

ประสิทธิภาพความเป็นพรีไบโอติกของสาหร่ายทะเล
ต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติก
PREBIOTIC EFFICIENCY OF MARINE ALGAE
ON PROBIOTICS MICROORGANISMS

ปุณณดา อานมณี
สุพัตรา อยู่สำราญ

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

ประสิทธิภาพความเป็นพรีไบโอติกของสาหร่ายทะเล
ต่อจุลินทรีย์พรีไบโอติก
PREBIOTIC EFFICIENCY OF MARINE ALGAE
ON PROBIOTICS MICROORGANISMS

ปุณณดา อานมณี

สุพัตรา อยู่สำราญ

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

PREBIOTIC EFFICIENCY OF MARINE ALGAE
ON PROBIOTICS MICROORGANISMS

PUNNADA ARNMANEE
SUPATTRA YOOSAMRAN



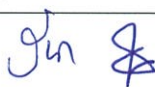
A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FUFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2017

หัวข้อโครงการพิเศษ ประสิทธิภาพความเป็นพรีไบโอติกของสาหร่ายทะเลต่อจุลินทรีย์โปรไบโอติก
 Prebiotic efficiency of marine algae on probiotics microorganisms

ชื่อนักศึกษา นางสาวปุณณดา อานมณี นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 57050853
 นางสาวสุพัตรา อยู่สำราญ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 57050910

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
 ภาควิชา ชีววิทยา
 ปีการศึกษา 2560
 อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. วีน่า ชูโชติ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้
 โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยา
 อุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร. ดวงกมล เรือนงาม ประธานกรรมการ	
ดร. กานต์ วงศาริยะ กรรมการ	
ผศ. วีน่า ชูโชติ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงการพิเศษ	ประสิทธิภาพความเป็นพรีไบโอติกของสาหร่ายทะเลต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติก Prebiotic efficiency of marine algae on probiotics microorganisms	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวปุณณดา อานมณี	นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 57050853
	นางสาวสุพัตรา อยู่สำราญ	นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 57050910
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)	
ภาควิชา	ชีววิทยา	
คณะ	วิทยาศาสตร์	
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	
ปีการศึกษา	2560	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ. วินา ชูโชติ	

บทคัดย่อ

การศึกษาคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติกจากสาหร่ายทะเล 3 สายพันธุ์ คือสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta* โดยศึกษาปริมาณน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก และการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค จากการศึกษาพบว่า สารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Solieria robusta* มีปริมาณน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์มากที่สุด 0.684 ± 0.002 กรัมต่อลิตร การทดสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 และ *Lactobacillus casei* TISTR1463 ที่เติมสารสกัดพรีไบโอติกในอาหารสูตร MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าในช่วงเวลาที่ 36 ชั่วโมงที่ 36 เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 เจริญได้ดีที่สุดในสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 นับจำนวนได้ $94 \times 10^9 \pm 4.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus casei* TISTR1463 เจริญได้ดีที่สุดในสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 นับจำนวนได้ $187 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร และทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 ที่เติมสารสกัดพรีไบโอติกในอาหารสูตร TSB บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 ถูกยับยั้งได้ดีที่สุดในสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Solieria robusta* ความเข้มข้นร้อยละ 4 นับจำนวนได้ $74 \times 10^9 \pm 1.73$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร

คำสำคัญ : *Caulerpa lentillifera* *Gracilaria fisheri* *Solieria robusta* พรีไบโอติก

Title	Prebiotic efficiency of marine algae on probiotics microorganisms		
Student	Punnada	Armanee	Student ID 57050853
	Supattra	Yoosamran	Student ID 57050910
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang		
Academic Year	2017		
Advisor	Asst.Prof. Weena Choochote		

Abstract

The aim of this study was to evaluate prebiotic efficiency effect of marine algae : *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* and *Solieria robusta*. The oligosaccharide content, the growth of probiotic microorganism and it inhibition on growth of pathogenic bacteria. The results showed that prebiotics crude extract from *Solieria robusta* have the highest oligosaccharide content $0.684 \pm 0.002 \text{ gL}^{-1}$. The growth of probiotic bacteria, *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 and *Lactobacillus casei* TISTR1463 with prebiotics crude extract in MRS broth incubated at 37°C were determined. The results showed that the highest growth of *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 was $94 \times 10^9 \pm 4.00 \text{ CFU/ml}$ in the MRS broth with prebiotics crude extract (4% concentration) from *Solieria robusta* on 36 h of the incubation. The highest growth of *Lactobacillus casei* TISTR1463 was $187 \times 10^9 \pm 2.00 \text{ CFU/ml}$ in the MRS broth with prebiotics crude extract (4% concentration) from *Gracilaria fisheri* on 36 h of the incubation. The inhibition of *Escherichia coli* ATCC1261 was $74 \times 10^9 \pm 1.73 \text{ CFU/ml}$ with prebiotics crude extract from *Solieria robusta* (4% concentration) in TSB medium incubated at 37°C .

Keyword : *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri*, *Solieria robusta*, prebiotics

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษนี้ ได้จัดทำตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ซึ่งได้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ทางคณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ผศ.วีณา ชูโชติ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษที่ให้คำแนะนำ ให้ความรู้ ในการค้นคว้า และการดำเนินงานวิจัย อีกทั้งให้ความช่วยเหลือช่วยแก้ไขปัญหาในด้านต่างๆ เพื่อให้โครงการเสร็จอย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ดวงกมล เรืองงาม และดร.กานต์ วงศาริยะ ที่ให้คำแนะนำและตรวจ แก้ไขโครงการพิเศษฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในการสอนใช้เครื่องมือ และ อำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ และสารเคมีต่างๆสำหรับการทดลองในโครงการพิเศษนี้

สุดท้ายขอขอบพระคุณบิดา มารดาที่ให้การสนับสนุน และให้กำลังใจในการทำโครงการพิเศษ รุ่นพี่ ที่เรียนจบไปแล้วที่กลับมาให้คำปรึกษา เพื่อนๆทุกคนที่ให้ความร่วมมือ และช่วยเหลือในการทำโครงการ พิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ปุณณดา อานมณี
สุพัตรา อยู่สำราญ

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูป.....	ช
บทที่1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 สาหร่าย.....	4
2.2 สาหร่ายสีเขียว.....	4
2.2.1 <i>Caulerpa lentillifera</i>	5
2.3 สาหร่ายสีแดง.....	6
2.3.1 <i>Gracilaria fisheri</i>	6
2.3.2 <i>Solieria robusta</i>	8
2.4 พรูโบโอดิก.....	9
2.5 พอลิแซคคาไรด์ของสาหร่ายทะเลที่มีคุณสมบัติเป็นพรูโบโอดิก.....	9
2.6 จุลินทรีย์โปรโอดิก.....	12
2.6.1 <i>Lactobacillus plantarum</i>	13
2.6.2 <i>Lactobacillus casei</i>	14
2.7 จุลินทรีย์ก่อโรค.....	15
2.7.1 <i>Escherichia coli</i>	15
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	16

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทที่3 วิธีการดำเนินงาน.....	20
3.1 สารเคมี.....	20
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ.....	20
3.3 สายพันธุ์สาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง.....	21
3.4 วิธีดำเนินงาน.....	21
3.4.1 สาหร่าย.....	21
3.4.2 การสกัดโอลิโกแซคคาไรด์.....	21
3.4.3 การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซิ่งด้วยวิธี somogyi-nelson.....	22
3.4.4 การทดสอบความเป็นโพรบิโอติกด้วยวิธี Drop plate.....	22
3.4.4.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์โพรบิโอติก.....	22
3.4.4.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค.....	23
3.4.4.3 การทดสอบการเจริญของเชื้อโพรบิโอติก.....	23
3.4.4.4 การทดสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค.....	23
3.4.5 วิธีการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ.....	24
บทที่4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	25
4.1 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์.....	25
4.2 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซิ่ง.....	26
4.3 ผลการศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดโพรบิโอติก.....	26
4.3.1 ผลการเจริญของเชื้อโพรบิโอติก.....	26
4.3.2 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค.....	34
บทที่5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	42
เอกสารอ้างอิง.....	43
ภาคผนวก ก.....	51
ภาคผนวก ข.....	53
ภาคผนวก ค.....	88
ภาคผนวก ง.....	89
ภาคผนวก จ.....	99

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
ตารางที่ 2.1 จุลินทรีย์โพรไบโอติก.....	12
ตารางที่ 2.2 จุลินทรีย์ก่อโรคที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคต่างๆ.....	15
ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย <i>Caulerpa lentillifera</i> , <i>Gracilaria fisheri</i> และ <i>Solieria robusta</i>	25
ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงค์ของสารสกัดพรีไบโอติก ที่วัดด้วยวิธี Somogyi-nelson.....	26
ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 โดยเปรียบเทียบ ในช่วงโม่งที่ 36 ด้วยวิธีทางสถิติ $P < 0.05$	39
ตารางที่ 4.4 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 โดยเปรียบเทียบ ในช่วงโม่งที่ 36 ด้วยวิธีทางสถิติ $P < 0.05$	40
ตารางที่ 4.5 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค <i>Escherichia coli</i> ATCC 1261 โดยเปรียบเทียบ ในช่วงโม่งที่ 36 ด้วยวิธีทางสถิติ $P < 0.05$	40
ตารางที่ ข-1 ตารางการวัดมาตรฐานน้ำตาลแลคโตส ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร	56
ตารางที่ ข-2 ค่าดูดกลืนแสงของสาหร่าย <i>Caulerpa lentillifera</i>	57
ตารางที่ ข-3 ค่าน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>Caulerpa lentillifera</i>	57
ตารางที่ ข-4 ค่าดูดกลืนแสงของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i>	58
ตารางที่ ข-5 ค่าน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i>	58
ตารางที่ ข-6 ค่าดูดกลืนแสงของสาหร่าย <i>Solieria robusta</i>	58
ตารางที่ ข-7 ค่าน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย <i>Solieria robusta</i>	59
ตารางที่ ข-8 ตารางแสดงผลเมื่อวิเคราะห์ค่า retention time	61
ตารางที่ ข-9 ตารางแสดงผลเมื่อวิเคราะห์ค่า retention time ของสาหร่าย <i>Caulerpa</i> <i>Lentillifera</i>	61
ตารางที่ ข-10 ตารางแสดงผลเมื่อวิเคราะห์ค่า retention time ของ สาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i>	62

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง	หน้า
ตารางที่ ข-11 ตารางแสดงผลเมื่อวิเคราะห์ค่า retention time ของ สาหร่าย <i>Solieria robusta</i>	63
ตารางที่ ง-1 จำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 ต่อสารสกัดทั้ง 3 ชนิดและน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน	89
ตารางที่ ง-2 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ ด้วยวิธีทางสถิติของจำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 ต่อสารสกัด ทั้ง 3 ชนิดและน้ำตาล กลูโคสมาตรฐานที่มีอิทธิพลร่วมกัน $P < 0.05$	90
ตารางที่ ง-3 จำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 ต่อสารสกัด ทั้ง 3 ชนิด และน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน	92
ตารางที่ ง-4 จำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 ต่อสารสกัด ทั้ง 3 ชนิด และน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่มีอิทธิพลร่วมกัน $P < 0.05$	93
ตารางที่ ง-5 จำนวนโคโลนีของเชื้อ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 ต่อสารสกัดทั้ง 3 ชนิดและ น้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน	95
ตารางที่ ง-6 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ ด้วยวิธีทางสถิติของจำนวนโคโลนีของเชื้อ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 ต่อสารสกัดทั้ง 3 ชนิด และน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่มีอิทธิพลร่วมกัน $P < 0.05$	96
ตารางที่ ง-7 การเจริญของเชื้อ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465, <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 และ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 ที่ความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติก 0.5, 1, 2, 3, และ 4 จากสาหร่าย <i>Caulerpa lentillifera</i> , <i>Gracilaria fisheri</i> และ <i>Solieria robusta</i> ที่ชั่วโมงที่ 36 ของการทดลอง	98

สารบัญรูป

รูป	หน้า
รูปที่ 2.1 <i>Caulerpa lentillifera</i>	5
รูปที่ 2.2 <i>Gracilaria fisheri</i> (แห้ง)	7
รูปที่ 2.3 <i>Solieria robusta</i>	8
รูปที่ 2.4 <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465.....	13
รูปที่ 2.5 <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463.....	14
รูปที่ 2.6 <i>Escherichia coli</i> ATCC1261.....	16
รูปที่ 4.1(ก) น้ำตาลกลูโคส และสารสกัดพรีไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ต่อการเจริญของเชื้อ <i>L. plantarum</i> TISTR1465.....	27
รูปที่ 4.1(ข) น้ำตาลกลูโคส และสารสกัดพรีไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ 1 ต่อการเจริญของเชื้อ <i>L. plantarum</i> TISTR1465.....	28
รูปที่ 4.1(ค) น้ำตาลกลูโคส และสารสกัดพรีไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ 2 ต่อการเจริญของเชื้อ <i>L. plantarum</i> TISTR1465.....	28
รูปที่ 4.1(ง) น้ำตาลกลูโคส และสารสกัดพรีไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ 3 ต่อการเจริญของเชื้อ <i>L. plantarum</i> TISTR1465.....	28
รูปที่ 4.1(จ) น้ำตาลกลูโคส และสารสกัดพรีไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ 4 ต่อการเจริญของเชื้อ <i>L. plantarum</i> TISTR1465.....	29
รูปที่ 4.2(ก) น้ำตาลกลูโคส และสารสกัดพรีไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ต่อการเจริญของเชื้อ <i>L. casei</i> TISTR1463.....	31
รูปที่ 4.2(ข) น้ำตาลกลูโคส และสารสกัดพรีไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ 1 ต่อการเจริญของเชื้อ <i>L. casei</i> TISTR1463.....	32
รูปที่ 4.2(ค) น้ำตาลกลูโคส และสารสกัดพรีไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ 2 ต่อการเจริญของเชื้อ <i>L. casei</i> TISTR1463.....	32
รูปที่ 4.2(ง) น้ำตาลกลูโคส และสารสกัดพรีไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ 3 ต่อการเจริญของเชื้อ <i>L. casei</i> TISTR1463.....	32
รูปที่ 4.2(จ) น้ำตาลกลูโคส และสารสกัดพรีไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ 4 ต่อการเจริญของเชื้อ <i>L. casei</i> TISTR1463.....	33

สารบัญรูป (ต่อ)

รูป	หน้า
รูปที่ 4.3(ก) น้ำตาลกลูโคส และสารสกัดพรีไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ต่อการเจริญของเชื้อ <i>E. coli</i> ATCC1261.....	35
รูปที่ 4.3(ข) น้ำตาลกลูโคส และสารสกัดพรีไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ 1 ต่อการเจริญของเชื้อ <i>E. coli</i> ATCC1261.....	36
รูปที่ 4.3(ค) น้ำตาลกลูโคส และสารสกัดพรีไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ 2 ต่อการเจริญของเชื้อ <i>E. coli</i> ATCC1261.....	36
รูปที่ 4.3(ง) น้ำตาลกลูโคส และสารสกัดพรีไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ 3 ต่อการเจริญของเชื้อ <i>E. coli</i> ATCC1261.....	36
รูปที่ 4.3(จ) น้ำตาลกลูโคส และสารสกัดพรีไบโอติกความเข้มข้นร้อยละ 4 ต่อการเจริญของเชื้อ <i>E. coli</i> ATCC1261.....	37
รูปที่ ข-1 สำหรับ <i>Solieria robusta</i>	53
รูปที่ ข-2 สำหรับ <i>Caulerpa lentillifera</i>	53
รูปที่ ข-3 สำหรับ <i>Gracilaria fisheri</i>	54
รูปที่ ข-4 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465.....	54
รูปที่ ข-5 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463	55
รูปที่ ข-6 เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค <i>Escherichia coli</i> ATCC1261	55
รูปที่ ข-7 กราฟมาตรฐานน้ำตาลน้ำตาลแลคโตส	56
รูปที่ ข-8 กราฟแสดงค่าดูดกลืนแสงน้ำตาลรีดิวซ์ระหว่างสารสกัดทั้ง 3 ชนิดคือ <i>Caulerpa lentillifera</i> , <i>Gracilaria fisheri</i> และ <i>Solieria robusta</i>	60
รูปที่ ข-9 กราฟแสดงผลน้ำตาลมาตรฐานที่ใช้หาค่า retention time	60
รูปที่ ข-10 กราฟแสดงผลสำหรับ <i>Caulerpa lentillifera</i> ที่ใช้หาค่า retention time	61
รูปที่ ข-11 กราฟแสดงผลสำหรับ <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ใช้หาค่า retention time	62
รูปที่ ข-12 กราฟแสดงผลสำหรับ <i>Solieria robusta</i> ที่ใช้หาค่า retention time	62
รูปที่ ข-13 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 0	63
รูปที่ ข-14 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 สารสกัด <i>Caulerpa lentillifera</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 0.....	64

สารบัญญรูป (ต่อ)

รูป	หน้า
รูปที่ ข-15 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 สารสกัด <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 0	64
รูปที่ ข-16 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 สารสกัด <i>Solieria robusta</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 0	65
รูปที่ ข-17 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 12	65
รูปที่ ข-18 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 สารสกัด <i>Caulerpa</i> <i>lentillifera</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 12	66
รูปที่ ข-19 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 สารสกัด <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 12	66
รูปที่ ข-20 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 สารสกัด <i>Solieria robusta</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 12	67
รูปที่ ข-21 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 24	67
รูปที่ ข-22 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 สารสกัด <i>Caulerpa</i> <i>lentillifera</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 24	68
รูปที่ ข-23 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 สารสกัด <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 24	68
รูปที่ ข-24 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 สารสกัด <i>Solieria robusta</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 24	69
รูปที่ ข-25 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 36	69
รูปที่ ข-26 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 สารสกัด <i>Caulerpa</i> <i>lentillifera</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 36	70
รูปที่ ข-27 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 สารสกัด <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 36	70

สารบัญรูป (ต่อ)

รูป	หน้า
รูปที่ ข-28 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 สารสกัด <i>Solieria robusta</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 36	71
รูปที่ ข-29 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 0	71
รูปที่ ข-30 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 สารสกัด <i>Caulerpa lentillifera</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 0	72
รูปที่ ข-31 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 สารสกัด <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 0	72
รูปที่ ข-32 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 สารสกัด <i>Solieria robusta</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 0	73
รูปที่ ข-33 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 12	73
รูปที่ ข-34 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 สารสกัด <i>Caulerpa lentillifera</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 12	74
รูปที่ ข-35 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 สารสกัด <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 12	74
รูปที่ ข-36 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 สารสกัด <i>Solieria robusta</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 12	75
รูปที่ ข-37 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 24	75
รูปที่ ข-38 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 สารสกัด <i>Caulerpa lentillifera</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 24.....	76
รูปที่ ข-39 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 สารสกัด <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 24	76
รูปที่ ข-40 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 สารสกัด <i>Solieria robusta</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 24	77

สารบัญรูป (ต่อ)

รูป	หน้า
รูปที่ ข-41 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 36	77
รูปที่ ข-42 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 สารสกัด <i>Caulerpa</i> <i>lentillifera</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 36	78
รูปที่ ข-43 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 สารสกัด <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 36	78
รูปที่ ข-44 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 สารสกัด <i>Solieria robusta</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 36	79
รูปที่ ข-45 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 0	79
รูปที่ ข-46 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 สารสกัด <i>Caulerpa</i> <i>lentillifera</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 0	80
รูปที่ ข-47 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 สารสกัด <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 0	80
รูปที่ ข-48 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 สารสกัด <i>Solieria robusta</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 0	81
รูปที่ ข-49 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 12	81
รูปที่ ข-50 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 สารสกัด <i>Caulerpa</i> <i>lentillifera</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 12	82
รูปที่ ข-51 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 สารสกัด <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 12	82
รูปที่ ข-52 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 สารสกัด <i>Solieria robusta</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 12	83
รูปที่ ข-53 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 24	83

สารบัญรูป (ต่อ)

รูป	หน้า
รูปที่ ข-54 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 สารสกัด <i>Caulerpa lentillifera</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 24	84
รูปที่ ข-55 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 สารสกัด <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 24	84
รูปที่ ข-56 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 สารสกัด <i>Solieria robusta</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 24	85
รูปที่ ข-57 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 36	85
รูปที่ ข-58 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 สารสกัด <i>Caulerpa lentillifera</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 36	86
รูปที่ ข-59 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 สารสกัด <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 36	86
รูปที่ ข-60 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 สารสกัด <i>Solieria robusta</i> ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 36	87
รูปที่ ค-1 ตัวอย่างเพลทที่ใช้วิธีการดรอปปเพลทเชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 และ <i>Lactobacillus casei</i> TISTR1463 บนอาหารแข็ง MRS	88
รูปที่ ค-2 ตัวอย่างเพลทที่ใช้วิธีการดรอปปเพลทเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค <i>Escherichia coli</i> ATCC1261 บนอาหารแข็ง EMB	88

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

โรคภัยเป็นสิ่งที่ไม่มีใครอยากให้เกิดขึ้น แต่เนื่องจากหลายสาเหตุทำให้มีการทำสถิติเกี่ยวกับโรคที่ทำให้คนเจ็บป่วย โดยเฉพาะโรคมะเร็งเป็นโรคที่มีสถิติการเจ็บป่วยมากขึ้นทุกปี และมีอัตราการเสียชีวิตมากขึ้นในทุกปี โดยสถิติล่าสุดในปี 2557 มีอัตราการเสียชีวิต 107.88 คนต่อประชากร 100,000 คน ซึ่งสูงกว่าโรคอื่นๆ (สำนักสถิติแห่งชาติ, มปป.) สาเหตุของโรคมะเร็งมีส่วนหนึ่งเกิด การรับประทานอาหารที่มีไขมันสูงหรือเส้นใยอาหารต่ำ การขาดสารอาหารบางชนิดอาจเป็นปัจจัยให้เกิดมะเร็งในลำไส้ใหญ่ได้สูงกว่าผู้ป่วยที่ได้รับสารอาหารครบถ้วน (พยาบาลหน่วยรังสีรักษา และมะเร็งวิทยา, 2561)

โพรไบโอติก (Probiotics) คือเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นแบคทีเรียที่ดี โดยเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้เป็นสายพันธุ์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เมื่อรับประทานเข้าไปจะอาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ ช่วยปรับสมดุลจุลินทรีย์ภายในลำไส้ ทำให้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น ส่งผลดีต่อสุขภาพของลำไส้เช่น เพิ่มภูมิคุ้มกัน และลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค เชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ดีคือกลุ่มที่ทำให้ท้องอืด ท้องเสีย สร้างสารก่อมะเร็ง สร้างสารที่มีกลิ่นเหม็นและอื่นๆ (วิมล, 2553) โดยโพรไบโอติกที่พบว่ามีประโยชน์ คือ *Lactobacillus* อาศัยอยู่ในลำไส้เล็ก และ *Bifidobacterium* อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ (อุทัย, 2549)

พรีไบโอติก (Prebiotics) เป็นสารอาหารที่จะไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหาร เนื่องจากพรีไบโอติกเป็นคาร์โบไฮเดรต ที่มีองค์ประกอบเป็นเส้นใยที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ (Prodian, 2017) ช่วยในการกระตุ้นการเจริญ และเพิ่มกิจกรรมของกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก โดยสารที่เป็นพรีไบโอติกส่วนมากเป็นสารอาหารคาร์โบไฮเดรตที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ เช่น โอลิโกแซคคาไรด์ และฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งโดยปกติแล้วพรีไบติก และโพรไบโอติกจะทำงานร่วมกัน นอกจากนี้พรีไบโอติก และโพรไบโอติกยังมีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น ช่วยบรรเทาอาการท้องผูก ป้องกันการเกิดอาการท้องเสีย ช่วยเผาผลาญไขมัน ช่วยเพิ่มการดูดซึมของแคลเซียม ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด และป้องกันมะเร็งลำไส้ เป็นต้น (ภัทรา, 2557)

สาหร่ายทะเลเป็นกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำทะเล แบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ๆได้ 4 กลุ่มได้ตามลักษณะของโครงสร้าง และตามสีของสารสังเคราะห์แสง (อัญชูลี, 2559) และมีการจัดให้อยู่ในอาณาจักรโพรทิสตา ซึ่งอาณาจักรที่ใช้แบ่งสิ่งมีชีวิตที่ไม่มีลักษณะของพืชหรือสัตว์อย่างชัดเจนออกจากอาณาจักรพืชและอาณาจักรสัตว์ (สุปัญญา, 2556) โดยการสืบพันธุ์ของสาหร่ายทะเลมีทั้ง 2 แบบคือแบบไม่อาศัยเพศ และแบบอาศัยเพศ (ทิพวรรณ, 2559) ทำให้มีการเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วส่งผลดีต่อการนำมาใช้ประโยชน์เพราะสามารถหาได้ง่ายในธรรมชาติ สาหร่าย *Gracilaria fisheri* มีสารสีซึ่งประกอบไปด้วย คลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์ดี ไฟโคอิริทริน กลุ่มแคโรทีนอยด์ เช่น เบต้าแคโรทีน (คณิต และดุสิต, 2535) สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* มีสารอาหาร และเกลือแร่อยู่มาก เช่น ฟอสฟอรัส แคลเซียม สังกะสี วิตามิน เช่น ซี อี ไบโอฟลวิน ไทอามีน เป็นต้น (สุพล และคณะ, มปป.) สาหร่าย *Soliera*

robusta เป็นสาหร่ายที่มีการผลิตคาร์ราจีแนน มีโปรตีน ไขมัน แคลเซียม และเหล็ก (สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง, 2550)

ดังนั้นโครงการงานพิเศษนี้จึงได้นำสาหร่ายทะเลที่อุดมไปด้วยสารอาหารมาเป็นสารพรีไบโอติก โดยศึกษาปริมาณน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ของสารสกัดพรีไบโอติกที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเล 3 สายพันธุ์คือ สาหร่าย *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta* เพื่อศึกษาการส่งเสริมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายเช่น เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 และ *Lactobacillus casei* TISTR1463 เพื่อแก้ปัญหาาระบบลำไส้ใหญ่เรื่องการขับถ่ายให้มีประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้นเพื่อลดการสะสมสารพิษช่วยขับของเสียออกจากร่างกาย และศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 ในระบบลำไส้ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไปในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1) เพื่อศึกษาปริมาณน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ของสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่ายทะเล 3 สายพันธุ์ คือ *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta*

1.2.2) เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกจากอาหารที่ผสมสารสกัดพรีไบโอติกที่จากสาหร่ายทะเล 3 สายพันธุ์ คือ *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta*

1.2.3) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 จากอาหารที่ผสมสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่ายทะเล 3 สายพันธุ์ คือ *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta*

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

สาหร่ายทะเล 3 สายพันธุ์ คือสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ซื้อจากผู้เพาะเลี้ยงจังหวัดเพชรบุรี สาหร่าย *Gracilaria fisheri* ซื้อจากบริษัท sunny seaweed และสาหร่าย *Solieria robusta* ซื้อจากผู้เพาะเลี้ยงจังหวัดเพชรบุรี นำสาหร่ายทะเลมาอบให้แห้ง และบดให้ละเอียด จากนั้นสกัดด้วยน้ำกลั่นอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที สกัดซ้ำ 3 ครั้ง นำส่วนใสทั้ง 3 ซ้ำที่ได้มารวมกันแล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงค์ด้วยวิธี somogyi-nelson ในรูปแบบของโอลิโกพอลิแซคคาไรด์ จากนั้นนำมาทดสอบความเป็นพรีไบโอติก เติมลงในอาหารสูตร MRS (De Man Rogosa and Sharpe) สำหรับเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 และ *Lactobacillus casei* TISTR1463 เติมลงในอาหารสูตร TSB (Trypticase Soy Broth) สำหรับเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1) ทราบถึงปริมาณน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ในสารสกัดพรีไบโอติกของสารสกัดจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta*

1.4.2) ทราบถึงความสามารถเป็นพรีไบโอติกของสารสกัดจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta*

1.4.3) ทราบถึงประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 จากอาหารที่ผสมสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta*

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สาหร่าย

สาหร่ายเป็นกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในน้ำ ทั้งน้ำจืด น้ำกร่อย และน้ำเค็ม เป็นพืชชั้นต่ำที่มีคลอโรฟิลล์ สามารถสังเคราะห์แสงได้ แต่ไม่มีส่วนที่เป็นราก ลำต้น และใบแท้จริง โดยบางชนิดมีลักษณะคล้ายพืชชั้นสูง อีกทั้งยังมีลักษณะคล้ายสัตว์จึงจัดอยู่ในอาณาจักรโพรทิสตา เนื่องจากเป็นอาณาจักรที่ใช้แบ่งสิ่งมีชีวิตที่ไม่มีลักษณะของพืชหรือสัตว์อย่างชัดเจนออกจากอาณาจักรพืชและอาณาจักรสัตว์ (สุปัญญา, 2556) สาหร่ายจำแนกได้หลายประเภท เช่น ไชยาโนแบคทีเรีย สาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีแดง และสาหร่ายสีน้ำตาล อีกทั้งยังมีขนาดตั้งแต่เล็กมาก ประกอบด้วยเซลล์เพียงเซลล์เดียว ไปจนถึงขนาดใหญ่ประกอบด้วยเซลล์จำนวนมากที่มีความยาวได้จนถึง 60 เมตร (200 ฟุต) สาหร่ายสามารถผลิตออกซิเจน เซลล์ของสาหร่ายเป็นแหล่งอาหารสำหรับสัตว์น้ำเกือบทุกชนิด และสาหร่ายยังมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น แหล่งน้ำมันดิบ ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรม และอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์อาหารสำหรับมนุษย์ (Ralp and Robert, 2009)

2.2 สาหร่ายสีเขียว

สาหร่ายสีเขียวมีลักษณะคล้ายพืชชั้นสูง มีสีเขียว เนื่องจากมีรงควัตถุพวกคลอโรฟิลล์เอ บี และแซนโทฟิลล์ สำหรับใช้ในการสังเคราะห์แสง ซึ่งเป็นสารที่สามารถพบได้ในพืชชั้นสูง และมีอาหารสะสมจำพวกแป้งอยู่ในคลอโรพลาสต์ รูปร่างของเซลล์มีหลายแบบ เช่น กลม รี กระจวย อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ โคลโคนี บางชนิดเป็นเส้นสาย (ลัดดา และคณะ, 2544) บางชนิดมีโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และวิตามินสูง จึงสามารถนำมาใช้เป็นอาหาร (บุหลัน, 2517) สาหร่ายสีเขียวมีผนังเซลล์ที่ประกอบด้วยเซลลูโลส บางชนิดมีซิลิกา แคลเซียมคาร์บอเนต และโคตินแทรกตัวอยู่ มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศ โดยการคอนจูเกชัน (Conjugation) หรือการปฏิสนธิ (Fertilization) และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแตกหัก (Fragmentation) หรือการสร้างสปอร์ อีกทั้งรูปร่าง และขนาดของสาหร่ายสีเขียวจะแตกต่างกันตามชนิด บางชนิดที่ขึ้นในน้ำทะเล และมีสารพวกหินปูนมาเกาะทำให้มีลักษณะเป็นแผ่นแข็งสีขาว บางชนิดมีลักษณะเป็นเส้นเกาะลอยเป็นแพตามบ่อหรือตามชายฝั่งที่มีน้ำใส (ส่วนวิจัยเกษตรกรรม ฝ่ายวิชาการ, 2557)

2.2.1 *Caulerpa lentillifera*

สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* หรือสาหร่ายพวงองุ่น มีลักษณะใบ (ราวมูลัส) เป็นเม็ด ทรงกลม ใส มีแขนงตั้งตรงลักษณะคล้ายพวงองุ่นเลื้อยไปตามพื้นผิว และแตกแขนงเพื่อเพิ่มจำนวนได้ ส่วนปลายของแขนงย่อยเป็นทรงกลมซึ่งแตกปกคลุมหนาแน่นเกือบตลอดความยาวแขนง มีรอยคอดชัดเจนระหว่างปลายแขนงย่อยที่เป็นทรงกลมกับส่วนก้านสั้น การที่มีลักษณะเป็นพวงเม็ดกลมเป็นช่อคล้ายกับองุ่นหรือไขปลาคาเวียร์สีเขียวจึงมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า "Sea grapes" หรือ "Green caviar" ส่วนชาวญี่ปุ่นจะเรียกสาหร่ายชนิดนี้ว่า "Umi-budo" ซึ่งแปลว่า องุ่นแห่งท้องทะเล (Dawes and Clinton, 1998) (รูปที่ 2.1) สาหร่ายพวงองุ่นจัดอยู่ใน

Division	Chlorophyta
Class	Ulvophyceae
Order	Bryopsidales
Family	Caulerpaceae
Genus	<i>Caulerpa</i>
Species	<i>Caulerpa lentillifera</i>



รูปที่ 2.1 *Caulerpa lentillifera*

Caulerpa lentillifera เป็นสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ มีสีเขียวเนื่องจากมีรงควัตถุพวกคลอโรฟิลล์เอ บี ที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง มีแกนโอฟิลล์ 5 ชนิด คือ ลูทีน แอสต้าแซนทิน นิโอแซนทิน ซีโฟนิน และซีโฟโนแซนทิน อยู่ในคลอโรพลาสต์มีไพรีนอยด์ทำหน้าที่สะสมอาหารจำพวกแป้ง เป็นโครงสร้างที่มีโปรตีนเป็นแกนกลางและมีแผ่นแป้งหุ้ม พบสาหร่ายชนิดนี้เจริญอยู่บนโขดหิน ก้อนกรวด และพื้นทรายในเขตน้ำขึ้นน้ำลงไปจนถึงเขตน้ำลงต่ำสุดบริเวณชายฝั่งที่มีคลื่นไม่รุนแรง โดยอาจอยู่รวมตัว

กันเป็นกระจุกหรือปะปนกับสาหร่ายชนิดอื่นตามซอกหินหรือปะการัง ปัจจุบันสามารถพบสาหร่าย-พวงอุ้งน ได้ในเขตประเทศอินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ไทย เวียดนาม และญี่ปุ่น นอกจากนี้ยังแพร่กระจายไปในเขตร้อน เช่น เคนยา มาดากัสการ์ โมแซมบิก แทนซาเนีย และปาปัวนิวกินี สาหร่ายพวงอุ้งนเป็นสาหร่ายที่มีคุณค่าทางอาหารสูง คือ มีปริมาณของแร่ธาตุหลากหลายชนิด เช่น ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมกนีเซียม สังกะสี แมงกานีส เหล็ก ไอโอดีน และโดยเฉพาะแคลเซียม เนื่องจากผนังเซลล์ของสาหร่ายพวงอุ้งนเป็นเซลล์ลูโลสที่มีแคลเซียมและน้ำตาลเพนโทส อีกทั้งยังพบวิตามินบี ซี อี และกรดอะมิโนจำเป็นหลากหลายชนิด ที่ไม่พบในพืชบก โดยพบว่ามีกรดอะมิโนจำเป็นอยู่เกือบร้อยละ 40 ของกรดอะมิโนรวม ซึ่งใกล้เคียงกับในไข่และโปรตีนถั่วเหลือง ทั้งยังมีแคลอรีต่ำจึงจัดเป็นหนึ่งในสาหร่ายที่รับประทานได้ (Trono and Toma, 1993)

2.3 สาหร่ายสีแดง

สาหร่ายสีแดงเป็นสาหร่ายที่พบในทะเลมากกว่าในน้ำจืด อาศัยอยู่ในทะเลน้ำลึกมีสีแดงเข้มเนื่องจากมีรงควัตถุกลุ่มคลอโรฟิลล์เอ ดี ไฟโคไซยานิน และไฟโคอิริทริน ปริมาณมาก ซึ่งเป็นรงควัตถุหลักในการสังเคราะห์แสง (Woelkerling, 1990) ผนังเซลล์ชั้นในเป็นพวกสารเซลล์ลูโลสได้แก่ วุ้น พอร์ไฟแรน เพอร์เซลเลอแรน และคาร์ราจีแนน อาหารสะสมเป็นแป้งมีชื่อเฉพาะว่า ฟลอริเดียนสตาร์ช (Floridean starch) นอกจากนี้แป้งแล้วยังสะสมไว้ในรูปของน้ำตาลฟลอริโดไซด์ (Floridoside) ซึ่งทำหน้าที่เหมือนน้ำตาลซูโครสในสาหร่ายสีเขียวและพืชชั้นสูง (Ragan and Gutell, 1995)

2.3.1 *Gracilaria fisheri*

สาหร่าย *Gracilaria fisheri* เป็นสาหร่ายสีแดงซึ่งมีชื่อเรียกแล้วแต่ท้องถิ่นของประเทศไทย เช่น สาหร่ายผมนาง มีทลัสตั้งตรงเป็นรูปเรียวยาวทรงกระบอกกลมหรือแบน อวบน้ำ แตกแขนงบริเวณโคนสั้นๆคล้ายกิ่งก้านของพุ่มไม้ ปลายแขนงเรียวยาวแหลม มีรากขนาดเล็กไว้สำหรับยึดเกาะกับเปลือกหอยหรือก้อนกรวด (Banhmei and Abbott, 1987) (รูปที่ 2.2) สาหร่ายผมนางจัดอยู่ใน

Division	Rhodophyta
Class	Florideophyceae
Order	Gracilariales
Family	Gracilariaceae
Genus	<i>Gracilaria</i>
Species	<i>Gracilaria fisheri</i>



รูปที่ 2.2 *Gracilaria fisheri* (แห้ง)

Gracilaria fisheri มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมการผลิตวุ้น เนื่องจากผนังเซลล์ของสาหร่ายผสมนาง จะเป็นเซลล์ลูโลสที่มีวุ้นเป็นองค์ประกอบ โดยโมเลกุลของวุ้นเป็นพวงน้ำตาลกาแลคโตส สาหร่ายผสมนางแพร่กระจายอยู่ตามชายฝั่งของอ่าวไทยและฝั่งมหาสมุทรอินเดีย บริเวณน้ำตื้นหรือชายฝั่งที่ลมพัดไม่แรงมาก มีทลัสต์ตั้งตรงเป็นรูปเรียวยาวทรงกระบอกกลมหรือแบน อวบน้ำ แตกแขนงบริเวณโคนสั้นๆคล้ายกิ่งก้านของพุ่มไม้ ปลายแขนงเรียวยาวแหลม มีรากขนาดเล็กไว้สำหรับยึดเกาะกับเปลือกหอยหรือก้อนกรวด สามารถสังเคราะห์แสงได้เนื่องจากมีรงควัตถุที่สำคัญประกอบด้วยคลอโรฟิลล์ เอ ดี แคโรทีนอยด์ และไฟโคอิริทริน ที่ทำให้มีสีแดง (คณิตและดุสิต, 2535) มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศแบ่งเป็น 3 ระยะ ประกอบด้วย แกมมีโทไฟต์ (Gametophyte) สปอร์โรไฟต์ (Sporophyte) และคาร์โปสปอร์โรไฟต์ (Corposporophyte) โดยสลับกันไป และสามารถเจริญเติบโตได้ดีในแหล่งน้ำกร่อยที่มีความเค็ม 15-24 ส่วนในพันส่วน (ppt) (ไพโรจน์ และสุชาติ, 2532) อีกทั้งยังมีองค์ประกอบของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็นจำนวนมาก เช่น ไซโลส กลูโคส และกาแลคโตส แต่ส่วนใหญ่จะมีน้ำตาลกาแลคโตสเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่สำคัญโดยมีประมาณร้อยละ 83.05-87.31 (Imjongjairak *et al.*, 2015) สาหร่ายผสมนางมีคุณค่าทางอาหารสูง ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต เกลือแร่ โดยเฉพาะธาตุไอโอดีน และวิตามิน จึงนิยมนำมาบริโภคหรือนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เพื่อใช้ในการเลี้ยงสัตว์ ด้านเกษตรกรรม และด้านการแพทย์ เป็นสาหร่ายที่ใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม และสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง (ไพบุลย์, 2555)

2.3.2 *Solieria robusta*

สาหร่าย *Solieria robusta* หรือสาหร่ายโพรง เป็นสาหร่ายทะเลในกลุ่มสาหร่ายสีแดงเรียกว่า มีลักษณะลำต้นเป็นพุ่มอวบน้ำ นุ่ม แตกแขนงได้มากมาย ความกว้างของสาหร่ายโพรงประมาณ 1 เซนติเมตร และสามารถสูงได้ถึง 23 เซนติเมตร (Bacic *et al.*, 1996) (รูปที่ 2.3) สาหร่ายโพรงจัดอยู่ใน

Division	Rhodophyta
Class	Florideophyceae
Order	Gigartinales
Family	Solieriaceae
Genus	<i>Solieria</i>
Species	<i>Solieria robusta</i>



รูปที่ 2.3 *Solieria robusta*

Solieria robusta มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้างแกมมาโทไฟต์ และสปอร์โรไฟต์ มักพบในทะเลโดยอาศัยตามแหล่งพื้นทรายหรือหินปะการัง ที่ความลึกประมาณ 1-5 เมตร และมีน้ำทะเล ชื้นลงหรือไหลผ่านได้ดี เนื่องจากเจริญเติบโตในแหล่งน้ำเค็มจึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการ ประมง ใช้เป็นตัวดูดซับธาตุอาหารที่เกิดจากการขับถ่ายของเสีย สารอาหารในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ หรือใช้เป็นที่หลบซ่อนระหว่างการเพาะอนุบาลสัตว์วัยอ่อน และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจโดยนิยมนำมาสกัดคาร์- ราจีแนน ที่ประกอบไปด้วยพอลิแซคคาไรด์จำพวกกาแลคแตน (Bacic *et al.*, 1996) และคาราไบโอส (Carrabiose) ที่ต่อสลับกันระหว่าง 3-linked β -D-galactopyranosyl และ 4-linked 3,6-anhydro- α -D-galactopyranosyl (จักรินทร์ และจิราพร, 2554) นำมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร เครื่องดื่ม รวมทั้งเครื่องสำอางอีกด้วย สาหร่ายโพรงมีส่วนประกอบของน้ำตาลพอลิแซคคาไรด์หลายชนิด เช่น กา-

แลคแตน แอนไฮโดรกาแลคโตส โดยเฉพาะกาแลคโตส เป็นน้ำตาลที่พบมากถึงร้อยละ 90 ของน้ำตาลทั้งหมด อีกทั้งยังมีน้ำตาลชนิดอื่นอีก เช่น ซาโลส และกลูโคส (Kain *et al.*, 1999) สาหร่ายโพรงยังมีคุณค่าทางอาหารมากมาย โดยมีโปรตีนร้อยละ 3.85 ไขมันร้อยละ 0.26 แคลเซียม 34, 087 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเหล็ก 1,900 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง, 2550)

2.4 프리ไบโอติก

프리ไบโอติก เป็นสารอาหารที่จะไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหาร หรือดูดซึมในกระเพาะอาหาร และลำไส้เล็ก แต่จะเป็นอาหารของจุลินทรีย์ในลำไส้ ซึ่งช่วยในการกระตุ้นการเจริญและเพิ่มกิจกรรมของกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย โดย프리ไบโอติกส่วนมากเป็นสารอาหารคาร์โบไฮเดรตที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ เช่น โอลิโกแซคคาไรด์ และฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ และสามารถพบได้ในอาหารหลากหลายชนิด โดยเฉพาะในผัก เช่น หอมหัวใหญ่ กระเทียม หน่อไม้ฝรั่ง กัญชง และนมแพะ (ภัทรธา, 2557 : Moreno *et al.* 2017)

프리ไบโอติกมีประโยชน์ คือ ช่วยทำให้ร่างกายมีภูมิคุ้มกันที่ดีขึ้น ไม่เจ็บป่วยง่าย สามารถปรับสมดุลในระบบทางเดินอาหาร ดูดซับสารพิษในระบบทางเดินอาหารไม่ให้ซึมเข้าสู่ร่างกาย ป้องกันการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร ป้องกันการเกิดอาการท้องเสีย ช่วยกระตุ้นการเจริญจุลินทรีย์โพรไบโอติก เช่น *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus* ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ซึ่งช่วยในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคไม่ให้เกาะติดกับลำไส้ และ프리ไบโอติกยังลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างๆ เช่น เบาหวาน โรคระบบหัวใจและหลอดเลือด และป้องกันมะเร็งลำไส้ เพราะ프리ไบโอติกช่วยดักจับไขมันและน้ำตาลในทางเดินอาหาร และเพิ่มการขับคอเลสเตอรอลออกมาช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ซึ่ง프리ไบโอติกจะถูกหมักด้วยจุลินทรีย์ในลำไส้ เกิดเป็นกรดไขมันสายสั้น เช่น บิวทิเรท กระตุ้นการหลั่ง GLP-1 (Glucagons like peptide) ไปในกระแสเลือด ทำให้สมองรับรู้ความรู้สึกอิ่มและสบายท้อง ช่วยดูดซึมแร่ธาตุแคลเซียมและแมกนีเซียม ช่วยในเรื่องการควบคุมน้ำหนัก (ศูนย์ข้อมูลวิชาการ, 2556 : Charoensiddhi *et al.* 2017)

2.5 พอลิแซคคาไรด์ของสาหร่ายทะเลที่มีคุณสมบัติเป็น프리ไบโอติก

เส้นใยอาหาร

เส้นใยอาหาร (Dietary fiber) เป็นส่วนผนังเซลล์ที่ไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหาร แต่จะถูกย่อยด้วยจุลินทรีย์บางชนิดที่อาศัยอยู่ในลำไส้ โดยเส้นใยจะแบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่ เส้นใยอาหารที่ไม่ละลายในน้ำ (Insoluble dietary fiber) คือ เส้นใยที่ไม่ละลายน้ำ แต่จะพองตัวเหมือนฟองน้ำไม่ให้ความหนืด เช่น เซลลูโลส ลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส ซึ่งพบได้ในสาหร่ายและพืช อีกทั้งเส้นใยอาหารเหล่านี้แบบที่เรียกลำไส้ใหญ่ไม่สามารถย่อยได้ จึงช่วยเพิ่มปริมาณของกากอาหาร ลดปัญหาท้องผูก และลดความเสี่ยงของมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ และเส้นใยอาหารที่ละลายได้ในน้ำ (Soluble dietary fiber) คือ เส้น-

ใยที่ละลายน้ำได้และเป็นเส้นใยที่ดูดซับน้ำไว้กับตัว ทำให้มีความหนืดเพิ่มขึ้น ร่างกายย่อยไม่ได้ แต่แบคทีเรียที่อาศัยในลำไส้ใหญ่สามารถย่อยได้ เช่น วุ้น (Agar) กรดอัลจินิก (Alginate) ฟูโรแนน (Furonan) ลามินาแรน (Laminaran) และพอร์ไฟแลน (Porohyran) โดยปริมาณเส้นใยอาหารของสาหร่าย *Undaria* sp. สูงถึงร้อยละ 58 ของปริมาณน้ำหนักแห้ง (Masakazu and Jun-ichi, 2001) สาหร่าย *Fucus* sp. และ *Laminaria* sp. ประกอบด้วยเส้นใยที่ไม่ละลายน้ำมากที่สุด ปริมาณร้อยละ 40 และ 27 ตามลำดับ และ *Undaria pinnatifida* (สาหร่ายวากาเมะ) มีปริมาณเส้นใยที่ละลายได้ในน้ำสูงถึงร้อยละ 22 (Lahaye, 1991) เส้นใยอาหารของสาหร่ายทะเลมีสารอาหารที่มีคุณค่า และได้รับความสนใจเป็นอย่างมากสามารถใช้ประโยชน์ได้ และเป็นสารอาหารสำหรับการบริโภคของมนุษย์ เนื่องจากหมู่พอลิแซ็กคาไรด์ มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่อต้านมะเร็งต่อต้านการจับตัวเป็นก้อนของเลือด ช่วยป้องกันโรคอ้วน โรคกระเพาะลำไส้ใหญ่ โรคเบาหวาน และมีฤทธิ์ต้านไวรัส (Ghosh *et al.*, 2009 : Ye *et al.*, 2008)

อัลจินเนต

อัลจินเนต (Alginate) เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล (Brown algae) ในอุตสาหกรรมผลิตอัลจินเนตจากสาหร่ายสีน้ำตาล เช่น *Macrocystis pyrifera*, *Laminaria cloustoni* และ *Laminaria digitata* มีอัลจินเนตประมาณร้อยละ 15-40 ปริมาณที่พบจะขึ้นกับชนิดของสาหร่ายฤดูกาล และแหล่งที่สาหร่ายเจริญเติบโต โดยโครงสร้างของอัลจินเนตจะเป็นพอลิเมอร์ของอนุพันธ์น้ำตาลของ 1,4-bi-D-mannuronic acid (M) และ L-guluronic acid (G) อาจจะมีอยู่ในรูปที่มีสารประกอบของเกลือ Ca^{2+} , K^+ , Na^+ และ NH_4^+ ซึ่งอนุพันธ์เหล่านี้จะละลายได้ทั้งในน้ำร้อน และน้ำเย็น ความหนืดของสารละลายอัลจินเนตที่ได้ขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิ ความเข้มข้น น้ำหนักโมเลกุล และการมีโลหะประจุบวก อีกทั้งยังมีคุณสมบัติเป็นเจลหรือเป็นสารกึ่งเจล และไม่เปลี่ยนกลับไปเป็นของเหลวในน้ำเย็น (Irreversible gel) ซึ่งคุณสมบัติในการเกิดเจลที่อุณหภูมิห้องนี้ทำให้อัลจินเนต แตกต่างจากไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากสาหร่ายสีแดง จึงถูกนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น น้ำสลัด และเบียร์ เพราะมีความสามารถละลายได้สูงที่พีเอชต่ำ ใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัวให้กับไอศกรีม (Rasmussen and Morrissey, 2007)

คาร์ราจีแนน

คาร์ราจีแนน เป็นกัม (Gum) ชนิดหนึ่ง ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นไฮโดรคอลลอยด์ คือ ดูดน้ำและแขวนลอยในน้ำ ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร สามารถแบ่งประเภทคาร์ราจีแนนได้ 3 ประเภท ตามจำนวนของหมู่ซัลเฟต คือ แคปป้า-คาร์ราจีแนน (Kappa-carrageenan) มีจำนวนหมู่ซัลเฟตร้อยละ 28-35 จึงมีความไวต่อโพแทสเซียม ทำให้มีความสามารถในการเกิดเจลได้ดี ในส่วนของ ไอโอต้า-คาร์ราจีแนน (Iota-carrageenan) นั้นมีหมู่ซัลเฟตมากกว่าแคปป้า-คาร์ราจีแนน ถึงร้อยละ 50 จึงทำให้ความไวต่อโพแทสเซียมลดลง ซึ่งส่งผลทำให้เกิดเจลที่มีความอ่อนนุ่มกว่า และแลมด้า-คาร์ราจีแนน (Lambda-carrageenan) ไม่มีคุณสมบัติในการเกิดเจล เนื่องจากมีหมู่ซัลเฟตมากถึงร้อยละ 70 โดยคาร์ราจีแนนเป็นสารที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีแดง เช่น สาหร่าย *Solieria robusta* พบว่าเป็นคาร์ราจีแนนประเภท

แคปป์-คาร์ราจีแนน ซึ่งประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลกลาแล็กโทส เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ ประเภทเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ ที่มีความไวต่อโพแทสเซียม จึงทำให้มีความสามารถในการเกิดเจล จึงนิยมนำมาใช้ผลิตคาร์ราจีแนนในทางการค้า มีคุณสมบัติต่อต้านเนื้องอก และต้านไวรัส (Vlieghe *et al.*, 2002) และการใช้สารคาร์ราจีแนนจาก *Chondrus crispus* ช่วยป้องกันการแพร่เชื้อไวรัสเอชไอวี และไวรัส STD อื่น ๆ เช่น โรคหนองในหูดที่อวัยวะเพศ และไวรัสเริม (Luescher, 2003)

วุ้น

วุ้น เป็นไฮโดรคอลลอยด์ที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเลสีแดง เช่น *Gracilaria fisheri* วุ้นเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ แบบเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ มีปริมาณน้ำตาลกลาแลคโตสสูงถึงร้อยละ 31 ซึ่งคุณสมบัติของวุ้นจะไม่ละลายในน้ำเย็น เป็นสารที่ทำให้เกิดเจล หรือเรียกว่า สารก่อเจล (Gelling agent) ชนิดที่เปลี่ยนกลับเป็นของเหลวได้เมื่อได้รับความร้อน (Thermoreversible gel) จึงมีการนำวุ้นมาใช้ประโยชน์ในด้านจุลชีววิทยาในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียและรา นอกจากนี้ยังนำวุ้นมาใช้ทางการแพทย์ซึ่งวุ้นจะทำให้ความเข้มข้นของกลูโคสในเลือดลดลง และมีฤทธิ์ต้านการรวมตัวของเม็ดเลือดแดง (Masakazu and Jun-ichi, 2001)

ฟুকอยแดน

ฟুকอยแดน เป็นกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ ที่มีหน่วยย่อยเป็นฟูแคน (Fucan) ประกอบด้วย L-fucose กรดยูโรนิก กาแลคโตส โซโลส อะราบิโนส และแมนโนส ส่วนใหญ่พบในผนังเซลล์สาหร่ายทะเลสีน้ำตาล เช่น สาหร่าย *Saccharina latissima*, *Laminaria digitata*, *Chorda filum*, *Cladosiphon okamuranus*, *Fucus evanescense*, *Fucus distichus*, *Ascophyllum nodosum* และ *Fucus vesiculosus* ซึ่งสาหร่ายเหล่านี้สามารถสกัดฟুকอยแดนได้มากถึงร้อยละ 40 (Berteau and Mulloy, 2003) ฟुकอยแดนเป็นโมเลกุลที่ช่วยทำให้ผนังเซลล์มีความแข็งแรง และป้องกันผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ซึ่งฟুকอยแดนยังมีคุณสมบัติออกฤทธิ์ป้องกันการแข็งตัวของเลือด กระตุ้นโปรตีน เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ต่อด้านเซลล์มะเร็ง อีกทั้งยังทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวในร่างกายทำงานต้านเชื้อไวรัส แบคทีเรียได้ดี และสามารถกระตุ้นเซลล์ต้นกำเนิด (Stem cell) เพื่อเสริมสร้าง ซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่บกพร่องให้กลับมาทำงานปกติได้ (Chevolot *et al.*, 1999)

แมนนิทอล

แมนนิทอล (Mannitol) คือ น้ำตาลแอลกอฮอล์ (Sugar alcohol) ที่ได้จากกระบวนการไฮโดรจิเนชัน (Hydrogenation) ของน้ำตาลฟรุกโตส และเป็นสารให้ความหวานที่มีแคลอรีต่ำ มักพบได้ในสาหร่ายสีน้ำตาล โดยเฉพาะสาหร่าย *Laminaria sp.* และ *Ecklonia sp.* ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยในด้านการควบคุมปริมาณน้ำตาลในเลือดไม่ทำให้ระดับน้ำตาลในกระแสเลือดขึ้นสูง ทนต่อกรดและความร้อนได้ดีกว่าน้ำตาล อีกทั้งแบคทีเรียในปากไม่สามารถนำไปใช้ได้ จึงไม่ทำให้ฟันผุ จึงนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ใช้แทนน้ำตาลในอาหารสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก และอาหารสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ที่ต้องการรสหวานแต่ให้พลังงานต่ำ และยังช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ (Nabors, 2004)

ลามินาลิน

ลามินาลิน (Laminarin) คือ กลูแคน เป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทพอลิแซคคาไรด์ ประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคสพบได้ในสาหร่ายสีน้ำตาล เช่น *Laminaria*, *Saccharina*, *Fucus* และ *Undaria* ลามินาลินมีคุณสมบัติช่วยป้องกันการติดเชื้อจากเชื้อแบคทีเรีย ช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกัน ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด และช่วยลดความดันโลหิต (Hoffman *et al.*, 1995)

2.6 จุลินทรีย์โพรไบโอติก

จุลินทรีย์โพรไบโอติก หมายถึง จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ทนต่อสภาวะกรดในกระเพาะอาหาร และทนต่อเกลือแร่ในลำไส้ ได้แก่ แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก (Lactic acid bacteria, LAB) เช่น *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* แบคทีเรียกลุ่มนี้พบในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก เช่น นมเปรี้ยว แหนม กิมจิ และเป็นจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายอาหารในลำไส้ที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ เช่น เส้นใยอาหาร เพคติน กัม และโอลิโกแซคคาไรด์ โดยตัวอย่างของจุลินทรีย์โพรไบโอติก (ตามตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 จุลินทรีย์โพรไบโอติก

Lactobacillus	Bifidobacterium
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Bifidobacterium animalis</i>
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Bifidobacterium infantis</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Bifidobacterium thermophilum</i>
<i>Lactobacillus lactis</i>	

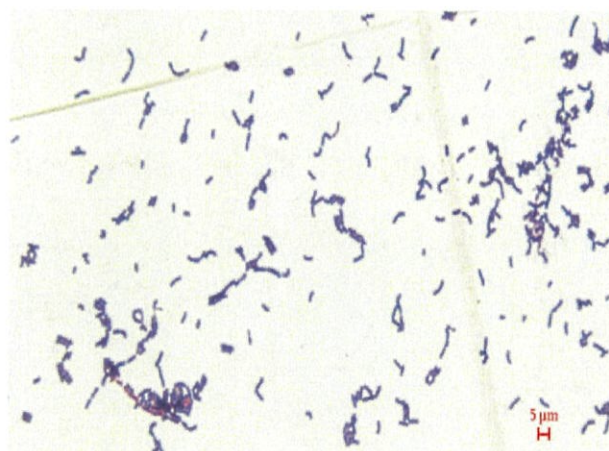
จุลินทรีย์โพรไบโอติกมีประโยชน์ คือ ช่วยในการย่อยอาหารที่มนุษย์ย่อยไม่ได้หรือย่อยได้ไม่หมด ซึ่งจะผลิตสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์เนื่องจากกรดแลคติก (Lactic acid) ที่จุลินทรีย์สร้างจะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค (Pathogen) และช่วยย่อยสลายคอเลสเตอรอล (Cholesterol) ยับยั้งการดูดซึมและลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด อีกทั้งจะกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ทำให้สามารถขับถ่ายได้สะดวกมากขึ้น ลดอาการท้องผูก เพิ่มการดูดซึมแคลเซียม และยังช่วยสร้างวิตามินที่เป็น

ประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 6 และวิตามินบี 12 (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2553ก)

2.6.1 *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus plantarum เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobe) รูปร่างเป็นท่อนเดี่ยวหรือต่อกันเป็นสายสั้น มีขนาดกว้าง 0.9-1.2 ไมโครเมตร และยาวประมาณ 3-8 ไมโครเมตร (รูปที่ 2.4) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลางประมาณ 15-45 องศาเซลเซียส จัดอยู่ในกลุ่ม lactic acid bacteria ที่สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแล็กโทสทำให้เกิดกรดแลคติก สามารถพบได้ในอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์นม เช่น นมเปรี้ยว และชีส เนื้อสัตว์หมัก ผัก และผลไม้ดอง มีประโยชน์และมีบทบาทสำคัญในอาหาร เช่น ช่วยถนอมอาหารด้วยการหมักและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคเพื่อยืดอายุของอาหารให้เก็บรักษาได้นาน (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2553ข) จุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* จัดอยู่ใน

Phylum	Firmicutes
Class	Bacilli
Order	<i>Lactobacillales</i>
Family	<i>Lactobacillaceae</i>
Genus	<i>Lactobacillus</i>
Species	<i>Lactobacillus plantarum</i>



รูปที่ 2.4 *Lactobacillus plantarum* TISTR1465

2.6.2 *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน มีรูปร่างเป็นท่อนสั้นอยู่เป็นคู่หรือต่อกันเป็นสายสั้น มีขนาดกว้าง 0.7-1.1 ไมโครเมตร และยาวประมาณ 2-4 ไมโครเมตร (รูปที่ 2.5) เจริญได้ที่อุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์นม เช่น ใช้ในการผลิตยาคูลท์ สามารถพบได้ในอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์นมและเชดด้าชีส และในลำไส้ของมนุษย์ (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2553ข) จุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* จัดอยู่ใน

Phylum	Firmicutes
Class	Bacilli
Order	<i>Lactobacillales</i>
Family	<i>Lactobacillaceae</i>
Genus	<i>Lactobacillus</i>
Species	<i>Lactobacillus casei</i>



รูปที่ 2.5 *Lactobacillus casei* TISTR1463

2.7 จุลินทรีย์ก่อโรค

จุลินทรีย์ก่อโรค หมายถึง จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคในมนุษย์และสัตว์ โดยจุลินทรีย์ก่อโรค มักเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ (Food poisoning) ที่เป็นอันตราย และอาจทำลายเซลล์ต่างๆ ในร่างกายหรือทำลายเนื้อเยื่อ เช่น เนื้อเยื่อประสาท ซึ่งจุลินทรีย์ก่อโรคที่เป็นสาเหตุสำคัญ (ตามตารางที่ 2.2)

ตารางที่ 2.2 จุลินทรีย์ก่อโรคที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคต่างๆ

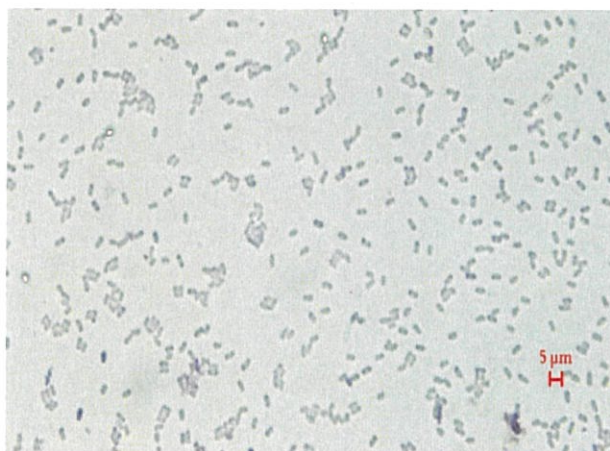
จุลินทรีย์ก่อโรค	โรค	ที่มา
<i>Bacillus cereus</i>	อาหารเป็นพิษ ท้องเสีย อาเจียน	พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2553ค
<i>Campylobacter jejuni</i>	โรคลำไส้อักเสบ มีไข้ ท้องเสีย	ธราดล, 2558
<i>Clostridium botulinum</i>	กล้ามเนื้ออ่อนแรง อาเจียน ปวดท้อง	สลิล, 2541
<i>Clostridium perfringens</i>	อาหารเป็นพิษ ท้องเสีย คลื่นไส้ ไม่อาเจียน	พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2553ง
<i>Escherichia coli</i>	ท้องร่วง คลื่นไส้ มีไข้	จันทร์เพ็ญ, 2554
<i>Enterobacter sakazakii</i>	เยื่อหุ้มสมองอักเสบ	ดวงทิพย์, 2548
<i>Listeria monocytogenes</i>	มีไข้ ปวดศีรษะ อ่อนแรง อาเจียน	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข, 2558
<i>Staphylococcus aureus</i>	อาหารเป็นพิษ คลื่นไส้ ปวดศีรษะ	พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2553จ
<i>Vibrio cholerae</i>	อหิวาตกโรค	กรองแก้ว, 2543
<i>Vibrio vulnificus</i>	อหิวาตกโรค	กรองแก้ว, 2543
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	อหิวาต์เทียม	พวงทอง, 2558
<i>Yersinia enterocolitica</i>	กระเพาะและลำไส้อักเสบ ท้องเสีย	พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2553ฉ

จุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนในอาหารและเข้าสู่ร่างกายเป็นจำนวนมากจะทำให้กระเพาะอาหาร และลำไส้อักเสบ อาหารเป็นพิษ มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียนศีรษะ ปวดท้อง ท้องร่วง และมีพิษต่อระบบประสาท ทำให้สมองเสื่อม

2.7.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นแท่ง ไม่สร้างสปอร์ มีขนาดกว้าง 1.1-1.5 ไมโครเมตร และยาวประมาณ 2-6 ไมโครเมตร (รูปที่ 2.6) เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน โดยปกติอาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่นในภาวะร่างกายปกติ *Escherichia coli* ไม่ทำให้เกิดโรคที่เป็นอันตราย แต่เมื่อร่างกายอยู่ในสภาวะอ่อนแอ จะก่อให้เกิดการทำลายเซลล์และติดเชื้อขึ้น เช่น อาหารเป็นพิษ ท้องร่วง คลื่นไส้ ติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ และเยื่อหุ้มสมองอักเสบในทารก (Maynard et al., 2004) จุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* จัดอยู่ใน

Phylum	Proteobacteria
Class	Gamma Proteobacteria
Order	Enterobacteriales
Family	Enterobacteriaceae
Genus	<i>Escherichia</i>
Species	<i>Escherichia coli</i>



รูปที่ 2.6 *Escherichia coli* ATCC1261

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Hori *et al.* (1990) ศึกษาคุณสมบัติทั่วไปของโปรตีนแลคตินจากสาหร่ายทะเล พบว่ามีสารแลคติน 12 ชนิดที่แยกได้จากสาหร่ายทะเล 4 ชนิดคือ สาหร่ายสีเขียว *Boodlea coacta* และ *Hypnea japonica* สาหร่ายสีแดง *Carpopeltis flabellata* และ *Solieria robusta* เมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีและชีวภาพ แลคตินจากสาหร่ายทะเลเป็นโปรตีนหรือไกลโคโปรตีน เช่นเดียวกับพืชบกมีขนาดเล็ก (4,200 ถึง 25,000 ดาลตัน) จากการทดสอบการยับยั้งการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงด้วยกลไกไกลโคโปรตีนต่างๆ และสารประกอบที่เกี่ยวข้องพบว่า *Boodlea coacta* มีการยับยั้งได้สูงตามมาด้วย *Hypnea japonica* และ *Solieria robusta* ตามลำดับ

Chiovitt *et al.* (1999) ศึกษาไฟรูเวตคาร์ราจีแนนจาก *Solieria robusta* และ *Tikvahiella candida* พบว่าผนังเซลล์ส่วนใหญ่ของสาหร่ายประกอบด้วยน้ำตาลกาแลคแทน (Galactans) ซึ่งสาหร่ายที่พบมากที่สุดใ้ออสเตรเลีย ได้แก่ *Solieria robusta* (Greville) Kylin ได้ทำการวิเคราะห์โดยการรวมกันของการตรวจวิเคราะห์แบบผสมผสานโดยวิเคราะห์โครงสร้างโดยการวัดการดูดกลืนรังสีที่อยู่ในช่วงอินฟราเรด (Fourier transform infrared :FTIR) และกระบวนการดูดกลืนที่เกี่ยวข้องกับการหมุนของนิวเคลียสในสนามแม่เหล็กภายนอก (nuclear magnetic resonance : NMR) พบว่า *Tikvahiella*

candida และ *Solieria robusta* มีหน่วยย่อยของคาร์ราจีแนนแบบ 3,6-anhydrogalactose (3,6-AG) และรูปแบบการเชื่อมโยงด้วยพันธะไกลโคไซด์ของน้ำตาลกาแลคแทนที่ใกล้เคียงกัน

Sultana *et al.* (2005) ศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่ายสีน้ำตาล สีเขียว และสีแดงในการควบคุมการเกิดโรครากเน่า (Root rot) ในต้นกล้ากระเจี๊ยบที่ติดเชื้อจากเชื้อรา *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* และ *Fusarium solani* พบว่าสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล *Stokeyia indica* *Padina pavonia* สาหร่ายสีแดง *Solieria robusta* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* และ *Fusarium solani* สาหร่ายสีเขียว *Codium iyengarii* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium solani* ได้ในปริมาณที่เหมาะสม ถ้ามีมากเกินไปจะทำให้เป็นพิษ

Praiboon *et al.* (2006) ศึกษาลักษณะทางกายภาพและเคมีที่ได้จากการสกัดวันพอลิแซคคาไรด์จากสาหร่าย *Gracilaria* ของไทยและญี่ปุ่น พบว่าการสกัดวันจากสาหร่าย *Gracilaria* สายพันธุ์ไทย 2 สายพันธุ์ (*Gracilaria fisheri* และ *Gracilaria edulis*) และสายพันธุ์ญี่ปุ่น 1 สายพันธุ์ (*Gracilaria* sp.) โดยการวิเคราะห์ทางกายภาพและทางเคมี และทำการวิเคราะห์โครงสร้างโดยการวัดการดูดกลืนรังสีที่อยู่ในช่วงอินฟราเรด (Fourier transform infrared :FTIR) และกระบวนการดูดกลืนที่เกี่ยวข้องกับการหมุนของนิวเคลียสในสนามแม่เหล็กภายนอก (nuclear magnetic resonance : NMR) พบว่าในสาหร่าย *Gracilaria fisheri* มีส่วนประกอบของน้ำตาลแลคโตสที่มีโครงสร้าง β -D-galactopyranosyl เมื่อสกัดวันจาก *Gracilaria edulis* ส่วนใหญ่พบเป็นน้ำตาลแลคโตสที่มีโครงสร้างแบบ α -L-galactopyranosyl ในทางตรงกันข้ามวันที่สกัดจากสาหร่ายสายพันธุ์ญี่ปุ่น *Gracilaria* sp. แสดงให้เห็นรูปแบบทั่วไปของอากาโรไบโอส (agarobiose) ที่ประกอบด้วยหน่วย D-galactopyranosyl

Khanzada *et al.* (2007) ศึกษากิจกรรมการยับยั้งเชื้อรา วิเคราะห์องค์ประกอบ และคำนวณโปรตีนทั้งหมดของสาหร่าย *Solieria robusta* (Greville) Kylin ที่ได้จากชายฝั่งคาราชิ สารสกัดจากสาหร่าย *Solieria robusta* (Greville) Kylin ที่ใช้เอทานอลเป็นตัวสกัด ได้ถูกนำมาทดสอบการออกฤทธิ์ต้านเชื้อราในผลไม้ 5 ชนิด คือ กล้วย ลูกพรุน แอปเปิ้ล พลัม และมะม่วง สารสกัดที่ใช้เอทานอลเป็นตัวสกัดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ และสารสกัดชนิดอื่นที่ใช้เป็นตัวสกัดมีอัตราส่วนการยับยั้งเชื้อราที่สูงที่สุด คือ เมทานอล เอทิลอะซิเตต คลอโรฟอร์ม และเอทานอล ตามลำดับและสามารถวิเคราะห์องค์ประกอบของธาตุอาหารได้ 11 ธาตุได้แก่ แคลเซียม แคดเมียม โครเมียม ทองแดง เหล็ก โพแทสเซียม แมกนีเซียม แมงกานีส นิกเกิล ตะกั่ว และสังกะสี ใน *Solieria robusta* มีธาตุอาหารโครเมียมต่ำสุดและธาตุอาหารแมกนีเซียมสูงที่สุด และมีโปรตีนอยู่ที่ร้อยละ 25 ถึง 32

Guptaa *et al.* (2010) ศึกษาการเจริญเติบโตและजनพลศาสตร์ของ *Lactobacillus plantarum* ที่นำมาหมักรวมกับสาหร่ายสีน้ำตาลสดที่สามารถบริโภคได้ในสภาวะไร้อากาศ พบว่าเมื่อใช้

สาหร่ายทะเลสีน้ำตาลจากประเทศไอร์แลนด์ 3 ชนิดที่กินได้ ได้แก่ *Himanthalia elongata*, *Laminaria digitata* และ *Laminaria saccharina* มาทำการทดลองในสภาวะปกติและการให้ความร้อนแก่สาหร่ายทะเลในการหมัก โดยสาหร่ายทะเลที่อยู่ในสภาวะปกติไม่มีการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus plantarum* ส่วนการให้ความร้อนส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นเกือบ 4 เท่าในการใช้สาหร่ายทะเลสีน้ำตาล *Laminaria digitata* และ *Laminaria saccharina* จึงทำให้แบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* มีการเจริญเติบโต และเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงหลังจากนั้นจำนวนเซลล์เริ่มลดลง ซึ่งสาหร่าย *Laminaria* spp. มีน้ำตาลลามินาแรน ที่เป็นพอลิแซคคาไรด์ซึ่งสามารถหมักได้โดย *Lactobacillus plantarum* ในกรณีของ *Himanthalia elongata* ที่ไม่ได้รับความร้อน มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเพิ่มขึ้น 4.6 เท่า ทำให้มีการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus plantarum* เพิ่มขึ้นภายในระยะเวลา 16-24 ชั่วโมง ในสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลมีการเจริญสูงสุดใน *Laminaria saccharina* และ *Laminaria digitata* ตามลำดับ การเจริญเติบโตของเซลล์ *Lactobacillus plantarum* มีจำนวนเพิ่มขึ้นในขณะที่การสะสมของกรดแลคติกลดลง แต่เมื่อให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 0 ถึง 100 รอบต่อนาที มีการสะสมกรดแลคติกสูงสุด 2.5 กรัมต่อลิตร ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของการหมักสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลร่วมกับ *Lactobacillus plantarum* ที่มีความเป็นไปได้ในการพัฒนาอาหารที่มีประโยชน์หลายประเภท

Konishi *et al.* (2012) ศึกษาการสกัดน้ำตาล β -1,3 ไซแลนจากสาหร่ายสีเขียว *Caulerpa lentillifera* พบว่าหลังจากการสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70 คลอโรฟอร์มต่อเมทานอล (1:1 ปริมาตรต่อปริมาตร) อะซีโตน และน้ำร้อน แล้วนำไปสกัดพอลิแซคคาไรด์ด้วยโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 24 แล้วนำมาทำการวิเคราะห์ ส่วนใหญ่ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลส และน้ำตาล β -1,3 ไซแลน สูงถึง 169 มิลลิกรัมต่อกรัม

Beheshtipour *et al.* (2013) ศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกสายพันธุ์ *Lactobacillus* spp. ในนมหมัก ด้วยสาหร่าย *Spirulina platensis* และ *Chlorella vulgaris* พบว่าเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก *Lactobacillus* spp. ที่มีชีวิตและสามารถเจริญเติบโตได้ในระหว่างการผลิตและการเก็บรักษานมหมักเป็นสิ่งสำคัญที่สุดในอุตสาหกรรมนม จึงมีการนำสาหร่าย *Spirulina platensis* และ *Chlorella vulgaris* เติมนลงในกระบวนการผลิตนมหมัก เนื่องจากสาหร่าย *Spirulina platensis* และ *Chlorella vulgaris* มีสารอาหารที่หลากหลาย เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต แคลเซียม ฟอสฟอรัส โซเดียม โพแทสเซียม วิตามินเอ บี ดี อี เค ซึ่งเป็นสรรพคุณที่มีประโยชน์ จึงช่วยเสริมสร้างศักยภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกให้มีการเจริญเติบโตได้ดีในผลิตภัณฑ์นมหมัก

Kaaria *et al.* (2015a) ศึกษากิจกรรมการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจากเชื้อที่อยู่ภายในและภายนอกตัวเซลล์สาหร่ายทะเลจากชายฝั่งประเทศเคนย่า โดยนำมาทำการทดสอบการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากสาหร่ายสีแดง สาหร่ายสีเขียว และสาหร่ายสีน้ำตาล รวมทั้งหมด 543 ไอโซเลท แล้วทำการทดสอบการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disk diffusion พบว่าสาหร่าย 120 ไอโซเลทที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยเกิดโซนยับยั้งมากเกิน 7 มิลลิเมตร และสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย คือ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Candida albicans* ได้

Kaaria *et al.* (2015b) ศึกษาเรื่องการประเมินผลของกิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อราของสาหร่ายทะเลจากชายฝั่งทางเหนือและทางใต้ของประเทศเคนย่า ประกอบไปด้วยสารสกัดจากสาหร่ายสีแดง สาหร่ายสีเขียว และสาหร่ายสีน้ำตาล จากนั้นนำไปทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922), *Escherichia coli* (ATCC 25923) และเชื้อรา *Candida albicans* (ATCC 90028) พบว่าสามารถสกัดสารจากสาหร่ายได้ 1609 ชนิด และมีคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 187 ไอโซเลท โดย 91 ไอโซเลทยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ได้ ตามด้วย *Candida albicans* 78 ไอโซเลท และ *Staphylococcus aureus* 49 ไอโซเลท ตามลำดับ

Srikong *et al.* (2015) ศึกษาเรื่องกิจกรรมการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสาหร่ายที่ได้จากจังหวัดปัตตานี ชายฝั่งทางใต้ของประเทศไทย สาหร่ายทะเลมีสารเมทาบอลไลต์ทุติยภูมิที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive secondary metabolite) โดยจะนำสาหร่ายทะเลสีเขียว (*Ulva intestinalis*) และสาหร่ายทะเลสีแดง (*Gracilaria fisheri*) ที่เก็บมาจากเขตชายฝั่งปัตตานีมาใช้ทำการทดลอง ซึ่งในการสกัดสาหร่ายทะเลจะใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ เมทานอล เอทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน สารสกัดหยาบที่ได้จากตัวอย่างสาหร่ายทั้งหมดจะนำมาทดสอบการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial activity) โดยใช้วิธี Disk diffusion คือ การนำสารสกัดหยาบจากสาหร่ายมาหยดบนแผ่นดิสก์ ถ้าเชื้อถูกยับยั้งได้ด้วยสารนั้น ก็จะเกิดเป็นวงใสล้อมรอบ และวิธี colorimetric broth microdilution คือ วิธีการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกโดยเปรียบเทียบความเข้มของสีอาหาร พบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้ง 13 สายพันธุ์ ได้แก่ *Vibrio alginolyticus* PSU VA 1, *Vibrio parahaemolyticus* PSU 5124, *Vibrio harveyi* PSU 4109, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Listeria monocytogenes* DMST 4553, *Bacillus cereus* TISTR 687, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* NPRC 001R (MRSA 001R) และ *Enterobacter faecalis* ATCC 29212 โดยค่าเฉลี่ยของโซนยับยั้ง 6.78 – 16.45 มิลลิเมตร สามารถยืนยันได้ว่าสารสกัดจากสาหร่ายมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

3.1 สารเคมี

1. โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เตรต (Sodium potassium tartrate)
2. โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO anhydrous)
3. โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3)
4. โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4)
5. คอปเปอร์ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
6. โซเดียมซัลเฟต (NaSO_4)
7. แอมโมเนียมโมลิบเดต ($(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)
8. โซเดียมอะซิเนต (Na_2NASO_4)
9. น้ำตาลแลคโตส; Univar: reagent
10. น้ำตาลกลูโคส; Univar: reagent

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Bright field microscope); Olympus : CH30
2. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer); Unico : 2800A
3. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยมสองตำแหน่ง; Adventure : AR2140
4. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยมสามตำแหน่ง; Sartorius : TE3135
5. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยมสี่ตำแหน่ง; Adventure : AR214
6. เครื่องระเหยสุญญากาศ; Heidolph : Basic Hel-VAP
7. ตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส; Memmert : IN110
8. โถไร้อากาศ (Anaerobic Jar); MERCK : Diagnostica
9. เครื่องปลอดเชื้อแบบไปโอฮาซาด (Laminar air flow); M-tech : C
10. เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Lyophilizer); Heto : Lyolab 3000
11. เครื่องแช่เยือกแข็ง (Freezer); Heto : CBN 28-30
12. ตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (Hot Air Oven); Contherm : thermotec 2000
13. ตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส (Hot Air Oven); Astell Hearson
14. เต้าอบไมโครเวฟ; Sumsung : m1913
15. autopipete Eppendorf; Labnet : autoclavable

16. หม้อนึ่งอัตโนมัติ (Autoclave); Hirayama : Hiclave
17. หม้อนึ่งอัตโนมัติ (Autoclave); Tomy : ES-315
18. ตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (Hot Air Oven); BINDER : ED/FD
19. เครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC); HITACHI
 Pump; รุ่น Chromaster 5110
 Column over; รุ่น Chromaster 5310
 Auto sample; รุ่น Chromaster 5210
 Detector; RI รุ่น Chromaster 5450
 FLรุ่น Chromaster 5440
 PDAรุ่น Chromaster 5430
20. อุปกรณ์ย้อมแกรม ตะเกียงแอลกอฮอล์ ห่วงเขี่ยเชื้อ
21. ถาดดูลูมิเนียม โกร่งบด ปีกเกอร์ เต้าแก๊ส
22. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เทอร์โมมิเตอร์ แท่งแก้วคนสาร ขวดสีชา จานเพลท ฟลาสก์ ขนาด 25 มิลลิลิตร

3.3 สายพันธุ์สาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง

1. สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* (สาหร่ายพวงองุ่น) จากผู้เพาะเลี้ยงจังหวัดเพชรบุรี
2. สาหร่าย *Gracilaria fisheri* (สาหร่ายผมนาง) จากบริษัท sunny seaweed
3. สาหร่าย *Solieria robusta* (สาหร่ายโพรง) จากผู้เพาะเลี้ยงจังหวัดเพชรบุรี

3.4 วิธีการดำเนินงาน

3.4.1 สาหร่าย

นำสาหร่ายสด 2 ชนิดคือ *Caulerpa lentillifera* และ *Solieria robusta* แช่น้ำประปาเพื่อล้างเอาเกลือที่ติดมากับตัวสาหร่ายออก ผึ่งลมให้แห้งจากนั้นไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 5 ชั่วโมง (อรกรณ์, 2550) เมื่อแห้งสนิทนำมาบดด้วยโกร่งจากนั้นเก็บไว้ในตู้เย็น ส่วนสาหร่าย *Gracilaria fisheri* มีการทำแห้งมาแล้วให้นำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อไล่ความชื้น จากนั้นนำมาบดด้วยโกร่งจากนั้นเก็บไว้ในตู้เย็น

3.4.2 การสกัดโอลิโกแซคคาไรด์ (ดัดแปลงมาจากเอกภพ, 2555)

นำสาหร่ายที่บดแล้วจากข้อ 3.4.1 ทำการสกัดในอัตราส่วนสาหร่ายต่อน้ำกลั่นคือ 1:4 โดยการใช้สาหร่ายที่บดแล้วจากข้อ 3.4.1 ปริมาณ 5 กรัมต่อน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ต่อการสกัด 1 ครั้งมาสกัดด้วยน้ำกลั่นอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสที่ได้จากการต้ม ใส่ปีกเกอร์เก็บไว้ จากนั้นเติมน้ำกลั่นในอัตราส่วนเท่าเดิมทำการสกัดทั้งหมด 3 รอบ จากนั้นนำส่วนใสจากการสกัดได้จาก

การต้มทั้ง 3 รอบ นำมาเทรวมกัน และนำไปประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 50-72 มิลลิบาร์ (mbar) เพื่อเอาน้ำที่ผสมอยู่กับสารสกัดออก จากนั้นวัดปริมาณสารสกัดฟรีไบโอติก เก็บส่วนที่สกัดได้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียสจนกว่าจะใช้งาน

3.4.3 การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซิงด้วยวิธี somogyi - nelson (Nelson, 1944)

นำน้ำตาลแลคโตสมาทำการเจือจางที่ค่า 0X, 200X, 400X, 600X, 800X และ 1000X ดูดค่าเจือจางละ 1 มิลลิลิตรเติมในหลอดทดลอง จากนั้นทำการเติม somogyi (ภาคผนวก ก-4) 1 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือด 10 นาที และทำให้เย็นในทันที จากนั้นเติม nelson (ภาคผนวก ก) 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาทำการหามาตรฐานน้ำตาลแลคโตส

นำสารสกัดฟรีไบโอติกที่ได้จากการสกัดของสาหร่ายทั้ง 3 ชนิดจากข้อ 3.4.2 คือ สาหร่าย *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta* มาวัดน้ำตาลรีดิวซิงด้วยวิธีเดียวกันโดยทำให้มีค่าเจือจางคือ 0X, 10X, 20X, 40X, 60X และ 80X ดูดค่าเจือจางละ 1 มิลลิลิตรเติมในหลอดทดลอง จากนั้นทำการเติม somogyi 1 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือด 10 นาที และทำให้เย็นในทันที จากนั้นเติม nelson 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร นำมาทำการกราฟโดยแทนเส้นในกราฟจากค่าดูดกลืนแสงของแต่ละสารสกัดฟรีไบโอติกทั้ง 3 ชนิด โดยนำค่าที่วัดได้มาแทนสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟน้ำตาลแลคโตส จะมีเส้นในกราฟทั้งหมด 3 เส้น

การวิเคราะห์ชนิดน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ จากสารสกัดของสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด คือ *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta* ตามวิธีข้อ 3.4.2 และวัดด้วยเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยนำสารสกัดฟรีไบโอติกที่ได้ไปกรองด้วย nylon syringe filter ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.22 ไมโครเมตร ใช้คอลัมน์คาร์โบไฮเดรต (Phenomenex, Rezex RNM carbohydrate Column 7.8x300 mm) และเฟสเคลื่อนที่จะใช้น้ำกลั่นที่เอาประจุออก ที่อัตราการไหล 0.4 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสและตรวจสารที่ออกจากคอลัมน์ด้วยเครื่อง Detector RI เป็นตัวตรวจวัดสัญญาณความแตกต่างของดรรชนีหักเหโดยสารมาตรฐานที่ใช้ คือ น้ำตาล กลูโคส ซูโครส โซโลส และฟรุคโตส

3.4.4 การทดสอบความเป็นฟรีไบโอติกด้วยวิธี Drop plate

3.4.4.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก

นำเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 และ *Lactobacillus casei* TISTR1463 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MRS (De Man Rogosa and Sharpe) (ภาคผนวก ก-1) ในสภาวะไร้อากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำให้เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกอยู่ใน

สภาวะกระตุ้นโดยการวัดค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.1 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เทียบค่า 0.5 McFarland ซึ่งมีปริมาณเชื้อ 1.5×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) (Mcfarland, 1907)

3.4.4.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

นำเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 มาเลี้ยงในอาหารเหลว TSB (Trypticase Soy Broth) (ภาคผนวก ก-2) บ่มในสภาวะมีอากาศ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคอยู่ในสภาวะกระตุ้นโดยการวัดค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.1 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เทียบค่า McFarland 0.5 ซึ่งมีปริมาณเชื้อ 1.5×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (Mcfarland, 1907)

3.4.4.3 การทดสอบการเจริญของเชื้อโพรไบโอติก

นำเชื้อ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 และ *Lactobacillus casei* TISTR1463 ที่อยู่ในสภาวะกระตุ้นแล้วเลี้ยงในอาหารเหลว MRS ที่ปราศจากน้ำตาลแต่มีการใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นตัวควบคุม และใช้สารสกัดโพรไบโอติกจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด เติมลงในแต่ละฟลasks อาหารโดยแปรผันความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1, 2, 3 และ 4 บ่มในสภาวะไร้อากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในโถไร้อากาศ โดยการนำอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 และ *Lactobacillus casei* TISTR1463 ที่มีการเติมสารสกัดโพรไบโอติก 3 ชนิด และน้ำตาลกลูโคสเป็นตัวควบคุม เก็บผลที่ชั่วโมงที่ 0, 12, 24 และ 36 ชั่วโมง ดูตามปริมาตร 1 มิลลิลิตร เจือจางในน้ำกลั่น ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เจือจางตั้งแต่ 10^{-1} - 10^{-7} จากนั้นดูค่าความเจือจางที่ 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} ใส่อาหารแข็ง โดยเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 และ *Lactobacillus casei* TISTR1463 จะดรออปเพลทปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่อาหารแข็ง MRS ที่เติมวุ้น จากนั้นบ่มในสภาวะไร้อากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในโถไร้อากาศเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการนับจำนวนโคโลนี โดยจำนวนโคโลนีจะอยู่ในช่วง 3-30 โคโลนี คำนวณโคโลนีต่อมิลลิลิตร

3.4.4.4 การทดสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

นำเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 ที่อยู่ในสภาวะกระตุ้นแล้วเลี้ยงในอาหารเหลว TSB ที่ปราศจากน้ำตาล แต่มีการใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นตัวควบคุม และใช้สารสกัดโพรไบโอติกจากสาหร่ายทั้ง 3 ชนิด เติมลงในแต่ละฟลasks อาหารโดยอัตราส่วนความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1, 2, 3 และ 4 บ่มในตู้บ่มเชื้อในสภาวะมีอากาศที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นเก็บผลที่ชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 36 ชั่วโมง โดยการนำอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ *Escherichia coli* ATCC1261 ที่มีการเติมสารสกัดโพรไบโอติกทั้ง 3 ชนิด และน้ำตาลมาตรฐานในแต่ละชั่วโมงที่เก็บผล ดูตามปริมาตร 10 มิลลิลิตร เจือจางในน้ำกลั่น ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เจือจางตั้งแต่ 10^{-1} - 10^{-7} จากนั้นดูค่าความเจือจางที่ 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} ใส่อาหารแข็ง เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 จะดรออปเพลทปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่อาหารแข็ง EMB (Eosin methylene blue agar) (ภาคผนวก ก-3) จากนั้นบ่มในสภาวะมีอากาศที่

อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมงจากนั้นทำการนับจำนวนโคโลนี โดยจำนวนโคโลนีจะอยู่ในช่วง 3-30 โคโลนี คำนวณโคโลนีต่อมิลลิลิตร

3.5 วิธีการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี Two-ways ANOVA และการทดลองแฟคทอเรียลที่มีแผนแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) วิเคราะห์ความแตกต่างด้วยวิธี Turkey's Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 0.05

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์

การวิเคราะห์น้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ โดยนำสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta* แห้งและบดละเอียดอัตราส่วนสาหร่ายปริมาณ 5 กรัมต่อน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ต่อการสกัด 1 ครั้ง มาสกัดด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสที่ได้จากการสกัดใส่ปีกเกอร์เก็บไว้ จากนั้นเติมน้ำกลั่นในอัตราส่วนเท่าเดิมทำการสกัดด้วยวิธีเดียวกันอีก 2 ครั้ง จากนั้นนำไปทำการระเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ พบว่าสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta* มีปริมาณมากที่สุด รองลงมา คือ สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta*

สาหร่าย	สาหร่ายสด (กรัม)	สาหร่ายแห้ง (กรัม)	น้ำหนักแห้งที่ใช้ สกัด (กรัม)	สารสกัดพรีไบโอติก (มิลลิลิตร)
<i>Caulerpa lentillifera</i>	1,130	52.6524	5.0057	12
<i>Gracilaria fisheri</i>	-	-	5.0036	14
<i>Solieria robusta</i>	1,200	14.0071	5.0018	14

ลักษณะสารสกัดที่ได้หลังทำการระเหย สารสกัดจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* จะมีสีน้ำตาลอ่อน ไม่มีการแยกชั้นของน้ำที่ใช้ในการสกัด สารสกัดจากสาหร่าย *Gracilaria fisheri* จะมีสีน้ำตาลเข้มกว่าสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* เล็กน้อย และมีความหนืด เนื่องจากสาหร่าย *Gracilaria fisheri* เป็นสาหร่ายที่มีการสร้างวุ้นทำให้มีความหนืดของวุ้นด้วย และสารสกัดจากสาหร่าย *Solieria robusta* มีสีน้ำตาลเข้มกว่า 2 ชนิดแรกไม่มีการแยกชั้นของน้ำที่ใช้ในการสกัด จากการทดลอง Wichienchot *et al.*, (2010) รายงานว่าการเปรียบเทียบการสกัดโอลิโกแซคคาไรด์จากแก้วมังกรด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง และที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส หรือการสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 20 หรือร้อยละ 80 ที่อุณหภูมิห้องพบว่าชนิดของตัวทำละลายที่ใช้มีผลอย่างมากต่อน้ำหนักโมเลกุลของผลผลิตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้ โดยการใช้น้ำทั้งที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นั้นจะทำให้ได้โอลิโกแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุล (787-911 ดาลตัน) ซึ่งสูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 20 และร้อยละ 80 (448-500 ดาลตัน) เช่นเดียวกับการทดลองของเอกภพ (2555) รายงานว่าการสกัดด้วยน้ำที่

อุณหภูมิห้อง และที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์สูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 80 อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

4.2 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซิ่ง

ผลการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซิ่งของสารสกัดฟรีโบโอดีคจากสาหร่าย 3 ชนิดคือสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta* พบว่าเมื่อคำนวณจากสมการเส้นตรงค่าน้ำตาลมาตรฐานเท่ากับ $y = 0.0014x + 0.0574$ (ภาคผนวก ข รูปที่ ข-7) สาหร่าย *Solieria robusta* มีน้ำตาลมากที่สุด คือ 0.684 ± 0.002 กรัมต่อลิตร รองมาเป็นสาหร่าย *Gracilaria fisheri* มีน้ำตาลปริมาตร 0.107 ± 0.009 กรัมต่อลิตร และสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ที่มีน้ำตาลน้อยที่สุดคือ 0.036 ± 0.000 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4.2) เนื่องจากในสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ เช่น สาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีน้ำตาล และสาหร่ายสีแดง ที่บริเวณผนังเซลล์มีพอลิแซคคาไรด์จำพวกอัลจินต คาร์ราจีแนน ฟูแคน และลามินา-ลิน เมื่อทำการย่อยพอลิแซคคาไรด์จะได้เป็นน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้น เช่น แมนนิทอล กาแลคโตส กลูคูโลนิก (Vera et al., 2011) (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซิ่งของสารสกัดฟรีโบโอดีคที่วัดด้วยวิธี Somogyi-nelson

สาหร่าย	ปริมาณน้ำตาล (กรัม/ลิตร)
<i>Caulerpa lentillifera</i>	0.036 ± 0.000
<i>Gracilaria fisheri</i>	0.107 ± 0.009
<i>Solieria robusta</i>	0.684 ± 0.002

เมื่อวิเคราะห์โดยการใช้เครื่องโทรมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง โดยสารมาตรฐานที่ใช้คือ น้ำตาล กลูโคส ซูโครส ไซโลส และฟรุกโตส สารสกัดทั้ง 3 ชนิดไม่สามารถวิเคราะห์ชนิดน้ำตาลได้เนื่องจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องโทรมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง ต้องมีความเข้มข้นของสารตั้งต้น 1 กรัมต่อลิตร เป็นอย่างน้อย แต่สารสกัดสาหร่ายทั้ง 3 ชนิดมีความเข้มข้นไม่ถึงปริมาตร 1 กรัมต่อลิตรที่กำหนดจึงทำให้ไม่สามารถวัดผลออกมาได้ (ภาคผนวก ข รูปที่ 10-12)

4.3 ผลการศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดฟรีโบโอดีค

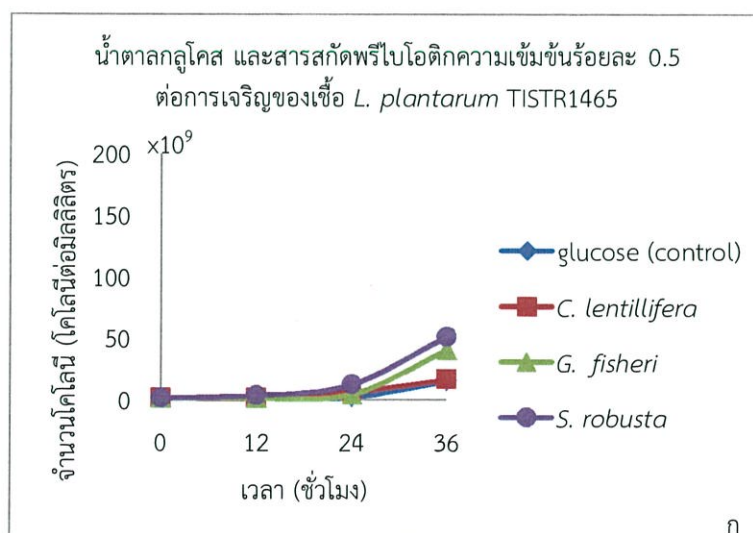
4.3.1 ผลการเจริญของเชื้อโพรไบโอดีค

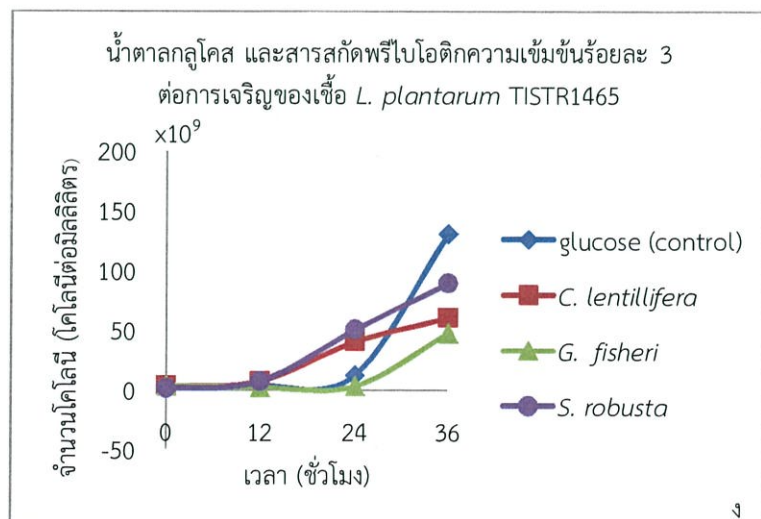
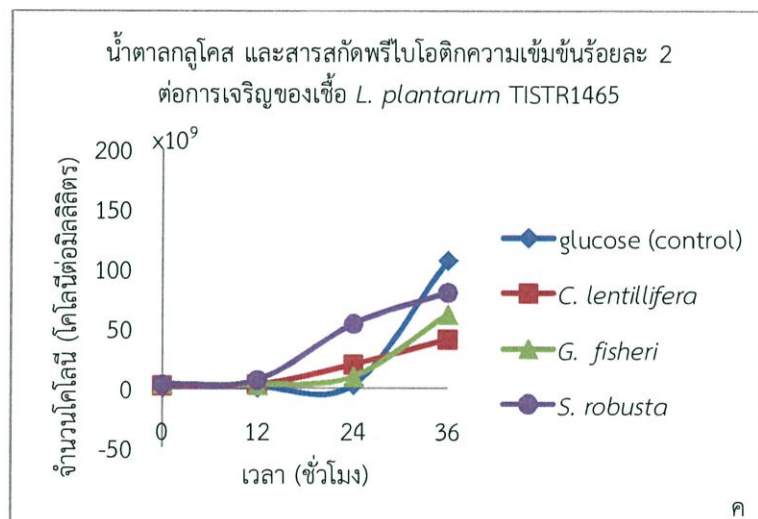
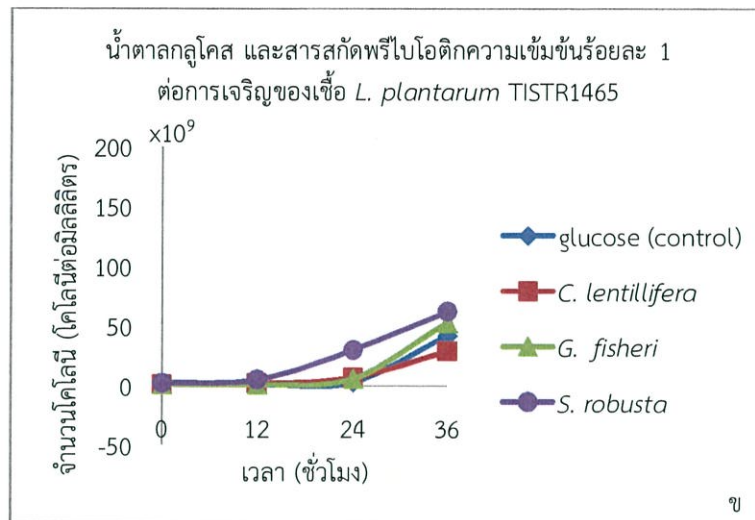
จากโครงการพิเศษในครั้งนี้นำการเตรียมเชื้อที่ 0.5 Mcfarland ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร มิงานวิจัยที่รายงานว่าเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอดีคเทียบค่า 0.5 Mcfarland ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร ที่ค่าดูดกลืนแสงช่วง 0.08-0.1 ให้จำนวนเชื้อเริ่มต้น 1.5×10^8 (Ashrafi, 2002) เชื้อการศึกษาการเจริญของเชื้อโพรไบโอดีค *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 และ *Lactobacillus casei* TISTR1463 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว MRS โดยเติมสารสกัดฟรีโบโอดีคความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1, 2, 3

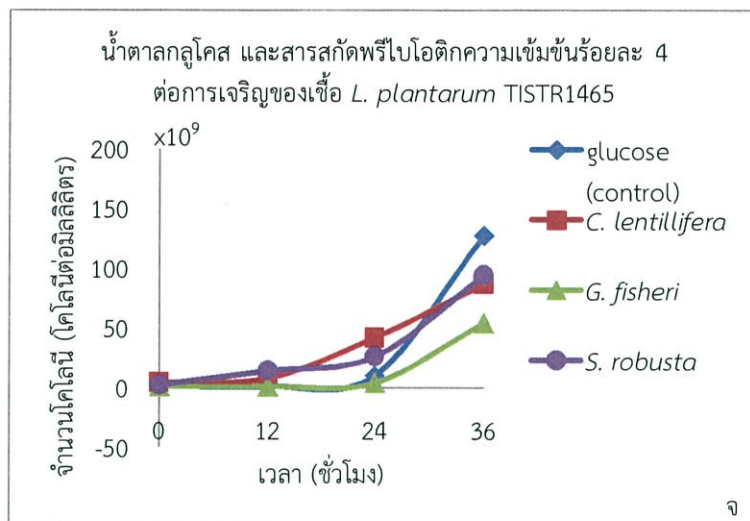
และ 4 ของสารสกัดพรีไบโอติกจาก *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta* เก็บตัวอย่างที่ชั่วโมงที่ 0, 12, 24 และ 36 โดยเป็นเวลา 36 ชั่วโมง

เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 เจริญได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 2, 3 และ 4 ซึ่งเจริญได้ดีมากกว่าสารสกัดพรีไบโอติกที่ได้จากสาหร่ายนับจำนวนโคโลนีได้ 107×10^9 , 127×10^9 และ 130×10^9 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.1) การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 ในอาหารที่เติมสารพรีไบโอติกจากสาหร่ายพบว่า ในชั่วโมงที่ 36 ของการทดลองเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 เจริญได้ดีที่สุดในสารสกัดพรีไบโอติกจาก *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 และ 3 นับจำนวนโคโลนีได้ $94 \times 10^9 \pm 4.00$ และ $89 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ รองลงมา คือ *Caulerpa lentillifera* ความเข้มข้นร้อยละ 4 และ *Solieria robusta* ความเข้มข้นร้อยละ 2 นับจำนวนโคโลนีได้ $87 \times 10^9 \pm 2.65$ และ $80 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เนื่องจากเชื้อ โพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สามารถรอดชีวิตได้ในกระบวนการหมักและเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นกรดแลคติก อีกทั้งยังทนต่อสภาวะความเป็นกรดสูง โดยจะใช้น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอน ได้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นกรดแลคติก (สิรสา, 2556)

ในขณะที่ความเข้มข้นร้อยละ 2, 1 และ 0.5 ของสารสกัดพรีไบโอติกจาก *Solieria robusta* เจริญได้ดีที่สุด รองลงมา คือ *Gracilaria fisheri* และ *Caulerpa lentillifera* เนื่องจากสาหร่าย *Gracilaria fisheri* มีผนังเซลล์เป็นเซลล์โลสที่เป็นองค์ประกอบวันเป็นจำนวนมาก ทำให้สารที่ได้มีความหนืดสูง และเป็นก้อนทำให้ในการนำสารสกัดมาเติมลงในอาหารแต่ละครั้งไม่มีความสม่ำเสมอ จึงทำให้เกิดข้อผิดพลาดในการทดสอบ







รูปที่ 4.1 รูปแสดงการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 ต่อความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกทั้ง 3 ชนิดจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta* (รูปที่ 4.1-ก) คือ ความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกร้อยละ 0.5 (รูปที่ 4.1-ข) คือ ความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกร้อยละ 1 (รูปที่ 4.1-ค) คือ ความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกร้อยละ 2 (รูปที่ 4.1-ง) คือ ความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกร้อยละ 3 และ (รูปที่ 4.1-จ) คือ ความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกร้อยละ 4

รูปที่ 4.1 (ก) เชื้อโพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 เจริญได้ดีที่สุดในสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 นับจำนวนได้ $51 \times 10^9 \pm 1.73$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 นับจำนวนได้ $40 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* และน้ำตาลกลูโคส ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 นับจำนวนได้ $16 \times 10^9 \pm 4.00$ และ $15 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

รูปที่ 4.1 (ข) เชื้อโพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 เจริญได้ดีที่สุดในสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 นับจำนวนได้ $62 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 นับจำนวนได้ $53 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร น้ำตาลกลูโคสและ *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 นับจำนวนได้ $42 \times 10^9 \pm 3.61$ และ $29 \times 10^9 \pm 3.61$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

รูปที่ 4.1 (ค) เชื้อโพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 เจริญได้ดีที่สุดในน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 นับจำนวนได้ 107 ± 7.00 โคโลนีต่อมิลลิลิตร สารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 นับจำนวนได้ $80 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร

สาหร่าย *Gracilaria fisheri* และสาหร่าย *Caulerpa lentillipera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 นับจำนวนได้ $62 \times 10^9 \pm 3.61$ และ $41 \times 10^9 \pm 3.61$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

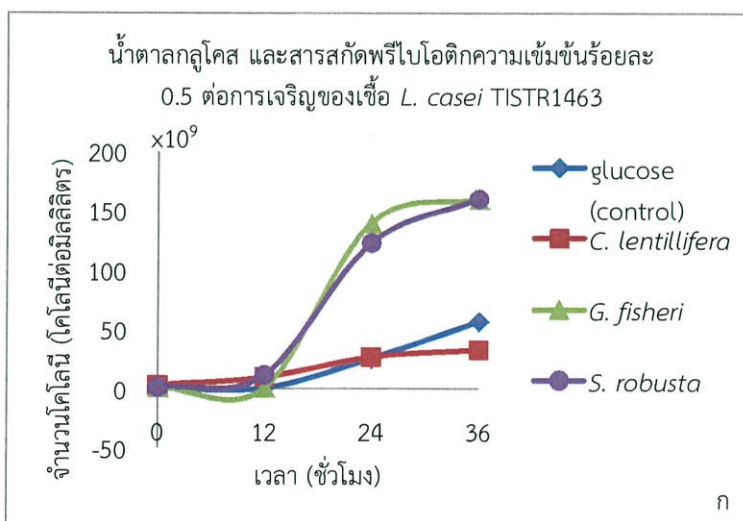
รูปที่ 4.1 (ง) เชื้อโพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 เจริญได้ดีที่สุดในน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 นับจำนวนได้ $130 \times 10^9 \pm 9.54$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สารสกัดโพรไบโอติกจากสาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 นับจำนวนได้ $89 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สาหร่าย *Caulerpa lentillipera* และสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 นับจำนวนได้ $60 \times 10^9 \pm 5.00$ และ $47 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

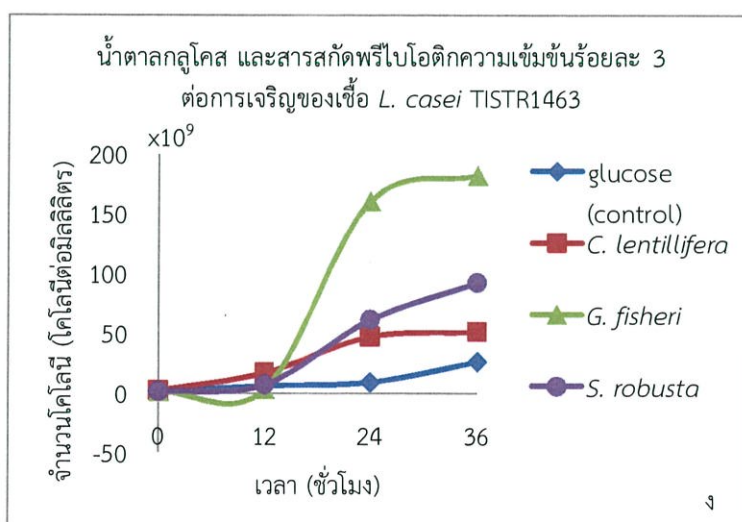
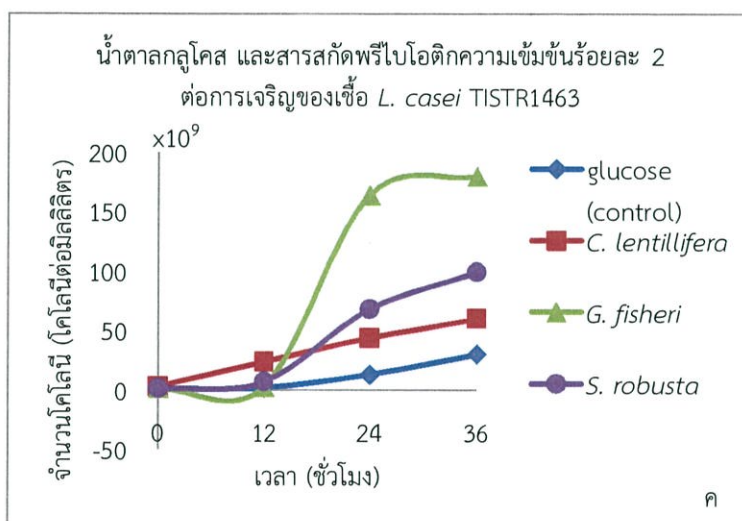
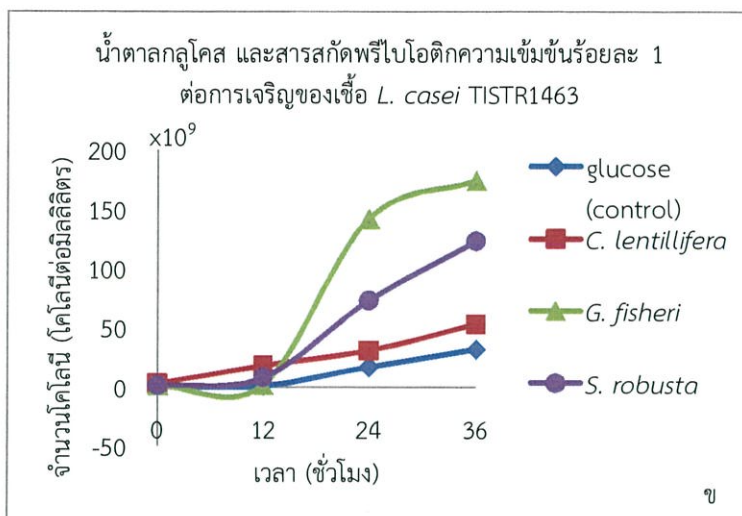
รูปที่ 4.1 (จ) เชื้อโพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 เจริญได้ดีที่สุดในน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 นับจำนวนได้ $127 \times 10^9 \pm 6.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สารสกัดโพรไบโอติกจากสาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 นับจำนวนได้ $94 \times 10^9 \pm 4.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สาหร่าย *Caulerpa lentillipera* และสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 นับจำนวนได้ $87 \times 10^9 \pm 2.65$ และ $54 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

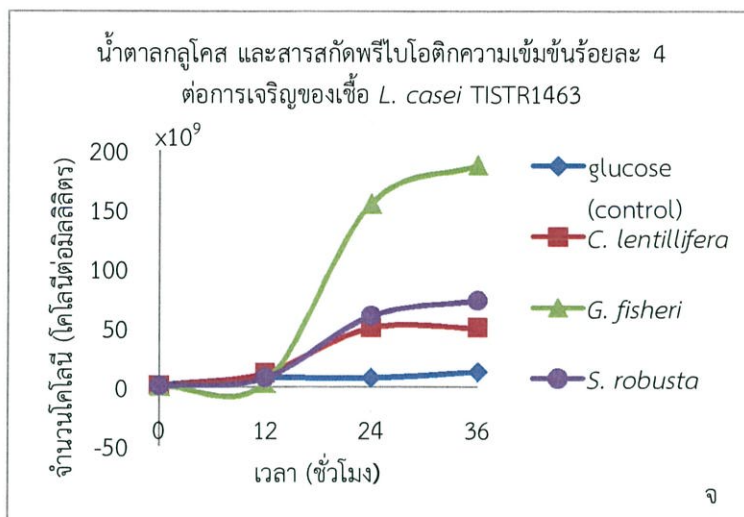
Guptaa et al. (2010) รายงานว่าการเจริญเติบโต และजनพลศาสตร์ของ *Lactobacillus plantarum* ที่นำมาหมักรวมกับสาหร่ายสีน้ำตาลสดที่สามารถบริโภคได้ ในสภาวะไร้อากาศโดยสาหร่ายทะเลที่อยู่ในสภาวะปกติไม่มีการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus plantarum* ส่วนการให้ความร้อนส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นเกือบ 4 เท่าในการใช้สาหร่ายทะเลสีน้ำตาล *Laminaria digitata* และ *Laminaria saccharina* จึงทำให้แบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* มีการเจริญเติบโต และเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงหลังจากนั้นจำนวนเซลล์เริ่มลดลง ซึ่งสาหร่าย *Laminaria* spp. มีน้ำตาลลามินาลินที่เป็นพอลิแซคคาไรด์ซึ่งสามารถหมักได้โดย *Lactobacillus plantarum* ในกรณีของ *Himanthalia elongata* ที่ไม่ได้รับความร้อน มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเพิ่มขึ้น 4.6 เท่า ทำให้มีการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus plantarum* เพิ่มขึ้นภายในระยะเวลา 16-24 ชั่วโมง ในสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลมีการเจริญสูงสุดใน *Laminaria saccharina* และ *Laminaria digitata* ตามลำดับ การเจริญเติบโตของเซลล์ *Lactobacillus plantarum* มีจำนวนเพิ่มขึ้นในขณะที่การสะสมของกรดแลคติกลดลง แต่เมื่อให้อัตราการกวนเพิ่มขึ้นจาก 0 ถึง 100 รอบต่อนาที มีการสะสมกรดแลคติกสูงสุด 2.5 กรัมต่อลิตร ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของการหมักสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลร่วมกับ *Lactobacillus plantarum*

เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus casei* TISTR1463 เจริญได้ดีที่สุดที่สารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1 คือ $187 \times 10^9 \pm 2.00$, $182 \times 10^9 \pm 2.00$, $180 \times 10^9 \pm 3.00$ และ $174 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.2) การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus casei* TISTR1463 ในอาหารที่เติมสารพรีไบโอติกจากสาหร่ายพบว่า ในชั่วโมงที่ 36 ของการทดลองเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus casei* TISTR1463 เจริญได้ดีที่สุดในสารสกัด พรีไบโอติกจาก *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1 รองลงมา คือ สาหร่าย *Gracilaria fisheri* และสาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 นับจำนวนโคโลนีได้ $160 \times 10^9 \pm 3.00$ และ $160 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เนื่องจากในสาหร่าย *Gracilaria fisheri* มีส่วนประกอบของน้ำตาลแลคโตสที่มีโครงสร้าง β -D-galactopyranosyl เมื่อสกัดจาก *Gracilaria edulis* ส่วนใหญ่พบเป็นน้ำตาลแลคโตสที่มีโครงสร้างแบบ α -L-galactopyranosyl ในทางตรงกันข้ามส่วนที่สกัดจากสาหร่ายสายพันธุ์ญี่ปุ่น *Gracilaria* sp. แสดงให้เห็นรูปแบบทั่วไปของอากาโรไบโอส (agarobiose) ที่ประกอบด้วยหน่วย D-galactopyranosyl (Praiboon *et al.*, 2006)

ในขณะที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1 และ 0.5 ของน้ำตาลกลูโคส และ *Solieria robusta* มีการเจริญของเชื้อลดลง เนื่องจากเมื่อมีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสมากขึ้นจะทำให้ปริมาณน้ำที่อยู่ในอาหารลดน้อยลง ซึ่งส่งผลให้เชื้อดูดซึมแร่ธาตุอาหารได้น้อยลง จึงทำให้การเจริญของเชื้อลดลง (นฤมล, 2561)







รูปที่ 4.2 รูปแสดงการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus casei* TISTR1463 ต่อความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกทั้ง 3 ชนิดจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta* (รูปที่ 4.2-ก) คือ ความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกร้อยละ 0.5 (รูปที่ 4.2-ข) คือ ความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกร้อยละ 1 (รูปที่ 4.2-ค) คือ ความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกร้อยละ 2 (รูปที่ 4.2-ง) คือ ความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกร้อยละ 3 และ (รูปที่ 4.2-จ) คือ ความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกร้อยละ 4

รูปที่ 4.2 (ก) เชื้อโพรไบโอติก *Lactobacillus casei* TISTR1463 เจริญได้ดีที่สุดในสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Gracilaria fisheri* และสาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 นับจำนวนได้ $160 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร น้ำตาลกลูโคส และสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 นับจำนวนได้ $57 \times 10^9 \pm 1.73$ และ $33 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

รูปที่ 4.2 (ข) เชื้อโพรไบโอติก *Lactobacillus casei* TISTR1463 เจริญได้ดีที่สุดในสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 นับจำนวนได้ $174 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 นับจำนวนได้ $123 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* และน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 นับจำนวนได้ $53 \times 10^9 \pm 2.65$ และ $32 \times 10^9 \pm 1.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

รูปที่ 4.2 (ค) เชื้อโพรไบโอติก *Lactobacillus casei* TISTR1463 เจริญได้ดีที่สุดในสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 นับจำนวนได้ $180 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 นับจำนวนได้ $99 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* และน้ำตาลกลูโคส ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 นับจำนวนได้ $60 \times 10^9 \pm 3.61$ และ $30 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

รูปที่ 4.2 (ง) เชื้อโพรไบโอติก *Lactobacillus casei* TISTR1463 เจริญได้ดีที่สุดในสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 นับจำนวนได้ $182 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 นับจำนวนได้ $92 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* และน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 นับจำนวนได้ $51 \times 10^9 \pm 1.00$ และ $26 \times 10^9 \pm 2.65$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

รูปที่ 4.2 (จ) เชื้อโพรไบโอติก *Lactobacillus casei* TISTR1463 เจริญได้ดีที่สุดในสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 นับจำนวนได้ $187 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สาหร่าย *Solieria robusta* ความเข้มข้นร้อยละ 4 นับจำนวนได้ $73 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* และน้ำตาลกลูโคส ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 นับจำนวนได้ $50 \times 10^9 \pm 2.00$ และ $13 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Beheshtipour et al. (2013) รายงานว่าการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกสายพันธุ์ *Lactobacillus* spp. ในนมหมัก ด้วยสาหร่าย *Spirulina platensis* และ *Chlorella vulgaris* เชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก *Lactobacillus* spp. ที่มีชีวิตและสามารถเจริญเติบโตได้ในระหว่างการผลิตและการเก็บรักษานมหมักเป็นสิ่งที่สำคัญที่สุดในอุตสาหกรรมนม จึงมีการนำสาหร่าย *Spirulina platensis* และ *Chlorella vulgaris* เติมลงในนมในกระบวนการผลิตนมหมัก เนื่องจากสาหร่าย *Spirulina platensis* และ *Chlorella vulgaris* มีสารอาหารที่หลากหลาย เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต แคลเซียม ฟอสฟอรัส โซเดียม โพแทสเซียม วิตามินเอ บี ดี อี เค ซึ่งเป็นสรรพคุณที่มีประโยชน์ จึงช่วยเสริมสร้างศักยภาพของแบคทีเรียโพรไบโอติกให้มีการเจริญเติบโตได้ดีในผลิตภัณฑ์นมหมัก

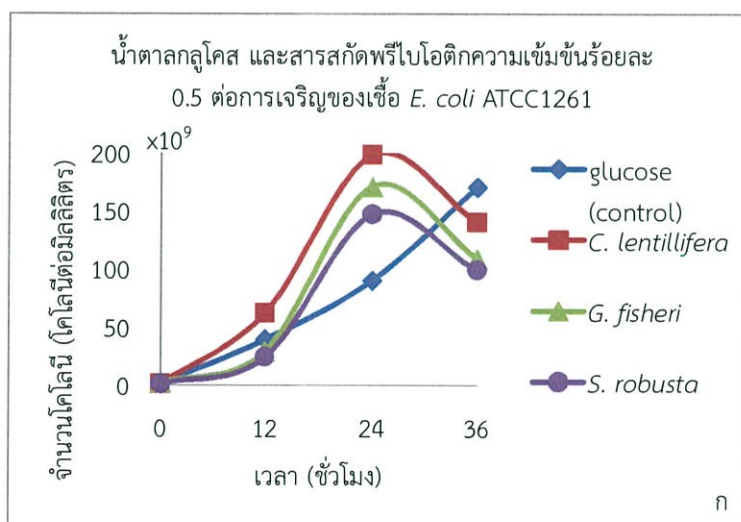
4.3.2 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

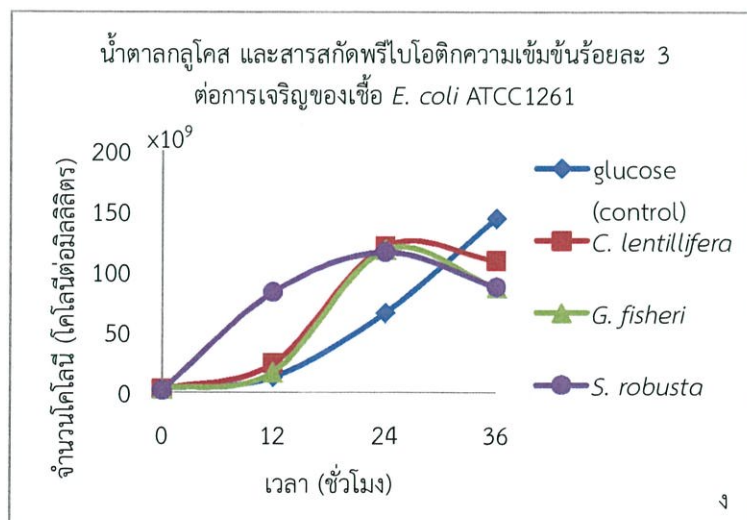
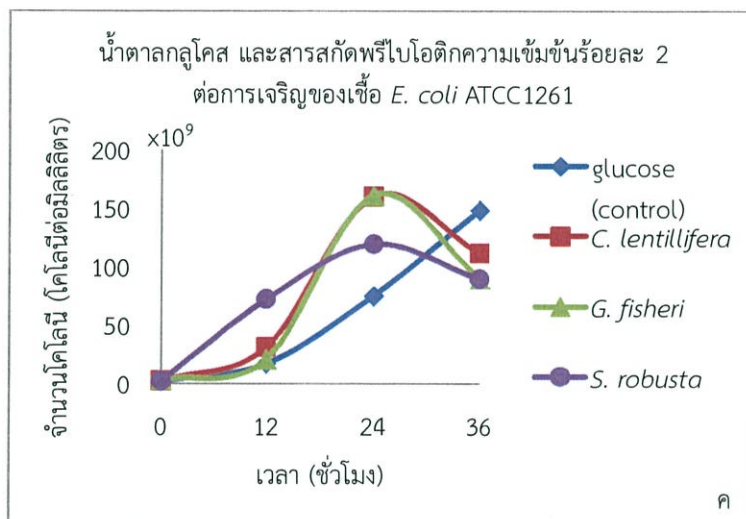
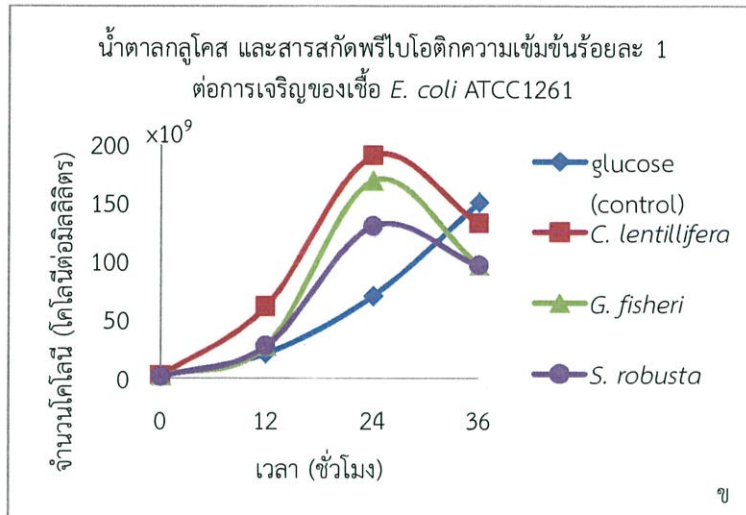
การศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 และในอาหารเหลว TSB ที่เติมสารสกัดพรีไบโอติกที่แบ่งเป็นความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1, 2, 3 และ 4 ของสารสกัดพรีไบโอติกจาก *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta* เก็บตัวอย่างที่ชั่วโมงที่ 0, 12, 24 และ 36 ชั่วโมง

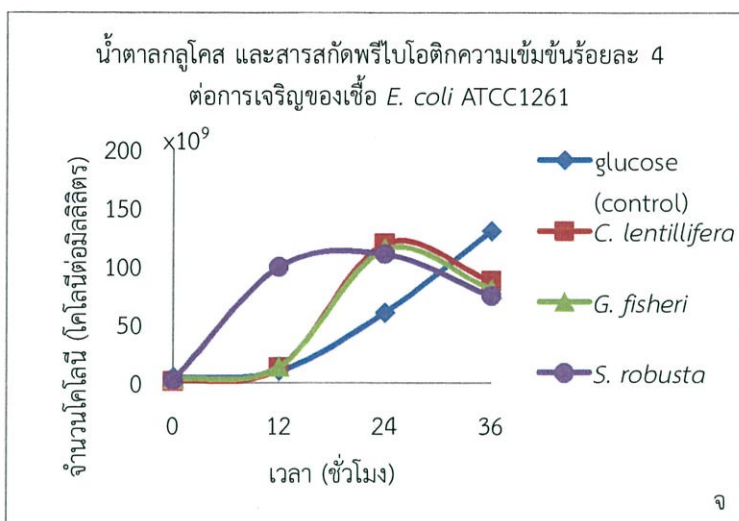
เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 ถูกยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่สารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Solieria robusta* และสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 มีจำนวนเชื้อ $74 \times 10^9 \pm 1.73$ และ $80 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 4.3) การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus casei* TISTR1463 ในอาหารที่เติมสารพรีไบโอติกจากสาหร่ายพบว่า ในชั่วโมงที่ 36 ของการทดลองเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 ถูกยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดในสารสกัดพรีไบโอติกจาก *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 รองลงมา คือสาหร่าย *Gracilaria fisheri* และสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 สาหร่าย

Gracilaria fisheri และสาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 นับจำนวนโคโลนีได้ $80 \times 10^9 \pm 3.00$, $87 \times 10^9 \pm 1.73$, $87 \times 10^9 \pm 1.73$ และ $87 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เนื่องจากสารสกัดจากสาหร่ายสีแดง สาหร่ายสีเขียว และสาหร่ายสีน้ำตาล จากนั้นนำไปทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922), *Escherichia coli* (ATCC 25923) และเชื้อรา *Candida albicans* (ATCC 90028) พบว่าสามารถสกัดสารจากสาหร่ายได้ 1609 ชนิด และมีคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 187 ไอโซเลท โดย 91 ไอโซเลท ยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ได้ ตามด้วย *Candida albicans* 78 ไอโซเลท และ *Staphylococcus aureus* 49 ไอโซเลท ตามลำดับ และเมื่อทำการทดสอบการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากสาหร่ายสีแดง สาหร่ายสีเขียว และสาหร่ายสีน้ำตาล รวมทั้งหมด 543 ไอโซเลท แล้วทำการทดสอบการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disk diffusion พบว่าสาหร่าย 120 ไอโซเลท ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยเกิดโซนยับยั้งมากเกิน 7 มิลลิเมตร และสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย คือ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Candida albicans* ได้ (Kaaria et al., 2015a)

ในขณะที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1 และ 0.5 ของน้ำตาลกลูโคสมีการเจริญของเชื้อลดลง เนื่องจากเมื่อมีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสมากขึ้นจะทำให้ปริมาณน้ำที่อยู่ในอาหารลดน้อยลงซึ่งส่งผลให้เชื้อดูดซึมแร่ธาตุอาหารได้น้อยลง จึงทำให้การเจริญของเชื้อลดลง (นฤมล, 2561)







รูปที่ 4.3 รูปแสดงการยับยั้งของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 ต่อความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกทั้ง 3 ชนิดจากสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta* (รูปที่ 4.3-ก) คือ ความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกร้อยละ 0.5 (รูปที่ 4.3-ข) คือ ความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกร้อยละ 1 (รูปที่ 4.3-ค) คือ ความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกร้อยละ 2 (รูปที่ 4.3-ง) คือ ความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกร้อยละ 3 และ (รูปที่ 4.3-จ) คือ ความเข้มข้นของสารสกัดพรีไบโอติกร้อยละ 4

รูปที่ 4.3 (ก) เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 เจริญได้ดีที่สุดในน้ำตาลกลูโคส ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 นับจำนวนได้ $170 \times 10^9 \pm 3.61$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ถูกยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดในสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 นับจำนวนได้ $99 \times 10^9 \pm 2.65$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ สาหร่าย *Gracilaria fisheri* และสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่ 36 ชั่วโมง นับจำนวนได้ $109 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร และ $140 \times 10^9 \pm 1.73$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

รูปที่ 4.3 (ข) เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 เจริญได้ดีที่สุดในน้ำตาลกลูโคส ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 นับจำนวนได้ $150 \times 10^9 \pm 1.73$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ถูกยับยั้งการเจริญได้ดีเท่ากัน ในสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Solieria robusta* และสารสกัด *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 นับจำนวนได้ $96 \times 10^9 \pm 2.65$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 นับจำนวนได้ $132 \times 10^9 \pm 1.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร

รูปที่ 4.3 (ค) เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 เจริญได้ดีที่สุดในน้ำตาลกลูโคส ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 นับจำนวนได้ $148 \times 10^9 \pm 2.65$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ถูกยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดใน

สารสกัดพีไอบีโอดีคจากสาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 นับจำนวนได้ $89 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ สาหร่าย *Gracilaria fisheri* และสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 นับจำนวนได้ $90 \times 10^9 \pm 3.00$ และ $111 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

รูปที่ 4.3 (ง) เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 เจริญได้ดีที่สุดในน้ำตาลกลูโคส ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 นับจำนวนได้ $144 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ถูกยับยั้งการเจริญได้ดีเท่ากับ ในสารสกัดพีไอบีโอดีคจากสาหร่าย *Solieria robusta* และสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้น ร้อยละ 3 นับจำนวนได้ $87 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 นับจำนวนได้ $109 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร

รูปที่ 4.3 (จ) เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 เจริญได้ดีที่สุดในน้ำตาลกลูโคส ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 นับจำนวนได้ $130 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ถูกยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดใน สารสกัดพีไอบีโอดีคจากสาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 นับจำนวนได้ $74 \times 10^9 \pm 1.73$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ สาหร่าย *Gracilaria fisheri* และสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 นับจำนวนได้ $80 \times 10^9 \pm 3.00$ และ $87 \times 10^9 \pm 1.73$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Kaaria *et al.* (2015a) รายงานว่าเมื่อทำการทดสอบการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ทำการแยก เชื้อจุลินทรีย์จากสาหร่ายสีแดง สาหร่ายสีเขียว และสาหร่ายสีน้ำตาล รวมทั้งหมด 543 ไอโซเลท แล้วทำ การทดสอบการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disk diffusion พบว่าสาหร่าย 120 ไอโซเลทที่มีฤทธิ์ยับยั้ง เชื้อแบคทีเรีย โดยเกิดโซนยับยั้งมากถึง 7 มิลลิเมตร และสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย คือ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Candida albicans* ได้

Kaaria *et al.* (2015b) รายงานว่าการประเมินผลของกิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อรา ของสาหร่ายทะเลจากชายฝั่งทางเหนือและทางใต้ของประเทศเคนย่า ประกอบไปด้วยสารสกัดจาก สาหร่ายสีแดง สาหร่ายสีเขียว และสาหร่ายสีน้ำตาล จากนั้นนำไปทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อ รา 3 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922), *Escherichia coli* (ATCC 25923) และเชื้อรา *Candida albicans* (ATCC 90028) พบว่าสามารถสกัดสารจากสาหร่ายได้ 1609 ชนิด และมีคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 187 ไอโซเลท โดย 91 ไอโซเลทยับยั้งการเจริญเชื้อ แบคทีเรีย *Escherichia coli* ได้ ตามด้วย *Candida albicans* 78 ไอโซเลท และ *Staphylococcus aureus* 49 ไอโซเลท ตามลำดับ

Srikong *et al.* (2015) รายงานว่าสาหร่ายทะเลมีสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิที่ออกฤทธิ์ทาง ชีวภาพ (Bioactive secondary metabolite) โดยจะนำสาหร่ายทะเลสีเขียว (*Ulva intestinalis*) และ สาหร่ายทะเลสีแดง (*Gracilaria fisheri*) ที่เก็บมาจากเขตชายฝั่งปัตตานีมาใช้ทำการทดลอง ซึ่งในการ

สกัดสาหร่ายทะเลจะใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ เมทานอล เอทานอล ไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน สารสกัดหยาบที่ได้จากตัวอย่างสาหร่ายทั้งหมดจะนำมาทดสอบการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial activity) โดยใช้วิธี Disk diffusion คือ การนำสารสกัดหยาบจากสาหร่ายมาหยดบนแผ่นดิस्क ถ้าเชื้อถูกยับยั้งได้ด้วยสารนั้น ก็จะเกิดเป็นวงใสๆ ล้อมรอบ และวิธี colorimetric broth microdilution คือ วิธีการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกโดยเปรียบเทียบความเข้มของสีอาหาร พบว่าสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้ง 13 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 เป็นต้น โดยค่าเฉลี่ยของโซนยับยั้ง 6.78–16.45 มิลลิเมตร สามารถยืนยันได้ว่าสารสกัดจากสาหร่ายมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดี

4.3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลการทดลองความสามารถของสารสกัดจากน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน และสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta* ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465, *Lactobacillus casei* TISTR1463 และ *Escherichia coli* ATCC1261 โดย Two-ways ANOVA และการทดลองแฟคทอเรียลที่มีแผนแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) พร้อมวิเคราะห์ความแตกต่างด้วยวิธี Turkey's Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 0.05 ได้ผลดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 โดยเปรียบเทียบในชั่วโมงที่ 36 ด้วยวิธีทางสถิติ $P < 0.05$

สารสกัด ความเข้มข้น และเวลา	จำนวนเชื้อโคโลนี
Glucose ความเข้มข้นความเข้มข้นร้อยละ 3	$130 \times 10^9 \pm 9.54^a$
Glucose ความเข้มข้นร้อยละ 4	$127 \times 10^9 \pm 6.00^a$
Glucose ความเข้มข้นร้อยละ 2	$107 \times 10^9 \pm 7.00^b$
<i>Solieria robusta</i> ความเข้มข้นร้อยละ 4	$94 \times 10^9 \pm 4.00^c$
<i>Solieria robusta</i> ความเข้มข้นความเข้มข้นร้อยละ 3	$89 \times 10^9 \pm 3.00^c$
<i>Caulerpa lentillifera</i> ความเข้มข้นร้อยละ 4	$87 \times 10^9 \pm 2.65^{cd}$

หมายเหตุ : a,b,c ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีตัวอักษรแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ดังตารางที่ 4.3 ซึ่งผลลัพธ์ที่ดีที่สุดที่ทำให้การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 มีการเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 0.05 คือน้ำตาลกลูโคส สาหร่าย *Solieria robusta* และสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ตามลำดับ โดยน้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้นร้อยละ 3 ในชั่วโมงที่ 36 มีจำนวนเชื้อ $130 \times 10^9 \pm 9.54$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 ในชั่วโมงที่ 36 จำนวนเชื้อ $127 \times 10^9 \pm 6.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ให้ผลไม่แตกต่างกัน น้ำตาลกลูโคส ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 ในชั่วโมงที่ 36 จำนวนเชื้อ $107 \times 10^9 \pm 7.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร และให้ผลการเจริญที่ดีที่สุดที่สกัดในสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Solieria robusta* ความเข้มข้นร้อยละ 4

ในชั่วโมงที่ 36 จำนวนเชื้อ $94 \times 10^9 \pm 4.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 7) สำหรับ *Solieria robusta* ความเข้มข้นความเข้มข้นร้อยละ 3 ในชั่วโมงที่ 36 จำนวนเชื้อ $89 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร และสำหรับ *Caulerpa lentillifera* ความเข้มข้นร้อยละ 4 ในชั่วโมงที่ 36 จำนวนเชื้อ $87 \times 10^9 \pm 2.65$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ให้ผลไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.4 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 โดยเปรียบเทียบในชั่วโมงที่ 36 ด้วยวิธีทางสถิติ $P < 0.05$

สารสกัด ความเข้มข้น และเวลา	จำนวนเชื้อโคโลนี
<i>Gracilaria fisheri</i> ความเข้มข้นร้อยละ 4	$187 \times 10^9 \pm 2.00^a$
<i>Gracilaria fisheri</i> ความเข้มข้นร้อยละ 3	$182 \times 10^9 \pm 2.00^{ab}$
<i>Gracilaria fisheri</i> ความเข้มข้นร้อยละ 2	$180 \times 10^9 \pm 3.00^{bc}$
<i>Gracilaria fisheri</i> ความเข้มข้นร้อยละ 1	$174 \times 10^9 \pm 2.00^c$

หมายเหตุ : a,b,c ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีตัวอักษรแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ดังตารางที่ 4.4 ซึ่งผลลัพธ์ที่ดีที่สุดที่ทำให้การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 มีการเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.05 สำหรับ *Gracilaria fisheri* ให้ผลการเจริญที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1 ในชั่วโมงที่ 36 คือ $187 \times 10^9 \pm 2.00$, $182 \times 10^9 \pm 2.00$, $180 \times 10^9 \pm 3.00$ และ $174 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยความเข้มข้นร้อยละ 4 และ 3 ให้ผลไม่แตกต่างกัน และความเข้มข้นที่ 2 และ 1 ให้ผลไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.5 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ข้อมูลการยับยั้งจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 โดยเปรียบเทียบในชั่วโมงที่ 36 ด้วยวิธีทางสถิติ $P < 0.05$

สารสกัด ความเข้มข้น และเวลา	จำนวนเชื้อโคโลนี
<i>Solieria robusta</i> ความเข้มข้นร้อยละ 4	$74.00 \times 10^9 \pm 1.73^{op}$
<i>Gracilaria fisheri</i> ความเข้มข้นร้อยละ 4	$80.00 \times 10^9 \pm 3.00^{no}$
<i>Caulerpa lentillifera</i> ความเข้มข้นร้อยละ 4	$87.00 \times 10^9 \pm 1.73^{mn}$
<i>Gracilaria fisheri</i> ความเข้มข้นร้อยละ 3	$87.00 \times 10^9 \pm 1.73^{mn}$
<i>Solieria robusta</i> ความเข้มข้นร้อยละ 3	$87.00 \times 10^9 \pm 3.00^{mn}$
<i>Solieria robusta</i> ความเข้มข้นร้อยละ 2	$89.00 \times 10^9 \pm 2.00^{lm}$
<i>Gracilaria fisheri</i> ความเข้มข้นร้อยละ 2	$90.00 \times 10^9 \pm 3.00^{lm}$

หมายเหตุ : l,m,n,o,p ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีตัวอักษรแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ตั้งตารางที่ 4.5 ซึ่งผลลัพธ์การยับยั้งที่ดีที่สุดที่ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 ลดลงนั้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.05 คือ สารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 มีจำนวนเชื้อ $74 \times 10^9 \pm 1.73$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวก ง ตาราง ง-7) ลำดับถัดมา คือ สาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 มีจำนวนเชื้อ $80 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 สาหร่าย *Gracilaria fisheri* และสาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3 มีจำนวนเชื้อ $87 \times 10^9 \pm 1.73$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ให้ผลไม่แตกต่างกัน และลำดับสุดท้าย คือ สาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 มีจำนวนเชื้อ $89 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร และสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 มีจำนวนเชื้อ $90 \times 10^9 \pm 3.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกัน

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 ผลจากการศึกษาสารสกัดจากสาหร่ายทะเลที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก 3 สายพันธุ์คือ *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta* ด้วยการวัดน้ำตาลรีดิวซิงค์ด้วยวิธี somogyi-nelson พบว่าสาหร่าย *Solieria robusta* ให้ปริมาณน้ำตาลมากที่สุด คือ 0.684 ± 0.002 กรัมต่อลิตร รองลงมา คือ สาหร่าย *Gracilaria fisheri* และสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ให้ปริมาณน้ำตาล 0.107 ± 0.009 และ 0.036 ± 0.000 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

5.2 การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 เจริญได้ดีที่สุดในชั่วโมงที่ 36 จากสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 นับจำนวนได้ $94 \times 10^9 \pm 4.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 และสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 นับจำนวนได้ $87 \times 10^9 \pm 2.65$ และ $62 \times 10^9 \pm 3.61$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus casei* TISTR1463 เจริญได้ดีที่สุดในชั่วโมงที่ 36 จากสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 นับจำนวนได้ $187 \times 10^9 \pm 2.00$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือสาหร่าย *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 นับจำนวนได้ $160 \times 10^9 \pm 3.00$ และ $60 \times 10^9 \pm 3.61$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

5.3 การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 ถูกยับยั้งได้ดีที่สุดในชั่วโมงที่ 36 จากสารสกัดพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Solieria robusta* ความเข้มข้นร้อยละ 4 มีจำนวนเชื้อ $74 \times 10^9 \pm 1.73$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือสาหร่าย *Gracilaria fisheri* และสาหร่าย *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 นับจำนวนได้ $80.00 \times 10^9 \pm 3.00$ และ $87.00 \times 10^9 \pm 1.73$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทดสอบการทนต่อเกลือในหลอดทดลองเพื่อทดสอบความทนทานของสารสกัดต่อระบบย่อยอาหารของสิ่งมีชีวิต
2. ควรมีการทดลองนำสารพรีไบโอติกจากสาหร่าย *Solieria robusta* มาใส่ในเครื่องดื่มที่มีเพื่อให้สามารถรับประทานได้ และช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกภายในลำไส้
3. ควรทดสอบการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก และเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารควบคุมที่ไม่มีแหล่งคาร์บอนเพื่อเป็นตัวเปรียบเทียบการเจริญ

เอกสารอ้างอิง

- คณิต ไชยาคำ และดุสิต ต้นวิไลย. 2535 “การทดลองเลี้ยงสาหร่ายผมนาง *Gracilaria fisheri* บริเวณทะเลสาบสงขลาตอนนอก” วารสารการประมง 45(5) : 1041-1046.
- จักรินทร์ ตรีอินทอง และจิราพร รุ่งเลิศเกรียงไกร. 2554. “ผลของการแช่อะซิโตนและสภาวะการให้ความร้อนต่อปริมาณผลผลิตและสมบัติของสารไฮโดรคอลลอยด์ที่สกัดจากสาหร่ายผมนาง (*Gracilaria* sp.) และสาหร่ายโพรง (*Solieria robusta*)” การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49, 1-4 กุมภาพันธ์: 553.
- บุหลัน พิทักษ์พล. 2517. “สาหร่ายสีเขียว” รายงานการประชุมทางวิชาการเกษตรศาสตร์และชีววิทยาแห่งชาติ ครั้งที่ 13 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 4-6 กุมภาพันธ์ 2517: 706.
- ไพโรจน์ พรหมานนท์ และสุชาติ เดชนราวศ์. 2532. “การเจริญพันธุ์ของคาร์โปสปอร์สาหร่ายผมนาง” วารสารการประมง 42(6): 425-433.
- รัตดา วงศ์รัตน์, ประจิตร วงศ์รัตน์ และสุนิรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2544. “ความหลากหลายของแพลงก์ตอนพืชน้ำจืดในประเทศไทย (คลอโรไฟตา และโครโมไฟตา)” บทคัดย่อโครงการวิจัยและวิทยานิพนธ์ การประชุมวิชาการประจำปีโครงการ BRT ครั้งที่ 5, 8-11 ตุลาคม: 44.
- สิรสา สุ่มงคล. 2556. “การเพิ่มการรอดชีวิตของแบคทีเรียโปรไบโอติกโดยวิธีการห่อหุ้มร่วมกับเส้นใยจากพืชหัว” วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- อัญชูลี เลิศสงคราม. 2559. “สาหร่ายทะเล (seaweed)” จดหมายข่าวองค์การเภสัชกรรม 23(2) : 14-16.
- อุทัย แก้วเอียน. 2549. “โปรไบโอติกส์” สงขลานครินทร์เวชสาร 24(4) : 315-323.
- เอกภพ สีนงาม. 2555. “การศึกษาคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติกของฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากแก่นตะวัน” วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีชีวภาพภาคเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- Ashrafi F. 2002. Practical Microbiology. First Published Compilation; Ahsan Press: Tehran, Iran.
- Bangmei X. and Abbott A.I. 1987. “New species of Polycavernosa Chang and Xia (*Gracilariaceae*, *Rhodophyta*) from the western Pacific” *Phycologia*. 26(4) : 405-418.
- Beheshtipour H., Mortazavian M.A., Mohammadi R., Sohrabvandi S. and Khosravi-Darani K. 2013. “Supplementation of *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* algae into probiotic fermented milks” *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 12 : 144-154.

- Berteau O. and Mulloy B. 2003. "Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide" *Glycobiology*. 13(6) : 29-40.
- Charoensiddhi S., Conlon A.M., Franco M.M.C. and Zhang W. 2017. "The development of seaweed-derived bioactive compounds for use as prebiotics and nutraceuticals using enzyme technologies" *Trends in Food Science and Technology*. 70 : 20-33.
- Chevolot L., Foucault A., Chaubet F., Kervarec N., Siquin C., Fisher AM. and Boisson-Vidal C. 1999. "Further data on the structure of brown seaweed fucans: relationships with anticoagulant activity" *Carbohydrate Research*. 319(1-4) : 154-165.
- Chiovitt A., Bacic A., Kraft T.G., Craik J.D. and Liao L.M. 1999. "Pyruvate carrageenans from *Solieria robusta* and its adelphoparasite *Tikvahiella candida*" *Hydrobiologia*. 398/399: 401-409.
- Corry J.E.L., Curtis G.D.W. and Baird R.M., 2003. *Handbook of Culture Media for Food Microbiology*. Science Amsterdam: Amsterdam.
- Lahaye M. 1991. "Marine-algae as sources of fibers-determination of soluble and insoluble dietary fiber contents in some sea vegetables" *Science of Food and Agriculture*. 54(4) : 587-594.
- Ghosh T., Chattopadhyay K., Marschall M., Karmakar P., Mandal P. and Ray B. 2009. "Focus on antivirally active sulfated polysaccharides : From structure activity analysis to clinical evaluation" *Glycobiology*. 19(1) : 2-15.
- Guptaa S., Ghannama A.N. and Scannell G.M. A. 2010. "Growth and kinetics of *Lactobacillus plantarum* in the fermentation of edible Irish brown seaweeds" *Food and Bioproducts Processing*. 198 : 1-10.
- Hassan A.N. and Frank J.F. 2004. "Attachment of *Escherichia coli* O157:H7 grown in tryptic soy broth and nutrient broth to apple and lettuce surfaces as related to cell hydrophobicity, surface charge, and capsule production" *International Journal of Food Microbiology*. 96(1) : 103-109.
- Hoffman R., Paper DH., Donaldson J., Alban S. and Franz G. 1995. "Characterization of a laminarin sulfate which inhibits basic fibroblast growth-factor binding and endothelial-cell proliferation" *Journal of Cell Science*. 108 : 3591-3598.
- Hori K., Miyazawa K. and Ito K. 1990. "Some common properties of lectins from marine Algae" *Hydrobiologia*. 204/205 : 561-566.

- Imjongjairak S., Ratanakhanokchai K., Laohakunjit N., Tachaapaikoon C., Pason P. and Waeonukul R., 2015. "Biochemical characteristics and antioxidant activity of crude and purified sulfated polysaccharides from *Gracilaria fisheri*" Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. 80(3) : 524–532.
- Kaaria K.P., Matiru N.V., Wakibia G.J., Bii C.C. and Ndung'u W.M. 2015a. "Antimicrobial activity of marine algae associated endophytes and epiphytes from the Kenya coast" International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 4(8) : 17-22.
- Kaaria K.P., Matiru N.V., Wakibia G.J., Ndung'u W.M. and Bii C.C. 2015b. "Evaluation of antibacterial and antifungal activity of macro algae associated microbes from the Northern and Southern coast of Kenya" Journal of Microbiology and Biotechnology Research. 5(5) : 7-13.
- Kain J.M., Brown M.T. and Lahaye M. 1999. "Phylogeny of Alariaceae (Phaeophyta) with special reference to *Undaria* based on sequences of the RuBisCo spacer region" Hydrobiologia. 398/399 : 47-55.
- Khanzada K.A., Shaikh W., Kazi T.G., Kabir S. and Soofia S. 2007. "Antifungal activity, elemental analysis and determination of total protein of seaweed, *Solieria robusta* (greville) kylin from the coast of Karachi" Pakistan Journal of Botany. 39(3) : 931-937.
- Konishi T., Nakata I., Miyagi Y. and Tako M. 2012. "Extraction of β -1,3 xylan from green seaweed, *Caulerpa lentillifera*" The Japanese Society of Applied Glycoscience. 59 : 161-163.
- Leininger J.D., Roberson R.J. and Elvinger F. 2001. "Use of eosin methylene blue agar to differentiate *Escherichia coli* from other gram-negative mastitis pathogens" Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 13 : 273–275.
- Luescher M.M. 2003. "Algae, a possible source for new drugs in the treatment of HIV and other viral diseases" Current Medicinal Chemistry. 2 : 219-225.
- Masakazu M. and Jun-ichi N. 2001. "Production and use of marine algae in Japan" Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ. 35(4) : 281-290.
- Maynard C., Bekal S., Sanschagrín F., Levesque C.R., Brousseau R., Masson L., Larivière S. and Harel J. 2004 "Heterogeneity among virulence and antimicrobial resistance gene profiles of extraintestinal *Escherichia coli* isolates of animal and human origin" Journal of clinical microbiology. 42(12) : 5444–5452.

- Mcfarland J., 1907 "The nephelometer:an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines" JAMA. 1907; 49(14) : 1176-1178.
- Moreno J.F., Corzo N., Montilla A., Villamiel M. and Olano A. 2017. "Current state and latest advances in the concept, production and functionality of prebiotic oligosaccharides" Current Opinion in Food Science. 13 : 50–55.
- Nabors B.O.L. 2004. "Alternative sweeteners" Agro food Industry Hi-Tech. 15(4) : 39-41.
- Nelson N. 1944 "A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose" Journal Biological Chemistry 153 : 375.
- Praiboon J., Chirapart A., Akakabe Y., Bhumibhamond O. and Kajiwara T. 2006. "Physical and chemical characterization of agar polysaccharides extracted from the Thai and Japanese species of *Gracilaria*" ScienceAsia 32 Supplement 1 : 11-17.
- Ragan A.M. and Gutell R.R. 1995. "Are red algae plants?" Botanical Journal of the Linnean Society, 118(2) : 81-105.
- Rasmussen R.S. and Morrissey M.T. 2007. "Marine biotechnology for production of food ingredients" Advances in Food and Nutrition Research. 52 : 237-292.
- Srikong W., Mittraparp-arthorn P., Rattanaporn O., Bovornreungroj N. and Bovornreungroj P. 2015. "Antimicrobial activity of seaweed extracts from Pattani, Southeast coast of Thailand" Food and Applied Bioscience Journal. 3 (1) : 39–49.
- Sultana V., Ehteshamul H.S., Ara J. and Athar M. 2005 "Comparative efficacy of brown, green and red seaweeds in the control of root infecting fungi and okra" International Journal of Environmental Science and Technology. 2(2) : 129-132.
- Vera J., Castro J., Gonzalez A. and Moenne A. 2011. "Seaweed polysaccharides and derived oligosaccharides stimulate defense responses and protection against pathogens in plants" Marine drugs. 9(12) : 2514–2525.
- Vlieghe P., Clerc T., Pannecouque C., Witvrouw M., De Clercq E., Salles J.P. and Kraus J.L. 2002. "Synthesis of new covalently bound kappa-carrageenan-AZT conjugates with improved anti-HIV activities" Journal of Medicinal Chemistry. 45(6) : 1275-1283.
- Wichienchot S., Thammarutwasik P., Jongjareonrak A., Chansuwan W., Hmadhlu P., Hongpattarakere T., Itharat A. and Ooraikul B. 2010 "Extraction and analysis of prebiotics from selected plants from southern Thailand" Songklanakarin Journal of Science and Technology. 33(5) : 517-523.

- Ye H., Wang K., Zhou C., Liu J. and Zeng X. 2008. "Purification, antitumor and antioxidant activities in vitro of polysaccharides from the brown seaweed *Sargassum pallidum*" Food Chemistry. 111(2) : 428-432.
- กรองแก้ว ศุภวัฒน์. (2543). "*Vibrio cholerae*" สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_1_001c.asp?info_id=1086 (วันที่สืบค้น 25 มิถุนายน 2561)
- จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์. (2554). "โรคอุจจาระร่วงจากเชื้ออีโคไล (*E. coli*)" คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : [http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/52/โรคอุจจาระร่วงจากเชื้ออีโคไล\(Ecoli\)/](http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/52/โรคอุจจาระร่วงจากเชื้ออีโคไล(Ecoli)/) (วันที่สืบค้น 25 มิถุนายน 2561)
- ทิพวรรณ ประเสริฐสินธุ์. (2559). "สาหร่ายสีแดง (Red algae)". [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://biology.cru.ac.th/biology/images/PDF/Phyco/Phyco-12.pdf> (วันที่สืบค้น 25 พฤษภาคม 2561)
- ธราดล เหลืองทองคำ. (2558). "*Campylobacter*". เชื้อก่อโรคสำคัญทางสาธารณสุข. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.vet.chula.ac.th/vet2014/dept/vph/files/papers/paper_002.pdf (วันที่สืบค้น 25 มิถุนายน 2561)
- ดวงทิพย์ หงษ์สมุทร. (2548). "*Enterobacter sakazakii* และการปนเปื้อนในอาหารผงตัดแปลงสำหรับทารก" สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.clinicdek.com/?p=297> (วันที่สืบค้น 25 มิถุนายน 2561)
- นฤมล มาแทน. (2561). "ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์" [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://essentialoil.wu.ac.th/wp-content/uploads/2018/01/82386_ปัจจัยที่ทำให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโต.pdf (วันที่สืบค้น 2 กรกฎาคม 2561)
- พวงทอง ไกรพิบูลย์. (2558). "อหิวาต์เทียม (*Vibrio parahaemolyticus*)" ว.รังสีรักษา และเวชศาสตร์นิวเคลียร์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://haamor.com/th/อหิวาต์เทียม/> (วันที่สืบค้น 25 มิถุนายน 2561)
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. (2553ก). "probiotic / โพรไบโอติก" Food Network Solution. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0780/probiotic-โพรไบโอติก> (วันที่สืบค้น 24 เมษายน 2561)
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. (2553ข). "*Lactobacillus* / แล็กโทบาซิลลัส" Food Network Solution. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1271/lactobacillus-แล็กโทบาซิลลัส>
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. (2553ค). "โรคอาหารเป็นพิษที่มีสาเหตุจาก *Bacillus cereus*" Food Network Solution. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetwork>

- solution.com/wiki/word/3933/โรคอาหารเป็นพิษที่มีสาเหตุจาก-bacillus-cereus (วันที่สืบค้น 25 มิถุนายน 2561)
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. (2553ง). “*Clostridium perfringens* / คลอสตริเดียมเพอร์ฟริงเจนส์” Food Network Solution. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1198/clostridium-perfringens-คลอสตริเดียม-เพอร์ฟริงเจนส์> (วันที่สืบค้น 25 มิถุนายน 2561)
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. (2553จ). “โรคและอาการของโรคที่เกิดจาก *Staphylococcus aureus*” Food Network Solution. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : [http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3919/โรคและอาการของโรคที่เกิดจาก *staphylococcus aureus*](http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3919/โรคและอาการของโรคที่เกิดจาก-staphylococcus-aureus) (วันที่สืบค้น 25 มิถุนายน 2561)
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. (2553ฉ). “*Yersinia enterocolitica*” Food Network Solution. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1311/yersinia-enterocolitica> (วันที่สืบค้น 25 มิถุนายน 2561)
- ไพบุลย์ อรัญนารณ. (2555). “สาหร่ายผมนาง”. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.paiboonrayong.com/index.php%3Fmo%3D3%26art%3D389226> (วันที่สืบค้น 19 เมษายน 2561)
- ภัทรา พลับเจริญสุข. (2557). “รู้จัก PROBIOTIC และ PREBIOTIC กันหรือยัง”. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://biology.ipst.ac.th/?p=884> (วันที่สืบค้น 9 เมษายน 2561)
- วิมล ศรีสุข. (2553). “4 ขั้นตอนการเลือกโพรไบโอติกส์”. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/22/การเลือกโพรไบโอติกส์-Probiotics/> (วันที่สืบค้น 9 เมษายน 2561)
- ศูนย์ข้อมูลวิชาการ. (2556). “พรีไบโอติก (Prebiotic) โยอาหารทางเลือกเพื่อสมดุลของลำไส้” Healthy Society สังคมสุขภาพแนวใหม่ของคนไทย. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://decembertown.com/prebiotic/> (วันที่สืบค้น 22 เมษายน 2561)
- สุปัญญา ปัญญาดี. (2556). “อาณาจักรโปรติสตา (Kingdom Protista)”. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <https://supanya131.wordpress.com/อาณาจักรของสิ่งมีชีวิต/2-อาณาจักรโปรติสตา-kingdom-protista/> (วันที่สืบค้น 18 เมษายน 2561)
- สุพล ตันสุวรรณ, มณฑกานติ ท้ามตัน และสันติภาพ แซ่เฮ้า. (มปป.). “สาหร่ายพวงองุ่น Green Caviar”. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://www.fisheries.go.th/cf-coastal_feed/images/stories/pdf/การเพาะเลี้ยงสาหร่ายพวงองุ่นเชิงพาณิชย์.pdf (วันที่สืบค้น 9 เมษายน 2561)
- สำนักวิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง. (2550). ประมงน้อมเกล้าฯเฉลิมพระเกียรติ80พรรษา “กินปลา ชม ปลา สุขภาพดี”. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.coastalqua.com/oldweb/index.php?option=com_content&task=view&id=552&Itemid=0 (วันที่สืบค้น 9 เมษายน 2561)

- สำนักสถิติแห่งชาติ (มปป.) “จำนวนผู้ป่วย/สาเหตุการตาย” สถานบริการสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุขทั่วราชอาณาจักร พ.ศ. 2548 - 2557. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://service.nso.go.th/nso/web/statseries/statseries09.html> (วันที่ สืบค้น 20 พฤษภาคม 2561)
- ส่วนวิจัยเกษตรกรรม ฝ่ายวิชาการธนาคารกสิกรไทย. (2557). “ประเภทของสาหร่าย” ไทยเกษตรศาสตร์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.thaikasetsart.com/ประเภทของสาหร่าย/> (วันที่สืบค้น 19 เมษายน 2561)
- สลิล ศิริอุดมภาส. (2541). “โรคโบทูลิซึม (Botulism)”. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://haamor.com/th/โรคโบทูลิซึม/#article104> (วันที่สืบค้น 25 มิถุนายน 2561)
- สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข. (2558). “*Listeria monocytogenes*”. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://nih.dmsc.moph.go.th/data/data/fact_sheet/5_58.pdf (วันที่สืบค้น 25 มิถุนายน 2561)
- อรภรณ์ บัวหลวง. (2550). “การอบแห้งสาหร่ายเกลียวทองระดับอุตสาหกรรมขนาดเล็ก” หน่วยบริหารงานวิจัยและนวัตกรรม. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://www.research.eng.psu.ac.th/2015-04-07-09-42-17/112-artical16> (วันที่สืบค้น 10 มกราคม 2561)
- Bacic A., Fincher B.G. and Stone A.B., (1996). “Chemistry, Biochemistry and Biology of 1-3 Beta Glucans”. [online]. Available from: <https://books.google.co.th/books?id=i3Jc8iZ6GHMC&pg=PA8&lpq=PA8&dq=Chiovitti%20et%20al.%2C%201996&source=bl&ots=nCiQOeBBTm&sig=AFwmBdhTnLOFhV0lg23GQ8e11U&hl=th&sa=X&ved=0ahUKEwi2u6bHvZ7bAhVET30KHTxeALMQ6AEIMDAC#v=onepage&q=Chiovitti%20et%20al.%2C%201996&f=false> (Retrieved 19 April 2018)
- Dawes and Clinton J., (1998). “Sea Grapes”. [online]. Available from: http://asia.in-cosmetics.com/_novadocuments/382812?v=636392517741070000 (Retrieved 19 April 2018)
- Prodian J. (2017). “How prebiotics help digestion and improve immune system”. [online]. Available from: <https://app.com/story/life/wellness/2017/07/25/james-proodian-prebiotics-probiotics/103861814/> (Retrieved 6 July 2018)
- Ralp A.L. and Robert A.A. ,(2009). “Algae protist”. [online]. Available from: <https://www.britannica.com/science/algae> (Retrieved 19 April 2018)
- Trono G.C. and Toma T. (1993). “Seaweeds used as human food”. [online]. Available from: <http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e0b.htm#TopOfPage> (Retrieved 19 April 2018)
- Woelkerling, (1990). “Are *Titanoderma* and *Lithophyllum* (Corallinaceae, Rhodophyta) distinct genera”. [online]. Available from : <http://www.phycologia.org/doi/abs/10.2216/0031-8884-29-1-114.1?code=iphy-site&journalCode=phyta> (Retrieved 19 April 2018)

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ก-1 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกในกลุ่ม Lactic acid bacteria MRS
(De Man Rogosa and Sharpe) (Corry *et al.*, 2003)

Protease peptone	ร้อยละ1.000
Meat Extract	ร้อยละ 1.000
Yeast extract	ร้อยละ 0.500
Dextrose	ร้อยละ 2.000
Tween 80 (polysorbate 80)	ร้อยละ0.100
Ammonium citrate	ร้อยละ 0.200
Sodium acetat	ร้อยละ 0.500
Manganese sulphate	ร้อยละ 0.005
Di-potassium phosphate	ร้อยละ0.200
Magnesium sulphate	ร้อยละ 0.010
Agar	ร้อยละ 1.500

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำกลั่นจากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

ก-2 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *E. coli* TSB (Trypticase Soy Broth)
(Hassan and Frank, 2004)

Pancreatic Digest of Casein	17.0 กรัม
Papaic Digest of Soybean	3.0 กรัม
Dextrose	2.5 กรัม
Sodium Chloride	5.0 กรัม
Dipotassium Phosphate	2.5 กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำกลั่นจากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

ก-3 สูตรอาหารเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *E. coli* EMB (Eosin methylene blue agar)
(Leininger *et al.*, 2001)

Peptone	10 กรัม
---------	---------

Lactose	10 กรัม
K ₂ HPO ₄	2 กรัม
Eosin(yellowish)	0.4 กรัม
Methylene blue	0.065 กรัม
Agar	15 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยน้ำกลั่นจากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

ก-4 วิธีการเตรียม somogyi-nelson (Nelson, 1944)

สารเคมี somogyi reagent

Solution I : ประกอบด้วย

Sodium potassium tartate (Rochelle salt)	12 กรัม
Na ₂ CO (anhydrous)	24 กรัม
NaHCO ₃	16 กรัม
Na ₂ SO ₄ (anhydrous)	144 กรัม

ละลายสารละลายทั้งหมดในน้ำกลั่น จากนั้นเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร

Solution II : ประกอบด้วย

CuSO ₄ .5H ₂ O	4 กรัม
NaSO ₄ (anhydrous)	36 กรัม
น้ำกลั่น	200 มิลลิลิตร

เตรียม somogyi reagent ด้วยการผสม Solution I 4 ส่วนกับ Solution II 1 ส่วน

สารเคมี nelson reagent

1. เตรียมสารละลาย ammonium molybdate ((NH₄)₆ Mo₇O₂₄.4H₂O) 50 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 42 มิลลิกรัม ผสมให้เข้ากันดี
2. ละลาย sodium arsenate (Na₂NaAsO₄) 3.5762 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
3. เติมน้ำกลั่นข้อ 2 ลงในสารละลายข้อ 1. ผสมให้เข้ากัน จากนั้นจึงบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บในขวดสีชา

ภาคผนวก ข



รูปที่ ข-1 สาหร่าย *Solieria robusta* น้ำหนักสด 1.2 กิโลกรัม
น้ำหนักแห้ง 14.0071 กรัม



รูปที่ ข-2 สาหร่าย *Caulerpa lentillifera* น้ำหนักสด 1.13 กิโลกรัม
น้ำหนักแห้ง 52.6524 กรัม



รูปที่ ข-3 สาหร่าย *Gracilaria fisheri* สาหร่ายแห้ง

เชื้อจุลินทรีย์



รูปที่ ข-4 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465



รูปที่ ข-5 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463

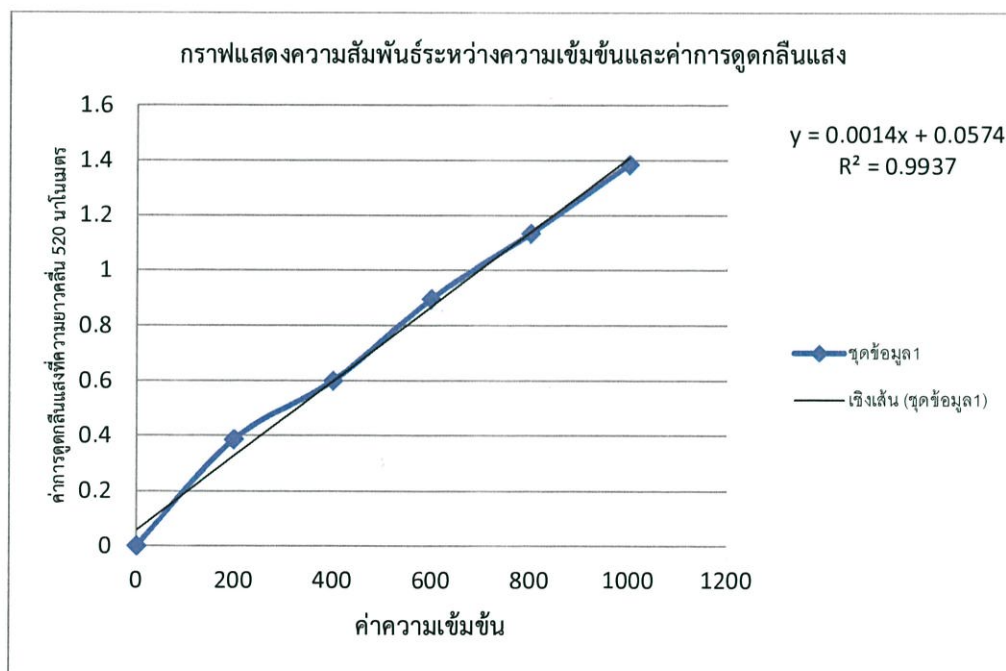


รูปที่ ข-6 เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261

ตารางที่ ข-1 ตารางการวัดมาตรฐานน้ำตาลแลคโตส ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

ค่าความเข้มข้น($\mu\text{g/ml}$)	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	OD เฉลี่ย
1000	1.384	1.385	1.387	1.385333
800	1.132	1.135	1.137	1.134667
600	0.895	0.897	0.897	0.896333
400	0.6	0.598	0.601	0.599667
200	0.383	0.39	0.386	0.386333
0	0	0	0	0

กราฟแสดงผลมาตรฐานน้ำตาลแลคโตสจากวิธี somogyi-nelson



รูปที่ ข-7 กราฟมาตรฐานน้ำตาลน้ำตาลแลคโตส

ผลจากการสกัดสาหร่ายด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาทีจำนวน 3 ซ้ำ เมื่อนำมาทดสอบด้วยวิธี somogyi-nelson

ตารางที่ ข-2 ค่าดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*

ค่าเจือจาง	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	OD เฉลี่ย
80	0.035	0.036	0.038	0.036333
60	0.04	0.041	0.042	0.041
40	0.053	0.054	0.054	0.053667
20	0.082	0.084	0.084	0.083333
10	0.095	0.096	0.097	0.096
0	0.557	0.562	0.561	0.56

ตารางที่ ข-3 ค่าน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *Caulerpa lentillifera*

ค่าเจือจาง	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
80	-0.128	-0.122	-0.111	-0.120±0.009
60	-0.075	-0.070	-0.066	-0.07±0.005
40	-0.013	-0.010	-0.010	-0.011±0.002
20	0.035	0.038	0.038	0.037±0.002
10	0.027	0.028	0.028	0.028±0.001
0	0.036	0.036	0.036	0.036±0.000

ตัวอย่างการคำนวณ เมื่อแทนค่า 0.56 ในสมการ $y = 0.0014x + 0.0574$

$$= \frac{0.56 - 0.0574}{0.0014}$$

$$X = 35.9 \text{ ไม่มีการเจือจางสารตั้งต้น} = 35.9$$

$$\text{เปลี่ยนหน่วยเป็นกรัมต่อลิตร} = \frac{35.9}{1000} = 0.0359 = 0.0360 \text{ กรัมต่อลิตร}$$

ตารางที่ ข-4 ค่าดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Gracilaria fisheri*

ค่าเงืจาง	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	OD เฉลี่ย
80	0.042	0.041	0.041	0.041333
60	0.041	0.043	0.043	0.042333
40	0.052	0.05	0.052	0.051333
20	0.153	0.151	0.163	0.155667
10	0.194	0.209	0.219	0.207333
0	1.558	1.429	1.558	1.515

ตารางที่ ข-5 ค่าน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *Gracilaria fisheri*

ค่าเงืจาง	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
80	-0.088	-0.094	-0.094	-0.092±0.003
60	-0.07	-0.062	-0.062	-0.065±0.005
40	-0.015	-0.021	-0.015	-0.017±0.003
20	0.137	0.134	0.151	0.14±0.009
10	0.098	0.108	0.115	0.107±0.009
0	0.107	0.098	0.107	0.104±0.005

ตัวอย่างการคำนวณ เมื่อแทนค่า 0.207 ในสมการ $y = 0.0014x + 0.0574$

$$= \frac{0.207 - 0.0574}{0.0014}$$

$$X = 107.70952 \text{ คุณค่าความเงืจาง } 10 \text{ เท่า} = 107.0952$$

$$\text{เปลี่ยนหน่วยเป็นกรัมต่อลิตร} = \frac{107.0952}{1000} = 0.107095 = 0.107 \text{ กรัมต่อลิตร}$$

ตารางที่ ข-6 ค่าดูดกลืนแสงของสาหร่าย *Solieria robusta*

ค่าเงืจาง	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	OD เฉลี่ย
80	0.138	0.140	0.140	0.139
60	0.154	0.154	0.156	0.155
40	0.246	0.248	0.249	0.248
20	0.536	0.536	0.537	0.536
10	0.820	0.824	0.824	0.823
0	2.796	2.797	2.793	2.795

ตารางที่ ข-7 ค่าน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) ของสาหร่าย *Solieria robusta*

ค่าเงิอจาง	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
80	0.461	0.472	0.472	0.468±0.006
60	0.414	0.414	0.423	0.417±0.005
40	0.539	0.545	0.547	0.544±0.004
20	0.682	0.684	0.685	0.684±0.002
10	0.545	0.548	0.548	0.547±0.002
0	0.196	0.196	0.195	0.196±0.001

ตัวอย่างการคำนวณ เมื่อแทนค่า 0.823 ในสมการ $y = 0.0014x + 0.0574$

$$= \frac{0.822667 - 0.0574}{0.0014}$$

$$X = 54.6619 \text{ คุณค่าความเงิอจาง 10 เท่า} = 546.619$$

$$\text{เปลี่ยนหน่วยเป็นกรัมต่อลิตร} = \frac{546.619}{1000} = 0.546619 = 0.5466 \text{ กรัมต่อลิตร}$$

แทนค่า 0.536 ในสมการ $y = 0.0014x + 0.0574$

$$= \frac{0.536 - 0.0574}{0.0014}$$

$$X = 34.18571 \text{ คุณค่าความเงิอจาง 20 เท่า} = 683.7143$$

$$\text{เปลี่ยนหน่วยเป็นกรัมต่อลิตร} = \frac{683.7143}{1000} = 0.683714 = 0.6837 \text{ กรัมต่อลิตร}$$

แทนค่า 0.248 ในสมการ $y = 0.0014x + 0.0574$

$$= \frac{0.247667 - 0.0574}{0.0014}$$

$$X = 13.59048 \text{ คุณค่าความเงิอจาง 40 เท่า} = 543.619$$

$$\text{เปลี่ยนหน่วยเป็นกรัมต่อลิตร} = \frac{543.619}{1000} = 0.543619 = 0.5436 \text{ กรัมต่อลิตร}$$

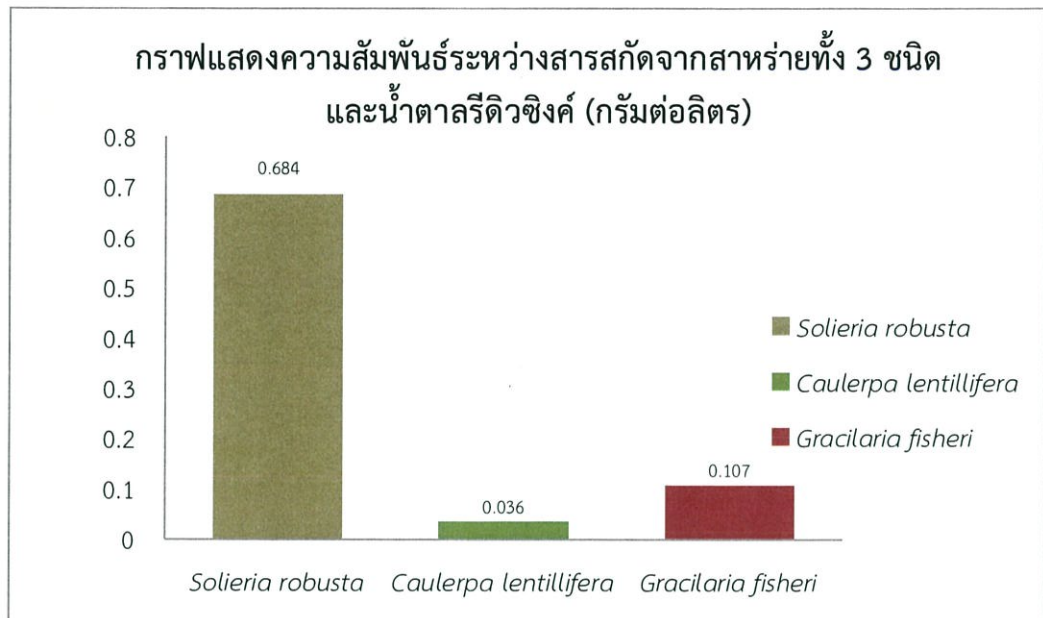
ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานใกล้กับค่าเฉลี่ยซึ่งเท่ากับ 0.5355

$$SD = \frac{\sqrt{(0.5355 - 0.536)^2}}{3 - 1}$$

$$= \sqrt{\frac{0.00000025}{2}}$$

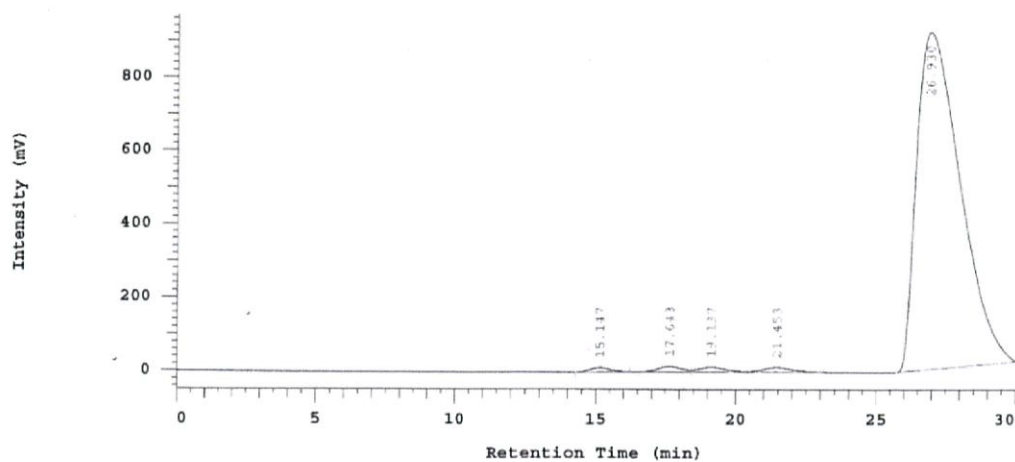
$$= 0.00035 \approx 0$$

กราฟแสดงผลเปรียบเทียบค่าดูดกลืนแสงน้ำตาลรีดิวซ์จากสาหร่ายทะเลทั้ง 3 ชนิด คือ *Solieria robusta*, *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri*



รูปที่ ข-8 กราฟแสดงค่าดูดกลืนแสงน้ำตาลรีดิวซ์ระหว่างสารสกัดทั้ง 3 ชนิดคือ *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta*

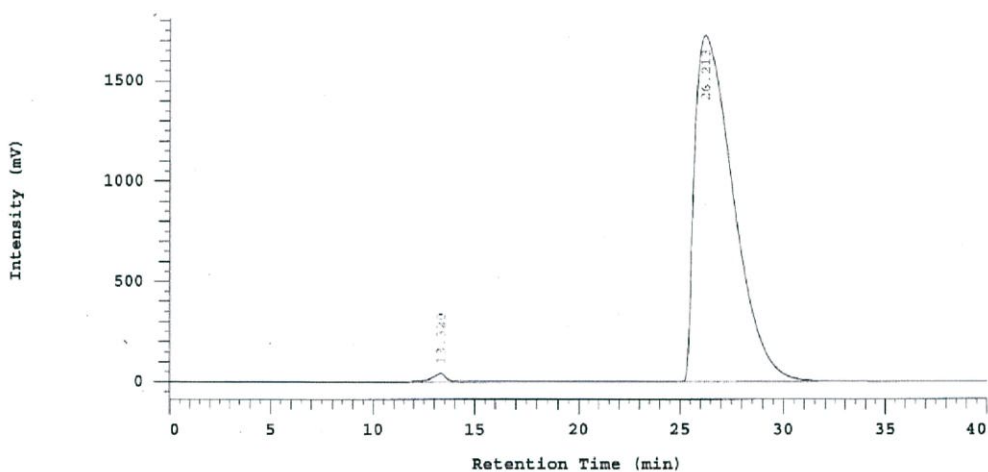
กราฟแสดงผลน้ำตาลหลังจากการใช้เครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)



รูปที่ ข-9 กราฟแสดงผลน้ำตาลมาตรฐานที่ใช้หาค่า retention time

ตารางที่ ข-8 ตารางแสดงผลเมื่อวิเคราะห์ค่า retention time

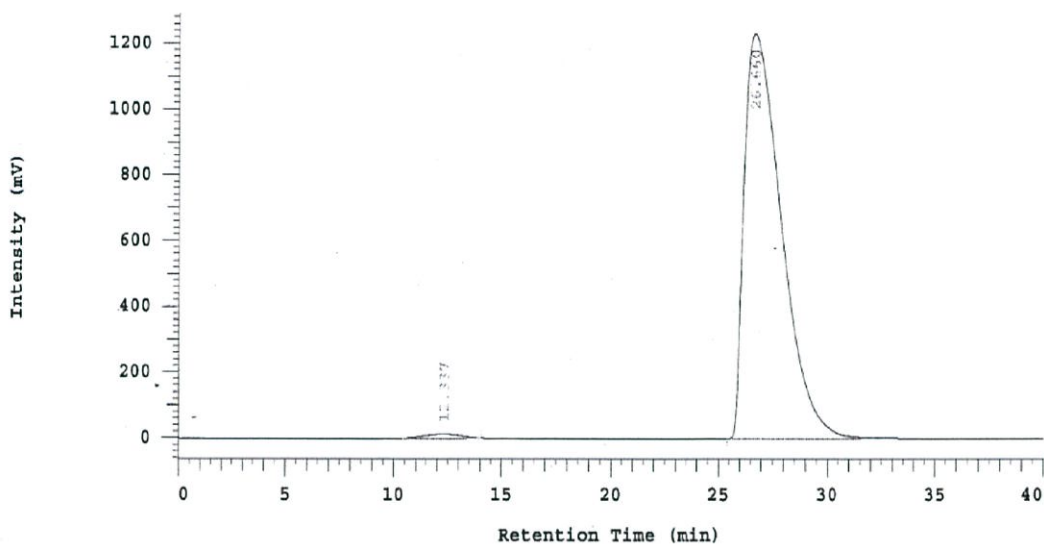
ตัวอย่างน้ำตาล	retention time (นาที)
ซูโครส	15.147
กลูโคส	17.643
ไซโลส	19.137
ฟรุกโตส	21.453



รูปที่ ข-10 กราฟแสดงผลสำหรับ *Caulerpa lentillifera* ที่ใช้หาค่า retention time

ตารางที่ ข-9 ตารางแสดงผลเมื่อวิเคราะห์ค่า retention time ของสำหรับ *Caulerpa lentillifera*

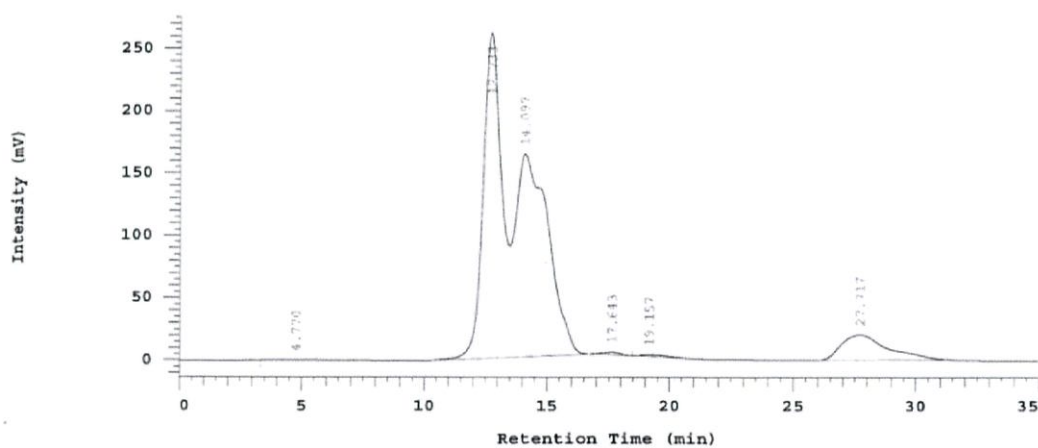
No.	retention time	Area	Conc. 1g/L	BC
1	13.320	1882260	0.000000	BB
2	26.213	2.236E+08	0.000000	BB
		2.255E+08	0.000000	



รูปที่ ข-11 กราฟแสดงผลสำหรับ *Gracilaria fisheri* ที่ใช้หาค่า retention time

ตารางที่ ข-10 ตารางแสดงผลเมื่อวิเคราะห์ค่า retention time ของสำหรับ *Gracilaria fisheri*

No.	retention time	Area	Conc. 1g/L	BC
1	12.337	1463948	0.000000	BB
2	26.660	1.448E+08	0.000000	BB
		1.463E+08	0.000000	

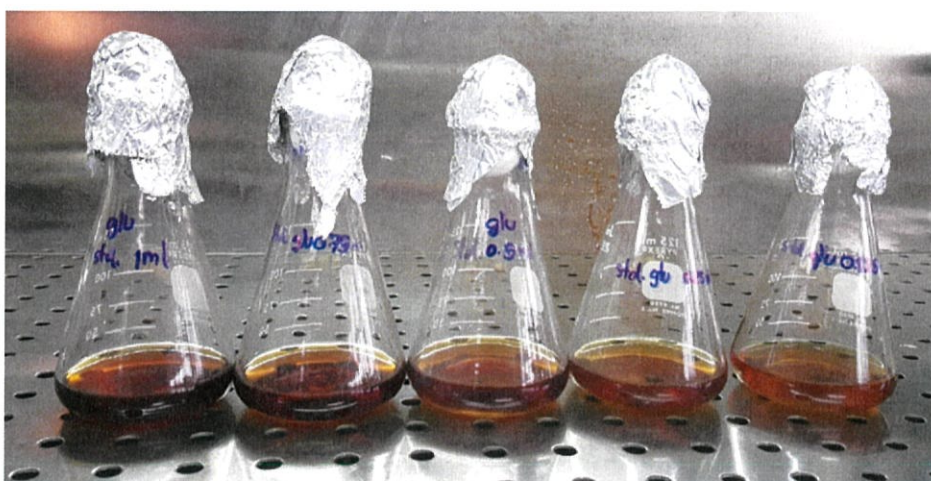


รูปที่ ข-12 กราฟแสดงผลสำหรับ *Solieria robusta* ที่ใช้หาค่า retention time

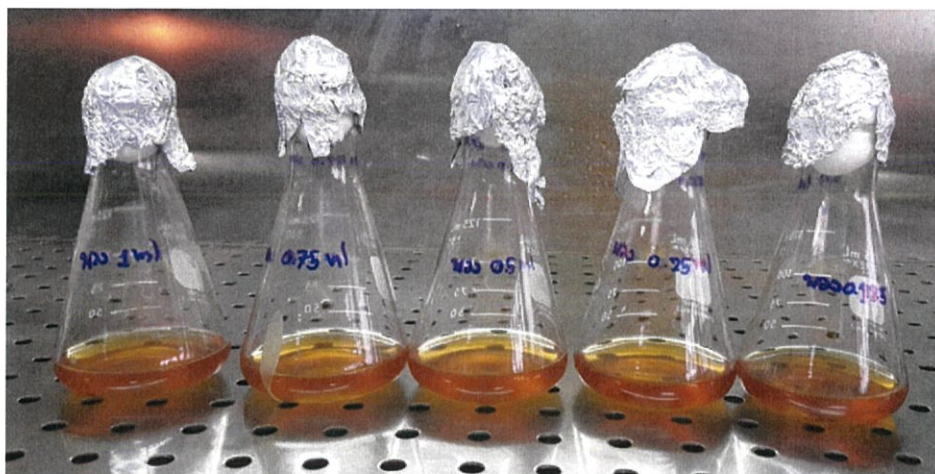
ตารางที่ ข-11 ตารางแสดงผลเมื่อวิเคราะห์ค่า retention time ของสาหร่าย *Solieria robusta*

No.	retention time	Area	Conc. 1g/L	BC
1	4.770	13413	0.000000	BB
2	12.733	13491888	0.000000	BV
3	14.097	15131818	0.000000	VB
4	17.643	92439	0.000000	BB
5	19.157	100217	0.000000	BB
6	27.717	2698296	0.000000	BB
		31528071	0.000000	

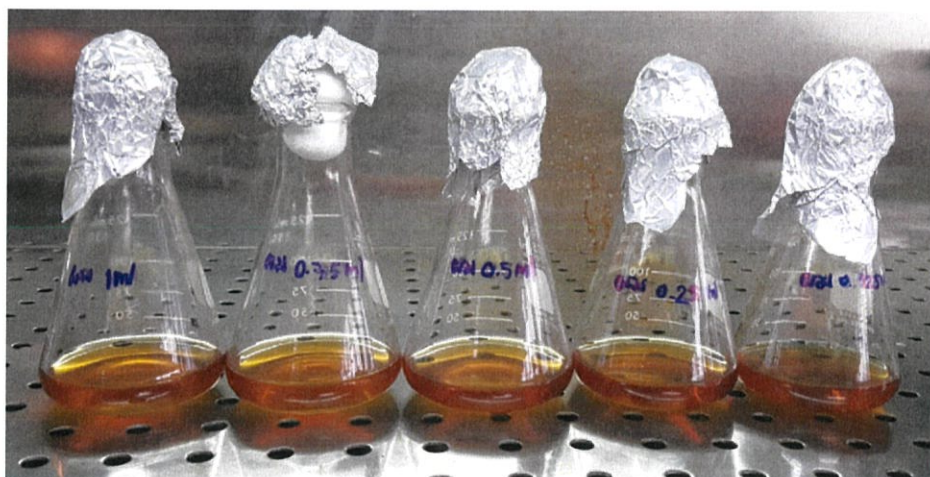
ภาพแสดงอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมน้ำตาลมาตรฐานและสารสกัดฟรีไบโอดีคจากสาหร่าย 3 ชนิดคือ *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta*



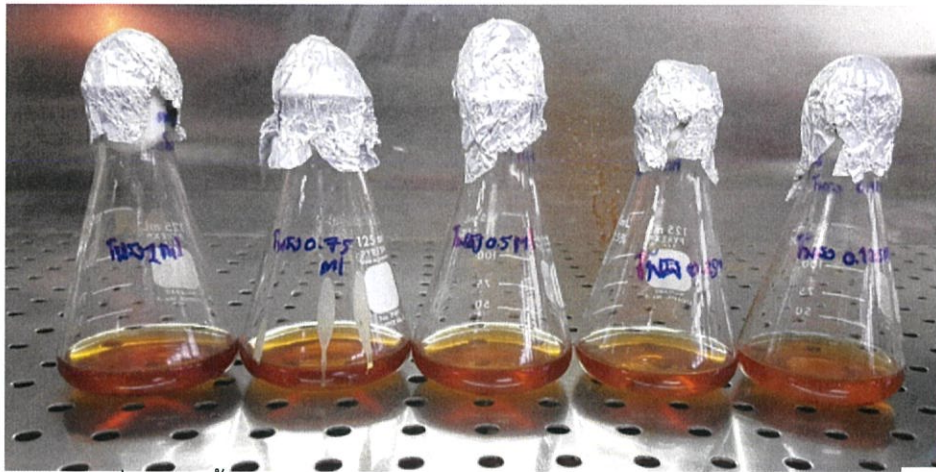
รูปที่ ข-13 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 0



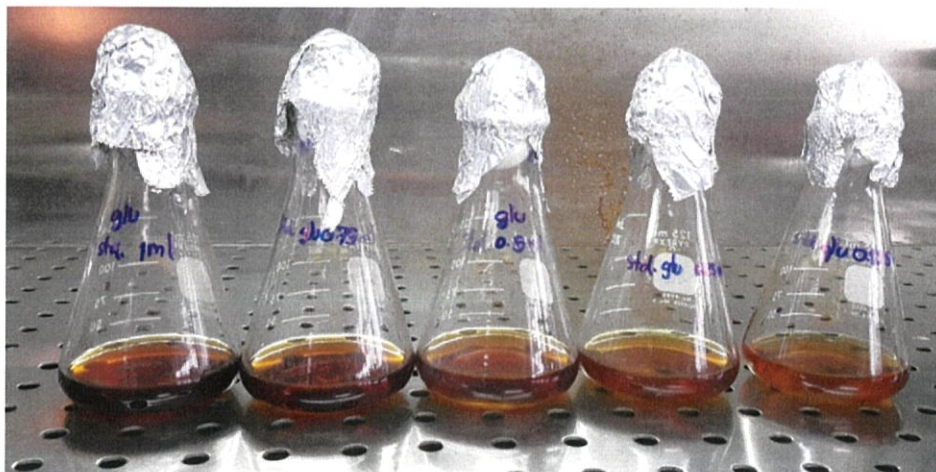
รูปที่ ข-14 เชื้อจุลินทรีย์ เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สารสกัด *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 0



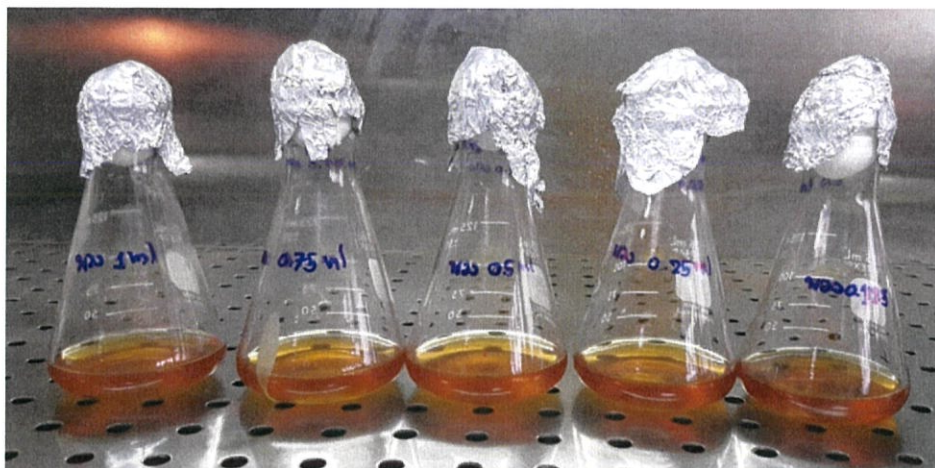
รูปที่ ข-15 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สารสกัด *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ใน ชั่วโมงที่ 0



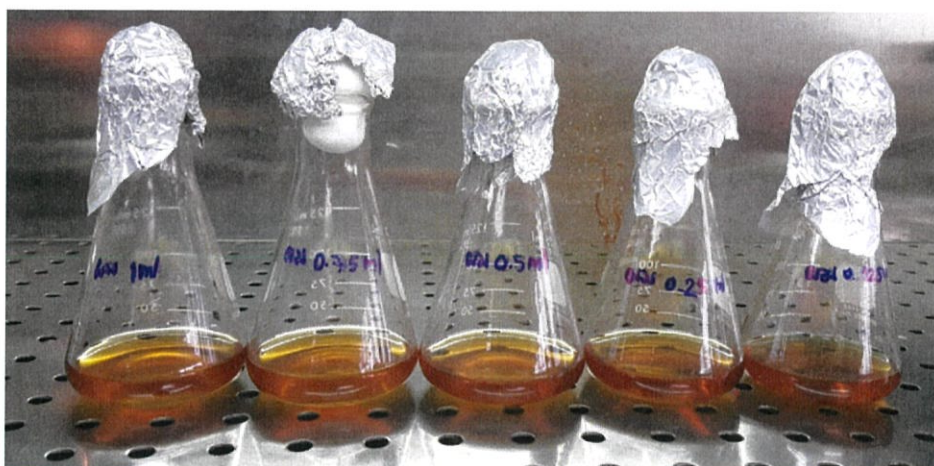
รูปที่ ข-16 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สารสกัด *Soliera robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 0



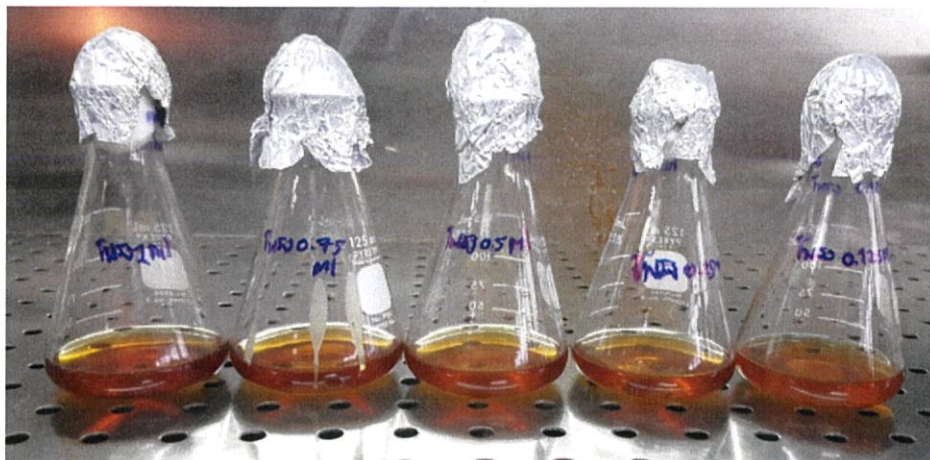
รูปที่ ข-17 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 12



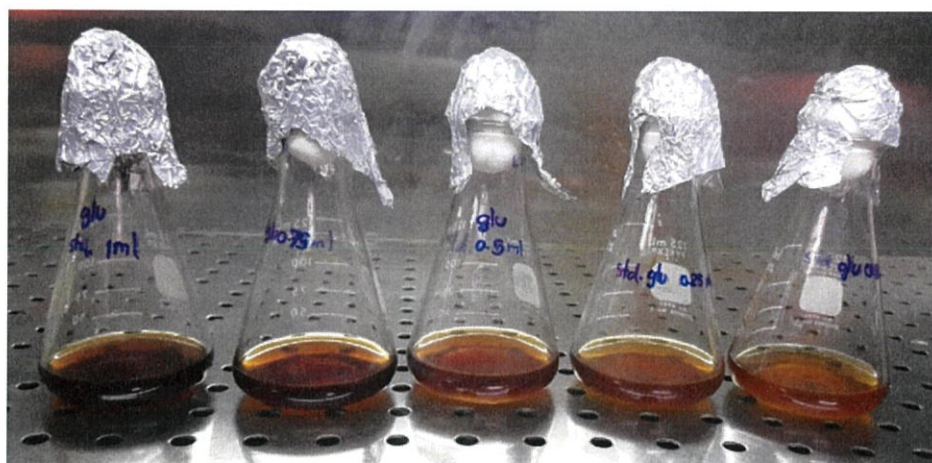
รูปที่ ข-18 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สารสกัด *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 12



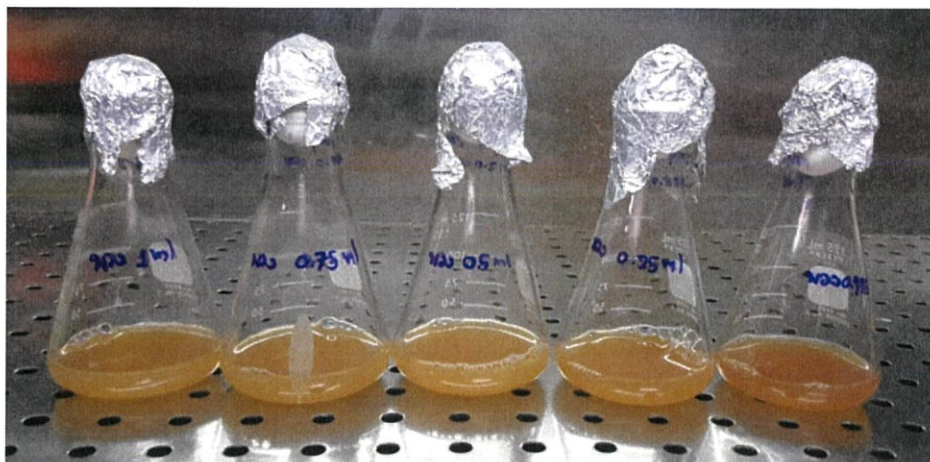
รูปที่ ข-19 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สารสกัด *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 12



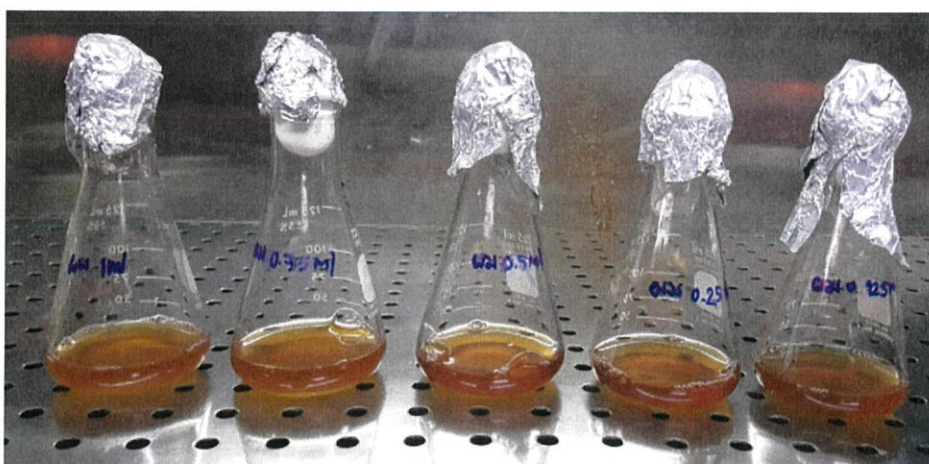
รูปที่ ข-20 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สารสกัด *Soliera robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 12



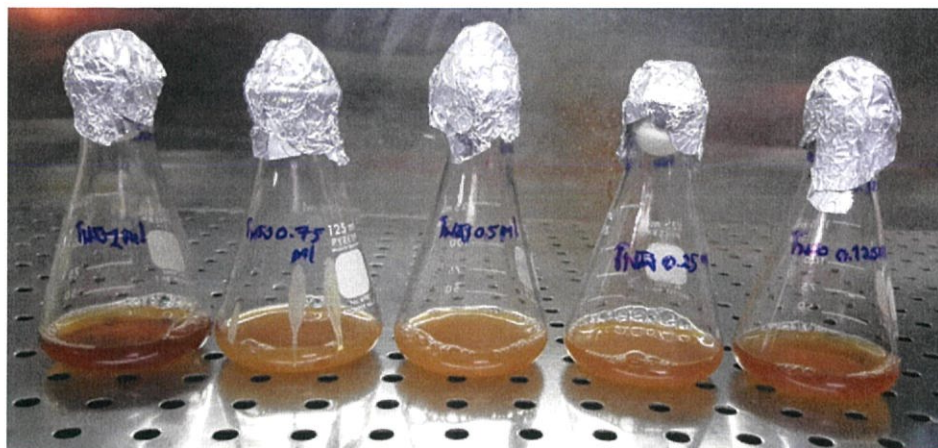
รูปที่ ข-21 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 24



รูปที่ ข-22 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สารสกัด *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 24



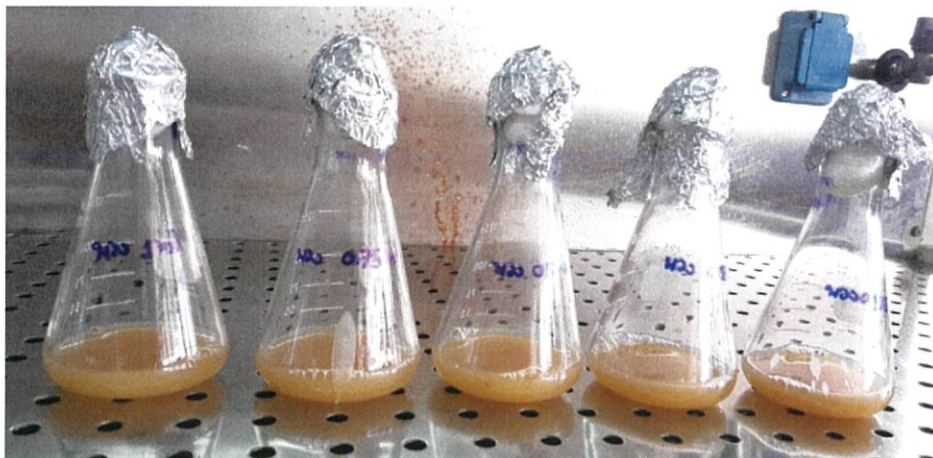
รูปที่ ข-23 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สารสกัด *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 24



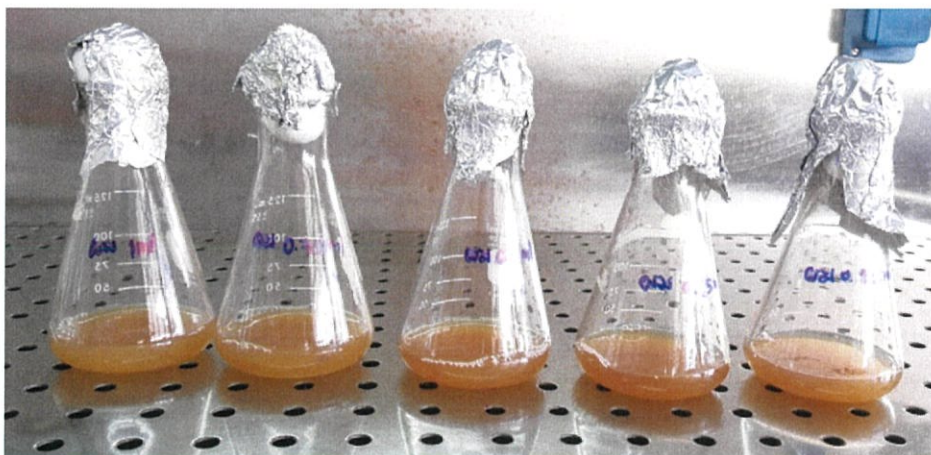
รูปที่ ข-24 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สารสกัด *Soliera robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 24



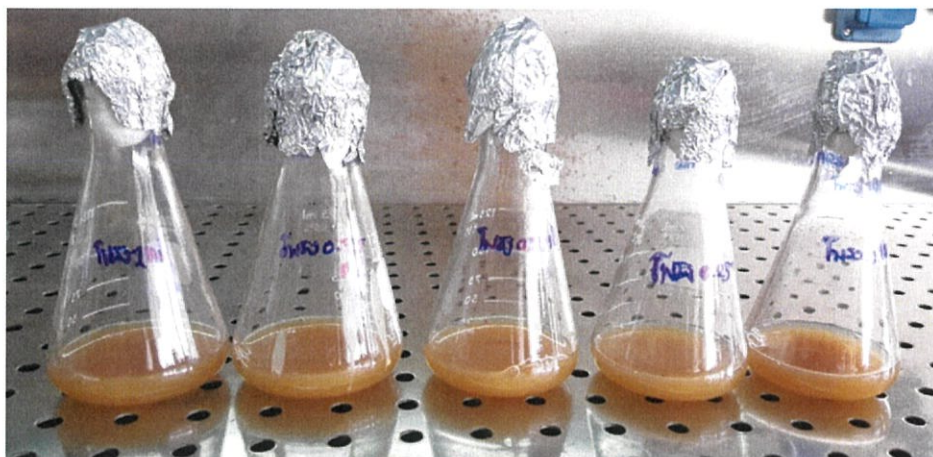
รูปที่ ข-25 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 36



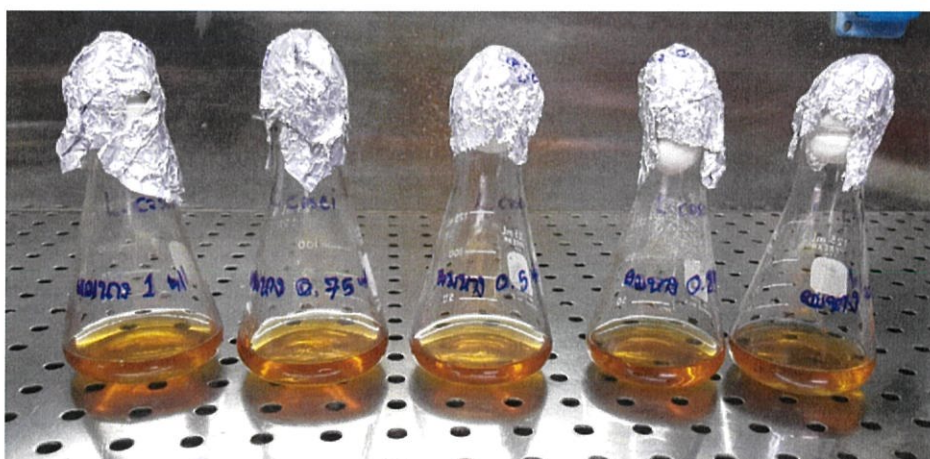
รูปที่ ข-26 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สารสกัด *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 36



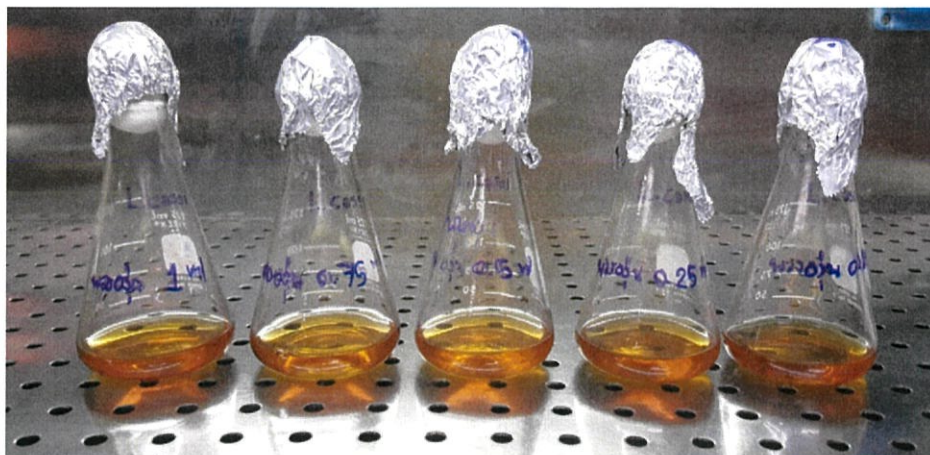
รูปที่ ข-27 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สารสกัด *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ใน ชั่วโมงที่ 36



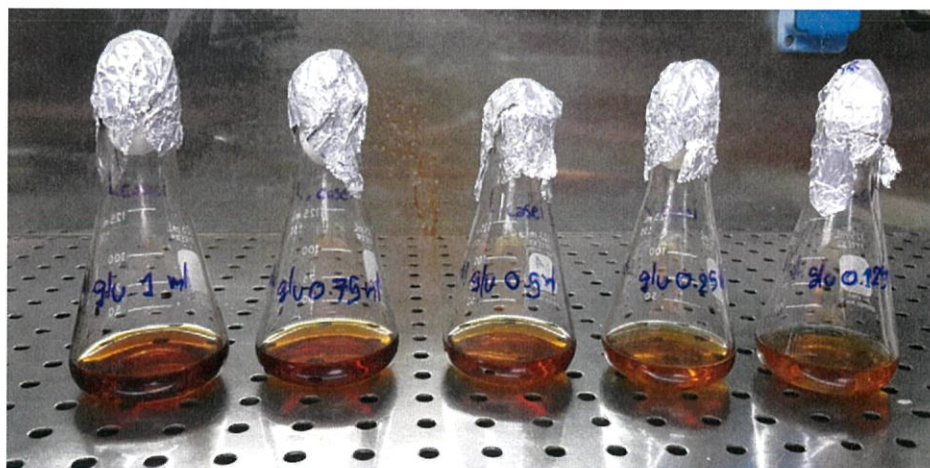
รูปที่ ข-28 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 สารสกัด *Soliera robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 36



รูปที่ ข-29 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 0



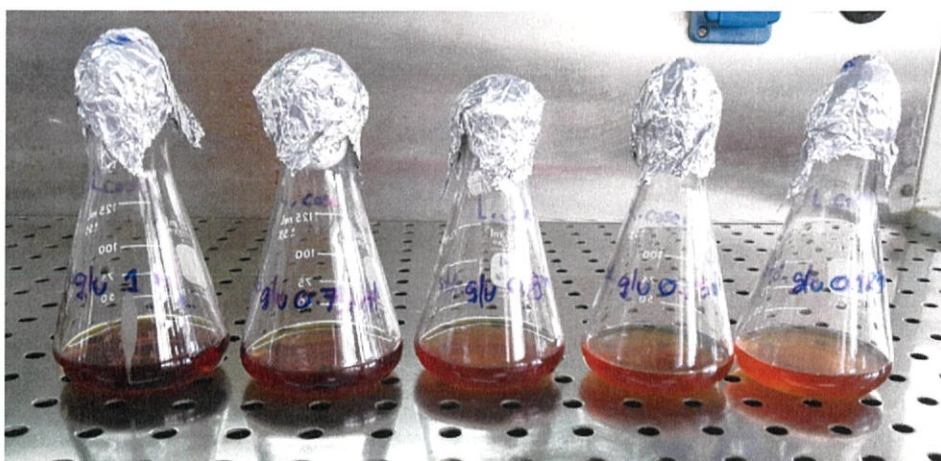
รูปที่ ข-30 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 สารสกัด *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 0



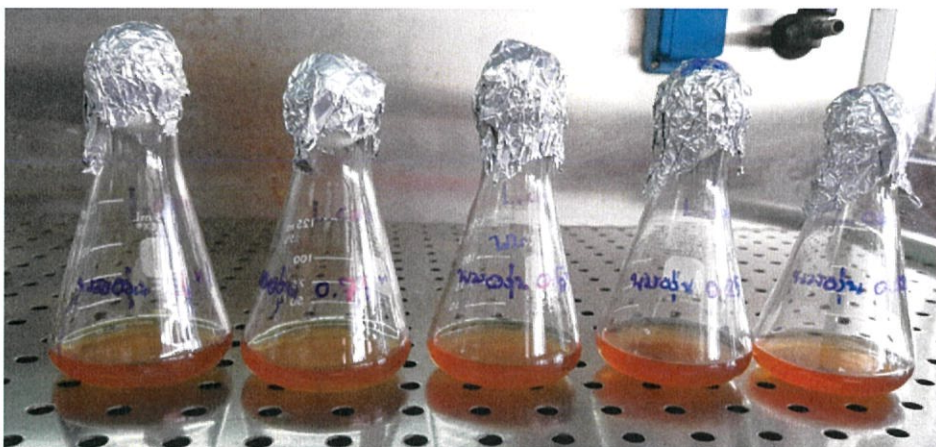
รูปที่ ข-31 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 สารสกัด *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 0



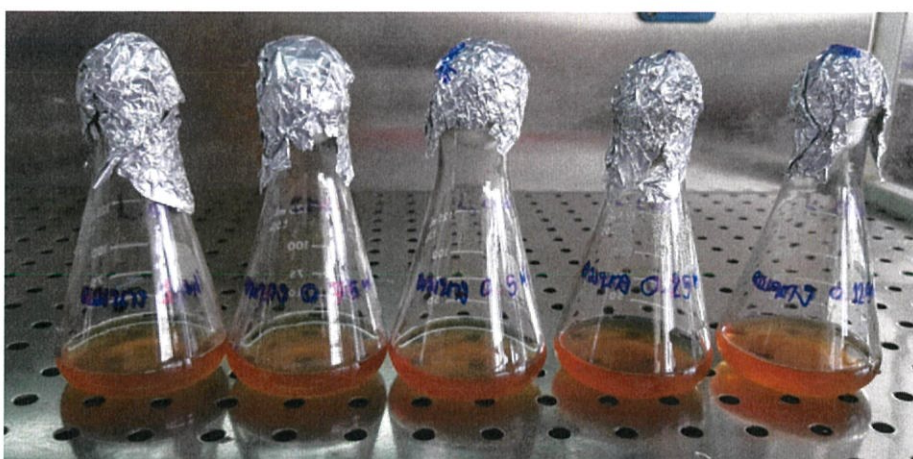
รูปที่ ข-32 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 สารสกัด *Soliera robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 0



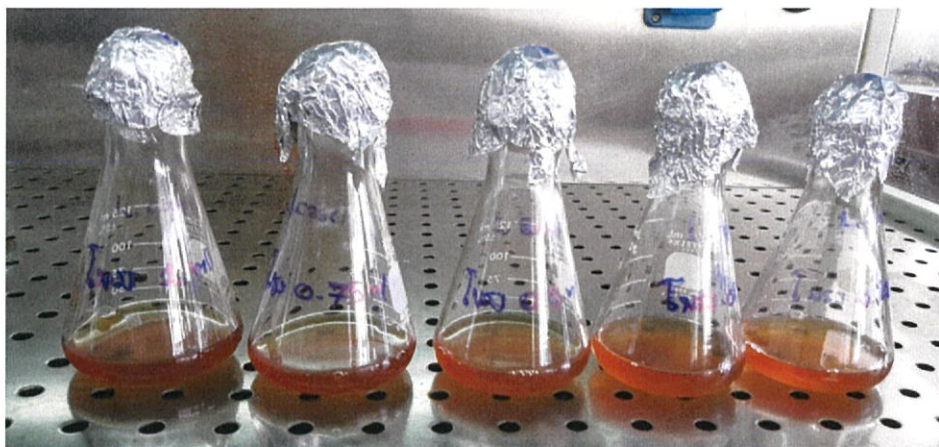
รูปที่ ข-33 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 12



รูปที่ ข-34 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 สารสกัด *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 12



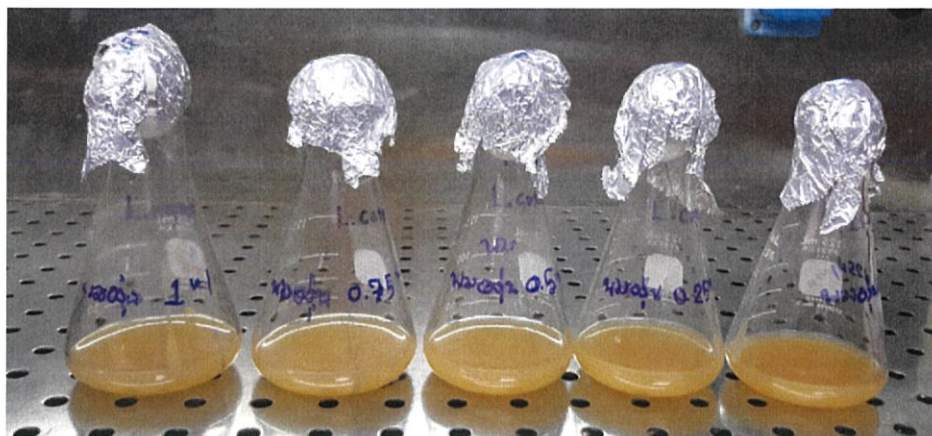
รูปที่ ข-35 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 สารสกัด *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 12



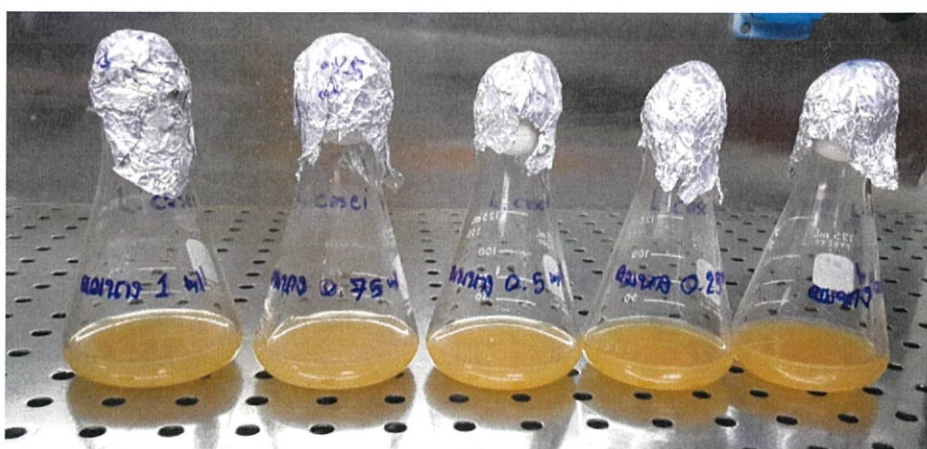
รูปที่ ข-36 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 สารสกัด *Soliera robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 12



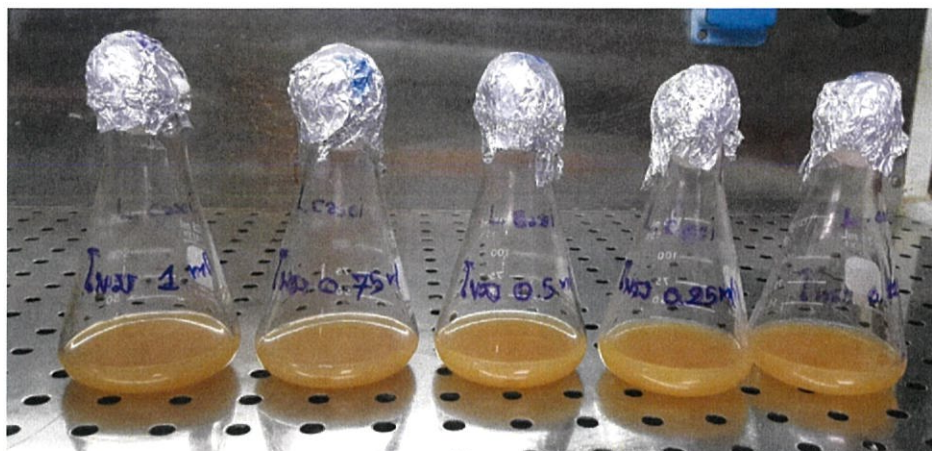
รูปที่ ข-37 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 24



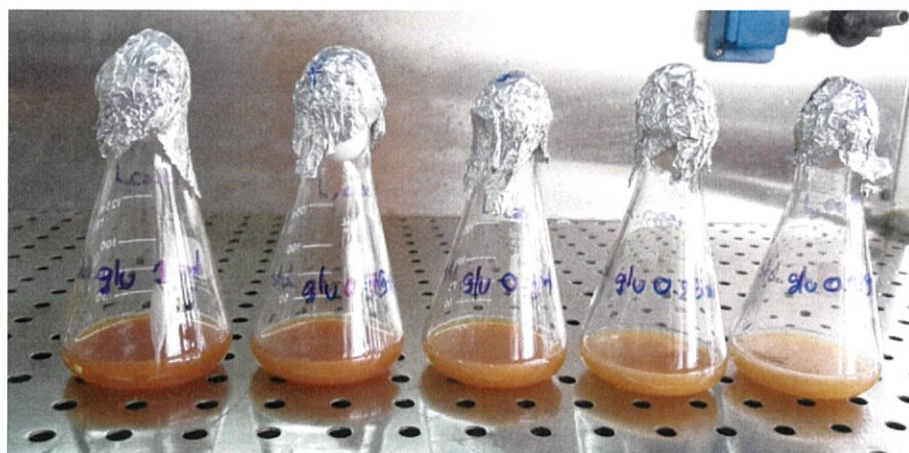
รูปที่ ข-38 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 สารสกัด *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 24



รูปที่ ข-39 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 สารสกัด *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 24



รูปที่ ข-40 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 สารสกัด *Soliera robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 24



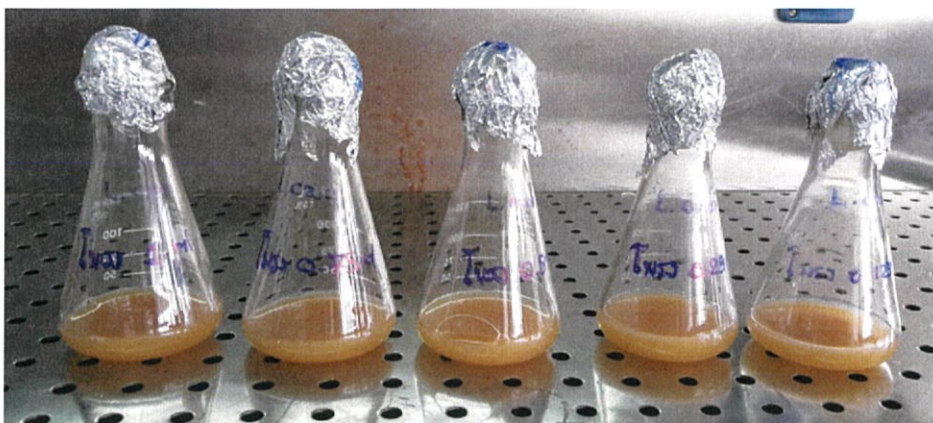
รูปที่ ข-41 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 36



รูปที่ ข-42 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 สารสกัด *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 36



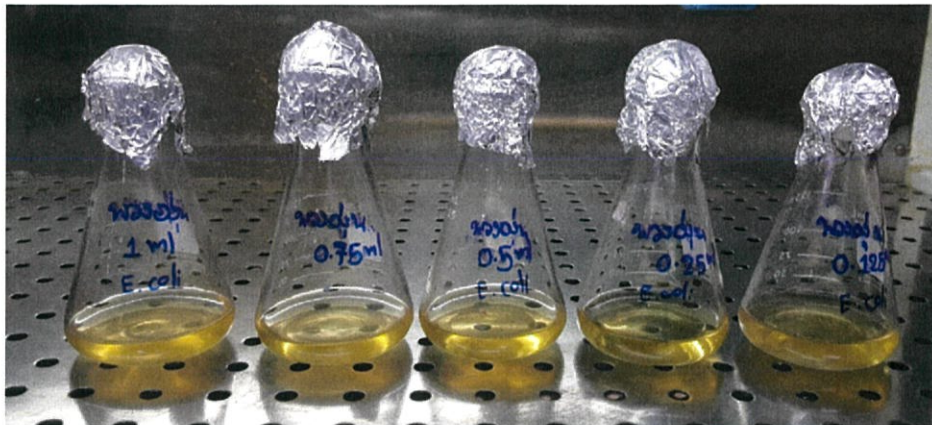
รูปที่ ข-43 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 สารสกัด *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 36



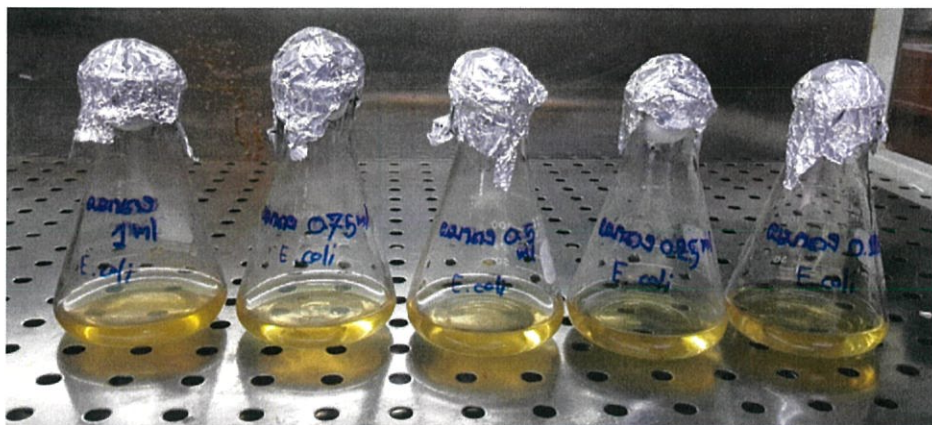
รูปที่ ข-44 เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 สารสกัด *Soliera robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 36



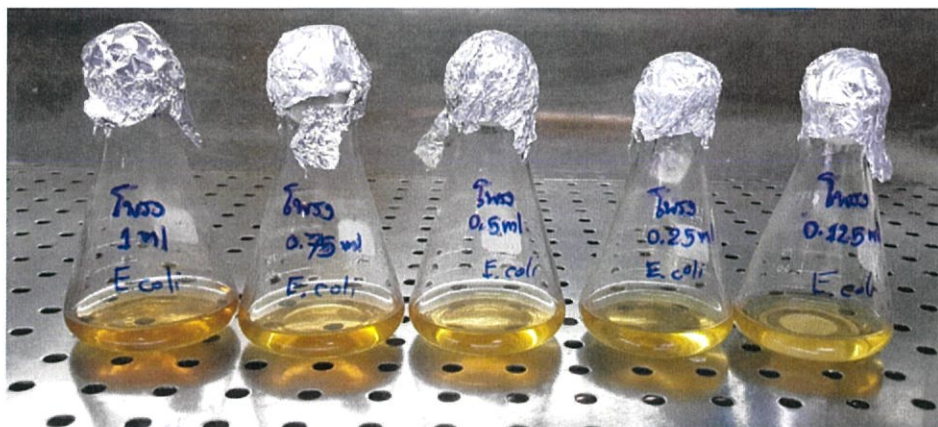
รูปที่ ข-45 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC1261 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 0



รูปที่ ข-46 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC1261 สารสกัด *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 0



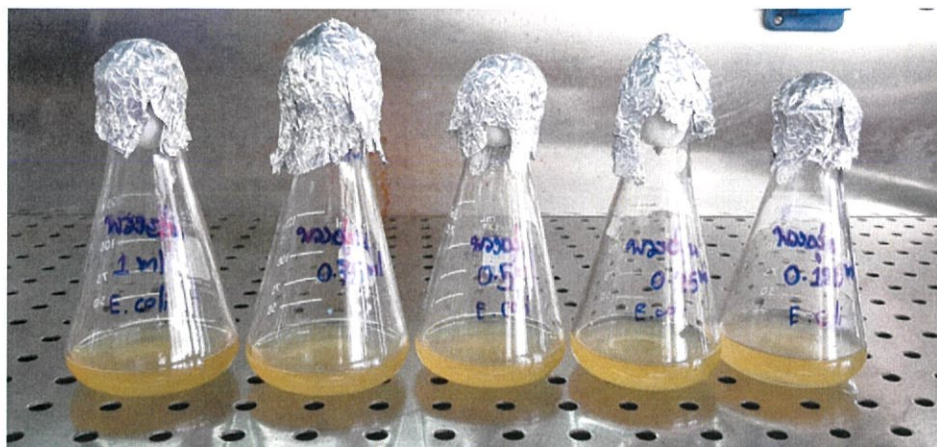
รูปที่ ข-47 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC1261 สารสกัด *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 0



รูปที่ ข-48 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC1261 สารสกัด *Soliera robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 0



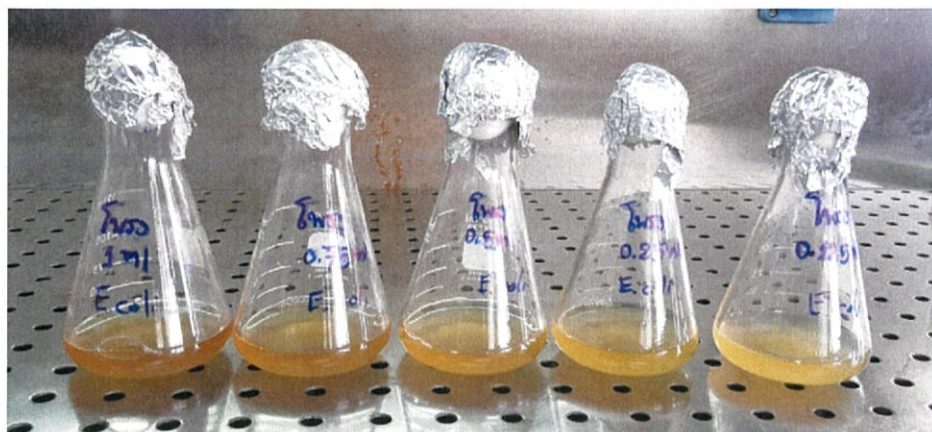
รูปที่ ข-49 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC1261 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 12



รูปที่ ข-50 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC1261 สารสกัด *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 12



รูปที่ ข-51 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC1261 สารสกัด *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 12



รูปที่ ข-52 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC1261 สารสกัด *Soliera robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 12



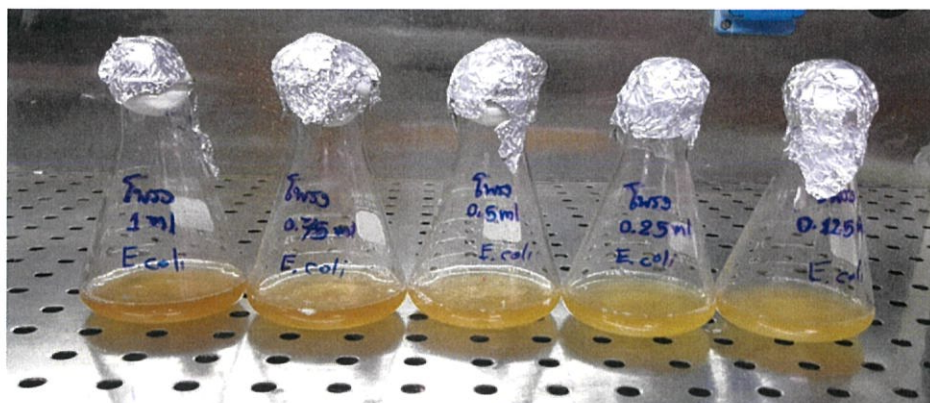
รูปที่ ข-53 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC1261 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 24



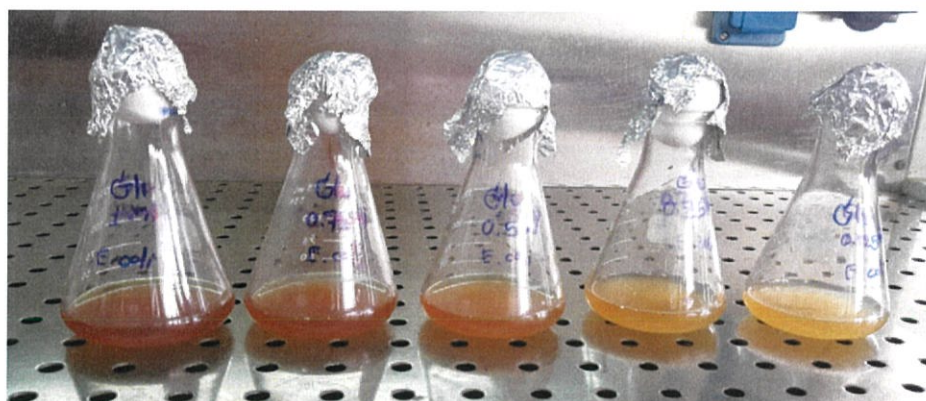
รูปที่ ข-54 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC1261 สารสกัด *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 24



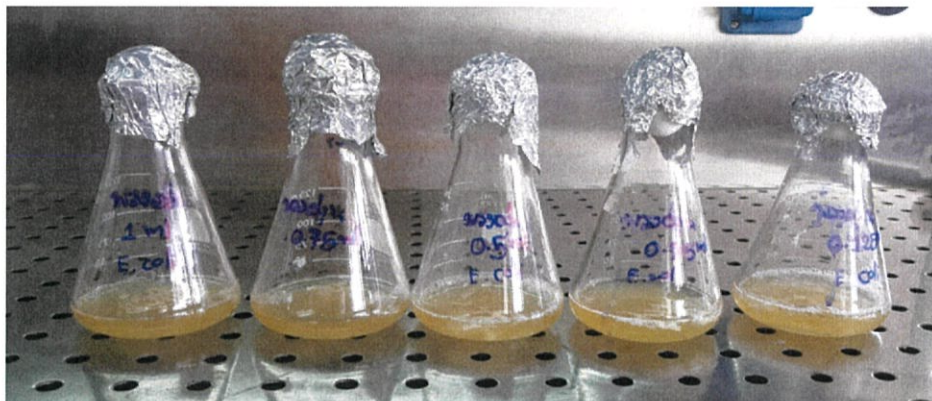
รูปที่ ข-55 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC1261 สารสกัด *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 24



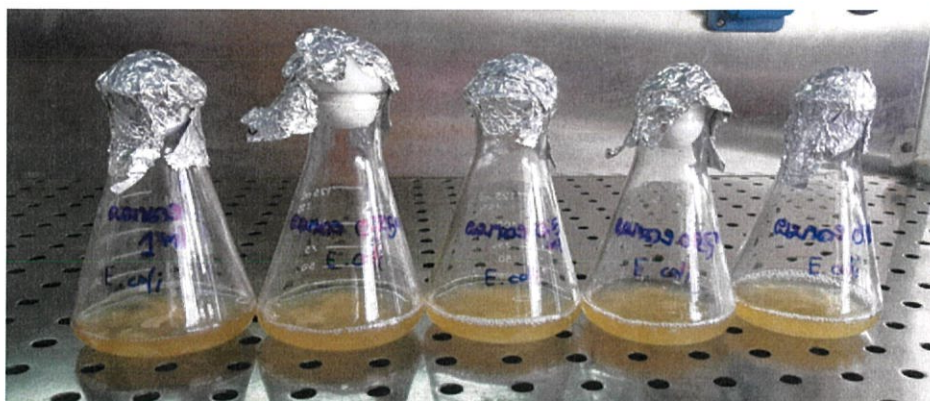
รูปที่ ข-56 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC1261 สารสกัด *Soliera robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 24



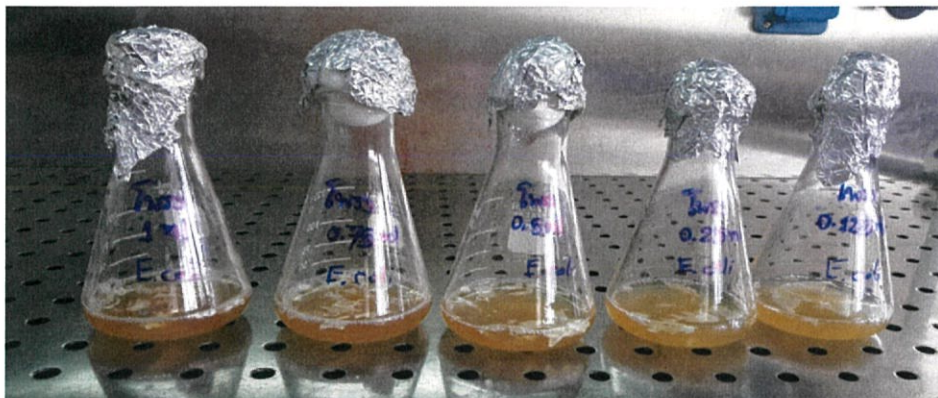
รูปที่ ข-57 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC1261 สารสกัด Glucose ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 36



รูปที่ ข-58 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC1261 สารสกัด *Caulerpa lentillifera* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 36

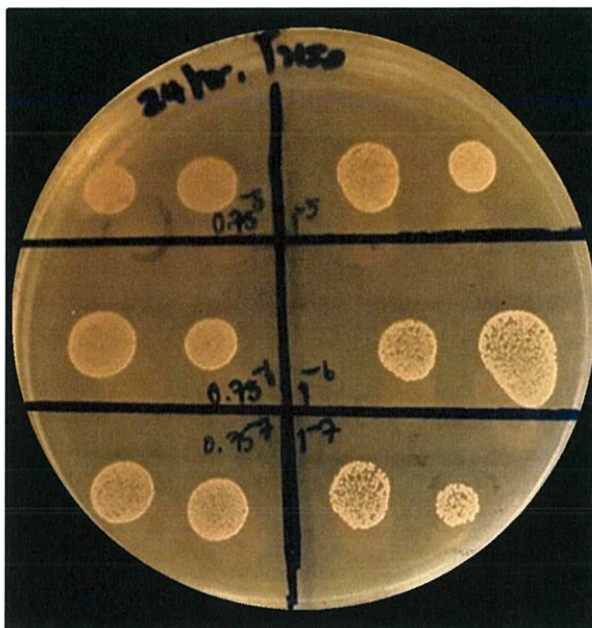


รูปที่ ข-59 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC1261 สารสกัด *Gracilaria fisheri* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 36



รูปที่ ข-60 เชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC1261 สารสกัด *Solieria robusta* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4, 3, 2, 1, 0.5 มิลลิลิตร (เรียงจากซ้ายไปขวา) ในชั่วโมงที่ 36

ภาคผนวก ค



รูปที่ ค-1 ตัวอย่างเพลทที่ใช้วิธีการดรอปปเพลทเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 และ *Lactobacillus casei* TISTR1463 บนอาหารแข็ง MRS



รูปที่ ค-2 ตัวอย่างเพลทที่ใช้วิธีการดรอปปเพลทเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli* ATCC1261 บนอาหารแข็ง EMB

ภาคผนวก ง ตารางการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ต่อสารสกัดทั้ง 3 ชนิดและน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน

ตารางที่ ง-1 จำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 ต่อสารสกัดทั้ง 3 ชนิดและน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน (ในหน่วย $\times 10^9$ โคโลนีต่อมิลลิตร)

สาร	ชั่วโมง									
	0					12				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4	0.5	1	2	3	4
Glucose	1	1	1	2	1	1	1	1	3	1
<i>Caulerpa lentillifera</i>	1	1	2	3	4	1	2	3	7	8
<i>Gracilaria fisheri</i>	1	1	4	3	1	1	1	3	2	1
<i>Solieria robusta</i>	1	2	3	1	2	3	5	7	7	14

สาร	ชั่วโมง									
	24					36				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4	0.5	1	2	3	4
Glucose	2	3	3	12	10	15	42	107	130	127
<i>Caulerpa lentillifera</i>	5	7	20	40	42	16	29	41	60	87
<i>Gracilaria fisheri</i>	4	6	10	3	4	40	53	62	47	54
<i>Solieria robusta</i>	12	30	54	50	26	51	62	80	89	94

ตารางที่ ง-2 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ ด้วยวิธีทางสถิติของจำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 ต่อสารสกัด ทั้ง 3 ชนิดและน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่มีอิทธิพลร่วมกัน $P < 0.05$ (ในหน่วย $\times 10^9$ โคโลนีต่อมิลลิตร)

สาร	ชั่วโมง				
	0				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4
Glucose	1±0.00 ^r	1±1.00 ^r	1±0.00 ^r	2±1.00 ^{qr}	1±0.00 ^r
<i>Caulerpa lentillifera</i>	1±0.00 ^r	1±1.00 ^r	2±1.00 ^{qr}	3±1.00 ^{qr}	4±1.00 ^{pqr}
<i>Gracilaria fisheri</i>	1±1.00 ^r	1±0.00 ^r	4±1.00 ^{pqr}	3±1.00 ^{qr}	1±0.00 ^r
<i>Solieria robusta</i>	1±0.00 ^r	2±1.00 ^{qr}	3±1.00 ^{qr}	1±0.00 ^r	2±0.00 ^{qr}

สาร	ชั่วโมง				
	12				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4
Glucose	1±1.00 ^r	1±0.00 ^r	1±0.00 ^r	3±1.73 ^{qr}	1±0.00 ^r
<i>Caulerpa lentillifera</i>	1±0.00 ^r	2±0.00 ^{qr}	3±1.00 ^{qr}	7±2.00 ^{nopqr}	8±1.00 ^{mnpqr}
<i>Gracilaria fisheri</i>	1±0.00 ^r	1±1.00 ^r	3±0.00 ^{qr}	2±1.00 ^{qr}	1±0.00 ^r
<i>Solieria robusta</i>	3±1.00 ^{qr}	5±2.00 ^{pqr}	7±1.73 ^{nopqr}	7±2.00 ^{nopqr}	14±1.00 ^{lmno}

ตารางที่ ง-2 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ ด้วยวิธีทางสถิติของจำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 ต่อสารสกัด ทั้ง 3 ชนิดและน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่มีอิทธิพลร่วมกัน $P < 0.05$ (ในหน่วย $\times 10^9$ โคโลนีต่อมิลลิตร) (ต่อ)

สาร	ชั่วโมง				
	24				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4
Glucose	2±1.73 ^{qr}	3±1.00 ^{qr}	3±0.00 ^{qr}	12±3.61 ^{lmnop}	10±2.65 ^{mnpq}
<i>Caulerpa lentillifera</i>	5±1.73 ^{pqr}	7±2.65 ^{nopqr}	20±4.36 ^{kl}	40±4.00 ⁱ	42±4.00 ^{hi}
<i>Gracilaria fisheri</i>	4±1.00 ^{pqr}	6±2.00 ^{opqr}	10±2.00 ^{mnpq}	3±0.00 ^{qr}	4±1.00 ^{pqr}
<i>Solieria robusta</i>	12±1.00 ^{lmnop}	30±3.00 ^j	54±2.00 ^{efg}	50±1.00 ^{gh}	26±2.65 ^{jk}

สาร	ชั่วโมง				
	36				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4
Glucose	15±3.00 ^{lmn}	42±3.61 ^{hi}	107±7.00 ^b	130±9.54 ^a	127±6.00 ^a
<i>Caulerpa lentillifera</i>	16±4.00 ^{lm}	29±3.61 ^j	41±3.61 ⁱ	60±5.00 ^{ef}	87±2.65 ^{cd}
<i>Gracilaria fisheri</i>	40±3.00 ⁱ	53±3.00 ^{fg}	62±3.61 ^e	47±2.00 ^{ghi}	54±3.00 ^{efg}
<i>Solieria robusta</i>	51±1.73 ^g	62±2.00 ^e	80±3.00 ^d	89±3.00 ^c	94±4.00 ^c

ตารางที่ ง-3 จำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 ต่อสารสกัดทั้ง 3 ชนิด และน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน (ในหน่วย $\times 10^9$ โคโลนีต่อมิลลิตร)

สาร	ชั่วโมง									
	0					12				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4	0.5	1	2	3	4
Glucose	1	1	1	1	2	1	1	2	6	8
<i>Caulerpa lentillifera</i>	3	3	3	2	1	10	18	24	17	12
<i>Gracilaria fisheri</i>	1	1	1	1	1	1	2	3	3	4
<i>Solieria robusta</i>	1	1	1	1	1	12	8	7	7	8

สาร	ชั่วโมง									
	24					36				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4	0.5	1	2	3	4
Glucose	26	17	13	9	8	57	32	30	26	13
<i>Caulerpa lentillifera</i>	27	31	44	47	50	33	53	60	51	50
<i>Gracilaria fisheri</i>	140	142	164	160	155	160	174	180	182	187
<i>Solieria robusta</i>	123	73	68	61	60	160	123	99	92	73

ตารางที่ ง-4 จำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 ต่อสารสกัดทั้ง 3 ชนิด และน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่มีอิทธิพลร่วมกัน $P < 0.05$ (ในหน่วย $\times 10^9$ โคโลนีต่อมิลลิตร)

สาร	ชั่วโมง				
	0				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4
Glucose	1±0.00 ^y	1±0.00 ^y	1±1.00 ^y	1±1.00 ^y	2±1.00 ^y
<i>Caulerpa lentillifera</i>	3±2.00 ^y	3±1.00 ^y	3±0.00 ^y	2±1.00 ^y	1±0.00 ^y
<i>Gracilaria fisheri</i>	1±0.00 ^y	1±1.00 ^y	1±0.00 ^y	1±0.00 ^y	1±0.00 ^y
<i>Solieria robusta</i>	1±1.00 ^y	1±0.00 ^y	1±0.00 ^y	1±1.00 ^y	1±0.00 ^y

สาร	ชั่วโมง				
	12				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4
Glucose	1±0.00 ^y	1±1.00 ^y	2±0.00 ^y	6±2.00 ^y	8±1.73 ^{tuwx}
<i>Caulerpa lentillifera</i>	10±1.73 ^{tuv}	18±2.65 ^{rs}	24±1.73 ^{qr}	17±2.65 ^s	12±1.00 ^{stu}
<i>Gracilaria fisheri</i>	1±0.00 ^y	2±1.00 ^y	3±2.00 ^y	3±1.00 ^y	4±1.00 ^y
<i>Solieria robusta</i>	12±1.73 ^{stu}	8±1.73 ^{tuwx}	7±2.00 ^y	7±1.00 ^y	8±1.00 ^{tuwx}

ตารางที่ ง-4 จำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* TISTR1463 ต่อสารสกัดทั้ง 3 ชนิด และน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่มีอิทธิพลร่วมกัน $P < 0.05$ (ในหน่วย $\times 10^9$ โคโลนีต่อมิลลิตร) (ต่อ)

สาร	ชั่วโมง				
	24				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4
Glucose	26±2.00 ^{pq}	17±1.00 ^s	13±2.00 st	9±2.00 ^{tuvw}	8±2.00 ^{tuwx}
<i>Caulerpa lentillifera</i>	27±2.00 ^{opq}	31±1.53 ^{opq}	44±3.00 ⁿ	47±3.00 ^{mn}	50±3.00 ^{mn}
<i>Gracilaria fisheri</i>	140±3.00 ^f	142±3.00 ^f	164±1.00 ^d	160±2.00 ^{de}	155±1.73 ^e
<i>Solieria robusta</i>	123±3.00 ^g	73±2.00 ^j	68±3.61 ^j	61±2.00 ^k	60±1.00 ^k

สาร	ชั่วโมง				
	36				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4
Glucose	57±1.73 ^{kl}	32±1.00 ^{op}	30±3.00 ^{opq}	26±2.65 ^{pq}	13±2.00 st
<i>Caulerpa lentillifera</i>	33±2.00 ^o	53±2.65 ^{lm}	60±3.61 ^k	51±1.00 ^{lm}	50±2.00 ^{mn}
<i>Gracilaria fisheri</i>	160±3.00 ^{de}	174±2.00 ^c	180±3.00 ^{bc}	182±2.00 ^{ab}	187±2.00 ^a
<i>Solieria robusta</i>	160±3.00 ^{de}	123±3.00 ^g	99±3.00 ^h	92±3.00 ⁱ	73±2.00 ^j

ตารางที่ ง-5 จำนวนโคโลนีของเชื้อ *Escherichia coli* ATCC1261 ต่อสารสกัดทั้ง 3 ชนิด และน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน (ในหน่วย $\times 10^9$ โคโลนีต่อ มิลลิลิตร)

สาร	ชั่วโมง									
	0					12				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4	0.5	1	2	3	4
Glucose	1	2	2	3	4	39	21	17	13	10
<i>Caulerpa lentillifera</i>	1	2	2	3	1	62	61	31	24	13
<i>Gracilaria fisheri</i>	2	2	3	3	3	29	27	21	17	14
<i>Solieria robusta</i>	1	1	2	2	2	24	27	72	83	99

สาร	ชั่วโมง									
	24					36				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4	0.5	1	2	3	4
Glucose	90	70	75	66	60	170	150	148	144	130
<i>Caulerpa lentillifera</i>	198	190	160	121	119	140	132	111	109	87
<i>Gracilaria fisheri</i>	171	169	161	118	114	109	96	90	87	80
<i>Solieria robusta</i>	147	130	119	116	110	99	96	89	87	74

ตารางที่ ง-6 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ ด้วยวิธีทางสถิติของจำนวนโคโลนีของเชื้อ *Escherichia coli* ATCC1261 ต่อสารสกัดทั้ง 3 ชนิด และ น้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่มีอิทธิพลร่วมกัน $P < 0.05$ (ในหน่วย $\times 10^9$ โคโลนีต่อมิลลิตร)

สาร	ชั่วโมง				
	0				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4
Glucose	1.00 ± 1.00^z	2.00 ± 1.00^z	2.00 ± 0.00^z	3.00 ± 1.00^{yz}	4.00 ± 1.00^{yz}
<i>Caulerpa lentillifera</i>	1.00 ± 0.00^z	2.00 ± 1.00^z	2.00 ± 0.00^z	3.00 ± 1.00^{yz}	1.00 ± 0.00^z
<i>Gracilaria fisheri</i>	2.00 ± 1.00^z	2.00 ± 1.00^z	3.00 ± 0.00^{yz}	3.00 ± 1.00^{yz}	3.00 ± 1.00^{yz}
<i>Solieria robusta</i>	1.00 ± 1.00^z	1.00 ± 0.00^z	2.00 ± 0.00^z	2.00 ± 1.00^z	2.00 ± 1.00^z

สาร	ชั่วโมง				
	12				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4
Glucose	39.00 ± 2.00^s	21.00 ± 1.00^{uvw}	17.00 ± 3.00^{vwx}	13.00 ± 1.00^x	10.00 ± 2.00^{xy}
<i>Caulerpa lentillifera</i>	62.00 ± 3.00^r	61.00 ± 4.00^r	31.00 ± 2.00^t	24.00 ± 2.65^{tuv}	13.00 ± 2.00^x
<i>Gracilaria fisheri</i>	29.00 ± 3.00^t	27.00 ± 2.00^{tu}	21.00 ± 2.65^{uvw}	17.00 ± 3.00^{vwx}	14.00 ± 3.00^{wx}
<i>Solieria robusta</i>	24.00 ± 3.00^{tuv}	27.00 ± 3.00^{tu}	72.00 ± 3.00^{pq}	83.00 ± 1.73^{mn}	99.00 ± 3.00^k

ตารางที่ ง-6 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ ด้วยวิธีทางสถิติของจำนวนโคโลนีของเชื้อ *Escherichia coli* ATCC1261 ต่อสารสกัดทั้ง 3 ชนิด และ น้ำตาลกลูโคสมาตรฐานที่มีอิทธิพลร่วมกัน $P < 0.05$ (ในหน่วย $\times 10^9$ โคโลนีต่อมิลลิตร) (ต่อ)

สาร	ชั่วโมง				
	24				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4
Glucose	90.00 \pm 3.00 ^{lm}	70.00 \pm 2.00 ^{pq}	75.00 \pm 2.65 ^{op}	66.00 \pm 1.73 ^{qr}	60.00 \pm 1.00 ^r
<i>Caulerpa lentillifera</i>	198.00 \pm 1.73 ^a	190.00 \pm 1.73 ^b	160.00 \pm 1.73 ^d	121.00 \pm 2.65 ^h	119.00 \pm 3.00 ^h
<i>Gracilaria fisheri</i>	171.00 \pm 2.00 ^c	169.00 \pm 3.00 ^c	161.00 \pm 3.00 ^d	118.00 \pm 3.00 ^{hi}	114.00 \pm 3.00 ^{hij}
<i>Solieria robusta</i>	147.00 \pm 2.65 ^{ef}	130.00 \pm 2.00 ^s	119.00 \pm 1.73 ^h	116.00 \pm 1.00 ^{hij}	110.00 \pm 2.65 ^j

สาร	ชั่วโมง				
	36				
ความเข้มข้น	0.5	1	2	3	4
Glucose	170.00 \pm 3.61 ^c	150.00 \pm 1.73 ^e	148.00 \pm 2.65 ^e	144.00 \pm 2.00 ^{ef}	130.00 \pm 2.00 ^s
<i>Caulerpa lentillifera</i>	140.00 \pm 1.73 ^f	132.00 \pm 1.00 ^s	111.00 \pm 2.00 ^{ij}	109.00 \pm 3.00 ^j	87.00 \pm 1.73 ^{mn}
<i>Gracilaria fisheri</i>	109.00 \pm 3.00 ^j	96.00 \pm 2.65 ^{kl}	90.00 \pm 3.00 ^{lm}	87.00 \pm 1.73 ^{mn}	80.00 \pm 3.00 ^{no}
<i>Solieria robusta</i>	99.00 \pm 2.65 ^k	96.00 \pm 2.65 ^{kl}	89.00 \pm 2.00 ^{lm}	87.00 \pm 3.00 ^{mn}	74.00 \pm 1.73 ^{op}

ตารางที่ ง-7 การเจริญของเชื้อ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465, *Lactobacillus casei* TISTR1463 และ *Escherichia coli* ATCC1261 ที่ความเข้มข้นของสารสกัดพืชใบโศลก 0.5, 1, 2, 3, และ 4 จากสหาย *Caulerpa lentillifera*, *Gracilaria fisheri* และ *Solieria robusta* ที่ช่วงเวลาที่ 36 ของการทดลอง

สารสกัด	<i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR1465 (CFU/ml)	<i>Lactobacillus Casei</i> TISTR1463 (CFU/ml)	<i>Escherichia coli</i> ATCC1261 (CFU/ml)
Glucose 0.5	15×10 ⁹ ±3.00 ^{lmn}	57×10 ⁹ ±1.73 ^{kl}	170×10 ⁹ ±3.61 ^c
<i>Caulerpa lentillifera</i> 0.5	16×10 ⁹ ±4.00 ^{lm}	33×10 ⁹ ±2.00 ^o	14×10 ⁹ ±1.73 ^f
<i>Gracilaria fisheri</i> 0.5	40×10 ⁹ ±3.00 ⁱ	160×10 ⁹ ±3.00 ^{de}	109×10 ⁹ ±3.00 ^j
<i>Solieria robusta</i> 0.5	51×10 ⁹ ±1.73 ^s	160×10 ⁹ ±3.00 ^{de}	99×10 ⁹ ±2.65 ^k
Glucose 1	42×10 ⁹ ±3.61 ^{hi}	32×10 ⁹ ±1.00 ^{op}	150×10 ⁹ ±1.73 ^e
<i>Caulerpa lentillifera</i> 1	29×10 ⁹ ±3.61 ^j	53×10 ⁹ ±2.65 ^{lm}	132×10 ⁹ ±1.00 ^s
<i>Gracilaria fisheri</i> 1	53×10 ⁹ ±3.00 ^{fs}	174×10 ⁹ ±2.00 ^c	96×10 ⁹ ±2.65 ^{kl}
<i>Solieria robusta</i> 1	62×10 ⁹ ±2.00 ^e	123×10 ⁹ ±3.00 ^s	96×10 ⁹ ±2.65 ^{kl}
Glucose 2	107×10 ⁹ ±7.00 ^b	30×10 ⁹ ±3.00 ^{opq}	148×10 ⁹ ± 2.65 ^e
<i>Caulerpa lentillifera</i> 2	41×10 ⁹ ±3.61 ⁱ	60×10 ⁹ ±3.61 ^k	111×10 ⁹ ± 2.00 ^{ij}
<i>Gracilaria fisheri</i> 2	62×10 ⁹ ±3.61 ^e	180×10 ⁹ ±3.00 ^{bc}	90×10 ⁹ ± 3.00 ^{lm}
<i>Solieria robusta</i> 2	80×10 ⁹ ±3.00 ^d	99×10 ⁹ ±3.00 ^h	89×10 ⁹ ± 2.00 ^{lm}
Glucose 3	130×10 ⁹ ±9.54 ^a	26×10 ⁹ ±2.65 ^{pq}	144×10 ⁹ ±2.00 ^{ef}
<i>Caulerpa lentillifera</i> 3	60×10 ⁹ ±5.00 ^{ef}	51×10 ⁹ ±1.00 ^{lm}	109×10 ⁹ ±3.00 ^j
<i>Gracilaria fisheri</i> 3	47×10 ⁹ ±2.00 ^{ghi}	182×10 ⁹ ±2.00 ^{ab}	87×10 ⁹ ±1.73 ^{mn}
<i>Solieria robusta</i> 3	89×10 ⁹ ±3.00 ^c	92×10 ⁹ ±3.00 ⁱ	87×10 ⁹ ±3.00 ^{mn}
Glucose 4	127×10 ⁹ ±6.00 ^a	13×10 ⁹ ±2.00 st	130 ×10 ⁹ ±2.00 ^s
<i>Caulerpa lentillifera</i> 4	87×10 ⁹ ±2.65 ^{cd}	50×10 ⁹ ±2.00 ^{mn}	87 ×10 ⁹ ±1.73 ^{mn}
<i>Gracilaria fisheri</i> 4	54×10 ⁹ ±3.00 ^{efg}	187×10 ⁹ ±2.00 ^a	80 ×10 ⁹ ±3.00 ^{no}
<i>Solieria robusta</i> 4	94×10 ⁹ ±4.00 ^c	73×10 ⁹ ±2.00 ^j	74 ×10 ⁹ ±1.73 ^{op}

ภาคผนวก จ

วิธีวิเคราะห์ทางสถิติของเชื้อ *Lactobacillus plantarum*

General Linear Model: ผล versus สารสกัด, ความเข้มข้น, เวลา
Method

Factor coding (-1, 0, +1)

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
สารสกัด	Fixed	4	1, 2, 3, 4
ความเข้มข้น	Fixed	5	1, 2, 3, 4, 5
เวลา	Fixed	4	1, 2, 3, 4

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
สารสกัด	3	7034	2344.7	367.80	0.000
ความเข้มข้น	4	14843	3710.9	582.10	0.000
เวลา	3	153545	51181.6	8028.49	0.000
สารสกัด*ความเข้มข้น	12	6177	514.8	80.75	0.000
สารสกัด*เวลา	9	17180	1908.9	299.44	0.000
ความเข้มข้น*เวลา	12	18767	1563.9	245.32	0.000
สารสกัด*ความเข้มข้น*เวลา	36	15452	429.2	67.33	0.000
Error	160	1020	6.4		
Total	239	234019			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
2.52488	99.56%	99.35%	99.02%

วิธีวิเคราะห์ทางสถิติของเชื้อ *Lactobacillus casei*

General Linear Model: ผล versus สารสกัด, ความเข้มข้น, เวลา
Method

Factor coding (-1, 0, +1)

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
สารสกัด	Fixed	4	1, 2, 3, 4
ความเข้มข้น	Fixed	5	1, 2, 3, 4, 5
เวลา	Fixed	4	1, 2, 3, 4

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
สารสกัด	3	168996	56332	15521.99	0.000
ความเข้มข้น	4	1564	391	107.73	0.000
เวลา	3	367841	122614	33785.58	0.000
สารสกัด*ความเข้มข้น	12	13392	1116	307.50	0.000
สารสกัด*เวลา	9	188416	20935	5768.58	0.000
ความเข้มข้น*เวลา	12	2956	246	67.88	0.000
สารสกัด*ความเข้มข้น*เวลา	36	13216	367	101.16	0.000
Error	160	581	4		
Total	239	756961			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
1.90504	99.92%	99.89%	99.83%

วิธีวิเคราะห์ทางสถิติของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค *Escherichia coli*

General Linear Model: ผล versus สารสกัด, ความเข้มข้น, เวลา
Method

Factor coding (-1, 0, +1)

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
สารสกัด	Fixed	4	1, 2, 3, 4
ความเข้มข้น	Fixed	5	1, 2, 3, 4, 5
เวลา	Fixed	4	1, 2, 3, 4

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
สารสกัด	3	9877	3292	691.33	0.000
ความเข้มข้น	4	15449	3862	810.96	0.000
เวลา	3	634389	211463	44401.67	0.000
สารสกัด*ความเข้มข้น	12	13186	1099	230.73	0.000
สารสกัด*เวลา	9	105020	11669	2450.15	0.000
ความเข้มข้น*เวลา	12	16699	1392	292.20	0.000
สารสกัด*ความเข้มข้น*เวลา	36	16886	469	98.49	0.000
Error	160	762	5		
Total	239	812268			

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
2.18232	99.91%	99.86%	99.79%



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำรับรองเล่มโครงการพิเศษ

วันที่ ๑ เดือน กรกฎาคม พ.ศ. ๒๕๖๑

ข้าพเจ้า นางสาว ปุณณดา อานมณี รหัสประจำตัว 57050853

นางสาว สุภัตรา อยู่สำราญ รหัสประจำตัว 57050910

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา
ขอรับรองว่าโครงการพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย ประสิทธิภาพความเป็นพรีไบโอติกของสาหร่ายทะเลต่อจุลินทรีย์โปรไบโอติก

ชื่อภาษาอังกฤษ Prebiotic efficiency of marine algae on probiotics microorganisms

ปีการศึกษา 2560 เป็นผลงานวิจัยที่มีได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่น และได้ผ่านการตรวจสอบ
ความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบ
จากเล่มโครงการพิเศษศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้วโปรแกรมอักขราวิสุทธิ์..... 0.00 %

ลงชื่อ.....
(นางสาวปุณณดา อานมณี)

นักศึกษา

ลงชื่อ.....
(นางสาวสุภัตรา อยู่สำราญ)

นักศึกษา

ข้าพเจ้า ศ. / รศ. / (ผศ) / ดร. / อ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษได้
ตรวจสอบโครงการพิเศษของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมี
เนื้อหาสมบูรณ์จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....
ประธานกรรมการ

ลงชื่อ.....
กรรมการ

ลงชื่อ.....
กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา