที่มีการผลิตสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) คุณสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (นวลรัตน์, 2554) จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถนำมาใช้เป็นลักษณะสำคัญในการจำแนกหมวดหมู่ของแอกติโนมัยซีทได้ (Martin, 1961) การจัดจำแนกเชื้อแอกติโนมัยซีทสามารถจัดจำแนกตามลักษณะต่างๆ ได้ดังต่อไปนี้

### 2.3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอกติโนมัยซีทมีความจำเป็นสำหรับการจัดจำแนกชนิดของเชื้อแอกติโนมัยซีท เช่น ลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร และเส้นใยอากาศ โดยจะศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอกติโนมัยซีทภายใต้กล้องใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscopy) และ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscopy) (นวลรัตน์, 2554)

#### 2.3.1.1 ลักษณะของโคโลนี

โคโลนีของแอกติโนมัยซีทเกิดจากการรวมกันของเส้นใยเป็นกลุ่มของเส้นใยที่มีความหนาแน่น ส่วนที่แตกหักของเส้นใยจะพัฒนาไปเป็นเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) หลังจากนั้นจึงมีการเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญของเส้นใยในแนวตั้งฉากขึ้นมาเป็นเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) และจะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของโคโลนี เช่น สร้างสปอร์ โดยเส้นใยจะเริ่มแบ่งตัวเริ่มจากการสร้างผนังกันภายใน โคโลนีของแอกติโนมัยซีทอาจฟู (Raised) หรือเรียบแบน (Flat) จากนั้นปกคลุมด้วยชั้นที่มีลักษณะคล้ายหนัง (Leather) สีของโคโลนี เช่น ขาว เหลือง ส้ม ชมพู แดง ม่วง ฟ้า เขียว น้ำตาล และดำ พื้นผิวของโคโลนีมีลักษณะเรียบ (Smooth) นูน (Ridged) ขรุขระ (Rough) เป็นรอยย่น (Wrinkled) เป็นเม็ดเล็ก (Granular) เป็นผง (Powder) หรือเป็นเกล็ด (Squamous) ขนาดของโคโลนีขึ้นอยู่กับสปีชีส์ อายุ และสภาวะในการเจริญ เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีมีความแตกต่างตั้งแต่หน่วยมิลลิเมตรจนถึงเซนติเมตร (กึ่งจันทร์, 2555)

### 2.3.1.2 โครงสร้างภายในของเส้นใย

เส้นใยเดี่ยวมีความหนาประมาณ 0.4-1.2 ไมโครเมตร มีผนังกัน และเจริญออกทางด้านปลายสามารถแตกแขนงได้ โครงสร้างหลักในเส้นใยแสดงถึงการเป็นโพรคาริโอต คือ ไซโตพลาสซึมประกอบด้วย สายดีเอ็นเอ ไรโบโซม และสารต่างๆที่รวมอยู่ด้วยกัน เช่น polyphosphate, lipid, หรือ polysaccharides เยื่อหุ้มเซลล์ติดกับไซโตพลาสซึมอาจเกิดเป็นมิโซโซม ซึ่งมักต่อกับโครงสร้างของผนังเซลล์ (ลลิตา, 2554)

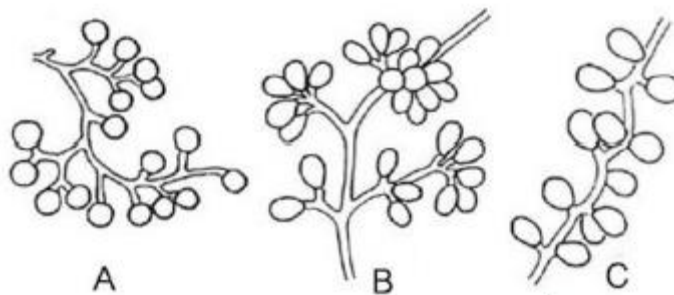
### 2.3.1.3 การสร้างสปอร์

#### การสร้างสปอร์ประเภทต่างๆ

การสร้างสปอร์ประเภทต่างๆแบ่งได้ 3 ประเภท ตามลักษณะโครงสร้างภายนอก คือ สปอร์เดี่ยว สายสปอร์ และสปอร์ภายในอัสสปอร์

- กลุ่มที่สร้างสปอร์เดี่ยว (Monosporus)

กลุ่มที่ผลิตสปอร์เดี่ยวเรียกว่า monosporous พบในหลายสกุล เช่นใน *Micromonospora* ก้านชูสปอร์ (sporophore) เกิดขึ้นบนสายใยอาหารสปอร์เจริญอยู่บนก้านชูขนาดสั้นการสร้างสปอร์เริ่มจากการโป่งพองบริเวณปลายของเส้นใยจากนั้นมีการสร้างผนังกันและสร้างเป็นผนังสปอร์ (Kawamoto, 1989) ปลายสุดของก้านชูสปอร์อาจแตกแขนงหรือไม่แตกแขนง การแตกแขนงของปลายก้านชูสปอร์ทำให้ *Thermomonospora* ที่สร้างสปอร์เดี่ยวตรงบริเวณปลายก้านชูสปอร์มีสปอร์อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม และอาจสร้างสปอร์บนเส้นใยอาหารด้วย *Saccharomonospora* มีการสร้างสปอร์เดี่ยวรูปไข่ที่ปลายเส้นใยอากาศ มีก้านชูสปอร์สั้นและไม่แตกแขนง อาจเรียกสปอร์เดี่ยวทั้งสามสกุลข้างต้นว่า Aleuriospores เพราะสปอร์เกิดจากปลายเส้นใยมีการโป่งออก (จามจุรี และคณะ, 2555)



รูปที่ 2.2 การสร้างสปอร์เดี่ยว (กึ่งจันท์, 2555)

A: *Micromonospora* B: *Thermomonospora* C: *Saccharomonospora*

- สปอร์ที่สร้างต่อกันเป็นเส้นสาย (spores formed in chains)

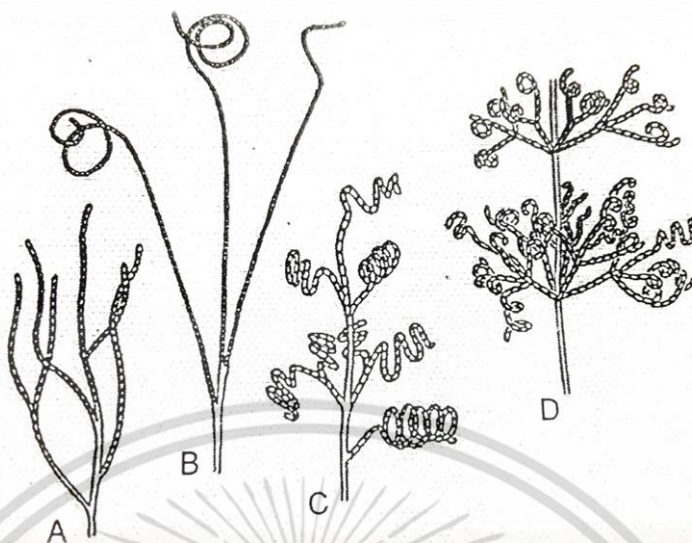
สามารถจำแนกลักษณะโดยพิจารณาจากรูปร่างตามความยาวหรือจำนวนของสปอร์ที่แบ่งได้ เช่น bisporous, oligosporous และ polysporous

สปอร์คู่ (bispore) ประกอบด้วยสปอร์คู่ต่อกันตามยาว เช่น สกุล *Microspora* มีสปอร์ทรงรี 2 สปอร์ เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 2 ไมโครเมตร อาจเกิดขึ้นบนเส้นใยอากาศหรือเกิดบนก้อนชูสปอร์สั้นๆ การสร้างสปอร์เริ่มจากการแยกตัวออกออกตามยาวจากเส้นใยอากาศเป็นกิ่งสั้นๆ จากนั้นมีการพองออกและสร้างผนังกันตรงกลาง (กึ่งจันท์, 2555)

แอคติโนมัยซีทที่มีการสร้างสปอร์เล็กน้อย (oligosporous) โดยมีการพัฒนาจากสปอร์สายสั้นๆ ส่วนมากพบ 7-10 สปอร์ต่อสาย อาจพบสปอร์มากถึง 30 สปอร์ เช่น *Nocardia brevicatena* สร้างสปอร์สายสั้นๆจำนวน 2-7 สปอร์ อยู่บนเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศ ก้านชูสปอร์และสายสปอร์มีการแตกแขนง มีการแตกหักของเส้นใยอาหารในสปีชีส์ *Saccharopolyspora rectivirgula* (Korn-Wendisch *et al.*, 1989)

จากความแตกต่างของสายสปอร์สามารถใช้เป็นมาตรฐานในการจัดหมวดหมู่ได้ 4 ลักษณะ คือ (Ettlinger *et al.*, 1958; Pridham *et al.*, 1958)

1. Rectiflexibiles ลักษณะของสายสปอร์ตรง
2. Retinaculiaperti ลักษณะสายสปอร์คล้ายขอเป็นวงเปิด หรือเกลียวซ้อนกัน 1-3 ชั้น
3. Spira ลักษณะสายสปอร์เป็นเกลียว
4. Verticillate ลักษณะสายสปอร์ขดเป็นก้นหอย และแตกแขนงออกเป็นข้อ

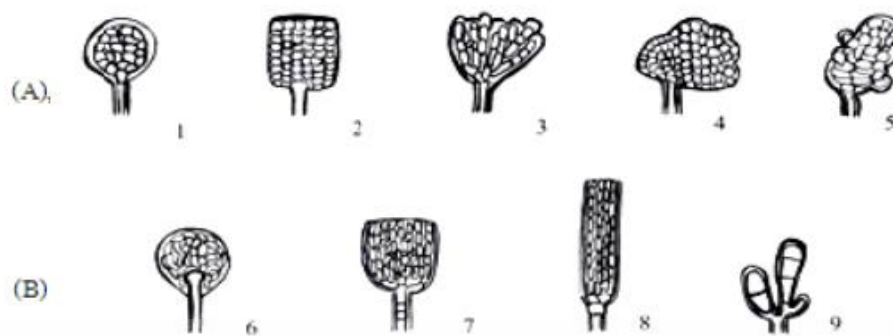


รูปที่ 2.3 ชนิดของสปอร์สายยาวแบบต่างๆ ที่สร้างโดยเชื้อแอคติโนมัยซีทสกุล *Streptomyces*  
(A) *Rectiflexibiles* (B) *retinaculiaperti* (C) *spira* (D) *verticillati* (นวลรัตน์, 2554)

- การสร้างสปอร์ในอับสปอร์ (sporangia/sporangium)

กลุ่มที่สร้างสปอร์ในอับสปอร์ มีหลายสกุลที่สร้างสปอร์ในอับสปอร์ ภายในอับสปอร์มีสปอร์อยู่มากมาย สามารถแบ่งกลุ่มที่สร้างอับสปอร์ได้เป็นสองกลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มที่สร้างอับสปอร์บนเส้นใยอาหาร และกลุ่มที่สร้างอับสปอร์บนเส้นใยอากาศ

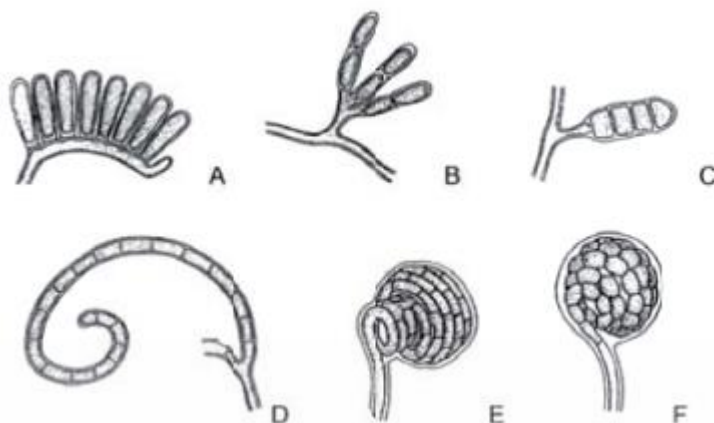
กลุ่มที่สร้างอับสปอร์บนเส้นใยอาหาร ประกอบด้วยสกุล *Actinoplans* อับสปอร์มีลักษณะทรงกลม หรือเกือบกลม จนถึงไม่เป็นรูปทรงที่แน่นอน มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5-15 ไมโครเมตร ยื่นขึ้นมาจากเส้นใยอาหาร และที่ปลายสุดของก้านชูอับสปอร์มีการแตกแขนงออกเป็นสายสปอร์หลายสายขดกันเป็นก้อนภายในผนังห่อหุ้ม บางสปีชีส์ในสกุล *Actinoplans* สร้างอับสปอร์รูปทรงระบอก ทรงขวดขนาดของอับสปอร์เฉลี่ยกว้าง 10 ไมโครเมตร ยาว 15 ไมโครเมตร ภายในอับสปอร์มีสปอร์เป็นรูปแท่งต่อกันเป็นสาย (Couch, 1963; Vobis, 1987) อีกสกุลที่มีการสร้างสปอร์ในอับสปอร์ คือ *Pilimelia* อับสปอร์สร้างขึ้นบนผิวของอาหาร มีรูปทรงระบอก ทรงกลม ขนาดประมาณ 10-15 ไมโครเมตร สปอร์เป็นรูปแท่งเรียงตัวเป็นแถวขนานกัน หรือวกวนไม่เป็นระเบียบ (Vobis, 1984) นอกจากนี้ยังมีอีกหลายสกุลที่มีการสร้างอับสปอร์ เช่น สกุล *Dactylosporangium* สกุลนี้มีการสร้างสปอร์แบบ Oligosporous คือ มีสปอร์ประมาณ 2-5 สปอร์ อยู่ในอับสปอร์ที่มีรูปร่างคล้ายนิ้ว (Vobis and Kothe, 1985)



รูปที่ 2.4 รูปทรงของอัสสปอร์ที่เจริญบนเส้นใยอาหาร (จามจรี และคณะ, 2555)

(A) *Actinoplans* : 1) ทรงกลม 2) ทรงกระบอก 3) เป็นพู่ 4) กิ่งทรงกลม 5) ไม่เป็นรูปทรง  
(B) *Pilimelia* : 6) ทรงรี 7) รูปทรงระฆัง 8) ทรงกระบอก 9) รูปทรงกระบอก

กลุ่มที่สร้างอัสสปอร์บนเส้นใยอากาศประกอบด้วยสกุล *Planomonospora* มีอัสสปอร์รูปทรงกระบอกภายในมีเพียง 1 สปอร์ (Vobis, 1986) สกุล *Planobispora* มีสปอร์คู่กันในอัสสปอร์ (Thieman *et al.*, 1968) สกุล *Planatetraspora* มีอัสสปอร์ทรงกระบอกยาวภายในมี 4 สปอร์ต่อกันเป็นหนึ่งแถว (Runmoa *et al.*, 1993) สกุล *Planopolyspora* มีสปอร์จำนวนมากในอัสสปอร์เมื่อโตเต็มที่อัสสปอร์จะเป็นแผ่นยาวประมาณ 30 ไมโครเมตร (Petrolini *et al.*, 1993) สกุล *Streptosporangium* ส่วนมากอัสสปอร์เป็นทรงกลมมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ไมโครเมตรและมีการสร้างผนังกันเป็นสปอร์เดี่ยวต่อกันเป็นสายยาวขดเป็นวงอยู่ในอัสสปอร์ (William and Sharples, 1976; Petrolini *et al.*, 1992) ปัจจุบันมีการแยกสกุล *Kutzneria* ออกจากสกุล *Streptosporangium* โดยพบว่าสกุล *Kutzneria* มีการสร้างอัสสปอร์ลูกกลมขนาดใหญ่เส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 48 ไมโครเมตรและมีผนังอัสสปอร์บางอยู่บนก้านชูสปอร์ยาวสกุล *Spirillospora* มีอัสสปอร์เป็นทรงกลมหรือรูปร่างเหมือนหนอน (vermiform) เส้นผ่าศูนย์กลาง 5-24 ไมโครเมตรสปอร์เรียงตัวเป็นสายแตกแขนงหรือเป็นวงสปอร์เป็นรูปแท่งและโค้งงอ (Vobis, 1986)



รูปที่ 2.5 รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนเส้นใยอากาศ (จามจุรี และคณะ, 2555)

- (A) สกุล *Planomonospora* : สร้าง Monospora รูปทรงระบอก  
 (B) สกุล *Planobispora* : สร้าง Disporous รูปทรงระบอก  
 (C) สกุล *Planotetraspora*: สร้าง Tetrasporous รูปทรงระบอก  
 (D) สกุล *Planopolyspora* : สร้าง Polysporous รูปทรงคล้ายท่อ  
 (E) สกุล *Spirillospora* : สร้าง Polysporous รูปทรงกลม  
 (F) สกุล *Streptosporangium* : สร้าง Polysporous รูปทรงกลม

#### 2.5.1.4 ลักษณะการเจริญบนอาหาร

ดูระยะการเจริญบนอาหารโดยจะดูลักษณะสีของเส้นใยอาหาร เส้นใยอากาศ และเม็ดสีที่ละลายในอาหาร ซึ่งเมลานิน (melanin) หรือเมลานอยด์ (melanoid) สามารถนำมาใช้ในการศึกษาทางอนุกรมวิธาน (taxonomical) สารประกอบเมลานินมีรูปร่างของโครงสร้างไม่แน่นอนมีสีน้ำตาลดำ (สุจรรยา, 2556)

### 2.3.2 ลักษณะทางชีวเคมี

#### 2.3.2.1 ความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน

แอคติโนมัยซีทแต่ละกลุ่มจะมีความต้องการอาหารที่แตกต่างกันไป อาหารเลี้ยงเชื้อจึงจำเป็นต้องมีแหล่งคาร์บอน ได้แก่ ดี-กลูโคส (D-glucose), ดี-ฟรุกโตส (D-fructose), มอลโตส (maltose), ดี-ไรโบส (D-ribose), ซูโครส (sucrose) เป็นต้น และแหล่งไนโตรเจน ได้แก่ อะดีนีน (adenine), กวานีน (guanine), ไฮโปแซนทีน (hypoxanthine) เป็นต้น เพื่อใช้ในการเจริญ (กิ่งจันทน์, 2555)

#### 2.3.2.2 ความสามารถในการย่อยโปรตีน

เอนไซม์โปรติเอส (protease) เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการ hydrolysis ในการตัดพันธะเปปไทด์ของโปรตีน (ลักษมี, 2556) การสร้างเอนไซม์ในการย่อยมีสองรูปแบบ ได้แก่ peptonization ย่อยโปรตีนในอาหารได้จะเปลี่ยนอาหารจากซุนเป็นใส และ coagulation อาหารมีการรวมกลุ่มกันหรือตกตะกอนเป็นก้อน (ลลิตา, 2554)

#### 2.3.2.3 ความสามารถในการรีดิวส์ไนเตรท

การสลายตัวของไนเตรทในอาหารที่มี  $\text{KNO}_3$  สามารถทดสอบได้โดยการหยด salfnic acid เขกสารนี้ก่อนแล้วตามด้วยสารละลาย  $\text{N,N-dimethyl-l-naphthlamine}$  (ลลิตา, 2554) ถ้ามีการเปลี่ยนไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไนเตรทไปเป็นไนไตรท์ อาหารจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูจนถึงสีแดง แต่ถ้าการทดสอบไม่เกิดสีแดงอันเนื่องมาจากไนเตรทเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนีย และก๊าซไนโตรเจน (นวลรัตน์, 2554)

#### 2.3.2.4 ความสามารถในการย่อยแป้ง

เอนไซม์ที่แอกติโนมัยซีทสามารถผลิตได้มีหลายชนิดได้แก่ xylanase, cellulase, amylase และ chitinase เป็นต้นเอนไซม์ amylase ที่มีคุณสมบัติในการย่อยแป้ง แบคทีเรียในกลุ่มนี้มีหลายชนิดที่สามารถผลิต amylase ได้ ได้แก่ *Micromonospora*, *Nocardia* และ *Streptomyces* (กิ่งจันทร์, 2555)

#### 2.3.2.5 ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ

แบคทีเรียสามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิได้แตกต่างกันแบ่งกลุ่มของแบคทีเรียตามความต้องการช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญได้ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ (psychrophile) กลุ่มที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophile) และกลุ่มที่เจริญได้ที่อุณหภูมิสูง (thermophile) (สุณัฐฐา, 2558)

#### 2.3.2.6 ความสามารถในการเจริญที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง

เชื้อบางชนิดมีความทนกรด-ด่างไม่เท่ากัน ดังนั้นจึงนำมาใช้จัดจำแนกและจัดกลุ่มของเชื้อแอกติโนมัยซีทเบื้องต้น (รัชยา, 2556)

#### 2.3.2.7 ความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ

สามารถบอกถึงคุณสมบัติการเจริญในสภาวะที่มีระดับเกลือต่างๆ รวมทั้งบอกถึงสภาวะของการเจริญเติบโตของเชื้อชนิดนั้นๆด้วย (รัชยา, 2556)

### 2.4 การจัดจำแนกประเภทของแอกติโนมัยซีท

แอกติโนมัยซีทถูกจัดจำแนกออกเป็นกลุ่มโดยใช้ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology เล่มที่ 4 (Williams, 1989) โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ แบ่งออกเป็น 8 กลุ่มดังนี้

#### 2.4.1 Nocardioform

เป็นกลุ่มที่เส้นใยมีการแตกหักเป็นแท่งหรือกลม บางชนิดสร้างโคโคนิเดีย แอกติโนมัยซีทกลุ่มนี้ทุกสกุลเป็นพวกที่ต้องการอากาศ ยกเว้นสกุล *Oerskovia* ที่ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อยในการเจริญ เชื้อในกลุ่มนี้มีผนังเซลล์แบบ LL-DAP ในสกุล *Nocardia* และ *Rhodococcus* จะพบกรดไมโคลิก (mycolic acid) ในผนังเซลล์ และพบน้ำตาลภายในเซลล์เป็นอะราบิโนส และกาแล็คโตส

#### 2.4.2 Multilocularsporangia

แอกติโนมัยซีทกลุ่มนี้มีทั้งหมด 3 สกุล ได้แก่ *Dermatophilus*, *Geodermatophilus* และ *Frankia* ทั้ง 3 สกุลนี้ไม่พบการสร้างเส้นใยอากาศ

#### 2.4.3 Actinoplanetes

แอกติโนมัยซีทในกลุ่มนี้มีทั้งหมด 5 สกุล ได้แก่ *Actinoplanes*, *Ampullariella*, *Pilimelia*, *Dactylosporangium* และ *Micromonospora* เชื้อในกลุ่มนี้ส่วนมากอยู่ในน้ำ เพราะเป็นกลุ่มที่มีสปอร์เคลื่อนที่ได้ในน้ำในช่วงหนึ่งของวงจรชีวิต ยกเว้นสกุล *Micromonospora* เชื้อในกลุ่มนี้มีผนังเซลล์แบบ Meso-DAP และ OH-DAP มีน้ำตาลในเซลล์คือน้ำตาลไซโลส และอะราบิโนส

*Micromonospora* สร้างสปอร์แบบไม่เคลื่อนที่ เกิดขึ้นเดี่ยวๆ ไม่มีก้านหรือมีเพียงสั้นๆ มักพบรวมกันเป็นกลุ่ม มีลักษณะกลม รูปไข่ หรือวงรี ผนังหนา บางครั้งพบตุ่มหรือหนามที่ผนัง

#### 2.4.4 Streptomycetes และสกุลที่ใกล้เคียง

แอกติโนมัยซีทในกลุ่มนี้มีทั้งหมด 4 สกุล ได้แก่ *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Kineosporia* และ *Sporichthya* เส้นใยเป็นแบบมีผนังกั้น มีการสร้างเส้นใยอากาศ เมื่อเจริญเต็มที่ จะสร้างสปอร์เป็นลูกโซ่ มีจำนวนสปอร์ตั้งแต่ 3 ขึ้นไป พิวโคโลนีนจะมีลักษณะย่นๆ เมื่อมีอายุมากขึ้น ที่ผิวหน้าของเส้นใยจะมีลักษณะเป็นฝุ่นผง เชื้อในกลุ่มนี้มี DAP ที่ผนังเซลล์เป็นแบบ LL-DAP

#### 2.4.5 Maduromycetes

แอกติโนมัยซีทในกลุ่มนี้มีทั้งหมด 7 สกุล ได้แก่ *Microbispora*, *Microtetraspora*, *Actinomadura*, *Planobispora*, *Planomonospora*, *Spirillospora* และ *Streptosporangium* กลุ่มนี้ต้องการอากาศในการเจริญ สร้างเส้นใยราบมีการแตกแขนงไม่มีสปอร์ มีแต่เส้นใยชูขึ้นมาในอากาศ ผนังเซลล์เป็นแบบ Meso-DAP พบน้ำตาลภายในเซลล์ ได้แก่ น้ำตาลมาตูโรส

#### 2.4.6 Thermomonospora และสกุลใกล้เคียง

แอกติโนมัยซีทกลุ่มนี้มีทั้งหมด 4 สกุล ได้แก่ *Thermomonospora*, *Actinosynnema*, *Nocardiopsis* และ *Streptoalloteichus* กลุ่มนี้ต้องการอากาศในการเจริญ และสร้างสปอร์อยู่บนเส้นใยที่แตกกิ่งก้านชูขึ้นในอากาศ ผนังเซลล์เป็นแบบ Meso-DAP ไม่มีกรดไมโคลิก (mycolic acid) แต่มี เมนาควิโนน (menaquinone) ที่มีไอโซพรีนอยด์ (isoprenoid) จำนวน 9-10 หน่วย (MK-9, MK-10) การเรียงตัวและลักษณะของสปอร์จะแตกต่างกันไปตามแต่ละสกุล

#### 2.4.7 Thermoactinomycetes

กลุ่มนี้มีเพียง 1 สกุล ได้แก่ *Thermoactinomyces* ซึ่งเป็นพวกที่เจริญได้ที่อุณหภูมิสูง มีปริมาณกาวินและไฮโดรซินต่ำกว่าพวกแอกติโนมัยซีททั่วไป มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับพวก *Bacillus* แต่มีสัณฐานวิทยาที่ต่างจากพวก *Bacillus* กลุ่มนี้ยังสามารถสร้างเส้นใยอากาศ (aerial mycelium) เช่น *T. Dichotomus* มีเส้นใยอากาศสีเหลือง ส่วนพวกอื่นจะมีสีขาวทุกสปีชีส์ ผนังเซลล์กลุ่มนี้เป็นแบบ Meso-DAP ไม่พบน้ำตาลและกรดอะมิโนภายในเซลล์ พบเมนาควิโนน (menaquinone) แบบไม่อิ่มตัว เช่น MK-7 หรือ MK-9

#### 2.4.8 กลุ่มอื่น ๆ

แอกติโนมัยซีทในกลุ่มนี้มีทั้งหมด 4 สกุล ได้แก่ *Glycomyces*, *Kibdelosporangium*, *Kitasatospora* และ *Saccharothrix* เป็นกลุ่มที่ยังหาความสัมพันธ์กับแอกติโนมัยซีทกลุ่มอื่นไม่ได้

### 2.5 แอกติโนมัยซีทหายาก (Rare actinomycetes)

ในแหล่งธรรมชาติ *Streptomyces* เป็นสายพันธุ์ที่โดดเด่นของ actinobacteria แอกติโนมัยซีทหายาก ค่อนข้างที่จะยากในการแยก เพาะเลี้ยงและรักษา เนื่องจากความยากลำบากในการรักษาและการเลียนแบบสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติ แอกติโนมัยซีทหายาก ได้รับการพิจารณาเป็น actinobacteria ในอัตราลดลงเมื่อเทียบกับการแยกสายพันธุ์ *Streptomyces* โดยใช้วิธี conventional isolation methods เนื่องจากความต้องการของการใช้วิธีการแยกที่เหมาะสมและการใช้เงื่อนไขตัวเลือกที่แตกต่างกันการแยกแอกติโนมัยซีทหายาก แน่นอนว่าสามารถเพิ่มโอกาสของการค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพใหม่ๆ (Azman *et al.*, 2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอกติโนมัยซีทหายาก หรือ Rare actinomycetes (non-*Streptomyces* group) คือ แอกติโนมัยซีทที่นอกเหนือจากสกุล *Streptomyces* แอกติโนมัยซีทหายากประกอบด้วย 5 แฟมิลี ได้แก่ *Micromonosporaceae*, *Streptosporangiaceae*, *Pseudonocardiaceae*, *Thermomonosporaceae* และ Other (unclassified) species (ลลิตา, 2554)

### 2.5.1 แฟมิลี *Micromonosporaceae*

แฟมิลี *Micromonosporaceae* ประกอบด้วยสกุล *Micromonospora*, *Actinoplanes*, *Dactylosporangium*, *Pilimelia*, *Catenuloplanes*, *Couchiplanes*, *Catellotospora* ซึ่งอธิบายโดย Stackebrandt *et al.* ในปี 1997 นอกจากนี้ยังมี *Spirilliplanes* (Tamura, 1977) และ *Verrucosispota* (Rheims *et al.*, 1998)

### 2.5.2 แฟมิลี *Streptosporangiaceae*

แฟมิลี *Streptosporangiaceae* ประกอบด้วยสกุล *Amophosporangium*, *Ampullariella*, *Dactylosporangium*, *Kitasatoa*, *Pilimelia*, *Planobispota*, *Planomonospora* และ *Spirillospora* (Couch and Bland, 1974)

### 2.5.3 แฟมิลี *Pseudonocardiaceae*

แฟมิลี *Pseudonocardiaceae* ประกอบด้วย *Actinopolyspora*, *Amycolata*, *Amycolapsis*, *Kibdelosporangium*, *Pseudonocardia*, *Saccharopolyspora* และ *Saccharomonospora* (Bowen *et al.*, 1989; Embley *et al.*, 1988)

### 2.5.4 แฟมิลี *Thermomonosporaceae*

แฟมิลี *Thermomonosporaceae* ประกอบด้วยสกุล *Actinomodura* (Lechevalier and Lechevalier, 1970), *Actinocorallina* (Iiluma *et al.*, 1994), *Spirillospora* (Couch, 1963) และ *Thermomonospora* (Henssen, 1957)

### 2.5.5 แฟมิลี other (unclassified) species

แฟมิลีอื่นๆ ประกอบด้วยสกุล *Frankia* และ *Salinispora* ในประเทศไทยมีรายงานการพบสปีชีส์ใหม่ของแอกติโนมัยซีทหายากของสองสกุล ได้แก่ สกุล *Micromonospora* (Thawai *et al.*, 2004, 2005, 2007, 2008; Jongrungranchok *et al.*, 2008) และ สกุล *Microbispota* (Nakajima *et al.*, 1999)

## 2.6 นิเวศวิทยาของแอกติโนมัยซีท

2.6.1 สภาพดินที่พบแอกติโนมัยซีทพบทั่วไปทั้งในดินน้ำอากาศโคลนมูลสัตว์อากาศและในพืช แหล่งที่พบมาก ได้แก่ บริเวณที่มีการสะสมสารอินทรีย์ เช่น ดินที่เพาะปลูกวัชพุ่มเน่าเปื่อยโคลนตะกอนใต้แม่น้ำใต้ทะเลดินบริเวณน้ำพุร้อนหรือป่าชายเลนแอกติโนมัยซีทจะพบมากในดินชั้นบนและจะลดจำนวนลงในชั้นดินที่ลึกถึงพบแอกติโนมัยซีทมากกว่า 100 สกุลในดินที่ค่อนข้างเป็นกลางหรือมีความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 6.5-8.0 นอกจากนี้ยังพบมากในดินรอบรากพืช (rhizosphere) (Holt *et al.*, 1994)

2.6.2 การทนความแห้งแล้ง เนื่องจากความสามารถในการทนความแห้งแล้งได้ดี จึงพบแอกติโนมัยซีทในดินเขตร้อนมากกว่าเขตอบอุ่น โดยสภาพดินแห้งจะมีจำนวนมาก (กิ้งจันทน์, 2555)

2.6.3 การทนความร้อน พบว่าสปอร์ของ thermophilic actinomycetes สามารถทนอุณหภูมิสูงได้ ซึ่งสปอร์จะทนความร้อนแห้งได้ดีกว่าสปอร์ที่อยู่ในสารละลายซูโครส เช่น สปอร์

*Thermoactinomyces vulgaris* ที่อยู่ในสารละลายซูโครสสามารถทนอุณหภูมิสูงสุดได้ 100 °C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ส่วนสปอร์ที่ความร้อนแห้งสามารถทนอุณหภูมิสูงสุดได้ 100 °C เป็นเวลา 15 ชั่วโมง (Fergus, 1967)

2.6.4 ความสามารถในการแข่งขันจากลักษณะการเจริญของแอกติโนมัยซีทที่ช้ากว่าแบคทีเรียและเชื้อรา ทำให้ไม่สามารถที่จะแข่งขันกับจุลินทรีย์อื่นได้ในสภาพธรรมชาติ แต่แอกติโนมัยซีทมีความสามารถพิเศษในการย่อยสลายสารประกอบที่แบคทีเรียและเชื้อราไม่สามารถย่อยสลายได้ จึงพบแอกติโนมัยซีทที่มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นหลังจากที่จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ มีจำนวนลดลงแล้ว สภาพที่เหมาะสมกับแอกติโนมัยซีทคือสภาพที่ไม่มีจุลินทรีย์ชนิดอื่นเจริญได้ เช่น ดินที่ค่อนข้างเป็นด่าง แห้งแล้ง และอุณหภูมิสูง เป็นต้น (กัจจันท์, 2555)

## 2.7 Extremophilic/Extremotolerant Actinobacteria

แอกติโนมัยซีทเป็นที่รู้จักกันดีว่าไม่ได้เกิดขึ้นในสภาพแวดล้อมปกติเพียงเท่านั้น แต่ยังสามารถอยู่ในสภาพแวดล้อมที่รุนแรงได้ เช่น ความเป็นกรด/ด่าง ค่า pH อุณหภูมิต่ำหรือสูง ความเค็ม กัมมันตภาพรังสีสูง ระดับความชื้นต่ำ และสารอาหาร ความหลากหลายทางสรีรวิทยาและการปรับเปลี่ยนเมตาบอลิซึมของ extremophilic และ extremotolerant actinobacteria ทำให้สามารถเจริญภายใต้สภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ แอกติโนมัยซีทที่อยู่ในสภาพแวดล้อมรุนแรงที่ได้รับการบันทึกไว้ จำนวนหลายสายพันธุ์มีความแตกต่างจากความโดดเด่นของแอกติโนมัยซีทที่อาศัยอยู่ในดินและน้ำจืด มีข้อมูลจำนวนมากที่รายงานเกี่ยวกับการแอกติโนมัยซีทที่แยกได้จากสภาพแวดล้อมปกติ (ค่า pH เป็นกลาง และมีอุณหภูมิระหว่าง 20-40 องศาเซลเซียส) แต่มีงานวิจัยเพียงเล็กน้อยเท่านั้นที่ศึกษาถึงความหลากหลายของแอกติโนมัยซีทในสภาพแวดล้อมที่รุนแรง เช่น บทบาทและการปรับตัวของแอกติโนมัยซีทในระบบนิเวศ สายพันธุ์ของแอกติโนมัยซีทที่เป็น polyextremophiles และ polyextremotolerant จะสามารถดำรงชีวิตอยู่ในสภาพแวดล้อมที่รุนแรงได้ polyextremophiles สามารถปรับตัวให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย ซึ่งประกอบด้วย alkalithermophilic, thermoacidophilic, thermophilicradiotolerant, haloalkaliphilic และ thermoalkalitolerant actinobacteria สภาวะรุนแรงโดยตำแหน่งที่ตั้งทางภูมิศาสตร์ เช่น มหาสมุทรอาร์กติก มหาสมุทรแอนตาร์กติก น้ำพุร้อน และทะเลทราย (Shivlata and Satyanarayana, 2015)

## 2.8 Thermophilic และ Thermotolerant actinobacteria

thermophilic actinobacteria เจริญเติบโตที่อุณหภูมิค่อนข้างสูง ระหว่าง 40-80 องศาเซลเซียสพบได้ทั่วไปในฟางรา, กากของพืชที่เกิดความร้อนได้เอง, เมล็ดธัญพืช, ชานอ้อย, ผักที่เน่าเปื่อย และกองปุ๋ยหมัก ซึ่งมีอยู่ 2 ชนิด ได้แก่ แอกติโนมัยซีทที่เจริญได้ที่อุณหภูมิสูงเท่านั้น (strictly thermophilic actinobacteria) สามารถเจริญในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 37-65 องศาเซลเซียส แต่การเจริญที่เหมาะสมจะเกิดขึ้นที่ 55-60 องศาเซลเซียส ส่วนอีกชนิดคือ แอกติโนมัยซีทที่เจริญที่อุณหภูมิสูงปานกลาง (moderately thermophilic actinobacteria) สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 28-60 องศาเซลเซียสการเจริญที่เหมาะสมอยู่ที่อุณหภูมิ 45-55 องศาเซลเซียส อีกกลุ่มหนึ่งที่ยังไม่รู้จักกัน คือ แอกติโนมัยซีทที่ทนอุณหภูมิสูง (thermotolerant actinobacteria) สามารถอยู่รอดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสขึ้นไป (Kurapova *et al.*, 2012)

## ด้านสรีรวิทยา

thermophilic actinobacteria เจริญได้ที่มีอากาศเท่านั้น และส่วนใหญ่ใช้สารอินทรีย์ในธรรมชาติเป็นแหล่งพลังงาน (obligate chemoorganotrophs) และเจริญบนวัตถุอินทรีย์ที่เน่าเปื่อย (ซากพืช ซากสัตว์) แต่ thermophilic actinobacteria บางชนิด เช่น *Streptomyces thermoautotrophicus* และ *Acidithiobacillus* sp. ใช้การสังเคราะห์เคมีภายในเซลล์ (obligate chemoautotrophs) เจริญในที่ที่มี  $\text{CO}_2 + \text{H}_2$  และซัลเฟอร์เท่านั้น การสร้างอาหารแบบอื่น เช่น facultative chemoautotrophy (*Streptomyces* สายพันธุ์ G26) และ facultative methylotrophy (*Amycolatopsis methanolica*) การมีเมตาบอลิซึมที่หลากหลายนั้น ส่งเสริมการเพิ่มจำนวนของ thermophilic actinobacteria สามารถพบในสภาวะแวดล้อมธรรมชาติเป็นหลัก ผลิตภัณฑ์ที่ทนร้อนและเสถียรที่อุณหภูมิสูงขึ้นไปเป็นเวลานานในบางกรณี ซึ่งแสดงให้เห็นถึงข้อได้เปรียบทางระบบนิเวศที่เหนือกว่าแบคทีเรียอื่นๆ (Shivlata and Satyanarayana, 2015)

## 2.9 คุณสมบัติลักษณะของ Thermophilic และ Thermotolerant Actinobacteria

Thermophilic และ thermotolerant actinobacteria ทั้งหมดยกเว้นพวก *Amycolatopsis*, *Rubrobacter*, *Ferrithrix*, *Acidothermus*, *Aciditerrimonas*, *Acidimicrobium* และ *Thermoleophilum* สร้างสปอร์ได้ โดยส่วนใหญ่เป็น non-acid fast ไม่เคลื่อนที่ และใช้อากาศได้ ยกเว้นยีส *Amycolatopsis* ซึ่งสามารถใช้อากาศได้และเจริญได้ทั้งสภาวะที่มีหรือไม่มีอากาศ เป็นแบคทีเรียแกรมบวกทั้งหมดยกเว้น *Thermoleophilum* sp., *Ferrithrix* sp. และสปีชีส์ *S. viridis* ของยีส *Saccharomonospora* thermophilic actinobacteria นั้นได้รับการตรวจสอบอย่างถูกต้องหลังจากมี polyphasic taxonomy องค์ประกอบของผนังเซลล์ (peptidoglycan) เป็นหนึ่งในคุณลักษณะที่สำคัญของการจัดจำแนกยีสที่เฉพาะเจาะจง (Shivlata and Satyanarayana, 2015) โดยจำแนกจากกรดอะมิโนและน้ำตาลของผนังเซลล์แอกติโนมัยซีท แบ่งออกเป็น 4 ประเภทหลัก ได้แก่ type-I [LL-DAP (diaminopimelic acid) และ glycine], type-II [amino acids (meso-DAP และ glycine) และ sugars (arabinose และ xylose)], type-III (meso-DAP มีหรือไม่มี madurose), type-IV (meso-DAP, arabinose และ galactose) และผนังเซลล์อื่นๆเป็น type V-X (ยิวดี, 2546) thermophilic actinobacteria ส่วนใหญ่มีผนังเซลล์ type-III ในขณะที่บางส่วน พวก *Saccharomonospora*, *Saccharopolyspora* และ *Amycolatopsis* ที่เป็นที่ยูจกประกอบด้วยผนังเซลล์ type-IV มีเพียงสายพันธุ์ของยีส *Streptomyces* เท่านั้นที่มีผนังเซลล์เป็น type-I การพิจารณาองค์ประกอบอื่นๆของเซลล์สำหรับการจัดจำแนกทาง chemotaxonomic ประกอบไปด้วย phospholipids, fatty acids, mycolic acid, menaquinones type และ GC content (% mol) (Shivlata and Satyanarayana, 2015)

## 2.10 การแยกแอกติโนมัยซีทจากดิน

แอกติโนมัยซีทแต่ละกลุ่มจะมีความต้องการอาหารที่แตกต่างกันไปอาหาร Actinomycete isolation agar ใช้เป็นอาหารสำหรับการคัดแยกเชื้อโดยทั่วไปส่วนวิธีการแยกเชื้อและอาหารที่ใช้ในการแยกเชื้อเฉพาะกลุ่มจะมีความแตกต่างกันของวิธีการและส่วนประกอบของอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง เช่น การคัดแยกเชื้อในสกุล *Streptomyces* ซึ่งเป็นแอกติโนมัยซีทที่สามารถใช้อาหารได้หลายชนิด ควรจะต้องมีโคตินแป็งกลีเซอรอลอาร์จินินแอสปาราจिनเคซีนและไนเตรทเป็นแหล่งคาร์บอนและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไนโตรเจน เพื่อการเจริญและจะต้องมีการเติมสารแอนติไบโอติกในอาหารเพื่อฆ่าเชื้อราในความเข้มข้น 50-100 ไมโครกรัมต่อลิตร เช่น cycloheximide หรือ nystatin และควรบ่มจานเพาะเลี้ยงไว้นาน 14 วันก่อนหมัก 25-30 องศาเซลเซียส การแยกเชื้อแอสโคดีโนไมซีที่หายากจะต้องมีการนำดินตัวอย่างไปทำ pre-treatment ด้วยวิธีการต่างๆก่อนที่จะนำดินนั้นมาทำการคัดแยกเพื่อเป็นการกำจัดแบคทีเรียและเชื้อราในดินออกบ้างขณะเดียวกันก็เป็นการลดจำนวนเชื้อแอสโคดีโนไมซีที่ไม่ต้องการลงและกระตุ้นการงอกของสปอร์แอสโคดีโนไมซีที่อยู่ในระยะพักให้พร้อมที่จะเจริญขึ้น (รัตนภรณ์ และคณะ, 2548)

## 2.10.1 ปัจจัยที่ควรคำนึงถึงในการแยกเชื้อ

### 2.10.1.1 แหล่งอาศัยของเชื้อและการเก็บรักษาตัวอย่าง

แหล่งของตัวอย่างที่เก็บถือเป็นปัจจัยแรกสุดที่ทำให้ได้เชื้อในกลุ่มที่ต้องการ ทั้งนี้ปัจจัยต้องทราบข้อมูลการกระจายตัวของเชื้อที่ต้องการทำการศึกษบ้าง เพื่อเพิ่มโอกาสในการแยกเชื้อนั้นๆ แอสโคดีโนไมซีที่มีการกระจายตัวอยู่ในสิ่งแวดล้อมทั่วไป ทั้งดิน น้ำ ตะกอนใต้น้ำ ทะเล ทะเลทราย เนื้อเยื่อพืช สัตว์ มนุษย์ ตลอดจนของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม แต่มักพบในดินเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งตัวอย่างดินในเขตร้อนชื้นและกึ่งร้อนชื้นมีความหลากหลายของแอสโคดีโนไมซีมากกว่าเขตอบอุ่นที่เป็นภูเขาและมีหิมะปกคลุม นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนแอสโคดีโนไมซีจะลดลงเมื่อความอุดมสมบูรณ์ของดินลดลง (Xu *et al.*, 1996) ประเภทของดินที่มักพบแอสโคดีโนไมซีได้บ่อย คือ ดินร่วนที่อุดมไปด้วยสารประกอบอินทรีย์ เช่น บริเวณที่มีการทับถมของซากพืช เช่นเดียวกันกับแอสโคดีโนไมซีกลุ่ม *Streptomyces* เชื้อในกลุ่มแอสโคดีโนไมซีหายากก็มักจะกระจายตัวอยู่ตามดินร่วนชื้นที่มีธาตุอาหารอุดมสมบูรณ์หรือดินในแหล่งเพาะปลูกที่อุดมไปด้วยฮิวมิคหรือดินที่เป็นกรดอ่อน (pH 5-6) ดังนั้นหากต้องการเก็บตัวอย่างดินเพื่อให้ได้เชื้อที่มีความหลากหลายควรเก็บดินในป่าธรรมชาติที่มีความอุดมสมบูรณ์ มีการทับถมกันของซากพืชเป็นเวลานาน หลังจากเก็บตัวอย่างดินแล้ว หากเป็นไปได้ควรทำการแยกเชื้อทันที หรือไม่ควรเก็บตัวอย่างดินที่ 4 องศาเซลเซียส และทำการแยกเชื้อภายใน 1-2 สัปดาห์หลังจากเก็บตัวอย่าง (จิตติ, 2557)

### 2.10.1.2 อาหารที่ใช้ในการแยกเชื้อ

การเลือกอาหารที่ทำการแยกแอสโคดีโนไมซีที่ต้องการจัดเป็นปัจจัยที่สำคัญปัจจัยหนึ่ง โดยทั่วไปอาหารที่ใช้สำหรับแยกแอสโคดีโนไมซีนั้นมีมากมายหลายชนิด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อแต่ละกลุ่มและเป็นอาหารที่มีสารอาหารน้อย [ส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยธาตุอาหารรอง (Trace-salts element)] ทั้งนี้เพื่อให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆเจริญได้ไม่ดีอาหารที่เหมาะสมในการแยกแอสโคดีโนไมซีที่นิยมใช้กันมาก คือ Humic acid-Vitamins Agar (HV) agar (Hayawa and Nonomura, 1987) อาหารชนิดนี้อุดมไปด้วยฮิวมิค (humic acid) ซึ่งเป็นสารที่อยู่ในฮิวมิค (humus) และมีสารในกลุ่มวิตามิน บี (B vitamins) ซึ่งเป็นสารที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อ

ข้อดีของอาหาร Humic acid-Vitamins Agar (HV) agar

1. ช่วยลดปริมาณของเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่ไม่ใช่แอสโคดีโนไมซี
2. ป้องกันการแผ่ขยายของโคโลนี: แอสโคดีโนไมซีโดยเฉพาะสกุล *Streptomyces* มักสร้างเส้นใยที่มีการแผ่ขยายในวงกว้าง ทำให้โคโลนีไปบดบังและปกคลุมแอสโคดีโนไมซีชนิดอื่น อาหาร Humic acid-Vitamins Agar (HV) agar มีส่วนช่วยให้โคโลนีของแอสโคดีโนไมซีรวมตัวเป็นกลุ่มก้อน แข็ง ดังนั้นเส้นใยจึงแผ่อยู่ในวงจำกัดไม่ไปบดบังหรือปกคลุมโคโลนีของเชื้อสกุลอื่น ทำให้ง่ายต่อการ

แยกเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ช่วยส่งเสริมการสร้างสปอร์ของแอคติโนมัยซีท ทำให้ง่ายต่อการสังเกตการเรียงตัวของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งเป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจำแนกเชื้อเบื้องต้น (Suzuki *et al.*, 1999)

นอกจากอาหาร Humic acid-Vitamins Agar (HV) agar แล้วอาหารสำหรับการแยกแอคติโนมัยซีทชนิดอื่นที่นิยมใช้ ได้แก่ Arginine-vitamins agar (AV) agar (Nonomura and Ohara, 1969) Soi extract agar Starch casein nitrate agar Zhang's Starch Soil Extract (ZSSE) agar (Zhang, 2011) เป็นต้น

#### 2.10.1.3 สารปฏิชีวนะที่ใช้

สารปฏิชีวนะที่ใส่ลงอาหารแยกเชื้อนั้นมีหน้าที่ช่วยกำจัดหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการออกไป เพื่อเพิ่มโอกาสในการแยกเชื้อได้ดีขึ้น เนื่องจากแอคติโนมัยซีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่เจริญเติบโตช้า ดังนั้นสารปฏิชีวนะที่นิยมใส่ในอาหารมักเป็นสารที่ใช้ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ เช่น nystatin 25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ cycloheximide 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (Takizawa *et al.*, 1993) สำหรับการลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย มีการใช้ nalidixic acid 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ninazol 50 มิลลิกรัมต่อลิตร (Ruttanasutja and Pathom-aree, 2015) นอกจากนี้สารปฏิชีวนะยังสามารถใช้คัดแยกแอคติโนมัยซีทหายากเฉพาะกลุ่มได้ เช่น การใช้ tunicamycin สำหรับการแยกเชื้อสกุล *Micromonospora* การใช้ Gentamicin สำหรับการแยกเชื้อสกุล *Streptosporangium*, *Actinomadura*, *Micromonospora* การใช้ Novobiocin สำหรับการแยกเชื้อสกุล *Actinoplanes*, *Thermoactinomyces* (Khanna *et al.*, 2011) การใช้สารปฏิชีวนะหลายชนิดร่วมกันสามารถใช้แยกแอคติโนมัยซีทระดับสกุลหรือระดับสปีชีส์ที่จำเพาะได้

สำหรับสารปฏิชีวนะชนิดอื่นที่มีรายงานตามวารสารวิชาการต่าง ๆ นั้นผู้เขียนเห็นว่าไม่มีความจำเป็นอย่างไร อีกทั้งมีราคาสูง จากประสบการณ์ของผู้เขียน สารปฏิชีวนะที่ควรใช้ คือ สารปฏิชีวนะในกลุ่มยับยั้งการเจริญของเชื้อรา เช่น นิสเตตินและไซโคลเฮกซิเมด เพียงพอแล้ว และควรหลีกเลี่ยงการใช้สารปฏิชีวนะทุนิคามัยซิน เนื่องจากเป็นสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญของแอคติโนมัยซีทบางสกุล เช่น *Microbispora* ได้ สำหรับกรดนาลิซิดิก เป็นสารปฏิชีวนะชนิดหนึ่งที่นิยมใส่ในอาหารแยกแอคติโนมัยซีท สารนี้เป็นสารปฏิชีวนะในกลุ่มควิโนโลน (quinolone) ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งแกรมลบและแกรมบวก (ส่งผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่า) หากใช้ความเข้มข้นมากเกินไปอาจส่งผลต่อการเจริญของทั้งแอคติโนมัยซีทเซลล์เดี่ยวและเส้นสายบางชนิดได้ ดังนั้นหากจำเป็นต้องใส่ควรใช้ความเข้มข้นไม่เกิน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร (จิตติ, 2557)

#### 2.10.1.4 สภาพที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ

**อุณหภูมิ:** อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 25-30 องศาเซลเซียส ส่วนใหญ่เป็นพวก mesophile เจริญได้ดีที่ 25-40 องศาเซลเซียสบางสายพันธุ์เป็น thermophile สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง 45-60 องศาเซลเซียส (Alexander, 1977)

**ความเป็นกรด-ด่าง:** แอคติโนมัยซีทสามารถเจริญได้ดีในพีเอชที่เป็นกลาง พีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ระหว่าง 6-8 เมื่อพีเอชต่ำกว่า 6 มีผลทำให้โคโลนีมีขนาดเล็ก และไม่มีการสร้างเส้นใยอากาศเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็ง (ชัยสิทธิ์, 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**เวลา :** แอคติโนมัยซีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่เจริญเติบโตช้าโดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มแอคติโนมัยซีทหายาก ระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการแยกเชื้อเหล่านี้อยู่ที่ประมาณ 21 วัน บางกลุ่มอาจใช้เวลามากกว่า 30 วันในการเจริญ ด้วยเหตุนี้จึงเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ โดยเฉพาะเชื้อรา (จิตติ, 2557)

#### 2.10.1.5 เทคนิคจำเพาะต่อการแยกแอคติโนมัยซีทสกุลต่างๆ

แอคติโนมัยซีทเป็นแบคทีเรียที่พบอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะในดิน ดินนอกจากจะมีแอคติโนมัยซีทแล้ว ยังมีจุลินทรีย์ชนิดอื่นอีกหลายชนิดอาศัยอยู่ เช่น แบคทีเรียชนิดอื่น เชื้อรา และโปรโตซัว โดยสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ทำให้เกิดความสมดุลของระบบนิเวศ ด้วยเหตุนี้ในดินมีสิ่งมีชีวิตอยู่หลายชนิด ดังนั้นการคัดแยกแอคติโนมัยซีทจำเป็นต้องทำการกำจัดเชื้อชนิดอื่นก่อน ด้วยคุณสมบัติพิเศษของแอคติโนมัยซีทที่แตกต่างจากสิ่งมีชีวิตทั่วไป คือ สามารถสร้างสปอร์ที่ทนต่อความแห้งแล้ง ทนต่อความร้อน และทนต่อสารเคมีได้ (Miyadoh, 1997) คุณสมบัติเหล่านี้จึงถูกนำมาใช้เป็นปัจจัยหลักเพื่อแยกแอคติโนมัยซีทออกจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น

ในบรรดาแอคติโนมัยซีทที่พบในสิ่งแวดล้อมต่างๆ เชื้อสกุล *Streptomyces* เป็นแอคติโนมัยซีทที่พบได้มากที่สุด เนื่องจากเชื้อสกุลนี้เจริญเติบโตง่ายและรวดเร็ว ทำให้เกิดการแย่งและบดบังการเจริญของแอคติโนมัยซีทสกุลอื่นๆ ดังนั้นจำเป็นต้องมีการนำเทคนิคต่างๆมาใช้ในการคัดแยกแอคติโนมัยซีทหายาก เช่น เทคนิคการเพิ่มจำนวนแอคติโนมัยซีทที่ต้องการในตัวอย่างดิน เทคนิคการบำบัดตัวอย่างเพื่อลดจำนวนหรือกำจัดเชื้อสกุล *Streptomyces* และเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆที่ไม่ต้องการก่อนทำการแยก (Hayakawa, 2008) วิธีการบำบัดตัวอย่างก่อนการแยกเชื้อมีรายงานไว้หลายวิธี ดังนี้

#### 2.10.2 วิธีการกำจัดเชื้อสกุล *Streptomyces* และจุลินทรีย์ชนิดอื่น

เป็นการกำจัดหรือลดปริมาณจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการ รวมทั้งเชื้อสกุล *Streptomyces* ซึ่งเป็นแอคติโนมัยซีทที่พบได้ทั่วไป และมีอยู่เป็นจำนวนมากในดิน โดยใช้คุณสมบัติความทนทานที่แตกต่างกันของสปอร์ของแอคติโนมัยซีทในแต่ละสกุล วิธีการกำจัดจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการมีหลายวิธี ได้แก่

##### 2.10.2.1 การให้ความร้อนแห้ง

การให้ความร้อนแห้งแก่ตัวอย่างดินที่แห้งสนิทที่อุณหภูมิ 100 หรือ 120 องศาเซลเซียส สามารถลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นและเชื้อสกุล *Streptomyces* ได้ ในขณะที่แอคติโนมัยซีทหายากบางสกุล เช่น *Microbispora* และ *Streptosporangium* ยังคงมีชีวิตรอดอยู่ได้ ด้วยวิธีนี้สามารถคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทหายากได้หลายสกุล เช่น *Actinomadura* *Kutzneria* *Microbispora* *Microtetraspora* *Nonomurea* *Saccharomonospora* *Streptosporangium* และ *Thermobifida* (Nonomura and Ohara, 1969, 1971, 1974)

##### 2.10.2.2 การใช้สารเคมีฆ่าเชื้อ

ความสามารถในการทนทานสารเคมีของสปอร์ของแอคติโนมัยซีทที่แตกต่างกันสามารถใช้เป็นกลยุทธ์ในการคัดเลือกแอคติโนมัยซีทหายากได้อย่างจำเพาะ (Hayakawa *et al.*, 1991a, 1995, 1996, 1997) สารเคมีฆ่าเชื้อหลายประเภท เช่น สารละลายฟีนอล (phenol) ความเข้มข้น 1.5% สารละลายคลอเฮกซิดีน กลูโคเนต (chlorhexidine gluconate) ความเข้มข้น 0.01% และสารละลายเบนซิโทเนียมคลอไรด์ (benzethoniumchloride) ความเข้มข้น 0.01% สามารถใช้แยก

เอกสารนี้ได้รับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.10.2.3 การใช้แรงหมุนเหวี่ยง

แอกติโนมัยซีทบางสกุลสร้างซุโอสปอร์ (zoospore) ที่สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา เช่น *Actinoplanes* *Dactylosporangium* *Actinokineospora* *Actinosynnema* และ *Kineosporia* การปั่นเหวี่ยงสามารถนำมาประยุกต์ใช้ เพื่อแยกแอกติโนมัยซีทที่เคลื่อนที่ออกจากเชื้อสกุล *Streptomyces* และแอกติโนมัยซีทสกุลอื่นที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ สภาวะของการปั่นเหวี่ยงที่เหมาะสม คือ 1,500xg เป็นเวลา 20 นาที ด้วยเทคนิคนี้มีรายงานว่าสามารถแยกเชื้อสกุล *Actinokineospora* *Actinosynnema* *Catenuloplanes* *Actinoplanes* *Dactylosporangium* *Kineosporia* และ *Sporichthya* ได้ดีขึ้น โดยพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียชนิดอื่นและ *Streptomyces* ลดน้อยลง (Hayakawa *et al.*, 2000)

### 2.10.3 การเพิ่มจำนวนแอกติโนมัยซีทก่อนการแยก

จัดเป็นอีกกลยุทธ์ที่สามารถช่วยแยกแอกติโนมัยซีทได้ในปริมาณมากและหลากหลาย โดยสามารถทำได้หลายรูปแบบ คือ

#### 2.10.3.1 การบ่มตัวอย่างก่อนการแยก

เป็นการเพิ่มจำนวนแอกติโนมัยซีทที่ต้องการในตัวอย่างก่อนการเพาะเลี้ยงลงบนจานอาหาร อาจทำได้ด้วยการบ่มตัวอย่างดินโดยตรงลงบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารจำเพาะเพื่อเพิ่มจำนวนแอกติโนมัยซีทบางสกุล เช่น *Microbispora* และ *Microtetraspora* การบ่มตัวอย่างดินด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate) หรือสารอินทรีย์บางชนิด เช่น ไคติน (chitin) (Porter and Wilhelm, 1961; Williams *et al.*, 1972) มีผลในการเพิ่มจำนวนประชากรของแอกติโนมัยซีทได้ Otoguro *et al.* (2000) ใช้แคลเซียมคาร์บอเนตบำบัดตัวอย่างดินภายใต้สภาวะควบคุมเพื่อเพิ่มจำนวนประชากรของ *Actinokineospora* spp. ได้ผลเป็นอย่างดี นอกจากนี้การใช้สารละลาย phosphate-soil extract buffer สามารถเพิ่มจำนวนแอกติโนมัยซีทที่สร้างซุโอสปอร์ *Actinokineospora* *Actinosynnema* *Catenuloplanes* *Cryptosporangium* *Dactylosporangium* *Geodermatophilus* *Kineosporia* และ *Sporichthya* ได้เช่นกัน (Hayakawa *et al.*, 2000)

#### 2.10.3.2 การใช้สารเคมีดึงดูด

เป็นการดึงดูดแอกติโนมัยซีทที่สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้หลักของการเคลื่อนที่เข้าหาหรือหนีห่างจากสารเคมีของแอกติโนมัยซีท วิธีนี้มักใช้อุปกรณ์พิเศษที่เรียกว่า Lucite plate ซึ่งมีความหนา 9 มิลลิเมตร และมีหลุมรูปทรงกระบอก 2 หลุม หลุมหนึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 24 มิลลิเมตร ส่วนอีกหลุมหนึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 32 มิลลิเมตร หลุมทั้งสองจะเชื่อมต่อกันด้วยช่อง (channel) ขนาดกว้าง 2 มิลลิเมตรและลึก 3 มิลลิเมตร วิธีการแยกแอกติโนมัยซีทด้วยวิธีนี้ทำโดย นำดินตัวอย่างที่ผึ่งแห้งแล้วปริมาณ 0.5 กรัม ใส่ลงในแต่ละหลุม จากนั้นเติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อให้เต็ม บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เติมสารละลายบัฟเฟอร์ที่เป็นตัวดึงดูด (chemotaxis buffer) ซึ่งมีส่วนผสมของสารที่มีผลดึงดูดให้แอกติโนมัยซีทเคลื่อนที่เข้าหา เช่น โพแทสเซียมคลอไรด์ (potassium chloride, KCl) คอลลิดีน (collidine) หรือวานิลลิน (vanillin) ลงในหลอดแก้วขนาดเล็ก (glass capillary tube) ขนาด 1 ไมโครลิตร แล้ววางลงในช่องตามขวาง และบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ต่ออีกเป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ซุโอสปอร์ของแอกติโนมัยซีทจะเคลื่อนที่เข้าไปในหลอดแก้ว จากนั้นนำสปอร์ที่อยู่ในหลอดแก้วขนาดเล็กมาเจือจาง แล้วเพาะเลี้ยงลง

บนจานอาหารที่เหมาะสม (Hayakawa *et al.*, 1991a) นั้น ไม่นิยามให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าการณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.10.3.3 การใช้เหยื่อล่อ

เทคนิคการใช้ล่อองเกสรดอกไม้เป็นเหยื่อล่อ (pollen-baiting technique) เป็นวิธีที่ประยุกต์มาจากวิธีการแยกราน้ำ นักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้ใช้วิธีนี้สำหรับแยกเชื้อ *Actinoplanes* spp. มีเหยื่อล่อชนิดต่างๆ เช่น ละอองเกสรดอกไม้ (pollen) หนังงู (snake skin) ใบหญ้า (grass leaves) และขนสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สามารถนำมาใช้ดึงดูดชูโอสปอร์ของ *Actinoplanes* ให้มาชุมนุมกันเป็นจำนวนมาก (Couch, 1954; Nonomura and Takagi, 1977) แต่เหยื่อล่อที่นิยมใช้มากที่สุด คือ ละอองเกสรของสน (Pinus) เนื่องจากมีถุงหุ้มละอองเกสรที่มีช่องว่างจำนวนมาก จึงทำให้กักเก็บอากาศได้ดี และสามารถลอยน้ำได้เป็นเวลานาน จึงดึงดูดให้ชูโอสปอร์ของเชื้อว่ายเข้ามายึดติดและมีอากาศเพียงพอต่อการเจริญ (Hayakawa *et al.*, 1991b)

### 2.11 ประโยชน์ของแอกติโนมัยซีท

แอกติโนมัยซีทเป็นแหล่งสำคัญของสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อก่อโรคหลายชนิด ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของแอกติโนมัยซีทที่พบในดินส่วนใหญ่จัดอยู่ในสกุล *Streptomyces* และประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์ของสารทุติยภูมิที่พบในจีนัสนี้ มีฤทธิ์ต้านเชื้อก่อโรค อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า แอกติโนมัยซีทหายาก (rare actinomycetes) สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและเชื้อรา (Azman *et al.*, 2015)

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาได้มีการศึกษาแอกติโนมัยซีทเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ อาทิเช่น ด้านการแพทย์และเภสัชกรรมได้มีการค้นหาสารปฏิชีวนะชนิดใหม่ๆ เพื่อใช้ต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส ตลอดจนใช้เพื่อผลิตสารต้านมะเร็งและสารกดระบบภูมิคุ้มกัน ในด้านอุตสาหกรรมได้ศึกษากลุ่มของเอนไซม์ที่ใช้ในการช่วยย่อยสลายอินทรีย์วัตถุในธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการย่อยสลายส่วนประกอบของพืชและสัตว์ที่ทนทานต่อการย่อยสลาย เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และไคติน ปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์จากแอกติโนมัยซีทสำหรับผลิตเอนไซม์ที่มีความสำคัญในทางอุตสาหกรรม เช่น การใช้แอกติโนมัยซีท สกุล *Streptomyces* ผลิตเอนไซม์ที่ช่วยย่อยสลายเซลลูโลส และเอนไซม์ไฮแลนเนสสำหรับการย่อยสลายไฮแลน ซึ่งเอนไซม์สามารถทำงานที่อุณหภูมิสูงเพื่อประโยชน์ในการผลิตน้ำตาลกลูโคสและไซโลสจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีราคาถูก ในทางการเกษตรมีการใช้แอกติโนมัยซีทในการผลิตสารฆ่าแมลงและสารฆ่าวัชพืช เช่น การใช้แอกติโนมัยซีท สกุล *Streptomyces* ในการควบคุมศัตรูพืชและควบคุมเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคพืชที่เกิดกับรากและเมล็ด ปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยและค้นพบว่าแอกติโนมัยซีทสามารถต่อต้านเชื้อราก่อโรคที่อยู่ในดิน ซึ่งการค้นพบนี้จึงอาจนำไปสู่การใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคพืชได้ในอนาคต จากการค้นพบข้างต้นทำให้แอกติโนมัยซีทจึงเป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณประโยชน์ต่อวงการแพทย์และยา เกษตรกรรมและอุตสาหกรรมรวมถึงต่อวัฏจักรของระบบนิเวศ (ทายาท และคณะ, 2558)

ความต้องการของตลาดสำหรับยาตัวใหม่ๆ ที่เร็วแรงด่วนและกว้างขวางมาก เนื่องจากโรคที่พบบ่อย มีการแพร่กระจายอย่างรวดเร็ว การพัฒนาของโรคใหม่ที่ไม่ทราบสาเหตุและการแพร่กระจายของเชื้อโรคที่ทนต่อยาปฏิชีวนะ ด้วยความก้าวหน้าเพิ่มขึ้นในด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี เป็นที่คาดการณ์ว่าจะมีความต้องการมากขึ้นสำหรับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพใหม่ที่สังเคราะห์โดยแอกติโนมัยซีทจากแหล่งต่างๆ รวมทั้งดินและทางทะเล

ในปี 2002 กว่า 10,000 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (45% ของสารจุลินทรีย์ทั้งหมด) ถูกผลิตโดยแอกติโนมัยซีท จากที่ 7600 (75%) ได้มาจาก *Streptomyces* และ 2500 (25%) จากเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอกติโนมัยซีทหายาก ซึ่งอยู่ในกลุ่ม *Micromonospora*, *Actinomadura*, *Streptoverticillium*, *Actinoplanes*, *Nocardia*, *Saccharopolyspora* และ *Streptosporangium* (Chaudhary and Prabhu, 2016; Adegboye and Babalola, 2013)

แม้ที่ผ่านมาจะประสบความสำเร็จในการตรวจคัดกรองสารทุติยภูมิที่มีประโยชน์แต่โอกาสในการหาโมเลกุลชีวภาพใหม่ๆจาก *Streptomyces* ได้ลดลง ซึ่ง *Streptomyces* บางสายพันธุ์จากสภาพแวดล้อมที่ต่างกันผลิตสารประกอบประเภทเดียวกัน อาจเป็นเพราะการแลกเปลี่ยนทางพันธุกรรมที่พบบ่อยระหว่างเผ่าพันธุ์ เป็นผลให้มีความต้องการเพิ่มขึ้นที่จะมองหาสารประกอบใหม่ที่สำคัญทางเภสัชวิทยา

ในปลายศตวรรษที่ยี่สิบ ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ผลิตโดยแอกติโนมัยซีทถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในทางการแพทย์เป็น antibacterials, antifungals, anticancer, antitumor และ antiparasitics (Butler, 2004) ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญที่จะค้นพบสารธรรมชาติใหม่ๆ เพื่อที่จะจัดการกับปัญหาของแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ปัจจุบันการค้นพบสารธรรมชาติใหม่จะมุ่งเน้นกลุ่ม non-*Streptomyces* หรือ แอกติโนมัยซีทหายาก (rare actinomycetes) (Azman *et al.*, 2015)

### 2.11.1 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่ผลิตโดยแอกติโนมัยซีท

(Lam, 2006)

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	แอกติโนมัยซีท	กิจกรรมการยับยั้ง
Abyssomicins	<i>Verrucosipora</i> sp.	Antibacterial
Aureoverticillactam	<i>Streptomyces aureoverticillatus</i>	Anticancer
Bonactin	<i>Streptomyces</i> sp.	Antibacterial; antifungal
Caprolactones	<i>Streptomyces</i> sp.	Anticancer
Chandrananimycins	<i>Actinomadura</i> sp.	Antialgal; antibacterial; anticancer; antifungal
Chinikomycins	<i>Streptomyces</i> sp.	Anticancer
Chloro-dihydroquinones	Novel actinobacteria	Antibacterial; anticancer
Diazepinomicin	<i>Micromonospora</i> sp.	Antibacterial; anticancer; anti-inflammatory
3,6-disubstituted indoles	<i>Streptomyces</i> sp.	Anticancer
Frigocyclinone	<i>Streptomyces griseus</i>	Antibacterial
Gutingimycin	<i>Streptomyces</i> sp.	Antibacterial
Helquinoline	<i>Janibacter limosus</i>	Antibacterial
Himalomycins	<i>Streptomyces</i> sp.	Antibacterial
Komodoquinone A	<i>Streptomyces</i> sp.	Neuritogenic activity
Lajollamycin	<i>Streptomyces nodosus</i>	Antibacterial
Marinomycins	<i>Marinispora</i>	Antibacterial; anticancer
Mechercharmucins	<i>Thermoactinomyces</i> sp.	Anticancer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	แอกติโนมัยซีท	กิจกรรมการยับยั้ง
Salinosporamide A	<i>Salinisporatropica</i>	Anticancer
Sporalides	<i>Salinisporatropica</i>	Unknown biological activity
Trioxacarcins	<i>Streptomyces</i> sp.	Antibacterial; anticancer; antimalarial

### 2.11.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แยกได้จากแอกติโนมัยซีทหายาก

แอกติโนมัยซีทที่พบในแหล่งสภาวะแวดล้อมรุนแรงได้ดึงดูดความสนใจการวิจัยอย่างมาก เนื่องจากมีความสามารถในการผลิตผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ ในเชิงพาณิชย์ (Chaudhary and Prabhu, 2016)

ตั้งแต่มีการค้นพบ streptomycin ซึ่งเป็นกลุ่มส่วนใหญ่ของยาปฏิชีวนะ รวมถึงสารที่ใช้ในการรักษา อย่างเช่น amino glycosides, chloramphenicol, tetracyclines, macroliticillides และกลุ่ม  $\beta$ -lactam cephamycin เมื่อเร็ว ๆ นี้ ซึ่งแยกมาจากเชื้อ *Streptomyces* และ *Streptoverum* ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะกลุ่มใหม่ที่ถูกค้นพบ โดยทั่วไปโอกาสที่ค้นพบยาปฏิชีวนะใหม่ ๆ ลดน้อยลง ในการคัดเลือกระดับอุตสาหกรรมจึงมุ่งเน้นไปที่แอกติโนมัยซีทหายาก (rare actinomycetes) อย่างเช่น *Actinomadura*, *Actinoplanes*, *Amycolatopsis*, *Dactylosporangium*, *Kibdelosporangium*, *Microbispora*, *Micromonospora*, *Planobispora*, *Streptosporangium* และ *Planomonospora* (Lazzarini et al., 2001)

ความสำคัญของแอกติโนมัยซีทหายากแสดงให้เห็นถึงความจริงที่ว่า ยารักษาการติดเชื้อ (anti-infective product) ประสบความสำเร็จทางการค้า โดยแอกติโนมัยซีทดังกล่าว ได้แก่ rifamycins จาก *Amycolatopsis mediterranei*, erythromycin จาก *Saccharopolyspora erythraea*, teicoplanin จาก *Actinoplanes teichomyceticus*, vancomycin จาก *Amycolatopsis orientalis* และ gentamycin จาก *Micromonospora purpurea* (Lancini and Lorenzetti, 1993)

ยาปฏิชีวนะมากกว่า 120 ได้รับรายงานจากสายพันธุ์ *Actinoplanes* อนุพันธ์ของกรดอะมิโน เช่น peptides และ depsipeptides เป็นที่แพร่หลายและในหมู่สารเหล่านี้ซึ่งบางส่วนมีความเกี่ยวข้องทางการแพทย์ เช่น teicoplanin จาก *Actinoplanes teichomyceticus* ATCC 31121 (Bardone et al., 1978) และ ramoplanin จาก *Actinoplanes* sp. ATCC 33076 (Ciabatti and Cavalleri, 1989)

ยาปฏิชีวนะที่น่าสนใจอื่นๆ โดยใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางเคมีของ สายพันธุ์ *Actinoplanes* คือ purpuromycin ผลิตโดย *Actinoplanes ianthinogenes* ATCC 21884 (Coronelli et al., 1974; Rambelli et al., 1989), lipiarmycin โดย *Actinoplanes deccanensis* ATCC 21938 (Parenti et al., 1975, Cavalleri et al., 1988), actagardine โดย *Actinoplane sliuriae* ATCC 31048 และ *Actinoplane sgarbadinensis* ATCC 31049 (Parenti et al., 1976; Malabarba et al., 1985) กลุ่มแอกติโนมัยซีทหายากที่แยกได้มากในปีที่ผ่านมาอยู่ในจีนัส *Micromonospora* ซึ่งถือว่าเป็นครอบครัวกลุ่มที่ใหญ่ที่สุดเป็นลำดับสองของแอกติโนมัยซีทในดิน (Lazzarini et al., 2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่เผยแพร่เพื่อการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยาปฏิชีวนะสำคัญที่ผลิตโดยสายพันธุ์ *Micromonospora* ได้แก่ aminocyclitols อย่างเช่น gentamicins; sisomicin; fortimicin; macrolides อย่างเช่น mycinamicins และ rosamicins และ polysaccharide antibiotics อย่างเช่น everninomycin (Lancini and Lorenzetti 1993)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 อุปกรณ์

- 3.1.1 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dish)
- 3.1.2 ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop)
- 3.1.3 เข็มเขี่ยเชื้อ (Needle)
- 3.1.4 แท่งแก้วรูปตัวแอล (Spreader)
- 3.1.5 แท่งแก้วคนสาร
- 3.1.6 ช้อนตักสาร
- 3.1.7 หลอดทดลองพร้อมฝา
- 3.1.8 Centrifuge tube
- 3.1.9 ปีกเกอร์ (Beaker)
- 3.1.10 สไลด์และกระจกปิดสไลด์
- 3.1.11 กระจกบอทวง (Cylinder)
- 3.1.12 ขวดดูแรน (Schott Duran)
- 3.1.13 ปิเปต (Pipette)
- 3.1.14 Autopipette
- 3.1.15 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 3.1.16 ลูกยาง (Pipette bulb)
- 3.1.17 ดรอปเปอร์ (Dropper)
- 3.1.18 ขวดรูปชมพู
- 3.1.19 Forceps
- 3.1.20 Eppendorf
- 3.1.21 Tips
- 3.1.22 ไม้พันสำลี
- 3.1.23 กรวยแยก (Separatory funnel)
- 3.1.24 Paper disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร
- 3.1.25 Vernier calipers
- 3.1.26 กระดาษกรอง Whatman No.1
- 3.1.27 ขวด Vial

#### 3.2 เครื่องมือ

- |   |                              |
|---|------------------------------|
| 3.2.1 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)               | BINDER รุ่น Control E2       |
| 3.2.2 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) | OHAUS รุ่น STARTER 3000, USA |
| 3.2.3 กล้องจุลทรรศน์                        | OLYMPUS รุ่น CH3, Japan      |
| 3.2.4 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)      | TOMY รุ่น ES-315, JAPAN      |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)	TELSTAR รุ่น Bio-II-Advance 4 THCHNOLOGY, Spain
3.2.6 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	Memmert รุ่น UN110
3.2.7 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker)	N-BIOTEX รุ่น NB-205Q
3.2.8 เครื่องซั่ง 4 ตำแหน่ง	AND รุ่น GF-800, Japan
3.2.9 เครื่องผสมสาร (Vortex)	Scientific Industries รุ่น Vortex- Genie 2, 230VG56E
3.2.10 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)	Hermle รุ่น Z 326 K, Germany
3.2.11 เครื่องระเหยสูญญากาศ (Rotary evaporator)	HEIDOLPH, Germany
3.2.12 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)	Memmert
3.2.13 เครื่องไมโครเวฟ	Sharp รุ่น R-250
3.2.14 ตู้แช่เย็น	Distar freezer&Refrigelator รุ่น DR-082
2.2.15 ตู้แช่แข็ง -20 °C	PANASONICรุ่น SF-PC697, Thailand

### 3.3 สารเคมี

3.3.1 แป้งที่ละลายน้ำได้ (Soluble starch)	
3.3.2 Potassium nitrate (KNO <sub>3</sub> ) MW 101.11 g/mol	บริษัท Srichem
3.3.3 Sodium chloride (NaCl) MW 58.44 g/mol	บริษัท Fluka
3.3.4 Casien	บริษัท Univar
3.3.5 Magnesium sulfate heptahydrate (MgSO <sub>4</sub> • 7H <sub>2</sub> O) MW 246.4746 g/mol	บริษัท Fluka บริษัท Univar
3.3.6 Calcium carbonate (CaCO <sub>3</sub> ) MW 100.0869 g/mol	บริษัท Carlo erba
3.3.7 Ferrous heptahydrate (FeSO <sub>4</sub> • 7H <sub>2</sub> O) MW 278.0146 g/mol	บริษัท Fluka
3.3.8 ฐุ่น (Agar)	
3.3.9 Distilled water	บริษัท Bio Agar
3.3.10 Yeast extract	
3.3.11 Malt extract	บริษัท Scharlau
3.3.12 Glucose MW 180.1559 g/mol	บริษัท Himedia
3.3.13 Dipotassium hydrogen phosphate (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) MW 174.18 g/mol	บริษัท Fluka บริษัท Univar
3.3.14 Ammonium sulfate (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) MW 132.14 g/mol	บริษัท Merck
3.3.15 Peptone	บริษัท Srichem
3.3.16 Gelatin	บริษัท Ajax Finechem

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.3.17 Skim milk powder บริษัท Himedia
- 3.3.18 Manganese (II) chloride tetrahydrate บริษัท Univar  
( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) MW 197.90 g/mol
- 3.3.19 Zinc sulfate heptahydrate บริษัท Fluka  
( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) MW 287.54 g/mol
- 3.3.20 Nystatin
- 3.3.21 Nalidixic acid
- 3.3.22 Glycerol
- 3.3.23 สารละลายเมทิลีนบลู
- 3.3.24 แอลกอฮอล์ 70% และ 95%
- 3.3.25 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
- 3.3.26 สารละลายแกรมไอโอดีน
- 3.3.27 สารละลาย N,N-dimethyl-l-naphthylamine
- 3.3.28 Tween 80
- 3.3.29 Ethyl acetate
- 3.3.30 Methanol
- 3.3.31 สารละลายมาตรฐาน Mcfarland No. 0.5

### 3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป

- 3.4.1 Mueller-Hinton Broth
- 3.4.2 Sabourand dextrose agar

### 3.5 เชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

- 3.5.1 *Escherichia coli* ATCC 25922
- 3.5.2 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- 3.5.3 *Bacillus subtilis* ATCC 6633
- 3.5.4 *Micrococcus luteus* TISTR 2374
- 3.5.5 *Staphylococcus aureus* TISTR 118
- 3.5.6 *Candida albicans* ATCC 90028

### 3.6 การเก็บตัวอย่างดิน การแยกเชื้อและการคัดแยกเชื้อ

#### 3.6.1 การเก็บตัวอย่างดิน (Ruttanasutja and Pathom-aree, 2015)

เลือกจุดเก็บตัวอย่างดินจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ในลักษณะสุ่มรูป ฟันปลา เพื่อกระจายการเก็บตัวอย่างดินให้ทั่วถึง โดยกวาดเศษกิ่งไม้บริเวณผิวหน้าดินออก ทำการขุด ดินลึกลงไป 2-3 เซนติเมตร ด้วยช้อนแกงหรือช้อนปลูกใส่ในถุงพลาสติกใสไม่รัดปากถุงจากนั้นทำการ วัดค่าความเป็นกรดเบสของดินด้วย pH meter เก็บตัวอย่างดินทั้งหมด 10 จุด แต่ละจุดเก็บตัวอย่าง ประมาณ 500 กรัมโดยบันทึกตำแหน่งจุดที่เก็บ ถ่ายภาพ และค่าความเป็นกรด เบส จุดเก็บตัวอย่าง

#### 3.6.2 การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีท

วิธีที่ 1 นำตัวอย่างดินข้อ 3.6.1 มาแยกเชื้อโดยนำตัวอย่างดินที่เก็บมา เก็บรักษาในภาชนะที่ ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำตัวอย่างดินมาผึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง คลุมด้วยผ้าขาวบางจนตัวอย่างแห้ง เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อหยุดเห็นว่าเป็นประโยชน์ในการวัดค่า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นนำตัวอย่างดินที่แห้งแล้วมาเกลี่ยลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อให้เต็มเพลท นำไปอบที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วชั่งดินมา 1 กรัม บดให้ละเอียดด้วยโกร่ง ใส่ลงไปในหลอดทดลองที่มี 0.1% tween 80 ปลอดเชื้อ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ทำส่วนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องเขย่าผสมสาร (vortexmixer) กำหนดเป็นระดับการเจือจางที่  $10^{-1}$  ตั้งทิ้งไว้ 5 นาทีให้ดินตกตะกอน จากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างในน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้มีระดับความเจือจางจนถึง  $10^{-5}$  ด้วย 0.1% Basic Lauryl Sulfate โดยที่  $10^{-2}$  ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที ที่  $10^{-3}$ - $10^{-5}$  ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  คูตสารละลายตัวอย่างที่เจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ยเชื้อบนอาหาร SCA ซึ่งเติม cycloheximide หรือ nystatin ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร จำนวน 2 ซ้ำ แล้วบ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 1 เดือน (Takizawa *et al.*, 1993)

วิธีที่ 2 นำตัวอย่างดินข้อ 3.6.1 มาแยกเชื้อโดยนำตัวอย่างดินที่ยังชื้นอยู่ 1 กรัม ใส่ในหลอดทดลองที่มี 0.1% tween 80 ปลอดเชื้อ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปให้ความร้อนโดยการต้มตัวอย่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (วาสิณี และคณะ, 2552) จากนั้นทำให้มีระดับความเจือจาง  $10^{-2}$  และ  $10^{-3}$  ด้วย 0.1% Basic Lauryl Sulfate โดยที่  $10^{-2}$  ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที ที่  $10^{-3}$ - $10^{-5}$  ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  (Takizawa *et al.*, 1993) คูตสารละลายตัวอย่างที่เจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ยเชื้อบนอาหาร Zhang's Soil Starch Extract (ZSSE) ซึ่งเติม nystatin ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และ nalidixic acid 50 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 2 ซ้ำ แล้วบ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 1 เดือน (กรกช และคณะ, 2556)

วิธีที่ 3 นำตัวอย่างดินข้อ 3.6.1 มาแยกเชื้อโดยนำตัวอย่างดินที่เก็บมา เก็บรักษาในภาชนะที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำตัวอย่างดินมาผึ่งลมที่อุณหภูมิห้อง คลุมด้วยผ้าขาวบางจนตัวอย่างแห้ง จากนั้นนำตัวอย่างดินที่แห้งแล้วมาเกลี่ยลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อให้เต็มเพลท นำไปอบที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วชั่งดินมา 1 กรัม บดให้ละเอียดด้วยโกร่ง ใส่ลงไปในหลอดทดลองที่มี 0.1% tween 80 ปลอดเชื้อ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ทำส่วนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องเขย่าผสมสาร (vortexmixer) กำหนดเป็นระดับการเจือจางที่  $10^{-1}$  ตั้งทิ้งไว้ 5 นาทีให้ดินตกตะกอน จากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างในน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้มีระดับความเจือจางจนถึง  $10^{-5}$  ด้วย 0.1% Basic Lauryl Sulfate โดยที่  $10^{-2}$  ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที ที่  $10^{-3}$ - $10^{-5}$  ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  (Takizawa *et al.*, 1993) คูตสารละลายตัวอย่างที่เจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ยเชื้อบนอาหาร Zhang's Soil Starch Extract (ZSSE) ซึ่งเติม nystatin ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และ nalidixic acid 50 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 2 ซ้ำ แล้วบ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 1 เดือน (กรกช และคณะ, 2556)

### 3.6.3 การหาสมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่าง (วสุ, 2554; คณิตกานต์, 2558)

#### 3.6.3.1 การหาน้ำหนักดิน

เทสารแขวนลอยของดินของความเจือจางที่  $10^{-1}$  ที่เหลืออยู่ลงในบีกเกอร์ที่ทราบน้ำหนัก นำบีกเกอร์ไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนน้ำระเหยหมดและน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักของบีกเกอร์อีกครั้ง คำนวณหาน้ำหนักของดินที่ใช้ในการแยกเชื้อจากผลต่างของน้ำหนักบีกเกอร์ก่อนและหลังอบ

### วิธีการคำนวณน้ำหนักดิน

ตัวอย่างดิน: จุดที่ 1

น้ำหนักเปียกเกอร์ 28.994 กรัม

น้ำหนักสารแขวนลอยของดินที่ความเจือจางที่  $10^{-1}$  ก่อนอบ 6.741 กรัม

น้ำหนักสารแขวนลอยของดินและเปียกเกอร์หลังอบ 29.305 กรัม

คำนวณหาปริมาณน้ำหนักเปียกเกอร์และสารแขวนลอยของดินที่ความเจือจางที่  $10^{-1}$  (กรัม)

ก่อนอบจากน้ำหนักเปียกเกอร์และดินก่อนอบ = น้ำหนักเปียกเกอร์ (กรัม) + น้ำหนักสารแขวนลอยของดินที่ความเจือจางที่  $10^{-1}$  ก่อนอบ (กรัม)

$$= 28.994 + 6.741 \quad \text{กรัม}$$

$$= 35.735 \quad \text{กรัม}$$

คำนวณหาปริมาณน้ำหนักดินที่ใช้ในการแยกเชื้อ (กรัม) จาก

ปริมาณน้ำหนักดิน (กรัม) = น้ำหนักสารแขวนลอยดินและเปียกเกอร์ก่อนอบ (กรัม) - น้ำหนักสารแขวนลอยของดินและเปียกเกอร์หลังอบ (กรัม)

$$= 35.735 - 29.305 \quad \text{กรัม}$$

$$= 6.430 \quad \text{กรัม}$$

เพราะฉะนั้นดินตัวอย่างดินจุดที่ 1 มีปริมาณน้ำหนักดินที่ใช้ในการแยกเชื้อ เท่ากับ 6.430 กรัม

### 3.6.3.2 การหาปริมาณความชื้น

ซึ่งตัวอย่างดินมา 1-2 กรัมใส่ในถ้วยเซรามิคหรือเปียกเกอร์ที่ทราบน้ำหนัก นำเปียกเกอร์ไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสจนน้ำหนักคงที่ คำนวณหาปริมาณความชื้นในดินตัวอย่างจากน้ำหนักดินที่หายไป

#### วิธีการคำนวณหาปริมาณความชื้นในดิน

ตัวอย่างดิน: จุดที่ 1

น้ำหนักเปียกเกอร์ 28.717 กรัม

น้ำหนักดินก่อนอบ 1.844 กรัม

น้ำหนักดินและเปียกเกอร์หลังอบ 29.725 กรัม

คำนวณหาปริมาณน้ำหนักดินหลังอบ (กรัม) จาก

น้ำหนักดินหลังอบ (กรัม) = น้ำหนักดินและเปียกเกอร์หลังอบ (กรัม) - น้ำหนักเปียกเกอร์ก่อนอบ (กรัม)

$$= 29.725 - 28.717 \quad \text{กรัม}$$

$$= 1.008 \quad \text{กรัม}$$

คำนวณหาปริมาณความชื้นในดิน (%) จาก

ปริมาณความชื้นในดิน (%) =  $\frac{\text{น้ำหนักดินก่อนอบ (กรัม)} - \text{น้ำหนักของดินหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักดินก่อนอบ (กรัม)}} \times 100\%$

$$= \frac{1.844 \text{ กรัม} - 1.008 \text{ กรัม}}{1.844 \text{ กรัม}} \times 100\%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$= \frac{0.836 \text{ กรัม}}{1.844 \text{ กรัม}} \times 100\%$$

$$= 45.37\%$$

เพราะฉะนั้นตัวอย่างดินจุดที่ 1 มีปริมาณความชื้นในดิน (%) เท่ากับ 45.37%

### 3.6.3.3 การวัดค่าความเป็นกรดเบส

ซั่งตัวอย่างดิน 2 กรัมใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ค่อยๆ เติมน้ำกลั่นลงไปทีละน้อย โดยคนตัวอย่างไปด้วยในขณะเดียวกันด้วยข้อตักสารหรือแท่งแก้ว จนสังเกตเห็นแผ่นฟิล์มบางๆ บนผิว (ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที - 1 ชั่วโมง) จึงทำการวัดค่าความเป็นกรด-เบส ทำซ้ำ 3 ครั้ง รายงานผลในรูปค่าเฉลี่ยจากการวัดทั้ง 3 ครั้ง

### 3.6.4 การแยกเชื้อและการเก็บรักษา

นำตัวอย่างเชื้อในอาหารที่ได้จากข้อ 3.6.2.1 ทำการแยกเชื้อเพื่อให้ได้เป็นโคโลนีเดี่ยว ด้วยเทคนิคการ cross streak บนอาหาร SCA ที่เติม nystatin 100 ไมโครลิตรต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เมื่อแยกได้เป็นโคโลนีเดี่ยวๆ แล้วทำการถ่ายเชื้อ (subculture) ลงบนหลอดอาหารเลี้ยง SCA ที่ไม่ใส่ยาปฏิชีวนะ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนเชื้อเจริญเต็มที่เก็บไว้สำหรับทำการทดลองในขั้นต่อไป และทำการกำหนดหมายเลขไอโซเลท

ส่วนตัวอย่างเชื้อในอาหารที่ได้จากข้อ 3.6.2.2 ทำการแยกเชื้อเพื่อให้ได้เป็นโคโลนีเดี่ยว ด้วยเทคนิคการ cross streak บนอาหาร ISP2 ที่เติม nystatin 100 ไมโครลิตรต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เมื่อแยกได้เป็นโคโลนีเดี่ยวๆ แล้วทำการถ่ายเชื้อ (subculture) ลงบนหลอดอาหารเลี้ยง ISP2 ที่ไม่ใส่ยาปฏิชีวนะ บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนเชื้อเจริญเต็มที่เก็บไว้สำหรับทำการทดลองในขั้นต่อไป และทำการกำหนดหมายเลขไอโซเลท

### 3.6.5 การเตรียม spore suspension (Klanbut, 2013)

เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงบนจานอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อแอกคิโนมายซีที่เจริญเติบโตเต็มที่ทุกไอโซเลทบนอาหาร SCA และ ISP2 จากนั้นใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อขูดเอาสปอร์บริเวณผิวหน้าอาหารจนทั่ว แล้วจึงทำการเทลง centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที เพื่อให้เส้นใยสปอร์เกิดการแตกหักออกจากกัน จากนั้นนำไปกรองผ่านสำลีฆ่าเชื้อเพื่อกรองเอาส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อที่อาจติดมากับสปอร์ออก นำส่วนที่กรองถ่ายใส่ centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตรหลอดใหม่ ทำการปั่นเหวี่ยงที่ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5-10 นาที เทส่วนละลายใส่ทิ้งไป และทำการผสมตะกอนของเชื้อที่ได้เป็นเวลาเล็กน้อย เพื่อทำการกระจายตัวสปอร์ที่ยังคงเหลืออยู่ในหยดน้ำภายในหลอด แล้วจึงทำการ resuspension ด้วยกลีเซอรอล 20% (w/v) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำสปอร์ที่ได้ไปทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อทำเป็น stock culture

## 3.7 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (คณิงกานต์, 2558)

เตรียม sterile culture plates โดยทำการวางแผ่นกระดาษซับหรือกระดาษทิชชูที่ฆ่าเชื้อแล้วที่ก้นจานแก้วเพาะเลี้ยงเชื้อ วางแท่งแก้วรูปตัววี (ใช้แทนได้ด้วย cotton bud ที่ฆ่าเชื้อแล้ว) บนกระดาษซับ และวางสไลด์ที่ฆ่าเชื้อแล้วบน cotton bud ปิดฝาจานอาหาร แล้วเตรียม YEME agar plate ให้มีความหนาของวุ้นประมาณ 2-3 มิลลิเมตร จากนั้นตัดวุ้นด้วยใบมีดผ่าตัดที่ปราศจากเชื้อให้ได้ก้อนวุ้นกว้างยาวด้านละ 1 เซนติเมตร เพื่อเตรียมนำไปเพาะเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การ inoculate เชื้อ ใช้ใบมีดหรือเข็มเขี่ยตักก้อนวุ้นนำไปวางบนแผ่นสไลด์ที่อยู่ในจานแก้ว แล้วใช้ needle ปลายงอเขี่ยเชื้อจากหลอดทดลองนำไป inoculate ลงด้านข้างแต่ละด้านของก้อนวุ้นจนครบ 4 ด้าน คีบกระจกปิดสไลด์ที่ฆ่าเชื้อแล้วปิดลงบนก้อนวุ้นเติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว (ประมาณ 5 มิลลิลิตร) ให้กระดาษซับมีความชื้นทั่วแผ่น หลังจากนั้นพันรอยต่อของปากจานเพาะเลี้ยงให้รอบด้วยแผ่นพาราฟิล์ม (parafilm) เพื่อให้จานมีความชื้นป้องกันน้ำระเหย แล้วนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียส จนกระทั่งเชื้อสร้างสปอร์ (1-2 อาทิตย์) ตรวจสอบได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำสุด 40 เท่า

การ mount สไลด์ หลังจากการตรวจพบว่ามี การสร้างสปอร์ของเชื้อแล้ว ให้ใช้เข็มคียบยกแผ่นกระจกปิดสไลด์ออกจากก้อนวุ้นนำแผ่นกระจกวางหงายบนกระดาษซับจากนั้นค่อยๆ จิกขึ้นวุ้นด้วยเข็มเขี่ยเชื้อออกวางบนแผ่นสไลด์เปล่า จะได้แผ่นกระจกปิดสไลด์และสไลด์ที่มีส่วนของเชื้อเจริญติดอยู่รวม 2 ชั้น ค่อยๆ หยด 95% แอลกอฮอล์ลงบนสไลด์และแผ่นกระจกปิดสไลด์จนท่วมบริเวณที่มีเชื้อ (ให้หยดตรงกลางของรอยก้อนวุ้นเพื่อไม่ให้เชื้อเสียรูปร่างการเรียงตัว) จะได้เชื้อติดแนบกับแผ่นกระจกไม่เกิดฟองอากาศเมื่อนำไป mount เขี่ยเชื้อจากด้านข้างของวุ้นด้วยเข็มเขี่ยเชื้อ มาแตะลงบนสไลด์แผ่นที่ 3 จากนั้นหยดสี Lactophenol cotton blue (LPC) หรือ methylene blue ลงบนสไลด์ที่สะอาด 1-2 หยด ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ที่มีเชื้อจะได้ slide culture แผ่นที่ 1 หลังจากนั้นหยดสี อีก 1-2 หยด ลงบนสไลด์ที่มีเชื้อแล้วปิดด้วยแผ่นกระจกปิดสไลด์ที่สะอาด จะได้ slide culture แผ่นที่ 2 และ 3 นำสไลด์ทั้งสามแผ่นไปตรวจดูรูปร่างลักษณะสำคัญของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ หากต้องการเก็บเป็นสไลด์ถาวรให้ใช้กระดาษทิชชูซับสีที่ล้นออกมารอข้ามคืน จนแห้งสนิทก่อนทาทัชขอบแผ่นกระจกปิดสไลด์ด้วยน้ำยาทาเล็บทั้งสองด้าน เพื่อป้องกันสีย้อมระเหยและเก็บสไลด์ไว้ได้นาน

### 3.8 การศึกษาลักษณะทางชีวเคมี

#### 3.8.1 ความสามารถในการย่อยแป้ง (นวลรัตน์, 2554)

นำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาซัดบนอาหารอาหาร Inorganic salt starch agar (ISP4) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 ถึง 14 วัน นำสารละลายไอโอดีนมาราดบนผิวอาหาร ถ้าเชื้อสามารถย่อยแป้งในอาหารได้จะเกิดบริเวณใสรอบโคโลนี

#### 3.8.2 ความสามารถในการย่อยเจลาติน (นวลรัตน์, 2554)

นำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาเลี้ยงบนอาหาร Bouillon gelatin broth บ่มที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน บันทึกผลโดยการนำหลอดไปบ่มที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ถ้าเชื้อสามารถย่อยเจลาตินในอาหารได้อาหารจะเหลว

#### 3.8.3 ความสามารถในการย่อยโปรตีน (นวลรัตน์, 2554)

นำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาซัดบนอาหาร Skim milk บ่มที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน หากเชื้อสามารถย่อยโปรตีนในอาหารได้จะเปลี่ยนอาหารจากขุ่นเป็นใส (peptonization) หรืออาจจะมีการรวมกลุ่มกันหรือตกตะกอนเป็นก้อน (coagulation)

#### 3.8.4 ความสามารถในการรีดิวซ์ไนเตรท (นวลรัตน์, 2554)

นำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาเลี้ยงบนอาหาร Peptone KNO<sub>3</sub> บ่มที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วันหยด salfanic acid 2 หยด และตามด้วยสารละลาย N, N-dimethyl-1-naphthylamine 3 หยด ถ้ามีการเปลี่ยนไนเตรทไปเป็นไนไตรท์ อาหารจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูจนถึงสีแดง แต่ถ้าวินิจฉัยทดสอบไม่เกิดสีแดงอันเนื่องมาจากไนเตรทเปลี่ยนไปเป็นแอมโมเนีย และก๊าซไนโตรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการสงวนเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่เป็นการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.8.5 ความสามารถในการผลิต H<sub>2</sub>S (Kishore, 2011)

ลงเชื้อแอกติโนมัยซีทในอาหาร Tryptone-Yeast extract agar slant บ่มที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงเทียบกับหลอดควบคุมที่ไม่ได้ลงเชื้อ จะแสดงสีน้ำตาลเขียว น้ำตาล น้ำเงินดำ หรือ สีดำ บนสับสเตรท ซึ่งเป็นตัวบ่งบอกถึงการสร้าง ไฮโดรเจนซัลไฟด์ รายงานผลวันที่ 7, 10 และ 15

### 3.8.6 ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ (ลลิตา, 2554)

นำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาซัดบนอาหาร YEME บ่มที่อุณหภูมิ 40, 45, 50, 55, 60, 65 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อ

3.8.7 ความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ (Kishore, 2011)

เลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีทในอาหาร YEME ที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ระดับต่างๆ ในการเตรียมอาหารจะต้องคนให้โซเดียมคลอไรด์ละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับอาหารทุกส่วน ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ 0, 3, 5, 7 และ 10% แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน

## 3.9 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เบื้องต้นและการสกัดสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ

3.9.1 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เบื้องต้น (วาสิณี และคณะ, 2552)

นำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาซัดเป็นเส้นยาวบนอาหาร ISP2 บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วันนำเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบมาซัดตั้งฉากให้ชิดโคโลนีของแอกติโนมัยซีท บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบมี 6 ชนิด คือ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* TISTR 2374, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Candida albicans* ATCC 90028 การสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ตรวจสอบได้จากการเกิดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ที่เกิดขึ้นระหว่างโคโลนีของแอกติโนมัยซีทกับเชื้อทดสอบ

### 3.9.2 การสกัดสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ (Phongsopitanun et al., 2014)

เชื้อแอกติโนมัยซีทจำนวน 1-3 ลูกปลงในอาหาร Modified Nutrient Glucose (MNG) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มในสภาวะเขย่า 200 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วันแล้วนำมาถ่ายเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงไปในอาหาร MNG broth 100 มิลลิลิตร ที่มีการเติม แคลเซียมคาร์บอเนต 0.1% บ่มในสภาวะเขย่า 200 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอีก 14 วัน

นำน้ำหมักเชื้อแอกติโนมัยซีทมาทำการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman no.1 เพื่อแยกเอาเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทและอาหารเหลวออกจากกัน จากนั้นนำน้ำหมักส่วนใสที่ปราศจากเส้นใยมาทำการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ คือ เอทิลอะซิเตตโดยการเติมเอทิลอะซิเตตลงไป ในอัตราส่วน 1:1 (v/v) ซึ่งในเฟสบนของเอทิลอะซิเตตที่มีสารมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์จะแยกตัวออกจากเฟสของน้ำ จากนั้นนำไประเหยให้แห้งภายใต้การลดความดันด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศจะทำให้ได้สารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซิเตตจากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพส่วนเซลล์ และเส้นใยที่ติดอยู่บนกระดาษกรองทำการล้างด้วยเมทานอลประมาณ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มต่อในสภาวะเขย่า 200 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 45 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่สามารถนำข้อมูลไปใช้เพื่อการค้าหรือเผยแพร่ในที่สาธารณะได้

เซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำน้ำหมักเชื้อแอสคิตินมัยซีทที่ได้มาทำการกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman no.1 เพื่อแยกเอาเส้นใยของเชื้อแอสคิตินมัยซีทและอาหารเหลวออกจากกัน จากนั้นนำไปประเหยให้แห้งภายใต้การลดความดันด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศจะทำให้ได้สารสกัดหยาบในชั้นเมทานอล จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

### 3.9.2.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* TISTR 2374, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Candida albicans* ATCC 90028 ผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ที่ปราศจากเชื้อแล้วปรับให้มีความขุ่นเท่ากับสารละลายมาตรฐานแมคฟาแลนหมายเลข 0.5 ซึ่งจะมีจำนวนเซลล์โดยประมาณเท่ากับ  $1.0 \times 10^8$  CFU/ml

ทำการเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหาร Mueller-Hinton agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมงและเลี้ยงยีสต์บนอาหาร Sabouraud's dextrose agar ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

### 3.9.2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar disc diffusion

การทดสอบนี้อาศัยหลักการแพร่ของสารซึ่งสกัดออกมาโดยรอบแผ่นทดสอบในงานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีฐานเป็นส่วนประกอบโดยบริเวณยับยั้งจะขึ้นอยู่กับฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารสกัด จากนั้นใช้ไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อจุ่มในสารละลายแขวนลอยของเชื้อที่เตรียมไว้และทาลงบนอาหารแข็งด้วยวิธีปลอดเชื้อ (swab) ให้เชื้อทดสอบกระจายตัวอยู่บนอาหารอย่างสม่ำเสมอเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบปริมาตร 20 ไมโครลิตรต่อดิสก์ ที่ความเข้มข้น 1 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร หยดลงบนแผ่นทดสอบรอนจนแห้งจากนั้นวางลงบนอาหารที่ได้ทำเชื้อเอาไว้แล้วและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อแบคทีเรียส่วนเชื้อยีสต์บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจผลการทดสอบได้ด้วยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสที่เชื้อไม่เจริญในหน่วยที่เป็นมิลลิเมตร

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

#### 4.1 ผลการเก็บตัวอย่างดินและการแยกเชื้อแอกติโนมัยซีท

จากการเก็บตัวอย่างดินจากบริเวณธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี เพื่อนำมาทำการคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีท (วิธีการทดลองที่ 3.6.2) พบว่าจากการเก็บตัวอย่างดินครั้งที่ 1 เมื่อวันที่ 3 ธันวาคม 2559 ทั้งหมด 20 จุดสามารถคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีทได้ทั้งหมดจำนวน 25 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และจากการเก็บตัวอย่างดินครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2560 ทั้งหมด 20 จุดสามารถคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีทได้ทั้งหมดจำนวน 32 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 4.2

#### ตารางที่ 4.1 แสดงหมายเลขไอโซเลทของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินครั้งที่ 1

จุดเก็บตัวอย่างดิน	อุณหภูมิ ณ จุดเก็บ (องศาเซลเซียส)	หมายเลขไอโซเลท
1	52.00	BK 120, BK 121, BK 122 BK 123, BK 132
2	51.00	BK 220, BK 230, BK 232, BK 235
3	50.90	-
4	51.10	-
5	50.80	BK 520, BK 521, BK 522, BK 530
6	51.00	-
7	50.80	BK 730
8	48.70	BK 820, BK 821, BK 830, BK 831
9	51.20	-
10	51.00	BK 1020, BK 1021, BK 1030
11	55.00	-
12	56.00	BK 1232
13	53.00	-
14	55.00	-
15	52.00	BK 1520
16	55.00	BK 1630
17	52.00	-
18	52.00	-
19	54.00	-
20	52.00	BK 2020

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงหมายเลขไอโซเลทของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินครั้งที่ 2

จุดเก็บตัวอย่างดิน	อุณหภูมิ ณ จุดเก็บ (องศาเซลเซียส)	หมายเลขไอโซเลท
1	55.00	-
2	56.00	BKH 222, BKH 232, BKH 241
3	56.00	-
4	54.00	BKH 00431, BKH 422, BKH 431, BKH 432
5	56.00	BKH 521
6	52.00	-
7	53.00	BKH 00722, BKH 00723, BKH 722, BKH 731
8	54.00	BKH 00830
9	56.00	-
10	57.00	-
11	58.00	-
12	57.00	-
13	56.00	BKH 1322
14	57.60	-
15	51.00	-
16	56.00	-
17	54.00	BKH 01721, BKH 01722, BKH 01724, BKH 01730, BKH 1731
18	51.00	-
19	51.00	BKH 1921, BKH 1922, BKH 1941, BKH 1943
20	54.00	BKH 02020, BKH 02030, BKH 2021, BKH 2023, BKH 2024, BKH 2025, BKH 2026, BKH 2030, BKH 2032

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.2 การหาคุณสมบัติทางกายภาพบางประการของดินตัวอย่าง

จากการเก็บตัวอย่างดินจากธารน้ำร้อนบ่อคลึงตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ครั้งที่ 1 เมื่อวันที่ 3 ธันวาคม 2559 และเก็บตัวอย่างดินครั้งที่ 2 วันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2560 โดยทำการเก็บตัวอย่างดินครั้งละ 20 ตำแหน่ง นำมาหาคุณสมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดิน (ดังวิธีการที่ 3.6.3) พบว่า ปริมาณของน้ำหนักดิน, ปริมาณความชื้นและค่าความเป็นกรด-ด่างได้ผล ดังตารางที่ 4.3 และ 4.4 (วิธีการคำนวณ ภาคผนวก จ) (วิธีการ 3.6.2)

ตารางที่ 4.3 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดินที่ใช้ในการคัดแยกแอคติโนมัยซีทโดยวิธีที่ 1

ตัวอย่างดิน	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	อุณหภูมิ ณ จุดเก็บ (องศาเซลเซียส)	น้ำหนักดิน (กรัม)	ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)
จุดที่ 1	7.71	52.00	7.895	14.20
จุดที่ 2	7.77	51.00	7.646	18.28
จุดที่ 3	7.65	50.90	7.829	9.23
จุดที่ 4	7.81	51.10	8.001	16.54
จุดที่ 5	7.66	50.80	8.216	16.54
จุดที่ 6	7.74	51.00	7.911	10.08
จุดที่ 7	7.71	50.80	7.834	14.41
จุดที่ 8	7.87	48.70	7.836	18.73
จุดที่ 9	7.65	51.20	7.778	20.77
จุดที่ 10	7.60	51.00	7.790	12.15
จุดที่ 11	7.74	55.00	7.874	12.62
จุดที่ 12	7.67	56.00	8.045	18.52
จุดที่ 13	7.80	53.00	7.883	17.30
จุดที่ 14	7.72	55.00	7.870	21.21
จุดที่ 15	7.65	52.00	7.773	19.10
จุดที่ 16	7.81	55.00	7.845	21.42
จุดที่ 17	7.87	52.00	8.027	21.05
จุดที่ 18	7.60	52.00	7.897	26.16
จุดที่ 19	7.77	54.00	8.183	32.14
จุดที่ 20	7.71	52.00	7.665	23.92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดินที่ใช้ในการคัดแยกแอกติโนมัยซีทโดยวิธี  
ที่ 2 และ 3

ตัวอย่างดิน	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	อุณหภูมิ ณ จุดเก็บ (องศาเซลเซียส)	น้ำหนักดิน (กรัม)	ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)
จุดที่ 1	7.60	55.00	7.895	0.62
จุดที่ 2	7.41	56.00	7.956	0.14
จุดที่ 3	7.73	56.00	7.926	0.29
จุดที่ 4	7.52	54.00	7.902	0.15
จุดที่ 5	7.71	56.00	7.867	0.05
จุดที่ 6	7.86	52.00	7.895	0.09
จุดที่ 7	7.65	53.00	7.890	0.19
จุดที่ 8	7.72	54.00	7.950	1.38
จุดที่ 9	7.77	56.00	8.094	0.59
จุดที่ 10	7.54	57.00	7.774	0.39
จุดที่ 11	7.65	58.00	7.826	0.30
จุดที่ 12	7.71	57.00	7.845	0.00
จุดที่ 13	7.56	56.00	7.850	4.83
จุดที่ 14	7.75	57.60	7.955	0.37
จุดที่ 15	7.60	51.00	7.901	1.84
จุดที่ 16	7.55	56.00	8.059	1.16
จุดที่ 17	7.67	54.00	7.946	0.83
จุดที่ 18	7.74	51.00	7.922	0.10
จุดที่ 19	7.63	51.00	8.000	0.57
จุดที่ 20	7.80	54.00	7.810	1.18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการคัดแยกเชื้อแอสคิตินอิมยซีทจากดินธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี คัดแยกได้ทั้งหมด 57 ไอโซเลท วิธีที่ 1 เป็นการคัดแยกโดยยอบดินตัวอย่างที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงเจือจางตัวอย่างด้วย 0.1% tween 80 และ 0.1% Basic Lauryl Sulfate แล้วดูดสารละลายตัวอย่างมาเกลี่ยบนอาหาร SCA ที่เติม nystatin ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 วันพบว่าสามารถคัดแยกแอสคิตินอิมยซีทได้ 25 ไอโซเลท ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Janaki *et al.* (2016) ได้ทำการแยกเชื้อแอสคิตินอิมยซีทจากดินรอบต้นโกกง โดยยอบดินตัวอย่างที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ แล้วดูดสารละลายตัวอย่างมาทำการ pour plate โดยใช้อาหาร SCA ที่เติม fluconazole ความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ nalidixic acid ความเข้มข้น 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน พบว่าสามารถคัดแยกแอสคิตินอิมยซีทได้ 25 ไอโซเลท เช่นกัน

วิธีที่ 2 เป็นการคัดแยกโดยทำการ pretreatment ตัวอย่างดินด้วยความร้อนขึ้นที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และวิธีที่ 3 เป็นการคัดแยกโดยทำการ pretreatment ตัวอย่างดินด้วยความร้อนแห้งที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จากการทดลองพบว่าวิธีที่ 2 สามารถคัดแยกแอสคิตินอิมยซีทได้ 22 ไอโซเลท คิดเป็น 68.75% ของจำนวนไอโซเลททั้งหมดที่แยกได้จากวิธีที่ 2 และ 3 รวมกัน ซึ่งมีจำนวนมากกว่าเชื้อแอสคิตินอิมยซีทที่แยกโดยใช้วิธีที่ 3 ที่สามารถคัดแยกได้เพียง 10 ไอโซเลท คิดเป็น 31.25% ของจำนวนไอโซเลททั้งหมดที่แยกได้จากวิธีที่ 2 และ 3 รวมกัน ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Malex *et al.* (2014) ทำการคัดแยกเชื้อแอสคิตินอิมยซีทจากดินป่าโกกง โดยทำการ pretreatment ตัวอย่างดินด้วยความร้อนขึ้นที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และอีกวิธีเป็นการคัดแยกโดยทำการ pretreatment ตัวอย่างดินด้วยความร้อนแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ผลการทดลองพบว่า เชื้อแอสคิตินอิมยซีทที่คัดแยกได้ทั้งหมดมีจำนวน 140 ไอโซเลท ซึ่งจำนวนมากกว่า 2 ใน 3 (84.11%) เป็นเชื้อที่ได้จากการ pretreatment ตัวอย่างดินด้วยความร้อนขึ้น เนื่องจากการ pretreatment ด้วยความร้อนแห้งจะเหมาะสมสำหรับการคัดแยกแอสคิตินอิมยซีทที่มีสปอร์ ทำให้พบจำนวนแอสคิตินอิมยซีทน้อยกว่า อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะส่งเสริมการสร้างเอนโดสปอร์ที่มีความทนทานสูง ซึ่งจากการศึกษาพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมนั้นคือ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

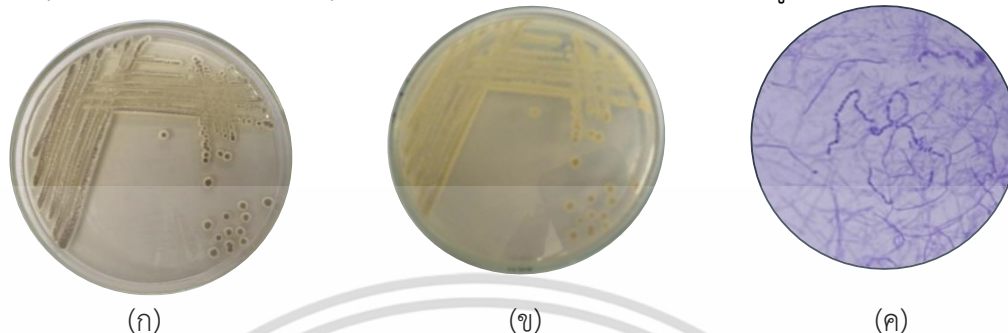
#### 4.3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอสคิตินอิมยซีทที่คัดแยกได้จากดินธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี

##### -เชื้อแอสคิตินอิมยซีทที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 1 จำนวน 25 ไอโซเลท

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอสคิตินอิมยซีทที่พบจากการเก็บตัวอย่างดินบริเวณธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี จำนวน 25 ไอโซเลท เมื่อวันที่ 3 ธันวาคม 2559 เมื่อสังเกตลักษณะเด่นของเชื้อแอสคิตินอิมยซีทเบื้องต้นจากลักษณะโคโลนี เส้นใยอากาศ (Aerial mycelium) เส้นใยใต้อาหาร (Substrate mycelium) รังควัตถุ และลักษณะของสปอร์สามารถจัดกลุ่มเชื้อแอสคิตินอิมยซีทที่พบได้ 5 กลุ่ม ตามสีมาตรฐาน The NBS/IBCC Color system (ภาคผนวก ข) ดังนี้

**กลุ่ม 1** เป็นกลุ่มของแอสโคดิโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสี Yellow ได้แก่

เชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BK 120 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้  
อาหารสี Pale Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain) มีลักษณะแบบ  
Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ ดังรูปที่ 4.1



**รูปที่ 4.1** แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BK 120

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BK 120 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BK 120 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BK 120 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BK 122 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้  
อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว  
(Polysporous) มีลักษณะเป็นแบบ Rectiflexibiles ดังรูปที่ 4.2



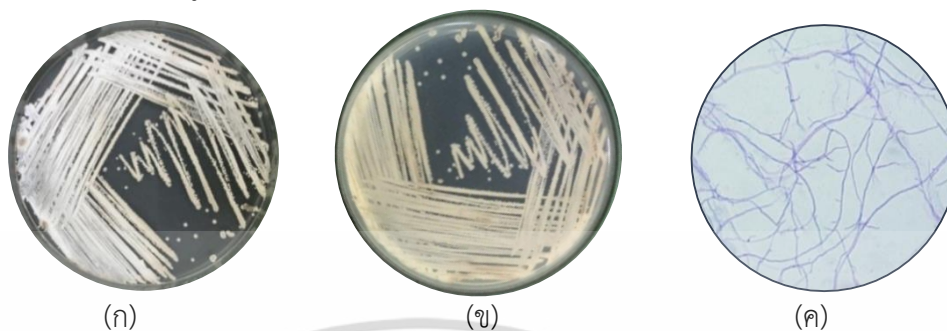
**รูปที่ 4.2** แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BK 122

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BK 122 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BK 122 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BK 122 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BK 220 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้  
อาหารสี Pale Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ ไม่พบการสร้างสปอร์บนอาหาร  
Starch Casein Agar ดังรูปที่ 4.3



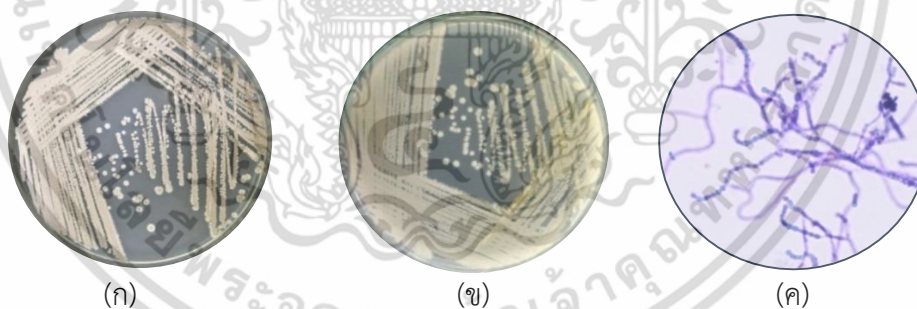
รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 220

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 220 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 220 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 220 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BK 520 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray เส้นใยใต้  
อาหารสี Yellowish Gray ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporerous) มี  
ลักษณะแบบ Retinaculiaperti สายสปอร์คล้ายขอ (hook) ดังรูปที่ 4.4



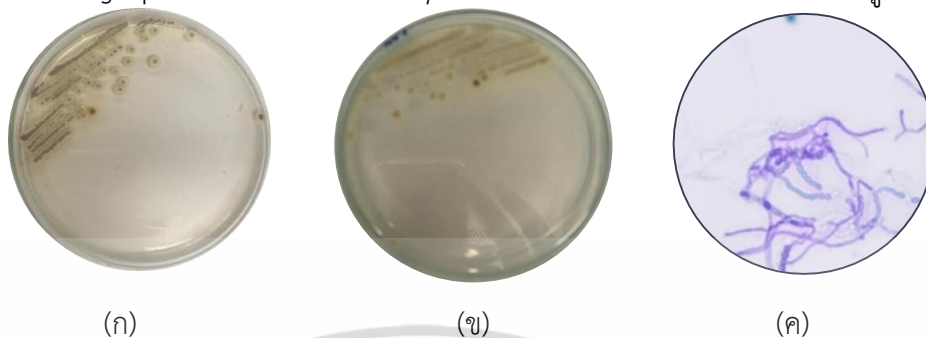
รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 520

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 520 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 520 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 520 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BK 522 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray เส้นใยได้ อาหารสี Moderate Yellow Green ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain) มีลักษณะแบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ ดังรูปที่ 4.5



(ก)

(ข)

(ค)

รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 522

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 522 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 522 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 522 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BK 530 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยได้ อาหารสี Strong Olive Green ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มีลักษณะแบบ Rectiflexibiles หรือสายสปอร์ตรงหรือโค้งงอ ดังรูปที่ 4.6



(ก)

(ข)

(ค)

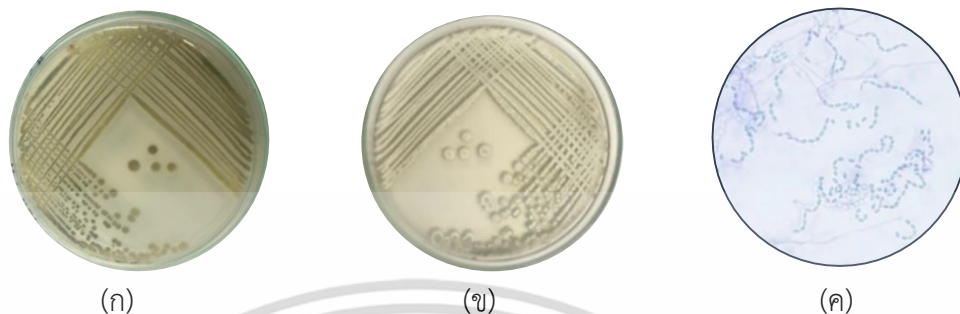
รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 530

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 530 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 530 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 530 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลทที่ BK 730 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้  
อาหารสี Grayish Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain)  
มีลักษณะแบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ ดังรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 730

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 730 บนอาหาร Starch Casein  
Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 730 บนอาหาร Starch Casein  
Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 730 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง  
(กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลทที่ BK 820 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้  
อาหารสี Light Yellow Green ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain) มี  
ลักษณะแบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ ดังรูปที่ 4.8



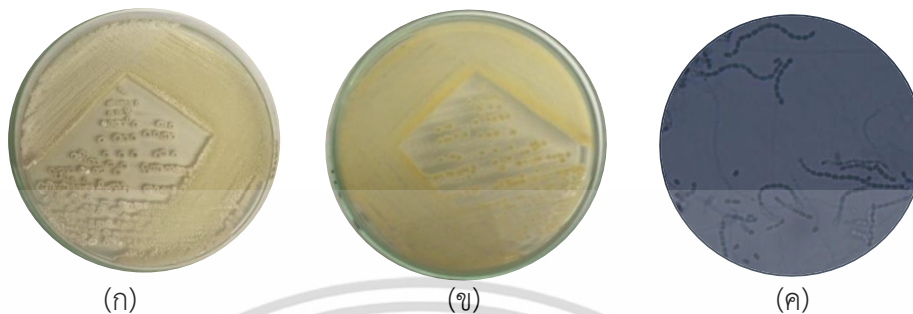
รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 820

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 820 บนอาหาร Starch Casein  
Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 820 บนอาหาร Starch Casein  
Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 820 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง  
(กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BK 821 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้  
อาหารสี Light Yellow Green ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain) มี  
ลักษณะแบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ ดังรูปที่ 4.9



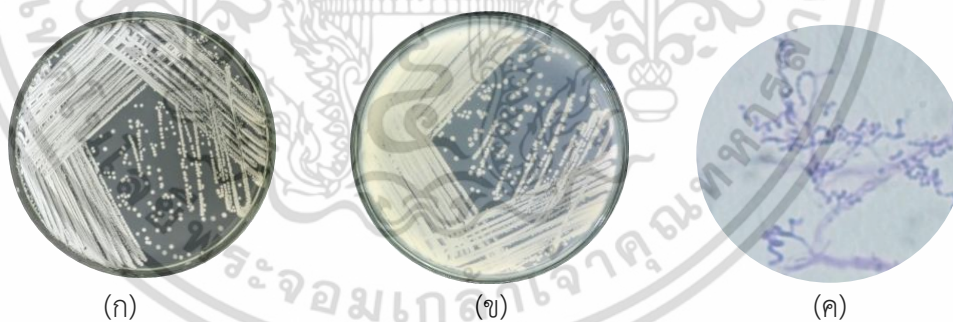
รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK821

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 821 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 821 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 821 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BK1020 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้  
อาหารสี Yellowish White ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์สายยาวแบบ Verticillati หรือ  
สายสปอร์ชดคล้ายกันหอย และแตกแขนงกันแน่น ดังรูปที่ 4.10



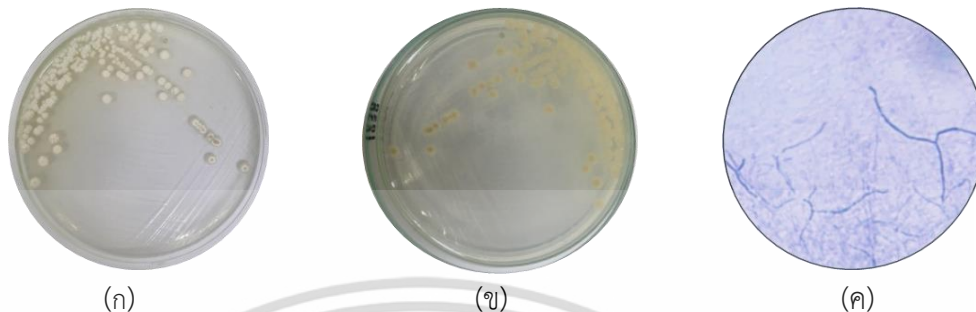
รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 1020

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 1020 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 1020 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 1020 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลทที่ BK 1030 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้  
อาหารสี Pale Yellow Green ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์ภายในถุงหุ้มสปอร์  
(Sporangia) มีลักษณะแบบ Polysporous ของ *Planopolyspora* หรือสายสปอร์รูปทรงคล้ายท่อ  
ดังรูปที่ 4.11



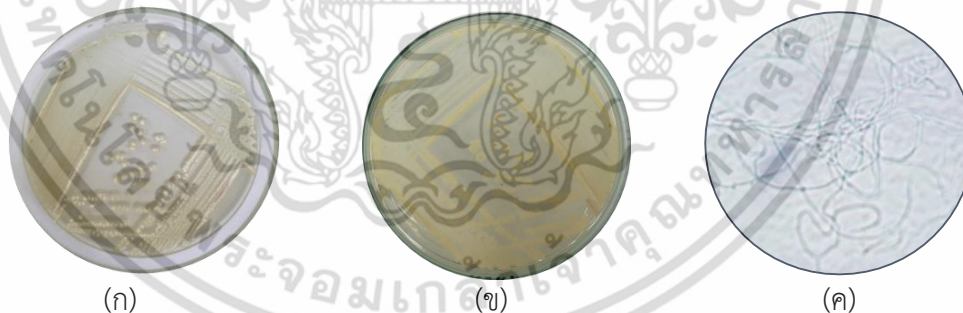
รูปที่ 4.11 แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 1030

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 1030 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 1030 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 1030 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลทที่ BK 1232 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้  
อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์ภายในถุงหุ้มสปอร์  
(Sporangia) มีลักษณะแบบ Polysporous ของ *Planopolyspora* หรือสายสปอร์รูปทรงคล้ายท่อ  
ดังรูปที่ 4.12



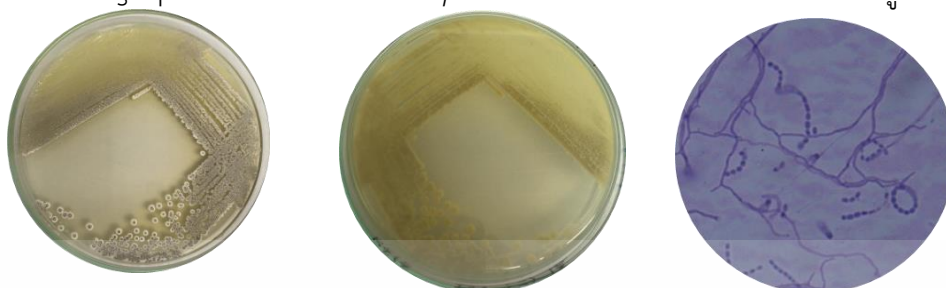
รูปที่ 4.12 แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 1232

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 1232 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 1232 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 1232 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลทที่ BK 2020 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray เส้นใยใต้  
อาหารสี Moderate Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain)  
มีลักษณะแบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ ดังรูปที่ 4.13



(ก)

(ข)

(ค)

รูปที่ 4.13 แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 2120

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 2120 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 2120 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 2120 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

**กลุ่ม 2** เป็นกลุ่มของแอสโคไมซีตที่สร้างเส้นใยอากาศสี Olive ได้แก่

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลทที่ BK 121 สร้างเส้นใยอากาศสี Light Grayish Olive เส้นใยใต้  
อาหารสี Moderate Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว  
(Polysporous) มีลักษณะเป็นแบบ Rectiflexibiles ดังรูปที่ 4.14



(ก)

(ข)

(ค)

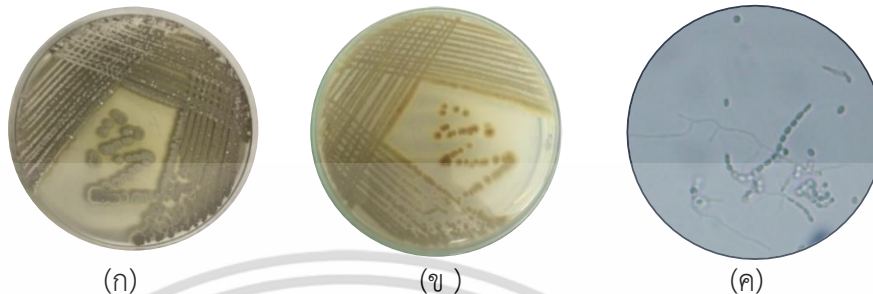
รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 121

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 121 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 121 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 121 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลทที่ BK 132 สร้างเส้นใยอากาศ Light Olive Gray เส้นใยใต้  
อาหารสี Dark Grayish Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Pale Greenish Yellow สร้างสปอร์  
แบบสายสั้น (Chain) มีลักษณะแบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึง  
โค้งงอ ดังรูปที่ 4.15



รูปที่ 4.15 แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 132

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 132 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน  
(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 132 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน  
(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 132 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

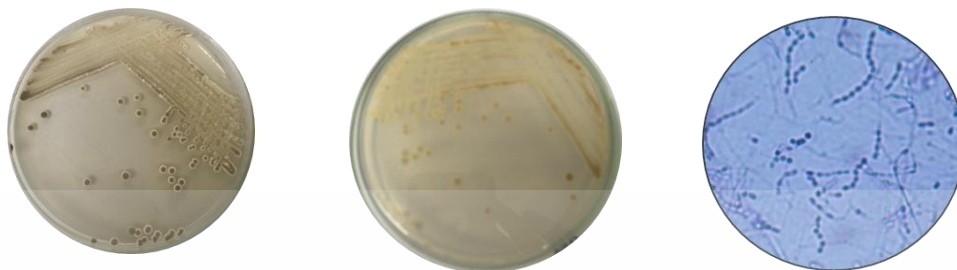
เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลทที่ BK 230 สร้างเส้นใยอากาศ Light Olive Gray เส้นใยใต้  
อาหารสี Yellowish Gray ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain) มีลักษณะ  
แบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ ดังรูปที่ 4.16



รูปที่ 4.16 แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 230

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 230 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน  
(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 230 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน  
(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 230 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BK 830 สร้างเส้นใยอากาศ Light Olive Gray เส้นใยใต้  
อาหารสี Pale Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain) มี  
ลักษณะแบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ ดังรูปที่ 4.17



(ก)

(ข)

(ค)

#### รูปที่ 4.17 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 830

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 830 บนอาหาร Starch Casein  
Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 830 บนอาหาร Starch Casein  
Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 830 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง  
(กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BK 831 สร้างเส้นใยอากาศ Light Olive Gray เส้นใยใต้  
อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain) มี  
ลักษณะแบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ ดังรูปที่ 4.18



(ก)

(ข)

(ค)

#### รูปที่ 4.18 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 831

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 831 บนอาหาร Starch Casein  
Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 831 บนอาหาร Starch Casein  
Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 831 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง  
(กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BK 1021 สร้างเส้นใยอากาศ Light Grayish Olive เส้นใยใต้  
อาหารสี Grayish Yellow Green ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์ภายในถุงหุ้มสปอร์  
(Sporangia) มีลักษณะแบบ Polysporous ของ *Planopolyspora* หรือสายสปอร์รูปทรงคล้ายท่อ  
ดังรูปที่ 4.19



รูปที่ 4.19 แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BK 1021

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BK 1021 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BK 1021 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BK 1021 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BK 1630 สร้างเส้นใยอากาศ Light Olive Gray เส้นใยใต้  
อาหารสี Yellowish White ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain) มีลักษณะ  
แบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ ดังรูปที่ 4.20



รูปที่ 4.20 แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BK 1630

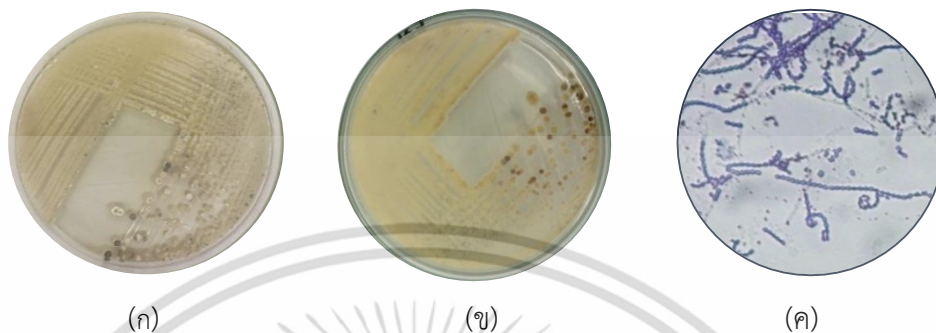
(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BK 1630 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BK 1630 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BK 1630 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

**กลุ่ม 3** เป็นกลุ่มของแอสโคไมซีตที่สร้างเส้นใยอากาศสี Yellow Green ได้แก่

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลทที่ BK 123 สร้างเส้นใยอากาศ Light Yellow Green เส้นใยใต้  
อาหารสี Pale Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มี  
ลักษณะ Retinaculiaperti สายสปอร์คล้ายขอ (hook) เป็นวงเปิดหรือเป็นเกลียวซ้อนกัน 1-3 ชั้น  
ดังรูปที่ 4.21



**รูปที่ 4.21** แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 123

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 123 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 123 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 123 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลทที่ BK 232 สร้างเส้นใยอากาศ Grayish Yellow Green เส้นใย  
ใต้อาหารสี Pale Yellow Green ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain) มี  
ลักษณะแบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ ดังรูปที่ 4.22



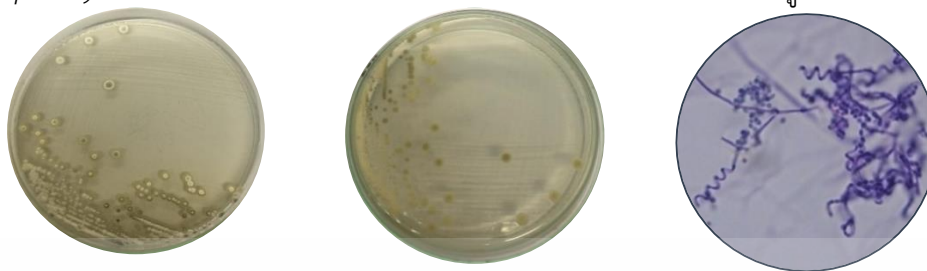
**รูปที่ 4.22** แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 232

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 232 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 232 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 232 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BK 235 สร้างเส้นใยอากาศ Grayish Yellow Green เส้นใย  
ใต้อาหารสี Pale Yellow Green ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์สายยาวแบบ Verticillati  
ของ *Streptomyces* หรือสายสปอร์ขดคล้ายกันหอย และแตกแขนงกันแน่น ดังรูปที่ 4.23



(ก)

(ข)

(ค)

#### รูปที่ 4.23 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 235

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 235 บนอาหาร Starch Casein  
Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 235 บนอาหาร Starch Casein  
Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 235 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง  
(กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

**กลุ่ม 4** เป็นกลุ่มของแอกติโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสี Brown ได้แก่

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BK 521 สร้างเส้นใยอากาศ Light Brownish Gray เส้นใยใต้  
อาหารสี Grayish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain) มีลักษณะ  
แบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ ดังรูปที่ 4.24



(ก)

(ข)

(ค)

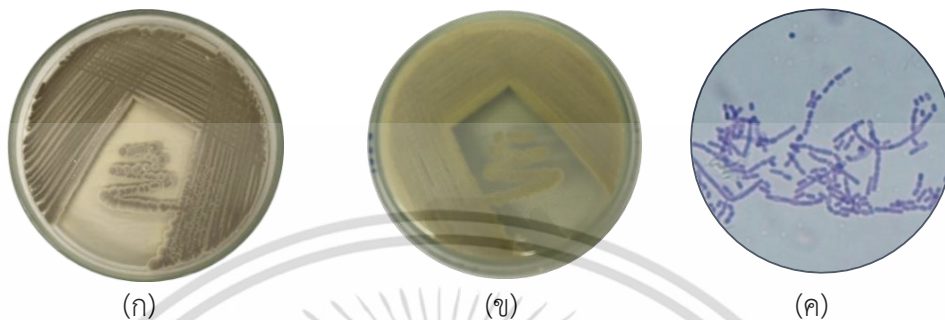
#### รูปที่ 4.24 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 521

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 521 บนอาหาร Starch Casein  
Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 521 บนอาหาร Starch Casein  
Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BK 521 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง  
(กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

**กลุ่ม 5** เป็นกลุ่มของแอสโคไมซีตที่สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Brown ได้แก่ เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลทที่ BK 1520 สร้างเส้นใยอากาศ Light Grayish Yellowish Brown เส้นใยใต้อาหารสี Light Yellow Green ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มีลักษณะเป็นแบบ Rectiflexibles ดังรูปที่ 4.25



(ก)

(ข)

(ค)

**รูปที่ 4.25** แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 1520

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 1520 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 1520 บนอาหาร Starch Casein Agar (SCA) ระยะเวลา 14 วัน

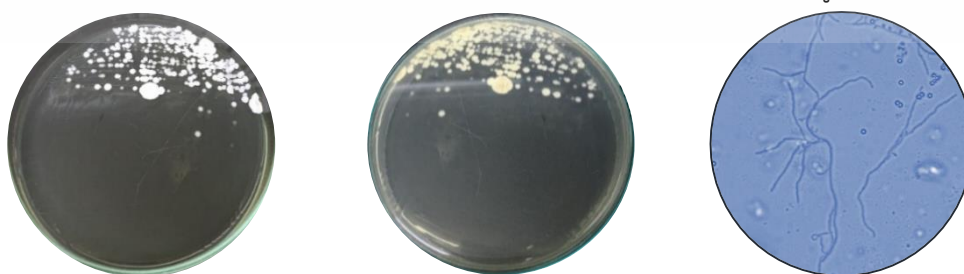
(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BK 1520 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

**-เชื้อแอสโคไมซีตที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 จำนวน 32 ไอโซเลท**

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอสโคไมซีตที่พบจากการเก็บตัวอย่างดินบริเวณธารน้ำร้อนบ่อคลิ้ง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี จำนวน 32 ไอโซเลท เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2560 เมื่อสังเกตลักษณะเด่นของเชื้อแอสโคไมซีตเบื้องต้นจากลักษณะโคโลนี เส้นใยอากาศ (Aerial mycelium) เส้นใยใต้อาหาร (Substrate mycelium) รงควัตถุ และลักษณะของสปอร์สามารถจัดกลุ่มเชื้อแอสโคไมซีตที่พบได้ 4 กลุ่ม ตามสีมาตรฐาน The NBS/IBCC Color system (ภาคผนวก ข) ดังนี้

**กลุ่ม 1** เป็นกลุ่มของแอสโคไมซีตที่สร้างเส้นใยอากาศสี Yellow ได้แก่

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลทที่ BKH 00723 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มีลักษณะแบบ Rectiflexibles หรือสายสปอร์ตรงหรือโค้งงอ ดังรูปที่ 4.26



(ก)

(ข)

(ค)

**รูปที่ 4.26** แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BKH 00723

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 00723 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 00723 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 00723 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 00830 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray เส้นใยใต้อาหารสี Moderate Olive สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Brilliant Yellow Green สร้างสปอร์ภายในถุงหุ้มสปอร์ (Sporangia) มีลักษณะแบบ Polysporous ของ *Planopolyspora* หรือสายสปอร์รูปทรงคล้ายท่อ ดังรูปที่ 4.27



(ก)

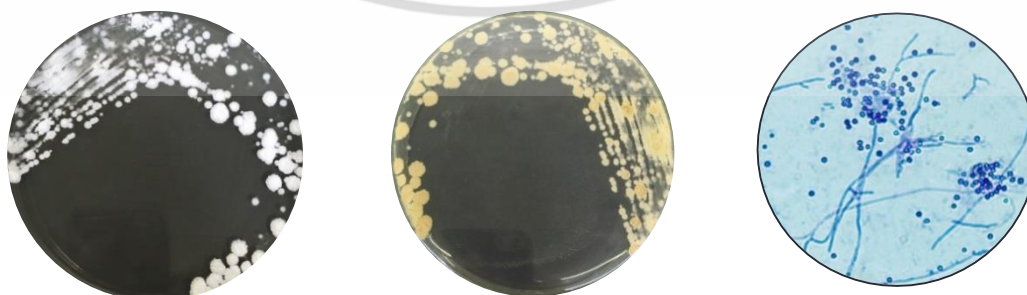
(ข)

(ค)

รูปที่ 4.27 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 00830

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 00830 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 00830 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 00830 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 01721 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้อาหารสี Light Yellow Green ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มีลักษณะแบบ Rectiflexibiles หรือสายสปอร์ตรงหรือโค้งงอ ดังรูปที่ 4.28



(ก)

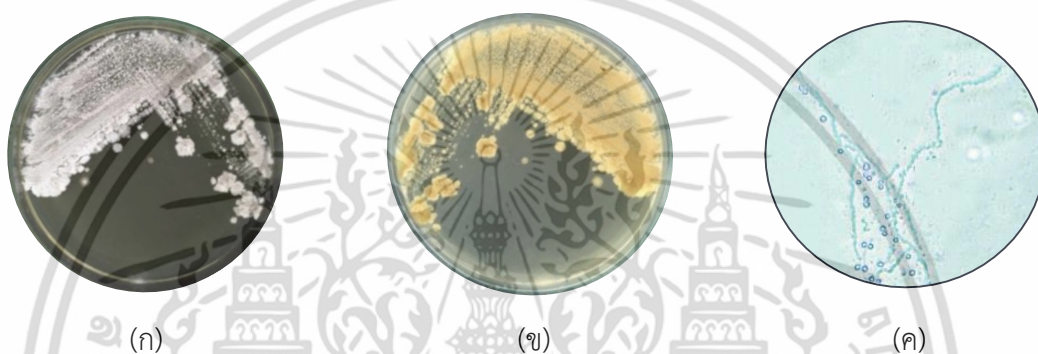
(ข)

(ค)

รูปที่ 4.28 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01721

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสเพอร์จิลไลต์ไอโซเลท BKH 01721 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสเพอร์จิลไลต์ไอโซเลท BKH 01721 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสเพอร์จิลไลต์ไอโซเลท BKH 01721 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

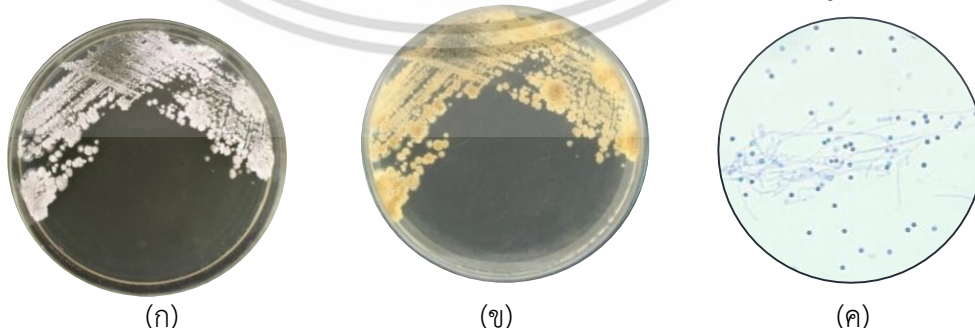
เชื้อแอสเพอร์จิลไลต์ไอโซเลทที่ BKH 01722 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์ภายในถุงหุ้มสปอร์ (Sporangia) มีลักษณะแบบ Polysporous ของ *Planopolyspora* หรือสายสปอร์รูปทรงคล้ายท่อ ดังรูปที่ 4.29



รูปที่ 4.29 แสดงลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลไลต์ไอโซเลท BKH 01722

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสเพอร์จิลไลต์ไอโซเลท BKH 01722 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสเพอร์จิลไลต์ไอโซเลท BKH 01722 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสเพอร์จิลไลต์ไอโซเลท BKH 01722 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสเพอร์จิลไลต์ไอโซเลทที่ BKH 01724 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มีลักษณะแบบ Rectiflexibles หรือสายสปอร์ตรงหรือโค้งงอ ดังรูปที่ 4.30



รูปที่ 4.30 แสดงลักษณะของเชื้อแอสเพอร์จิลไลต์ไอโซเลท BKH 01724

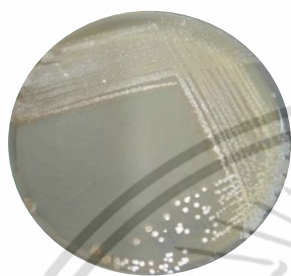
- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสเพอร์จิลไลต์ไอโซเลท BKH 01724 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01724 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01724 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

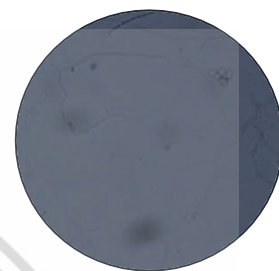
เชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 02020 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray เส้นใยใต้อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มีลักษณะแบบ Rectiflexbiles หรือสายสปอร์ตรงหรือโค้งงอ ดังรูปที่ 4.31



(ก)



(ข)



(ค)

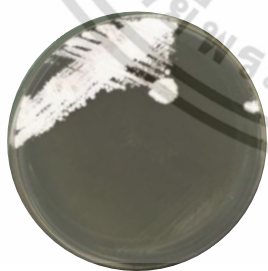
รูปที่ 4.31 แสดงลักษณะของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BKH 02020

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BKH 02020 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BKH 02020 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BKH 02020 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

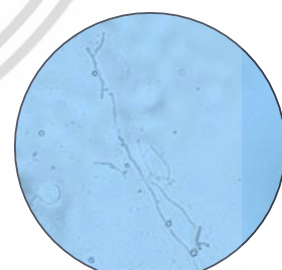
เชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 02030 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้อาหารสี Brilliant Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบ polysporous มีลักษณะแบบ Rectiflexbiles ของสายสปอร์ตรง หรือโค้งงอ ดังรูปที่ 4.32



(ก)



(ข)



(ค)

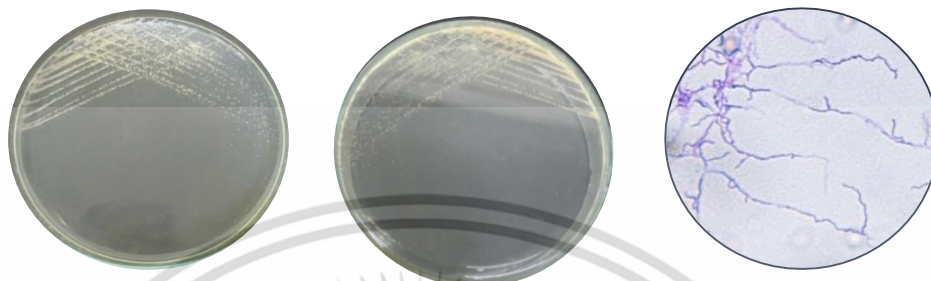
รูปที่ 4.32 แสดงลักษณะของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BKH 02030

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BKH 02030 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสทีโนมัยซีทไอโซเลท BKH 02030 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BKH 02030 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 222 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray เส้นใยใต้อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มีลักษณะแบบ Rectiflexibiles ดังรูปที่ 4.33



(ก)

(ข)

(ค)

**รูปที่ 4.33** แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BKH 222

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BKH 222 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BKH 222 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BKH 222 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 241 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray เส้นใยใต้อาหารสี Brilliant Greenish Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Brilliant Greenish Yellow สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain) มีลักษณะแบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ ดังรูปที่ 4.34



(ก)

(ข)

(ค)

**รูปที่ 4.34** แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BKH 241

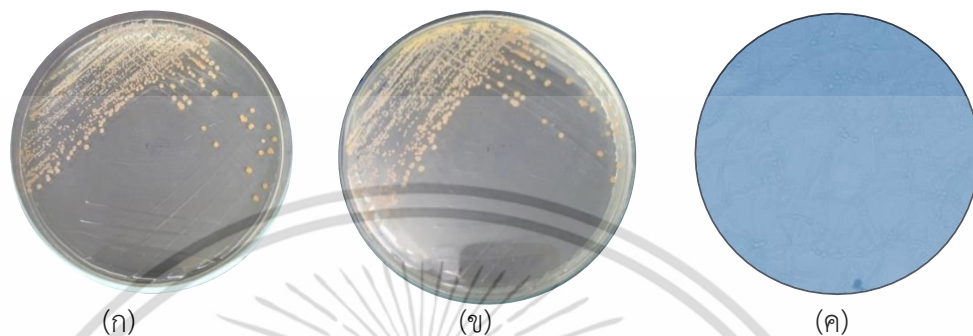
(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BKH 241 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคดิโนมัยซีทไอโซเลท BKH 241 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 241 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 432 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray เส้นใยใต้อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain) มีลักษณะแบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ ดังรูปที่ 4.35



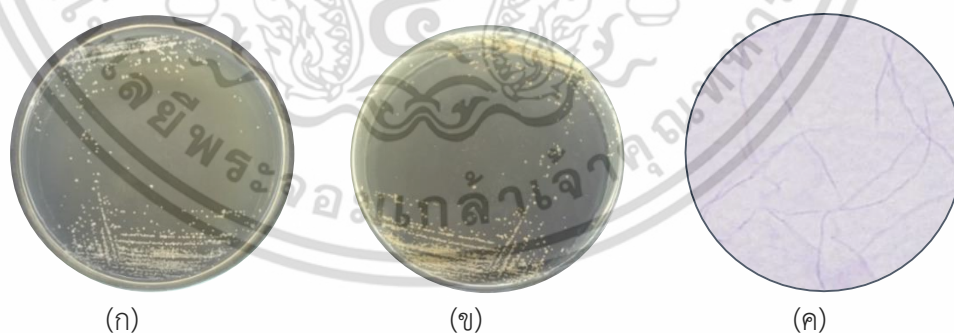
รูปที่ 4.35 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 432

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 432 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 432 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 432 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 521 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้อาหารสี Pale Yellow Green ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ ไม่พบการสร้างสปอร์บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ดังรูปที่ 4.36



รูปที่ 4.36 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 521

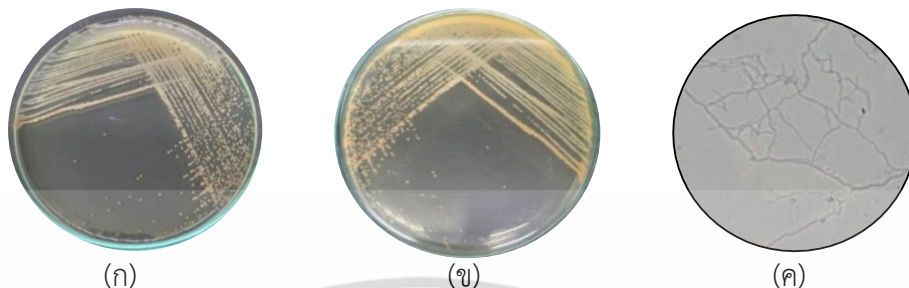
(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 521 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 521 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 521 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 722 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray เส้นใยใต้  
อาหารสี Pale Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ ไม่พบการสร้างสปอร์บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ดังรูปที่ 4.37



(ก)

(ข)

(ค)

รูปที่ 4.37 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 722

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 722 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 722 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 722 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 1322 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้  
อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain) มี  
ลักษณะแบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ ดังรูปที่ 4.38



(ก)

(ข)

(ค)

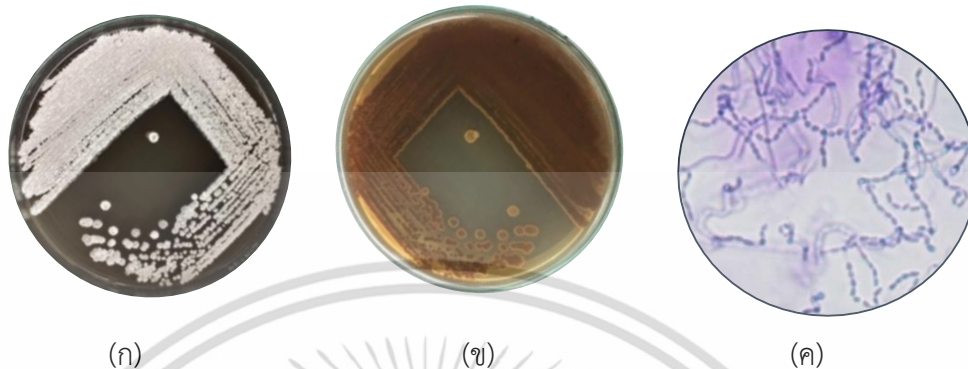
รูปที่ 4.38 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1322

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1322 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1322 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1322 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 1731 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray เส้นใยใต้  
อาหารสี Moderate Yellowish Brown สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light Olive Brown สร้างสปอร์  
แบบ polysporous ลักษณะแบบ Retinaculiaperti สายสปอร์คล้ายขอ (hook) เป็นวงเปิดหรือเป็น  
เกลียวซ้อนกัน 1-3 ชั้น ดังรูปที่ 4.39



(ก)

(ข)

(ค)

รูปที่ 4.39 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1731

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1731 บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1731 บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1731 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้  
แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 1922 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้  
อาหารสี Light Yellow Green ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์ภายในถุงหุ้มสปอร์  
(Sporangia) มีลักษณะแบบ Polysporous ของ *Planopolyspora* หรือสายสปอร์รูปทรงคล้ายท่อ  
ดังรูปที่ 4.40



(ก)

(ข)

(ค)

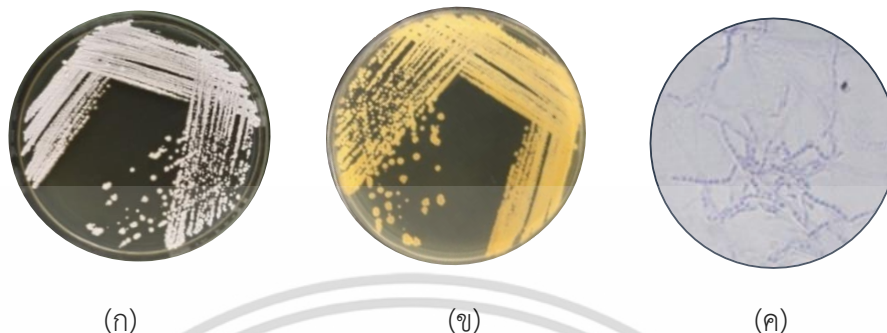
รูปที่ 4.40 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1922

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1922 บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1922 บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1922 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้  
แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 1941 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray เส้นใยใต้  
อาหารสี Light Yellow Green ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว  
(Polysporous) มีลักษณะเป็นแบบ Rectiflexbiles ดังรูปที่ 4.41



(ก)

(ข)

(ค)

**รูปที่ 4.41** แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1941

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1941 บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1941 บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1941 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้  
แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 1943 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้  
อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว  
(Polysporous) มีลักษณะแบบ Rectiflexbiles ดังรูปที่ 4.42



(ก)

(ข)

(ค)

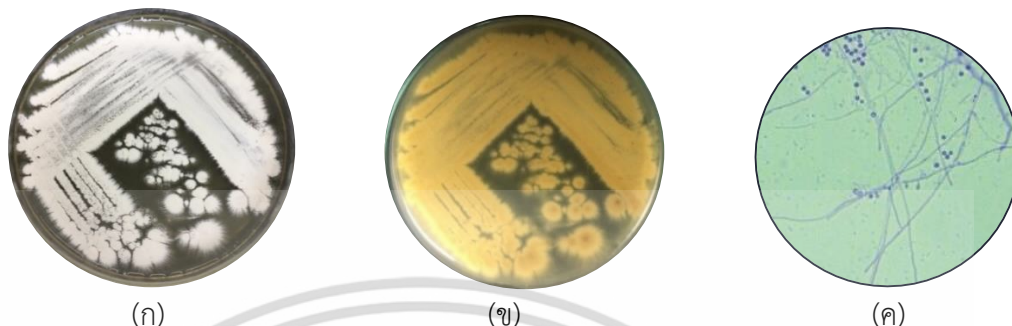
**รูปที่ 4.42** แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1943

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1943 บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1943 บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1943 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้  
แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BKH 2024 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้  
อาหารสี Brilliant Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว  
(Polysporous) มีลักษณะแบบ Rectiflexbiles หรือสายสปอร์ตรงหรือโค้งงอ ดังรูปที่ 4.43



รูปที่ 4.43 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2024

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2024 บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน  
(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2024 บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน  
(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2024 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้  
แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

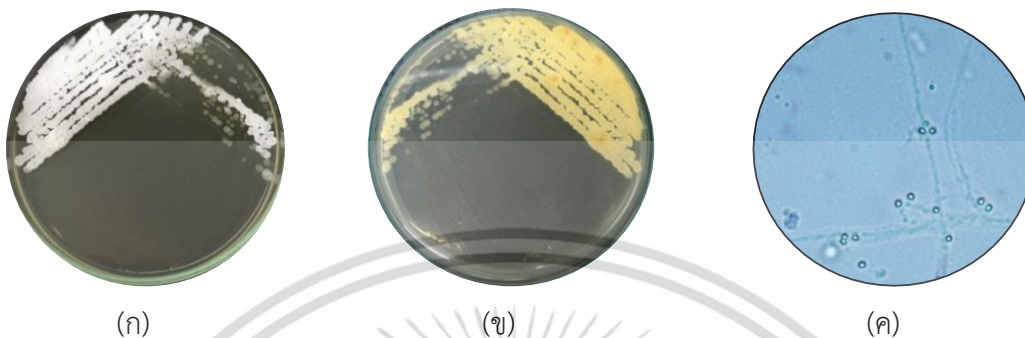
เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 2025 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้  
อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว  
(Polysporous) มีลักษณะแบบ Rectiflexbiles ดังรูปที่ 4.44



รูปที่ 4.44 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2025

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2025 บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน  
(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2025 บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน  
(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2025 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้  
แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 2026 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray เส้นใยใต้  
อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์ภายในถุงหุ้มสปอร์  
(Sporangia) มีลักษณะแบบ Polysporous ของ *Planopolyspora* หรือสายสปอร์รูปทรงคล้ายท่อ  
ดังรูปที่ 4.45



รูปที่ 4.45 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2026

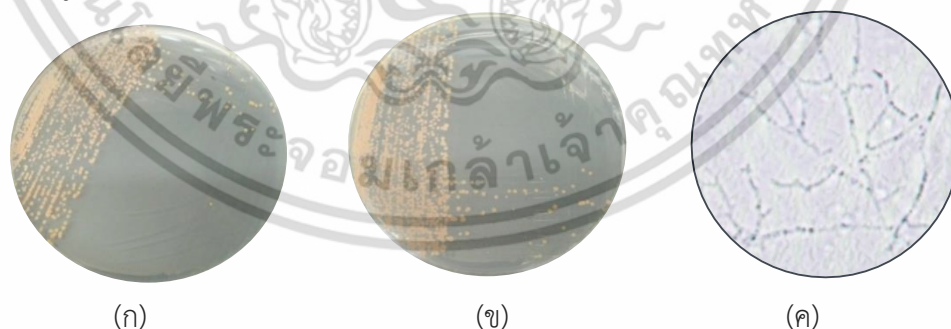
(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2026 บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2026 บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2026 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้  
แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

**กลุ่ม 2** เป็นกลุ่มของแอกติโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสี Greenish Yellow ได้แก่

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 00431 สร้างเส้นใยอากาศสี Pale Greenish Yellow  
เส้นใยใต้อาหารสี Pale Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์ภายในถุงหุ้ม  
สปอร์ (Sporangia) มีลักษณะแบบ Polysporous ของ *Planopolyspora* หรือสายสปอร์รูปทรง  
คล้ายท่อ ดังรูปที่ 4.46



รูปที่ 4.46 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 0431

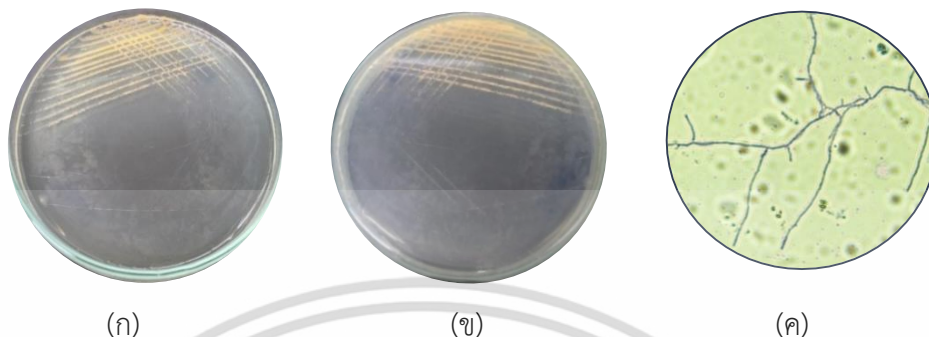
(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 0431 บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 0431 บนอาหาร  
International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 0431 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้  
แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 00722 สร้างเส้นใยอากาศสี Light Greenish Yellow เส้นใยใต้อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มีลักษณะแบบ Rectiflexbiles ดังรูปที่ 4.47



(ก)

(ข)

(ค)

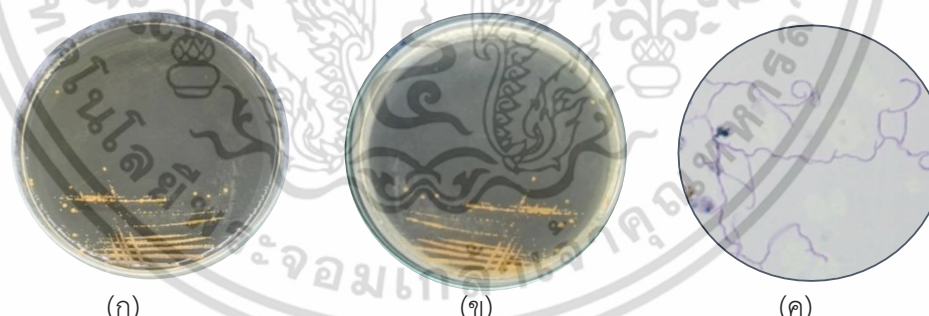
**รูปที่ 4.47** แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 0722

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 0722 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 0722 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 0722 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 422 สร้างเส้นใยอากาศสี Vivid Greenish Yellow เส้นใยใต้อาหารสี Vivid Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มีลักษณะแบบ Rectiflexbiles หรือสายสปอร์ตรงหรือโค้งงอ ดังรูปที่ 4.49



(ก)

(ข)

(ค)

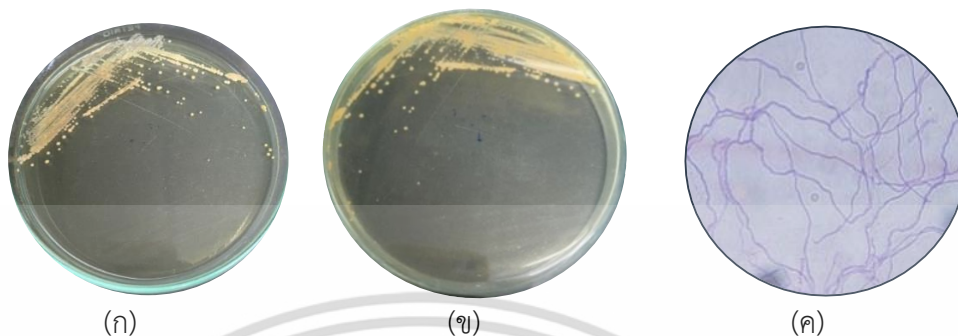
**รูปที่ 4.48** แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 422

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 422 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 422 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 422 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสโตโมนัสซีทไอโซเลทที่ BKH 431 สร้างเส้นใยอากาศสี Pale Greenish Yellow เส้นใยใต้อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ ไม่พบการสร้างสปอร์บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ดังรูปที่ 4.50



(ก)

(ข)

(ค)

**รูปที่ 4.49** แสดงลักษณะของเชื้อแอสโตโมนัสซีทไอโซเลท BKH 431

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโตโมนัสซีทไอโซเลท BKH 431 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโตโมนัสซีทไอโซเลท BKH 431 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโตโมนัสซีทไอโซเลท BKH 431 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสโตโมนัสซีทไอโซเลทที่ BKH 731 สร้างเส้นใยอากาศสี Pale Greenish Yellow เส้นใยใต้อาหารสี Pale Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ ไม่พบการสร้างสปอร์บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ดังรูปที่ 4.51



(ก)

(ข)

(ค)

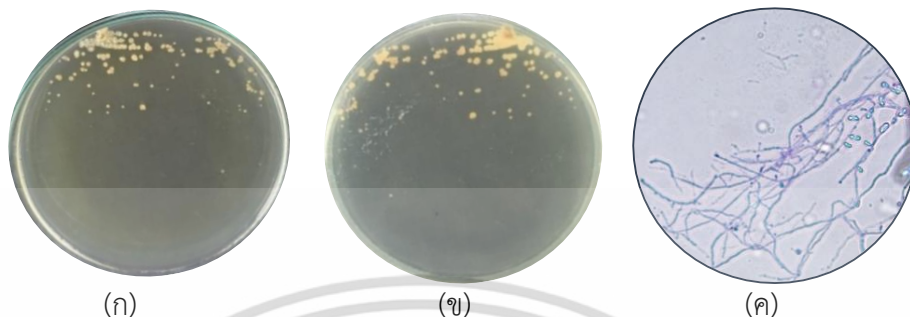
**รูปที่ 4.50** แสดงลักษณะของเชื้อแอสโตโมนัสซีทไอโซเลท BKH 731

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโตโมนัสซีทไอโซเลท BKH 731 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโตโมนัสซีทไอโซเลท BKH 731 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโตโมนัสซีทไอโซเลท BKH 731 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

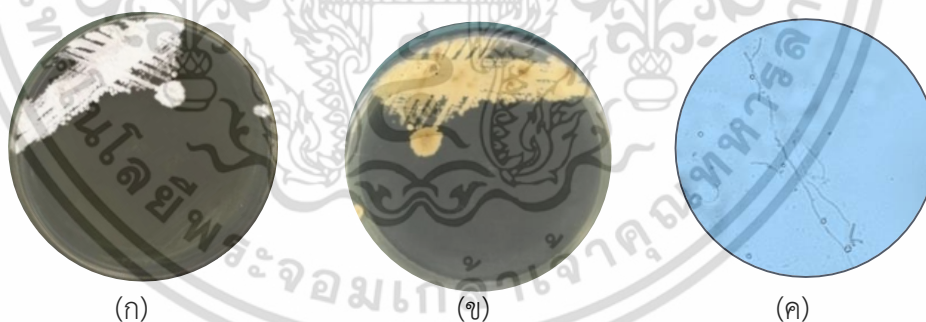
เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 2021 สร้างเส้นใยอากาศสี Brilliant Greenish Yellow เส้นใยใต้อาหารสี Light Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสาย bisporous การสร้างสปอร์เริ่มจากนั้นมีการพองออกและสร้างผนังกันตรงกลาง ดังรูปที่ 4.52



รูปที่ 4.51 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2021

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2021 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2021 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2021 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

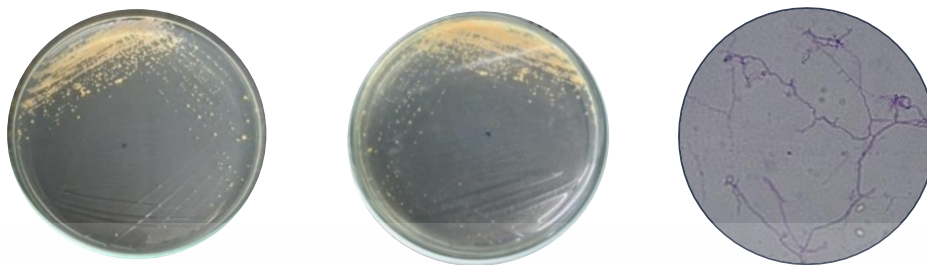
เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 203 สร้างเส้นใยอากาศสี Light Greenish Yellow เส้นใยใต้อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มีลักษณะแบบ Rectiflexibiles ดังรูปที่ 4.48



รูปที่ 4.52 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 203

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 203 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 203 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 203 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 2032 สร้างเส้นใยอากาศสี Light Greenish Yellow เส้นใยใต้อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มีลักษณะ Retinaculiaperti สายสปอร์คล้ายขอ (hook) ดังรูปที่ 4.53



(ก)

(ข)

(ค)

รูปที่ 4.53 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2032

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2032 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2032 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2032 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

**กลุ่ม 3** เป็นกลุ่มของแอกติโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสี Olive ได้แก่

เชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 01730 สร้างเส้นใยอากาศสี Light Olive Gray เส้นใยใต้อาหารสี Moderate Olive สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Dark Greenish Yellow สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มีลักษณะแบบ Retinaculiaperti สายสปอร์คล้ายขอ (hook) ดังรูปที่ 4.54



(ก)

(ข)

(ค)

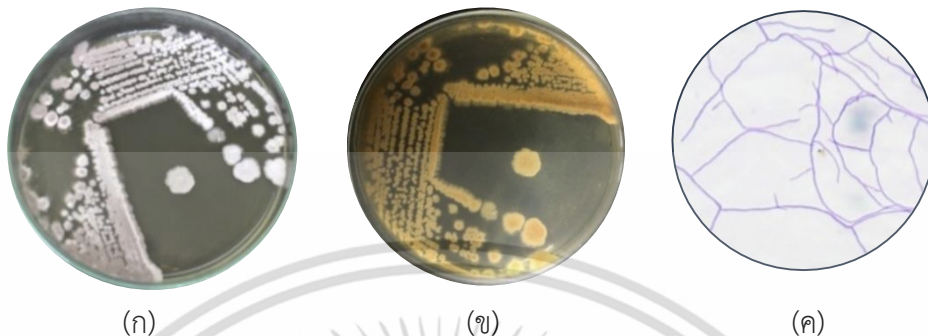
รูปที่ 4.54 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01730

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01730 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01730 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01730 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลทที่ BKH 232 สร้างเส้นใยอากาศสี Light Olive Gray เส้นใยใต้  
อาหารสี Brilliant Yellow Green สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light Greenish Yellow ไม่พบการ  
สร้างสปอร์บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ดังรูปที่  
4.55



(ก)

(ข)

(ค)

**รูปที่ 4.55** แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BKH 232

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BKH 232 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BKH 232 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BKH 232 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลทที่ BKH 2023 สร้างเส้นใยอากาศสี Light Olive Gray เส้นใยใต้  
อาหารสี Grayish Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain) มี  
ลักษณะแบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ ดังรูปที่ 4.56



(ก)

(ข)

(ค)

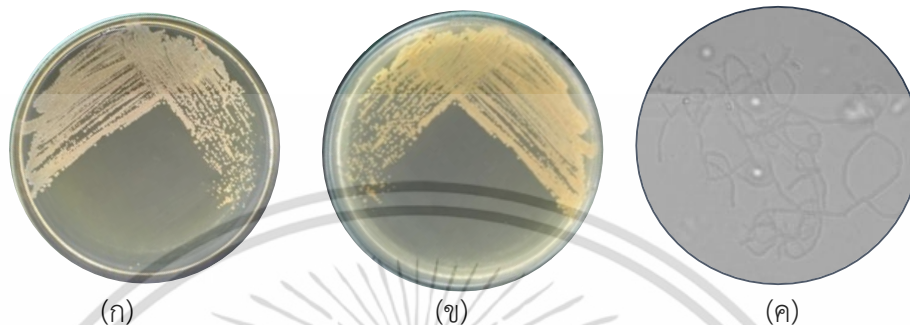
**รูปที่ 4.56** แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BKH 2023

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BKH 2023 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BKH 2023 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BKH 2023 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

**กลุ่ม 4** เป็นกลุ่มของแอสโคไมซีตที่สร้างเส้นใยอากาศสี Yellow Green ได้แก่ เชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลทที่ BKH 1921 สร้างเส้นใยอากาศสี Pale Yellow Green เส้นใยใต้อาหารสี Light Yellow Green ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์ภายในถุงหุ้มสปอร์ (Sporangia) มีลักษณะแบบ Polysporous ของ *Planopolyspora* หรือสายสปอร์รูปทรงคล้ายท่อ ดังรูปที่ 4.57



**รูปที่ 4.57** แสดงลักษณะของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BKH 1921

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BKH 1921 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BKH 1921 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอสโคไมซีตไอโซเลท BKH 1921 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ตารางที่ 4.5 แสดงลักษณะสีฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ได้จากคัดแยกโดยวิธีที่ 1  
จำนวน 25 ไอโซเลท ด้วยระบบสี The NBS/IBCC Color System

กลุ่ม	หมายเลข ไอโซเลท	เจริญบน อาหาร Starch casein agar	สีเส้นใยบน ผิวหน้าอาหาร	สีเส้นใยใต้อาหาร	สีของรงควัตถุ
1	BK 120	+	#F0EAD6 Yellowish White	#F3B5AB Pale Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 122	+	#F0EAD6 Yellowish White	#EAE679 Light Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 220	+	#F0EAD6 Yellowish White	#EBE8A4 Pale Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 522	+	#BFB8A5 Yellowish Gray	#8B8940 Moderate Yellow Green	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 520	+	#BFB8A5 Yellowish Gray	#BFB8A5 Yellowish Gray	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 530	+	#F0EAD6 Yellowish White	#0A4500 Strong Olive Green	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 730	+	#F0EAD6 Yellowish White	#B9B57D Grayish Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 820	+	#F0EAD6 Yellowish White	#DCD36A Light Yellow Green	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 821	+	#F0EAD6 Yellowish White	#DCD36A Light Yellow Green	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงลักษณะสีฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ได้จากคัดแยกโดยวิธีที่ 1  
จำนวน 25 ไอโซเลท ด้วยระบบสี The NBS/IBCC Color System (ต่อ)

กลุ่ม	หมายเลข ไอโซเลท	เจริญบน อาหาร Starch Casein agar	สีเส้นใยบน ผิวหน้าอาหาร	สีเส้นใยใต้อาหาร	สีของรงควัตถุ
1	BK 1020	+	#F0EAD6 Yellowish White	#F0EAD6 Yellowish White	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 1030	+	#F0EAD6 Yellowish White	#DADFB7 Pale Yellow Green	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 1232	+	#F0EAD6 Yellowish White	#EAE679 Light Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 2020	+	#BFB8A5 Yellowish Gray	#B9B459 Moderate Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
2	BK 121	+	#8C8767 Light Grayish Olive	#B9B459 Moderate Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 132	+	#8A8776 Light Olive Gray	#A18F60 Dark Grayish Yellow	#EBE8A4 Pale Greenish Yellow
	BK 230	+	#8A8776 Light Olive Gray	#BFB8A5 Yellowish Gray	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 830	+	#8A8776 Light Olive Gray	#FFDF84 Pale Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 831	+	#8A8776 Light Olive Gray	#EAE679 Light Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงลักษณะสีฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ได้จากคัดแยกโดยวิธีที่ 1  
จำนวน 25 ไอโซเลท ด้วยระบบสี The NBS/IBCC Color System (ต่อ)

กลุ่ม	หมายเลข ไอโซเลท	เจริญบน อาหาร Starch Casein agar	สีเส้นใยบน ผิวหน้าอาหาร	สีเส้นใยใต้อาหาร	สีของรงควัตถุ
2	BK 1021	+	#8C8767 Light Grayish Olive	#90845B Grayish Yellow Green	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 1630	+	#8A8776 Light Olive Gray	#F0EAD6 Yellowish White	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
3	BK 123	+	#DCD36A Light Yellow Green	#F3E5AB Pale Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 232	+	#8F9779 Graynish Yellow Green	#DADFB7 Pale Yellow Green	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BK 235	+	#8F9779 Graynish Yellow Green	#DADFB7 Pale Yellow Green	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
4	BK 521	+	#8E8279 Light Brownish Gray	#C2B280 Grayish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
5	BK 1520	+	#AE9B82 Light Grayish Yellowish Brown	#DCD36A Light Yellow Green	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงลักษณะสีฐานวิทยาศาสตร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ได้จากคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 จำนวน 32 ไอโซเลท ด้วยระบบสี The NBS/IBCC Color System

กลุ่ม	หมายเลข ไอโซเลท	เจริญบน อาหาร ISP 2	สีเส้นใยบน ผิวหน้าอาหาร	สีเส้นใยใต้อาหาร	สีของรงควัตถุ
1	BKH 00723	+	#FOEAD6 Yellowish White	#EAE679 Light Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BKH 00830	+	#BFB8A5 Yellowish Gray	#5E490F Moderate Olive	#CDE23A Brilliant Yellow Green
	BKH 01721	+	#FOEAD6 Yellowish White	#DCD36A Light Yellow Green	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BKH 01722	+	#FOEAD6 Yellowish White	#EAE679 Light Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BKH 01724	+	#FOEAD6 Yellowish White	#EAE679 Light Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BKH 02020	+	#BFB8A5 Yellowish Gray	#FFDE5A Light Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BKH 02030	+	#FOEAD6 Yellowish White	#E9E450 Brilliant Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BKH 222	+	#BFB8A5 Yellowish Gray	#FFDE5A Light Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงลักษณะสีฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ได้จากคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 จำนวน 32 ไอโซเลท ด้วยระบบสี The NBS/IBCC Color System (ต่อ)

กลุ่ม	หมายเลข ไอโซเลท	เจริญบน อาหาร ISP 2	สีเส้นใยบน ผิวหน้าอาหาร	สีเส้นใยใต้อาหาร	สีของรงควัตถุ
1	BKH 241	+	#BFB8A5 Yellowish Gray	#E9E450 Brilliant Greenish Yellow	#E9E450 Brilliant Greenish Yellow
	BKH 432	+	#BFB8A5 Yellowish Gray	#FFDE5A Light Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้
	BKH 521	+	#F0EAD6 Yellowish White	#F0D698 Pale Yellow Green	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้
	BKH 722	+	#BFB8A5 Yellowish Gray	#FFDF84 Pale Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้
	BKH 1322	+	#FFE2B7 Yellowish White	#FFDE5A Light Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้
	BKH 1731	+	#BFB8A5 Yellowish Gray	#7D512D Moderate Yellowish Brown	#967117 Light Olive Brown
	BKH 1922	+	#F0EAD6 Yellowish White	#DCD36A Light Yellow Green	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้
	BKH 1941	+	#BFB8A5 Yellowish Gray	#DCD36A Light Yellow Green	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงลักษณะสีฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ได้จากคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 จำนวน 32 ไอโซเลท ด้วยระบบสี The NBS/IBCC Color System (ต่อ)

กลุ่ม	หมายเลข ไอโซเลท	เจริญบน อาหาร ISP 2	สีเส้นใยบน ผิวหน้าอาหาร	สีเส้นใยใต้อาหาร	สีของรงควัตถุ
1	BKH 1943	+	#F0EAD6 Yellowish White	#EAE679 Light Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้
	BKH 2024	+	#F0EAD6 Yellowish White	#E9E450 Brilliant Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้
	BKH 2025	+	#F0EAD6 Yellowish White	#EAE679 Light Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้
	BKH 2026	+	#BFB8A5 Yellowish Gray	#EAE679 Light Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้
2	BKH 00431	+	#FFDF84 Pale Greenish Yellow	#FFDF84 Pale Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้
	BKH 00722	+	#FFDE5A Light Greenish Yellow	#FFDE5A Light Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้
	BKH 422	+	#DCD300 Vivid Greenish Yellow	#DCD300 Vivid Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้
	BKH 431	+	#FFDF84 Pale Greenish Yellow	#FFDE5A Light Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงลักษณะสีฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ได้จากคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 จำนวน 32 ไอโซเลท ด้วยระบบสี The NBS/IBCC Color System (ต่อ)

กลุ่ม	หมายเลข ไอโซเลท	เจริญบน อาหาร ISP 2	สีเส้นใยบน ผิวหน้าอาหาร	สีเส้นใยใต้อาหาร	สีของรงควัตถุ
	BKH 731	+	#FFDF84 Pale Greenish Yellow	#FFDF84 Pale Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BKH 2021	+	#E9E450 Brilliant Greenish Yellow	#F8DE7E Light Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BKH 2030	+	#FFDE5A Light Greenish Yellow	#FFDE5A Light Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
	BKH 2032	+	#FFDE5A Light Greenish Yellow	#FFDE5A Light Greenish Yellow	#DCD36A Light Yellow Green
3	BKH 01730	+	#8A8776 Light Olive Gray	#5E490F Moderate Olive	#9B8127 Dark Greenish Yellow
	BKH 232	+	#8A8776 Light Olive Gray	#CDE23A Brilliant Yellow Green	#EAE679 Light Greenish Yellow
	BKH 2023	+	#8A8776 Light Olive Gray	#C4A55F Grayish Greenish Yellow	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้
4	BKH 1921	+	#F0D698 Pale Yellow Green	#DCD36A Light Yellow Green	ไม่สร้างรงควัตถุ ที่ละลายน้ำได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีท

สำหรับการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากตัวอย่าง (ดังวิธีการที่ 3.8) มีการทดสอบทางชีวเคมีทั้งหมด 5 การทดสอบ ได้แก่ การทดสอบการย่อยสลายโปรตีนบนอาหาร Skim milk agar, การทดสอบการย่อยสลายแป้ง (Starch hydrolysis), การทดสอบการย่อยสลายเจลาติน (Gelatin liquefaction), การทดสอบการย่อยสลายไนเตรท (Nitrate reduction) และการทดสอบความสามารถในการผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์ ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ได้จากคัดแยกโดยวิธีที่ 1

กลุ่ม	หมายเลขไอโซเลท	Skim milk (Peptonization)	Starch hydrolysis	Gelatin liquefaction	Nitrate reduction	Hydrogen sulfide production
1	BK 120	-	-	-	-	-
	BK 122	-	+	-	-	-
	BK 220	-	-	+	+	-
	BK 520	-	-	+	-	-
	BK 522	-	-	+	-	+
	BK 530	-	-	+	-	+
	BK 730	-	-	-	-	+
	BK 820	-	+	-	-	-
	BK 821	-	+	+	-	-
	BK 1020	-	+	+	-	+
	BK 1030	+	+	-	+	+
	BK 1232	+	-	-	-	-
	BK 2020	-	+	+	+	-
2	BK 121	-	+	+	-	-
	BK 132	-	+	+	-	-
	BK 230	-	-	+	-	-
	BK 830	-	+	-	+	-
	BK 831	-	+	+	-	-
	BK 1021	-	+	-	-	+
	BK 1630	-	++	+	+	+

หมายเหตุ : + = positive reaction, - = negative reaction, w = weakly positive reaction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ได้จากคัดแยกโดยวิธีที่ 1 (ต่อ)

กลุ่ม	หมายเลข ไอโซเลท	Skim milk (Peptonization)	Starch hydrolysis	Gelatin liquefaction	Nitrate reduction	Hydrogen sulfide production
3	BK 123	-	-	-	-	-
	BK 232	-	-	+	-	+
	BK 235	-	-	+	-	+
4	BK 521	-	+	-	-	-
5	BK 1520	-	-	-	w	+

หมายเหตุ : + = positive reaction, - = negative reaction, w = weakly positive reaction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีท์ที่ได้จากคัตแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3

กลุ่ม	หมายเลข ไอโซเลท	Skim milk (Peptonization)	Starch hydrolysis	Gelatin liquefaction	Nitrate reduction	Hydrogen sulfide production
1	BKH 00723	+	++	+	-	-
	BKH 00830	++	w	+	-	w
	BKH 01721	+	++	+	-	-
	BKH 01722	++	++	+	-	-
	BKH 01724	+	+++	+	-	-
	BKH 02020	+	-	-	+	-
	BKH 02030	+	+++	+	-	-
	BKH 222	++	-	-	-	-
	BKH 241	+	++	-	-	-
	BKH 432	++	-	-	-	-
	BKH 521	++	-	+	+	-
	BKH 722	++	-	+	-	-
	BKH 1322	+	+	-	+	-
	BKH 1731	+	++	+	-	-
	BKH 1922	-	-	-	+	w

หมายเหตุ : + = positive reaction, - = negative reaction, w = weakly positive reaction

ตารางที่ 4.8 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ได้จากคัตแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

กลุ่ม	หมายเลข ไอโซเลท	Skim milk (Peptonization)	Starch hydrolysis	Gelatin liquefaction	Nitrate reduction	Hydrogen sulfide production
1	BKH 1941	++	-	+	w	-
	BKH 1943	++	+++	+	-	-
	BKH 2024	+	+++	+	-	-
	BKH 2025	+	+++	+	-	-
	BKH 2026	+	+++	+	-	-
2	BKH 00431	++	-	-	+	w
	BKH 00722	+	+	+	-	-
	BKH 422	++	-	+	-	w
	BKH 431	++	-	-	-	-
	BKH 731	+	-	-	-	w
	BKH 2021	+	-	-	+	w
	BKH 2030	++	-	+	+	-
	BKH 2032	++	-	-	+	-

หมายเหตุ : + = positive reaction, - = negative reaction, w = weakly positive reaction

ตารางที่ 4.8 แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ได้จากคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

กลุ่ม	หมายเลข ไอโซเลท	Skim milk (Peptonization)	Starch hydrolysis	Gelatin liquefaction	Nitrate reduction	Hydrogen sulfide production
3	BKH 01730	++	++	+	-	w
	BKH 232	+	+	+	w	-
	BKH 2023	+	-	+	-	-
4	BKH 1921	++	-	-	-	-

หมายเหตุ : + = positive reaction, - = negative reaction, w = weakly positive reaction

#### 4.5 ความสามารถในการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ

นำเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 เนื่องจาก ในขั้นตอนการคัดแยก ได้ทำการบ่มเชื้อแอคติโนมัยซีทที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และจากการทดลองก็พบว่า เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส โดยนำเชื้อแอคติโนมัยซีทมาซึบอาหาร YEME บ่มที่อุณหภูมิ 40, 45, 50, 55, 60, 65 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน พบว่าได้ผลการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ ดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 แสดงผลการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3

กลุ่ม	หมายเลขไอโซเลท	อุณหภูมิในการบ่มเชื้อแอคติโนมัยซีท (องศาเซลเซียส)						
		40	45	50	55	60	65	70
1	BKH 00723	+++++	++++	++++	++++	+++	-	-
	BKH 00830	++++	+++++	+++	-	-	-	-
	BKH 01721	+++++	+++++	+++++	+++	-	-	-
	BKH 01722	+++++	+++++	+++++	+++++	++	-	-
	BKH 01724	+++++	++++	++	+++	-	-	-
	BKH 02020	+	+++++	+++++	+++++	-	-	-
	BKH 02030	+++++	+++++	+++++	++++	++	-	-
	BKH 222	-	++++	+++	+++++	-	-	-
	BKH 241	++++	+++++	+	-	-	-	-
	BKH 432	+	+++++	+++++	++	-	-	-
	BKH 521	+	++++	++++	+++++	-	-	-
	BKH 722	+	+++++	+++++	+++++	-	-	-
	BKH 1322	-	+++++	+	++	-	-	-
	BKH 1731	+++++	+++++	+++	-	-	-	-
	BKH 1922	+	++++	+++++	++++	-	-	-

- \*\*\*หมายเหตุ
- +++++ หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้ดีที่สุด
  - ++++ หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้ดี
  - +++ หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้ปานกลาง
  - ++ หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้น้อย
  - +
  - หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้น้อยมาก
  - หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญไม่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 แสดงผลการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

กลุ่ม	หมายเลข ไอโซเลท	อุณหภูมิในการบ่มเชื้อแอคติโนมัยซีท (องศาเซลเซียส)						
		40	45	50	55	60	65	70
1	BKH 1941	+++++	+++++	+++++	+++	-	-	-
	BKH 1943	++++	+++++	+++++	+++	+	-	-
	BKH 2024	+++++	+++++	+++++	+++	+	-	-
	BKH 2025	+++++	+++++	+++++	++++	++	-	-
	BKH 2026	++++	+++++	+++++	+++	++	-	-
2	BKH 00431	-	++++	++++	+++++	-	-	-
	BKH 00722	++++	+++++	-	-	-	-	-
	BKH 422	+++	+++++	+++++	++++	-	-	-
	BKH 431	+++	++++	++++	+++++	-	-	-
	BKH 731	+	++++	+++	+++++	-	-	-
	BKH 2021	-	++++	++++	+++++	-	-	-
	BKH 2030	+++	+++++	++	-	-	-	-
	BKH 2032	+++	+++	+++++	++++	-	-	-
3	BKH 01730	+++++	+++++	++++	-	-	-	-
	BKH 232	+++++	+++++	-	-	-	-	-
	BKH 2023	++++	+++++	-	-	-	-	-
4	BKH 1921	+	+	+	++	-	-	-

\*\*\*หมายเหตุ   +++++ หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้ดีที่สุด  
 ++++    หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้ดี  
 +++     หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้ปานกลาง  
 ++     หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้น้อย  
 +     หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้น้อยมาก  
 -     หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญไม่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.9 พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีททั้งหมด 32 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีเพียงเชื้อแอกติโนมัยซีทบางไอโซเลทเท่านั้นที่เจริญได้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสขึ้นไป แต่เชื้อแอกติโนมัยซีททุกไอโซเลทไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 65 และ 70 องศาเซลเซียส ซึ่งการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ มีดังนี้

1. เชื้อแอกติโนมัยซีททั้ง 28 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส คิดเป็นร้อยละ 87.50 ของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่แยกได้ ประกอบด้วยไอโซเลท BKH 00723, BKH 00830, BKH 01721, BKH 01722, BKH 01724, BKH 02020, BKH 02030, BKH 241, BKH 432, BKH 521, BKH 722, BKH 1731, BKH 1922, BKH 1941, BKH 1943, BKH 2024, BKH 2025, BKH 2026, BKH 00722, BKH 422, BKH 431, BKH 731, BKH 2030, BKH 2032, BKH 01730, BKH 232, BKH 2023 และ BKH 1921

2. เชื้อแอกติโนมัยซีททั้ง 32 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส คิดเป็นร้อยละ 100 ของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่แยกได้ ประกอบด้วยไอโซเลท BKH 00723, BKH 00830, BKH 01721, BKH 01722, BKH 01724, BKH 02020, BKH 02030, BKH 222, BKH 241, BKH 432, BKH 521, BKH 722, BKH 1322, BKH 1731, BKH 1922, BKH 1941, BKH 1943, BKH 2024, BKH 2025, BKH 2026, BKH 00431, BKH 00722, BKH 422, BKH 431, BKH 731, BKH 2021, BKH 2030, BKH 2032, BKH 01730, BKH 232, BKH 2023 และ BKH 1921

3. เชื้อแอกติโนมัยซีททั้ง 29 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส คิดเป็นร้อยละ 90.63 ของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่แยกได้ ประกอบด้วยไอโซเลท BKH 00723, BKH 00830, BKH 01721, BKH 01722, BKH 01724, BKH 02020, BKH 02030, BKH 222, BKH 241, BKH 432, BKH 521, BKH 722, BKH 1322, BKH 1731, BKH 1922, BKH 1941, BKH 1943, BKH 2024, BKH 2025, BKH 2026, BKH 00431, BKH 422, BKH 431, BKH 731, BKH 2021, BKH 2030, BKH 2032, BKH 01730 และ BKH 1921

4. เชื้อแอกติโนมัยซีททั้ง 24 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส คิดเป็นร้อยละ 75 ของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่แยกได้ ประกอบด้วยไอโซเลท BKH 00723, BKH 01721, BKH 01722, BKH 01724, BKH 02020, BKH 02030, BKH 222, BKH 432, BKH 521, BKH 722, BKH 1322, BKH 1922, BKH 1941, BKH 1943, BKH 2024, BKH 2025, BKH 2026, BKH 00431, BKH 422, BKH 431, BKH 731, BKH 2021, BKH 2032 และ BKH 1921

5. เชื้อแอกติโนมัยซีททั้ง 7 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส คิดเป็นร้อยละ 100 ของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่แยกได้ ประกอบด้วยไอโซเลท BKH 00723, BKH 01722, BKH 02030, BKH 1943, BKH 2024, BKH 2025 และ BKH 2026

จากผลการศึกษาการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทดังกล่าว จัดได้ว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้นั้น เป็นแอกติโนมัยซีทที่ชอบอุณหภูมิสูง (thermophilic actinomyces) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tendler and Burkholder (1961) ทำการศึกษาการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่ชอบอุณหภูมิสูง 21 ไอโซเลท ที่อุณหภูมิต่างๆ ได้แก่ 30, 37, 45, 50, 55 และ 60 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีททั้งหมดที่เลี้ยงบนอาหาร Maintenance medium Ia เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 45-55 องศาเซลเซียส ส่วนที่อุณหภูมิ 30, 37 และ 60 องศาเซลเซียส มีเพียงบางไอโซเลทเท่านั้นที่สามารถเจริญได้

ซึ่งแอกติโนมัยซีทที่ชอบอุณหภูมิสูง แบ่งเป็น 2 ชนิด ได้แก่ แอกติโนมัยซีทที่เจริญได้ที่อุณหภูมิสูงเท่านั้น (strictly thermophilic actinobacteria) สามารถเจริญในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 37-65 องศาเซลเซียส แต่การเจริญที่เหมาะสมจะเกิดขึ้นที่ 55-60 องศาเซลเซียส ส่วนอีกชนิดคือ แอกติโนมัยซีทที่เจริญที่อุณหภูมิสูงปานกลาง (moderately thermophilic actinobacteria) สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 28-60 องศาเซลเซียส การเจริญที่เหมาะสมอยู่ที่อุณหภูมิ 45-55 องศาเซลเซียส (Kurapova *et al.*, 2012) ดังนั้น เชื้อแอกติโนมัยซีทที่ทำการคัดแยกนั้น จัดเป็น moderately thermophilic actinobacteria

#### 4.6 ความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ

เลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีทในอาหาร YEME ที่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นระดับต่างๆ ที่ 0, 3, 5, 7 และ 10% แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน พบว่าได้ผลการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ ดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 แสดงผลการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3

กลุ่ม	หมายเลขไอโซเลท	ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)				
		0	3	5	7	10
1	BKH 00723	+++++	+	-	-	-
	BKH 00830	+++++	+++++	+++++	+++++	-
	BKH 01721	+++++	-	-	-	-
	BKH 01722	+++++	-	-	-	-
	BKH 01724	+++++	+	-	-	-
	BKH 02020	+++++	-	-	-	-
	BKH 02030	+++++	+	-	-	-
	BKH 222	+++++	-	-	-	-
	BKH 241	+++++	+++++	+++	-	-
	BKH 432	+++++	-	-	-	-
	BKH 521	+++++	-	-	-	-
	BKH 722	+++++	-	-	-	-
	BKH 1322	+++++	-	-	-	-
BKH 1731	+++	+++++	++++	++++	-	

\*\*\*หมายเหตุ   +++++ หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยซีทเจริญได้ดีที่สุด  
 ++++    หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยซีทเจริญได้ดี  
 +++       หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยซีทเจริญได้ปานกลาง  
 ++        หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยซีทเจริญได้น้อย  
 +          หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยซีทเจริญได้น้อยมาก  
 -          หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยซีทเจริญไม่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เฉพาะในท้องถิ่นเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 แสดงผลการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์  
ในระดับต่างๆ ที่ได้จากคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

กลุ่ม	หมายเลข ไอโซเลท	ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)				
		0	3	5	7	10
1	BKH 1922	+++++	-	-	-	-
	BKH 1941	+++++	+++++	++	-	-
	BKH 1943	+++++	+	-	-	-
	BKH 2024	+++++	+	-	-	-
	BKH 2025	+++++	+	-	-	-
	BKH 2026	+++++	-	-	-	-
2	BKH 00431	+++++	-	-	-	-
	BKH 00722	+++++	+	-	-	-
	BKH 422	+++++	+	-	-	-
	BKH 431	+++++	-	-	-	-
	BKH 731	+++++	-	-	-	-
	BKH 2021	+++++	-	-	-	-
	BKH 2030	+++++	++	-	-	-
	BKH 2032	+++++	-	-	-	-
3	BKH 01730	+++++	+++++	++++	+++	-
	BKH 232	++++	+++++	+++++	+++	-
	BKH 2023	+++++	++++	++++	++++	-
4	BKH 1921	+++++	-	-	-	-

\*\*\*หมายเหตุ +++++ หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้ดีที่สุด  
 ++++ หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้ดี  
 +++ หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้ปานกลาง  
 ++ หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้น้อย  
 + หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญได้น้อยมาก  
 - หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทเจริญไม่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.10 พบว่าเชื้อแอสคิตินิมัยซีททั้ง 32 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 แต่เชื้อแอสคิตินิมัยซีททุกไอโซเลทไม่สามารถเจริญได้ที่เข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 7 ขึ้นไป ซึ่งเชื้อแอสคิตินิมัยซีทสามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ มีดังนี้

1. เชื้อแอสคิตินิมัยซีททั้ง 32 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 คิดเป็นร้อยละ 100 ของเชื้อแอสคิตินิมัยซีทที่แยกได้ ประกอบด้วยไอโซเลท BKH 00723, BKH 00830, BKH 01721, BKH 01722, BKH 01724, BKH 02020, BKH 02030, BKH 222, BKH 241, BKH 432, BKH 521, BKH 722, BKH 1322, BKH 1731, BKH 1922, BKH 1941, BKH 1943, BKH 2024, BKH 2025, BKH 2026, BKH 00431, BKH 00722, BKH 422, BKH 431, BKH 731, BKH 2021, BKH 2030, BKH 2032, BKH 01730, BKH 232, BKH 2023 และ BKH 1921

2. เชื้อแอสคิตินิมัยซีททั้ง 16 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 3 คิดเป็นร้อยละ 50 ของเชื้อแอสคิตินิมัยซีทที่แยกได้ ประกอบด้วยไอโซเลท BKH 00723, BKH 00830, BKH 01724, BKH 02030, BKH 241, BKH 1731, BKH 1941, BKH 1943, BKH 2024, BKH 2025, BKH 00722, BKH 422, BKH 2030, BKH 01730, BKH 232 และ BKH 2023

3. เชื้อแอสคิตินิมัยซีททั้ง 7 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 5 คิดเป็นร้อยละ 21.88 ของเชื้อแอสคิตินิมัยซีทที่แยกได้ ประกอบด้วยไอโซเลท BKH 00830, BKH 241, BKH 1731, BKH 1941, BKH 01730, BKH 232 และ BKH 2023

4. เชื้อแอสคิตินิมัยซีททั้ง 5 ไอโซเลท สามารถเจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 7 คิดเป็นร้อยละ 15.63 ของเชื้อแอสคิตินิมัยซีทที่แยกได้ ประกอบด้วยไอโซเลท BKH 00830, BKH 1731, BKH 01730, BKH 232 และ BKH 2023

พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 3 ขึ้นไป เชื้อแอสคิตินิมัยซีทส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญได้มีเพียงบางไอโซเลทเท่านั้นที่สามารถเจริญได้ ดังงานวิจัยของ Zhou *et al.*, (2012) ที่พบว่าเชื้อแอสคิตินิมัยซีทที่คัดแยกได้จากน้ำพุร้อนจะเจริญได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0-1

นอกจากนี้ จากการทดลองยังพบว่าระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงสุดที่เชื้อแอสคิตินิมัยซีทสามารถเจริญได้ คือ ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 7 ประกอบด้วยเชื้อแอสคิตินิมัยซีทจำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ BKH 00830, BKH 01730, BKH 232, BKH 1731 และ BKH 2023 ดังงานวิจัยของ Ruckmani *et al.*, (2011) ที่พบว่าเชื้อแอสคิตินิมัยซีทที่คัดแยกได้จากน้ำพุร้อนสามารถเจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงๆ เช่น ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 7

การเตรียมอาหาร Yeast extract – Malt extract agar (YEME) ที่ใช้ในการทดสอบการเจริญของเชื้อแอสคิตินิมัยซีทที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ ซึ่งในอาหาร YEME จะมีการเติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ลงไป ในขั้นตอนการเตรียมอาหารควรจะคนเกลือโซเดียมคลอไรด์ให้ละลายเข้ากับส่วนผสมต่างๆจนเป็นเนื้อเดียวกัน เพื่อให้ผลการทดสอบการเจริญของเชื้อแอสคิตินิมัยซีทที่ระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่างๆ สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้

#### 4.7 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เบื้องต้น

นำแอสติโนมายซีทแยกได้ทั้งหมดจำนวน 32 ไอโซเลท มาทำการทดสอบการผลิตสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Micrococcus luteus* TISTR 2374 และ *Candida albicans* ATCC 90028 ด้วยวิธีการทดสอบขั้นต้น (Pre-test) ดังวิธีการที่ 3.9.1



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยซีท์ที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

กลุ่ม	หมายเลข ไอโซเลท	ขอบเขตการยับยั้งเชื้อทดสอบ (มิลลิเมตร)											
		<i>E. coli</i>		<i>C. albicans</i>		<i>M. luteus</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา
1	BKH 00723	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 00830	-	-	-	-	2.15	4.23	-	-	-	-	-	-
	BKH 01721	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 01722	-	-	-	-	-	-	2.17	5.34	15.41	10.32	-	-
	BKH 01724	-	-	-	-	3.54	1.26	1.32	3.15	-	-	-	-
	BKH 02020	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 02030	-	-	-	-	4.19	6.20	5.23	7.15	-	-	-	-
	BKH 222	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 241	-	-	-	-	2.21	3.35	-	-	-	-	-	-
	BKH 432	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 521	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 722	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 1322	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 1731	-	-	-	-	23.15	20.12	22.20	25.27	-	-	-	-

\*\*\* หมายถึง - ไม่เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

ตารางที่ 4.11 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ (ต่อ)

กลุ่มที่	หมายเลข ไอโซเลท	ขอบเขตการยับยั้งเชื้อทดสอบ (มิลลิเมตร)											
		<i>E. coli</i>		<i>C. albicans</i>		<i>M. luteus</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา
1	BKH 1922	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 1941	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 1943	-	-	-	-	3.13	3.24	9.12	7.20	-	-	-	-
	BKH 2024	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 2025	-	-	-	-	7.15	-	3.20	-	-	-	-	-
	BKH 2026	-	-	-	-	6.31	6.25	6.10	5.12	-	-	-	-
2	BKH 00431	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 00722	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 422	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 431	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 731	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\*\*\* หมายถึง - ไม่เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

ตารางที่ 4.11 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ (ต่อ)

กลุ่ม	หมายเลข ไอโซเลท	ขอบเขตการยับยั้งเชื้อทดสอบ (มิลลิเมตร)											
		<i>E. coli</i>		<i>C. albicans</i>		<i>M. luteus</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา	ซ้าย	ขวา
2	BKH 2021	30.15	30.26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 2030	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 2032	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	BKH 01730	-	-	-	-	-	-	5.23	2.12	-	-	-	-
	BKH 232	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	BKH 2023	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	BKH 1921	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\*\*\*หมายเหตุ - ไม่เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

จากการทดสอบพบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีท 11 ไอโซเลท สามารถผลิตสารที่ออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทดสอบบางชนิดได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.11 และมีจำนวนของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อทดสอบดังนี้

1. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Escherichia coli* ATCC 25922 ทั้งหมด 1 ไอโซเลท ประกอบด้วยไอโซเลท BKH 2021 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 30.21 มิลลิเมตร

2. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ทั้งหมด 8 ไอโซเลท ประกอบด้วยไอโซเลท BKH 00830 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 3.19 มิลลิเมตร, BKH 01724 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 2.40 มิลลิเมตร, BKH 02030 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 5.20 มิลลิเมตร, BKH 241 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 2.78 มิลลิเมตร, BKH 1731 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 21.64 มิลลิเมตร, BKH 1943 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 3.19 มิลลิเมตร, BKH 2025 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 7.15 มิลลิเมตร และ BKH 2026 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 6.28 มิลลิเมตร

3. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ทั้งหมด 8 ไอโซเลท ประกอบด้วยไอโซเลท BKH 01722 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 3.67 มิลลิเมตร, BKH 01724 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 2.34 มิลลิเมตร, BKH 02030 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 6.19 มิลลิเมตร, BKH 1731 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 23.74 มิลลิเมตร, BKH 1943 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 8.16 มิลลิเมตร, BKH 2025 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 3.20 มิลลิเมตร, BKH 2026 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 5.61 มิลลิเมตร และ BKH 01730 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 3.68 มิลลิเมตร

4. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ทั้งหมด 1 ไอโซเลท ประกอบด้วยไอโซเลท BKH 01722 มีบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 12.87 มิลลิเมตร

ตั้งงานวิจัยของ Al-Dhabi *et al.* (2015) ที่ได้ทำการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ได้จากน้ำพุร้อน ในประเทศซาอุดีอาระเบีย ซึ่งมีขั้นตอนการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ โดยใช้วิธี T'-streak พบว่า เชื้อแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกได้สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ คือ *Escherichia coli* ได้นอกจากนี้งานวิจัยของ Kouadri *et al.* (2014) ที่ได้ทำการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากอ่าวคาบา ประเทศจอร์แดน พบว่า เชื้อแอคติโนมัยซีทส่วนใหญ่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ เช่น *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* เป็นต้น

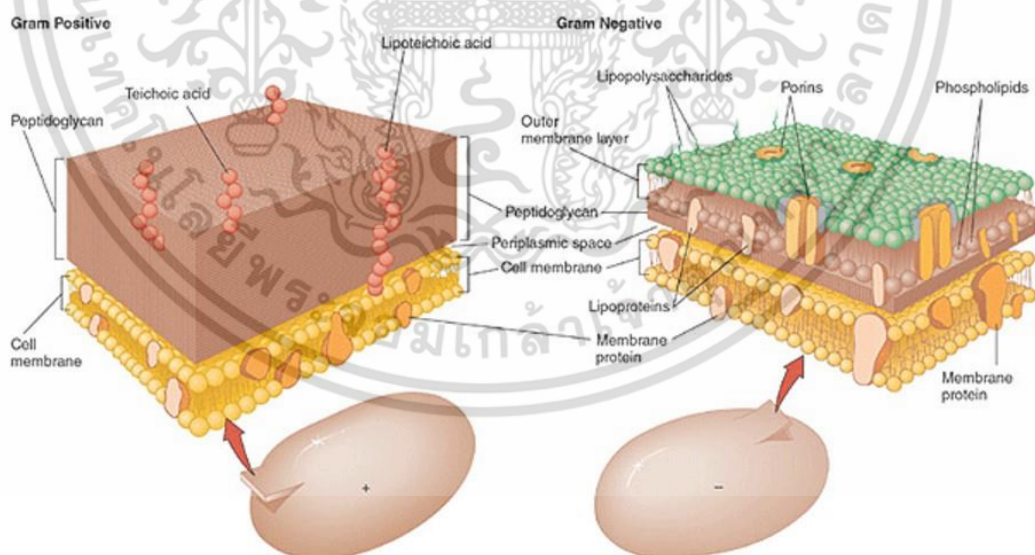
สาเหตุที่แอคติโนมัยซีทส่วนใหญ่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากความแตกต่างทางองค์ประกอบของผนังเซลล์ของแบคทีเรียทั้งสองกลุ่ม และกลไกการออกฤทธิ์ของสารเมแทบอลิต์ที่แอคติโนมัยซีทสร้างขึ้น โดยมีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ มีผลต่อการสร้างเพปติโดไกลแคน เช่น ยับยั้งการสังเคราะห์สารตั้งต้นของเพปติโดไกลแคน และยับยั้ง transpeptidation เป็นต้น ทั้งนี้ชั้นของเพปติโดไกลแคนดังกล่าวเป็นโครงสร้างส่วนใหญ่ที่พบในผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนแบคทีเรียแกรมลบมีชั้นของเพปติโดไกลแคนที่บางกว่า และมีผนังเซลล์ชั้นนอก (outer membrane) ที่เป็น lipopolysaccharide (ลลิตา, 2554)

โครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบแตกต่างกัน เนื่องจาก ผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกมีผนังเซลล์หนาประมาณ 20 – 80 นาโนเมตร จะหนากว่าแบคทีเรียแกรมลบ องค์ประกอบส่วนใหญ่ คือ เพปติโดไกลแคน (Peptidoglycan), โพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide), โปรตีน และลิปิดดังรูปที่ 4.58 (ก) ส่วนผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบจะบางกว่าแกรมบวก แต่มี

ลักษณะของส่วนประกอบทางเคมีและโครงสร้างที่ซับซ้อนกว่า ดังรูปที่ 4.58 (ข) คือ ประกอบด้วยเยื่อเอกสาร์เป็นเอกสาร์ที่สวมน้ำสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หุ้มเซลล์ชั้นนอกและเปปติโดไกลแคนซึ่งอยู่ในช่องระหว่างเยื่อหุ้มชั้นนอกและเยื่อหุ้มเซลล์ที่เรียกว่า periplasmic space แบคทีเรียแกรมลบมีส่วนประกอบที่ผนังเซลล์แตกต่างจากแกรมบวก คือ โลโปโพลีแซคคาไรด์ (Lipopolysaccharide, LPS) มีความสำคัญในด้านโครงสร้างและหน้าที่เพราะเป็นส่วนประกอบผิวเซลล์ทำหน้าที่ในการป้องกันและรักษาความดันภายในเซลล์ (ดร., 2543) และ periplasmic space เป็นช่องว่างระหว่างเยื่อหุ้มชั้นนอกและเยื่อหุ้มชั้นในของแบคทีเรียแกรมลบซึ่งผนังเซลล์จะอยู่ในส่วนนี้ ขณะเดียวกัน periplasmic space ยังเป็นที่อยู่ของเอนไซม์บีต้าแล็กตามเอส ( $\beta$ -lactamase) ซึ่งสามารถทำลายยาปฏิชีวนะกลุ่มบีต้าแล็กแทม ( $\beta$ -lactam) (เกรียงศักดิ์ และ นิตยา, 2553) ผนังเซลล์ยีสต์เป็นสารประเภทโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ซึ่งประกอบด้วย เบต้ากลูแคน ( $\beta$ -glucans) 29-64%, แมนแนน (mannans) 31%, และไคติน (chitin) รวมถึงสารประเภทอื่นๆ ได้แก่ โปรตีน 13% และไขมัน 9% (กนกทิพย์ และมงคล, 2557) ดังรูปที่ 4.59

ยาปฏิชีวนะกลุ่มบีต้าแล็กแทม ( $\beta$ -lactam) เป็นยาต้านจุลชีพที่ถูกนำมาใช้กันอย่างกว้างขวาง คณะผู้วิจัยจึงมีความคิดเห็นว่าการศึกษาคุณสมบัติที่เชื้อแอคติโนมัยซีทผลิตขึ้นนั้นอาจเป็นสารปฏิชีวนะกลุ่มบีต้าแล็กแทม ( $\beta$ -lactam) เนื่องจากผลการทดลองพบว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ สาเหตุเพราะสารปฏิชีวนะกลุ่มบีต้าแล็กแทม ( $\beta$ -lactam) มีประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียสูงโดยออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ peptidoglycan ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์โดยเฉพาะผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกที่มีชั้นของเปปติโดไกลแคนหนาโครงสร้างพื้นฐานของยาปฏิชีวนะกลุ่มบีต้าแล็กแทม ( $\beta$ -lactam) ประกอบด้วย 5-membered thiazolidine ring เชื่อมติดกับ  $\beta$ -lactam ring ยาปฏิชีวนะแต่ละตัวในกลุ่มนี้จะมีความแตกต่างกันที่ side chain (R-group) (เกรียงศักดิ์ และ นิตยา, 2553) ดังรูปที่ 4.60



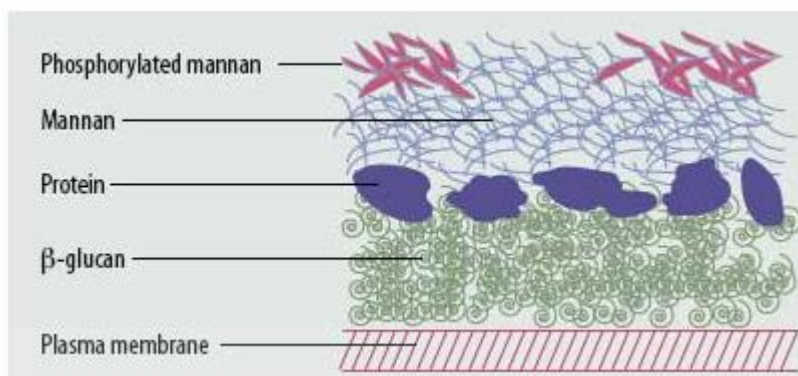
(ก)

(ข)

รูปที่ 4.58 แสดงรูปผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก (ก) และผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ (ข)

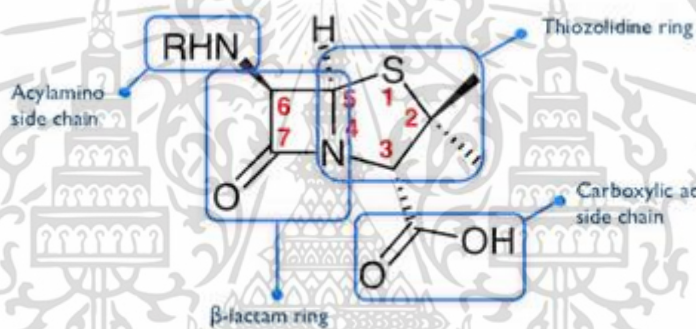
ที่มา : <http://www.vcharkarn.com/varticle/44132>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.59 แสดงรูปผนังเซลล์ของยีสต์

ที่มา :[http://www.allaboutfeed.net/Special-focus/Yeast- Special/ Application-of-yeast-cell-wall-in-swine](http://www.allaboutfeed.net/Special-focus/Yeast-Special/Application-of-yeast-cell-wall-in-swine)



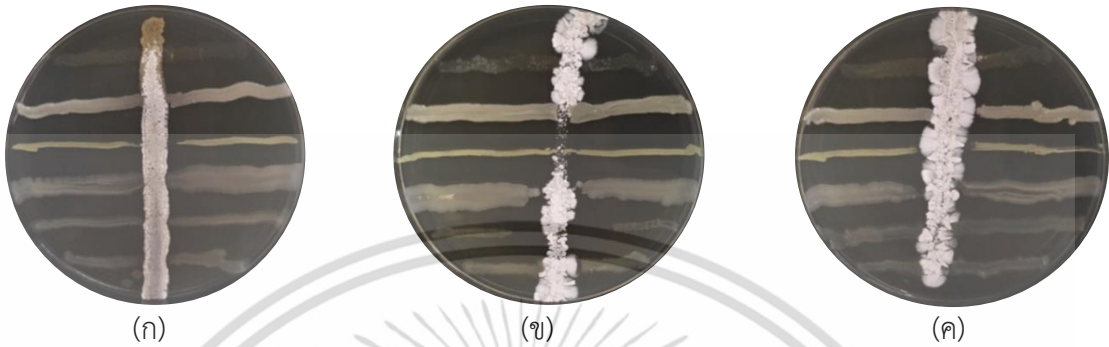
รูปที่ 4.60 โครงสร้างโมเลกุลของเพนิซิลินซึ่งมี  $\beta$ -lactam ring เป็นองค์ประกอบ

ที่มา: <http://pharmafactz.com/phamacology-of-penicillin>

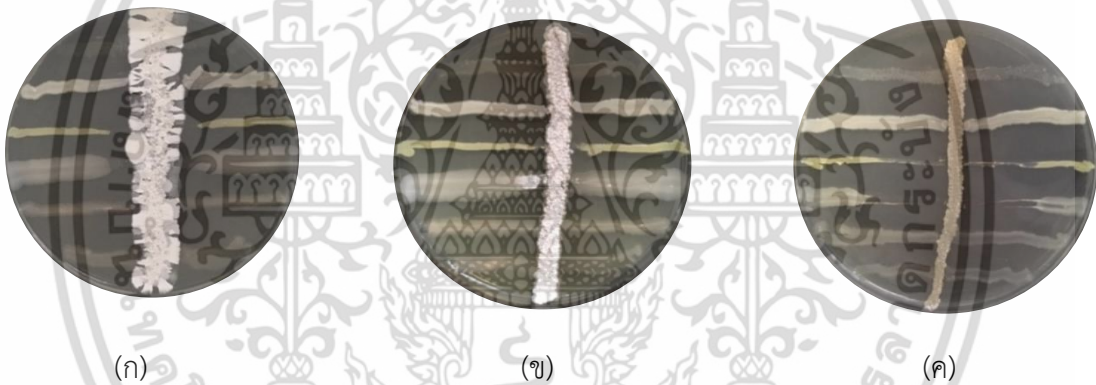
ในขั้นตอนการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เบื้องต้นควรจะขีดเชื้อทดสอบโดยลากเชื้อทดสอบออกจากเชื้อแอสติโนมัยซีททั้งด้านซ้ายและด้านขวา เพื่อที่จะให้เชื้อทดสอบที่อยู่ใกล้กับเชื้อแอสติโนมัยซีทมีความเข้มข้น ทำให้สามารถบอกผลการทดสอบได้อย่างถูกต้อง และไม่ควรรากเชื้อทดสอบผ่านหรือทับเชื้อแอสติโนมัยซีท เพราะจะทำให้ผลการทดสอบที่ได้มีความผิดพลาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

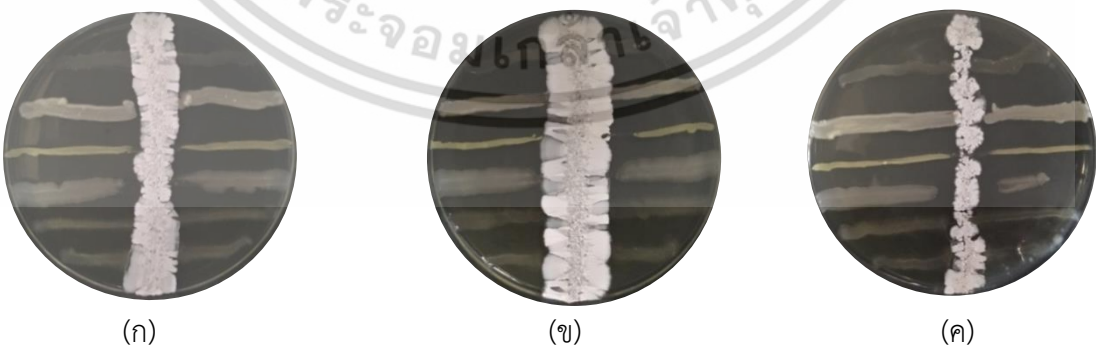
ผลการศึกษาความสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแอคติโนมัยซีทโดยยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC 90028, *Micrococcus luteus* TISTR 2374, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ตามลำดับ



รูปที่ 4.61 แสดงผลการศึกษาเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพไอโซเลทที่ BKH 00830 (ก), ไอโซเลทที่ BKH 01722 (ข) และไอโซเลทที่ BKH 01724 (ค)

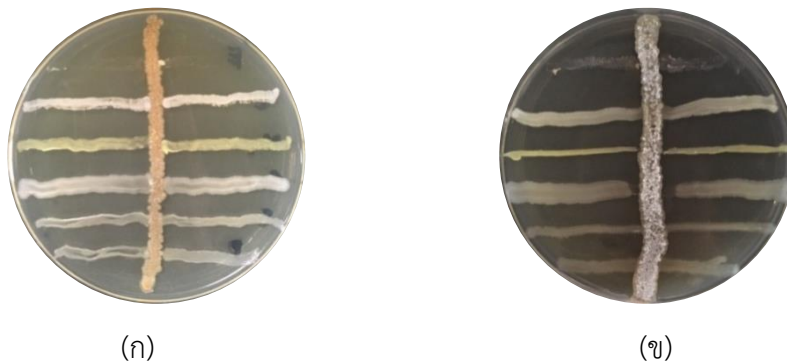


รูปที่ 4.62 แสดงผลการศึกษาเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพไอโซเลทที่ BKH 02030 (ก), ไอโซเลทที่ BKH 241 (ข) และไอโซเลทที่ BKH 1731 (ค)



รูปที่ 4.63 แสดงผลการศึกษาเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพไอโซเลทที่ BKH 1943 (ก), ไอโซเลทที่ BKH 2025 (ข) และไอโซเลทที่ BKH 2026 (ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.64 แสดงผลการศึกษาเชื้อแอกติโนมัยซีทที่สามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพไอโซเลท  
ที่ BKH 2021 (ก) และไอโซเลทที่ BKH 01730 (ข)

#### 4.8 การทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar disc diffusion

นำเชื้อแอกติโนมัยซีททั้ง 11 ไอโซเลทที่ได้จากขั้นตอนการทดสอบเบื้องต้นของการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทดสอบของเชื้อแอกติโนมัยซีทมาทำการทดสอบการผลิตสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยเทคนิค Agar disc diffusion โดยใช้ทำการสกัดน้ำหมักด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ คือ เอทิลอะซิเตต และสกัดน้ำหมักจากเซลล์และเส้นใยด้วยเมทานอลจากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทดสอบด้วยเทคนิค agar disc diffusion โดยการนำสารสกัดหยาบความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หยดลงไปบนแผ่น disc ปริมาตร 20 ไมโครลิตร แล้วนำมาวางบนผิวหน้าอาหาร MHA (Muller Hinton agar) สำหรับแบคทีเรีย และบนผิวหน้าอาหาร SDA (Sabouraud dextrose agar) สำหรับยีสต์ ที่มีการ swab จุลินทรีย์ทดสอบทั้ง 6 สายพันธุ์ไว้ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Micrococcus luteus* TISTR 2374 และ *Candida albicans* ATCC 90028

ตารางที่ 4.12 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆจากสารสกัดหยาบจากเซลล์และเส้นใยของแอกติโนมัยซีท ในระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเทคนิค Agar disc diffusion

หมายเลข ไอโซเลท	ความเข้มข้น (mg/ml)	บริเวณยับยั้ง (inhibition zone, มิลลิเมตร)					
		<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
BKH 00830	B 1	-	-	-	-	-	-
	B 50	-	-	-	-	-	-
	C 1	-	-	-	-	-	-
	C 50	-	-	-	-	-	-
BKH 01722	B 1	-	-	-	-	-	-
	B 50	-	-	-	-	-	-
	C 1	-	-	-	-	-	-
	C 50	-	-	-	-	-	-
BKH 01724	B 1	-	-	-	-	-	-
	B 50	-	-	-	-	-	-
	C 1	-	-	-	-	-	-
	C 50	-	-	-	-	-	-

\*\*\*หมายเหตุ B = สารสกัดหยาบของน้ำหมัก, C = สารสกัดหยาบจากเซลล์และเส้นใย, - ไม่เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

ตารางที่ 4.12 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆจากสารสกัดหยาบจากเซลล์และเส้นใยของแอคติโนมัยซีท ในระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเทคนิค Agar disc diffusion (ต่อ)

หมายเลข ไอโซเลท	ความเข้มข้น (mg/ml)	บริเวณยับยั้ง (inhibition zone, มิลลิเมตร)					
		<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
BKH 02030	B 1	-	-	-	-	-	-
	B 50	-	-	-	-	-	-
	C 1	-	-	-	-	-	-
	C 50	-	-	-	-	-	-
BKH 241	B 1	-	-	-	-	-	-
	B 50	-	-	-	-	-	-
	C 1	-	-	-	-	-	-
	C 50	-	-	-	-	-	-
BKH 1731	B 1	-	-	-	-	-	-
	B 50	-	-	-	-	-	-
	C 1	-	-	-	-	-	-
	C 50	-	-	-	-	-	-

\*\*\*หมายเหตุ B = สารสกัดหยาบของน้ำหมัก, C = สารสกัดหยาบจากเซลล์และเส้นใย, - ไม่เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

ตารางที่ 4.12 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆจากสารสกัดหยาบจากเซลล์และเส้นใยของแอกติโนมัยซีท ในระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเทคนิค Agar disc diffusion (ต่อ)

หมายเลข ไอโซเลท	ความเข้มข้น (mg/ml)	บริเวณยับยั้ง (inhibition zone, มิลลิเมตร)					
		<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
BKH 1943	B 1	-	-	-	-	-	-
	B 50	-	-	-	-	-	-
	C 1	-	-	-	-	-	-
	C 50	-	-	-	-	-	-
BKH 2025	B 1	-	-	-	-	-	-
	B 50	-	-	-	-	-	-
	C 1	-	-	-	-	-	-
	C 50	-	-	-	-	-	-
BKH 2026	B 1	-	-	-	-	-	-
	B 50	-	-	-	-	-	-
	C 1	-	-	-	-	-	-
	C 50	-	-	-	-	-	-

\*\*\*หมายเหตุ B = สารสกัดหยาบของน้ำหมัก, C = สารสกัดหยาบจากเซลล์และเส้นใย, - ไม่เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

ตารางที่ 4.12 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆจากสารสกัดหยาบจากเซลล์และเส้นใยของแอกติโนมัยซีท ในระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเทคนิค Agar disc diffusion (ต่อ)

หมายเลข ไอโซเลท	ความเข้มข้น (mg/ml)	บริเวณยับยั้ง (inhibition zone, มิลลิเมตร)					
		<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
BKH 2021	B 1	-	-	-	-	-	-
	B 50	-	-	-	-	-	-
	C 1	-	-	-	-	-	-
	C 50	-	-	-	-	-	-
BKH 01730	B 1	-	-	-	-	-	-
	B 50	-	-	-	-	-	-
	C 1	-	-	-	-	-	-
	C 50	-	-	-	-	-	-

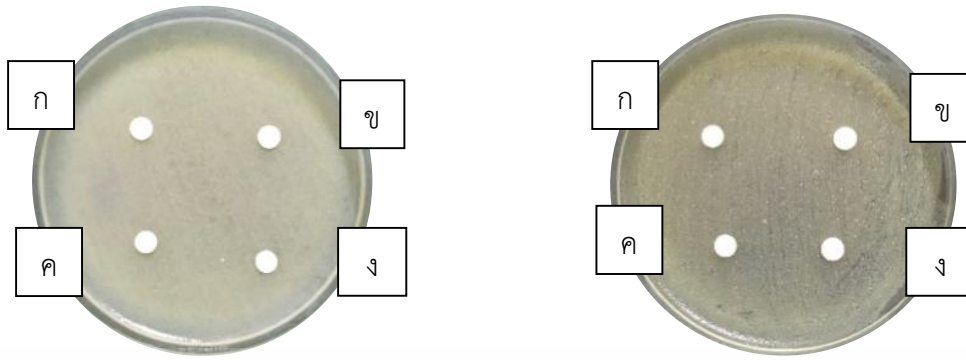
\*\*\*หมายเหตุ B = สารสกัดหยาบของน้ำหมัก, C= สารสกัดหยาบจากเซลล์และเส้นใย, - ไม่เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

จากตารางที่ 4.12 พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีททั้ง 11 ไอโซเลท ไม่เกิดวงใส (clear zone) บนผิวหน้าอาหาร MHA (Muller Hinton agar) สำหรับการทดสอบแบคทีเรีย และ อาหาร SDA (Sabouraud dextrose agar) สำหรับการทดสอบยีสต์ ถึงแม้ว่า สารสกัดหยาบในชั้นของเอทิลอะซีเตต และ ในชั้นของเมทานอล ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่นำมาทดสอบโดยเทคนิค Agar disc diffusion จะเป็นความเข้มข้นที่สูงเมื่อเทียบกับงานวิจัยอื่นๆ แต่ไม่พบการยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบที่ประกอบด้วย *Escherichia coli* ATCC 25922 , *Candida albicans* ATCC 90028, *Micrococcus luteus* TISTR 2374, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 เนื่องจาก เทคนิคการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เบื้องต้น (Pre-test) มีความผิดพลาด โดยควรจะขีดเชื้อทดสอบโดยลากเชื้อทดสอบออกจากเชื้อแอกติโนมัยซีททั้งด้านซ้ายและด้านขวา เพื่อที่จะให้เชื้อทดสอบที่อยู่ใกล้กับเชื้อแอกติโนมัยซีทมีความเข้มข้น ทำให้สามารถบอกผลการทดสอบได้อย่างถูกต้อง และไม่ควรถากเชื้อทดสอบผ่านหรือทับเชื้อแอกติโนมัยซีท เพราะจะทำให้ผลการทดสอบที่ได้มีความผิดพลาด

ผลการศึกษาความสามารถของการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบในชั้นของเอทิลอะซีเตต และ ในชั้นของเมทานอล ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรโดยให้ ก คือ ความเข้มข้นของเซลล์ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, ข คือ ความเข้มข้นของส่วนน้ำหมัก 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, ค คือ ความเข้มข้นของเซลล์ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, ง คือ ความเข้มข้นของส่วนน้ำหมัก 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, N คือ Negative control (เมทานอล) และ P คือ Positive control (กานามัยซิน) ความเข้มข้น 1.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



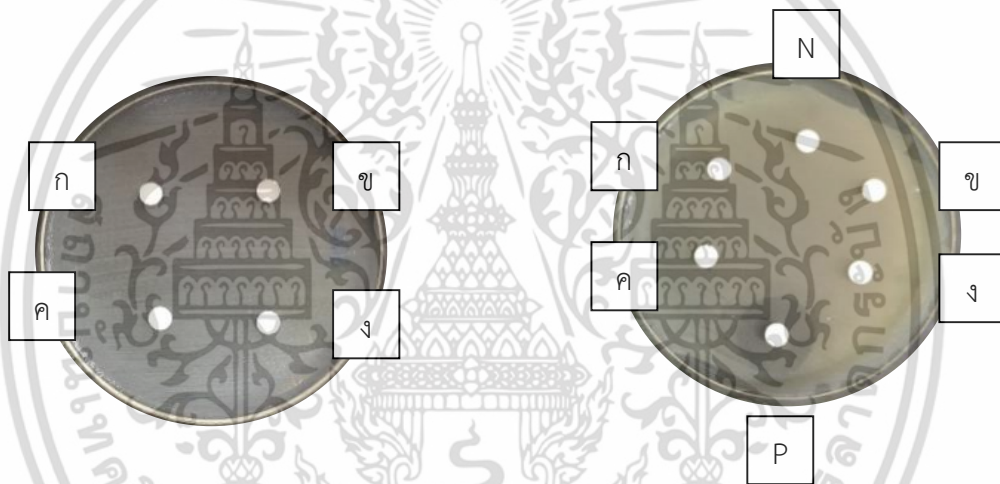
รูปที่ 4.65 แสดงผลการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ของเชื้อแอกติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BKH 2021 (ก) และ *Micrococcus luteus* ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 1731 (ข) ตามลำดับ



(ก)

(ข)

รูปที่ 4.66 แสดงผลการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ของเชื้อแอคติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BKH 1943 (ก) และ *Staphylococcus aureus* ของเชื้อแอคติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BKH 01722 (ข) ตามลำดับ



(ก)

(ข)

รูปที่ 4.67 แสดงผลการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทที่ BKH 2026 (ก) และ *Pseudomonas aeruginosa* ของเชื้อแอคติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BKH 01724 (ข) ตามลำดับ

#### 4.9 รวมผลการทดลองของเชื้อแอกติโนมัยซีททั้ง 11 ไอโซเลทที่ได้รับการคัดเลือก

จากการทดสอบความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยการทดสอบเบื้องต้นสามารถคัดเลือกเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทที่ให้ผลเด่นชัดได้ 11 ไอโซเลท มาทำการทดสอบการผลิตสารต้านจุลินทรีย์ทดสอบโดยการสกัดสารสกัดหยาบจากน้ำหมักของเชื้อแอกติโนมัยซีท

หมายเลขไอโซเลท BKH 00830 เป็นเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินบริเวณธารน้ำพุร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2560 ณ จุดเก็บตัวอย่างที่ 8 โดยตัวอย่างดินมีคุณสมบัติทางกายภาพ ดังนี้ มีน้ำหนักของตัวอย่างดินอยู่ที่ 7.950 กรัม ปริมาณความชื้นอยู่ที่ 1.38% ค่าความเป็นกรดต่างอยู่ที่ 7.72 และ อุณหภูมิ ณ จุดเก็บดินอยู่ที่ 54 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทโดยสังเกตสี และรงควัตถุของโคโลนีที่เจริญบนผิวอาหาร และได้ผิวอาหารโดยการเปรียบเทียบกับระบบสี The NBS/IBCC Color System และสังเกตลักษณะของสปอร์ด้วยเทคนิค slide culture พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทสร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray เส้นใยใต้อาหารสี Moderate Olive สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Brilliant Yellow Green สร้างสปอร์ภายในถุงหุ้มสปอร์ (Sporangia) มีลักษณะแบบ Polysporous ของ *Planopolyspora* หรือสายสปอร์รูปทรงคล้ายท่อ บนอาหาร ISP medium no 2 และทำการศึกษาลักษณะทางสรีระวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีท พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทมีความสามารถในการย่อยสลายเจลาตินและการย่อยสลายโปรตีนบนอาหาร Skim milk จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ และนำมาความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ พบว่า สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 40-50 องศาเซลเซียส และ ในช่วงความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ระหว่างร้อยละ 0-7 นอกจากนี้ในการทดสอบเบื้องต้นพบว่าไอโซเลทนี้สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Micrococcus luteus*



(ก)

(ข)

(ค)

รูปที่ 4.68 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 00830

(ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 00830 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน

(ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 00830 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 00830 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

หมายเลขไอโซเลท BKH 01722 เป็นเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินบริเวณธารน้ำพุร้อนบ่อคลิ้ง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2560 ณ จุดเก็บตัวอย่างที่ 17 โดยตัวอย่างดินมีคุณสมบัติทางกายภาพ ดังนี้ มีน้ำหนักของตัวอย่างดินอยู่ที่ 7.946 กรัม ปริมาณความชื้นอยู่ที่ 0.83 % ค่าความเป็นกรดต่างอยู่ที่ 7.67 และอุณหภูมิ ณ จุดเก็บดินอยู่ที่ 54 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทโดยสังเกตสี และรงควัตถุของโคโลนีที่เจริญบนผิวอาหาร และได้ผิวอาหารโดยการเปรียบเทียบกับระบบสี The NBS/IBCC Color System และสังเกตลักษณะของสปอร์ด้วยเทคนิค slide culture พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทสร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์ภายในถุงหุ้มสปอร์ (Sporangia) มีลักษณะแบบ Polysporous ของ *Planopolyspora* หรือสายสปอร์รูปทรงคล้ายท่อบนอาหาร ISP medium no 2 และทำการศึกษาลักษณะทางสรีระวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีท พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทมีความสามารถในการย่อยสลายเจลาตินการย่อยแป้ง และการย่อยสลายโปรตีนบนอาหาร Skim milk จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ และนำมาความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ พบว่า สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 40-60 องศาเซลเซียส และ เจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 เท่านั้น นอกจากนี้ในการทดสอบเบื้องต้นพบว่าไอโซเลทนี้สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus*



รูปที่ 4.69 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01722

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01722 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01722 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01722 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

หมายเลขไอโซเลท BKH 01724 เป็นเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินบริเวณธารน้ำพุร้อนบ่อคลิ้ง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรีครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2560 ณ จุดเก็บตัวอย่างที่ 17 โดยตัวอย่างดินมีคุณสมบัติทางกายภาพดังนี้มีน้ำหนักของตัวอย่างดินอยู่ที่ 7.946 กรัม ปริมาณความชื้นอยู่ที่ 0.83 % ค่าความเป็นกรดต่างอยู่ที่ 7.67 และอุณหภูมิ ณ จุดเก็บดินอยู่ที่ 54 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทโดยสังเกตสี และรงควัตถุของโคโลนีที่เจริญบนผิวอาหาร และได้ผิวอาหารโดยการเปรียบเทียบกับระบบสี The NBS/IBCC Color System และสังเกตลักษณะของสปอร์ด้วยเทคนิค slide culture พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีท สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มีลักษณะแบบ Rectiflexibiles หรือสายสปอร์ตรงหรือโค้งงอ บนอาหาร ISP medium no 2 และทำการศึกษาลักษณะทางสรีระวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีท พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทมีความสามารถในการย่อยสลายเจลาติน การย่อยแป้ง และการย่อยสลายโปรตีนบนอาหาร Skim milk จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ และนำมาความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ พบว่า สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 40-55 องศาเซลเซียส และ ในช่วงความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ระหว่างร้อยละ 0-3 นอกจากนี้ในการทดสอบเบื้องต้นพบว่าไอโซเลทนี้สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Micrococcus luteus*



(ก)

(ข)

(ค)

รูปที่ 4.70 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01724

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01724 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01724 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01724 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

หมายเลขไอโซเลท BKH 02030 เป็นเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินบริเวณธารน้ำพุร้อนบ่อคลิ้ง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2560 ณ จุดเก็บตัวอย่างที่ 20 โดยตัวอย่างดินมีคุณสมบัติทางกายภาพ ดังนี้ มีน้ำหนักของตัวอย่างดินอยู่ที่ 7.81 กรัม ปริมาณความชื้นอยู่ที่ 1.18% ค่าความเป็นกรดต่างอยู่ที่ 7.80 และอุณหภูมิ ณ จุดเก็บดินอยู่ที่ 54 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทโดยสังเกตสี และรงควัตถุของโคโลนีที่เจริญบนผิวอาหาร และได้ผิวอาหารโดยการเปรียบเทียบกับระบบสี The NBS/IBCC Color System และสังเกตลักษณะของสปอร์ด้วยการเทคนิค slide culture พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีท สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้อาหารสี Brilliant Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบ polysporous มีลักษณะแบบ Rectiflexibiles ของสายสปอร์ตรง หรือโค้งงอ บนอาหาร ISP medium no 2 และทำการศึกษาลักษณะทางสรีระวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีท พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทมีความสามารถในการย่อยสลายเจลาติน การย่อยแป้ง และการย่อยสลายโปรตีนบนอาหาร Skim milk จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ และนำมาความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ พบว่า สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 40-60 องศาเซลเซียส และ ในช่วงความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ระหว่างร้อยละ 0-3 นอกจากนี้ในการทดสอบเบื้องต้นพบว่าไอโซเลทนี้สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Micrococcus luteus*



รูปที่ 4.71 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 02030

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 02030 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 02030 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 02030 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

หมายเลขไอโซเลท BKH 241 เป็นเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินบริเวณธารน้ำพุร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2560 ณ จุดเก็บตัวอย่างที่ 2 โดยตัวอย่างดินมีคุณสมบัติทางกายภาพ ดังนี้ มีน้ำหนักของตัวอย่างดินอยู่ที่ 7.902 กรัม ปริมาณความชื้นอยู่ที่ 0.15% ค่าความเป็นกรดต่างอยู่ที่ 7.52 และอุณหภูมิ ณ จุดเก็บดินอยู่ที่ 56 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทโดยสังเกตสี และรงควัตถุของโคโลนีที่เจริญบนผิวอาหาร และได้ผิวอาหารโดยการเปรียบเทียบกับระบบสี The NBS/IBCC Color System และสังเกตลักษณะของสปอร์ด้วยเทคนิค slide culture พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทสร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray เส้นใยใต้อาหารสี Brilliant Greenish Yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Brilliant Greenish Yellow สร้างสปอร์แบบสายสั้น (Chain) มีลักษณะแบบ Oligosporous ของ *Catellatospora* หรือสายสปอร์ตรงจนถึงโค้งงอ บนอาหาร ISP medium no 2 และทำการศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีท พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทมีความสามารถในการย่อยแป้ง และการย่อยสลายโปรตีนบนอาหาร Skim milk จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ และนำมาความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ พบว่า สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 40-45 องศาเซลเซียส และ ในช่วงความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ระหว่างร้อยละ 0-5 นอกจากนี้ในการทดสอบเบื้องต้นพบว่าไอโซเลทนี้สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Micrococcus luteus*



รูปที่ 4.72 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 241

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 241 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 241 บนอาหาร International Streptomyces Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 241 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

หมายเลขไอโซเลท BKH 1731 เป็นเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินบริเวณธารน้ำพุร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2560 ณ จุดเก็บตัวอย่างที่ 17 โดยตัวอย่างดินมีคุณสมบัติทางกายภาพ ดังนี้ มีน้ำหนักของตัวอย่างดินอยู่ที่ 7.946 กรัม ปริมาณความชื้นอยู่ที่ 0.83% ค่าความเป็นกรดต่างอยู่ที่ 7.67 และอุณหภูมิ ณ จุดเก็บดินอยู่ที่ 54 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทโดยสังเกตสี และแรงควัตถุของโคโลนีที่เจริญบนผิวอาหาร และได้ผิวอาหารโดยการเปรียบเทียบกับระบบสี The NBS/IBCC Color System และสังเกตลักษณะของสปอร์ด้วยเทคนิค slide culture พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีท สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray เส้นใยใต้อาหารสี Moderate Yellowish Brown สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Light Olive Brown สร้างสปอร์แบบ polysporous ลักษณะแบบ Retinaculiaperti สายสปอร์คล้ายขอ (hook) เป็นวงเปิดหรือเป็นเกลียวซ้อนกัน 1-3 ชั้น บนอาหาร ISP medium no 2 และทำการศึกษาลักษณะทางสรีระวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีท พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทมีความสามารถในการย่อยเจลาตินการย่อยสลายแป้ง และการย่อยสลายโปรตีนบนอาหาร Skim milk จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ และนำมาความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ พบว่า สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 40-50 องศาเซลเซียส และ ในช่วงความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ระหว่างร้อยละ 0-7 นอกจากนี้ในการทดสอบเบื้องต้นพบว่าไอโซเลทนี้สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Micrococcus luteus*



รูปที่ 4.73 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1731

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1731 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1731 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1731 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

หมายเลขไอโซเลท BKH 1943 เป็นเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินบริเวณธารน้ำพุร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2560 ณ จุดเก็บตัวอย่างที่ 19 โดยตัวอย่างดินมีคุณสมบัติทางกายภาพ ดังนี้ มีน้ำหนักของตัวอย่างดินอยู่ที่ 8.00 กรัม ปริมาณความชื้นอยู่ที่ 0.57 % ค่าความเป็นกรดต่างอยู่ที่ 7.63 และอุณหภูมิ ณ จุดเก็บดินอยู่ที่ 51 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทโดยสังเกตสี และรงควัตถุของโคโลนีที่เจริญบนผิวอาหาร และได้ผิวอาหารโดยการเปรียบเทียบกับระบบสี The NBS/IBCC Color System และสังเกตลักษณะของสปอร์ด้วยเทคนิค slide culture พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีท สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มีลักษณะแบบ Rectiflexibiles บนอาหาร ISP medium no 2 และทำการศึกษา ลักษณะทางสรีระวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีท พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทมีความสามารถในการย่อยเจลาตินการย่อยสลายแป้ง และการย่อยสลายโปรตีนบนอาหาร Skim milk จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ และนำมาความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ พบว่า สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 40-60 องศาเซลเซียส และ ในช่วงความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ระหว่างร้อยละ 0-3 นอกจากนี้ในการทดสอบเบื้องต้นพบว่าไอโซเลทนี้สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Micrococcus luteus*



(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.74** แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1943

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1943 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1943 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 1943 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

หมายเลขไอโซเลท BKH 2025 เป็นเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินบริเวณธารน้ำพุร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2560 ณ จุดเก็บตัวอย่างที่ 20 โดยตัวอย่างดินมีคุณสมบัติทางกายภาพ ดังนี้ มีน้ำหนักของตัวอย่างดินอยู่ที่ 7.81 กรัม ปริมาณความชื้นอยู่ที่ 1.18% ค่าความเป็นกรดต่างอยู่ที่ 7.80 และอุณหภูมิ ณ จุดเก็บดินอยู่ที่ 54 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทโดยสังเกตสี และรงควัตถุของโคโลนีที่เจริญบนผิวอาหาร และได้ผิวอาหารโดยการเปรียบเทียบกับระบบสี The NBS/IBCC Color System และสังเกตลักษณะของสปอร์ด้วยเทคนิค slide culture พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีท สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish White เส้นใยใต้อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มีลักษณะแบบ Rectiflexibiles บนอาหาร ISP medium no 2 และทำการศึกษา ลักษณะทางสรีระวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีท พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทมีความสามารถในการย่อยเจลาติน การย่อยสลายแป้ง และการย่อยสลายโปรตีนบนอาหาร Skim milk จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ และนำมาความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ พบว่า สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 40-60 องศาเซลเซียส และ ในช่วงความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ระหว่างร้อยละ 0-3 นอกจากนี้ในการทดสอบเบื้องต้นพบว่าไอโซเลทนี้สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Micrococcus luteus*



รูปที่ 4.75 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2025

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2025 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2025 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2025 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

หมายเลขไอโซเลท BKH 2025 เป็นเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินบริเวณธารน้ำพุร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2560 ณ จุดเก็บตัวอย่างที่ 20 โดยตัวอย่างดินมีคุณสมบัติทางกายภาพ ดังนี้ มีน้ำหนักของตัวอย่างดินอยู่ที่ 7.81 กรัม ปริมาณความชื้นอยู่ที่ 1.18% ค่าความเป็นกรดต่างอยู่ที่ 7.80 และอุณหภูมิ ณ จุดเก็บดินอยู่ที่ 54 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทโดยสังเกตสี และรงควัตถุของโคโลนีที่เจริญบนผิวอาหาร และได้ผิวอาหารโดยการเปรียบเทียบกับระบบสี The NBS/IBCC Color System และสังเกตลักษณะของสปอร์ด้วยเทคนิค slide culture พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีท สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish Gray เส้นใยใต้อาหารสี Light Greenish Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์ภายในถุงหุ้มสปอร์ (Sporangia) มีลักษณะแบบ Polysporous ของ *Planopolyspora* หรือสายสปอร์รูปทรงคล้ายท่อบนอาหาร ISP medium no 2 และทำการศึกษาลักษณะทางสรีระวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีทพบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทมีความสามารถในการย่อยเจลาติน การย่อยสลายแป้ง และการย่อยสลายโปรตีนบนอาหาร Skim milk จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ และนำมาความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ พบว่า สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 40-60 องศาเซลเซียส และ เจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 เท่านั้น นอกจากนี้ในการทดสอบเบื้องต้นพบว่าไอโซเลทนี้สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Micrococcus luteus*



รูปที่ 4.76 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2026

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2026 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2026 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2026 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

หมายเลขไอโซเลท BKH 2021 เป็นเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินบริเวณธารน้ำพุร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2560 ณ จุดเก็บตัวอย่างที่ 20 โดยตัวอย่างดินมีคุณสมบัติทางกายภาพ ดังนี้ มีน้ำหนักของตัวอย่างดินอยู่ที่ 7.81 กรัม ปริมาณความชื้นอยู่ที่ 1.18% ค่าความเป็นกรดต่างอยู่ที่ 7.80 และอุณหภูมิ ณ จุดเก็บดินอยู่ที่ 54 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทโดยสังเกตสี และรงควัตถุของโคโลนีที่เจริญบนผิวอาหาร และได้ผิวอาหารโดยการเปรียบเทียบกับระบบสี The NBS/IBCC Color System และสังเกตลักษณะของสปอร์ด้วยการเทคนิค slide culture พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทสร้างเส้นใยอากาศสี Brilliant Greenish Yellow เส้นใยใต้อาหารสี Light Yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ สร้างสปอร์แบบสาย bisporous การสร้างสปอร์เริ่มจากนั้นมีการพองออกและสร้างผนังกันตรงกลาง บนอาหาร ISP medium no 2 และทำการศึกษาลักษณะทางสรีระวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีท พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทมีความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนบนอาหาร Skim milk จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ และนำมาความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ พบว่า สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 45-55 องศาเซลเซียส แต่ไม่มีการเจริญที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 เท่านั้น นอกจากนี้ในการทดสอบเบื้องต้นพบว่าไอโซเลทนี้สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli*



รูปที่ 4.77 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2021

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2021 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2021 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 2021 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

หมายเลขไอโซเลท BKH 01730 เป็นเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินบริเวณธารน้ำพุร้อนบ่อคลิ้ง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ครั้งที่ 2 เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2560 ณ จุดเก็บตัวอย่างที่ 17 โดยตัวอย่างดินมีคุณสมบัติทางกายภาพ ดังนี้ มีน้ำหนักของตัวอย่างดินอยู่ที่ 7.946 กรัม ปริมาณความชื้นอยู่ที่ 0.83% ค่าความเป็นกรดต่ำอยู่ที่ 7.67 และอุณหภูมิ ณ จุดเก็บดินอยู่ที่ 54 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเชื้อแอกติโนมัยซีทมาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทโดยสังเกตสี และรงควัตถุของโคโลนีที่เจริญบนผิวอาหาร และได้ผิวอาหารโดยการเปรียบเทียบกับระบบสี The NBS/IBCC Color System และสังเกตลักษณะของสปอร์ด้วยเทคนิค slide culture พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีท สร้างเส้นใยอากาศสี Light Olive Gray เส้นใยใต้อาหารสี Moderate Olive สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำสี Dark Greenish Yellow สร้างสปอร์แบบสายยาว (Polysporous) มีลักษณะแบบ Retinaculiaperti สายสปอร์คล้ายขอ (hook) บนอาหาร ISP medium no 2 และทำการศึกษาลักษณะทางสรีระวิทยาและชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีท พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทมีความสามารถในการย่อยเจลาติน การย่อยสลายแป้ง และการย่อยสลายโปรตีนบนอาหาร Skim milk จากนั้นนำมาทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ และนำมาความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ พบว่า สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 40-50 องศาเซลเซียส และ ในช่วงความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ระหว่างร้อยละ 0-7 นอกจากนี้ในการทดสอบเบื้องต้นพบว่าไอโซเลทนี้สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis*



รูปที่ 4.78 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01730

- (ก) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01730 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) ระยะเวลา 14 วัน
- (ข) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01730 บนอาหาร International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP 2) 14 วัน
- (ค) แสดงลักษณะเส้นใยของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท BKH 01730 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินบริเวณธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี พบว่า สามารถแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทได้ 25 ไอโซเลท เจริญบนอาหาร Starch casein agar (SCA) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ 32 ไอโซเลท เจริญบนอาหาร Zhang'Starch Soil Extract agar (ZSSE) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะทางชีวเคมี ทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ ทดสอบความสามารถในการเจริญที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เบื้องต้น และ ทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ ทดสอบโดยเทคนิค Agar disc diffusion

ผลการทดสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่า เชื้อแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกได้สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสและเชื้อแอคติโนมัยซีทสามารถเจริญได้ดีที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น พบว่า มีเชื้อแอคติโนมัยซีท 11 ไอโซเลท จากเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ได้จากการคัดแยกทั้งหมด 32 ไอโซเลท สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้ ดังนี้

เชื้อแอคติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BKH 00830 สามารถยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ได้เฉลี่ย 3.19 มิลลิเมตร

เชื้อแอคติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BKH 01722 สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้เฉลี่ย 3.76 มิลลิเมตร และเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ได้เฉลี่ย 12.87 มิลลิเมตร

เชื้อแอคติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BKH 01724 สามารถยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ได้เฉลี่ย 2.40 มิลลิเมตร และเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้เฉลี่ย 2.34 มิลลิเมตร

เชื้อแอคติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BKH 02030 สามารถยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ได้เฉลี่ย 5.20 มิลลิเมตร และเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้เฉลี่ย 6.19 มิลลิเมตร

เชื้อแอคติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BKH 241 สามารถยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ได้เฉลี่ย 2.78 มิลลิเมตร

เชื้อแอคติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BKH 1731สามารถยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ได้เฉลี่ย 21.64 มิลลิเมตร และเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้เฉลี่ย 23.74 มิลลิเมตร

เชื้อแอคติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BKH 1943 สามารถยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ได้เฉลี่ย 3.19 มิลลิเมตร และเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้เฉลี่ย 8.16 มิลลิเมตร

เชื้อแอคติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BKH 2025 สามารถยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ได้เฉลี่ย 7.15 มิลลิเมตร และเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้เฉลี่ย 3.20 มิลลิเมตร

เชื้อแอคติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BKH 2026 สามารถยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ได้เฉลี่ย 6.28 มิลลิเมตร และเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้เฉลี่ย 5.61 มิลลิเมตร

เชื้อแอกติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BKH 2021 สามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922 ได้เฉลี่ย 30.21 มิลลิเมตร

เชื้อแอกติโนมัยซีท ไอโซเลทที่ BKH 01730 สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้เฉลี่ย 3.68 มิลลิเมตร

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เชื้อแอกติโนมัยซีท 10 ไอโซเลท จากเชื้อแอกติโนมัยซีท ทั้งหมด 11 ไอโซเลท มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรม เช่น *Micrococcus luteus* TISTR 2374, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 นอกจากนี้ ยังมีเชื้อแอกติโนมัยซีทเพียง 1 ไอโซเลทเท่านั้นที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้พบว่าดินจากธารน้ำร้อนบ่อคลิ้ง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี เป็นแหล่งที่มีสภาวะรุนแรง สามารถค้นพบแอกติโนมัยซีทที่มีความหลากหลายจึงควรมีการศึกษาดิน จากน้ำพุร้อนในพื้นที่ต่างๆ เช่น น้ำพุโป่งเดือดป่าแป๋, บ่อน้ำร้อนเบตงซึ่งมีอุณหภูมิสูงมากกว่า 80 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจเป็นแหล่งที่สามารถพบแอกติโนมัยซีทที่มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น

5.2.2 เนื่องจากกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมทุกประเภท จำเป็นต้องใช้ความร้อนสูงใน กระบวนการผลิตและแอกติโนมัยซีท 32 ไอโซเลทที่แยกได้จากวิธีที่ 2 และ 3 สามารถเจริญได้ดีที่ อุณหภูมิสูงถึง 45 องศาเซลเซียส และไอโซเลท BKH 00723 , BKH 01722 , BKH 02030 , BKH 1943 , BKH 2024, BKH 2025 และ BKH 2026 เจริญได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 60 องศาเซลเซียส ซึ่งสูง กว่าอุณหภูมิที่จุลินทรีย์ส่วนมากสามารถเจริญได้คือ 30 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงเป็นประโยชน์อย่าง มากในการนำไปศึกษาสารต่างๆที่เชื้อสามารถผลิตขึ้น เพื่อนำไปใช้ในการพัฒนาทางอุตสาหกรรม ต่อไป

5.2.3 จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้แอกติโนมัยซีท ไอโซเลท BKH 00830, BKH 1731, BKH 01730, BKH 232 และ BKH 2023 สามารถเจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 7 ซึ่งเจริญได้ในสภาวะที่เป็นเกลือ สามารถนำประโยชน์ไปประยุกต์ใช้ในงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพ

5.2.4 จากการศึกษาวิจัยนี้ ได้ทดสอบการสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่มี ฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ โดยทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียและยีสต์เท่านั้น โดยอาจทำการ ทดสอบเพิ่มเติม เช่น การทดสอบกับเชื้อรา เพื่อให้งานวิจัยมีความสมบูรณ์มากขึ้น และสามารถนำ ประโยชน์จากการวิจัยมาประยุกต์ใช้ได้มากขึ้น

5.2.5 จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ สามารถค้นพบเชื้อแอกติโนมัยซีทที่สามารถสร้างสารทุติยภูมิ ที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในระดับสกุลและสปีชีส์เพื่อที่จะได้พิสูจน์ เอกลักษณะของเชื้อหรือควรศึกษาเพิ่มถึงการหาปัจจัยหรือสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างสารทุติยภูมิที่ มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อแอกติโนมัยซีท เพื่อที่จะทำให้เกิดการสร้างสารทุติยภูมิในปริมาณที่ มากขึ้น

## เอกสารอ้างอิง

- กรกช ขมหวาน, เขมจินันท์ เทิดทูนการค้า, จิตภา มหาผลเจริญ. 2556. “การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียกลุ่ม แอคติโนมัยซีทและสกุลบาซิลลัส จากดินบริเวณรอบบรากต้นข้าวที่ผลิตฮอร์โมนพืชอินโดลอะซีติก แอซิด.” ปรินญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- กรมทรัพยากร. 2560. น้ำพุร้อนในประเทศไทย. [Online]. Available : <http://www.dmr.go.th> (สืบค้นวันที่ 20 พฤษภาคม 2560)
- กฤติมา แสงสมจิตต์. 2548. “การคัดเลือกแบคทีเรียที่กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช.” วิทยานิพนธ์เกษตรศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- กิ่งจันท์ มะลิซ้อน. 2555. “ความหลากหลายของแอคติโนแบคทีเรียในดิน.” รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สาขาวิชาชีววิทยา, มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี.
- กนกทิพย์ ปัญญาไชย และมงคล ยะไชย. 2557. “บทบาทของผนังเซลล์ยีสต์ในการเป็นสารเสริมอาหารสัตว์.” วารสารสัตวศาสตร์แห่งประเทศไทย 1(2) : 1-10
- เกรียงศักดิ์เอื้อมเก็บ. 2557. “การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของพลาสมาจากจระเข้พันธุ์ไทยต่อแบคทีเรียดีด้อยา.” ปรินญาบัณฑิตเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
- คณิงกานต์ กลั่นบุศย์. 2558. เอกสารประกอบวิชาปฏิบัติการสรีรวิทยาของจุลินทรีย์. คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กทม.
- จามจรี เกตุบัวขาว, ณิชภา ขมพู และ สุพัตรา ชาวสวน. 2555. “การคัดแยกแอคติโนมัยซีทจากมูลสัตว์ เพื่อใช้ในการย่อยสลายวัสดุทางการเกษตรเบื้องต้น.” ปรินญาบัณฑิตวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.
- จิตติ ท่าไฉ. 2557. แอคติโนแบคทีเรียเทคนิคการแยกและคัดเลือกเชื้อ. กรุงเทพฯ : แดเน็กซ์อินเตอร์คอร์ปอเรชั่น
- ชัยสิทธิ์ นิยะสม. 2554. “การคัดแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยซีทที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากดินบริเวณมหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง.” รายงานวิจัยสาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยทักษิณ.
- ดร. สระงาม. 2543. “ผลของการเสริมสารโมเนนซินต่อผลผลิตโคนมในช่วงต้นระยะให้นม.” ปรินญาบัณฑิตวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
- ทายาท ศรียาภัย, พิชาภัค ศรียาภัย, กัญจน์ ศิลป์ประสิทธิ์, อรินทร์ งามนิยม และวิรงรอง ดวงใจ. 2558. “ศักยภาพด้านชีวภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินป่าชายเลนจังหวัดสตูล.” วารสารวนศาสตร์ 34(2) : 51-61.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธนภพ โสตรโยม, เกศรินทร์ เพ็ชรรัตน์, นพพร สกัลยีนยงสุข, ดวงกมล ตั้งสถิตพร, ดวงรัตน์ แซ่ตั้ง และ กิตติ ช้องประเสริฐ. 2558. “การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Salmonella spp.* ของสารสกัดจากหอมหัวใหญ่.” วิทยานิพนธ์คหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร.

นราพร สมบูรณ์นะ และชุตติกาญจน์ จิตบุญทวีสุข. วิจารณ์เรื่อง กลไกการอยู่รอด *Staphylococcus aureus* ภายในเซลล์มนุษย์. โดย กฤตยา. พุทธชินราชเวชสาร ปีที่ 32 ฉบับที่ 1 (มกราคม-เมษายน 2559) : 65-73.

(นิรนาม). มปป. *Staphylococcus aureus*. [Online]. Available :  
[http://www.stepwards.com/?page\\_id=366](http://www.stepwards.com/?page_id=366) (สืบค้นวันที่ 9 มิถุนายน 2560)

(นิรนาม). มปป. เพนิซิลิน (Penicillin) ยาปฏิชีวนะตัวแรกของโลก. Available :  
<http://www.vcharkarn.com/varticle/44132> (สืบค้นวันที่ 3 กรกฎาคม 2560)

(นิรนาม). มปป. Application of yeast cell wall in swine. Available :  
<http://www.allaboutfeed.net/Special-focus/Yeast-Special/Application-of-yeast-cell-wall-in-swine/> (สืบค้นวันที่ 3 กรกฎาคม 2560)

(นิรนาม). มปป. Pharmacology of penicillin. Available :  
<http://pharmafactz.com/pharmacology-of-penicillin> (สืบค้นวันที่ 3 กรกฎาคม 2560)

(นิรนาม). 2016. Ressources. Available : <http://www.ral-diagnostics.fr/ressources>  
 (สืบค้นวันที่ 9 มิถุนายน 2560)

นวลรัตน์ หนูขาว. 2554. “การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ที่ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

นิติพงษ์ ศิริวงศ์ และเอกชัย ชูเกียรติโรจน์. วิจารณ์เรื่อง การดื้อยาปฏิชีวนะของ *Staphylococcus aureus* แนวทางการควบคุม. สงขลานครินทร์เวชสาร ปีที่ 27 ฉบับที่ 4 (กรกฎาคม-สิงหาคม 2552) : 348-358.

ปรินทร์ ชัยวิสุทธิทางกูร, ศิวาพร ลงยันต์, ภัทริน ศรีดุลยกุลย์ และ ไพศาล สิทธิกรกุล. 2552. “การโคลนยีน และการแสดงออกของโปรตีนที่จำเพาะต่อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งวิเคราะห์โดยการเปรียบเทียบจีโนมและการผลิตโพลีโคลนอนแอนติบอดี.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา ชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

ปาลิตา ตั้งอนุรัตน์, ภิรม พจนกรโกศล, ฌปภา บุศยโสฬส และ อัญชลี สวาสดิ์ธรรม. 2558. “ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของน้ำผึ้ง.” ว. วิทยาศาสตร์เกษตร. 46(3) : 325-328.

ปิยะนุช เนียมทรัพย์, ภัทรนาวรรณ พรหมนัม, พิศกานต์ บรรเจดิกิจ และณัฐ เพ็ญอัน. 2552. “การวิจัยและพัฒนาจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการจัดการสิ่งแวดล้อม.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

ผาสุก เปี่ยมสุวรรณมาศ. 2548. “การยับยั้งสปอร์ *P.L. larvae* จากแบคทีเรียและแนวโน้มการประยุกต์ใช้ควบคุมโรคอเมริกันฟาล์วบรูต.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพบัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ยุวดี มหาศักดิ์ศิริ. 2546. “การแยกแอคติโนมัยซีทีทีที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะจากดินรังปลวกในประเทศไทย.” วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- รัตนารณ ศรีวิบูลย์, มรกต สุโขติรัตน์ และ ชินจิ โตกุยามา. 2548. “แอคติโนมัยซีทีสายพันธุ์ใหม่จากดินชายฝั่งที่สร้างสารยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อรา.” ใน 31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology, 18 – 20 October 2005.
- รัชยา วงศ์รัตนรัตน์, วิโรบล สุริยาบุตร และ สุภัค ลิปิสุวรรณพงศ์. 2556. “การคัดแยกและการคัดเลือกแบคทีเรียกลุ่ม actinomycetes ที่มีความสามารถในการย่อยสลายโพลีเอสเตอร์.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ลลิตา วังเงิน. 2554. “การคัดกรองและการพิสูจน์เอกลักษณ์แอคติโนมัยซีทีหายากที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- ลักขมิ ศุกระกาญจนะ. 2556. “การคัดแยกและการศึกษาคุณสมบัติเชื้อแอคติโนมัยซีทีที่สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยสลายพลาสติกชีวภาพ.” ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตมหาวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
- วสุ ปฐมอารีย์. ปฏิบัติการแอคติโนมัยซีทีเบื้องต้น. เชียงใหม่ : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- วาริรัตน์ หนูหิต. 2557. “การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวโดยใช้สารสกัดจากพืชตระกูลขิง.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา การจัดการสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- วาสนี ธรรมสถิต, ศุจินันท์ ยาประเสริฐ และเมธี เอกเศวตอนันต์. 2552. “การแยกและการตรวจสอบลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทีที่แยกได้จากบริเวณบ่อน้ำพุร้อน จังหวัดกระบี่.” ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- สำนักงานพัฒนาการท่องเที่ยว. 2560. น้ำพุร้อนบ้านบ่อคลึง. [Online]. Available :[http://61.19.236.142/hotspring/data\\_develope/data\\_ratburi\\_borklung.html](http://61.19.236.142/hotspring/data_develope/data_ratburi_borklung.html) (สืบค้นวันที่ 20 พฤษภาคม 2560)
- สุจรรยา ฉายแสง. 2556. “การแยกเชื้อเอนโดไฟติกแอคติโนมัยซีทีจากข่าและกระชาย : สมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ การต้านอนุมูลอิสระและการต้านเซลล์มะเร็ง.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- สุณัฐธา วิงวอน. 2558. “ผลของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่ออุบัติการณ์ของ *Vibrio* spp. บริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยบูรพา
- สุรชัย รัตนสุข. 2557. “ประสิทธิภาพของสมุนไพรพื้นบ้านในการยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans*.” วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สทวท.). 1(2) : 33-40.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Acharya, T. 2016. *Candida albicans: pathogenesis, diseases and laboratory diagnosis*. [Online]. Available : <http://microbeonline.com/candida-albicans-pathogenesis-diagnosis/>
- Adegboye, M.F. and Babalola, O.O. 2013. "Isolation, characterization and antibacterial activity of *Streptomyces* from rhizosphere soils in North West Province, South Africa." *Asia Life Sci.* 9: 403-421.
- Al-Dhabi, N.A. Esmail, A.G. Duraipandiyani, V. Arasu, M.V. and Salem-Bekhit, M.M. 2016. "Isolation, identification and screening of antimicrobial thermophilic *Streptomyces* sp. Al-Dhabi-1 isolated from Tharbanhot spring, Saudi Arabia." *Extremophiles*. 20 :79-90.
- Alexander, M. 1977. *Introduction to soil microbiology*. 2nd. ed. John Wiley and Sons, New York.
- Arai, T. 1975. *Culture media for Actinomycetes*. The Society for Actinomycetes. Japan :Asakura Publishing.
- Arunachalam Ruckmani, Ishwinder Kaur, Peter Schumann, Hans-Peter Klenk and Shanmugam Mayilraj. 2011. "Calidifontibacter indicus gen. nov., sp. nov., a member of the family Dermacoccaceae isolated from a hot spring, and emended description of the family Dermacoccaceae." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* : 2419-2424
- Atlas, R. M. 1995. *Handbook of Media For Environmental Microbiology*. Florida : CRC Press.
- Azman, A.S. Othman, I. Velu, S.S. Chan, K.G. Lee, L.H. 2015. "Mangrove rare actinobacteria: taxonomy, natural compound, and discovery of bioactivity." *Front. Microbiol.* 6:856.
- Bardone, M.R. Paternoster, M. and Coronelli, C. 1978. "Teichomycins, new antibiotics from *Actinoplanes steichomyceticus* nov. sp." *J. Antibiotics*. 31 : 170-177.
- Bowen, T. Stackebrandt, E. Dorsch, M. and Embley, T.M. 1989. "The phylogeny of *Amycolata autotrophica*, *Kibdelosporangium aridum* and *Saccharothrix australiensis*." *J. Gen. Microbiol.* 135:2529-2536.
- Butler, M.S. 2004. "The role of natural products chemistry in drug discovery." *J. Nat. Prod.* 67 : 2141-2153.
- Chaudhary, N. and Prabhu, S. 2016. "Thermophilic Actinomycetes from Hot Water Spring Capable of Producing Enzymes of Industrial Importance." *International Journal of Research Studies in Bioscience. (IJRSB)* 4(6) : 29-35.
- Ciabatti, R. and Cavalleri, B. 1989. "Ramoplanin (A/16686): a new glycopeptide antibiotic from *Actinoplanes*." *Progr. Ind. Microbiol.* 27: 205-219.

- Coronelli, C. Pagani, H. Bardone, M.R. and Lancini, G.C. 1974. "Purpuromycin, a new antibiotic isolated from *Actinoplanes sianthinogenes* n. sp." *J. Antibiotics*. 27 : 161-168.
- Couch, J. N. 1954. "The genus *Actinoplanes* and its relatives." *Trans. N. Y. Acad. Sci.* 16:315-318.
- Couch, J.N. 1963. "Some new genera and species of the *Actinoplanaceae*." *J. Elisha Mitchell. Sci. Soc.* 79 : 53-70.
- Couch, J.N., and Bland, C.E. 1974. The Actinoplanaceae. In: R.E. Buchanan and N.E. Gibbons (Eds.) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed. Williams and Wilkins. Baltimore, MD. 706-723.
- Embley, T.M. Smida, J. and Stackebrandt, E. 1988. "The phylogeny of mycolateless wallchemotype IV actinomycetes and description of *Pseudonocardiaceae* fam. nov." *Syst. Appl. Microbiol.* 11: 44-52.
- Empadinhas, N. Mendes, V. Simões, C. Santos, M.S. Mingote, A. Lamosa, P. Santos, H. and Costa, M.S. 2007. "Organic solutes in *Rubrobacter xylanophilus*: the first example of di-myo-inositol-phosphate in a thermophile." *Extremophiles* 11(5) : 667-673.
- Ettinger, L. Corbaz, R. and Hutter, R. 1958. "Zur Systematik der Actinomyceten. 4. Eine Arteinteilung der Gattung *Streptomyces* waseman et Henrici." *Arch. Mikrobiol.* 31 : 326-358.
- Fandi, K. Al-Muaiikel, N. and Al-Momani, F. 2014. "Antimicrobial activities of some thermophiles isolated from Jordan hot springs." *International Journal of Chemical, Environmental & Biological Sciences (IJCEBS)*. 2(1) : 57-60.
- Fergus, C.L. 1967. "Resistance of spores of some thermophilic actinomycetes to high temperature." *Mycopathologia et mycologia applicata*. 32(3) : 205-208.
- Hayakawa M. 2008. "Studies on the isolation and distribution of rare Actinomycetes in soil." *Actinomycetologica*. 22: 12-19.
- Hayakawa, M. and Nonomura, H. 1987. "Humic acid-vitamin agar, a new medium for the selective isolation of soil actinomycetes." *Journal of Fermentation Technology*. 65(5) : 501-509.
- Hayakawa, M. Iino, H. Takeuchi, S. and Yamazaki, T. 1997. "Application of a method incorporating treatment with chloramine-T for the selective isolation of *Streptosporangiaceae* from soil." *J. Ferm. Bioeng.* 84: 599-602
- Hayakawa, M. Momose, Y. Kajiura, T. Yamazaki, T. Tamura, T. Hatano, K. and Nonomura, H. 1995. "A selective isolation method for *Actinomadura viridis* in soil." *J. Ferment. Bioeng.* 79(3): 287-289.

- Hayakawa, M. Momose, Y. Yamazaki, T. and Nonomura, H. 1996. "A method for the selective isolation of *Microtetraspora glauca* and related four-spored actinomycetes from soil." *J. Appl. Bacteriol.* 80: 375–386.
- Hayakawa, M. Otaguro, M. Takeuchi, T. Yamazaki, T. and Iimura, Y. 2000. "Application of a method incorporating differential centrifugation for selective isolation of motile actinomycetes in soil and plant litter." *Ant. Leeuwenhoek* 78 : 171–185.
- Hayakawa, M. Sadakata, T. Kajiura, T. and Nonomura, H. 1991a. "New methods for the highly selective isolation of *Micromonospora* and *Microbispora* from soil." *J. Ferment. Bioeng.* 72: 320–326.
- Hayakawa, M. Tamura, T. Iino, H. and Nonomura, H. 1991b. "New methods for the highly selective isolation of *Streptosporangium* and *Dactylosporangium* from soil." *J. Ferment. Bioeng.* 72 : 327–333.
- Henssen, A. 1957. "Beiträge zur Morphologie und Systematik der thermophilen Actinomyceten." *Arch. Microbiol.* 26:373–414.
- Holt, J.G. Krieg, N.R. Sneath, P.H.A. Staley, J.T. and Williams, S.T. 1994. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9<sup>th</sup> ed., Baltimore, MD, USA : Williams and Wilkins
- Iinuma, S. Yokota, A. Hasegawa, T. and Kanamura, T. 1994. "*Actinocorallia* gen. nov., a new genus of the order *Actinomycetales*." *Int. J. Syst. Bacteriol.* 44:235–245.
- Jadoon, M.A. Ahmad, T. Ur Rehman, M.M. Khan, A. and Majid, A. 2014. "Isolation and Identification of Thermophilic Actinomycetes from Hot Water Springs from Azad Jammu and Kashmir Pakistan for the Production of Thermophilic Amylase." *World Applied Sciences Journal.* 30 (3): 350-354.
- Kenneth Todar. 2017. *Pseudomonas aeruginosa*. [Online]. Available : <http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html> (สืบค้นวันที่ 9 มิถุนายน 2560)
- Khanna, M. Solanki, R. and Lal, R. 2011. "Selective Isolation of Rare Actinomycetes Producing Novel Antimicrobial Compounds." *International Journal of Advanced Biotechnology and Research* ISSN 0976-2612. 2(3) : 357-375.
- Kishore, P. 2011. "Isolation, characterization and identification of *Actinobacteria* of Mangrove ecosystem, Bhitarkanika, Odisha." Project of Master of science in life science. National Institute of Technology Rourkela, Odisha.
- Klanbut, K. 2013. "The role of phospholipids in the growth and development of *Streptomyces*." A thesis for the degree of Doctor of philosophy. University of Strathclyde

- Korn-Wendisch, F., Kempf, A., Grund, E., Kroppenstedt, R.M. and Kutzner, H.J. 1989. "Transfer of *Faenia rectevirgula* Kurup and Agre 1983 to the genus *Sacharopolyspora* Lacey and Goodfellow 1975, elevation of *Sacharopolyspora hirsuta* subsp. *taberi* Labeda 1987 to species level, and emended description of the genus *Saccharopolyspora*." *International Journal of Systematic Bacteriology*. 39 : 430-441.
- Kurapovaa, A.I. Zenovaa, G.M. Studnitsyna, I.I. Kizilovab, A.K. Manucharovaa, N.A. Norovsurenc, Zh. and Zvyagintseva, D.G. 2012. "Thermotolerant and Thermophilic Actinomycetes from Soils of Mongolia Desert Steppe Zone." *Microbiology*. 81(1) : 98-108
- Küster, E. and Williams, S.T. 1964. "Selection of media for isolation of streptomycetes." *Nature*. 202 : 928-929.
- Lam, K.S. 2006. "Discovery of novel metabolites from marine actinomycetes." *Curr Opin Microbiol*. 9: 245-251.
- Lancini, G. and Lorenzetti, R. 1993. **Biotechnology of antibiotics and other bioactive microbial metabolites**. New York and London : Plenum Press.
- Lazzarini, A. Cavaletti, L. Toppo, G. and Marinelli, F. 2001. "Rare genera of actinomycetes as potential sources of new antibiotics." *Antonie Van Leeuwenhoek*. 78 : 399-405.
- Lechevalier, M.P. and Lechevalier, H.A. 1970. "Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes." *Int. J. Syst. Bacteriol*. 20:435-443.
- Malabarba, A. Landi, M. Pallanza, R. and Cavalleri, B. 1985. "Physicochemical and biological properties of actagardine and some hydrolysis products." *J. Antibiotics*. 38 : 1506-1511.
- Martin, A. 1961. **Introduction to Soil Microbiology**. New York: John Wiley & Sons Inc.
- McCarthy, A.J. and Williams, S.T. 1990. Methods for Studying the Ecology of Actinomycetes. *Methods In Microbiology*. Grigorova, R. and Norris, J.R. (Eds.), Academic Press Limited, London, 22: 533-363.
- Miyadoh, S. 1997. **Atlas of Actinomycetes**. The Society for Actinomycetes Japan. Asakura Publishing Co., Ltd. Japan.
- Nakajima, Y. Kitpreechavanich, V. Suzuki, K.I. and Kudo, T. 1999. "*Microbispora corallina* sp. nov., a new species of the genus *Microbispora* isolated from Thai soil." *Int. J. Syst. Bacteriol*. 49:1761-1767.
- Nonomura, H. and Ohara, Y. 1969. "Distribution of actinomycetes in soil. VI. A culture method effective for both preferential isolation and enumeration of *Microbispora* and *Streptosporangium* strains in soil." *J. Ferment. Technol*. 47 : 463-469.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Nonomura, H. and Ohara, Y. 1971. "Distribution of actinomycetes in soil. X. New genus and species of monosporicactinomycetes in soil." *J. Ferment. Technol.* 49 : 895–903.
- Nonomura, H. and Ohara, Y. 1974. "Distribution of actinomycetes in soil. XII. A new species of actinomycetes, *Thermononospora mesoviformis*, sp. nov." *J. Ferment. Technol.* 52 : 10–13.
- Nonomura, H. and S. Takagi. 1977. "Distribution of *Actinoplanetes* in soils of Jpn." *J. Ferment. Technol.* 55:423–428.
- Parenti, F. Pagani, H. and Beretta, G. 1975. "Lipiarmycin, a new antibiotic from *Actinoplanes* I. Description of the producer strain and fermentation studies." *J. Antibiotics.* 28 : 247–259.
- Petrolini, B.S. Quaroni, S. Saracchi, M. and Saradi, P. 1993. "A new genus of *madoromycetes*: *Planopolyspora* gen. Nov." *Actinomycetes* 4: 8-18.
- Petrolini, B.S. Quaroni, S. Saradi, P. Saracchi, M. and Andriollo. 1992. "A sporangiate actinomycete with Unusual morphological features." *Streptosporangium claviforme* sp. Nov. *Actinomycetes* 3: 45-50.
- Phongsopitanun, W. Suwanborirux, K. and Tanasupawat, S. 2014. "Identification and antimicrobial activity of *Streptomyces* strains from Thai mangrove sediment." *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences.* 38(1): 1-56.
- Porter, J.N. and Wilhelm, J.J. 1961. "The effect of *Streptomyces* populations of adding various supplements to soil samples." *Developments in Industrial Microbiology* 2 : 253–259.
- Pridham, T.G., Hasseltine, C.W. and Benedict, R.G. 1958. "A guide for the classification of *Streptomyces* according to selected group." Placement of strain in morphological section. *Appl. Microbiol.* 6:51-79.
- Rambelli, F. Brigotti, M. Zamboni, M. Denaro, M. Montanaro, L. and Sperti, S. 1989. "Effect of the antibiotic purpurosomycin on cell-free protein-synthesizing systems." *J. Biochem.* 259 : 307–310.
- Ranmoa, H. Guizhen, W. and Junying, I. 1993. "A new genus of actinomycetes, *Planotetraspora* Gen. Nov." *Int. J. Syst. Bacteriol.* 43: 469-470.
- Reischig Josef. 2014. *Micrococcus luteus* bacteria. Available : [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Eubacteria\\_\(259\\_00F\)\\_Micrococcus\\_luteus\\_bacteria.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Eubacteria_(259_00F)_Micrococcus_luteus_bacteria.jpg) (สืบค้นวันที่ 9 มิถุนายน 2560)
- Rheims, H. Schumnn, P. Rohde, M. and Stackebrandt, E. 1998. "*Verrucosispora gifhornensis* gen. nov., sp. nov., a new member of the actinobacterial family *Micromonosporaceae*." *Int. Syst. Bacteriol.* 48: 1119-1127.

- Ruckmani,A. Kaur, I. Schumann, P. Hans-Peter Klenk and Mayilraj, S. “*Calidifontibacter indicus* gen. nov., sp. nov., amember of the family *Dermacoccaceae* isolated from a hot spring, and emended description of thefamily *Dermacoccaceae*.” *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 60 : 2419–2424
- Ruttanasutja, P and Pathom-aree, W. 2015. “Selective Isolation of Cultivable Actinomycetes from Thai Coastal Marine Sediment.” *Chiang Mai J. Sci.* 42(1) : 88-103.
- Shivlata L. and Satyanarayana T. 2015. “Thermophilic and alkaliphilic Actinobacteria: biology and potential applications.” *Front. Microbiol.* 6: 1014.
- Stackebrandt, E. Rainey, F.A. and Ward-Rainey, N.L. 1997. “Proposal for new hierarchic classification system, Actinobacteria classic nov.” *Int J Syst Bacteriol.* 47(2):479-491.
- Sturm, T. 2015. *E. coli* gram stain. [Online]. Available : <http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=13348>
- Suzuki, S. Okuda, T. and Komatsubara, S. 1999. “Selective Isolation and Distribution of *Sporichthya* Strains.” *Applied and Environmental Microbiology*. : 1930-1935.
- Takizawa, M. Colwell, R.R. and Hill, R.T. 1993. “Isolation and Diversity of Actinomycetes in the Chesapeake Bay.” *Applied and Environmental Microbiology*. : 997-1002.
- Tamura, T. Hayakawa, M. and Hatano, K. 1997. “A new genus of order Actinomycetales, *Spirilliplanes* gen. nov., with description of *Spirilliplanes yamanashiensis* sp. nov.” *Int. J. Sys. Bacteriol.* 47: 97-102.
- Tankeshwar Acharya. 2016. *Candida albicans*: pathogenesis, diseases and laboratory diagnosis. [Online]. Available : <http://microbeonline.com/candida-albicans-pathogenesis-diagnosis> (สืบค้นวันที่ 9 มิถุนายน 2560)
- Tasha Sturm. 2015. *E. coli* gram stain. [Online]. Available : <http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=13348> (สืบค้นวันที่ 9 มิถุนายน 2560)
- Tendler, M.D. and Burkholder, P.R. 1961. “Studies on the thermophilic actinomycetes. I. Methods of cultivation.” *Appl Microbiol.* 9 : 394-399.
- Thawai, C. 2012. “Isolation and Characterization of Antibiotic-producing Actinomycetes from hot spring sediment of Thailand.” : 215-219.
- Thawai, C. Tanasupawat, S. Itoh, T. and Kudo T. 2008. “*Micromonospora pattaloonggenesis* sp. nov., isolated from Thai mangrove forest soils.” *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58: 1516-521.

- Thawai, C. Tanasupawat, S. Itoh, T. Suwanborirux, K. and Kudo T. 2004. "Micromonospora auratinigra sp. nov., isolated from a peat swamp forest in Thailand." *Actinomycetologica*. 18: 8-14.
- Thawai, C. Tanasupawat, S. Itoh, T. Suwanborirux, K. Suzuki, K. and Kudo T. 2005. *Micromonospora eburnea* sp. nov., isolated from a Thai peat swamp forest, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55: 417-422.
- Thawai, C. Tanasupawat, S. Itoh, T. Suwanborirux, K. Suzuki, K. and Kudo T. 2007. "Micromonospora narathiwaensis sp. nov. isolated from Thai peat swamp forest." *J. Gen Appl. Microbiol.* 58: 287-293.
- Thieman, J.E. Pagani, H. and Berretta, G. 1968. "A new genus of Actinomycetales: *Microtetraspora* gen nov." *J. Gen. Microbiol.* 50:295-303.
- Todar, K. 2017. *Pseudomonas aeruginosa*. [Online]. Available : <http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html>
- Valan Arasu, M. Agastian, P. Duraipandiyan, V. Al-Dhabi, N.A. Muthukumar, C. Ignacimuthu, S. and Kim, S.J. 2013. "Growth inhibitory potential of polyene type metabolite producing *Streptomyces speibonae* ERI-01." *African Journal of Microbiology Research*. 7(27) : 3548.
- Vobis, G. 1984. Sporogenesis in the *Pilimelia* species, In: Ortiz-Ortiz, L., Bojalil, L.F. and Yakoleff, V. (eds.) *Biological, Biochemical, and Biomedical Aspect of actinomycetes*, (pp. 423-439) Academic press, Orlando.
- Vobis, G. 1986. Spore development in sporangia-forming actinomycetes, In: Szabo, G., Biro, S., and Goodfellow, M. (eds.) *Biological, Biochemical, and Biomedical Aspect of actinomycetes*, (pp. 443-452) Akademiai Kiado, Budapest.
- Vobis, G. 1987. "Sporangiate Actinoplaneten Actinomycetales mi taro aquatischen Lebenszyklus." *Forum Mikrobiol.* 11:416-424.
- Vobis, G. and Kothe, H.W. 1985. Sporangogenesis in sporangiate actinomycetes, In: Mukerji, K.G., Pathak, N.C. and Singh, V.P. (eds.) *Frontiers Applied Microbiology*. Vol 1, (pp. 25-470) Print House (india) , Lucknow.
- William, S.T. and Sharples, G.P. 1976. "*Streptosporangium corrugatum* sp. nov. , an actinomycete with some unusual morphological features." *Int. J. Syst. Bacteriol.* 26:45-52.
- Williams, R.H. 1989. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. volume 4. Baltimore : Williams and Wilkins
- Williams, S.T. Shameemullah, M. Watson, E.T. and Mayfield, C.I. 1972. "Studies on the ecology of actinomycetes in soil. VI. The influence of moisture tension on growth and survival." *Soil Biology and Biochemistry* 4 : 215-225.
- Xu, L.H. Li, O.R. and Jiang, C.L. 1996. "Diversity of soil actinomycetes in Yunnan, China." *Applied and Environmental Microbiology*. 62 : 244-248.

- Zhang, J. 2011. "Improvement of an Isolation Medium for Actinomycetes." *Modern Applied Science*. 5(2) : 124-127.
- Zhou, Y. Gao, S. Wei, D.Q. Yang, L.L. Huang, X. He, J. Zhang, Y.J. Tang, S.K. and Li, W.J. 2012. "*Paenibacillus thermophilus* sp. nov., a novel bacterium isolated from a sediment of hot spring in Fujian province,China." *Antonie van Leeuwenhoek* : 601-609.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด เตรียมโดยใช้น้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร อาหารจะถูกนึ่งฆ่าเชื้อ โดยใช้ความดันไอน้ำร้อน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

#### 1. Starch – Casein agar (SCA) (Küster & Williams, 1964)

Soluble starch	10.0	กรัม
KNO <sub>3</sub>	2.0	กรัม
NaCl	2.0	กรัม
Casein	0.3	กรัม
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.05	กรัม
CaCO <sub>3</sub>	0.02	กรัม
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.01	กรัม
Agar	15.0	กรัม
pH 7.0-7.2		

#### 2. Muller Hinton agar (MHA)

Beef Extract	2.00	กรัม
Acid Hydrolysate of Casein	17.50	กรัม
Starch	1.50	กรัม
Agar	17.00	กรัม
pH 7.2-7.4		

#### 3. Nutrient agar (NA)

Peptone	5.0	กรัม
Malt extract	3.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

#### 4. Sabouraud dextrose agar (SDA)

Dextrose	40.0	กรัม
Peptone	10.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
pH 5.4 – 5.8		

#### 5. Tryptone yeast extract agar (ISP1)

Tryptone	5.0	กรัม
Yeast extract	3.0	กรัม
Agar	18.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
pH 7.0		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. International *Streptomyces* Project medium no.2 (ISP2) หรือ Yeast extract-malt extract agar (Atlas, 1993)

Malt extract	10.0	กรัม
Yeast extract	4.0	กรัม
Glucose	4.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
pH 7.3		

7. ISP Medium 4 (International *Streptomyces* Project Medium 4 หรือ Inorganic Salts Starch Agar) (Atlas, 1995)

Soluble starch	10.0	กรัม
CaCO <sub>3</sub>	2.0	กรัม
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2.0	กรัม
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.0	กรัม
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1.0	กรัม
NaCl	1.0	กรัม
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1.0	มิลลิกรัม
MnCl <sub>2</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1.0	มิลลิกรัม
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	1.0	มิลลิกรัม
Agar	20.0	กรัม
pH 7.0-7.2		

8. Boullion gelatin broth (Arai, 1975)

Peptone	1.0	กรัม
Meat extract	0.5	กรัม
NaCl	0.5	กรัม
Gelatin	15	กรัม
Water	100	มิลลิลิตร
pH 7.0-7.2		

9. Peptone KNO<sub>3</sub> broth (Arai, 1975)

Peptone	1.0	กรัม
KNO <sub>3</sub>	0.1	กรัม
NaCl	0.5	กรัม
Water	100	มิลลิลิตร
pH 7.0-7.2		

10. Tryptone yeast extract agar (ISP 1)

Tryptone	5.0	กรัม
Yeast extract	3.0	กรัม
Agar	18.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร


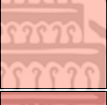
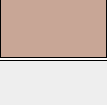

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

pH	7.0	
11. Skim milk agar (Atlas, 1995)		
Pancretic digest of casein	5.0	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Glucose	1.0	กรัม
Skim milk solution	100.0	มิลลิลิตร
Agar	15.0	กรัม
12. Yeast extract – Malt extract agar (YEME) (Klanbut, 2013)		
Yeast extract	3.0	กรัม
Malt extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Glucose	10.0	กรัม
Agar	20.0	กรัม
13. Zhang'Starch Soil Extract agar (ZSSE) (Zhang, 2011)		
Soluble starch	5.0	กรัม
KNO <sub>3</sub>	1.0	กรัม
Soil extracts	1000	มิลลิลิตร
Agar	10.0	กรัม
pH7.2		
เติม nalidixic acid 50mg/L และ nystatin 100mg/L		
14. Modified Nutrient Glucose (MNG) (Arasu, M. V., 2013)		
Glucose	10.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Beef extract	3.0	กรัม
Dry yeast	3.0	กรัม
NaCl	3.0	กรัม
CaCO <sub>3</sub>	3.0	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้













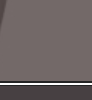






**ภาคผนวก ข**  
**กระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system)**  
**(Mundie, 1995)**

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system)

Abbreviation, number, color	Munsell (chart span) centroid	Mundie RGB	Mundie Swatch	convert from Munsell	Foster Swatch
<b>Pink</b>					
v.Pk 1 Vivid Pink	(9RP-1R,1-4R) 1R8/13 OUT	#FF7E93		#FFB5BA	
s.Pk 2 Strong Pink	(9RP-1R,1-4R) 1.2R6.9/8.2	#FD7B7C		#EA9399	
deep Pk 3 Deep Pink	(9RP-1R,1-6R) 2.1R6/11.1	#F3545E		#E4717A	
l.Pk 4 Light Pink	(9RP-1R,1-6R) 2.6R8.5/4	#FFBCAD		#F9CCCA	
m.Pk 5 Moderate Pink	(9RP-1R,1-6R) 2.8R7.2/5.3	#EE9086		#DEA5A4	
d.Pk 6 Dark Pink	(9RP-1R,1-6R) 2.7R5.9/6.1	#C76864		#C08081	
p.Pk 7 Pale Pink	(9RP-1R,1-6R) 2.0R8.7/2.1	#FFCBBB		#EAD8D7	
gy.Pk 8 Grayish Pink	(9RP-1R,1R-6R) 2.6R7.2/2.3	#CF9B8F		#C4AEAD	
pkWhite 9 Pinkish White	(1-9R,9R-1YR,1- 7YR) 5.8R9/0.8	#F9DBC8		#EAE3E1	
pkGy 10 Pinkish Gray	(1-9R,9R-1YR,1- 7YR) 9.8R7.4/1	#C8A696		#C1B6B3	
<b>Red</b>					
v.R 11 Vivid Red	(1-9R) 5R3.9/15.4 OUT	#C10020		#BE0032	


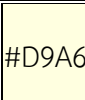

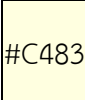

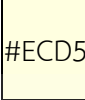



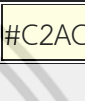











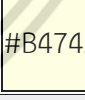



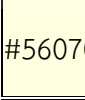

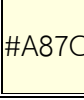
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

s.R 12 Strong Red	(1-7R) 4R4.4/12.1	#BF2233		#BC3F4A	
deep R 13 Deep Red	(1-9R) 5.1R2.8/10.1	#7B001C		#841B2D	
v.deep R 14 Very Deep Red	(1-9R) 6.5R1.7/8.4	#4F0014		#5C0923	
m.R 15 Moderate Red	(1-7R) 3.8R4.4/9.1	#AB343A		#AB4E52	
d.R 16 Dark Red	(1-9R) 4.0R2.8/6.8	#681C23		#722F37	
v.d.R 17 Very Dark Red	(1-6R) 2R1.2/4.8	#320A18		#3F1728	
l.gy.R 18 Light Grayish Red	(1-8R) 5.3R5.9/3.5	#B17267		#AD8884	
gy.R 19 Grayish Red	(1-8R) 4R4.4/4.8	#8C4743		#905D5D	
d.gy.R 20 Dark Grayish Red	(1-6R) 2.9R2.7/2.1	#482A2A		#543D3F	
Blackish R 21 Blackish Red	(1-6R) 3.9R0.8/1.7 OUT	#1F0E11		#2E1D21	
rGy 22 Reddish Gray	(1-9R,9R-1YR,1-2YR) 7R5.4/1.3	#8B6C62		#8F817F	
d.rGy 23 Dark Reddish Gray	(1-9R,9R-1YR) 6R3.4/1	#523C36		#5C504F	
rBlack 24 Reddish Black	(1-9R,9R-1YR) 2R0.9/0.9 OUT	#1E1112		#282022	
<b>Yellowish Pink</b>					
v.yPk 25 Vivid Yellowish Pink	(4-9R,9R-1YR,1-2YR) 8R8/13 OUT	#FF845C		#FFB7A5	
s.yPk 26 Strong Yellowish Pink	(4-9R,9R-1YR,1-2YR) 8.4R7/9.5	#FF7A5C		#F99379	
deep yPk 27 Deep Yellowish Pink	(4-7R) 5.5R5.8/12.1	#F64A46		#E66761	
l.yPk 28 Light Yellowish Pink	(6-9R,9R-1YR,1-7YR) 1.9YR8.2/4.6	#FFB28B		#F4C2C2	


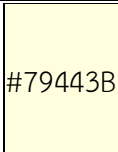

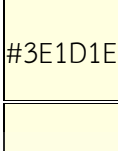
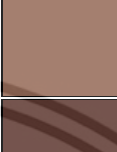
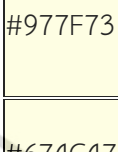
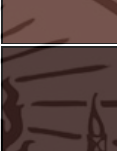
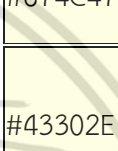
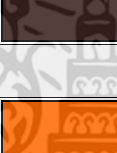


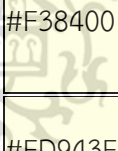

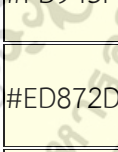

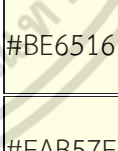

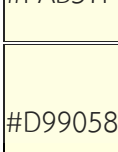

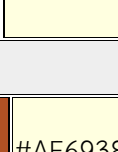

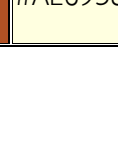


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

m.yPk 29 Moderate Yellowish Pink	(6-9R,9R-1YR,1-7YR) 0.7YR7.2/4.9	#EE9374		#D9A6A9	
d.yPk 30 Dark Yellowish Pink	(6-8R) 7R6/6.1	#CC6C5C		#C48379	
p.yPk 31 Pale Yellowish Pink	(6-9R,9R-1YR,1-8YR) 4.2YR8.6/2.2	#FFC8A8		#ECD5C5	
gy.yPk 32 Grayish Yellowish Pink	(6-9R,9R-1YR,1-5YR) 1.3YR7.2/2.4	#D39B85		#C7ADA3	
<b>Brownish Pink</b>					
brPk 33 Brownish Pink	(5-8YR) 7YR7.1/2.3	#CD9A7B		#C2AC99	
<b>Reddish Orange</b>					
v.rO 34 Vivid Reddish Orange	(7-9R,9R-1YR,1-2YR) 9.8R5.4/14.5	#F13A13		#E25822	
s.rO 35 Strong Reddish Orange	(7-9R,9R-1YR,1-2YR) 9.3R5.4/12.2	#FFB961 see #70		#D9603B	
deep rO 36 Deep Reddish Orange	(7-9R,9R-1YR,1-2YR) 9.2R3.9/12.1	#A91D11		#AA381E	
m.rO 37 Moderate Reddish Orange	(7-9R,9R-1YR,1-2YR) 9.3R5.5/9.2	#D35339		#CB6D51	
d.rO 38 Dark Reddish Orange	(7-9R,9R-1YR,1-2YR) 9.3R4/9.1	#9B2F1F		#9E4732	
gy.rO 39 Grayish Reddish Orange	(8-9R,9R-1YR,1-3YR) 0.4YR5.4/6.2	#B85D43		#B4745E	
<b>Reddish Brown</b>					
s.rBr 40 Strong Reddish Brown	(9R-1YR,1-2YR) 0.3YR3.1/9.9	#7F180D		#882D17	
deep rBr 41 Deep Reddish Brown	(6-9R,9R-1YR,1-2YR) 1.6YR1.5/8.3	#490005		#56070C	
l.rBr 42 Light Reddish Brown	(8-9R,9R-1YR,1-3YR) 0.5YR5.5/4.1	#AA6651		#A87C6D	









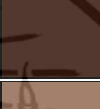


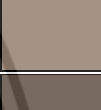
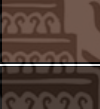
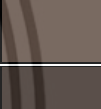
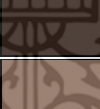



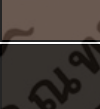

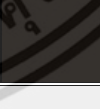





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

m.rBr 43 Moderate Reddish Brown	(6-9R,9R-1YR,1-3YR) 9R3.4/5.2	#712F26		#79443B	
d.rBr 44 Dark Reddish Brown	(6-9R,9R-1YR,1-3YR) 9.6R1.3/3.6	#321011		#3E1D1E	
l.gy.rBr 45 Light Grayish Reddish Brown	(1-5YR) 2.9YR5.4/2.3	#966A57		#977F73	
gy.rBr 46 Grayish Reddish Brown	(6-9R,9R-1YR,1-3YR) 9R3.4/2.4	#5E3830		#674C47	
d.gy.rBr 47 Dark Grayish Reddish Brown	(6-9R,9R-1YR,1-3YR) 9R2/2	#371F1C		#43302E	
<b>Orange</b>					
v.O 48 Vivid Orange	(2-7YR) 4.1YR6.5/15 OUT	#FF6800		#F38400	
brill.O 49 Brilliant Orange	(2-7YR) 4YR9/12 OUT	#FFB841		#FD943F	
s.O 50 Strong Orange	(2-7YR) 4.3YR6.5/12.2	#FF6F1A		#ED872D	
deep O 51 Deep Orange	(2-7YR) 4.1YR5.1/11.3	#C34D0A		#BE6516	
l.O 52 Light Orange	(2-7YR) 4.8YR7.8/7.2	#FFA161		#FAB57F	
m.O 53 Moderate Orange	(2-7YR) 4.6YR6.5/8.2	#E8793E		#D99058	
<b>Brownish Orange</b>					
brO 54 Brownish Orange	(2-7YR) 4.1YR5/8	#B15124		#AE6938	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

Brown					
s.Br 55 Strong Brown	(2-8YR) 4.6YR3.5/7.6	#753313		#80461B	
deep Br 56 Deep Brown	(2-8YR) 5.6YR2.4/5.2	#4D220E		#593319	
l.Br 57 Light Brown	(3-8YR) 5.4YR5.4/4.8	#A86540		#A67B5B	
m.Br 58 Moderate Brown	(3-8YR) 5.6YR3.5/3.9	#673923		#6F4E37	
d.Br 59 Dark Brown	(3-8YR) 5.3YR1.6/3.4	#35170C		#422518	
l.gy.Br 60 Light Grayish Brown	(5-8YR) 6.4YR5.4/2.2	#946B54		#958070	
gy.Br 61 Grayish Brown	(3-8YR) 5.5YR3.5/1.8	#5A3D30		#635147	
d.gy.Br 62 Dark Grayish Brown	(3-8YR) 5.5YR2/1.5	#32221A		#3E322C	
l.brGy 63 Light Brownish Gray	(2-8YR,8YR-1Y,1-4Y) 7YR5.4/1.2	#8B6D5C		#8E8279	
brGy 64 Brownish Gray	(1-8YR,8YR-1Y,1-4Y) 5.65R3.4/0.9	#503D33		#5B504F	
brBlack 65 Brownish Black	(1-8YR,8YR-1Y,1-4Y) 7.8YR0.6/0.9 OUT	#140F0B		#28201C	
Orange Yellow					
v.OY 66 Vivid Orange Yellow	(7-8YR,8YR-1Y) 8.6YR7.3/15.2 OUT	#FF8E00		#F6A600	
brill.OY 67 Brilliant Orange Yellow	(7-8YR,8YR-1Y) 0.1Y8.1/10.5 OUT	#FFB02E		#FFC14F	

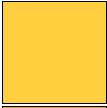

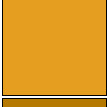
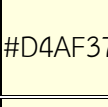
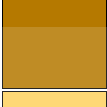


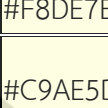

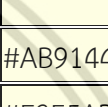

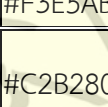

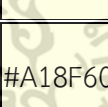

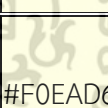

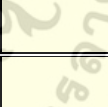



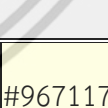

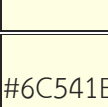

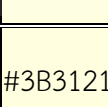

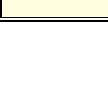
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

s.OY 68 Strong Orange Yellow	(7-8YR,8YR-1Y) 9.1YR7.1/11.6	#FF8E0D	#EAA221
deep OY 69 Deep Orange Yellow	(7-8YR,8YR-1Y) 8.6YR6/12.1 OUT	#D76E00	#C98500
l.OY 70 Light Orange Yellow	(7-8YR,8YR-1Y) 9.4YR8.3/6.8	#FFB961 see #35	#FBC97F
m.OY 71 Moderate Orange Yellow	(7-8YR,8YR-1Y) 8.7YR7.2/8.3	#F7943C	#E3A857
d.OY 72 Dark Orange Yellow	(7-8YR,8YR-1Y) 9.3YR6/7.9	#C37629	#BE8A3D
p.OY 73 Pale Orange Yellow	(7-8YR,8YR-1Y) 9.2YR8.7/4.4	#FFCA86	#FAD6A5
Yellowish Brown			
s.yBr 74 Strong Yellowish Brown	(7-8YR,8YR-1Y) 8.8YR4.6/8.5	#95500C	#996515
deep yBr 75 Deep Yellowish Brown	(8YR-1Y) 8.8YR3.1/5	#593315	#654522
l.yBr 76 Light Yellowish Brown	(7-8YR,8YR-1Y) 8.7YR6.5/5	#BB8B54	#C19A6B
m.yBr 77 Moderate Yellowish Brown	(8YR-1Y) 9.5YR4.4/3.9	#7D512D	#826644
d.yBr 78 Dark Yellowish Brown	(8YR-1Y) 9.4YR2.3/3.3	#3F2512	#4B3621
l.gy.yBr 79 Light Grayish Yellowish Brown	(8YR-1Y) 9.7YR6.4/2.5	#B48764	#AE9B82
gy.yBr 80 Grayish Yellowish Brown	(8YR-1Y) 9.5YR4.6/2.1	#785840	#7E6D5A
d.gy.yBr 81 Dark Grayish Yellowish Brown	(8YR-1Y) 8.8YR2.5/1.6	#3D2B1F	#483C32
Yellow			
v.Y 82 Vivid Yellow	(1-7Y) 3.3Y8/14.3 OUT	#FFB300	#F3C300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

brill.Y 83 Brilliant Yellow	(1-7Y) 4.4Y8.7/8.9	#FFCF40		#FADA5E	
s.Y 84 Strong Yellow	(1-7Y) 3.7Y7.2/9.3	#E59E1F		#D4AF37	
deep Y 85 Deep Yellow	(1-7Y) 3.7Y5.9/9.1	#B57900		#AF8D13	
l.Y 86 Light Yellow	(1-7Y) 4.3Y8.8/6.8	#FFD35F		#F8DE7E	
m.Y 87 Moderate Yellow	(1-7Y) 3.8Y7.1/6.5	#D79D41		#C9AE5D	
d.Y 88 Dark Yellow	(1-7Y) 3.9Y6/6.4	#B07D2B		#AB9144	
p.Y 89 Pale Yellow	(1-7Y) 4.7Y9/3.8	#FFDB8B		#F3E5AB	
gy.Y 90 Grayish Yellow	(1-9Y) 4.4Y7.2/3.8	#CEA262		#C2B280	
d.gy.Y 91 Dark Grayish Yellow	(1-7Y) 3.8Y5.9/4	#A47C45		#A18F60	
yWhite 92 Yellowish White	(7-8YR,8YR-1Y,1-9Y,9Y-2GY,2-4GY) 4.5Y9.2/1.2	#FFE2B7		#F0EAD6	
yGy 93 Yellowish Gray	(7-8YR,8YR-1Y,1-9Y,9Y-2GY,2-4GY) 3.8Y7.4/1.4	#CAA885		#BFB8A5	
<b>Olive Brown</b>					
l.OlBr 94 Light Olive Brown	(1-4Y) 2.1Y4.9/7.9	#945D0B		#967117	
m.OlBr 95 Moderate Olive Brown	(1-4Y) 2.7Y3.6/5.5	#64400F		#6C541E	
d.OlBr 96 Dark Olive Brown	(1-4Y) 2Y1.9/2.2	#302112		#3B3121	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

Greenish Yellow					
v.gY 97 Vivid Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9.1Y8.2/12 OUT	#F4C800		#DCD300	
brill.gY 98 Brilliant Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9.8Y8.8/9.5	#FFDC33		#E9E450	
s.gY 99 Strong Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9.2Y7.2/9.2	#CCA817		#BEB72E	
d.gY 100 Deep Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9.2Y5.9/9.2 OUT	#9F8200		#9B9400	
l.gY 101 Light Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9.8Y8.9/7	#FFDE5A		#EAE679	
m.gY 102 Moderate Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9.5Y7.1/6.5	#C4A43D		#B9B459	
d.gY 103 Dark Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9.4Y5.9/6.3	#9B8127		#98943E	
p.gY 104 Pale Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9.5Y9/4.2	#FFDF84		#EBE8A4	
gy.gY 105 Grayish Greenish Yellow	(7-9Y,9Y-2GY) 9Y7.2/3.9	#C4A55F		#B9B57D	
Olive					
l.Ol 106 Light Olive	(4-9Y,9Y-2GY) 8.2Y5.1/5.6	#846A20		#867E36	
m.Ol 107 Moderate Olive	(4-9Y,9Y-2GY) 7.6Y3.8/5.4	#5E490F		#665D1E	
d.Ol 108 Dark Olive	(4-9Y,9Y-2GY) 8.9Y2.4/3.1	#362C12		#403D21	
l.gy.Ol 109 Light Grayish Olive	(4-9Y,9Y-2GY) 7.85Y5.5/2.5	#8B734B		#8C8767	
gy.Ol 110 Grayish Olive	(4-9Y,9Y-2GY) 8Y3.6/2	#52442C		#5B5842	
d.gyOl 111 Dark Grayish Olive	(4-9Y,9Y-2GY) 9.7Y2/1.8	#2B2517		#363527	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

l.OLGy 112 Light Olive Gray	(4-9Y,9Y-2GY,2-4GY) 6.9Y5.5/1.3	#887359		#8A8776	
OLGy 113 Olive Gray	(4-9Y,9Y-2GY,2-4GY) 8.1Y3.5/0.9	#4D4234		#57554C	
OLBlack 114 Olive Black	(4-9Y,9Y-2GY,2-4GY) 9Y1.1/0.9	#121910		#25241D	
<b>Yellow Green</b>					
v.YG 115 Vivid Yellow Green not vivid yellowish green see #129	(2-8GY) 5.4GY6.8/11.2 OUT	#93AA00		#8DB600	
brill.YG 116 Brilliant Yellow Green	(2-8GY) 4.9GY8.2/9.1	#CED23A		#BDDA57	
s.YG 117 Strong Yellow Green	(2-8GY) 5.4GY6/8.7	#7F8F18		#7E9F2E	
deep YG 118 Deep Yellow Green	(2-8GY) 7.4GY4.2/7.1	#425E17		#467129	
l.YG 119 Light Yellow Green	(2-8GY) 5GY8.4/5.6	#DCD36A		#C9DC89	
m.YG 120 Moderate Yellow Green	(2-8GY) 4.8GY6/5	#8B8940		#8A9A5B	
p.YG 121 Pale Yellow Green not pale yellowish green	(9Y-2GY,2-8GY) 3.4GY8.7/2.4	#F0D698		#DADFB7	
gy.YG 122 Grayish Yellow Green not grayish yellowish green	(9Y-2GY,2-8GY) 4.4GY6/2.3	#90845B		#8F9779	
<b>Olive Green</b>					
s.OLG 123 Strong Olive Green	(2-8GY) 4GY3/11 OUT	#0A4500		#404F00	
deep OLG 124 Deep Olive Green	(2-8GY) 4GY1.5/11 OUT	#142300		#232F00	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

m.OLG 125 Moderate Olive Green	(2-8GY) 5.7GY3.6/4.8	#434B1B		#4A5D23	
d.OLG 126 Dark Olive Green	(2-8GY) 8GY2.2/3.6	#232C16		#2B3D26	
gy.OLG 127 Grayish Olive Green	(2-8GY) 4.6GY3.5/2	#48442D		#515744	
d.gy.OLG 128 Dark Grayish Olive Green	(2-8GY) 5.4GY2/1.8	#27261A		#31362B	
Yellowish Green					
v.yG 129 Vivid Yellowish Green see #115	(8GY-3G) 1.1G5.9/11.2	#379931		#27A64C	
brill.yG 130 Brilliant Yellowish Green	(8GY-3G) 0.3G7.7/8.6	#8CCB5E		#83D37D	
s.yG 131 Strong Yellowish Green	(8GY-3G) 0.4G5.4/8.7	#478430		#44944A	
deep yG 132 Deep Yellowish Green	(8GY-3G) 0.9G3.5/9 OUT	#00541F		#00622D	
v.deep yG 133 Very Deep Yellowish Green	(8GY-3G) 10GY1.5/11 OUT	#002800		#003118	
v.l.yG 134 Very Light Yellowish Green	(8GY-3G) 0.2G8.6/4.6	#C6DF90		#B6E5AF	
l.yG 135 Light Yellowish Green	(8GY-3G) 0.7G7.4/5.2	#007BA7 see #167 #170		#93C592	
m.yG 136 Moderate Yellowish Green	(8GY-3G) 0.5G5.5/4.8	#657F4B		#679267	
d.yG 137 Dark Yellowish Green	(8GY-3G) 0.6G3.5/5	#304B26		#355E3B	
v.d.yG 138 Very Dark Yellowish Green	(8GY-3G) 0.3G1.8/4.3	#132712		#173620	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

Green					
v.G 139 Vivid Green	(3-9G) 3.2G4.9/11.1 OUT	#007D34		#008856	
brill.G 140 Brilliant Green	(3-9G) 6.2G6.5/8.3	#47A76A		#3EB489	
s.G 141 Strong Green	(3-9G) 5.8G4.4/8.7 OUT	#006B3C		#007959	
deep G 142 Deep Green	(3-9G) 5.1G3/8.1 OUT	#004524		#00543D	
v.l.G 143 Very Light Green	(3-9G) 6.5G7.8/4.9	#98C793		#8ED1B2	
l.G 144 Light Green	(3-9G) 6G6.4/5.1	#719B6E		#6AAB8E	
m.G 145 Moderate Green	(3-9G) 6.3G4.5/5.1	#386646		#3B7861	
d.G 146 Dark Green	(3-9G) 6.6G2.8/4.6	#203A27		#1B4D3E	
v.d.G 147 Very Dark Green	(3-9G) 8G1.8/3	#16251C		#1C352D	
v.p.G 148 Very Pale Green	(8GY-3G,3-9G) 7.3G8.8/1.9	#D8DEBA		#C7E6D7	
p.G 149 Pale Green	(8GY-3G,3-9G,9G- 10BG) 7.6G6.4/1.7	#8D917A		#8DA399	
gy.G 150 Grayish Green	(8GY-3G,3-9G,9G- 10BG) 8.8G4.5/1.8	#575E4E		#5E716A	
d.gy.G 151 Dark Grayish Green	(8GY-3G,3-9G,9G- 10BG) 1BG2.9/1.8	#313830		#3A4B47	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

blackish G 152 Blackish Green	(8GY-3G,3-9G,9G-10BG) 10G1/1.4	#141613		#1A2421	
gWhite 153 Greenish White	(4GY-8GY,8GY-3G,3G-9G,9G-10BG) 10G9.2/0.8	#F5E6CB		#DFEDE8	
l.gGy 154 Light Greenish Gray	(4GY-8GY,8GY-3G,3G-9G,9G-10BG) 3G7.5/0.9	#BAAF96		#B2BEB5	
gGy 155 Greenish Gray	(4GY-8GY,8GY-3G,3G-9G,9G-10BG) 7.5G5.5/1	#7A7666		#7D8984	
d.gGy 156 Dark Greenish Gray	(4GY-8GY,8GY-3G,3G-9G,9G-10BG) 1.5BG3.5/0.9	#45433B		#4E5755	
gBlack 157 Greenish Black	(4GY-8GY,8GY-3G,3G-9G,9G-10BG) 8.7G1/0.7	#181513		#1E2321	
<b>Bluish Green</b>					
v.bG 158 Vivid Bluish Green	(9G-10BG) 5BG5/13 OUT	#00836E		#008882	
brill.bG 159 Brilliant Bluish Green	(9G-10BG) 2.9BG6/9.6 OUT	#009B76		#00A693	
s.bG 160 Strong Bluish Green	(9G-10BG) 4.6BG4.5/8.5 OUT	#006D5B		#007A74	
deep bG 161 Deep Bluish Green	(9G-10BG) 2.8BG2.4/8.3 OUT	#00382B		#00443F	
v.l.bG 162 Very Light Bluish Green	(9G-10BG) 4.4BG8.3/4.6	#A0D6B4		#96DED1	
l.bG 163 Light Bluish Green	(9G-10BG) 4.6BG6.5/4.9	#669E85		#66ADA4	
m.bG 164 Moderate Bluish Green	(9G-10BG) 4.6BG4.5/5	#2F6556		#317873	









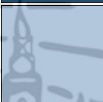

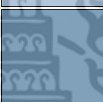



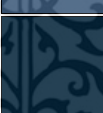


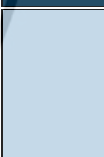




เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

d.bG 165 Dark Bluish Green	(9G-10BG) 4.9BG2.7/5 OUT	#013A33		#004B49	
v.d.bG 166 Very Dark Bluish Green	(9G-10BG) 3.6BG1.2/4 OUT	#001D18		#002A29	
<b>Greenish Blue</b>					
v.gB 167 Vivid Greenish Blue	(10BG-9B) 5B5/13 OUT see #170 #176	#007BA7 see #135 #170		#0085A1	
brill.gB 168 Brilliant Greenish Blue	(10BG-9B) 4.6B5.9/7.7	#2A8D9C		#239EBA	
s.gB 169 Strong Greenish Blue	(10BG-9B) 4.9B4.5/8.4 OUT	#00677E		#007791	
deep gB 170 Deep Greenish Blue	(10BG-9B) 5B5/13 OUT see #167 #176 same as #167; guess 5B2/9	#007BA7 see #135 #167		#2E8495	
v.l.gB 171 Very Light Greenish Blue	(10BG-9B) 4B8/4	#A3C6C0		#9CD1DC	
l.gB 172 Light Greenish Blue	(10BG-9B) 4.5B6.5/5.4	#649A9E		#66AABC	
m.gB 173 Moderate Greenish Blue	(10BG-9B) 4.7B4.5/5.2	#30626B		#367588	
d.gB 174 Dark Greenish Blue	(10BG-9B) 3.7B2.7/5 OUT	#003841		#004958	
v.d.gB 175 Very Dark Greenish Blue	(10BG-9B) 5B1.5/3.6 OUT	#022027		#002E3B	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

Blue					
v.B 176 Vivid Blue, ultramarine	(9B-5PB,5-7PB) 5B5/14 OUT see #167 #170	#007CAD		#00A1C2	
brill.B 177 Brilliant Blue, celestial blue	(9B-5PB,5-7PB) 1.6PB5.9/9.4	#4285B4		#4997D0	
s.B 178 Strong Blue, bright blue	(9B-5PB,5-7PB) 2.9PB4.1/10.4 OUT	#00538A		#0067A5	
deep B 179 Deep Blue, royal blue	(9B-5PB,5-7PB) 2.8PB2.5/7.9 OUT	#002F55		#00416A	
v.l.B 180 Very Light Blue, baby blue	(9B-5PB,5-7PB) 2.7PB7.9/6	#A6BDD7		#A1CAF1	
l.B 181 Light Blue, sky blue	(9B-5PB,5-7PB) 1.6PB6.4/6.9	#6C92AF		#70A3CC	
m.B 182 Moderate Blue, cerulean blue	(9B-5PB,5-7PB) 3PB4.3/6.8	#395778		#436B95	
d.B 183 Dark Blue, navy blue	(9B-5PB,5-7PB) 2.2PB1.7/5.5 OUT	#002137		#00304E	
v.p.B 184 Very Pale Blue, cloud blue	(10BG-9B,9B- 5PB,5-9PB) 1.5PB8.3/3.3	#C1CACA		#BCD4E6	
p.B 185 Pale Blue, alice blue	(10BG-9B,9B- 5PB,5-9PB) 0.6PB6.5/2.6	#919192		#91A3B0	
gy.B 186 Grayish Blue, slate blue	(10BG-9B,9B- 5PB,5-9PB) 0.2PB4.2/3	#4A545C		#536878	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

d.gy.B 187 Dark Grayish Blue	(10BG-9B,9B-5PB,5-9PB) 9.2B2.7/2	#2C3337		#36454F	
blackish B 188 Blackish Blue	(10BG-9B,9B-5PB,5-9PB) 9.8B1.3/1.5	#161A1E		#202830	
bWhite 189 Bluish White	(10BG-9B,9B-5PB,5-9PB) 9.2B9.1/1.2	#F9DFCF		#E9E9ED	
l.bGy 190 Light Bluish Gray	(10BG-9B,9B-5PB,5-9PB) 8.2B7.5/1	#BEADA1		#B4BCC0	
bGy 191 Bluish Gray	(10BG-9B,9B-5PB,5-9PB) 8.9B5.5/0.9	#7D746D		#81878B	
d.bGy 192 Dark Bluish Gray	(10BG-9B,9B-5PB,5-9PB) 0.3PB3.6/1.1	#464544		#51585E	
bBlack 193 Bluish Black	(10BG-9B,9B-5PB,5-9PB) 9.6B1.1/0.8	#151719		#202428	
<b>Purplish Blue</b>					
v.pB 194 Vivid Purplish Blue not very purplish blue	(7-9PB) 7.8PB2/12.5	#20155E		#30267A	
brill.pB 195 Brilliant Purplish Blue	(7-9PB) 7.3PB5.1/9	#62639B		#6C79B8	
s.pB 196 Strong Purplish Blue	(7-9PB) 8PB4/10.9	#474389		#545AA7	
deep pB 197 Deep Purplish Blue	(7-9PB) 7.8PB1.5/8	#1A153F		#272458	
v.l.pB 198 Very Light Purplish Blue	(7-9PB) 7.4PB7.6/5.2	#BAACC7		#B3BCE2	



















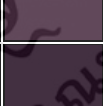


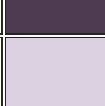

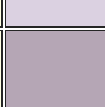
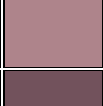

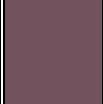
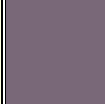
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

l.pB 199 Light Purplish Blue	(7-9PB) 7.3PB6/6.5	#837DA2		#8791BF	
m.pB 200 Moderate Purplish Blue	(7-9PB) 7.9PB3.5/6.5	#423C63		#4E5180	
d.pB 201 Dark Purplish Blue	(7-9PB) 8PB1.3/4.3	#1A162A		#252440	
v.p.pB 202 Very Pale Purplish Blue	(5-9PB) 7PB8/3.7	#CBBAC5		#C0C8E1	
p.pB 203 Pale Purplish Blue	(5-9PB) 7PB6/3.9	#8A7F8E		#8C92AC	
gy.pB 204 Grayish Purplish Blue	(5-9PB) 6.9PB3.4/3.8	#413D51		#4C516D	
Violet					
v.V 205 Vivid Violet	(9PB-3P) 2P5/14	#884BAE		#9065CA	
brill.V 206 Brilliant Violet	(9PB-3P) 9.9PB5.1/9.4	#755D9A		#7E73B8	
s.V 207 Strong Violet	(9PB-3P) 0.2P3.7/10.1	#53377A		#604E97	
deep V 208 Deep Violet	(9PB-3P) 1.1P1.2/8.6	#240935		#32174D	
v.l.V 209 Very Light Violet	(9PB-3P) 2P8.5/7 OUT	#EEBEF1		#DCD0FF	
l.V 210 Light Violet	(9PB-3P) 0.5P5.6/7.1	#876C99		#8C82B6	
m.V 211 Moderate Violet	(9PB-3P) 1.4P3.6/7	#543964		#604E81	
d.V 212 Dark Violet	(9PB-3P) 1.4P1.3/4.9	#22132B		#2F2140	
v.p.V 213 Very Pale Violet	(9PB-3P) 9.7PB7.9/3.7	#D8B1BF		#C4C3DD	
p.V 214 Pale Violet	(9PB-3P) 1.3P6/4	#957B8D		#9690AB	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

gy.V 215 Grayish Violet	(9PB-3P) 1.2P3.3/3.9	#46394B		#554C69	
<b>Purple</b>					
v.P 216 Vivid Purple	(3-9P) 6P4.5/14.0	#943391		#9A4EAE	
brill.P 217 Brilliant Purple	(3-9P) 6P7/11	#DD80CC		#D399E6	
s.P 218 Strong Purple	(3-9P) 6.5P4.3/9.2	#803E75		#875692	
deep P 219 Deep Purple	(3-9P) 6.3P2.7/9.1	#531A50		#602F6B	
v.deep P 220 Very Deep Purple	(3-9P) 5P1.5/8	#320B35		#401A4C	
v.l.P 221 Very Light Purple	(3-9P) 6.5P7.8/5.1	#E3A9BE		#D5BADB	
l.P 222 Light Purple	(3-9P) 6.2P6.5/6.5	#BA7FA2		#B695C0	
m.P 223 Moderate Purple	(3-9P) 6.6P4.5/7.1	#7F4870		#86608E	
d.P 224 Dark Purple	(3-9P) 6.3P2.8/4.9	#472A3F		#563C5C	
v.d.P 225 Very Dark Purple	(3-9P) 6.9P1/4.5	#230D21		#301934	
v.p.P 226 Very Pale Purple	(9PB-3P,3-9P) 5.5P8.2/3.2	#E6BBC1		#D6CADD	
p.P 227 Pale Purple	(9PB-3P,3-9P,9P-3RP,3-9RP,9RP-1R) 7.9P6.4/3.1	#AE848B		#AA98A9	
gy.P 228 Grayish Purple	(9PB-3P,3-9P,9P-3RP,3-9RP,9RP-1R) 8.1P4.5/2.7	#72525C		#796878	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

d.gy.P 229 Dark Grayish Purple	(9PB-3P,3-9P,9P-3RP,3-9RP,9RP-1R) 0.5RP2.8/2	#452D35		#50404D	
blackish P 230 Blackish Purple	(9PB-3P,3-9P,9P-3RP,3-9RP,9RP-1R) 0.8RP0.9/1.6 OUT	#1D1018		#291E29	
pWhite 231 Purplish White	(9PB-3P,3-9P,9P-3RP,3-9RP) 2.5RP9/0.8	#FADBC8		#E8E3E5	
l.pGy 232 Light Purplish Gray	(9PB-3P,3-9P,9P-3RP,3-9RP) 0.3RP7.5/1.1	#C8A99E		#BFB9BD	
pGy 233 Purplish Gray	(9PB-3P,3-9P,9P-3RP,3-9RP,9RP-1R) 1RP5.5/0.9	#88706B		#8B8589	
d.pGy 234 Dark Purplish Gray	(9PB-3P,3-9P,9P-3RP,3-9RP,9RP-1R) 1RP3.6/1	#564042		#5D555B	
pBlack 235 Purplish Black	(9PB-3P,3-9P,9P-3RP,3-9RP,9RP-1R) 9.54P0.9/0.6 OUT	#1B1116		#242124	
<b>Reddish Purple</b>					
v.rP 236 Vivid Reddish Purple	(9P-3RP) 1RP3/14 OUT	#7E0059		#870074	
s.rP 237 Strong Reddish Purple	(9P-3RP) 1.3RP4.4/10.2	#9A366B		#9E4F88	
deep rP 238 Deep Reddish Purple	(9P-3RP) 1RP2.8/9.5	#641349		#702963	
v.deep rP 239 Very Deep Reddish Purple	(9P-3RP) 0.9RP1.9/8.9	#470736		#54194E	
l.rP 240 Light Reddish Purple	(9P-3RP) 0.7RP6/6.9	#BB6C8A		#B784A7	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

m.rP 241 Moderate Reddish Purple	(9P-3RP) 0.8RP4.5/7	#8C4566		#915C83	
d.rP 242 Dark Reddish Purple	(9P-3RP) 1.3RP2.8/4.8	#4F273A		#5D3954	
v.d.rP 243 Very Dark Reddish Purple	(9P-3RP) 1.5RP1/4.8	#270A1F		#341731	
p.rP 244 Pale Reddish Purple	(9P-3RP) 1.3RP6/4.2	#AC7580		#AA8A9E	
gy.rP 245 Grayish Reddish Purple	(9P-3RP) 1RP4.5/4.2	#7D4D5D		#836479	
<b>Purplish Pink</b>					
brill.pPk 246 Brilliant Purplish Pink	(9P-3RP,3-9RP) 6RP8.5/11 OUT	#FF97BB		#FFC8D6	
s.pPk 247 Strong Purplish Pink	(9P-3RP,3-9RP) 5.6RP6.8/9	#F6768E		#E68FAC	
deep pPk 248 Deep Purplish Pink	(9P-3RP,3-9RP) 4.4RP6/12.2	#EB5284		#DE6FA1	
l.pPk 249 Light Purplish Pink	(9P-3RP,3-9RP) 4.6RP8/5.5	#FFA8AF		#EFBBCC	
m.pPk 250 Moderate Purplish Pink	(9P-3RP,3-9RP) 4.6RP6.8/6.7	#E28090		#D597AE	
d.pPk 251 Dark Purplish Pink	(3-9RP) 6.4RP5.9/7	#C76574		#C17E91	
p.pPk 252 Pale Purplish Pink	(9P-3RP,3-9RP) 3.7RP8.4/3.3	#FDBDBA		#E8CCD7	
gy.pPk 253 Grayish Purplish Pink	(9P-3RP,3-9RP) 3.7RP7/3.5	#CC9293		#C3A6B1	
<b>Purplish Red</b>					
v.pR 254 Vivid Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 7.6RP4.9/13.6	#D5265B		#CE4676	
s.pR 255 Strong Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 7.3RP4.4/11.4	#B32851		#B3446C	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก แสดงกระดาศสีมาตรฐาน (the NBs/IBCC color system) (ต่อ)

deep pR 256 Deep Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 7.3RP2.6/10.1	#6F0035		#78184A	
v.deep pR 257 Very Deep Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 6.8RP1.7/8	#470027		#54133B	
m.pR 258 Moderate Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 7.1RP4.5/9	#A73853		#A8516E	
d.pR 259 Dark Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 7.1RP2.7/6	#5B1E31		#673147	
v.d.pR 260 Very Dark Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 6.6RP0.9/4.8 OUT	#28071A		#38152C	
l.gy.pR 261 Light Grayish Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 7.8RP5.9/4.2	#B27070		#AF868E	
gy.pR 262 Grayish Purplish Red	(3-9RP,9RP-1R) 7RP4.5/5.1	#8C4852		#915F6D	
Neutral					
White 263 White	(all) 2.5PB9.5/0.2	#FFC9D7		#F2F3F4	
l.Gy 264 Light Gray	(all) 6.7Y7.4/0.2	#C2A894		#B9B8B5	
med.Gy 265 Medium Gray	(all) 3.3GY5.4/0.1	#817066		#848482	
d.Gy 266 Dark Gray	(all) 2.5PB3.5/0	#49423D		#555555	
Black 267 Black	(all) 2.5PB0.8/0 OUT	#131313		#222222	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค

### ภาพถ่ายสถานที่เก็บตัวอย่างดิน

จุดเก็บตัวอย่างดินเป็นตัวอย่างดินจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี



รูปที่ ก แสดงลักษณะภูมิประเทศของบริเวณจุดเก็บตัวอย่างดินจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุดเก็บตัวอย่างดินที่ใช้ในการตัดแยกแอสคิตโนมัยซีทโดยวิธีที่ 1 เมื่อวันที่ 3 ธันวาคม 2559  
เป็นตัวอย่างดินจากธารน้ำร้อนป้อคลิ่ง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุดเก็บตัวอย่างดินที่ใช้ในการตัดแยกแอกติโนมัยซีทโดยวิธีที่ 1 เมื่อวันที่ 3 ธันวาคม 2559  
เป็นตัวอย่างดินจากธารน้ำร้อนปกคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี

11.



12.



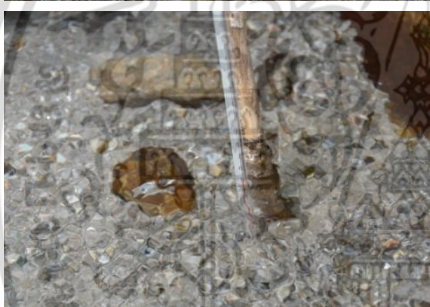
13.



14.



15.



16.



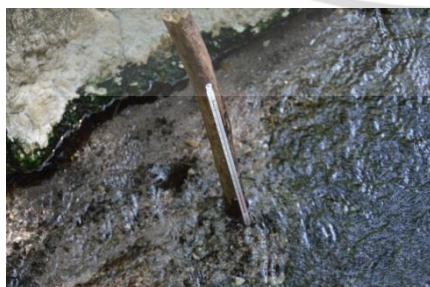
17.



18.



19.

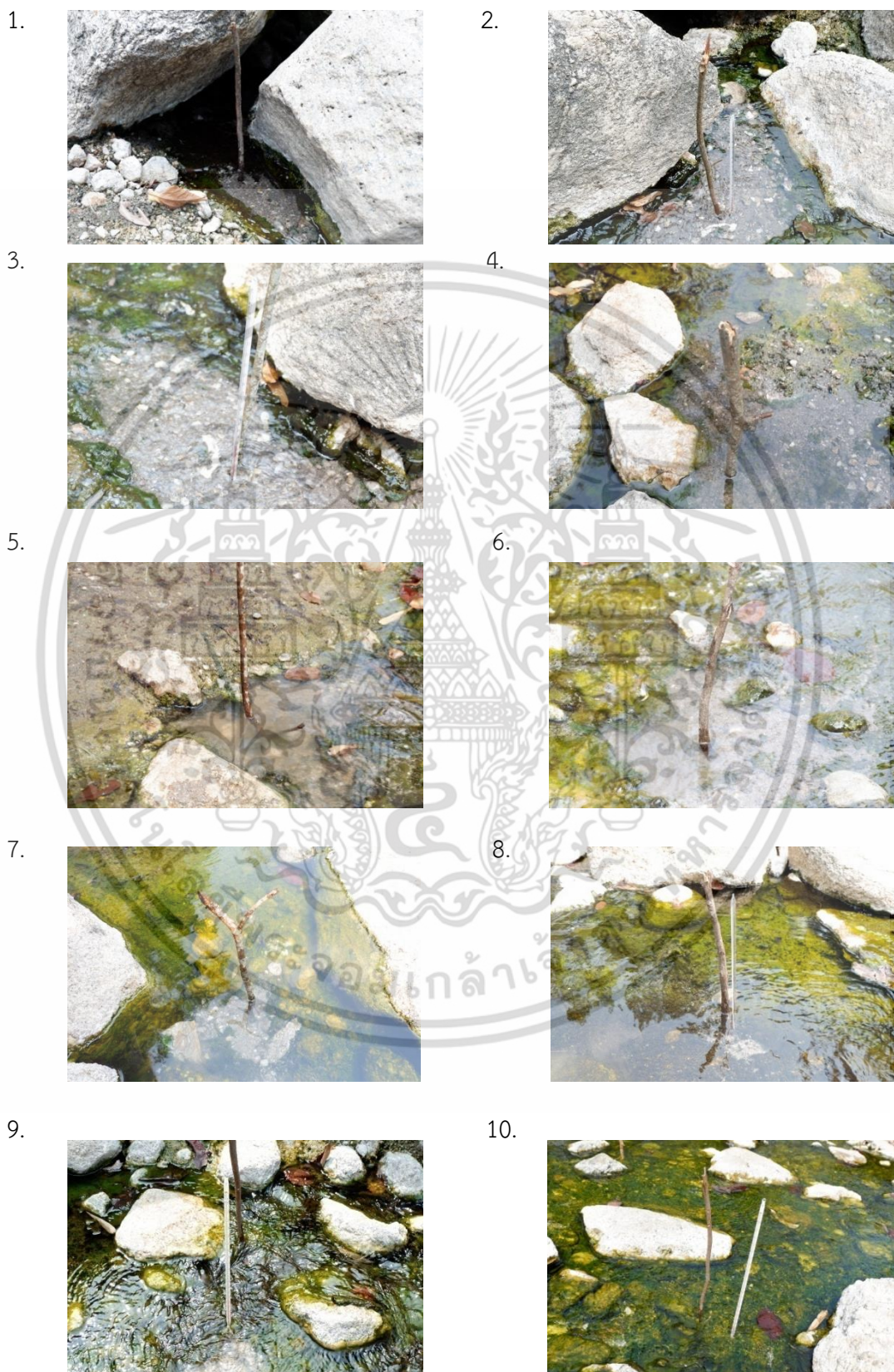


20.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุดเก็บตัวอย่างดินที่ใช้ในการคัดแยกแอกติโนมัยซีทโดยวิธีที่ 2 และ 3 เมื่อวันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2560 เป็นตัวอย่างดินจากธารน้ำร้อนบ่อคลิ้ง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุดเก็บตัวอย่างดินที่ใช้ในการคัดแยกแอกติโนมัยซีทโดยวิธีที่ 2 และ 3 วันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2560 เป็นตัวอย่างดินจากธารน้ำร้อนบ่อคลิ้ง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี

11.



12.



13.



14.



15.



16.



17.



18.



19.



20.

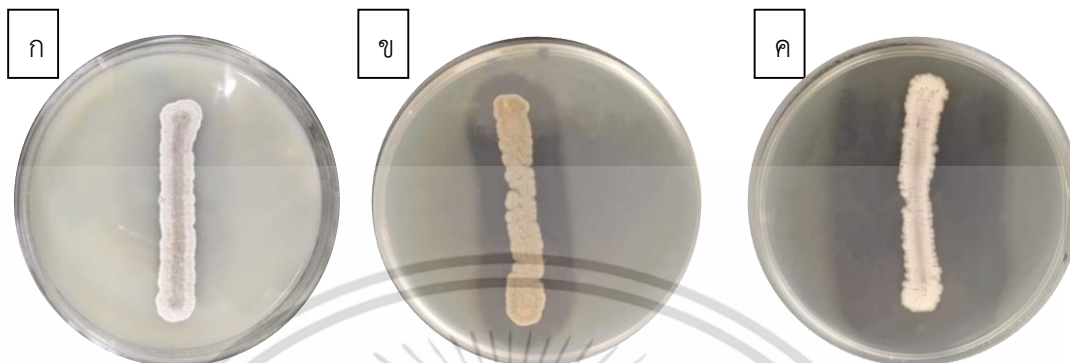


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง

### ภาพแสดงตัวอย่างผลการทดสอบทางชีวเคมี

#### 1. การทดสอบการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม (Peptonization) บนอาหาร Skim milk



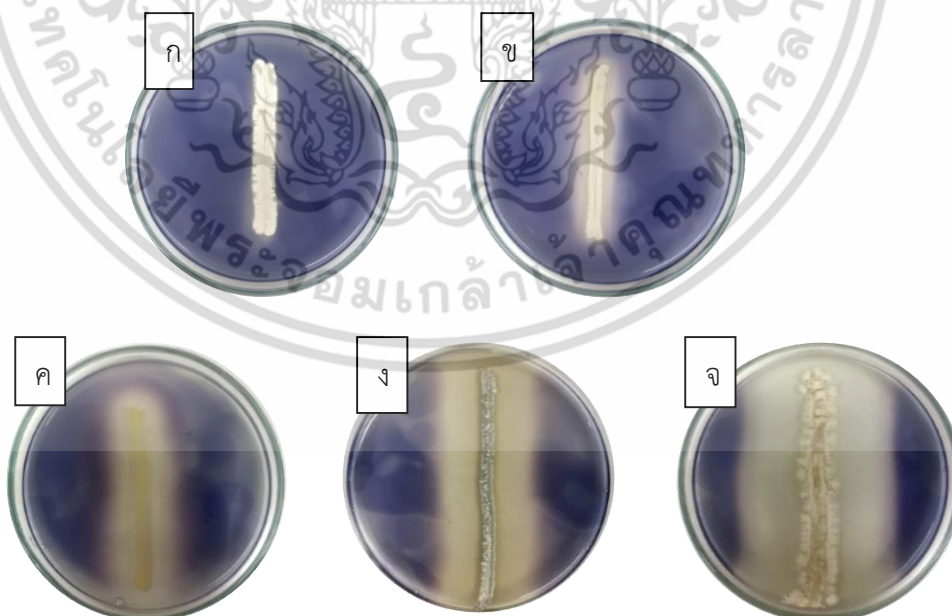
#### รูปที่ ข (๑) แสดงผลทดสอบการย่อยสลายโปรตีนในอาหาร Skim milk agar

(ก) แสดงผล (-) ไม่เกิดการย่อยสลายโปรตีนไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสีของอาหารจากสีขาวขุ่นเป็นลักษณะใสไม่มีสีและไม่เกิดวงกว้าง (clear zone)

(ข) แสดงผล (+) เกิดการย่อยสลายโปรตีนมีการเปลี่ยนแปลงของสีของอาหารจากสีขาวขุ่นเป็นลักษณะใสไม่มีสีและเกิดวงกว้าง (clear zone)

(ค) แสดงผล (++) เกิดการย่อยสลายโปรตีนมีการเปลี่ยนแปลงของสีของอาหารจากสีขาวขุ่นเป็นลักษณะใสไม่มีสีและเกิดวงกว้าง (clear zone) มาก

#### 2. การทดสอบการย่อยสลายแป้ง

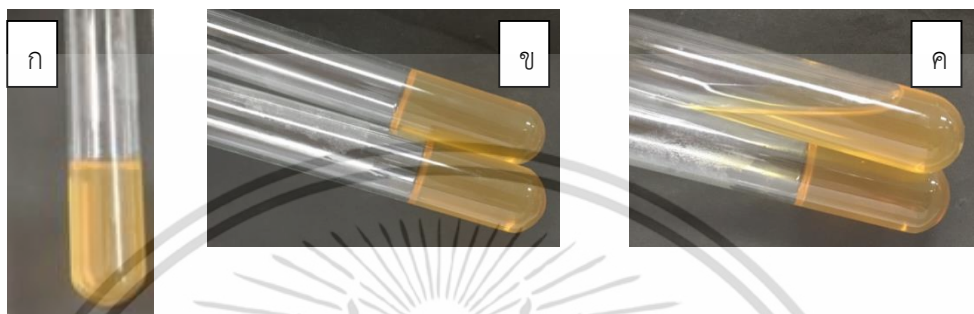


#### รูปที่ ข (๒) แสดงผลทดสอบการย่อยสลายแป้งบนอาหาร Inorganic salt-starch agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- (ก) แสดงผล (-) ไม่เกิดย่อยสลายแป้งบนอาหาร Inorganic salt-starch agar  
 (ข) แสดงผล (w) เกิดย่อยสลายแป้งบนอาหาร Inorganic salt-starch agar เล็กน้อย  
 (ค) แสดงผล (+) เกิดย่อยสลายแป้งบนอาหาร Inorganic salt-starch agar น้อย  
 (ง) แสดงผล (++) เกิดย่อยสลายแป้งบนอาหาร Inorganic salt-starch agar ปานกลาง  
 (จ) แสดงผล (+++) เกิดย่อยสลายแป้งบนอาหาร Inorganic salt-starch agar มาก

### 3. การทดสอบการย่อยสลายเจลาติน (Gelatin liquefaction)



รูปที่ ข (๓) แสดงผลทดสอบการย่อยสลายเจลาตินในอาหารเหลว Bouillon Gelatin Broth

- (ก) ชุดควบคุมการทดสอบการย่อยสลายเจลาตินในอาหารเหลว Bouillon Gelatin Broth เมื่อเทียบกับชุดควบคุม  
 (ข) แสดงผล (-) ไม่เกิดการย่อยสลายเจลาตินในอาหารเหลว Bouillon Gelatin Broth เมื่อเทียบกับชุดควบคุม  
 (ค) แสดงผล (+) เกิดการย่อยสลายเจลาตินในอาหารเหลว Bouillon Gelatin Broth เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

### 4. การทดสอบการย่อยสลายไนเตรท (Nitrate reduction)

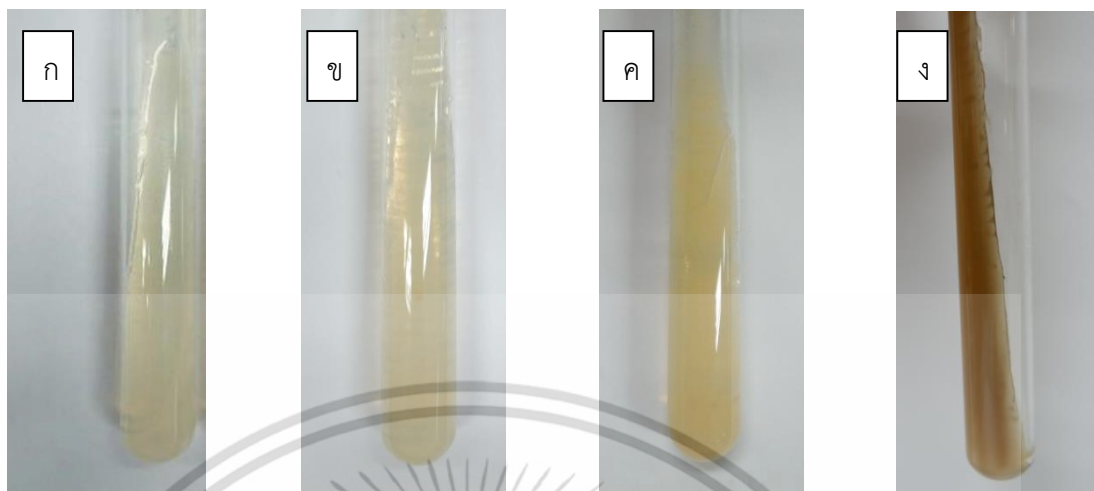


รูปที่ ข (๔) แสดงผลทดสอบการย่อยสลายไนเตรทในอาหารเหลว Peptone KNO<sub>3</sub> broth

- (ก) ชุดควบคุมการทดสอบการย่อยสลายไนเตรทในอาหารเหลว Peptone KNO<sub>3</sub> broth  
 (ข) แสดงผล (-) ไม่เกิดการย่อยสลายไนเตรทในอาหารเหลว Peptone KNO<sub>3</sub> broth  
 (ค) แสดงผล (w) เกิดการย่อยสลายไนเตรทเล็กน้อยในอาหารเหลว Peptone KNO<sub>3</sub> broth  
 (ง) แสดงผล (+) เกิดการย่อยสลายไนเตรทในอาหารเหลว Peptone KNO<sub>3</sub> broth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 5. การทดสอบความสามารถในการผลิต H<sub>2</sub>S



รูปที่ ข (๕) แสดงผลทดสอบความสามารถในการผลิต H<sub>2</sub>S บนอาหาร  
Tryptone-Yeast extract agar slant

- (ก) ชุดควบคุมการทดสอบการผลิต H<sub>2</sub>S บนอาหาร Tryptone-Yeast extract agar slant
- (ข) แสดงผล (-) ไม่เกิดการผลิต H<sub>2</sub>S บนอาหาร Tryptone-Yeast extract agar slant
- (ค) แสดงผล (w) เกิดการผลิต H<sub>2</sub>S เล็กน้อยบนอาหาร Tryptone-Yeast extract agar slant
- (ง) แสดงผล (+) เกิดการผลิต H<sub>2</sub>S บนอาหาร Tryptone-Yeast extract agar slant

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก จ

## ผลการทดลอง

1. การหาค่าปริมาณของน้ำหนักร้อยอย่างดินที่ใช้ในการหาเชื้อแอกติโนมัยซีท  
 ตารางที่ ข (๑) แสดงปริมาณของน้ำหนักร้อยอย่างดินที่ใช้ในการคัดแยกแอกติโนมัยซีทโดยวิธีที่ 1  
 บริเวณธารน้ำร้อนบ่อคลิ้งตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี

ตำแหน่ง ตัวอย่างดิน	น้ำหนักภาชนะ (กรัม)	น้ำหนักสารแขวนลอย ของดินที่เจือจาง (กรัม)	น้ำหนักสารแขวนลอย ของดินและภาชนะ หลังอบ (กรัม)	น้ำหนักดิน (กรัม)
1	44.798	8.900	45.803	7.895
2	41.352	8.795	42.501	7.646
3	45.145	9.069	46.385	7.829
4	49.213	9.022	50.234	8.001
5	41.270	9.205	42.259	8.216
6	43.547	9.034	44.670	7.911
7	41.655	8.980	42.801	7.834
8	45.361	8.901	46.426	7.836
9	43.524	8.831	44.577	7.778
10	42.141	8.885	43.236	7.790
11	48.163	8.902	49.191	7.874
12	44.562	8.981	45.498	8.045
13	41.970	8.973	43.060	7.883
14	45.445	8.962	46.537	7.870
15	45.235	8.879	46.341	7.773
16	42.889	8.910	43.954	7.845
17	45.912	9.033	46.918	8.027
18	47.554	8.890	48.547	7.897
19	41.615	9.314	42.746	8.183
20	42.251	8.690	43.276	7.665

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข (๒) แสดงปริมาณของน้ำหนักดินตัวอย่างดินที่ใช้ในการคัดแยกแอกติโนมัยซีทโดยวิธีที่ 2 และ 3 บริเวณธารน้ำร้อนบ่อคลิ้ง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี

ตำแหน่ง ตัวอย่างดิน	น้ำหนักภาชนะ (กรัม)	น้ำหนักสารแขวนลอย ของดินที่เจือจาง (กรัม)	น้ำหนักสารแขวนลอย ของดินและภาชนะ หลังอบ(กรัม)	น้ำหนักดิน (กรัม)
1	48.171	8.907	49.183	7.895
2	44.548	8.983	45.575	7.956
3	41.991	8.975	43.040	7.926
4	45.470	8.968	46.536	7.902
5	45.253	8.881	46.267	7.867
6	42.892	8.915	43.948	7.895
7	45.914	9.005	47.029	7.890
8	47.552	8.990	48.592	7.950
9	41.603	9.413	42.922	8.094
10	42.255	8.789	43.270	7.774
11	42.142	8.889	43.205	7.826
12	43.548	8.863	44.566	7.845
13	45.367	8.903	46.420	7.850
14	41.771	8.988	42.804	7.955
15	43.531	9.037	44.667	7.901
16	41.269	9.206	42.416	8.059
17	49.156	9.033	50.243	7.946
18	45.232	9.074	46.384	7.922
19	41.292	9.115	42.407	8.000
20	44.810	8.890	45.890	7.810

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวัดค่าความเป็นกรด-ด่างจากตัวอย่างดินที่ใช้ในการหาเชื้อแอคติโนมัยซีท  
 ตารางที่ ข (ก) แสดงค่าเฉลี่ยของความเป็นกรด-ด่างจากตัวอย่างดินที่ใช้ในการคัดแยกแอคติโน  
 มัยซีทโดยวิธีที่ 1 บริเวณธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี

ตำแหน่ง ตัวอย่างดิน	ค่าความเป็นกรด-ด่าง			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
1	6.92	6.94	6.91	6.92
2	6.96	6.93	6.97	6.95
3	6.87	6.89	6.83	6.86
4	6.97	6.94	6.98	6.96
5	6.87	6.82	6.85	8.85
6	6.95	6.91	6.93	6.93
7	6.95	6.93	6.97	6.95
8	6.98	6.95	6.91	6.95
9	6.84	6.84	6.87	6.85
10	6.78	6.80	6.85	6.81
11	6.93	6.91	6.94	6.93
12	6.83	6.81	6.85	6.83
13	6.97	6.97	6.93	6.96
14	6.92	6.91	6.94	6.92
15	6.81	6.84	6.82	8.82
16	6.95	6.97	6.96	6.96
17	6.97	6.98	6.95	6.97
18	6.68	6.72	6.70	6.70
19	6.92	6.96	6.95	6.94
20	6.95	6.91	6.94	6.93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข (๔) แสดงค่าเฉลี่ยของความเป็นกรด-ต่างจากตัวอย่างดินที่ใช้ในการตัดแยกแอสคิโน  
มายซีทโดยวิธีที่ 2 และ 3 บริเวณธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี

ตำแหน่ง ตัวอย่างดิน	ค่าความเป็นกรด-ต่าง			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
1	6.77	6.75	6.79	6.77
2	6.49	6.51	6.49	6.50
3	6.88	6.90	6.87	6.88
4	6.71	6.75	6.73	6.73
5	6.89	6.89	6.91	6.90
6	6.95	6.92	6.96	6.94
7	6.73	6.70	6.75	6.73
8	6.64	6.64	6.67	6.65
9	6.79	6.80	6.77	6.79
10	6.50	6.53	6.51	6.51
11	6.71	6.73	6.69	6.71
12	6.90	6.88	6.92	6.90
13	6.58	6.61	6.61	6.60
14	6.89	6.85	6.87	6.87
15	6.65	6.67	6.63	6.65
16	6.60	6.64	6.61	6.62
17	6.61	6.65	6.60	6.62
18	6.72	6.74	6.70	6.72
19	6.64	6.60	6.62	6.62
20	6.93	6.93	6.95	6.94

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การหาค่าปริมาณความชื้นจากตัวอย่างดินที่ใช้ในการหาเชื้อแอกติโนมัยซีท  
 ตารางที่ ข (๕) แสดงปริมาณความชื้นจากตัวอย่างดินที่ใช้ในการคัดแยกแอกติโนมัยซีทโดยวิธีที่  
 1 บริเวณธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี

ตำแหน่ง ตัวอย่างดิน	น้ำหนักภาชนะ (กรัม)	น้ำหนักดิน ก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนักดิน และภาชนะหลังอบ (กรัม)	น้ำหนักดิน หลังอบ (กรัม)	ปริมาณ ความชื้น (%)
1	44.171	2.330	46.170	1.999	14.20
2	45.464	2.462	47.476	2.012	18.28
3	42.149	2.036	43.997	1.848	9.23
4	43.595	2.188	45.421	1.826	16.54
5	53.964	2.097	55.714	1.747	16.54
6	49.365	2.064	51.221	1.856	10.08
7	43.224	2.478	45.345	2.121	14.41
8	48.868	2.285	50.725	1.857	18.73
9	45.396	2.142	47.093	1.697	20.77
10	48.666	2.404	50.778	2.112	12.15
11	49.645	2.369	51.685	2.040	12.62
12	42.371	1.820	43.854	1.483	18.52
13	53.513	1.856	55.048	1.535	17.30
14	43.937	1.834	45.382	1.445	21.21
15	50.273	1.822	51.747	1.474	19.10
16	48.879	1.965	50.423	1.544	21.42
17	46.604	1.943	48.138	1.534	21.05
18	47.938	1.720	49.208	1.270	26.16
19	50.858	1.879	52.133	1.275	32.14
20	42.626	1.952	44.111	1.485	23.92




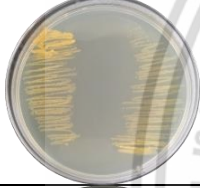









เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข (๖) แสดงปริมาณความชื้นจากตัวอย่างดินที่ใช้ในการคัดแยกแอกติโนไมซีทโดยวิธีที่ 2 และ 3 บริเวณธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตำบลสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี

ตำแหน่ง ตัวอย่างดิน	น้ำหนักภาชนะ (กรัม)	น้ำหนักดิน ก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนักดิน และภาชนะหลังอบ (กรัม)	น้ำหนักดิน หลังอบ (กรัม)	ปริมาณ ความชื้น (%)
1	41.280	2.275	43.541	2.261	0.62
2	44.959	2.215	47.171	2.212	0.41
3	46.029	2.093	48.116	2.087	0.29
4	43.027	2.066	45.090	2.063	0.15
5	47.554	2.215	49.768	2.214	0.05
6	41.685	2.122	43.805	2.120	0.09
7	43.530	2.135	45.661	2.131	0.19
8	47.304	2.030	49.306	2.002	1.38
9	41.289	2.039	43.316	2.027	0.59
10	46.792	2.085	48.869	2.077	0.39
11	45.364	2.366	47.723	2.359	0.30
12	41.674	2.211	43.885	2.211	0.00
13	45.229	2.048	47.178	1.949	4.83
14	42.296	2.163	44.451	2.155	0.37
15	49.156	2.116	51.233	2.077	1.84
16	46.795	2.235	49.004	2.209	1.16
17	41.773	2.400	44.153	2.380	0.83
18	43.190	2.071	45.259	2.069	0.10
19	48.283	2.100	50.371	2.088	0.57
20	47.765	2.197	49.936	2.171	1.81


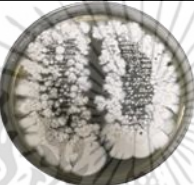



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอสคิโนมัยซีที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3

หมายเลข ไอโซเลท	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)						
	40	45	50	55	60	65	70
BKH 00431				-	-	-	-
BKH 00722			-	-	-	-	-
BKH 00723						-	-
BKH 00830				-	-	-	-

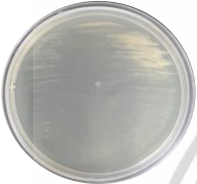





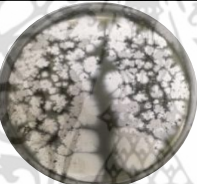


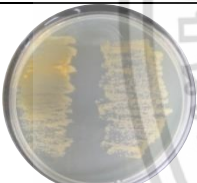





หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอสคิโนมัยซีที่ไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ค แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ได้จากคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)						
	40	45	50	55	60	65	70
BKH 01721					-	-	-
BKH 01722						-	-
BKH 01724					-	-	-
BKH 01730				-	-	-	-


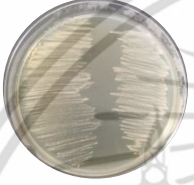







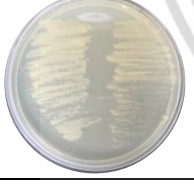


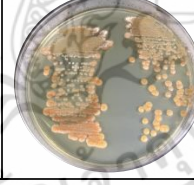
หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ค แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)						
	40	45	50	55	60	65	70
BKH 02020					-	-	-
BKH 02030						-	-
BKH 203				-	-	-	-
BKH 222				-	-	-	-

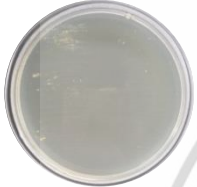







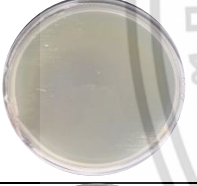







หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ค แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)						
	40	45	50	55	60	65	70
BKH 232			-	-	-	-	-
BKH 241				-	-	-	-
BKH 422					-	-	-
BKH 431					-	-	-

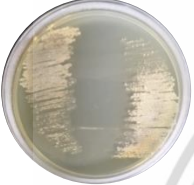












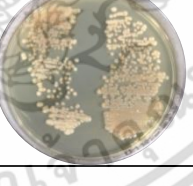
หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ค แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)						
	40	45	50	55	60	65	70
BKH 432					-	-	-
BKH 521					-	-	-
BKH 722					-	-	-
BKH 731					-	-	-




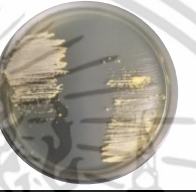








หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ค แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)						
	40	45	50	55	60	65	70
BKH 1322				-	-	-	-
BKH 1731				-	-	-	-
BKH 1921					-	-	-
BKH 1922					-	-	-


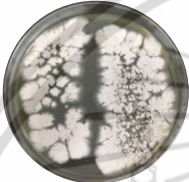


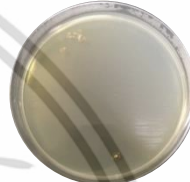

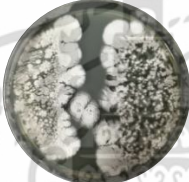
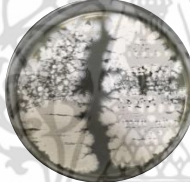











หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ค แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอสคิโนมัยซีที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ได้จากคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)						
	40	45	50	55	60	65	70
BKH 1941					-	-	-
BKH 1943					-	-	-
BKH 2021				-	-	-	-
BKH 2023			-	-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอสคิโนมัยซีที่ไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ค แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ได้จากคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)						
	40	45	50	55	60	65	70
BKH 2024						-	-
BKH 2025						-	-
BKH 2026						-	-
BKH 2032					-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ง แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3

หมายเลขไอโซเลท	ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)				
	0	3	5	7	10
BKH 00431		-	-	-	-
BKH 00722			-	-	-
BKH 00723			-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ง แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)				
	0	3	5	7	10
BKH 00830					-
BKH 01721		-	-	-	-
BKH 01722		-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ง แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)				
	0	3	5	7	10
BKH 01724			-	-	-
BKH 01730					-
BKH 02020		-	-	-	-









หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ง แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)				
	0	3	5	7	10
BKH 02030		-	-	-	-
BKH 203			-	-	-
BKH 222		-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ง แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)				
	0	3	5	7	10
BKH 232					-
BKH 241				-	-
BKH 422			-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ง แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอสคิโนมัยซีทที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)				
	0	3	5	7	10
BKH 431		-	-	-	-
BKH 432		-	-	-	-
BKH 521		-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอสคิโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ง แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)				
	0	3	5	7	10
BKH 722		-	-	-	-
BKH 731		-	-	-	-
BKH 1322		-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ง แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)				
	0	3	5	7	10
BKH 1731			-	-	-
BKH 1921			-	-	-
BKH 1922			-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ง แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)				
	0	3	5	7	10
BKH 1941				-	-
BKH 1943			-	-	-
BKH 2021		-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอคติโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

ตารางที่ ง แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)				
	0	3	5	7	10
BKH 2023					-
BKH 2024				-	-
BKH 2025			-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

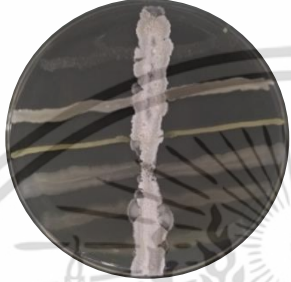
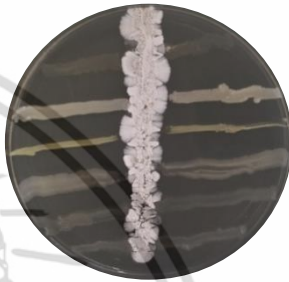




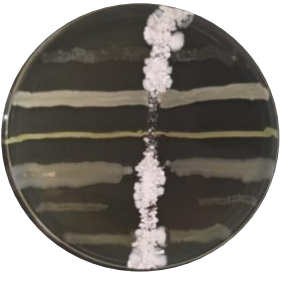

ตารางที่ ง แสดงรูปภาพผลการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในระดับต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยวิธีที่ 2 และ 3 (ต่อ)

หมายเลขไอโซเลท	ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ (ร้อยละ)				
	0	3	5	7	10
BKH 2026		-	-	-	-
BKH 2032		-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง เชื้อแอกติโนมัยซีทไม่มีการเจริญ

ตาราง จ แสดงรูปภาพผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิ  
ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

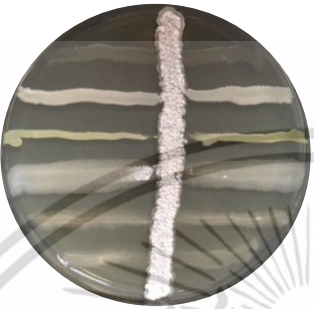
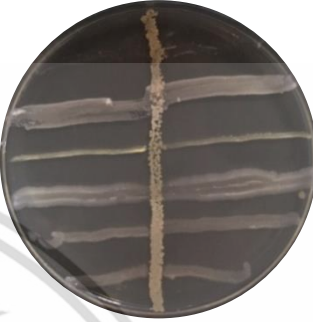



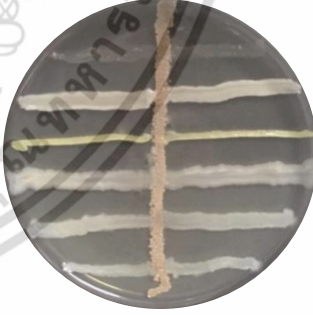
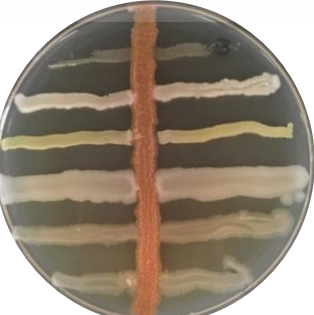
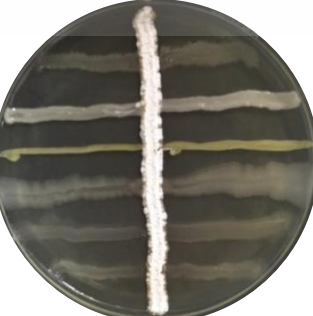
ผลการศึกษาความสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแอกติโนมัยซีทโดยยับยั้งเชื้อ  
*Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*,  
*Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* ตามลำดับ

หมายเลข ไอโซเลท	กลุ่มที่ 1	หมายเลขไอ โซเลท	กลุ่มที่ 1
BKH 00723		BKH 01724	
BKH 00830		BKH 02020	
BKH 01721		BKH 02030	
BKH 01722		BKH 222	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ได้ออกมาให้คำแนะนำเชิงนโยบายหรือคำแนะนำ

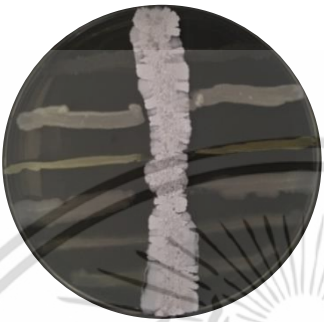
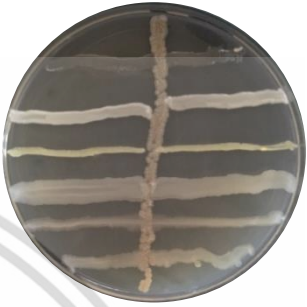

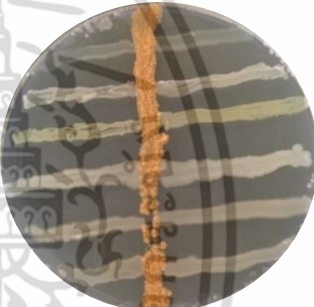



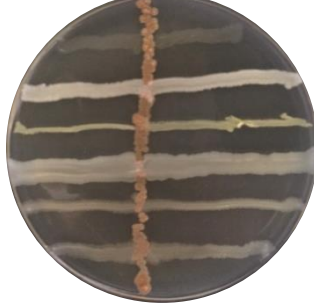
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง จ แสดงรูปภาพผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิ  
ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ (ต่อ)

หมายเลข ไอโซเลท	กลุ่มที่ 1	หมายเลข ไอโซเลท	กลุ่มที่ 1
BKH 241		BKH 1322	
BKH 432		BKH 1731	
BKH 521		BKH 1922	
BKH 722		BKH 1941	

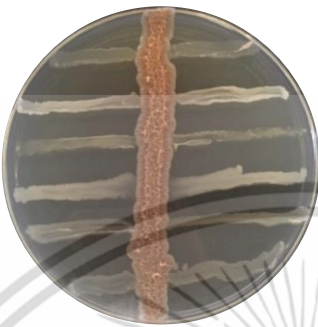
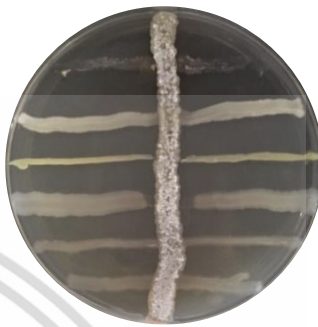

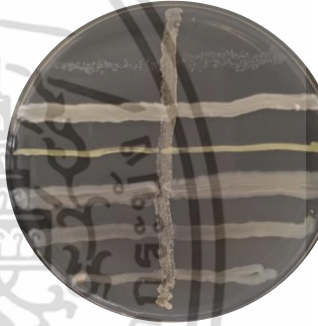

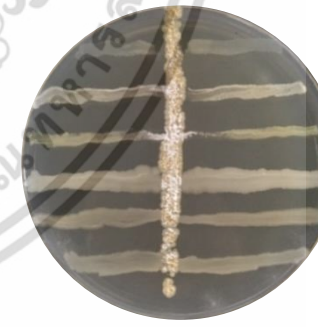
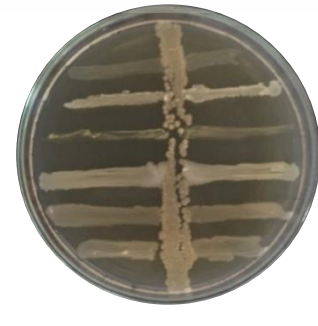
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง จ แสดงรูปภาพผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิ  
ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ (ต่อ)

หมายเลข ไอโซเลท	กลุ่มที่ 1	หมายเลข ไอโซเลท	กลุ่มที่ 2
BKH 1943		BKH 00431	
BKH 2024		BKH 00722	
BKH 2025		BKH 422	
BKH 2026		BKH 431	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง จ แสดงรูปภาพผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิ  
ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ (ต่อ)

หมายเลข ไอโซเลท	กลุ่มที่ 2	หมายเลข ไอโซเลท	กลุ่มที่ 3
BKH 731		BKH 01730	
BKH 2021		BKH 232	
BKH 2030		BKH 2023	
BKH 2032			

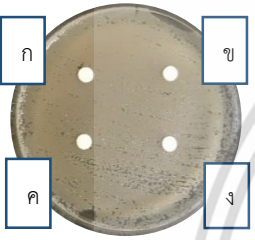


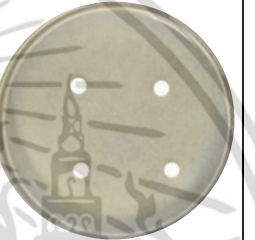
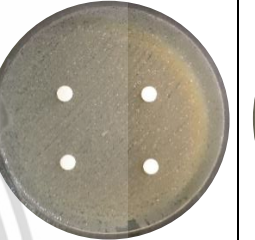

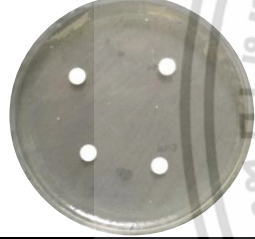



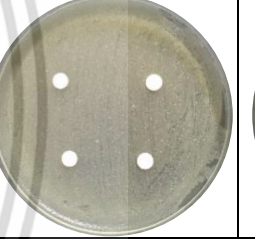

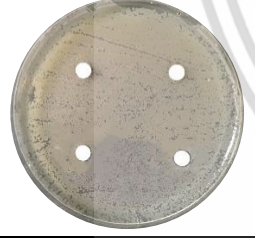
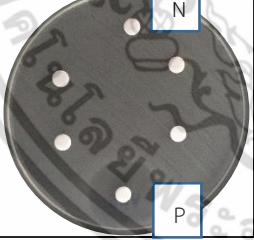

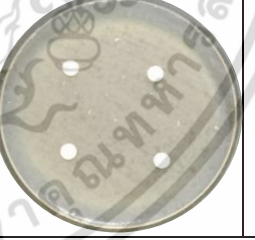
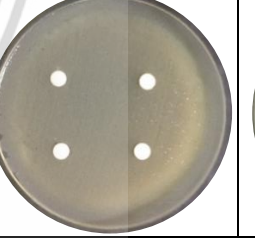
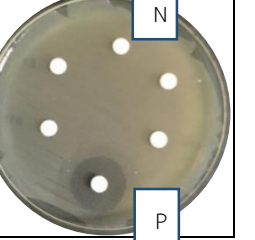
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง จ แสดงรูปภาพผลการทดสอบเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิ  
ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

หมายเลข ไอโซเลต	กลุ่มที่
BKH 1921	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข แสดงรูปภาพผลของฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆจากสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเทคนิค Agar disk diffusion

ไอโซเลท	ขอบเขตการยับยั้งเชื้อทดสอบ					
	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
00830						
01722						
01724						

หมายเหตุ :

ก = ความเข้มข้นของเซลล์ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ค = ความเข้มข้นของเซลล์ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

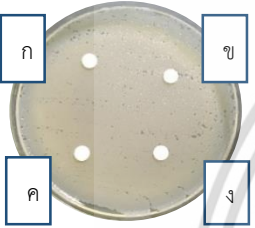


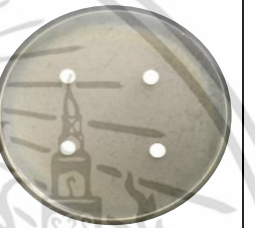
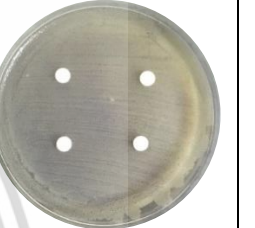
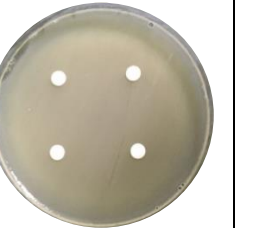
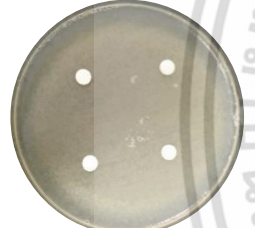

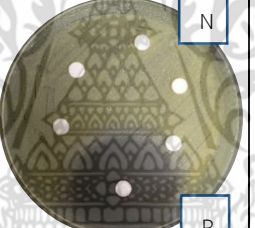

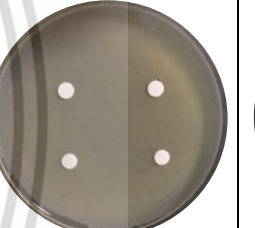





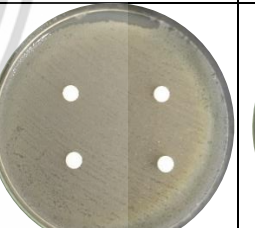
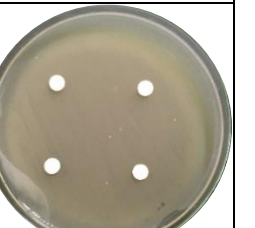
N = Negative control

ข = ความเข้มข้นของส่วนน้ำหมัก 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ง = ความเข้มข้นของส่วนน้ำหมัก 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

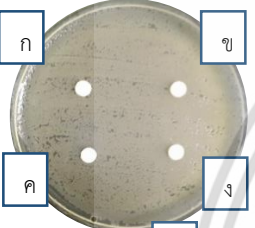


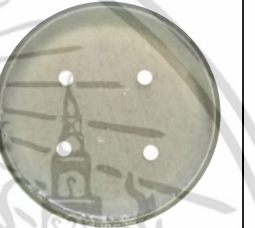
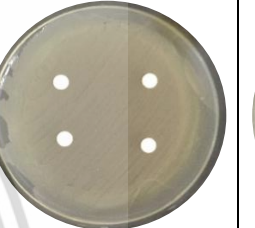
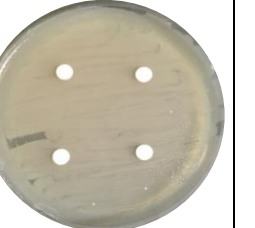
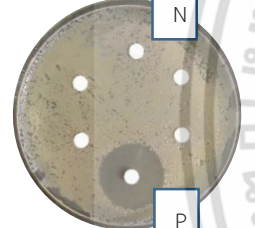



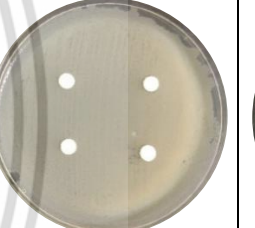



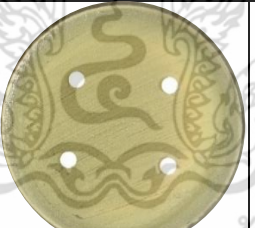

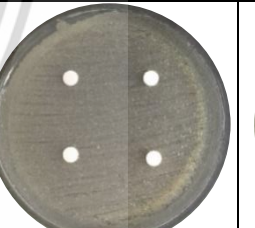

P = Positive control

ตาราง ข แสดงรูปภาพผลของฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆจากสารสกัดหยากที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเทคนิค Agar disk diffusion (ต่อ)

ไอโซเลท	ขอบเขตการยับยั้งเชื้อทดสอบ					
	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
01730						
02030						
241						

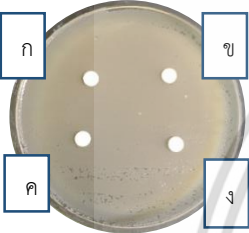


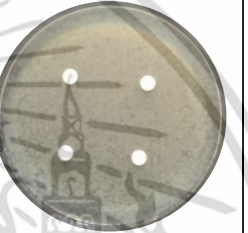
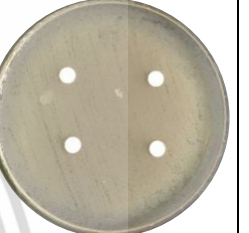

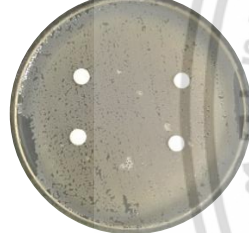



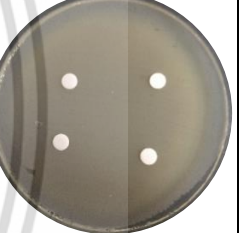
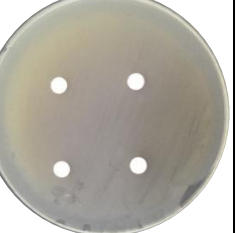
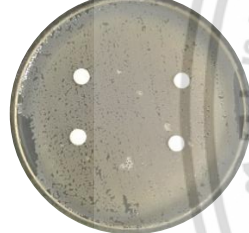



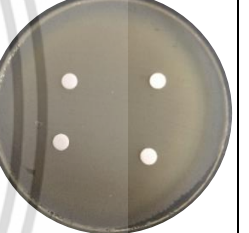
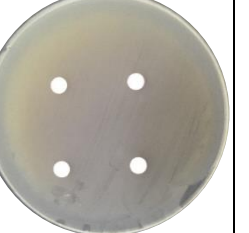
หมายเหตุ : ก = ความเข้มข้นของเซลล์ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร      ข = ความเข้มข้นของส่วนน้ำหมัก 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร  
 ค = ความเข้มข้นของเซลล์ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร      ง = ความเข้มข้นของส่วนน้ำหมัก 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร  
 N = Negative control      P = Positive control

ตาราง ข แสดงรูปภาพผลของฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆจากสารสกัดหยาดที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเทคนิค Agar disk diffusion (ต่อ)

ไอโซเลท	ขอบเขตการยับยั้งเชื้อทดสอบ					
	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
1731						
1943						
2021						

หมายเหตุ : ก = ความเข้มข้นของเซลล์ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร      ข = ความเข้มข้นของส่วนน้ำหมัก 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร  
 ค = ความเข้มข้นของเซลล์ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร      ง = ความเข้มข้นของส่วนน้ำหมัก 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร  
 N = Negative control      P = Positive control

ตาราง ข แสดงรูปภาพผลของฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆจากสารสกัดหยาดที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเทคนิค Agar disk diffusion (ต่อ)

ไอโซเลท	ขอบเขตการยับยั้งเชื้อทดสอบ					
	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
2025	ก  ข					
	ค  ง					
2026						

หมายเหตุ : ก = ความเข้มข้นของเซลล์ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร      ข = ความเข้มข้นของส่วนน้ำหมัก 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร  
ค = ความเข้มข้นของเซลล์ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร      ง = ความเข้มข้นของส่วนน้ำหมัก 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

## ภาคผนวก ฉ

### การเตรียมสารละลาย McFarland standard No. 0.5

(ปาลิตา และคณะ, 2558)

มาตรฐาน McFarland ถูกนำมาใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงในการปรับความขุ่นของเชื้อแบคทีเรีย เพื่อให้จำนวนของเชื้อแบคทีเรียที่จะได้รับภายในช่วงที่กำหนด

การเตรียมสาร

#### 1. Sulfuric acid, 1% (vol/vol) (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

เติมน้ำ deionized water : DI 90 ml ลงใน volumetric flask ขนาด 100 ml. เติม H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> เข้มข้น ปริมาตร 1.0 ml ปรับปริมาตรด้วย DI ให้ได้ปริมาตรเท่ากับ 100 ผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดแก้วไว้ที่ อุณหภูมิ 25°C สามารถเก็บไว้ได้นาน 1 ปี

#### 2. Barium chloride, 1.175% (wt/vol) (BaCl<sub>2</sub>• 2H<sub>2</sub>O)

ชั่ง BaCl<sub>2</sub>• 2H<sub>2</sub>O 1.175 g เติมลงใน volumetric flask ขนาด 100 ml เติมน้ำ DI 50 ml ผสมให้เข้ากันดีแล้วเติมน้ำ DI จนครบ 100 ml เขย่าให้เข้ากัน เก็บในขวดแก้วไว้ที่ อุณหภูมิ 25°C สามารถเก็บไว้ได้นาน 1 ปี

การเตรียมมาตรฐาน McFarland

McFarland Standard No.	Vol (mL)				
	0.5	1	2	3	4
BaCl <sub>2</sub> • 2H <sub>2</sub> O (1.175%)	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1%)	9.95	9.9	9.8	9.7	9.6
Approx. cell density (1X10 <sup>8</sup> CFU/mL)	1.5	3	6	9	12
% Transmittance (wavelength of 600 nm)	74.3	55.6	35.6	26.4	21.5
Absorbance*	0.132	0.257	0.451	0.582	0.669

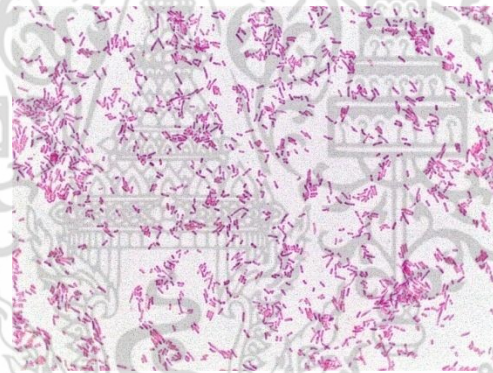
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

### เชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆสำหรับการทดสอบการออกฤทธิ์ทาง ชีวภาพของเชื้อแอกติโนมัยซีท

#### 1. *Escherichia coli*

*Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เซลล์เป็นรูปแท่ง ขนาด  $1.1-1.5 \times 2.0-6.0$  ไมโครเมตร จัดเรียงตัวอาจอยู่แบบเซลล์เดี่ยว หรืออยู่เป็นคู่ มีลักษณะโคโลนีสีเหลืองอ่อน สามารถสร้างแคปซูลและสารพิษ เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลา สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือไร้ออกซิเจน เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส *Escherichia coli* เป็นเชื้อประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหารโดยเฉพาะในลำไส้ใหญ่ สามารถก่อโรคได้บ่อยกว่าแบคทีเรียอื่นที่อยู่ในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* เหมือนกัน ซึ่งส่วนใหญ่ก่อโรคติดเชื้อในทางเดินอาหารแคบบางสายพันธุ์สามารถก่อโรคนอกระบบทางเดินอาหารได้โดยโรคติดเชื้อ *Escherichia coli* ที่สำคัญ ได้แก่ โรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ การติดเชื้อในกระแสเลือด และโรคติดเชื้ออื่นที่พบได้ เช่น การติดเชื้อของบาดแผลซึ่งก่อโรคได้ทั้งในคนปกติและคนที่มียาระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง (ชนภพ, 2558)



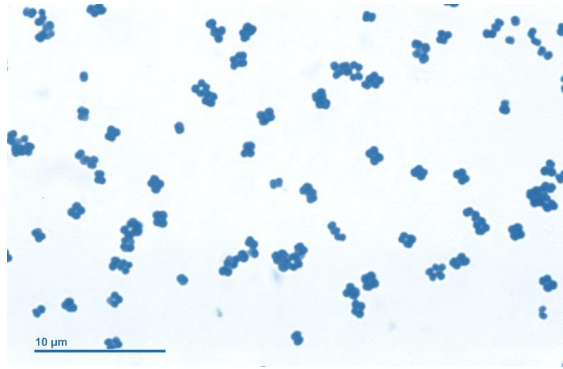
รูปที่ ข (1) แสดงรูปร่างลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli*

ที่มา : <http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=13348>

#### 2. *Micrococcus luteus*

สกุล *Micrococcus* ให้โคโลนีสีต่างๆ เช่น แดง ส้ม เหลือง หรือไม่มีสี พบในดิน น้ำ ผิวน้ำ ของคนและสัตว์ (ขจร และคณะ, 2536) *Micrococcus luteus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเรียงตัวเป็นกลุ่ม โดยส่วนใหญ่พบอยู่เป็นกลุ่ม 4 เซลล์ ที่เรียกว่า tetrad ซึ่งพบอาศัยเป็นเชื้อประจำถิ่นบนผิวน้ำและเยื่อเมือกบุผิว รวมถึงพบได้ในสิ่งแวดล้อมทั่วไป จึงสามารถพบเป็นเชื้อปนเปื้อนในสิ่งส่งตรวจได้บ่อยโดยเฉพาะ *Micrococcus luteus* การก่อโรคในคนพบได้น้อย ส่วนใหญ่เป็นการติดเชื้อฉวยโอกาสในผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง และสัมพันธ์กับการใส่อุปกรณ์การแพทย์เข้าสู่ร่างกาย สามารถก่อโรคติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ ระบบประสาท และการติดเชื้อในกระแสเลือด (ภัทรชัย, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ช (2) แสดงรูปร่างลักษณะของเชื้อ *Micrococcus luteus*  
ที่มา: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Eubacteria\\_\(259\\_00F\)\\_Micrococcus\\_luteus\\_bacteria.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Eubacteria_(259_00F)_Micrococcus_luteus_bacteria.jpg)

### 3. *Bacillus subtilis*

เมื่อนำ *Bacillus subtilis* มาย้อมแกรม พบว่าเป็นแบคทีเรียรูปแท่งต่อกันเป็นสายยาว ขนาดยาว 3.84 ไมโครเมตร กว้าง 0.64 ไมโครเมตร ติดสีม่วงเป็นแกรมบวก สามารถสร้างสปอร์ได้ มีเอนโดสปอร์รูปร่างรี โดยพบสปอร์บริเวณกลางเซลล์หรือปลายเซลล์ (ผาสุข, 2548) *Bacillus subtilis* สามารถออกซิไดซ์คาร์โบไฮเดรต กรดอินทรีย์ และสารประกอบอื่นๆ เช่น ไขมัน น้ำมัน โปรตีน และแป้ง โดยสามารถทำงานได้ดีในการย่อยสลายตะกอน เนื่องจากสามารถหลั่งเอนไซม์ออกมาออกเซลล์เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ให้เป็นโมเลกุล (ปิยะนุช และคณะ, 2552)

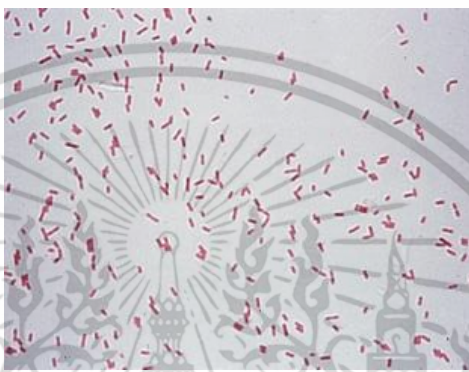


รูปที่ ช (3) แสดงรูปร่างลักษณะของเชื้อ *Bacillus subtilis*  
ที่มา: <http://www.ral-diagnostics.fr/ressources>

### 4. *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง เป็นแบคทีเรียในวงศ์ *Pseudomonadaceae* สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้ flagellum 1 เส้น ที่ติดอยู่บริเวณขั้วเซลล์ ปกติจะพบกระจายในดิน น้ำ ขยะหรือในพืช และเป็น normal flora ในลำไส้คน เช่น *Pseudomonas* สามารถทำให้เกิดโรคในคนได้รวมทั้งสัตว์ โรคติดเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ก็มีอัตราการเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เสียชีวิตของผู้ป่วยสูงโดยเฉพาะการติดเชื้อในกระแสเลือดและการติดเชื้อที่ปอด แหล่งที่พบเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ค่อนข้างทนต่อการทำลายโดยสารเคมีมากกว่าเซลล์แบคทีเรียปกติทั่วไป โดยเฉพาะในที่มีความชื้น บางครั้งพบเป็น normalmicrobiota ในลำไส้หรือบนผิวหนัง (วาริรัตน์, 2557) เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* เป็นเชื้อฉวยโอกาสก่อให้เกิดการติดเชื้อได้หลายระบบ ทั้งในผู้ที่ได้รับการผ่าตัด มีแผลไฟไหม้ นอกจากนี้ *Pseudomonas aeruginosa* ยังก่อให้เกิดโรคปอดบวมได้ในผู้ที่ใช้เครื่องช่วยหายใจที่มีการ contamination ของเชื้อนี้ สำหรับอวัยวะระบบอื่นๆ อาจก่อให้เกิดการติดเชื้อในกระเจกตา หูชั้นกลาง เยื่อหุ้มสมองอักเสบ หรือเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ (ปรินทร์ และคณะ, 2552)

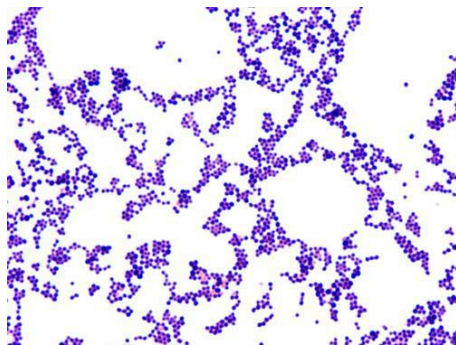


รูปที่ ข (4) แสดงรูปร่างลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*  
ที่มา: <http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html>

### 5. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างทรงกลม ลักษณะการจัดเรียงตัวของเซลล์มีลักษณะคล้ายพวงองุ่นจัดอยู่ในกลุ่ม *Staphylococcaceae* ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้เอง ขนาดของเซลล์มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.8 ถึง 1.0 ไมครอน ไม่สร้างสปอร์สามารถเจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั่วไป เช่น nutrient agar (NA) และ tryptic soy agar (TSA) เป็นต้น สามารถเจริญได้ทั้งในอาหารเหลวและบนอาหารแข็ง โดยลักษณะของโคโลนีบนอาหารแข็ง เป็นโคโลนีสีเหลืองเข้ม หรือ สีเหลืองทองกลม ขอบเรียบ มันวาว โค้งนูน และสีขุ่นทึบแสง ส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวจะมีลักษณะเป็นสีขุ่น ค่อนข้างใสตกตะกอน และเกิดวงสีเหลืองด้านบนของอาหารเหลว (นราพรและชุตติกาญจน์, 2558) สมบัติทางเคมีที่สำคัญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้แก่ การย่อยสลายกรดอะมิโน กรดไขมัน สามารถสร้างเอนไซม์คาตาเลสให้ผลบวก และฮีโมไลซิน (hemolysin) ชนิด  $\beta$ -hemolysin ทำให้เกิดวงใสที่ชัดเจนบน blood agar สามารถใช้ mannitol และสร้างเอนไซม์โคแอกกูเลส (coagulase) ที่ทำให้พลาสมาเกิดการแข็งตัว โดยเปลี่ยนไฟบริโนเจน (fibrinogen) เป็นไฟบริน (fibrin) โดยไฟบรินที่เกิดขึ้นจะช่วยป้องกันกระบวนการฟาโกไซโทซิสของเม็ดเลือดขาว และการเข้าจับของยาปฏิชีวนะได้ทำให้ประสิทธิภาพในการก่อโรครุนแรงขึ้น (นิตพิงษ์ และเอกชัย, 2552)

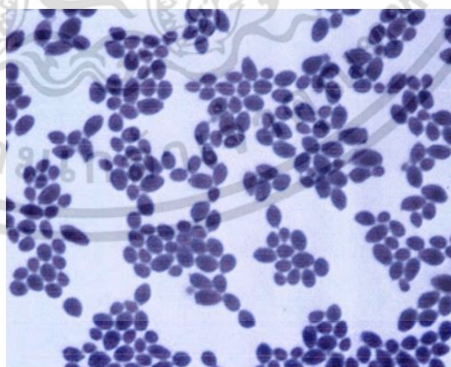
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ช (5) แสดงรูปร่างลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus*  
ที่มา: [http://www.stepwards.com/?page\\_id=366](http://www.stepwards.com/?page_id=366)

#### 6. *Candida albicans*

*Candida albicans* เป็นยีสต์ที่มีรูปร่างทั้งแบบวงรี (oval shape) และทรงไข่ (ellipsoidal shape) ที่ไม่มีแคปซูลหุ้ม เพิ่มจำนวนด้วยการแตกหน่อ (budding) สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 25-37 องศาเซลเซียส สามารถก่อโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ บริเวณที่พบเชื้อสามารถพบได้ทั้งบริเวณผิวหนัง เยื่อเมือกโดยเฉพาะเยื่อเมือกในทางเดินอาหาร *Candida albicans* เป็นเชื้อยีสต์ฉวยโอกาสก่อโรคในสภาวะที่ร่างกายแข็งแรง สามารถพบเชื้อกลุ่มนี้ได้จาก หูด ระบบทางเดินอาหาร อวัยวะสืบพันธุ์ผิวหนัง และช่องคลอด ซึ่งพบว่าเชื้อกลุ่มนี้ได้ถูกจัดเป็นเชื้อประจำถิ่นที่มีความสำคัญต่อร่างกายของคนเราแต่เมื่อร่างกายอ่อนแอลงจะทำให้เกิดสภาวะที่ไม่สมดุลของเชื้อประจำถิ่นทำให้ *Candida albicans* เกิดการเพิ่มจำนวนขึ้นมากกว่าปกติทำให้เกิดการติดเชื้อหรือ Candidiasis หรือโรคติดเชื้อแคนดิดา ตัวอย่างของโรคที่เกิดจากเชื้อ *Candida albicans* เช่น โรคเต้านมอักเสบในโคโรลล่าไส้อักเสบ โรคปากอักเสบในลูกแมว และการติดเชื้อในระบบอวัยวะในสุนัขและม้า (สุรชัย, 2557)



รูปที่ ช (6) แสดงรูปร่างลักษณะของเชื้อ *Candida albicans*  
ที่มา: <http://microbeonline.com/cand>

## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล นางสาวภัทราภรณ์ หะวนิช  
 E-mail Pimmy.zz2537@gmail.com  
 ประวัติการศึกษา  
 2555 มัธยมศึกษา (วิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์)  
 โรงเรียนสิริรัตนารุ จังหวัดกรุงเทพมหานคร  
 2560 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)  
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
 กรุงเทพมหานคร



ชื่อ-นามสกุล นางสาวศิริวรรณ บุญชัย  
 E-mail siriwanbc@hotmail.com  
 ประวัติการศึกษา  
 2555 มัธยมศึกษา (วิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์)  
 โรงเรียนนวมวิชรธรรมสาธิต จังหวัดกรุงเทพมหานคร  
 2560 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)  
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
 กรุงเทพมหานคร



ชื่อ-นามสกุล นางสาวศุภรดา แก้วอร่าม  
 E-mail llormay2537@gmail.com  
 ประวัติการศึกษา  
 2555 มัธยมศึกษา (วิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์)  
 โรงเรียนนารีวิทยา จังหวัดราชบุรี  
 2560 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)  
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
 กรุงเทพมหานคร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้