

การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินรังปลวกที่สร้างสาร  
ออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฟอสโฟลิปิด  
ACTINOMYCETES ISOLATION FROM TERMITE NESTS  
WITH THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND  
PHOSPHOLIPID PROFILE

เมธิกา วิจิตรโชติ  
สุพินดา เจริญสรราชัย

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีวอุตสาหกรรม  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2560

การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินรังปลวกที่สร้างสาร  
ออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฟอสโฟลิปิด  
ACTINOMYCETES ISOLATION FROM TERMITE NESTS  
WITH THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND  
PHOSPHOLIPID PROFILE

เมทิกา วิจิตรโชติ  
สุพินดา เขียรสรราชัย

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาวิชาจุลชีวอุตสาหกรรม  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2560

ACTINOMYCETES ISOLATION FROM TERMITE NESTS  
WITH THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND  
PHOSPHOLIPID PROFILE

METIKA WICHITCHOTH

SUPINDA THIANSANCHAI

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
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

การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินรังปลวกที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฟอสโฟลิปิด

Actinomycetes Isolation From Termite Nests With Their Antimicrobial Activity And Phospholipid Profile

ชื่อนักศึกษา

นางสาว เมธิกา วิจิตรโชติ รหัสนักศึกษา 57050878

นางสาว สุพินดา เจริญสรราชย์ รหัสนักศึกษา 57050911

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชา

ชีววิทยา

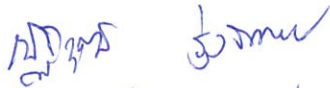
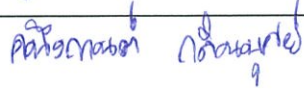
ปีการศึกษา

2560

อาจารย์ที่ปรึกษา

ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร. จิตติ ท่าไว ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร. ณัฐวุฒิ รุ่งจินตามัย กรรมการ	
ดร. คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงการพิเศษ	การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินรังปลวกที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฟอสโฟลิปิด Actinomycetes Isolation From Termite Nests With Their Antimicrobial Activity And Phospholipid Profile
ชื่อนักศึกษา	นางสาว เมธิกา วิจิตรโชติ รหัส 57050878 นางสาว สุปินดา เขียรสรราช รหัส 57050911
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์

### บทคัดย่อ

การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินรังปลวก 44 ไอโซเลทจาก 5 รัง คือ แบบเนินขึ้นมา จากดิน 3 รัง จากตำบลคลองหลวงแพ่ง จังหวัดฉะเชิงเทรา แบบขึ้นบนต้นไม้ 1 รัง จากแขวงลำปลา ทิว กรุงเทพมหานคร และแบบเนินขึ้นมาจากดิน 1 รัง จากแขวงลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร นำมา ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา และชีวเคมีของเชื้อ ทำการแบ่งกลุ่มโดยระบบ the NBs/IBCC color system แล้วทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ *Micrococcus lutes* ATCC 2374, *Bacillus subtilis* ATCC 1248, *Candida albicans* ATCC 10231, *Staphylococcus aureus* ATCC 746, *Escherichia coli* ATCC 074, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2370 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยซีท 11 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ จากนั้นนำมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพด้วยวิธี Agar disc diffusion ที่ความเข้มข้น 50 mg/ml พบว่าไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้สูงสุด คือ ไอโซเลท LKB18 โดยสามารถยับยั้งเชื้อ *M. luteus* ATCC 2374 ได้ 24.96 มิลลิเมตร จากน้ำหมักของเชื้อ และ 22.64 จากตัวเซลล์ จากนั้นทำการศึกษาฟอสโฟลิปิดด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC) ; L- $\alpha$  phosphatidyl-DL-glycerol sodium salt from egg yolk lecithin (PG), 3-sn phosphatidylethanolamine from bovine brain (PE), Cardiolipin (CL), Phosphatidylserine (PS) และ Phosphatidylinositol (PI) พบว่าทั้ง 11 ไอโซเลทสร้างฟอสโฟลิปิด ได้โดยยืนยันได้จากการพ่นสเปรย์ molybdenum blue spray เกิดจุดสีฟ้าบนแผ่นโครมาโตกราฟี

คำสำคัญ : ดินรังปลวก ฟอสโฟลิปิด ฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพ แอคติโนมัยซีท

<b>Title</b>	Actinomycetes Isolation From Termite Nests With Their Antimicrobial Activity And Phospholipid Profile.
<b>Students</b>	Miss Metika Wichitchoth Student ID 57050878 Miss Supinda Thiansanchai Student ID 57050911
<b>Degree</b>	Bachelor of Science
<b>Department</b>	Biology
<b>Faculty</b>	Science
<b>University</b>	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
<b>Academic Year</b>	2017
<b>Advisor</b>	Dr.Khanungkan Klanbut

### Abstract

Forty four isolates of actinomycetes were isolated from five termite nests ; three termite mounds from Klong Luang Pang Chachoengsao, one termite carton from Lam Pla Tiw Bangkok and one termite mound from Lam Pla Tiw Bangkok. The morphological and biochemical characteristics were then examined and grouped them by The NBs/IBCC color system into 20 groups. The antimicrobial activity were tested against 7 microorganisms are *Micrococcus luteus* ATCC 2374, *Bacillus subtilis* ATCC 1248, *Candida albicans* ATCC 10231, *Staphylococcus aureus* ATCC 746, *Escherichia coli* ATCC 074, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2370 and *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. Elven isolates could inhibit test microorganisms and then agar disc diffusion were performed with the concentration of 50 mg/ml. The widest inhibition zone could be found on isolate LKB18 against *Micrococcus luteus* ATCC 2374 for 24.96 mm from crude ethylacetate extraction and 22.64 mm from cellular methanol extraction. Phospholipid profile were performed on Thin layer chromatography ; L- $\alpha$  phosphatidyl-DL-glycerol sodium salt from egg yolk lecithin (PG), 3-sn phosphatidylethanolamine from bovine brain (PE), Cardiolopin (CL) and also Phosphatidylserine (PS) and Phosphatidylinositol (PI). Eleven isolates could be detected the spots after molybdenum blue spray reagent was applied.

**Keyword** : termite mound, phospholipid profile, antimicrobial activity, actinomycetes

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี เพราะได้รับความอนุเคราะห์จากหลายฝ่าย ทั้งด้านความรู้ การยืมอุปกรณ์ที่ใช้ภายในห้องปฏิบัติการ งานวิจัยนี้จะไม่สำเร็จลุล่วงไปได้หากไม่ได้รับการช่วยเหลือจาก ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ อาจารย์ที่ปรึกษารายงาน ที่กรุณาให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะ ตลอดจนปรับปรุงแก้ไข และสละเวลาตรวจทานพิจารณาโครงงานพิเศษเล่มนี้ด้วยความใส่ใจ คณะผู้ทำวิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณคณาจารย์ทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทความรู้ตลอดจนอบรมสั่งสอน และให้คำปรึกษา แนะนำ ตลอดการศึกษา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการตึกจุฬารัตน์วิทยาลัยลักษณะ และอาคารพระจอมเกล้า ตลอดจนเจ้าหน้าที่ธุรการทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกอุปกรณ์ต่าง ๆ รวมทั้งสถานที่ และเครื่องมือที่ใช้ในการปฏิบัติการต่าง ๆ

ขอขอบคุณบิดา มารดา และสมาชิกภายในครอบครัว รวมถึงผู้มีอุปการคุณทุกท่าน ที่คอยอบรมสั่งสอน และคอยสนับสนุนให้กำลังใจ กำลังกาย แก่คณะผู้ทำวิจัย รวมทั้งขอบคุณเพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ และให้กำลังใจตลอดมา

หวังว่างานวิจัยฉบับนี้จะเป็นประโยชน์แก่บุคลากรทางการศึกษา และผู้ที่สนใจทั่วไป ตลอดจนเป็นประโยชน์แก่ผู้ที่จะศึกษา และนำไปพัฒนาต่อไป

เมทิกา วิจิตรโชติ

สุพินดา เขียรสรราช

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ญ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>4</b>
2.1 จอมปลวก	4
2.1.1 รังปลวกลักษณะโดม (Dome mounds)	5
2.1.2 รังปลวกที่สร้างบริเวณกิ่งไม้หรือเชื่อมกับต้นไม้ (Carton nests)	5
2.1.3 รังปลวกที่สร้างอาณานิคมใต้ดิน (subterranean)	6
2.2 ปลวก	7
2.2.1 บริเวณที่เหมาะสมต่อการเจริญของปลวก	8
2.2.2 จุลินทรีย์ที่มีบทบาทภายในลำไส้ปลวก	9
2.2.3 ประโยชน์ของจุลินทรีย์ภายในลำไส้ปลวก	9
2.3 แอคติโนมัยซีท (Actinomycetes)	11
2.3.1 สัณฐานวิทยาของแอคติโนมัยซีท	12
2.3.2 เส้นใยของแอคติโนมัยซีท	12
2.3.3 ลักษณะของโคโลนี	13
2.3.4 การสร้างสปอร์	14
2.3.4.1 การสร้างสปอร์เดี่ยว	14
2.3.4.2 การสร้างสปอร์เป็นสาย	14
2.4 คุณสมบัติในการสร้างสารปฏิชีวนะของแอคติโนมัยซีท	16

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5 แอคติโนมายซีทภายในลำไส้ปลวก	17
2.5.1 Lignocellulose	17
2.5.2 Lignocellulolytic Enzymes	18
2.6 ฮิวมัส (Humus)	19
2.6.1 กรดฮิวมิก (Humic acid)	19
2.6.2 กรดฟลูวิก (fluvic acid)	20
2.7 ประโยชน์ที่ได้จากแอคติโนมายซีทภายในลำไส้ปลวก	21
2.8 ฟอสโฟลิปิด (Phospholipid)	22
2.8.1 ประเภทของฟอสโฟลิปิด (phospholipid types)	23
2.8.1.1 กลีเซอรอลฟอสโฟลิปิด (glycerophospholipid)	23
2.8.1.2 สฟิงโกลิปิด (sphingolipid)	25
2.8.2 ฟอสโฟลิปิดที่สามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตโดยแบ่งชนิดตาม ลักษณะโครงสร้าง	25
2.8.2.1 Phosphatidic acid	25
2.8.2.2 Phosphatidylcholine	26
2.8.2.3 Phosphatidylethanolamine	26
2.8.2.4 Phosphatidylserine	27
2.8.2.5 Phosphatidylinositol	27
2.8.2.6 Cardiolipin (Diphosphatidylglycerol)	28
2.9 โครมาโตกราฟี (Chromatography)	29
2.9.1 โครมาโตกราฟีแบบผิวนาง (Thin Layer Chromatography, TLC)	29
2.9.2 การเลือกใช้ตัวทำละลายสำหรับเทคนิค TLC (solvent system)	30
2.9.3 การเตรียมแผ่น TLC (Preparative layer chromatography, PLC)	30
2.9.3.1 แผ่น TLC สำเร็จรูป	31
2.9.3.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC	32
2.9.4 การหยุดสารตัวอย่างลงบนแผ่น TLC	33
2.9.5 ขั้นตอนการใส่สารตัวอย่างลงในแผ่น TLC	34

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.9.6 การอ่านผล หรือตรวจสอบผลการ develop แผ่น TLC	35
2.9.7 การวิเคราะห์ผลการทดลอง	35
2.10 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยเทคนิค Agar diffusion Test	36
2.10.1 วิธีการทำ Agar Diffusion Test (disc diffusion test)	36
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย</b>	<b>38</b>
3.1 เครื่องมือ	38
3.2 อุปกรณ์	38
3.3 สารเคมี	40
3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ	41
3.5 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ	42
3.5.1 แบคทีเรียในการทดสอบ	42
3.5.2 ยีสต์ในการทดสอบ	42
3.6 ฟอสโฟลิปิดมาตรฐาน	42
3.7 ตัวอย่างดิน	42
3.8 การเก็บตัวอย่างดิน และการคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีท	42
3.8.1 การเก็บตัวอย่างรังปลวก	42
3.8.2 การคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีท	43
3.8.3 หาสมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่าง	43
3.8.3.1 การหาน้ำหนักดิน	43
3.8.3.2 การหาปริมาณความชื้น	43
3.8.3.3 การวัดค่าความเป็นกรดต่าง	44
3.8.4 การแยกเชื้อ และการเก็บรักษา	44
3.8.5 เตรียม spore suspension	44
3.9 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาชีวเคมีของเชื้อ	44
3.9.1 การย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม (Peptonization)	44
3.9.2 การย่อยสลายเจลาติน (Galatinization)	45
3.9.3 การย่อยสลายไนเตรท (Nitrate reduction)	45
3.9.4 การย่อยสลายแป้ง (Starch hydrolysis)	45
3.9.5 การตรวจสอบความสามารถในการหมักน้ำตาล 5 ชนิด	45
3.10 การคัดเลือกเชื้อที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น (Dual test)	46

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.11 การทดสอบกิจกรรมการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดย	46
เทคนิค Agar disc diffusion	46
3.11.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อแอสคิตินอิมยซ์	46
3.11.2 การสกัดสารทุติยภูมิจากน้ำหมักเชื้อแอสคิตินแบคทีเรีย	46
3.11.3 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ และการเตรียมอาหารที่ใช้ทดสอบ	47
3.11.3.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ	47
3.11.3.2 การเตรียมอาหารที่ใช้ทดสอบ	47
3.11.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค	47
Agar disc diffusion	
3.12 การศึกษาฟอสโฟลิปิดจากสารสกัดหยาบของเชื้อแอสคิตินอิมยซ์ด้วยเทคนิค	48
Thin layer chromatography	
3.12.1 การเตรียมหัวเชื้อ และการเพาะเลี้ยงเชื้อแอสคิตินอิมยซ์	48
3.12.2 วิธีการสกัดหยาบเพื่อทำการศึกษาฟอสโฟลิปิดด้วยเทคนิค	48
Thin layer chromatography	
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล</b>	<b>49</b>
4.1 ผลการเก็บตัวอย่างดิน และการแยกเชื้อแอสคิตินอิมยซ์	49
4.2 ผลการหาคณสมบัติทางกายภาพบางประการของดินตัวอย่าง	50
4.3 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแอสคิตินอิมยซ์	50
4.3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อแอสคิตินอิมยซ์	50
4.3.2 ลักษณะทางสรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแอสคิตินอิมยซ์	57
4.4 ผลการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อทดสอบ	114
4.4.1 การคัดเลือกเชื้อที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น	114
(Dual test)	
4.4.2 ผลทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพด้วยเทคนิค	119
Agar disc diffusion	
4.5 ผลการศึกษาฟอสโฟลิปิดของเชื้อแอสคิตินอิมยซ์โดยใช้เทคนิค	123
Thin layer chromatography (TLC)	
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ</b>	<b>129</b>
5.1 สรุปผลการวิจัย	129
5.1.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อแอสคิตินอิมยซ์	129

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5.1.2 การคัดเลือกเชื้อที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น (Dual test)	130
5.1.3 การศึกษาฟอสโฟลิปิดของเชื้อแอสคิโนมายซีท	132
5.2 ข้อเสนอแนะ	133
เอกสารอ้างอิง	135
ภาคผนวก	142
ภาคผนวก ก	143
ภาคผนวก ข	150
ภาคผนวก ค	153
ภาคผนวก ง	158
ภาคผนวก จ	161
ภาคผนวก ฉ	168
ภาคผนวก ช	186

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงถึงจุลินทรีย์ที่พบโดยทั่วไปภายในลำไส้ปลวก	10
2.2 ตารางแสดงกลีเซอรอลฟอสโฟลิปิดที่พบโดยทั่วบนผนังเซลล์แบคทีเรีย	24
4.1 แสดงหมายเลขไอโซเลทของเชื้อแอกติโนมัยซีท์ที่คัดแยกได้	49
4.2 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดิน	50
4.3 แสดงลักษณะพื้นฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีท์	51
4.4.1 แสดงลักษณะทางสรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีท์ (Gelatin liquefaction, Nitrate reduction, Starch hydrolysis และPeptonization)	58
4.4.2 แสดงลักษณะทางสรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีท์ (การหมักน้ำตาล)	60
4.5 แสดงผลการทดสอบเบื้องต้นของแอกติโนมัยซีท์ที่สร้างสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ	116
4.6 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารสกัดหยาบที่ได้จากน้ำหมักโดยเอทิลอะซิเตทโดยเทคนิค Agar disc diffusion	121
4.7 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารสกัดหยาบที่ได้จากตัวเซลล์โดยเมทานอลโดยเทคนิค Agar disc diffusion	122
4.8 แสดงผลการศึกษาฟอสโฟลิปิดของเชื้อแอกติโนมัยซีท์ที่ถูกคัดเลือกทั้ง 11 ไอโซเลทด้วยเทคนิค Thin layer chromatography	128
ข.1 แสดงปริมาณของน้ำหนักรวมของดินที่ความเจือจางหลังอบ	151
ข.2 แสดงปริมาณความชื้นในตัวอย่างดินจากน้ำหนักของดินที่หายไป	151
ข.3 แสดงค่าความเป็นกรด – ด่างของตัวอย่างดิน	152

## สารบัญญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงสายพันธุ์ปลวกที่พบส่วนมากในประเทศไทย	4
2.2 แสดงลักษณะรังปลวกที่สร้างเป็นลักษณะใหญ่รูปโดม	5
2.3 แสดงลักษณะรังปลวกที่สร้างรังบนต้นไม้หรือบริเวณลำต้นของต้นไม้	5
2.4 แสดงลักษณะรังภายใต้ดินของปลวก	6
2.5 แสดงถึงปฏิกิริยาการย่อยอาหารโดยอาศัยจุลินทรีย์ภายในลำไส้ของปลวก	7
2.6 บริเวณป่าดิบชื้นเขตร้อนที่เหมาะสมต่อการเจริญของปลวก	9
2.7 แสดงวัฏจักรการเจริญของแอคติโนแบคทีเรียและการเกิดสปอร์รูเลชั่น	12
2.8 แสดงถึงความแตกต่างระหว่างเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศ	13
2.9 แสดงถึงลักษณะการสร้างสปอร์ในรูปแบบต่างๆของเชื้อแอคติโนมัยซีทแต่ละสกุล	15
2.10 แสดงถึงความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อแอคติโนมัยซีท	16
2.11 แสดงถึงโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสที่มีเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ	18
2.12 แสดงถึงโครงสร้างพันธะของกรดฮิวมิก	19
2.13 แสดงถึงโครงสร้างพันธะของกรดกรดฟลูวิก	20
2.14 ภายในรังปลวกและการทำงานภายในรัง	21
2.15 แสดงถึงโครงสร้างของฟอสโฟลิปิด	22
2.16 แสดงถึงโครงสร้างผนังเซลล์ของยูคาริโอต	23
2.17 แสดงถึงโครงสร้างของสปริงโกลิปิดโดยที่ R แทนกรดไขมัน	25
2.18 แสดงถึงโครงสร้างของPhosphatidic acid	25
2.19 แสดงถึงโครงสร้างของ Phosphatidylcholine	26
2.20 แสดงถึงโครงสร้างของ Phosphatidylethanolamine	26
2.21 แสดงถึงโครงสร้างของ phosphatidylserine	27
2.22 แสดงถึงโครงสร้างของ Phosphatidylinositol	27
2.23 แสดงถึงโครงสร้างของ Cardiolipin	28
2.24 ภาพแสดงลักษณะของแผ่น TLC สำเร็จรูป	31
2.25 แสดงถึงลำดับเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นภายในโถแก้ว	32
2.26 แสดงลักษณะการเกิดแถบแบนด์บนแผ่น TLC	33
2.27 ภาพแสดงขั้นตอนการหยดสารลงบนแผ่น TLC	34

## สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
2.28 ภาพแสดงวิธีการวางแผ่น TLC ในโถตัวทำละลายเคลื่อนที่ และภาชนะแก้ว หรือแท่งสำหรับใช้แช่แผ่น TLC	34
2.29 แสดงวิธีการคำนวณหาค่า $R_f$	35
2.30 การทดสอบ Agar Diffusion Test	36
4.1 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติมัยซีทในกลุ่มที่ 1	63
4.2 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS16	64
4.3 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS19	65
4.4 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB05	66
4.5 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติมัยซีทในกลุ่มที่ 2	66
4.6 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB13	67
4.7 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB15	68
4.8 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB19	69
4.9 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB21	70
4.10 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติมัยซีทในกลุ่มที่ 3	71
4.11 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB20	72
4.12 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติมัยซีทในกลุ่มที่ 4	72
4.13 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS14	73
4.14 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB01	74
4.15 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB12	75
4.16 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB18	76
4.17 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB23	77
4.18 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติมัยซีทในกลุ่มที่ 5	78
4.19 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS08	79
4.20 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS17	80
4.21 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CLK02	81
4.22 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB10	82
4.23 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB14	83
4.24 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB16	84
4.25 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB22	85

## สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
4.26 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทในกลุ่มที่ 6	85
4.27 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB08	86
4.28 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทในกลุ่มที่ 7	87
4.29 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS01	88
4.30 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS03	89
4.31 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS04	90
4.32 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS05	91
4.33 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS06	92
4.34 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS09	93
4.35 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS10	94
4.36 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS11	95
4.37 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS12	96
4.38 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS13	97
4.39 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS15	98
4.40 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS18	99
4.41 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CLK01	100
4.42 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB11	101
4.43 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทในกลุ่มที่ 8	101
4.44 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS02	102
4.45 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS07	103
4.46 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB02	104
4.47 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB03	105
4.48 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB04	106
4.49 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB06	107
4.50 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB07	108
4.51 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB09	109
4.52 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB17	110
4.53 ลักษณะโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแอกติโนมัยซีททุกไอโซเลท	112
4.54 แสดงชนิดของฟอสโฟลิปิดบนแผ่นโครมาโตกราฟีเทียบกับสาร standard	123
4.55 แสดงถึงยีนที่เกี่ยวข้องและกระบวนการสังเคราะห์คาร์ดิโอลิพินภายในแบคทีเรีย	124

## สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
4.56 แสดงระยะการพา ( $R_f$ ) ของสารละลายฟอสโฟลิปิดมาตรฐาน (PLs standard)	125
4.57 แสดงชนิดของฟอสโฟลิปิดบนแผ่นโครมาโตกราฟีเปรียบเทียบกับสาร Standard	126
5.1 ความแตกต่างของ centrifuge tube ปริมาตร 50 ml และ 15 ml	134
ก.1 การเทียบสารละลาย McFarland standard No. 0.5	148
จ.1 ลักษณะของเซลล์ <i>Candida albicans</i> เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า	161
จ.2 ลักษณะของเซลล์ <i>Bacillus subtilis</i> เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า	162
จ.3 ลักษณะของเซลล์ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบ ใช้แสงกำลังขยาย 1000 เท่า	163
จ.4 ลักษณะของเซลล์ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบ ใช้แสงกำลังขยาย 1000 เท่า	164
จ.5 ลักษณะของเซลล์ <i>Escherichia coli</i> เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า	165
จ.6 ลักษณะของเซลล์ <i>Staphylococcus aureus</i> เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบ ใช้แสงกำลังขยาย 1000 เท่า	166
จ.7 ลักษณะของเซลล์ <i>Staphylococcus epidermidis</i> เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์ แบบใช้แสงกำลังขยาย 1000 เท่า	167
ข.1 ดินร้งปลวกที่ ตำบลคลองหลวงแพ่ง อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา	186
ข.2 ดินร้งปลวกที่แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร	187
ข.3 ดินร้งปลวกที่แขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร	187

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงการพิเศษ

โรคที่เกิดจากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ นิยมเรียกกันโดยทั่วไปว่า โรคติดต่อ (Infectious disease) ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อโรค หลายชนิดคือ แบคทีเรีย, ไวรัส, รา, โปรโตซัว, มัยโคพลาสมา (mycoplasma), คลามัยเดีย (chlamydia) และเชื้อริคเกตเซีย (rickettsia) ซึ่งเชื้อโรคเหล่านี้มีวิธีการติดต่อเข้าสู่คน ซึ่งเป็นโฮสต์ได้หลายวิธีแตกต่างกันขึ้นอยู่กับระดับภูมิคุ้มกันภายในตัวของโฮสต์ เช่น เม็ดเลือดขาวที่ใช้ป้องกันการบุกรุกของเชื้อโรคเข้าสู่ร่างกาย ซึ่งเมื่อใดก็ตามที่เชื้อโรคมียามากจนภูมิคุ้มกันต้านทาน หรือเม็ดเลือดขาวไม่สามารถต้านทานไม่ได้จึงจำเป็นต้องใช้ ยาปฏิชีวนะ (Antibiotics) เข้ามาช่วยกำจัดเชื้อโรคภายในร่างกาย ปัจจุบันยังมีความเข้าใจผิดในการใช้ยาปฏิชีวนะเป็นอย่างมากใช้ผิดวิธีโดยมิได้ตั้งใจ และก่อให้เกิดผลเสียตามมาซึ่งบางครั้งอาจถึงกับเสียชีวิตได้ ทั้งจากการแพ้ยา หรือ เชื้อดื้อยา ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหายาปฏิชีวนะชนิดใหม่ๆที่สามารถออกฤทธิ์ที่สามารถยับยั้งเชื้อดื้อยาได้ ยกตัวอย่าง เช่นแบคทีเรียในดินรังปลวก

แมลงในดินเป็นสัตว์ที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่ายากมากทั้งนี้เพราะผิวดินของป่ามักจะถูก ปกคลุมด้วยลิตเตอร์ (Litter) ซึ่งประกอบด้วยเศษใบไม้กิ่งไม้ดอก และผลของต้นไม้ดังนั้นเมื่อแมลงถูกรบกวนจึงมักจะหลบหนี หรือซ่อนตัวในดิน (Waiwanitchakul and Lekprayoon, 1976) บางชนิดอาจอาศัยภายใต้พื้นดินตลอดชีวิต เช่น ปลวก เพราะในพื้นที่ดินมีการหมุนเวียนของสารอาหาร ออกซิเจน และความชื้นที่เพียงพอต่อการดำรงชีวิตของอาณาจักรของปลวก (Jetanajit *et al.*, 1982) ในการศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดระบบการหมุนเวียนสารอาหารภายในดินอีกทั้งสารสร้างออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ ที่สามารถพบได้ภายในดินรังปลวก และส่งต่อการดำรงชีวิตของปลวกทำให้เข้าใจถึงปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ที่มีผลกระทบต่อปลวก และจุลินทรีย์ เช่น ปัจจัยทางด้านกายภาพ ได้แก่ สภาพภูมิอากาศ ลักษณะพื้นที่ป่า และลักษณะของดิน เป็นต้น รวมทั้งปัจจัยทางด้านชีวภาพอื่น ๆ (วิชัย, 2527) บริเวณที่ปลวกอาศัยนั้นมีความอุดมสมบูรณ์ของดินสูงจึงเป็นดินที่น่าสนใจศึกษาเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดิน ได้แก่ แอคติโนมัยซีท

แอคติโนมัยซีทเป็นแบคทีเรียแกรมบวกจำพวกหนึ่งที่มีลักษณะใกล้เคียงกับเชื้อรา กล่าวคือ มีการเจริญเป็นเส้นใย และมีการสร้างสปอร์ แต่ขนาดเซลล์เล็กเท่ากับแบคทีเรีย (Holt, 1994) ดำรงชีวิตอยู่ในดิน ในปุ๋ยหมัก น้ำ โคลนตม และบริเวณรากพืช แบคทีเรียนี้เป็นผู้ไรโซเคิลอินทรีย์วัตถุจากซากพืชซากสัตว์ ให้เป็นสารใหม่กลับคืนสู่สิ่งแวดล้อม และเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในหลายด้านโดยธรรมชาติ

ฟอสโฟลิปิด (Phospholipids) ชั้นของไขมันที่มีขั้วสามารถแตกตัวได้เพราะมีกลุ่มของไอออนเป็นองค์ประกอบพบบริเวณของเซลล์เมมเบรน และบริเวณการสร้างไฮฟา (hyphae) ของเส้นใยอาหารซึ่งสามารถศึกษาการเจริญของแอคติโนมัยซีทได้จากการเจริญของเส้นใยอาหาร

ดังนั้นในการทำโครงการพิเศษในครั้งนี้จะมุ่งเน้นเรื่องการคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีทจากดินร้งปลวก 3 แหล่งที่มาคือ

1. ตำบลคลองหลวงแพ่ง อำเภอเมือง ฉะเชิงเทรา
2. แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร
3. แขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

เพื่อนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมี ความสามารถในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบได้โดยวิธี Agar disc diffusion และศึกษาฟอสโฟลิปิดบนชั้นผนังเซลล์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทจากสารสกัดหยาบโดยเทคนิค Thin layer chromatography

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาการคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีทจากดินร้งปลวก ตำบลคลองหลวงแพ่ง อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร และแขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร
2. เพื่อทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา การทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้นของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่ได้ทำการคัดแยก
3. เพื่อทำการสกัดสารที่มีฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์บางชนิดได้
4. เพื่อศึกษาฟอสโฟลิปิดที่ชั้นผนังเซลล์เชื้อแอกติโนมัยซีทว่ามีผลต่อการเจริญของเชื้อ และการสร้างสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการต้านจุลินทรีย์

## 1.3 ขอบเขตงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแอกติโนมัยซีทจากดินร้งปลวก ตำบลคลองหลวงแพ่ง อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร และแขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

เพื่อทำการศึกษารูปชีวิตของแบคทีเรียสร้างชั้นสามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบโดยทำการคัดแยกเชื้อด้วยอาหารชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ISP2A, International Streptomyces Project medium No.3 (ISP3), CCA และ Starch Casein Agar (SCA) โดยอาหารแต่ละชนิดจะทำการเติมยา Nystatin (ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่ออาหาร 100 มิลลิตร เมื่อทำการคัดแยกเชื้อได้แล้วจะทำการเก็บเชื้อลงในหลอดอาหารเอียง International Streptomyces Project medium No.2 (ISP2) ที่ไม่ใส่ยาปฏิชีวนะ จากนั้นนำไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา ชีวเคมี ทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพด้วยเทคนิค Agar disc diffusion และศึกษาฟอสโฟลิปิดของเชื้อแอกติโนมัยซีทโดยการใช้เทคนิค Thin layer chromatography (TLC) ของเชื้อแอกติโนมัยซีท

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถทำการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินร้งปลวกจาก ตำบลคลองหลวงแพ่ง อำเภอเมือง ฉะเชิงเทรา แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร และแขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

2. สามารถจัดจำแนกแอคติโนมัยซีทโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และทางชีวเคมีเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยซีทได้

3. สามารถทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทที่สามารถทำการคัดแยกได้

4. สามารถทำการสกัดสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียบางชนิดได้

5. สามารถทำการศึกษาฟอสโฟลิปิดที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของแอคติโนมัยซีทโดยเทคนิค

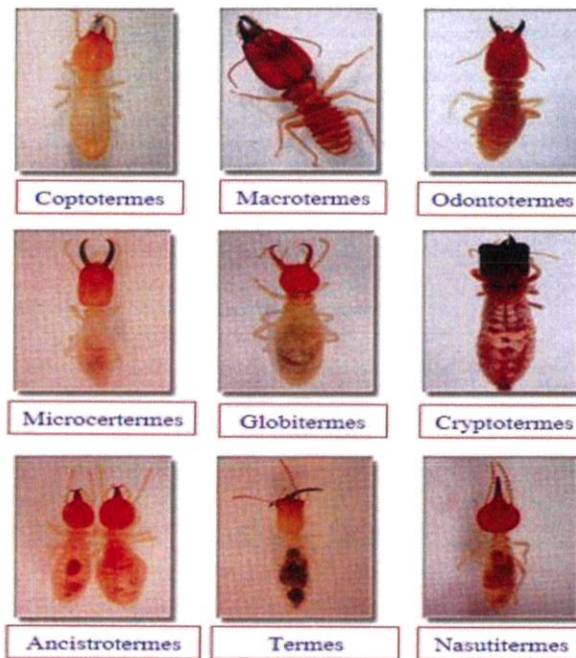
Thin layer chromatography (TLC)

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 จอมปลวก

จอมปลวก ( mole-hill หรือ mole mound) หรือรังของปลวก ถือเป็นอาณาจักรของแมลงที่มีขนาดใหญ่ และซับซ้อนมากที่สุดที่เราสามารถทราบแหล่งอาหาร และสายพันธุ์ของปลวกได้โดยสังเกตจากลักษณะการสร้างรังโดยปลวกที่สร้างรังบนต้นไม้แหล่งอาหารหลักคือไม้ และสายสายพันธุ์ปลวกชนิดนี้เรียกว่าปลวกที่อาศัยอยู่ในเนื้อไม้ (Wood dweller termites) จะอยู่เฉพาะในไม้บนดินเท่านั้น ได้แก่ปลวกในสกุล *Kalotermes*, *Neotermes* เป็นต้น ปลวกที่สร้างรังบนดินแหล่งอาหารหลัก คือ ดิน เรียกว่าปลวกที่อาศัยอยู่ในดิน (Ground dweller termites) เป็นปลวกที่ต้องอาศัยอยู่ในดิน หรือรังมีส่วนติดต่อกับพื้นดิน (พูลสุข, 2519) ปลวกพวกนี้จะมีความสัมพันธ์กับเห็ดรา และสร้างความเสียหายให้กับบ้านเรือน ไม้ล้ม ขอนไม้ตามพื้น และต้นไม้ยืนต้น ได้แก่ปลวกในสกุล *Macrotermes*, *Odontotermes*, *Microtermes* และ *Coptotermes* เป็นต้น (ณัฐวุฒิ, 2548)



รูปที่ 2.1 แสดงสายพันธุ์ปลวกที่พบส่วนมากในประเทศไทย

(อ้างอิง : <http://www.pro-team2010.com/index.php?lay=show&ac=article&Ntype=3>)

เราสามารถจำแนกจอมปลวก (mound) ได้เป็น 3 ประเภท (นิคม, 2556)

### 2.1.1 รังปลวกลักษณะโดม (Dome mounds)

รังปลวกชนิดนี้จะสร้างบริเวณใต้ร่มไม้เพื่อให้มีอุณหภูมิเย็นตลอดเวลาอีกทั้งกำบังแสงอาทิตย์ เพื่อไม่ให้รังมีอุณหภูมิที่ร้อนเกินไป การสร้างรังเริ่มขึ้นโดยเหล่าปลวกงานจะช่วยกันกัดดิน และขนดิน มาที่ละก้อนแล้วใช้น้ำลายเป็นตัวเชื่อมติดกันโดยโครงสร้างภายในของจอมปลวกมีความซับซ้อนมากมี อุโมงค์ และท่อเพื่อทำหน้าที่ขนส่งอาหารและระบบระบายอากาศภายในรังเพื่อให้มีอุณหภูมิเย็น ตลอดเวลา

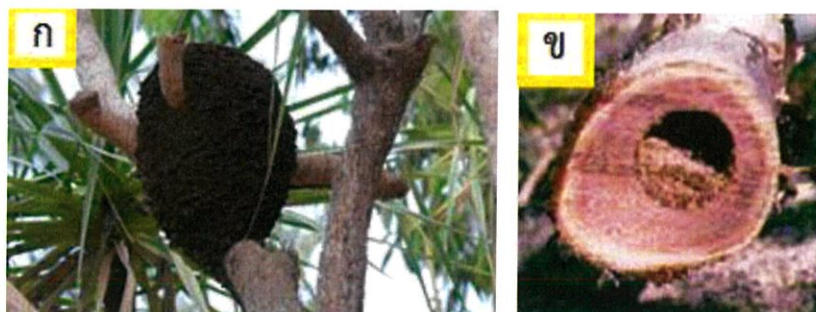


รูปที่ 2.2 แสดงลักษณะรังปลวกที่สร้างเป็นลักษณะใหญ่รูปโดม

(อ้างอิง : [http://ummio.blogspot.com/2013/07/1\\_9.html](http://ummio.blogspot.com/2013/07/1_9.html))

### 2.1.2 รังปลวกที่สร้างบริเวณกิ่งไม้หรือเชื่อมกับต้นไม้ (Carton nests)

รังปลวกชนิดนี้ส่วนมากเกิดจากปลวกที่อาศัยอยู่ในดินมาก่อนแต่มีอาณาบริเวณมากจนไม่สามารถอยู่ร่วมกันทำให้มีปลวกทำรังบนกิ่งไม้โดยสร้างจากการย่อยสลายกิ่งไม้ และดินในบางส่วน และสร้างอุโมงค์ภายในลำต้นที่สามารถเชื่อมต่อกับรังใต้ดินได้



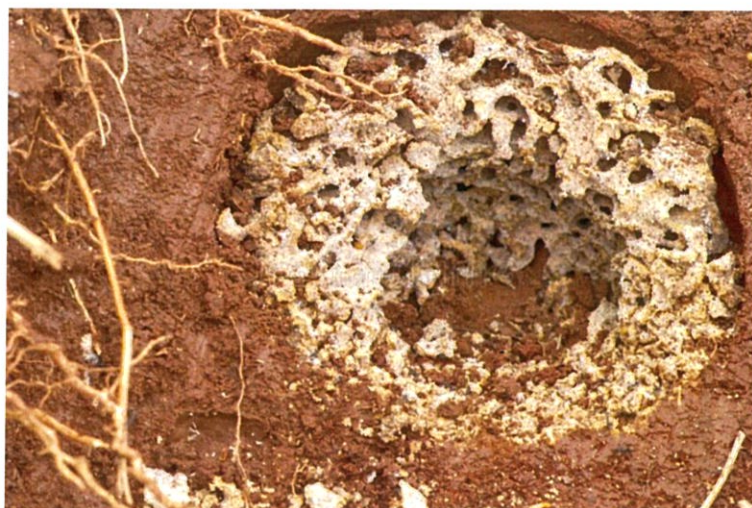
รูปที่ 2.3 แสดงลักษณะรังปลวกที่สร้างรังบนต้นไม้หรือบริเวณลำต้นของต้นไม้

(ก) รังปลวกที่ทำรังบนกิ่งไม้ หรือลำต้น (ข) อุโมงค์ภายในกิ่งไม้ หรือลำต้น

(อ้างอิง : [http://www.savanna.org.au/all/all\\_termite\\_mounds.html](http://www.savanna.org.au/all/all_termite_mounds.html))

### 2.1.3 รังปลวกที่สร้างอาณาจักรใต้ดิน (subterranean)

รังปลวกชนิดนี้จะเจริญอยู่ภายใต้พื้นดินลึกลงไปประมาณ 50-100 เซนติเมตรภายใต้สภาวะ อับแสงและปริมาณความชื้นสูงโดยปลวกชนิดนี้จะมีขนาดตัวค่อนข้างเล็กอยู่ร่วมกันเป็นอาณาจักร ใหญ่ และเพาะเลี้ยงเชื้อราไว้เป็นอาหารภายในรังเพราะมีปริมาณความชื้นภายในรังสูง



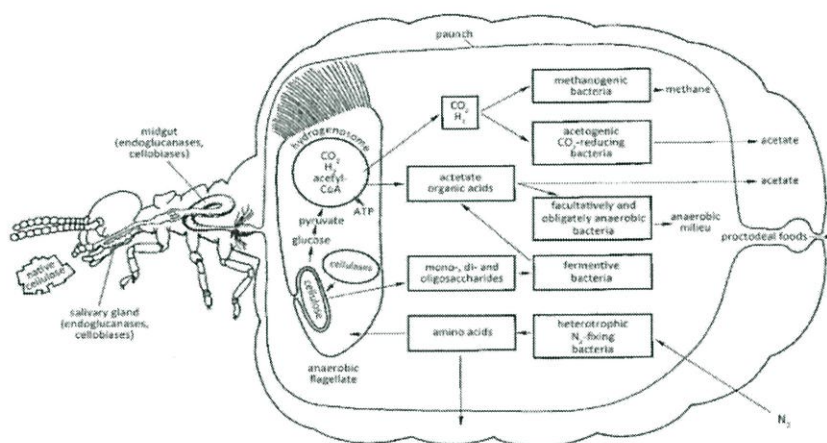
รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะรังภายใต้ดินของปลวก

(อ้างอิง : <https://www.123rf.com/limited-termite-destroy-wood-houses-in-both-peach-and-dangerous-underground-nest.html>)

สิ่งมีชีวิตอื่น ๆ บนจอมปลวก เช่น พืชที่เติบโตอยู่บริเวณจอมปลวกมักจะแตกต่างจากพืช บริเวณโดยรอบ (Moe and A.N, 2009) เป็นเพราะการขุดดินของปลวก และการสลายตัวของซากพืช ซากสัตว์ทำให้ดินบริเวณนั้นอุดมสมบูรณ์มากกว่าดินบริเวณอื่นๆ (Dangerfield and Ellery, 1998) ยอดของจอมปลวกเป็นบริเวณที่มีน้ำมากกว่าบริเวณอื่นๆซึ่งเป็นบริเวณที่เหมาะสมแก่การเจริญของพืช ในสภาวะแวดล้อมที่ขาดแคลนจึงเป็นสาเหตุที่ทำให้บริเวณที่มีการเจริญเติบโตของพืชบนยอดจอม ปลวกมากก็จะยิ่งดึงดูดความสนใจของสัตว์กินพืชต่าง ๆ เข้ามาทำให้สัตว์เหล่านั้นถ่มมูลทิ้งไว้และทำ ให้ดินบริเวณนั้นอุดมสมบูรณ์ (Holdo and R.M, 2003)

## 2.2 ปลวก

ปลวกเป็นกลุ่มของแมลงทางสังคมที่เป็นหนึ่งในปัจจัยสำคัญในระบบนิเวศน์โดยมีบทบาทสำคัญในวัฏจักรคาร์บอน และไนโตรเจน (Robert *et al.*, 2007) ในขบวนการกิน และการย่อยอาหาร ปลวกไม่สามารถผลิตน้ำย่อย หรือเอนไซม์ออกมาย่อยอาหารได้เอง (Brune, 2000) ต้องพึ่งพาจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่อาศัยร่วมอยู่ภายในระบบทางเดินอาหารของปลวก เช่น protozoa, bacteria หรือ เชื้อรา ให้ผลิตเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพ เช่น cellulase และ lignocellulase (Breznak, 1994)



รูปที่ 2.5 แสดงถึงปฏิบัติการย่อยอาหารโดยอาศัยจุลินทรีย์ภายในลำไส้ของปลวก  
(อ้างอิง : <http://abt.ucpress.edu/content/75/1/41>)

เอนไซม์เหล่านี้จะเกิดขึ้นผ่านกระบวนการ Nitrogen Fixation (Breznak, 2001) เนื่องจากอาหารที่ปลวกกินเข้าไปอุดมไปด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้เกิดภาวะขาดแคลนก๊าซไนโตรเจน ปลวกจึงต้องทำงานร่วมกับจุลินทรีย์ในกระเพาะอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณก๊าซไนโตรเจนโดยผ่านกระบวนการ Nitrogen Fixation (Brune, 1998) เอนไซม์เหล่านี้มีหน้าที่ออกมาย่อย cellulose หรือ lignin ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในอาหารที่ปลวกกินเข้าไปให้เปลี่ยนเป็นพลังงาน (Singer, 2007) หรือสารประกอบในรูปของน้ำตาล cellulose และผลพลอยได้ของกระบวนการย่อยไม้ปลวกจะปล่อยก๊าซมีเทนออกมา สารอาหารที่ได้นั้นปลวกสามารถนำไปใช้ในการดำรงชีวิตได้ดังนั้นเราจะสามารถแบ่งประเภทของปลวกตามชนิดของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารได้เป็น 2 ประเภท (จารุณี, 2554)

ประเภทที่ 1 คือ ปลวกชั้นต่ำ ส่วนใหญ่ปลวกชนิดที่กินเนื้อไม้เป็นอาหาร อาศัย protozoa ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหารช่วยในการผลิตเอนไซม์ออกมาย่อยอาหาร ในประเทศไทยพบทั้งหมด 3 วงศ์ (family) คือ *Kalotermitidae*, *Termopsidae* และ *Rhinotermitidae*

ประเภทที่ 2 คือ ปลวกชั้นสูง ส่วนใหญ่เป็นปลวกชนิดที่กินดิน ซากอินทรีย์วัตถุ ไลเคน รวมทั้งพวกที่กินเศษไม้ ใบไม้ และเพาะเลี้ยงเชื้อราไว้เป็นอาหาร จะมีวิวัฒนาการที่สูงขึ้น เพื่อปรับตัวให้อยู่รอดได้ในสภาพแวดล้อมที่แห้งแล้ง หรือขาดอาหารได้ดี

จุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรีย หรือเชื้อราภายในระบบทางเดินอาหารสามารถผลิตเอนไซม์เพื่อช่วยย่อยสลายอาหารให้กับปลวก ซึ่งแบคทีเรียบางชนิดจะมีความสามารถในการจับธาตุไนโตรเจนจากอากาศมาสร้างกรดอะมิโนที่ปลวกสามารถนำไปใช้ในการดำรงชีวิตได้ และบางชนิดมีความสามารถผลิตเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารพิษบางอย่างที่สลายตัวได้ยากในสภาพแวดล้อม (Breznak, 2002) ค่าความเป็นกรดต่างสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามสภาพแวดล้อมต่าง ๆ เนื่องจากปลวกบางชนิดอาศัยสารอาหารในดินจึงทำให้นั้นมีค่าเปลี่ยนแปลงเท่ากับ pH มากกว่าเท่ากับ 11 (Breznak, 1994) โดย ค่า pH จะมีการเปลี่ยนแปลงขณะที่ผ่านแกนลำไส้ทำให้มีค่าความเป็นด่างมาก

ดินที่เป็นแหล่งอาหารของปลวกเกิดจากการสลายตัวของอินทรีย์วัตถุ หรือซากสารอินทรีย์ โดยเมื่อปลวกกินเข้าไปก็จะสามารถดูดซับสารอาหารได้เนื่องจากค่าความเป็นด่างในลำไส้จะแยกสารอาหารอินทรีย์ออกจากดินได้ (Kappler, 1999)

ค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงไปทำให้สามารถตรวจสอบการวิวัฒนาการของปลวกว่าสามารถย่อยสลายสารอาหารจำพวกแทนนิน หรือสารประกอบโพลีฟีนอลอื่น ๆ ได้อีกทั้งยังช่วยป้องกันการตกตะกอนของเอนไซม์ย่อยอาหาร และช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายโปรตีนในอาหาร (Ohkuma, 2001)

### 2.2.1 บริเวณที่เหมาะสมต่อการเจริญของปลวก

ปลวกหลายสายพันธุ์มีความใกล้ชิดกับบริเวณป่าเขตร้อนชื้นเพราะต้องใช้ดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ และไม่เพื่อเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อปลวกแม้ว่าประชากรปลวกจะมีมาก และทำให้เกิดความเสียหายต่อต้นไม้แต่ก็ส่งผลดีต่อดินในป่าทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์อีกทั้งยังเป็นที่พักพิง และเป็นแหล่งอาหารให้กับสิ่งมีชีวิตที่เกี่ยวข้องด้วย (จารุณี, 2551)



รูปที่ 2.6 บริเวณป่าดิบชื้นเขตร้อนที่เหมาะสมต่อการเจริญของปลวก  
(อ้างอิง : <https://th.wikipedia.org/wiki/ป่าดิบชื้น>)

### 2.2.2 จุลินทรีย์ที่มีบทบาทภายในลำไส้ปลวก

ลำไส้ของปลวกนั้นมีจุลินทรีย์อาศัยอยู่กันอย่างซับซ้อนมากที่สุดประกอบด้วย Bacteria, Archaea และ Protists จากการสกัดดีเอ็นเอจากลำไส้ปลวก และเปรียบเทียบลำดับของยีน 16S rRNA กับ ฐานข้อมูลของลำดับ rRNA ได้มีการระบุจุลินทรีย์ที่เด่น ๆ ในระบบทางเดินอาหารของปลวก ( Ohkuma and Kudo, 1996)

### 2.2.3 ประโยชน์ของจุลินทรีย์ภายในลำไส้ปลวก

การย่อยสลายเศษซากพืช และใบไม้แห้ง เกิดจากกิจกรรมของ Micro flora และ Macro flora ของปลวก โดยมีบทบาทสำคัญต่อกิจกรรมในการปรับเปลี่ยน Microhabitat ให้เหมาะสำหรับ Soil biota อื่น ๆ เช่น กิจกรรมการสร้างรังในดินของปลวก มด และไส้เดือน เพื่อเป็นแหล่งที่อยู่อาศัย ซึ่งจะช่วยปรับสภาพดิน และแร่ธาตุในดินทำให้มีการกระจายของแร่ธาตุในดินมากขึ้น เนื่องจากปลวกไม่สามารถสร้างน้ำย่อยด้วยตัวเองได้จึงต้องอาศัยจุลินทรีย์ภายในลำไส้มาช่วยย่อยสารอาหารจึงเกิดเป็นความสัมพันธ์แบบอาศัยอาศัยซึ่งกัน และกันในห่วงโซ่อาหาร โดยที่จุลินทรีย์จะผลิตแหล่งพลังงานไนโตรเจนให้กับปลวก และได้รับสารอาหารจากอาหารที่ปลวกกินเข้าไปโดยยกตัวอย่างเช่น “cellulolytic flagellates ลดการผลิต cellulose เพื่อผลิต acetate ซึ่งจะถูกดูดซึมโดยปลวกเพื่อนำไปเป็นพลังงานและแหล่งคาร์บอน” (Brune, 1998)

ตารางที่ 2.1 แสดงถึงจุลินทรีย์ที่พบโดยทั่วไปภายในลำไส้ปลวก

Domain	Genus,Species	Functions of Microbes
Bacteria	<i>Treponema</i>	ว่ายอย่างอิสระในลำไส้ทำหน้าที่ ดำเนินการกระบวนการ acetogenesis
	<i>Bacteroides, Bacteroides termitidis</i>	เพิ่มแหล่งไนโตรเจนโดยการรี ไซเคิลของเสียจากการตรึงคาร์บอน กระบวนการ Fermentative
	<i>Desulfovibrio</i>	ทำหน้าที่เป็น Sulfate-reducing bacteria ถ่ายโอน hydrogen เป็น H <sub>2</sub>
	<i>Citrobacter, Citrobacter freundii, Enterobacter, Enterobacter agglomerans</i>	ทำหน้าที่เป็น Nitrogen-fixing bacteria
	<i>Enterococcus, Lactococcus</i>	ทำหน้าที่เป็น Lactic acid bacteria
	<i>Actinobacteria</i>	ทำหน้าที่ย่อยสลาย lignin และ ผลิตเอนไซม์ในการย่อย
Archaea	<i>Methanobrevibacter</i>	ดำเนินการกระบวนการ methanogenesis และผลิตก๊าซ มีเทน
Protists	<i>Trichonympha, Mixotricha, Dinenympha, Euconomympha</i>	ย่อย cellulose และ ผลิต H <sub>2</sub> และ CO <sub>2</sub> โดยกระบวนการจะ เกิดขึ้นใน mitochondria

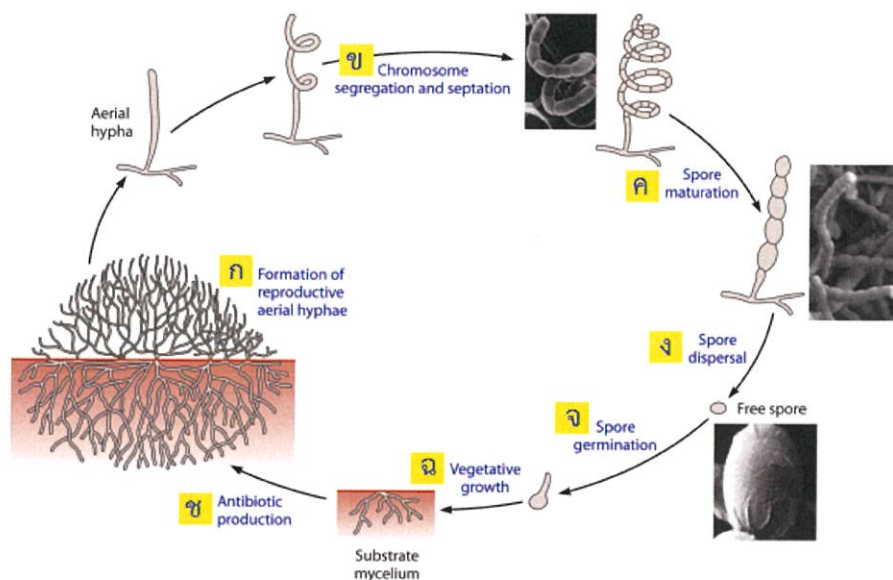
### 2.3 แอคติโนมัยซีท ( Actinomycetes )

เป็นจีสของกลุ่แบคทีเรีย Actinobacteria เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่สามารถพบได้บนพื้นดินทั่วไป และมหาสมุทร (JA, 2008 ) เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ในสภาวะที่มีออกซิเจนจะใช้กระบวนการหายใจ ส่วนสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะใช้การหมัก (fermentation) (Hogg, 2005) ยกเว้น *A. meyeri* และ *A. israelii* ที่ไม่ต้องการออกซิเจน ในการเจริญเติบโต (obligate anaerobe ) แบคทีเรียกลุ่มนี้มีลักษณะเป็นเส้นใยคล้ายกับเชื้อรา (JG, 1994) ซึ่งเส้นใยที่สร้างมี 2 ลักษณะ คือ ลักษณะที่ 1 เป็นเส้นใยที่เจริญลงไปได้ผิวอาหาร เรียกว่าเส้นใยอาหาร (Substrate mycelium) ลักษณะที่ 2 เป็นเส้นใยอากาศนอกจากนี้ยังสามารถสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศ ( asexual spore) ซึ่งจะสร้างเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ

Actinomycetes มีลักษณะแตกต่างจากเชื้อรา คือ แบคทีเรียกลุ่มนี้ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (nucleus membrane) เชื้อ Actinomycetes สามารถพบได้แพร่หลายบนดิน หรือพบในสภาพแวดล้อมในร่างกายสิ่งมีชีวิต (microbiota) โดยมีบทบาท และหน้าที่ที่สำคัญต่อระบบนิเวศในดินแบคทีเรียกลุ่มนี้จะช่วยในการผลิตเอนไซม์ขึ้นมาเพื่อช่วยย่อยสลายวัตถุดิบหรืออินทรีย์ในธรรมชาติ เช่น ลิกนิน, ไคติน ทำให้มีการย่อยเกิดขึ้น และเปลี่ยนแปลงสภาวะของวัตถุดิบหรืออินทรีย์เป็นปุ๋ยให้กับธรรมชาติ อีกทั้งยังสร้างสารจีโอสมิน (geosmin) ซึ่งเป็นสารที่มีกลิ่นคล้ายดิน Actinomycetes บางชนิดมีความสอดคล้องกับ ผิวหนัง (skin flora), ช่องปาก (oral flora), ลำไส้ (gut flora) และอวัยวะเพศ (vaginal flora) ของสิ่งมีชีวิต (Mariya, 2015) ช่วยในกระบวนการต่าง ๆ ในสิ่งมีชีวิต

แอคติโนมัยซีท (Actinomycetes) ถูกจำแนกว่าเป็นแบคทีเรียเนื่องจากอยู่ในกลุ่มของโพรคาริโอต (prokaryote) และมีผนังชั้นเปปทิโดไกลแคน (peptidoglycan) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ที่แตกต่างจากชั้นผนังเซลล์ของราที่ไม่มีไคติน (chitin) และกลูโคส (glucose) เป็นองค์ประกอบ มีความไวต่อไลโซโซม (lysosome) และมีความไวต่อสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแต่ไม่ไวต่อชนิดที่ต้านเชื้อรานอกจากนี้ยังพบชนิดที่มีการสร้างแฟลกเจลลา (flagella) อีกด้วย (สมศักดิ์, 2528)

เมื่อเพาะเลี้ยงบน agar จะเกิดเป็น branching network of hyphae มี septa ซึ่งจะแบ่งเซลล์เป็นส่วน ๆ ละ 20  $\mu\text{m}$  หรือมากกว่านี้ แต่ละเซลล์มี nucleoids  $> 1$  การแตกกิ่งก้านของ actinomycetes จนมีลักษณะคล้ายก้อน tissue เรียกว่า thallus actinomycetes หลายๆ ชนิดจะมีการฟอร์มของ asexual thin - walled spore เรียกว่า conidia , conidiospores หรือ sheath ถ้าสปอร์อยู่ใน sporangium จะเรียกว่า sporangiospores สปอร์นี้ยังมีขนาดต่าง ๆ กัน สาเหตุที่สร้างผนังเคลือบชั้นสปอร์ของ actinomycetes เพราะสปอร์มักจะไม่ทนต่อความร้อน (Holt, 1994)



รูปที่ 2.7 แสดงวัฏจักรการเจริญของแอกติโนแบคทีเรียและการเกิดสปอร์รูเลชัน

- ก: การสร้างเส้นใยอากาศที่ชูยอดบนอาหารแข็ง
- ข: โครโมโซมเกิดการแยกตัวและการสร้างผนังกัน (septa)
- ค: สปอร์เจริญเติบโตเต็มที่
- ง: เกิดการกระจายตัวของสปอร์
- จ: สปอร์ตกลงบนแหล่งอาหาร
- ฉ: เกิดการสร้างเส้นใยอาหารฝังลงบนแหล่งอาหาร
- ช: เกิดการสร้างสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์

(อ้างอิง : <https://www.semanticscholar.org/paper/Taxonomy/actinobacteria>)

### 2.3.1 สัณฐานวิทยาของแอกติโนมัซีท

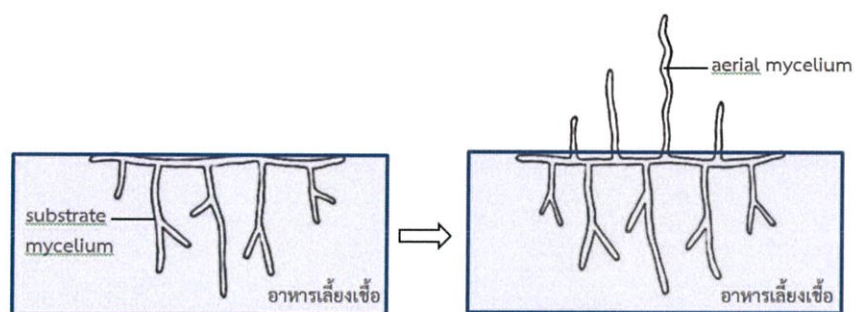
แอกติโนมัซีทเป็นจุลินทรีย์ที่มีความหลากหลายทางสัณฐานวิทยามาก ยกตัวอย่างเช่น รูปร่างกลม รูปร่างท่อน รูปร่างท่อนไม่มีกิ่งก้าน และแบบที่มีการแตกกิ่งก้าน หรือมีการสร้างไฮฟาที่มีการแตกหักเป็นท่อน พัฒนาไปกระทั่งมีการสร้างเส้นใยที่มีการแตกกิ่งก้านและสร้างสปอร์อยู่ภายในไฮฟารวมไปถึงการสร้างสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้ (Zoospore) และพวกที่สร้างสปอร์แรงเจียม (Sporangium) (Logan, 1994)

### 2.3.2 เส้นใยของแอกติโนมัซีท

โคโลนีของแอกติโนแบคทีเรียเกิดจากการรวมกันของเส้นใยเป็นกลุ่มเส้นใยที่หนาแน่นคล้ายกับเส้นใยราแต่เส้นใยของแอกติโนมัซีทจะมีขนาดเล็กกว่าเส้นใยราซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.5 ถึง 0.8 ไมโครเมตรเส้นใยเป็นแบบมีผนังกัน และเจริญออกทางด้านปลายสามารถแตกแขนงได้ โดยแบ่งเส้นใยของแอกติโนมัซีทออกเป็น 2 ประเภท

1. เส้นใยอาหาร (substrate mycelium) เป็นเส้นใยที่เจริญลงในเนื้อวุ้นของอาหารแข็ง ช่วยนำสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเข้าสู่เซลล์ โดยช่วงต้นของการเจริญของเส้นใยจะมีสีขาว หรือสีครีมแต่เมื่อเจริญเต็มที่แล้วจะค่อยๆเปลี่ยนสีเป็นสีต่าง ๆ เช่น เหลือง ส้ม ชมพู หรือ น้ำตาล เส้นใยประเภทนี้จะเจริญอย่างรวดเร็วในระยะเวลา 4 – 6 ชั่วโมงต่อมาจะพัฒนาเป็นเส้นใยที่ยาวและซับซ้อนโดยเส้นใยจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.7 ไมโครเมตร ( Manteca *et al.*, 2005 )

2. เส้นใยอากาศ (aerial mycelium) เป็นเส้นใยที่ชูขึ้นบนอากาศเจริญเหนือผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ แอคติโนมัยซีทส่วนใหญ่มีการสร้างเส้นใยชนิดนี้โดยเฉพาะ *Streptomyces* แต่บางสกุลเท่านั้นไม่สร้างเส้นใยอากาศ



รูปที่ 2.8 แสดงถึงความแตกต่างระว่างเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศ

(อ้างอิง : [http://app.dnp.go.th/opac/multimedia/research/334\\_56.pdf](http://app.dnp.go.th/opac/multimedia/research/334_56.pdf))

การสร้างเส้นใยอากาศของเชื้อแอคติโนมัยซีทแต่ละชนิดนั้นแตกต่างกันดังนั้นสามารถนำข้อมูลเหล่านี้มาใช้จำแนก และจัดหมวดหมู่ให้กับเชื้อแอคติโนมัยซีทได้ สกุลที่สร้างเส้นใยอากาศจะมีเส้นใยปกคลุมโคโลนีทำให้โคโลนีมีลักษณะคล้ายกับผงแป้ง เส้นใยอากาศเป็นเส้นใยที่ไม่ชอบน้ำ มีการแตกแขนงน้อย และมีสีเข้มกว่าเส้นใยอาหาร และสามารถพัฒนาต่อไปเป็นสปอร์ได้โดยเส้นใยมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 1 – 1.4 ไมโครเมตร (จามจุรี และคณะ, 2555)

### 2.3.3 ลักษณะของโคโลนี

ลักษณะของโคโลนีมีความแตกต่างกันในแต่ละสปีชีส์ เช่นใน *Streptomyces* มีทั้งเส้นใยแบบ aerial mycelium และ substrate mycelium การสร้างเส้นใยประเภท aerial mycelium ทำให้โคโลนีของแอคติโนมัยซีทที่เรียกว่า หรือเรียบแบนบางครั้งมีลักษณะคล้ายหนังสัตว์มีความหลากหลายตั้งแต่เนียน เหนียว จนถึงแข็ง ผิวหน้าโคโลนีอาจเรียบ นูน ขรุขระ หรือ เป็นเกล็ด ขนาดโคโลนีขึ้นอยู่กับสปีชีส์อายุและสภาวะการเจริญเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี มีความแตกต่างตั้งแต่หน่วยมิลลิเมตรจนถึงเซนติเมตร ลักษณะโดยทั่วไปของโคโลนีแอคติโนมัยซีทที่เรีย

1) ลักษณะของโคโลนี (configuration) รูปร่างของโคโลนีบนจานอาหารอาจมีรูปร่างกลม (round) รูปร่างไม่แน่นอนและเจริญลามไปบนจานอาหาร (irregular and spreading) หรือเจริญเป็นเส้นคล้าย รากไม้ (rhizoid) เป็นต้น

2) ขนาด (size) โคลนีย์ของเชื้อจุลินทรีย์มีขนาดตั้งแต่เล็กเท่าปลายเข็มจนถึงเส้นผ่านศูนย์กลางความยาวมิลลิเมตร

3) การยกตัวของโคลนีย์ (elevation) งานพื้นอาหารโคลนีย์ที่เจริญบนอาหารอาจแบนราบหรือนูน จึงทำให้โคลนีย์ที่ยกตัวมีหลายแบบ

4) ขอบของโคลนีย์จุลินทรีย์ (margin) มีตั้งแต่ขอบเรียบ หรือไม่เรียบ โครงสร้างภายในเส้นใยเส้นใยมีความหนาประมาณ 0.4 - 1.2 ไมโครเมตร เส้นใยเป็นแบบมีผนังกันและเจริญออก ทางด้านปลายสามารถแตกแขนงได้โครงสร้างหลักในเส้นใยที่แสดงว่าเป็นโปรคาริโอต คือ ไนไซโตพลา สซึมประกอบไปด้วยสาย ดีเอ็นเอ ไรโบโซม และสารต่าง ๆ ที่รวมอยู่ด้วยกัน เช่น Polyphosphate, Lipid หรือ Polysaccharides เยื่อหุ้มเซลล์ติดกับไซโตพลาสซึมอาจเกิดมีโซโซมซึ่งมักต่อกับโครงสร้าง ของผนังเซลล์ (กึ่งจันทร์, 2555)

### 2.3.4 การสร้างสปอร์

#### 2.3.4.1 การสร้างสปอร์เดี่ยว

เรียกว่า Monosporous พบในหลายสกุล ใน *Micromonospora* ก้านชูสปอร์ (Sporophore) เกิดขึ้นบนสายใยอาหารสปอร์ติดอยู่ที่ฐาน หรือพองตัว จากนั้นมีการสร้างผนังกันและสร้างเป็นผนังสปอร์ในส่วนของสกุล *Thermomonospora* สร้างสปอร์เดี่ยวบนสายใยอากาศที่ปลายก้านชูสปอร์ที่แตกแขนง หรือไม่แตกแขนง

การแตกแขนงทำให้เกิดการสร้างเป็นกลุ่มของสปอร์สกุลอื่น ๆ ที่สร้างสปอร์เดี่ยวคือ *Saccharomonospora* มีการสร้างสปอร์เดี่ยวรูปไข่ที่ปลายสายใยอากาศก้านชูสปอร์ไม่แตกแขนงถ้าใช้ศัพท์ทางเราอาจเรียกว่าการสร้างสปอร์เดี่ยวของ *Micromonospora*, *Thermomonospora* และ *Saccharomonospora* ว่า aleuriospores เพราะสปอร์เกิดจากปลายเส้นใยที่แตกแขนง และมีการโป่งออก

#### 2.3.4.2 การสร้างสปอร์เป็นสาย

แอกติโนแบคทีเรียมีการสร้างสปอร์แบบนี้เป็นส่วนมากสามารถแบ่งลักษณะของสายสปอร์โดยจะพิจารณาจากความยาว หรือจำนวนของสปอร์คือ สปอร์คู่ (bisporous) สปอร์สายสั้น oligosporous และ สปอร์สายยาว polysporous

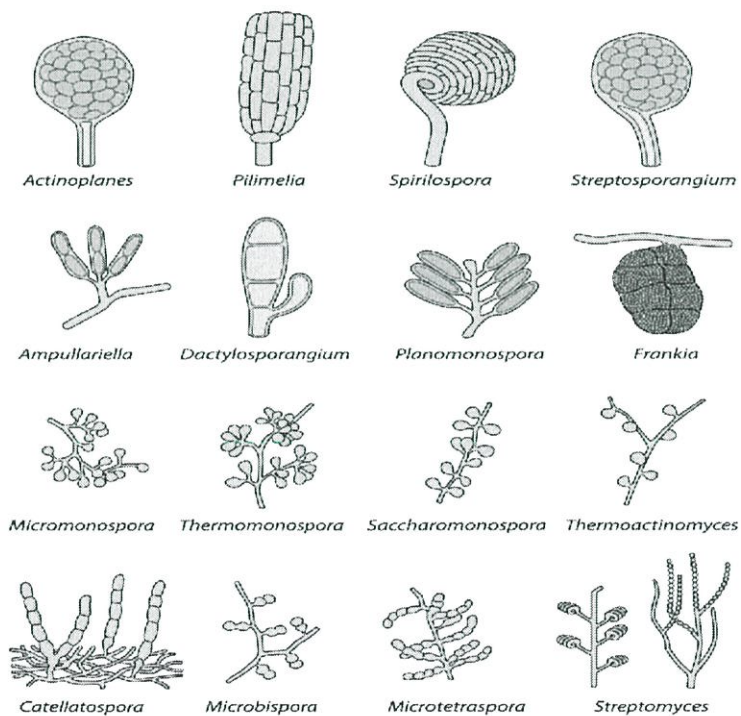
แอกติโนแบคทีเรียที่สร้างสปอร์แบบ oligosporous พัฒนาจากสปอร์สายสั้นๆ ส่วนมากพบ 7-10 สปอร์ต่อสาย น้อยที่สุดคือ 3 สปอร์ และบางสปีชีส์จะมีสปอร์มากถึง 30 สปอร์ เช่น *Nocardia brevicatena* สร้างสายสปอร์สั้นๆ คือ 2-7 สปอร์ (ศิริรัตน์, 2552) (กึ่งจันทร์, 2555)

แอกติโนแบคทีเรียที่สร้างสปอร์แบบ polysporous ที่สำคัญสปีชีส์ในสกุล *Streptomyces* ซึ่งมีการสร้างสปอร์เป็นสายมากกว่า 50 สปอร์ สปอร์ของ *Streptomyces* และแอกติโนแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ที่มีสปอร์มากกว่ามักเรียกว่า Arthrospores ซึ่งสอดคล้องกับ Arthrospores ของกลุ่มรา ในกลุ่ม Deuteromycota ที่มีการสร้างสปอร์ และมีการแตกหักของเส้นใย ความแตกต่างของ

ลักษณะของสาย สปอร์สามารถใช้เป็นมาตรฐานในการจัดหมวดหมู่ได้ การสร้างสปอร์บนสายใยอากาศของ *Streptomyces* มีความแตกต่างกันสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ลักษณะคือ

- 1) Rectiflexibiles ลักษณะของสายสปอร์ตรง หรือโค้งงอ
- 2) Retinaculiaperti สายสปอร์คล้ายขอ (hook) เป็นวงเปิด หรือพับเกลียวซ้อนกัน 1–3 ชั้น
- 3) Spira สายสปอร์เป็นเกลียวแยกได้เป็น 2 แบบคือเป็นวงปิดเป็นเกลียวติดกันแน่น และเป็น เกลียวแบบวงเปิดเกลียวยาว ยืด ไม่ติดกันแน่น
- 4) Verticillati สายสปอร์ขดคล้ายกันหอย และแตกแขนงกันแน่น

3) การสร้างสปอร์ในอับสปอร์ การสร้างสปอร์ในอับสปอร์มีหลายสกุลที่สร้างสปอร์ในอับสปอร์ภายในอับสปอร์มีสปอร์อยู่มากมาย สามารถแบ่งกลุ่มการสร้างอับสปอร์ได้เป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่สร้างอับสปอร์บนสายใยอาหารประกอบด้วยสกุล Actinoplans อับสปอร์มีลักษณะทรงกลม หรือเกือบกลมจนไปถึงไม่เป็นรูปทรงที่แน่นอน มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 – 15 ไมโครเมตร และอยู่บนสายใยอาหารโดยตรงมีสปอร์ต่อกันเป็นสาย และแตกแขนงขดกันเป็นก้อนอยู่ภายในผนัง ห่อหุ้ม (ศิริรัตน์, 2552) (กิ่งจันทร์, 2555) (จามจุรี และคณะ, 2555)

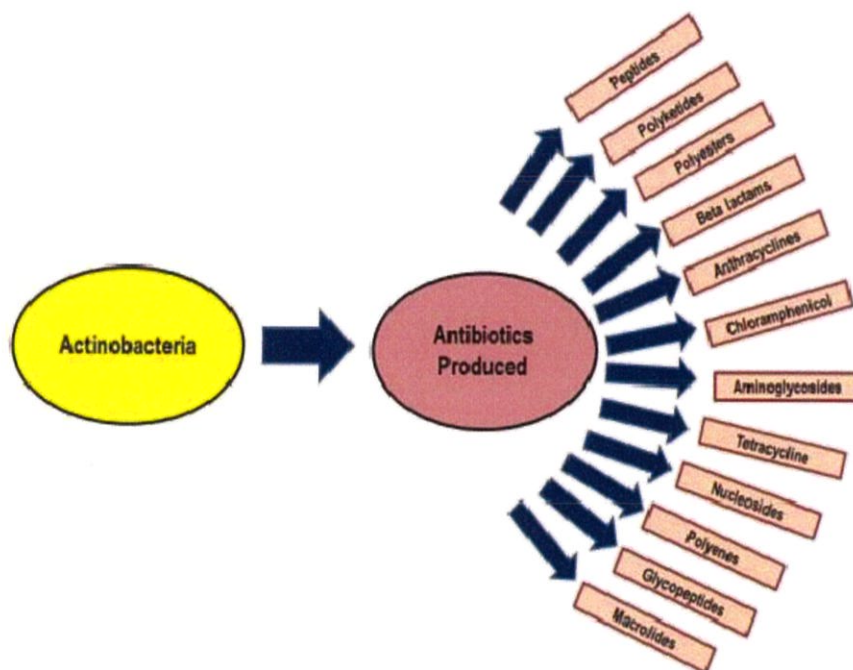


รูปที่ 2.9 แสดงถึงลักษณะการสร้างสปอร์ในรูปแบบต่างๆของเชื้อแอคติโนมัยซีทแต่ละสกุล  
(อ้างอิง : <https://phys.libretexts.org>)

## 2.4 คุณสมบัติในการสร้างสารปฏิชีวนะของแอคติโนมัยซีท

เชื้อแอคติโนมัยซีทมีคุณสมบัติในการสร้างสารปฏิชีวนะโดยพบว่ามีกลุ่มที่สร้างได้มากที่สุดพบได้ 3 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ *Streptomyces*, *Actinoplanete* และ *Nocardioform*

*Streptomyces* จัดเป็นสกุลที่พบได้มากที่สุดประมาณร้อยละ 90 % ของแอคติโนมัยซีททั้งหมด องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ประกอบไปด้วยเปปติโดไกลแคนชนิด A มีกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 3 ของ N-acetyl muraminic acid เป็น meso-DAP มีฟอสโฟลิปิดประเภท PII (PII type) และมีอนุพันธ์ของมีนาควิโนน MK-9(H4), MK-10(H4), MK-10(H6) หรือ MK-12(H6) โดยมีน้ำตาลในเซลล์ประกอบไปด้วยน้ำตาลอะราบินอส และไซโลส (Kawamoto, 1989)



รูปที่ 2.10 แสดงถึงความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อแอคติโนมัยซีท

(อ้างอิง : <https://www.slideshare.net/doctorrao/actinomycetes-and-nocardia>)

*Micromonospora* ที่เจริญบนอาหารแข็งสร้างโคโลนีขนาดเล็กซึ่งเป็นส่วนของเส้นใยอาหารมีทั้งโคโลนีสีส้ม แดง ดำ น้ำตาล เขียว และม่วง ไม่สร้างเส้นใยอากาศ อาจพบการสร้างสปอร์อยู่บนผิวของโคโลนีเห็นเป็นสีดำ และเป็นเมือก จุลินทรีย์ชนิดนี้อาจสร้างรงควัตถุสีเหลือง แดง ม่วง หรือ ดำ ในอาหารแข็งได้ สปอร์ของ *Micromonospora* สามารถทนความร้อน และความเย็นได้ดี และเจริญได้ดีในอุณหภูมิ 20- 40°C ไม่เจริญใน pH ต่ำกว่า 6 สร้างสารปฏิชีวนะที่สำคัญได้แก่ gentamycin สารต่อต้านมะเร็ง calicheamycin (Kawamoto, 1989)

เชื้อแอคติโนมัยซีทเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารเมทาโบไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งมีสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิดได้แก่ สารปฏิชีวนะต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส ที่มีความสำคัญต่อการแพทย์ และเภสัชกรรม อีกทั้งยังสามารถผลิตสารฆ่าแมลง สารปราบวัชพืช รวมไปถึงสารต้านมะเร็ง และสารก่อกวนระบบภูมิคุ้มกัน (Waksman, 1961)

สารปฏิชีวนะส่วนใหญ่ถูกสร้างขึ้นโดยเชื้อแอคติโนมัยซีทสกุล *Streptomyces* หลายสายพันธุ์ได้แก่ สารต่อต้านแบคทีเรีย เช่น ampicillin และ penicillin-N ซึ่งมีโครงสร้างเป็นวงเบต้าแลคแทมที่มีสมบัติยับยั้งการสร้างเปปติโดไกลแคนที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย สารที่มีสมบัติต่อต้านเชื้อราได้แก่ nystatin , polyoxin และ antracycline เป็นต้น โดย antracycline เป็นสารที่ต่อต้านเชื้อราแล้วยังสามารถต่อต้านมะเร็งได้อีกด้วย โดยจะไปยับยั้งเอนไซม์ topoisomerase II ทำให้ไม่สามารถจำลองดีเอ็นเอได้ สารปฏิชีวนะที่สร้างขึ้นโดยแอคติโนมัยซีทที่หายากประมาณ 1000 ชนิด สร้างจาก Micromonospora 400 ชนิด

## 2.5 แอคติโนมัยซีทภายในลำไส้ปลวก

Actinobacteria เป็นที่รู้จักกันดีในด้านการสังเคราะห์สารทุติยภูมิซึ่งพบได้หลายแห่งทั้งอีกทั้งยังใช้เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Fiedler *et al.*, 2008) นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติช่วยในการย่อยสลายอาหารจำพวกคาร์โบไฮเดรตรวมถึงพอลิแซ็กคาไรด์ (Schäfer *et al.*, 1985)

การแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากลำไส้ปลวกเกิดขึ้นครั้งแรกโดย Pasti และ Belli ในปี 1985 และค้นพบกิจกรรมภายในลำไส้ปลวกคือการผลิตเอนไซม์เซลลูโลสไลติก (Cellulolytic enzyme) โดยจุลินทรีย์เหล่านี้ยังมีอีกหนึ่งกิจกรรมที่เรียกว่าการละลายลิกนิน (lignin-solubilizing activity) (MB and ML, 1985) อีกทั้งยังมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับกระบวนการผลิตเอนไซม์ภายในลำไส้ปลวกทำให้พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีทสามารถผลิตเอนไซม์กลุ่ม Lignocellulolytic Enzymes ช่วยในการย่อยสลายลิกนินเซลลูโลสซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของลิกนิน เฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลส เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช และจัดเป็นเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายในน้ำ (Mtui, 2012)

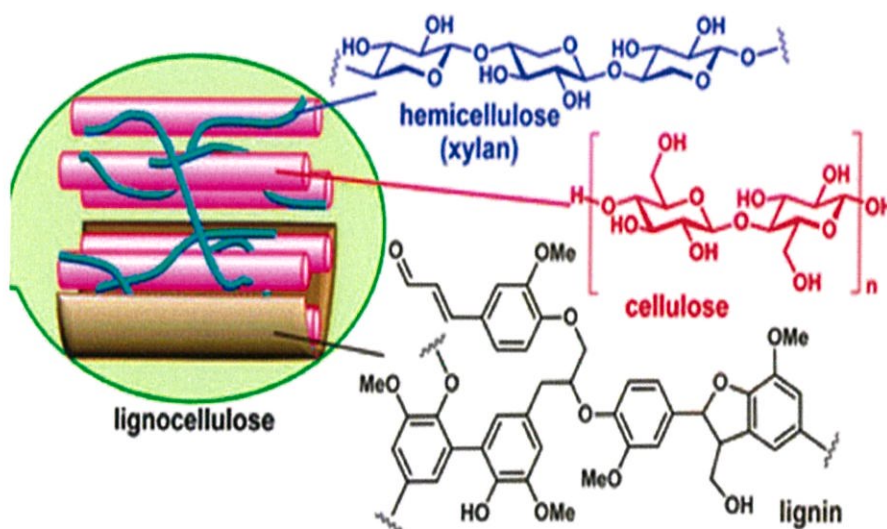
### 2.5.1 Lignocellulose

Lignocellulose หมายถึงวัตถุแห้งในพืช (ชีวมวล) เรียกว่า Lignocellulosic biomass ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพในปัจจุบัน Lignocellulose จัดได้ว่าเป็นชีวมวลหมุนเวียนที่อุดมสมบูรณ์มากที่สุดในโลก (Isikgor and Becer, 2015) โดยมีบทบาทสำคัญในการผลิต Bio-ethanol สารประกอบของ Lignocellulose ประกอบไปด้วย cellulose, hemicellulose, pectin, และ lignin ซึ่งแต่ละโพลีเมอร์นั้นมีองค์ประกอบของโมโนเมอร์น้ำตาลที่แตกต่างกัน (น้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม และ 6 อะตอม) และที่มีพันธะแน่นหนาที่สุดคือ Lignin ด้วยคุณสมบัติทางกายภาพ และเคมีของ Lignocellulosic ทำให้มีคุณค่าต่อเทคโนโลยีชีวภาพ และอุตสาหกรรมเป็นอย่างยิ่ง (Pothiraj *et al.*, 2006)

สารประกอบต่างๆของ Lignocellulose ประกอบไปด้วย cellulose, hemicellulose, pectin, และ lignin จะถูกนำไปเป็นแหล่งพลังงานในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพของจุลินทรีย์ เช่น bacteria, archaea, fungi และ protists โดยจุลินทรีย์เหล่านี้จะนำสารประกอบของ Lignocellulose เปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลตัวอื่น ๆ (Ravindran, 2016)

### 2.5.2 Lignocellulolytic Enzymes

เป็นเอนไซม์ที่สามารถผลิตได้โดยแอคติโนแบคทีเรียซึ่งเอนไซม์นี้สามารถใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรม (D. Prakash, 2013) Lignocellulases เป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสที่มียากต่อการย่อยสลายได้รวมถึง cellulases, hemicellulases (Mtui, 2012) เอนไซม์ Lignocellulolytic สามารถพบได้ทั่วไปจากจุลินทรีย์หลากหลายชนิดได้แก่ แบคทีเรีย และเชื้อรา (Souza, 2013) รวมไปถึงแอคติโนแบคทีเรียที่พบว่ามีการสร้างเอนไซม์ Lignocellulolytic แบ่งการทำงานเป็น 2 กระบวนการ คือ กระบวนการ Detoxification เป็นกระบวนการกำจัดสารที่ยับยั้งกระบวนการหมัก (inhibitor) และกำจัด lignin บางส่วนออกไป (Martinez *et al.*, 2001) สารที่ยับยั้งกระบวนการหมัก เช่น furan และ phenolics compound (Chandel *et al.*, 2007) และอีกกระบวนการคือ Delignification เป็นกระบวนการในการดึงลิกนินออกไปโดยใช้เอนไซม์ lignolytic enzymes ที่ได้จากจุลินทรีย์ (Saha, 2004)



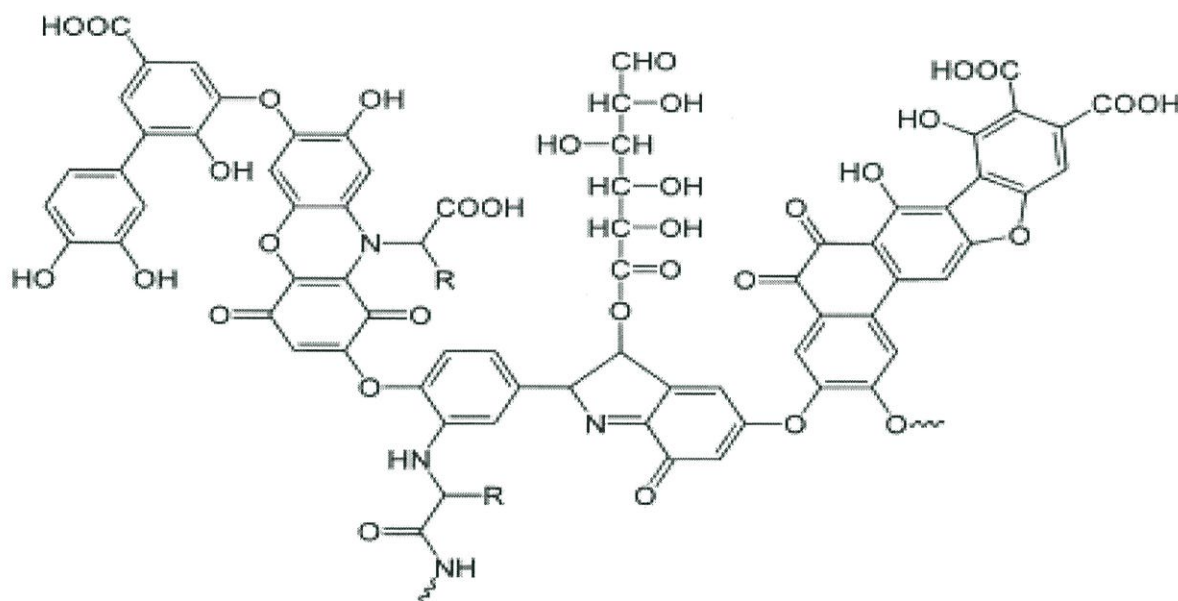
รูปที่ 2.11 แสดงถึงโครงสร้างของลิกโนเซลลูโลสที่มีเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ

(อ้างอิง : <http://www.mdpi.com/1996-1073/11/3/674/htm>)

## 2.6 ฮิวมัส (Humus)

อินทรีย์วัตถุที่มีโครงสร้างสลับซับซ้อนโดยสลายตัวปะปนอยู่ในดินทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์ เกิดจากการย่อยสลายของซากพืช ซากสัตว์ โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ซึ่งสังเคราะห์ได้สารประกอบอินทรีย์จำพวก กรดอะมิโน โปรตีน และอโรมาติก ซึ่งแอกติโนไมซีทมีบทบาทสำคัญในการเกิดกิจกรรมภายในดินอีกทั้งการรวมตัวของสารประกอบอินทรีย์หลังจากที่จุลินทรีย์ตายลง และทับถมกันเป็นเวลานานกลายเป็นฮิวมัสในดิน (Whitehead, 1963) บางครั้งก็ใช้อธิบายถึงปุ๋ยหมักที่เกิดขึ้นเองในธรรมชาติและการปรับสภาพดินเพื่อให้มีความอุดมสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

### 2.6.1 กรดฮิวมิก (Humic acid)



รูปที่ 2.12 แสดงถึงโครงสร้างพันธะของกรดฮิวมิก

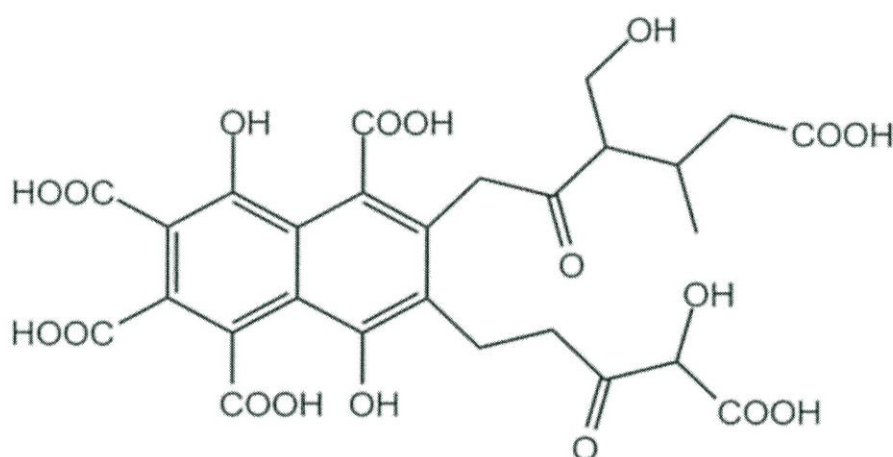
(อ้างอิง : [https://en.wikipedia.org/wiki/Humic\\_acid](https://en.wikipedia.org/wiki/Humic_acid))

กรดฮิวมิกเกิดขึ้นโดยกระบวนการย่อยสลายในทางชีวภาพของสารอินทรีย์ที่ตายลง และเป็นส่วนประกอบหลักของสสารฮิวมิก (humic substances) ซึ่งสสารฮิวมิกเป็นสารประกอบหลักของดิน (ฮิวมัส), พีต, ถ่านหิน, หนองน้ำ (dystrophic lakes) และน้ำมหาสมุทร (F.J,1994) กรดฮิวมิกไม่ใช่กรดเดี่ยว ๆ แต่เป็นการผสมของกรดหลาย ๆ ชนิดที่อยู่ในกลุ่มกรดคาร์บอกซิลิก และฟีนอล (phenol) โดยส่วนผสมนี้ (กรดฮิวมิก) จะมีลักษณะการทำงานคล้ายกับ dibasic acid หรือบางครั้งก็คล้ายกับ tribasic acid กรดฮิวมิกสามารถจะจับตัวกับไอออนที่พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมมาเป็นสารประกอบโคออร์ดิเนชัน (coordination complex) ทำให้เกิดเป็นของเหลวในรูปแขวนลอย หรือกรดฮิวมิก (humic acid) และกรดฟุลวิก (fulvic acid) กรดฮิวมิกไม่สามารถละลายในน้ำที่มีสถานะ

pH เป็นกรดแต่กรดฟลูวิกสามารถละลายน้ำได้ในทุกช่วงสภาวะ pH (MacCarthy, 2001) กรดฮิวมิก และกรดฟลูวิกนิยมถูกใช้อย่างกว้างขวางในการช่วยปรับปรุงดินสำหรับเกษตรกรรม อีกทั้งยังถูกใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับคนอีกด้วย (Yamauchi, 1984) สสารฮิวมิกเกิดจากการย่อยสลายทางชีวภาพของพืชที่ตายแล้วเช่น lignin จากจุลินทรีย์

แอกติโนไมซีที่ที่สามารถผลิตเอมไซม์ในการย่อยสลายลิกนินให้กลายเป็นสสารฮิวมิก แต่สสารฮิวมิกนั้นจะยากต่อการที่จะถูกย่อยสลายทางชีวภาพต่อไป คุณสมบัติ และโครงสร้างโดยละเอียดของสสารฮิวมิกนี้จะขึ้นกับสภาพของแหล่ง น้ำ ดิน และวิธีการสกัดสสารฮิวมิกขึ้นมาอย่างไรก็ตามคุณสมบัติทั่วไปโดยเฉลี่ยของสสารฮิวมิกจากแหล่งต่าง ๆ ค่อนข้างจะใกล้เคียงกัน (Lehmann, 2015)

### 2.6.2 กรดฟลูวิก(fluvic acid)



รูปที่ 2.13 แสดงถึงโครงสร้างพันธะของกรดกรดฟลูวิก

(อ้างอิง : <https://en.wikipedia.org/wiki/fluvicacid>)

กรดฟลูวิกคือสารออกฤทธิ์ต่อพืชมากที่สุดในกลุ่มสารประกอบฮิวมิก ให้ประโยชน์ทั้งด้านฟิสิก เคมี และชีววิทยา เป็นตัวปรับกรดต่างตามธรรมชาติ (Natural buffering) เป็นตัวขจัดสารพิษธรรมชาติ (Natural chelating) และมีคุณสมบัติในการแลกเปลี่ยนไอออนสูงสุดทำให้แร่ธาตุต่าง ๆ ง่ายต่อการดูดซึมของพืชทำให้พืชมีพลังชีวิต plant vitality เพิ่มขึ้น (Aiken, 1992) มีความต้านทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อม ช่วยให้พืชมีคุณภาพดีขึ้นรวมทั้งการเพิ่มผลผลิตด้วย กรดฟลูวิกที่เกิดเป็นสารเชิงซ้อนกับแร่และโลหะทำให้อยู่ในสภาพพร้อมดูดซึมโดยรากพืช และสามารถถูกดูดซึมผ่านผนังเซลล์ได้ทำให้ธาตุเหล็กซึ่งโดยปกติไม่เคลื่อนที่ถูกลำเลียงผ่านโครงสร้างของพืชได้อย่างง่ายดาย (Bremner, 1951) กรดฟลูวิกจะละลาย และแปลสภาพ ไวตามิน (Vitamins), เอนไซม์ร่วม (Coenzymes), อ็อกซิน (Auxin), ฮอร์โมน (Hormones) และสารปฏิชีวนะธรรมชาติ (Natural

Antibiotics) ซึ่งมีปรากฏอยู่ในดินทั่วไปให้อยู่ในลักษณะพร้อมใช้สำหรับพืช สารทั้งหมดดังกล่าวนี้มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการเจริญเติบโตที่แข็งแรงและสมบูรณ์แก่พืชเป็นอย่างมาก นอกจากนี้ยังช่วยให้เกิด แบคทีเรีย เชื้อรา และแอคติโนมัยซีทบางชนิดขึ้นมาเพื่อช่วยย่อยสลายซากพืชผักในดิน

## 2.7 ประโยชน์ที่ได้แอคติโนมัยซีทภายในลำไส้ปลวก

ปลวกจัดเป็นผู้ย่อยสลายในป่าธรรมชาติ ซึ่งทำหน้าที่ร่วมกับกับเชื้อรา และแบคทีเรียซึ่งแอคติโนมัยซีทภายในลำไส้ปลวกล้วนสามารถสร้างเอนไซม์จำพวก lignocellulolytic enzyme ขึ้นมาเพื่อช่วยปลวกย่อยสลายลิกนิน และแอคติโนมัยซีทก็จะได้สารอาหารผ่านกระบวนการย่อยเช่นกัน พบว่าประมาณ 3 ใน 4 ของขยะธรรมชาติ เช่น ซากพืช เศษไม้ ใบไม้ ท่อนไม้ หรือต้นไม้ที่หักล้มร่วงหล่นทับถมกันอยู่ในป่า ปลวกจะทำหน้าที่ช่วยในการย่อยสลายให้ผุพัง และเปลี่ยนแปลงไปเป็นฮิวมัสหรืออินทรีย์วัตถุภายในดินก่อให้เกิดการหมุนเวียนอย่างรวดเร็วของธาตุอาหารในดินสร้างความอุดมสมบูรณ์ให้แก่ดินในป่า ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของต้นไม้ นอกจากนี้ปลวกยังสามารถใช้แบคทีเรียในกระเพาะจับธาตุไนโตรเจนจากอากาศมาสร้างเป็นกรดอะมิโน และสร้างโปรตีนให้ตัวมันเองได้อีกด้วย (J. H. A. and Buckerfield, 1979) ปลวกจึงมีบทบาทเกี่ยวพันเป็นห่วงโซ่อาหารที่ซับซ้อนอยู่ในระบบนิเวศ และมีการถ่ายเทพลังงานกันก่อให้เกิดการเพิ่มผลผลิตของมวลชีวภาพ

การทำลาย หรือขุดรังปลวก ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงสภาพนิเวศของป่าธรรมชาติไปเป็นพื้นที่ใช้ประโยชน์ต่าง ๆ เช่น พื้นที่เกษตรกรรม สวนป่า หรือพื้นที่อยู่อาศัยของมนุษย์ ล้วนก่อให้เกิดความผิดปกติขึ้น ในขบวนการของระบบนิเวศ อัตราการย่อยสลายจะมีส่วนลดลง มีผลต่อปริมาณอินทรีย์วัตถุ และปริมาณของธาตุอาหารในดินลดลง ซึ่งมีผลกระทบต่อชีวมวลในระบบนิเวศที่ลำด่างไป ดังนั้นปลวกจึงเป็นทรัพยากรแมลงที่มีคุณค่าต่อการอนุรักษ์ในฐานะเป็นตัวจักรสำคัญในการเป็นผู้ย่อยสลายในธรรมชาติ

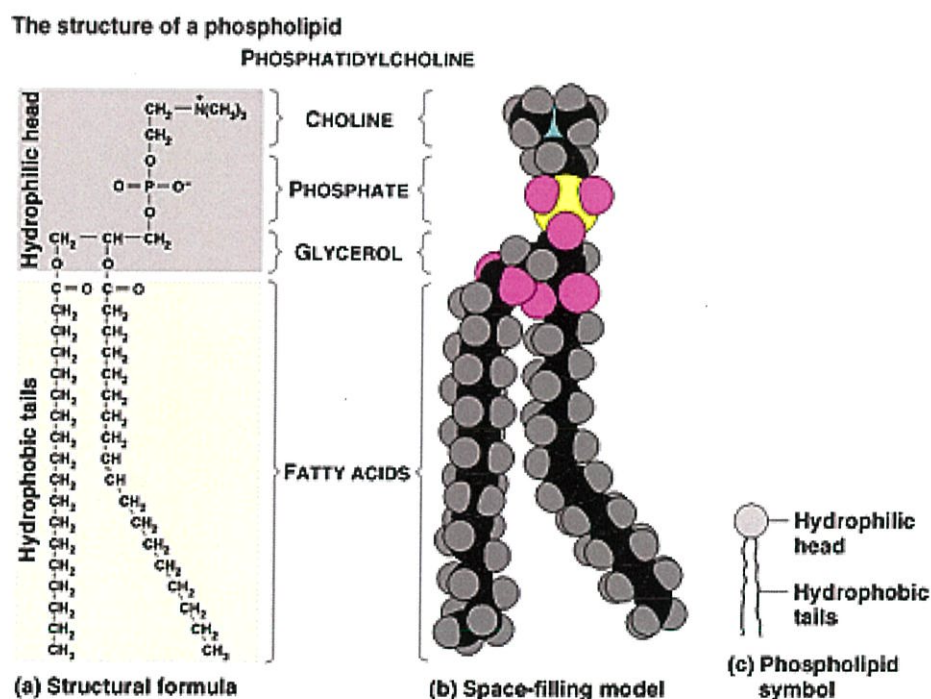


รูปที่ 2.14 ภายในรังปลวกและการทำงานภายในรัง

(อ้างอิง : <http://nemesis-termite.blogspot.com/2014/04/termite-type.html>)

## 2.8 ฟอสโฟลิปิด (Phospholipid)

ฟอสโฟลิปิด คือ ชั้นของไขมันที่มีขั้วสามารถแตกตัวได้เพราะมีกลุ่มของไอออนเป็นองค์ประกอบพบบริเวณของเซลล์เมมเบรน และยังสามารถสร้างชั้นของฟอสโฟลิปิดไบเลเยอร์ (lipid bilayer) เนื่องจากมีคุณสมบัติแบบ แอมฟิพาธิก (amphipathic) โครงสร้างของโมเลกุลฟอสโฟลิปิดประกอบด้วยกรดไขมันส่วนหางมีคุณสมบัติแบบไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) คือ ไม่มีการรวมตัวกับน้ำประกอบไปด้วย ไกลโคลีปิด โพรตีน และคอเลสเตอรอล ส่วนหัวประกอบด้วยหมู่ฟอสเฟตเป็นกลุ่มก่อนมีคุณสมบัติแบบไฮโดรฟิลิก (hydrophilic) คือ มีการรวมตัวกับน้ำ หมู่ที่อยู่บริเวณหัวนั้นจะเป็นไดอะซีกรีเซอรอล (diacylglycerol) หรือเรียกอีกอย่างว่าสฟิงโกซีน (sphingosine) เมื่อขั้วเกิดการแตกตัวจะอยู่ในรูปของแอลกอฮอล์ (alcohol) มักถูกเชื่อมโดยพันธะฟอสโฟดีเอสเทอร์บริจ (phosphodiester bridge) (Mashaghi, 2013)

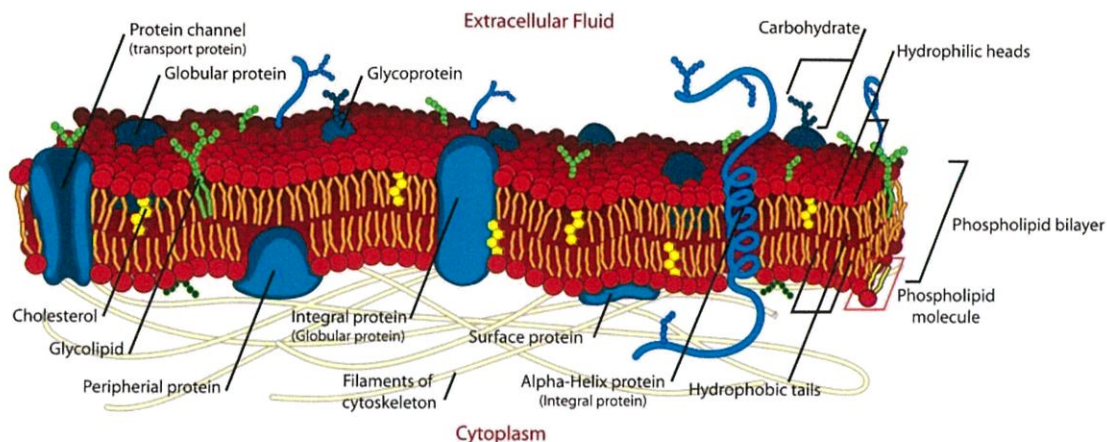


รูปที่ 2.15 แสดงถึงโครงสร้างของฟอสโฟลิปิด

A : โครงสร้างโมเลกุล                      b : รูปแบบโครงสร้างโมเลกุล

c : รูปแบบของส่วนหัวเป็นขั้วกับส่วนหางไม่เป็นขั้ว

(อ้างอิง : [http://www.biocasts.com/mctc/BIOL2200/Path\\_notes/ch5/ch5IVb.htm](http://www.biocasts.com/mctc/BIOL2200/Path_notes/ch5/ch5IVb.htm))



รูปที่ 2.16 แสดงถึงโครงสร้างผนังเซลล์ของยูคาริโอต

(อ้างอิง : <https://biologydictionary.net/cell-membrane/>)

แอคติโนมัยซีทในกลุ่ม nocardioform ที่สำคัญคือ *Nocardia* และ *Rhodococcus* ผนังเซลล์ประกอบไปด้วยเปปติโดไกลแคนประเภท A ที่มีกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 3 ของสาย N-acetyl muraminic acid เป็น meso-DAP มีฟอสโฟลิปิดประเภท PII (PII type) อนุพันธ์ของมีนาควิโนน เป็น MK-8(H2), MK-8(H4) หรือ MK-9(H2) และยังมีกรดไมโคลิด (mycolic acid) เป็นองค์ประกอบของเซลล์อีกด้วยทำให้จุลินทรีย์กลุ่มนี้จัดเป็น acid-alcohol fast ย้อมติดสีน้ำตาลในเซลล์ ประกอบด้วยอะราบิโนสกับกาแลคโตส ลักษณะการเจริญบนอาหารแข็งของ *Rhodococcus* นั้นสามารถสร้างเส้นใยอากาศ และเส้นใยอากาศได้ บางช่วงของการเจริญของเชื้อมีลักษณะเป็นท่อนหรือทรงกลม ลักษณะของโคโลนีมีหลายสี เช่น แดง เหลือง ส้ม ชมพู ครีมน้ำตาล และม่วง มีทั้งผิวเรียบและขรุขระ (ลลิตา, 2554)

## 2.8.1 ประเภทของฟอสโฟลิปิด (phospholipid types)

### 2.8.1.1 กลีเซอรอลฟอสโฟลิปิด (glycerophospholipid)

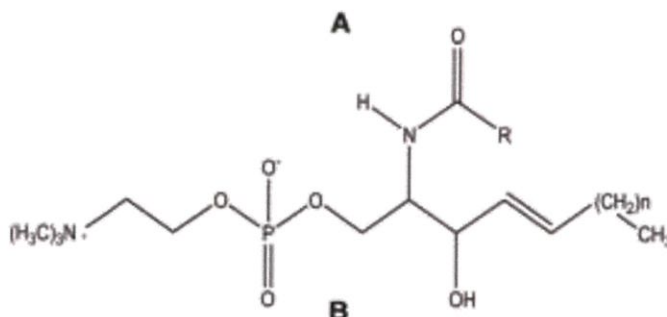
กลีเซอรอลฟอสโฟลิปิดถูกจัดอยู่ในรูปของแอลกอฮอล์ที่อยู่ในกลุ่มฟอสเฟตบนสายแบ็กโบน (backbone) กลีเซอรอล (glycerol) มีกรดไขมันอยู่ตำแหน่ง Csn-1 และ Csn-2 โดยตำแหน่งที่ Csn-3 จะอยู่ติดกับหมู่ฟอสเฟต (Pereto, 2004) ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ตารางแสดงกลีเซอรอลฟอสโฟลิปิดที่พบโดยทั่วบนผนังเซลล์แบคทีเรีย (Lafer, 2011)

Name of glycerophospholipid	Name of X	Formula of X	Net charge (at pH 7)
Phosphatidic acid	—	— H	-1
Phosphatidylethanolamine	Ethanolamine	— CH <sub>2</sub> —CH <sub>2</sub> —NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	0
Phosphatidylcholine	Choline	— CH <sub>2</sub> —CH <sub>2</sub> —N <sup>+</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	0
Phosphatidylserine	Serine	— CH <sub>2</sub> —CH—NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>   COO <sup>-</sup>	-1
Phosphatidylglycerol	Glycerol	— CH <sub>2</sub> —CH—CH <sub>2</sub> —OH   OH	-1
Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate	<i>myo</i> -Inositol 4,5-bisphosphate		-4
Cardiolipin	Phosphatidyl-glycerol	— CH <sub>2</sub>   CHOH   CH <sub>2</sub> —O—P(=O)(O <sup>-</sup> )—O—CH <sub>2</sub>   CH—O—C(=O)—R <sup>1</sup>   CH <sub>2</sub> —O—C(=O)—R <sup>2</sup>	-2

### 2.8.1.2 สฟิงโกลิปิด (sphingolipid)

โครงสร้างสายโมเมกุลเป็นโซ่ยาวที่เกิดจากการต่อกันของคาร์บอนเรียกว่าสฟิงโกซีน (sphingosine) (Montealegre, 2014.) ซึ่งถูกผูกติดอยู่กับกรดไขมันที่ชั้นเมมเบรนเพื่อสร้างเซราไมด์ (Ceramides) (ดังรูปที่6.2) เซราไมด์ (Ceramide) เป็น sphingolipid ชั้นพื้นฐานมีเพียงไฮโดรเจนในตำแหน่ง Csp-3 และกรดไขมันที่เชื่อมโยงกับเอไมด์ (amide) ( Fahy *et al.*, 2005)

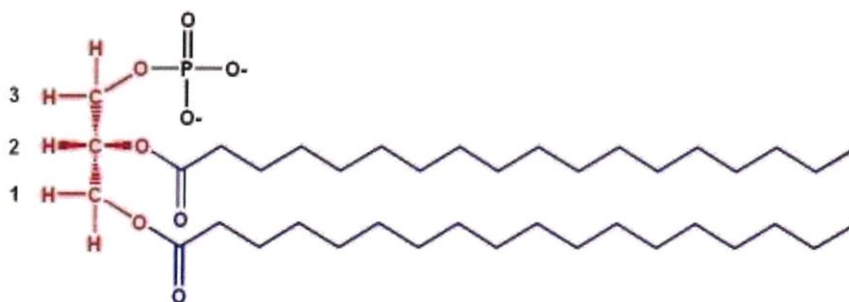


รูปที่ 2.17 แสดงถึงโครงสร้างของสฟริงโกลิปิดโดยที่ R แทนกรดไขมัน  
(อ้างอิง : <http://www.plantsphingolipids.org/wiki:sphingolipids>)

## 2.8.2 ฟอสโฟลิปิดที่สามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตโดยแบ่งชนิดตามลักษณะโครงสร้าง

### 2.8.2.1 Phosphatidic acid

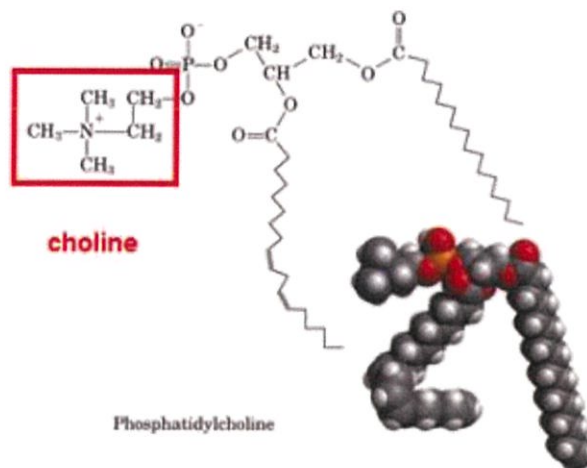
กรดฟอสฟาติก (Phosphatidic acid) บริเวณหมู่ฟอสเฟตจะเกิดปฏิกิริยา esterified ให้กลายเป็นหมู่ OH หรือแอลกอฮอล์ (alcohol) เพื่อไปเป็นสารตั้งต้นเพื่อสร้างฟอสโฟลิปิดชนิดอื่นๆ เช่น phosphatidyl-choline, phosphatidyl-ethanolamine, และ phosphatidyl-serine (Karin and Daum, 1999 )



รูปที่ 2.18 แสดงถึงโครงสร้างของPhosphatidic acid  
(อ้างอิง : <http://www.lipidhome.co.uk/lipids/complex/pa/index.htm> )

### 2.8.2.2 Phosphatidylcholine

ฟอสโฟลิปิดชนิดนี้พบได้ยากบนผนังเซลล์ของแบคทีเรียแต่พบได้ทั่วไปบนผนังเซลล์สัตว์ และพบได้มากบนผนังเซลล์พืช (Lafer, 2011)

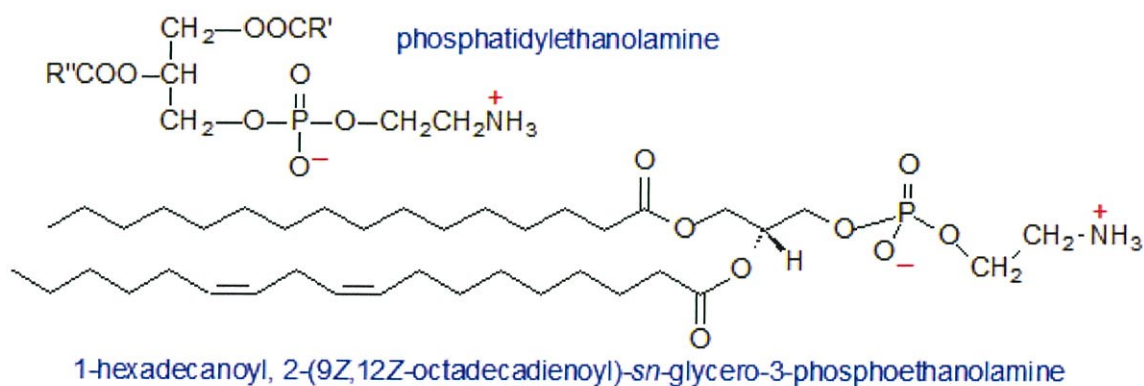


รูปที่ 2.19 แสดงถึงโครงสร้างของ Phosphatidylcholine

(อ้างอิง : <https://nootropicsupplementreview.com/phosphatidylcholine>)

### 2.8.2.3 Phosphatidylethanolamine

ฟอสโฟลิปิดชนิดนี้พบมากเป็นอันดับสองทั้งในเซลล์พืช และเซลล์สัตว์และมีความสำคัญในชั้นของฟอสโฟลิปิดไบเลเยอร์เพราะมีค่าความเป็นกลางที่ pH ประมาณ 2-7 (Dawaliby, 2016)

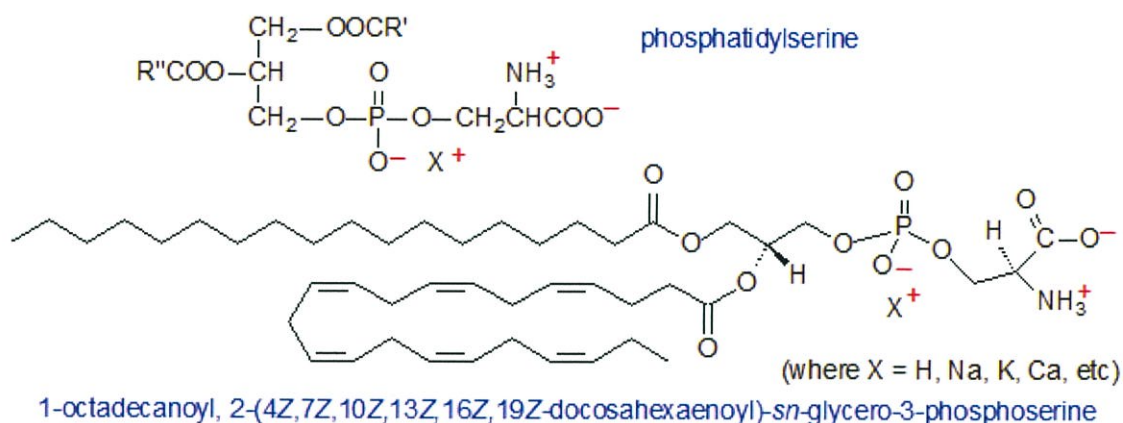


รูปที่ 2.20 แสดงถึงโครงสร้างของ Phosphatidylethanolamine

(อ้างอิง : <http://www.lipidhome.co.uk/lipids/complex/pe/index.htm>)

### 2.8.2.4 Phosphatidylserine

ฟอสโฟลิพิดชนิดนี้พบได้ทั้งเซลล์เนื้อเยื่อสัตว์ พืช และจุลินทรีย์ จะพบภายในชั้นเมมเบรนเป็นองค์ประกอบย่อยแต่มีหน้าที่สำคัญในการสังเคราะห์ phosphatidylethanolamine (Bever, 2016)

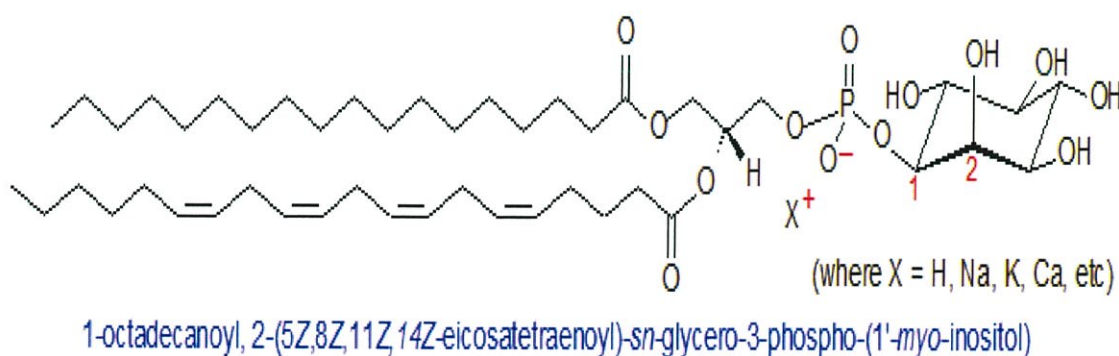


รูปที่ 2.21 แสดงถึงโครงสร้างของ phosphatidylserine

(อ้างอิง : <http://www.lipidhome.co.uk/lipids/complex/ps/index.htm>)

### 2.8.2.5 Phosphatidylinositol

Phosphatidylinositol เป็นกรดไขมันที่สำคัญทั้งในฐานะส่วนประกอบของเมมเบรนที่สำคัญ อีกทั้งยังมีส่วนร่วมในกระบวนการเผาผลาญอาหารที่จำเป็นในพืชและสัตว์ทั้งหมด (Haliem, 2017)

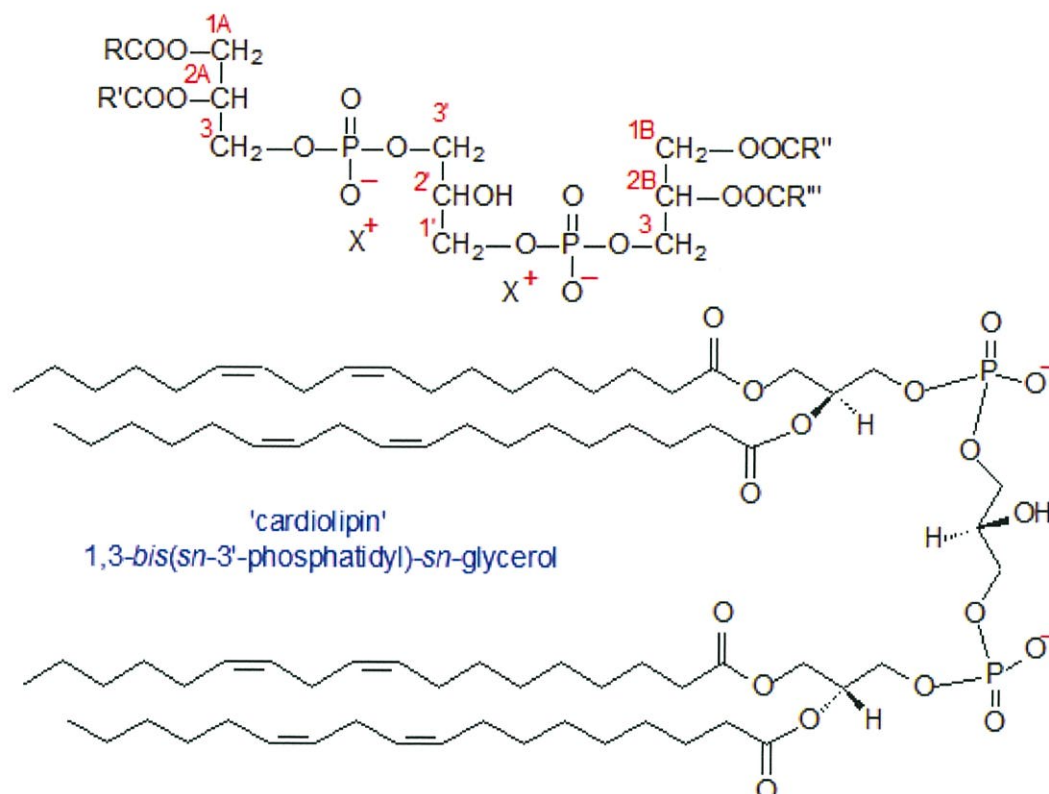


รูปที่ 2.22 แสดงถึงโครงสร้างของ Phosphatidylinositol

(อ้างอิง : <http://www.lipidhome.co.uk/lipids/complex/pi/index.htm>)

### 2.8.2.6 Cardiolipin (Diphosphatidylglycerol)

Cardiolipin หรือ 'diphosphatidylglycerol' ฟอสโฟลิปิดชนิดพบมากในเนื้อแอคตินโนแบคทีเรียซึ่งเกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ (binary fission) มักพบบริเวณปลายของไฮฟา และบริเวณที่เกิดการแตกกิ่งก้าน (Sandoval-Calderon *et al.*, 2009)



รูปที่ 2.23 แสดงถึงโครงสร้างของ Cardiolipin

(อ้างอิง : <http://www.lipidhome.co.uk/lipids/complex/pi/index.htm>)

## 2.9 โครมาโตกราฟี (Chromatography)

โครมาโตกราฟีเป็นวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการในการแยกสารแต่ละชนิดออกจากสารผสมเพื่อให้บริสุทธิ์อีกทั้งยังสามารถใช้เป็นวิธีในการจำแนกสารแต่ละชนิดได้หลักการโดยทั่วไปคือตัวอย่างสารจะผสมกับตัวทำละลายบนตัวดูดซับ เมื่อสารแต่ละชนิดเคลื่อนที่ด้วยความเร็วต่างกันตามความสามารถในการละลายและความสามารถในการดูดซับของตัวดูดซับ สารจะแยกออกจากกัน และปรากฏเป็นสีต่าง ๆ บนตัวดูดซับโดยจะวิธีการดังกล่าวทำให้เกิดการกระจายตัว (distribution) ของสารระหว่าง 2 วัฏภาค คือ วัฏภาคไม่เคลื่อน (stationary phase) และวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) (McMurry, 2011) สารที่ละลายในตัวทำละลายได้ดี และถูกดูดซับด้วยตัวดูดซับได้น้อยจะเคลื่อนที่ได้ไกลกว่าสารที่ละลายในตัวทำละลายได้ไม่ดี และถูกดูดซับด้วยตัวดูดซับได้มากจะเคลื่อนที่ได้ใกล้กว่า เราสามารถจัดจำแนกลักษณะของโครมาโตกราฟีได้ตามลักษณะของเฟสที่ใช้ได้ 2 ประเภท (พิกุลทอง, 2560)

**Adsorption Chromatography** จะใช้ Stationary phase เป็นของแข็ง เช่น อะลูมินา ซิลิกาเจล ส่วน Mobile phase อาจเป็นแก๊ส หรือของเหลวก็ได้ เช่น Column Chromatography, Thin Layer Chromatography, Gas-solid Chromatography

**Partition Chromatography** จะใช้ Stationary phase เป็นของเหลวส่วนมากมักจะเป็นน้ำซึ่งจะถูกพองอยู่ด้วยของแข็ง (Supporter) ที่พรุน เช่น ดินเบา (Kieselguhr) หรือเซลลูโลส (Cellulose) ส่วน Mobile phase อาจเป็นแก๊ส หรือของเหลวก็ได้ เช่น Paper Chromatography, Gas-Liquid Chromatography

### 2.9.1 โครมาโตกราฟีแบบผิวนบาง (Thin Layer Chromatography, TLC)

โครมาโตกราฟีแบบผิวนบาง (TLC) เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ห้องค์ประกอบสารที่รวดเร็ว สะดวก และราคาไม่แพง นิยมใช้ในการตรวจการดำเนินไปของปฏิกิริยาเคมี ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารระหว่างกระบวนการแยกสารในขั้นตอนต่างๆ ใช้ในการยืนยันชนิดของสาร และสามารถตรวจหาจำนวนองค์ประกอบในของผสม (Harry W , 1989)

หลักการของ TLC นั้น คือ วัฏภาคนิ่งจะถูกเคลือบติดไว้ที่แผ่นกระจก แผ่นอลูมิเนียม หรือแผ่นพลาสติกบาง ๆ สารจะถูกแต้มไว้ที่ใกล้ ๆ ปลายด้านหนึ่งของแผ่นโดยใช้หลอดแคปิลลารี จากนั้นจึงนำแผ่นดังกล่าวไปวางลงในภาชนะที่ใส่วัฏภาคเคลื่อนที่ไว้ตั้ง ๆ เมื่อตัวทำละลายถูกดูดซึมขึ้นไปตามตัวดูดซับด้วย capillary action ก็จะทำให้สารตัวอย่างขึ้นไปด้วย จึงเกิดการแยกของสารเกิดขึ้น (Reich, 2007) ตัวอย่างเช่น หากใช้ซิลิกาเป็นวัฏภาคนิ่ง และใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำเป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ สารที่มีขั้วน้อยจะละลายได้ดีในวัฏภาคเคลื่อนที่ แต่ถูกดูดซับด้วยวัฏภาคนิ่งได้น้อยจึงเคลื่อนที่ไปได้ดีด้วยระยะที่มากกว่าสารที่มีขั้วสูงซึ่งละลายในวัฏภาคเคลื่อนที่ได้น้อยแต่ดูดซับบนวัฏภาคนิ่งได้ดีเนื่องจากใช้สารปริมาณน้อยมากในการแยก เทคนิค TLC จึงเหมาะสมเป็นเครื่องมือวิเคราะห์ มากกว่าที่จะเป็นเครื่องมือในการแยกสารเพื่อเก็บแต่ละองค์ประกอบ

## 2.9.2 การเลือกใช้ตัวทำละลายสำหรับเทคนิค TLC (solvent system) (Wimmer, 1990)

ประสิทธิภาพในการแยกสารจะดีหรือไม่ดีขึ้นอยู่กับทางเลือกใช้ระบบตัวทำละลายที่เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ เนื่องจากสารผสมที่อยู่ในสารตัวอย่างมีสภาพขั้วที่แตกต่างกัน หากเป็นสารที่มีขั้วมากก็ จะถูกดูดซับไว้ที่ซิลิกาเจลได้ดีจึงไม่เคลื่อนที่ หรือเคลื่อนที่ได้น้อย ส่วนสารที่มีสภาพขั้วต่ำซึ่งละลายได้ดีในตัวทำละลายที่เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ จะเคลื่อนที่ไปกับวัฏภาคเคลื่อนที่ได้ดี จึงทำให้เกิดการแยกในระบบ

ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม ต้องสามารถนำสารผสมในตัวอย่างเคลื่อนที่ออกจากจุดที่แต้มสารได้ทุกสาร ช่วงค่า  $R_f$  ที่ถือว่าเป็นระบบตัวทำละลายที่ดี ควรเคลื่อนที่สารให้มีช่วงค่า  $R_f$  ตั้งแต่ 0.15 – 0.85 (ตามทฤษฎีควรเป็น 0.2 – 0.4)

ระบบตัวทำละลายที่นิยมใช้

1. ระบบที่นิยมใช้ 10 - 50% EtOAc/Hexane.
2. สำหรับสารตัวอย่างที่มีขั้ว: 100% EtOAc หรือ 5 - 10% MeOH/DCM.
3. สำหรับสารตัวอย่างที่ไม่มีขั้ว: 5% EtOAc (หรือ ether) / Hexane หรือ 100% Hexane
4. สำหรับสารตัวอย่างที่มีหมู่เอมีน และไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ต้องเติมไตรเอทิลามีน (triethylamine,  $Et_3N$ ) ลงไปในระบบ 0.1 – 2.0% หรือเติมแอมโมเนีย (ammonia,  $NH_3$ ) 1 - 10% ลงในระบบเมทานอล/ไดคลอโรมีเทน (MeOH/DCM)
5. สำหรับสารตัวอย่างที่เป็นกรด ให้เติมกรดอะซิติก (acetic acid) หรือกรดฟอร์มิก (formic acid) ลงไปในระบบตัวทำละลายผสม 0.1 - 2.0%

## 2.9.3 การเตรียมแผ่น TLC (Preparative layer chromatography, PLC)

เครื่องมือที่ใช้เคลือบตัวดูดซับบนแผ่นแก้วเรียกว่า plate spreader การเตรียมแผ่น PLC ทำได้โดยการนำแผ่นกระจกที่แห้ง และสะอาดมาวางเรียงบนถาดซึ่งมีกรอบยึดแผ่นกระจกไว้ ผสมตัวดูดซับกับน้ำทำให้เป็นสเลอรี่ (slurry) สัดส่วนของตัวดูดซับกับน้ำให้เป็นไปตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต นำตัวดูดซับที่เตรียมเป็นสเลอรี่มาใส่ใน hopper ซึ่งมีลักษณะเป็นกล่องสี่เหลี่ยมที่มีด้านบน และด้านล่างเปิด แผ่นกั้นด้านหน้าของกล่องนี้สามารถขยับขึ้นลงได้เพื่อปรับความหนาของตัวดูดซับที่จะเคลือบบนแผ่นกระจก นิยมเคลือบที่ความหนา 0.25, 0.5, หรือ 2 มิลลิเมตร เมื่อลาก hopper ที่บรรจุสเลอรี่ไปบนแผ่นกระจก ตัวดูดซับจะถูกลากปกคลุมและเคลือบตบแผ่นกระจก นำแผ่นกระจกที่เคลือบตัวดูดซับไปเข้าตู้อบที่ 110 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อระเหยน้ำออก ควรเก็บแผ่น PLC ไว้ในตู้ที่ปิดสนิทเพื่อป้องกันฝุ่นละออง และก่อนใช้ควรนำแผ่น PLC ไปอบก่อน (Jork, 1994)

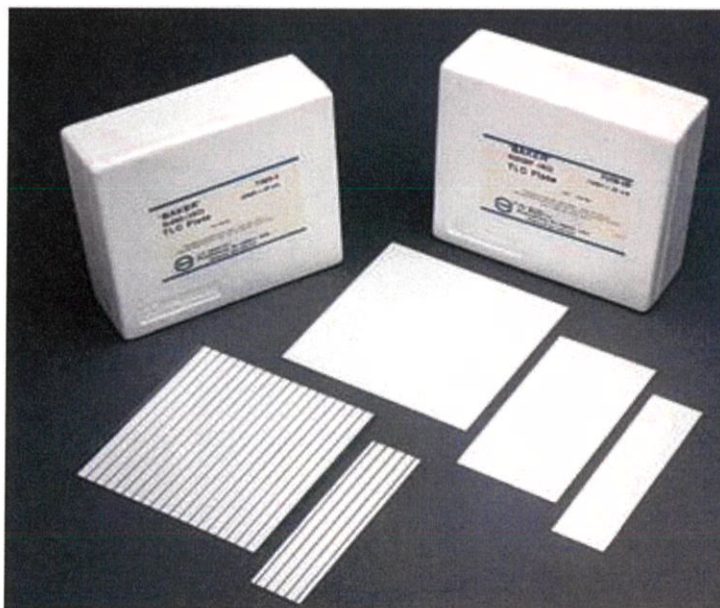
### 2.9.3.1 แผ่น TLC สำเร็จรูป (เซวานี, 2554)

ในปัจจุบัน เพื่อความสะดวกในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC จึงมีผู้ผลิตแผ่น TLC สำเร็จรูป ขึ้นมาจำหน่าย ข้อดีของแผ่น TLC สำเร็จรูป คือ ผิวของของแข็งดูดซับจะเรียบ เป็นเนื้อเดียวกัน และอัดแน่นฉาบบนแผ่นแก้ว พลาสติก และอะลูมิเนียมอย่างดี ซึ่งวัสดุที่ใช้เป็นแผ่นสำหรับฉาบตัวดูดซับนี้มีข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกันดังนี้

1. แผ่น TLC ที่ใช้แผ่นแก้วเป็นของแผ่นสำหรับฉาบตัวดูดซับ ข้อดี คือ แก้วไม่ทำปฏิกิริยากับสารเคมี และหาได้ง่าย แต่มีข้อเสีย คือ แก้วมีความเปราะบาง แยกได้ง่าย มีขนาดใหญ่และมีน้ำหนักมาก ต้องใช้แก้วหนา 1.3 มิลลิเมตร และจำเป็นจะต้องใช้วัสดุอื่น ๆ มาห่อหุ้มเพื่อป้องกันไม่ให้แผ่นแก้วแตกอีกด้วย

2. แผ่น TLC ที่ใช้แผ่นพลาสติกเป็นแผ่นสำหรับฉาบตัวดูดซับ จะใช้แผ่นโพลีเอสเตอร์ที่มีความหนาประมาณ 0.2 มิลลิเมตร ข้อดี คือ มีความทนต่อทำลายได้เกือบทุกชนิด เนื่องจากแผ่นที่ฉาบได้จะมีความบาง จึงใช้พื้นที่ในการจัดเก็บน้อย สามารถใช้กรรไกรตัดได้ตามขนาดที่ต้องการใช้ และยังสามารถตัดส่วนของสารตัวอย่างที่แยกออกแต่ละส่วนแล้วออกไปเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อได้อีก การใช้แผ่น TLC ที่ฉาบบนแผ่นพลาสติกนี้ต้องใช้ในระบบที่มีอุณหภูมิไม่เกิน 160 องศาเซลเซียส

3. แผ่น TLC ที่ใช้แผ่นอะลูมิเนียมเป็นแผ่นสำหรับตัวดูดซับ แผ่นอะลูมิเนียมที่ใช้จะความหนาเพียงประมาณ 0.15 มิลลิเมตรเท่านั้น ซึ่งถือว่าบางมาก จึงตัดด้วยกรรไกรได้ง่ายกว่าการตัดแผ่น TLC แบบพลาสติก โดยส่วนมากผู้ผลิตจะผลิตแผ่น TLC แบบนี้ในขนาดประมาณ 20 x 20 เซนติเมตร ซึ่งก็สามารถตัดตามขนาดที่ต้องการใช้ได้เช่นเดียวกับกับแบบแผ่นพลาสติก



รูปที่ 2.24 ภาพแสดงลักษณะของแผ่น TLC สำเร็จรูป

(อ้างอิง : <http://www.assist-impact.net/product/1247591/tlc-plate.html>)

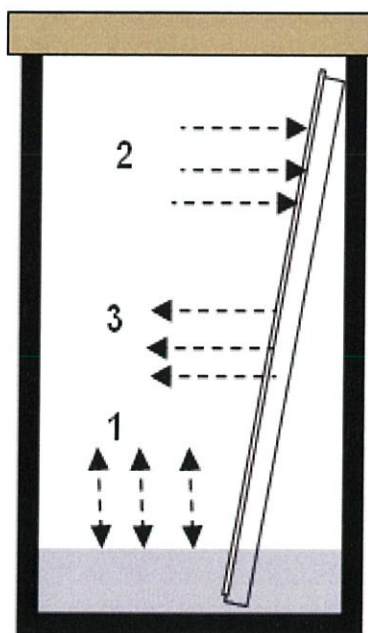
### 2.9.3.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC

#### 1. การเตรียม TLC Chamber สำหรับการ develop แผ่น TLC

1.1 เตรียมตัวทำละลายผสมที่เหมาะสมกับสารที่ต้องการจะแยก

1.2 เติมตัวทำละลายในภาชนะอาจเป็นบีกเกอร์ หรือโถแก้วที่มีขนาดเหมาะสมกับแผ่น TLC ที่ใช้ เติมตัวทำละลายที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ กระจายให้ระดับของตัวทำละลายสูงจากกันภาชนะไม่เกินระดับที่ขีดไว้บนแผ่น TLC ให้เส้นที่ขีดไว้อยู่เหนือระดับตัวทำละลายเล็กน้อย ปิดฝาให้สนิทแล้ว ตั้งไว้สักครู่เพื่อให้ไอของตัวทำละลายอิ่มตัวในระบบ

การทำให้ภายในภาชนะอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายเคลื่อนที่ เป็นการป้องกันไม่ให้ตัวดูดซับที่เป็นเฟสที่อยู่กับที่แห้งก่อนที่จะทำการทดลองเสร็จ โดยเมื่อวางแผ่น TLC ลงในภาชนะที่อิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายเคลื่อนที่ ของแข็งที่เป็นตัวดูดซับส่วนด้านบนที่ยังไม่เปียกด้วยตัวทำละลายเคลื่อนที่จะดูดซับไอระเหยที่อยู่ภายในภาชนะไว้จนตัวดูดซับอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายเคลื่อนที่ ตัวทำละลายเคลื่อนที่ที่ซึมผ่านตัวดูดซับจากด้านล่างจะระเหยออกจากตัวดูดซับได้ช้าลง หรือไม่ระเหยออกไป ทำให้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ เคลื่อนที่ผ่านตัวดูดซับได้เร็วขึ้น ผลการแยกจึงมีประสิทธิภาพดีกว่าและเร็วกว่าการที่ไม่ได้ทำให้ภายในภาชนะอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายเคลื่อนที่เสียก่อน ดังกระบวนการที่เกิดขึ้นต่อไปนี้ (สุรางค์, 2554)



รูปที่ 2.25 แสดงถึงลำดับเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นภายในโถแก้ว

(อ้างอิง : 4.bp.blogspot.com/-BjAyhCR63n0/)

1. ตัวทำละลายที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ระเหยกลายเป็นไอ และเกิดสมดุลระหว่างสถานะแก๊ส และของเหลวขึ้นภายใน chamber

2. เมื่อวางแผ่น TLC ลงใน chamber ตัวทำละลายจะซึมแพร่ขึ้นไปบนตัวดูดซับ ส่วนตัวดูดซับที่ยังแห้งอยู่ด้านบนจะดูดซับไอของตัวทำละลาย เกิดความอึดตัวของไอของตัวทำละลายที่ผิวของตัวดูดซับ

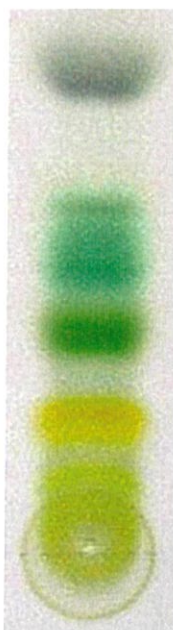
3. ในขณะที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ขึ้นสู่ตัวดูดซับ จะมีตัวทำละลายบางส่วนระเหยกลายเป็นไอออกไปจากตัวดูดซับ

ดังนั้นจึงพบว่า หากไม่ทำให้ภายใน chamber อึดตัวด้วยไอของตัวทำละลายก่อนแล้ว อัตราการระเหยของตัวทำละลายออกจากตัวดูดซับจะเป็นไปได้มาก ทำให้ตัวดูดซับแห้ง และไม่สามารถเคลื่อนที่ต่อไปได้อย่างสม่ำเสมอ และเคลื่อนที่ได้ช้าลง แต่หากภายใน chamber อึดตัวด้วยไอของตัวทำละลายแล้วอัตราการระเหยของตัวทำละลายออกจากตัวดูดซับจะน้อยลง ทำให้ตัวทำละลายเคลื่อนที่ไปได้ดี เกิดประสิทธิภาพในการแยกสารตัวอย่างได้ดีขึ้น

การวางกระดาษกรองที่เปียกชุ่มด้วยตัวทำละลายลงใน chamber เป็นการช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวสำหรับการระเหยกลายเป็นไอของตัวทำละลายให้มากขึ้น ทำให้ภายใน chamber อึดตัวด้วยไอของตัวทำละลายได้เร็วขึ้นด้วย

#### 2.9.4 การหยดสารตัวอย่างลงบนแผ่น TLC

1. ทำให้เป็นแถบ (แบนด์ ; Bandwise) วิธีการนี้ต้องใช้เครื่องมืออัตโนมัติช่วย เนื่องจากมือคนไม่สามารถลากขนาดของแถบสารให้เท่ากันได้อย่างสม่ำเสมอได้ การใช้เครื่องมืออัตโนมัติจึงจะทำให้ได้แถบที่สม่ำเสมอและแม่นยำกว่า

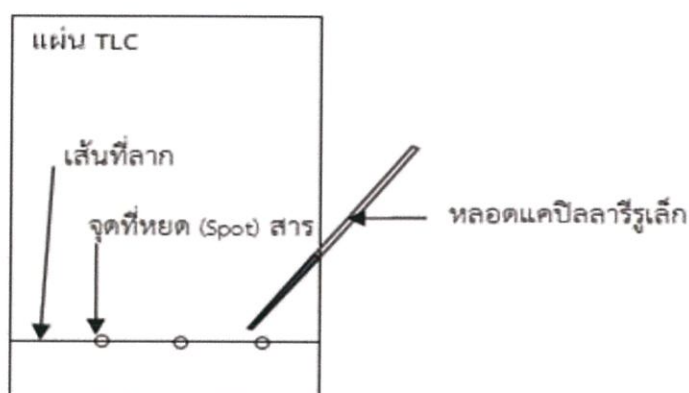


รูปที่ 2.26 แสดงลักษณะการเกิดแถบแบนด์บนแผ่น TLC

(อ้างอิง : [en.wikipedia.org/wiki/Thin-layer\\_chromatography](https://en.wikipedia.org/wiki/Thin-layer_chromatography))

### 2.9.5 ขั้นตอนการใส่สารตัวอย่างลงในแผ่น TLC (Matsuyama *et al.*, 1993)

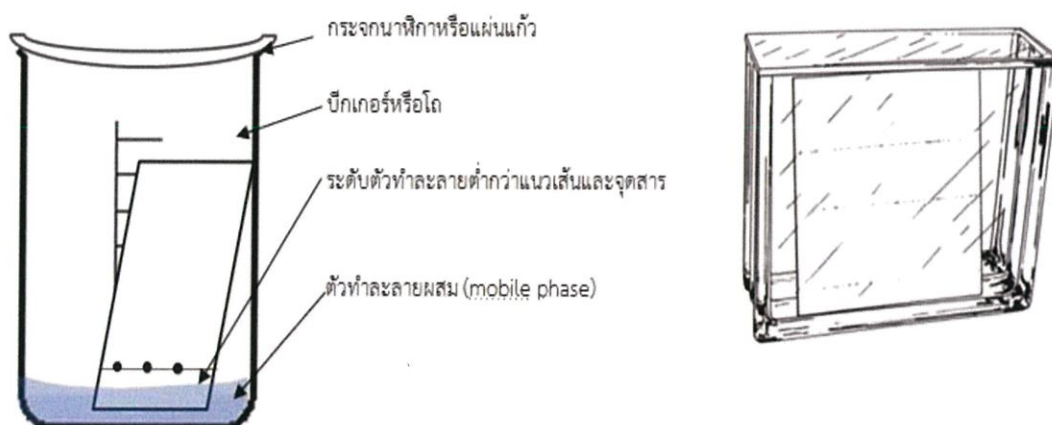
1. ลากเส้นเบา ๆ อย่านให้ทะลุซิลิกาเจลที่เคลือบจนถึงแผ่นแก้ว ให้ห่างจากขอบประมาณ 1 – 1.5 เซนติเมตร ที่ด้านใดด้านหนึ่งของแผ่น TLC
2. หยด (spot) สารละลายที่ต้องการจะแยกด้วยหลอดคิปลารูเล็ก พยายามอย่าให้จุดที่หยด (spot) ลงไปมีขนาดใหญ่เกินไปลงบนซิลิกาเจลตามแนวเส้นที่ลากไว้ให้มีระยะห่างพอสมควร แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง



รูปที่ 2.27 ภาพแสดงขั้นตอนการหยดสารลงบนแผ่น TLC

(อ้างอิง: <http://elife-news.blogspot.com/2017/06/thin-layer-chromatography-tlc.html>)

3. นำแผ่น TLC มาวางในภาชนะ ปิดภาชนะด้วยกระดาษฟิวส์หรือแผ่นแก้วปิดโถ เพื่อป้องกันมิให้ตัวทำละลายระเหย



รูปที่ 2.28 ภาพแสดงวิธีการวางแผ่น TLC ในโถตัวทำละลายเคลื่อนที่ และภาชนะแก้วหรือแทงก์ สำหรับใช้แช่แผ่น TLC

(อ้างอิง : <http://elife-news.blogspot.com/2017/06/thin-layer-chromatography-tlc.html>)

4. ตั้งทิ้งไว้ให้ตัวทำละลายสูงขึ้นประมาณสามในสี่ของแผ่น TLC นำออกมาทำเครื่องหมายที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่มาถึง (solvent front) แล้วปล่อยให้แห้งด้วยอากาศ หรือเป่าให้แห้งด้วยเครื่องเป่าร้อน (Dryer)

### 2.9.6 การอ่านผลหรือตรวจสอบผลการ develop แผ่น TLC

1. หากสารตัวอย่างที่วิเคราะห์สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าผู้ทดลองสามารถนำแผ่น TLC วิเคราะห์ผลได้เลย

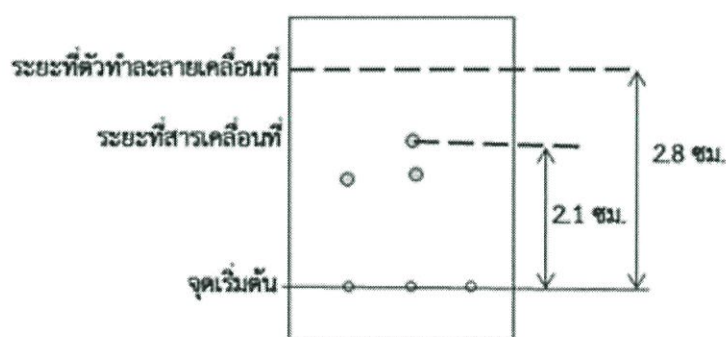
2. ตรวจสอบโดยฉีด TLC spray reagent ที่มีชื่อว่า Molybdenum (Garner, 1972) ประมาณ 2-3 ครั้งรอประมาณ 1-2 นาที แล้วบันทึกผล

### 2.9.7 การวิเคราะห์ผลการทดลอง (Fair and J.D., 2008)

1. วัดระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่โดยเริ่มวัดจากแนวที่ขีดไว้ในแผ่นเป็นจุดเริ่มต้นไปจนถึงจุดที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ไปถึง และวัดระยะทางที่สารเคลื่อนที่ไปเช่นเดียวกันการวัดระยะทางนี้ใช้หน่วยเป็นเซนติเมตร หากสารไม่มีสีจะไม่ทราบว่ตัวละลายขึ้นไปอยู่ ณ ตำแหน่งใดจำเป็นจะต้องพ่นด้วยสารเคมีเพื่อทำให้เกิดสีจะได้เห็นว่าสารอยู่ที่ใด

2. หาค่า  $R_f$  ซึ่งหาได้จากอัตราส่วนระหว่างระยะทางที่สารเคลื่อนที่กับระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ ดังนี้

$$R_f = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (ซม)}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (ซม)}}$$



$$R_f = \frac{2.1 \text{ cm.}}{2.8 \text{ cm.}} = 0.75$$

รูปที่ 2.29 แสดงวิธีการคำนวณหาค่า  $R_f$

(อ้างอิง : <http://elife-news.blogspot.com/2017/06/thin-layer-chromatography>)

ค่า  $R_f$  ของสารแต่ละชนิดจะคงที่เสมอหากสามารถควบคุมสภาวะที่ใช้ทดลองให้เหมือนเดิมได้ทุกครั้งที่ใช้ทดลอง สิ่งที่ต้องควบคุมให้คงที่ (เหมือนเดิม) เสมอในแต่ละการทดลองได้แก่

1. ระบบตัวทำละลาย จะต้องใช้ระบบเดียวกัน ใช้ตัวทำละลายเดียวกัน และอัตราส่วนเดียวกัน
2. ตัวดูดซับ ต้องใช้ตัวดูดซับเดียวกันทุกครั้งที่ทำการทดลอง
3. ความหนาของตัวดูดซับ
4. ปริมาณของสารที่หยดลงบน TLC
5. อุณหภูมิขณะทดลอง

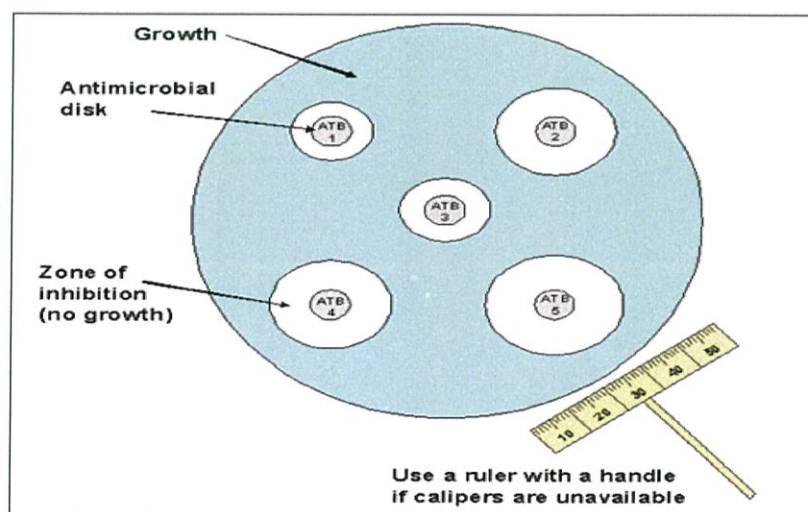
แต่เนื่องจากการควบคุมสภาวะดังกล่าวนี้เป็นได้ยาก ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างว่าเป็นสารใดอาจพิจารณาเปรียบเทียบกับค่า  $R_f$  ของสารที่วิเคราะห์ กับค่า  $R_f$  ของสารมาตรฐาน (ค่า  $R_f$  ที่ทราบอยู่แล้ว) หรืออาจจะใช้สารมาตรฐาน (สารจริงที่ต้องการวิเคราะห์) หยดลงไปในแผ่น TLC แผ่นเดียวกับสารตัวอย่าง

## 2.10 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยเทคนิค Agar diffusion Test

วิธีที่ใช้แพร่หลายมากที่สุด คือ Disc diffusion method หรือ Kirby-Bauer เนื่องจากสะดวก ประหยัด และใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่นๆ วิธีนี้เป็นการทดสอบในเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลได้ว่าเชื้อมีความไวต่อการทดสอบหรือไม่ (Brown, 1975)

### 2.10.1 วิธีการทำ Agar Diffusion Test (disc diffusion test)

เตรียมเชื้อที่ในการทดสอบโดยเพิ่มจำนวนเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลววัดความขุ่นของเชื้อเพื่อให้ได้จำนวนเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับการทดสอบแล้ว spread เชื้อบน Mueller-Hinton agar ให้ทั่ว



รูปที่ 2.30 การทดสอบ Agar Diffusion Test

(อ้างอิง : <https://microbeonline.com/why-mueller-hinton-agar-antibiotic-testing/>)

เตรียมสารละลายของสารสกัดที่มีความเข้มข้น 25 , 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หยดลงบนแผ่นทดสอบรอนนึ่ง จากนั้นคือวางลงบนอาหาร MHA และนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการทดสอบจะนำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจสอบผลโดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางหรือ clear zone ที่เกิดขึ้นเป็นบริเวณใสรอบแผ่นทดสอบและบันทึกผลเป็นหน่วยมิลลิเมตร (Bonev and B, 2008)

## บทที่ 3

# วิธีการดำเนินงานวิจัย

### 3.1 เครื่องมือ

3.1.1 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)	รุ่น ES-315 ยี่ห้อ TOMY, JAPAN
3.1.2 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)	รุ่น 120 BS ยี่ห้อ Super clean Major scientific Thailand
3.1.3 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)	รุ่น 1300 ยี่ห้อ OHAUS, USA
3.1.4 ตู้บ่มเพาะเชื้อแบบเขย่า (Incubator shaker)	ยี่ห้อ Gallenkamp, UK
3.1.5 ตู้อบด้วยความร้อนแห้ง (Hot air oven)	รุ่น 110 บริษัท Memmert, Germany
3.1.6 ตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส	ยี่ห้อ Sanden Intercool
3.1.7 ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส	ยี่ห้อ Panasonic
3.1.8 เครื่องปั่นแยกสาร (Centrifuge)	HERMEL Labotechnik
3.1.9 เครื่องเขย่าผสมสาร (Vortex mixer)	รุ่น Vortex-gein 2, 230v-g560e บริษัท Scientific industries, USA
3.1.10 เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง (pH meter)	รุ่น Starter 3000 ยี่ห้อ OHAUS, USA
3.1.11 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)	รุ่น CH30 ยี่ห้อ Olympus, Japan
3.1.12 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง	รุ่น GF-800 ยี่ห้อ AND, Japan
3.1.13 เครื่องไมโครเวฟ (Microwave)	รุ่น R-250 sharp, Thailand
3.1.14 เครื่องปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump)	
3.1.15 เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator)	ยี่ห้อ HEIDOLPH, Germany

### 3.2 อุปกรณ์

- 3.2.1 ท่วงเขี่ยเชื้อและเข็มเขี่ยเชื้อ (Loop and Needle)
- 3.2.2 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 3.2.3 จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- 3.2.4 หลอดทดลองและฝาปิด
- 3.2.5 ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (Test tube rack)
- 3.2.6 แผ่นสไลด์และกระจกปิดสไลด์
- 3.2.7 ปิเปตและเครื่องดูดจ่ายสารละลาย (Pipette and Autopipette)
- 3.2.8 ลูกยางและทิป (Pipette bulb and Tips)

- 3.2.9 ขวดฉีดย้ำกลับ
- 3.2.10 ขวดฉีดย้ำแอลกอฮอล์
- 3.2.11 หลอดหยดสาร (Dropper)
- 3.2.12 บีกเกอร์ (Beaker)
- 3.2.13 กระบอกตวง (Cylinder)
- 3.2.14 ซ้อนตักสาร
- 3.2.15 แท่งแก้วคนสาร
- 3.2.16 แท่งแก้วรูปตัวแอล (Spreader)
- 3.2.17 ขวดรูปชมพู่ (*Erlenmeyer flask*)
- 3.2.18 ขวดแก้วเล็ก (Vial)
- 3.2.19 ขวดแก้วฝากลีเยว (Schott Duran)
- 3.2.20 เหล็กคีบ (Forcep)
- 3.2.21 กระดาษกรอง Whatman No.1
- 3.2.22 แผ่น Paper disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ยี่ห้อ GE Healthcare
- 3.2.23 Eppendorf tube
- 3.2.24 หลอดปั่นเหวี่ยง (Centrifuge tube, Microcentrifuge tube)
- 3.2.25 หลอดดักแก๊ส (Durham tube)
- 3.2.26 เวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier caliper) ยี่ห้อ Mitutoyo
- 3.2.27 ชุดกรองสุญญากาศ (Vacuum filter set)
- 3.2.28 กรวยแยกสาร (Separatory funnel)
- 3.2.29 โถดูดความชื้น (Desiccator)
- 3.2.30 กระดาษทิชชู
- 3.2.31 กระดาษซังสาร
- 3.2.32 กระดาษฟอยล์
- 3.2.33 สำลีและผ้าก๊อซ
- 3.2.34 ไม้พันสำลี
- 3.2.35 ไบมีดโกน
- 3.2.36 ขวดแบรนต์
- 3.2.37 ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask)
- 3.2.38 ขวดฉีดย้ำสปาร์ก (Spray gun)
- 3.2.39 แผ่น Thin layer chromatography ยี่ห้อ Merck
- 3.2.40 TLC tank

### 3.3 สารเคมี

3.3.1 วุ้น (Agar)	บริษัท Bio Agar
3.3.2 แป้งที่ละลายน้ำได้ (Soluble starch)	บริษัท Srichem
3.3.3 โพแทสเซียมไนเตรท ( $\text{KNO}_3$ ) MW = 101.11 g/mol	บริษัท Fluka
3.3.4 โซเดียมคลอไรด์ ( $\text{NaCl}$ ) MW = 58.44 g/mol	บริษัท Univar
3.3.5 เคซีน (Casein)	บริษัท Fluka
3.3.6 แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	บริษัท Fluka
3.3.7 แคลเซียมคาร์บอเนต ( $\text{CaCO}_3$ ) MW = 100.0869 g/mol	บริษัท Carlo erba
3.3.8 เฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	
3.3.9 สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	บริษัท Scharlau
3.3.10 สารสกัดจากมอลต์ (Malt extract)	บริษัท Himedia
3.3.11 สารสกัดจากเนื้อ (Beef extract)	
3.3.12 โพแทสเซียมฟอสเฟตไตรไฮเดรต ( $\text{K}_2\text{PO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) MW = 399.88 g/mol	บริษัท Ajax finechem
3.3.13 Oat meal MW = 72.5 g/mol	บริษัท Himedia
3.3.14 เฟอร์ริกซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $\text{Fe}_4\text{H}_{14}\text{O}_{19}\text{S}_3$ )	
3.3.15 แมงกานีสคลอไรด์เตตระไฮเดรต ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) MW = 521.3915 g/mol	บริษัท Ajax finechem
3.3.16 ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) MW = 287.5496 g/mol	บริษัท Fluka
3.3.17 ฟีนอล (Phenol) W = 94.1112 g/mol	
3.3.18 เพปไทน์ (Peptone)	บริษัท Srichem
3.3.19 Phenol red	
3.3.20 น้ำตาลกลูโคส (Glucose)	บริษัท Fluka
3.3.21 น้ำตาลแลคโตส (Lactose)	บริษัท Fluka
3.3.22 น้ำตาลซูโครส (Sucrose)	บริษัท Fluka
3.3.23 น้ำตาลไซโลส (Xylose)	บริษัท Fluka
3.3.24 น้ำตาลแมนนิทอล (Mannitol)	บริษัท Fluka
3.3.25 แอลกอฮอล์ (Ethanol)	บริษัท Merck
3.3.27 สารละลายเมทานอล (Methanol) MW = 32.0419	บริษัท Merck
3.3.28 คลอโรฟอร์ม (Chloroform) MW = 119.38 g/mol	บริษัท BHA Chemicals
3.3.29 สารละลายกรดอะซิติก (Acetic acid)	บริษัท Merck

- 3.3.30 สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดตเตตระไฮเดรท (Ammonium molybdate) MW = 1235.9975 g/mol บริษัท Sigma-Aldich
- 3.3.31 เอทิลอะซิเตท (Ethylacetate) MW = 88.1051 บริษัท SK Chemicals
- 3.3.32 Nystatin
- 3.3.33 กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid)
- 3.3.34 สารละลายเมทิลีนบลู (Methylene blue)
- 3.3.36 สารละลายมาตรฐาน Mcfarland NO.4
- 3.3.37 กรดซัลฟานิก (Sulfanic acid)
- 3.3.38 สารละลาย N,N-dimethyl-L-naphthylamine
- 3.3.39 สารละลายแกรมไอโอดีน (Gram's Iodine)
- 3.3.40 Kanamycin ความเข้มข้น 15 mg/ml

### 3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.4.1 Starch - casein agar (SCA)
- 3.4.2 ISP2A (Padilla *et al.*, 2015)
- 3.4.3 CCA (Padilla *et al.*, 2015)
- 3.4.4 International Streptomyces Project Medium 2 (ISP2)
- 3.4.5 Oatmeal agar (*ISP medium no. 3*)
- 3.4.6 Inorganic salts- starch agar (*ISP medium no. 4*)
- 3.4.7 Yeast extract – malt extract agar (YEME agar)
- 3.4.8 Yeast extract – malt extract broth (YEME broth)
- 3.4.9 Glucose Yeast Extract Agar (GYE)
- 3.4.10 Bouillon gelatin broth
- 3.4.11 Peptone KNO<sub>3</sub> broth
- 3.4.12 Skim milk agar
- 3.4.13 Nutrient agar (NA)
- 3.4.14 Sabouraud Dextrose Agar (SDA)
- 3.4.15 Mueller Hinton Agar (MHA)
- 3.4.16 Phenol red glucose broth
- 3.4.17 Phenol red lactose broth
- 3.4.18 Phenol red sucrose broth
- 3.4.19 Phenol red xylose broth
- 3.4.20 Phenol red mannitol broth

### 3.5 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

#### 3.5.1 แบคทีเรียในการทดสอบ

3.5.1.1 *Bacillus subtilis* ATCC 6633

3.5.1.2 *Escherichia coli* ATCC 25922

3.5.1.3 *Micrococcus luteus* ATCC 9341

3.5.1.4 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

3.5.1.5 *Staphylococcus aureus* ATCC 1466

3.5.1.6 *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

#### 3.5.2 ยีสต์ในการทดสอบ

3.5.2.1 *Candida albican* ATCC 9779

### 3.6 ฟอสโฟลิปิดมาตรฐาน

3.6.1 L- $\alpha$  phosphatidyl-DL-glycerol sodium salt from egg yolk lecithin  
(Sigma-Aldich Chemie GmbH, St. Louis, MO 63103, USA)

3.6.2 3-sn phosphatidylethanolamine from bovine brain  
(Sigma-Aldich Chemie GmbH, St. Louis, MO 63103, USA)

3.6.3 Cardiopin sodium salt from bovine  
(Sigma-Aldich Chemie GmbH, St. Louis, MO 63103, USA)

### 3.7 ตัวอย่างดิน

3.7.1 ดินรังปลวก ตำบลคลองหลวงแพ่ง จังหวัดฉะเชิงเทรา จำนวน 3 ตัวอย่างรัง (วันที่เก็บตัวอย่าง : 29 ธันวาคม 2560)

3.7.2 ดินรังปลวก เขตลำปลาทิว จังหวัดกรุงเทพมหานคร จำนวน 1 ตัวอย่างรัง (วันที่เก็บตัวอย่าง : 21 มีนาคม 2561)

3.7.3 ดินรังปลวก เขตลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร จำนวน 1 ตัวอย่างรัง (วันที่เก็บตัวอย่าง : 3 พฤษภาคม 2561)

### 3.8 การเก็บตัวอย่างดิน และการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีท

#### 3.8.1 การเก็บตัวอย่างรังปลวก (Sujada *et al.*, 2014)

เก็บตัวอย่างรังปลวกที่มีลักษณะเป็นเนินสูงจากผิวดิน (Mound) และรังปลวกที่มีลักษณะคล้ายกล่องขึ้นอยู่บนต้นไม้ (Carton) (ภาคผนวก ข) จุดเก็บตัวอย่างดินรังปลวกที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทครั้งที่ 1 จากสถานที่เก็บตัวอย่าง ณ ตำบลคลองหลวงแพ่ง อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา โดยเก็บตัวอย่างรังแบบสุ่มเก็บตัวอย่าง 1-6 จุดของรังโดยเริ่มเก็บจากส่วนปลาย

ยอดของรังตลอดจนถึงส่วนล่างที่ติดกับพื้นดินให้ได้ปริมาณเท่ากับ 200 กรัม จุดเก็บตัวอย่างดินรังปลวกครั้งที่ 2 จากสถานที่เก็บตัวอย่าง ณ แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร เก็บตัวอย่างรังแบบสุ่มเก็บตัวอย่าง 1-6 จุดของรังทำการเก็บตัวอย่างโดยแซะเนื้อไม้ที่ถูกกัดกิน และบริเวณที่ดินรอบกิ่งไม้ตลอดจนถึงดินรังปลวกภายในอุโมงค์รังปลวกที่ปลวกได้สร้างเป็นทางเดินภายในรัง และจุดเก็บตัวอย่างดินรังปลวกครั้งที่ 3 จากสถานที่เก็บตัวอย่าง ณ แขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร เก็บตัวอย่างรังแบบสุ่มเก็บตัวอย่าง 1-6 จุดของรังโดยทำการเก็บจากบริเวณยอดของรังปลวกตลอดจนถึงบริเวณที่ติดพื้นดิน จากนั้นทำการยกรังปลวกขึ้นมาจากพื้นดินและเก็บดินบริเวณด้านใต้ของรังปลวก และหน้าดินของรังปลวกหลังจากยกรังออกมา ดินที่ได้จากแหล่งเก็บทั้ง 3 แหล่งจะทำการเก็บลงในกล่องเก็บความเย็นเพื่อนำกลับมาเตรียมตัวอย่างต่อ (ไม่เกิน 24 ชั่วโมง) หลังจากนั้นทำการบดตัวอย่างดินรังปลวกให้ละเอียด แล้วตากให้แห้งเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำการผสมตัวอย่างลงในน้ำกลั่นรอให้ตกตะกอนแล้ววัดค่า pH โดยเก็บตัวอย่างดินรังปลวกรังละ 200 กรัม ในกล่องเก็บความเย็นเพื่อนำกลับมาเตรียมตัวอย่างต่อ (ไม่เกิน 24 ชั่วโมง) จากนั้นทำการบดตัวอย่างดินรังปลวกให้ละเอียด แล้วตากให้แห้งเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำการผสมตัวอย่างลงในน้ำกลั่นรอให้ตกตะกอนแล้ววัดค่า pH

### 3.8.2 การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีท (Sujada *et al.*, 2014 และ Padilla *et al.*, 2015)

นำตัวอย่างดินข้อ 3.8.1 มาแยกเชื้อโดยชั่งตัวอย่างมา 10 กรัม ใส่ลงในฟลาสก์ที่มี 1.5% (w/v) phenol ปลอดเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร ทำส่วนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยการเขย่า กำหนดเป็นระดับการเจือจางที่  $10^{-3}$  -  $10^{-6}$  ตั้งทิ้งไว้ 5 นาทีให้ดินตกตะกอน ดูดสารละลายตัวอย่างที่เจือจางปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ยบนอาหารสูตร Starch casein agar (SCA), CCA, ISP2A และ Oatmeal agar (ISP3) (ภาคผนวก ก) ซึ่งเติม nystatin ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มจานเพาะเชื้อในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 4 สัปดาห์ (ตรวจสอบการเจริญของเชื้อทุกสัปดาห์)

### 3.8.3 หาสสมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่าง (ภาคผนวก ค ) (AOAC, 1990)

#### 3.8.3.1 การหาน้ำหนักดิน

นำสารแขวนลอยของดินในความเจือจางที่  $10^{-1}$  ที่เหลืออยู่ลงในบีกเกอร์ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน แล้วนำบีกเกอร์ไปอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนน้ำระเหยหมดและน้ำหนักคงที่ จากนั้นชั่งน้ำหนักของบีกเกอร์อีกครั้ง และคำนวณหาน้ำหนักของดินที่ใช้ในการแยกเชื้อจากผลต่างของน้ำหนักบีกเกอร์ก่อนและหลังอบ

#### 3.8.3.2 การหาปริมาณความชื้น

ชั่งตัวอย่างดิน 1-2 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน แล้วนำบีกเกอร์ไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ จากนั้นคำนวณหาปริมาณความชื้นในดินตัวอย่างจากน้ำหนักดินที่หายไป

### 3.8.3.3 การวัดค่าความเป็นกรดต่าง

ซึ่งตัวอย่างดิน 2 กรัมลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วค่อย ๆ เติมน้ำกลั่นลงไปทีละน้อย พร้อมกับคนด้วยข้อดักสารหรือแท่งแก้ว จนสังเกตเห็นแผ่นฟิล์มบาง ๆ บนผิว (ทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที หรือ 1 ชั่วโมง) แล้วจึงทำการตรวจวัดค่าความเป็นกรด-เบสได้

### 3.8.4 การแยกเชื้อ และการเก็บรักษา (Klanbut, 2013)

นำตัวอย่างเชื้อในอาหารที่ได้จากข้อ 3.8.2 มาทำการแยกเชื้อให้เป็นโคโลนีเดี่ยวด้วยวิธี cross streak บนอาหาร Starch casein agar (SCA) ที่เติมยาปฏิชีวนะ nystatin ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเติมยาปฏิชีวนะ nystatin ปริมาณ 100 ไมโครลิตรต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จนกระทั่งได้โคโลนีเดี่ยวที่บริสุทธิ์ เมื่อได้โคโลนีที่บริสุทธิ์แล้วจะทำการถ่ายเชื้อ (subculture) ลงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ International Streptomyces project (ISP2) ที่ไม่เติมยาปฏิชีวนะ เพื่อเตรียมพร้อมในการใช้งาน (working stock) ต่อไป

### 3.8.5 เตรียม spore suspension (Klanbut, 2013)

เติมน้ำกลั่นที่ปลอดเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงบนจานอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่บนอาหาร International Streptomyces project (ISP2) แล้วใช้ก้านพันสำลีที่ปลอดเชื้อชุบเอทิลแอลกอฮอล์บริเวณบนผิวหน้าอาหารไปเทลง centrifuge tube ขนาด 15 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลายเป็นเวลา 1 นาที เพื่อให้เส้นใยของสปอร์เกิดการแตกหัก จากนั้นจึงนำไปกรองผ่านสำลีฆ่าเชื้อเพื่อกรองเอาส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อที่อาจติดมากับสปอร์ออก แล้วนำส่วนที่กรองแล้วใส่ centrifuge tube หลอดใหม่ ไปทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5-10 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้ง จากนั้นทำการผสมตะกอนของเชื้อเพื่อให้สปอร์กระจายตัวในน้ำที่ยังเหลืออยู่ภายในหลอดแล้วทำการ resuspension ด้วยกลีเซอรอล 20% (w/v) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำสปอร์ที่ได้เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บเป็น stock culture

## 3.9 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาชีวเคมีของเชื้อ (คณิงกานต์, 2559 และ ลลิตา, 2554)

ตรวจสอบลักษณะการเจริญโดยเลี้ยงเชื้อบนอาหารที่กำหนดอยู่ใน International Streptomyces Project (ISP) ชนิด ISP2 ด้วยวิธี Cross streak แล้วตรวจสอบผลโดยการดูการเจริญเนื้อและสีของโคโลนีต้นบน สีของโคโลนีด้านล่างและรงควัตถุที่ละลายน้ำได้เทียบกับกระดาศสีมาตรฐาน (The NBs/IBCC color system) (ภาคผนวก ง) แล้วตรวจดูลักษณะของเส้นใยและการสร้างสปอร์ด้วยการส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ (Nanjwade *et al.*, 2010)

### 3.9.1 การย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม (Peptonization) (ภาคผนวก ค)

ทำการเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีทในหลอดอาหาร Yeast extract – malt extract broth (YEME broth) เป็นเวลา 10-14 วัน จากนั้นถ่ายเชื้อลงในหลอด Microcentrifuge ปริมาตร 1000

ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 400 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วดูสัดส่วนใส ปริมาตร 5 ไมโครลิตรลงบนจานอาหารเพาะเชื้อ Skim milk agar ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-14 วัน ถ้ามีการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมเกิดขึ้น น้ำนมที่มีสีขาวขุ่นจะเปลี่ยนเป็นสารละลายใส และบันทึกผลเป็น

- + เมื่อมีการย่อยโปรตีนในนม จะเกิดบริเวณใสรอบโคโลนีของเชื้อแอสติโนมัยซีท
- เมื่อไม่มีการย่อยโปรตีนในนม จะไม่เกิดบริเวณใสรอบโคโลนีของเชื้อแอสติโนมัยซีท

### 3.9.2 การย่อยสลายเจลาติน (Galatinization) (ภาคผนวก ค)

ทำการเลี้ยงเชื้อแอสติโนมัยซีทในหลอดอาหารเหลว Bouillon Gelatin Broth จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-14 วัน แล้วนำหลอดทดลองที่บ่มไว้มาแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 0-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำการเปรียบเทียบกับหลอดที่ไม่ใส่เชื้อ ถ้าหากว่ามีการย่อยสลายเจลาตินเกิดขึ้น จะไม่เกิดการแข็งตัวของอาหาร และบันทึกผลเป็น

- + เมื่อมีการย่อยเจลาติน จะไม่เกิดการแข็งตัว
- เมื่อไม่มีการย่อยเจลาติน จะคงสภาพเดิม

### 3.9.3 การย่อยสลายไนเตรท (Nitrate reduction) (ภาคผนวก ค)

ทำการเลี้ยงเชื้อแอสติโนมัยซีทในหลอดอาหารเหลว Peptone  $\text{KNO}_3$  Broth จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-14 วัน ตรวจสอบผลโดยเติมสารละลาย กรดซัลฟาลิก และสารละลาย N,N-Dimethyl-1-naphthylamine 2 หยด และ 3 หยด ถ้าเชื้อสามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรต์ได้ สารละลายจะเปลี่ยนไปเป็นสีชมพูถึงแดง และบันทึกผลเป็น

- + เมื่อมีการย่อยไนเตรท สารละลายจะเปลี่ยนสีเป็นสีชมพูถึงแดง
- เมื่อไม่มีการย่อยไนเตรท จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี

### 3.9.4 การย่อยสลายแป้ง (Starch hydrolysis) (ภาคผนวก ค)

ทำการเลี้ยงเชื้อแอสติโนมัยซีทลงบนจานอาหารเพาะเชื้อ Inorganic Salt-Starch agar (ISP4) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน ตรวจสอบผลโดยการเติมสารละลายแกรมไอโอดีนลงไปบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีการเพาะเลี้ยงเชื้อไว้ ถ้ามีการย่อยสลายแป้ง จะเกิดบริเวณใสรอบ ๆ โคโลนีของเชื้อ แต่ถ้าไม่มีการย่อยสลายแป้งจะเกิดเป็นสีน้ำเงิน และบันทึกผลเป็น

- + เมื่อมีการย่อยสลายแป้ง จะเกิดบริเวณใสรอบโคโลนีของเชื้อแอสติโนมัยซีท
- เมื่อไม่มีการย่อยสลายแป้ง จะไม่เกิดบริเวณใสรอบโคโลนีของเชื้อแอสติโนมัยซีท

### 3.9.5 การตรวจสอบความสามารถในการหมักน้ำตาล 5 ชนิด ได้แก่ กลูโคส แลคโตส ซูโครส ไซโลส และแมนนิทอล (ภาคผนวก ค)

ทำการเลี้ยงเชื้อแอสติโนมัยซีทลงในหลอดอาหารเหลว Phenol red glucose broth, Phenol red lactose broth, Phenol red sucrose broth, Phenol red xylose broth และ

Phenol red mannitol broth ที่มีหลอดดักแก๊ส จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน ตรวจสอบผลโดยสังเกตการเกิดแก๊ส และการเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีเหลือง

### 3.10 การคัดเลือกเชื้อที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น (Dual test) (คニングกานต์, 2559)

ทำการทดสอบเชื้อที่ออกฤทธิ์ต้านต่อแบคทีเรียและยีสต์บนอาหาร nutrient agar (NA) และ Yeast extract – malt extract agar (YEME agar) โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 1466 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 และเชื้อยีสต์ 1 ชนิด ได้แก่ *Candida albicans* ATCC 9779 โดยทำการขีดเชื้อแอคติโนมัยซีทบนจานอาหารเพาะเชื้อ Glucose Yeast Extract Agar (GYE) แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน และขีดเชื้อทดสอบทั้ง 7 ชนิด ให้ตั้งฉากกับเชื้อแอคติโนมัยซีท แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยสังเกตระยะห่างระหว่างแนวการเจริญของแอคติโนมัยซีทกับเชื้อทดสอบที่เกิดขึ้น

### 3.11 การทดสอบกิจกรรมการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar disc diffusion

#### 3.11.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีท (จิตติ, 2556 และ เกศแก้วกัลยา, 2556)

ทำการเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทบนจานอาหารเพาะเชื้อ Yeast extract - malt extract agar (YEME agar) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำการเขี่ยสปอร์ของเชื้อโดยใช้ห่วงเขี่ยเขี่ยลงในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหาร Yeast extract-malt extract broth (YEME broth) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ค่าพีเอช 7.2 แล้วนำไปบ่มในสภาวะเขย่า ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน แล้วทำการเติม 0.3% CaCO<sub>3</sub> ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ แล้วบ่มต่อในสภาวะเขย่า 200 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน กรองตัวเซลล์ออกจากน้ำหมักโดยใช้กระดาษกรองวอทแมน เบอร์ 1 แล้วนำส่วนใสไปทำการระเหยแห้ง (ดังวิธีการที่ 3.11.2) จากนั้นจึงนำส่วนของตัวเซลล์ไปสกัดด้วยเมทานอลปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในสภาวะเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำไปกรองและนำส่วนใสไปทำการระเหยแห้ง (ดังวิธีการที่ 3.11.2)

#### 3.11.2 การสกัดสารทุติยภูมิจากน้ำหมักเชื้อแอคติโนมัยซีท

นำน้ำหมักเชื้อแอคติโนมัยซีทส่วนใสมาทำการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เอทิลอะซิเตท โดยเติมเอทิลอะซิเตทลงไปในอัตราส่วน 1:1 (v/v) ซึ่งในเฟสบนของเอทิลอะซิเตทที่มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์จะแยกตัวออกจากเฟสของน้ำ จากนั้นนำไประเหยให้แห้งโดย

เครื่องระเหยสุญญากาศภายใต้ความดันแล้วจะทำให้ได้สารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซิเตท จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ส่วนเซลล์และเส้นใยที่ติดอยู่บนกระดาษกรองที่นำไปบ่มในสภาวะเขย่า 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 3 วัน เรียบร้อยแล้วจะนำน้ำหมักมาทำการกรองด้วยกระดาษกรองวอทแมน เบอร์ 1 เพื่อแยกเอาเส้นใยของเชื้อแอสทีโนมัยซีทและนหมักออกจากกัน จากนั้นจึงนำไประเหยแห้งโดยเครื่องระเหยสุญญากาศภายใต้ความดัน จะได้สารสกัดหยาบในชั้นเมทานอล แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปทำการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.11.3 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ และการเตรียมอาหารที่ใช้ทดสอบ (Tendendia, 2004)

#### 3.11.3.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 1466, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 และ *Candida albicans* ATCC 9779 ผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ที่ปราศจากเชื้อ แล้วปรับให้มีความขุ่นเท่ากับสารละลายมาตรฐานแมคฟาแลนหมายเลข 0.5 ซึ่งจะมีจำนวนเซลล์โดยประมาณเท่ากับ  $1.0 \times 10^8$  CFU/ml (ภาคผนวก ก)

#### 3.11.3.2 การเตรียมอาหารที่ใช้ทดสอบ

เตรียมอาหาร Mueller's hinton agar (MHA) สำหรับอาหารที่ใช้ในการทดสอบเลี้ยงแบคทีเรีย และเตรียมอาหาร Sabouraud's agar (SDA) เป็นอาหารสำหรับใช้เลี้ยงทดสอบเชื้อยีสต์ โดยทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เทลงบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อประมาณ 20 มิลลิลิตร วนจานเพาะเชื้อให้อาหารกระจายทั่วแล้วทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว

3.11.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบโดยเทคนิค Agar disc diffusion

การทดสอบนี้อาศัยหลักการแพร่ของสารซึ่งสกัดออกมาโดยรอบแผ่นทดสอบในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยบริเวณยับยั้งจะขึ้นอยู่กับฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารสกัด จากนั้นใช้ก้านพันสำลีที่ปลอดเชื้อชุบเชื้อแขวนลอยที่เตรียมไว้ในข้อ 3.11.3.1 ทาลงบนอาหารแข็งด้วยวิธีปลอดเชื้อ ให้เชื้อทดสอบกระจายตัวอยู่บนอาหารอย่างสม่ำเสมอ เตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบในข้อ 3.11.2 ที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หยดบนแผ่นทดสอบจนแห้ง จากนั้นวางลงบนอาหารที่ได้ทำเชื้อเอาไว้แล้ว แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อแบคทีเรีย ส่วนเชื้อยีสต์บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการทดสอบได้ด้วยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณใสที่เชื้อไม่เจริญในหน่วยมิลลิเมตรด้วยเวอร์เนียร์คาลิเปอร์

### 3.12 การศึกษาฟอสโฟลิปิดจากสารสกัดหยาบของเชื้อแอสคิโนมัยซีทด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (Klanbut, 2013)

#### 3.12.1 การเตรียมหัวเชื้อ และการเพาะเลี้ยงเชื้อแอสคิโนมัยซีท

ทำการเลี้ยงเชื้อแอสคิโนมัยซีทบนจานอาหารเพาะเชื้อ Yeast extract - malt extract agar (YEME agar) ให้เจริญเติบโตให้ทั่วจานอาหารเพาะเชื้อเป็นเวลา 7 วัน หรือจนกว่าเชื้อแอสคิโนมัยซีทจะเจริญเติบโตเต็มที่ จากนั้นนำใบมีดโกนที่ปราศจากเชื้อชุดแอสคิโนมัยซีทลงในหลอดปั่นเหวี่ยง ซึ่งน้ำหนักให้ได้ประมาณ 100 มิลลิกรัม เพื่อนำไปสกัดฟอสโฟลิปิด

#### 3.12.2 วิธีการสกัดหยาบเพื่อทำการศึกษาฟอสโฟลิปิดด้วยเทคนิค Thin layer chromatography

ทำการเติมคลอโรฟอร์มปริมาตร 100 ไมโครลิตร ปั่นด้วยเครื่องผสมสารละลาย (vortex) เป็นเวลา 2 นาที แล้วเติมเมทานอลปริมาตร 200 ไมโครลิตร ปั่นด้วยเครื่องผสมสารละลายเป็นเวลา 2 นาที และเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 80 ไมโครลิตร ปั่นด้วยเครื่องผสมสารละลายเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นทำการปั่นรวมกันด้วยเครื่องผสมสารละลายเป็นเวลา 10 นาที แล้วเติมคลอโรฟอร์มปริมาตร 100 ไมโครลิตร ปั่นด้วยเครื่องผสมสารละลายเป็นเวลา 1 นาที เมื่อสารตัวอย่างผสมเข้ากันแล้วจึงเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 80 ไมโครลิตร ปั่นด้วยเครื่องผสมสารละลายเป็นเวลา 1 นาที เพื่อทำการแยกเฟส โดยปิเปตเอาชั้นอินออร์แกนิกเฟสที่อยู่ด้านล่างใส่ขวดแก้วขนาดเล็กมาทำการระเหยแห้ง นำส่วนที่เหลือมาทำการ resuspension ด้วยคลอโรฟอร์มปริมาตร 6-10 ไมโครลิตร จากนั้นใช้เครื่องดูดจ่ายสารละลายดูดสารลงบนแผ่น TLC ขนาด 20 x 20 เซนติเมตร ยี่ห้อ Merck ครั้งละ 1 ไมโครลิตรจนหมด และหยดฟอสโฟลิปิดมาตรฐาน ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 3 ชนิด ได้แก่ L- $\alpha$  phosphatidyl-DL-glycerol sodium salt from egg yolk lecithin (PG) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร, 3-sn phosphatidylethanolamine from bovine brain (PE) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และCardiolopin sodium salt from bovine heart (CL) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการเปรียบเทียบกับสารผสมตัวอย่าง จากนั้นนำแผ่น TLC ไปวางในภาชนะที่มีฝาปิด ซึ่งมีคลอโรฟอร์ม เมทานอล กรดอะซิติก และน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 80:12:15:4 ปริมาตรต่อปริมาตร ตามลำดับ ทิ้งให้แผ่นกระดาษชุ่มด้วยสารละลายเป็นเวลา 30 นาที แล้วทิ้งไว้ให้สารตัวพาวังปล่องให้ตัวทำละลายขึ้นมาจนประมาณ  $\frac{3}{4}$  ของความสูงของแผ่น TLC แล้วนำแผ่น TLC ออกปล่อยให้แห้ง จากนั้นจึงนำมาฉีดยึดด้วยสารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต (Ammonium molybdate) จะเห็นจุดสีน้ำเงินบริเวณที่สารตัวอย่างอยู่ แล้วนำไปอบในตู้อบความร้อน 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที แล้วจึงวัดระยะที่สารตัวอย่างและตัวทำละลายเคลื่อนที่เพื่อใช้ในการคำนวณหาค่า  $R_f$

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

#### 4.1 ผลการเก็บตัวอย่างดิน และการแยกเชื้อแอกติโนมัยซีท

จากการเก็บตัวอย่างดินรังปลวกที่ตำบลคลองหลวงแพ่ง อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา แบบเป็นเนินขึ้นมาจากดิน (mound) เป็นจำนวน 3 รัง แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร แบบขึ้นบนต้นไม้ (carton) เป็นจำนวน 1 รัง และแขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร แบบเป็นเนินขึ้นมาจากดิน (mound) เป็นจำนวน 1 รัง (ภาคผนวก ช) เพื่อนำมาทำการคัดแยกเชื้อแอกติโนมัยซีท (ดังวิธีการที่ 3.6.2) พบว่าจากการเก็บตัวอย่างดินรังปลวกครั้งที่ 1 ที่ ตำบลคลองหลวงแพ่ง อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทราเมื่อ วันที่ 29 ธันวาคม 2560 ทั้งหมด 19 ไอโซเลท การเก็บตัวอย่างดินรังปลวกครั้งที่ 2 ที่เขตลำปลาทิว แขวงลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร วันที่ 21 มีนาคม 2561 ทั้งหมด 2 ไอโซเลท และครั้งที่ 3 ที่เขตลาดกระบัง แขวงลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร วันที่ 3 พฤษภาคม 2561 ทั้งหมด 23 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงหมายเลขไอโซเลทของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่คัดแยกได้

การเก็บตัวอย่างดินรังปลวก	หมายเลขไอโซเลท
ครั้งที่ 1	CCS 01, CCS 02, CCS 03, CCS 04, CCS 05, CCS 06, CCS 07, CCS 08, CCS 09, CCS 10, CCS11, CCS 12, CCS 13, CCS 14, CCS 15, CCS 16, CCS 17, CCS 18, CCS 19
ครั้งที่ 2	CLK 01, CLK02
ครั้งที่ 3	LKB 01, LKB 02, LKB 03, LKB 04, LKB 05, LKB 06, LKB 07, LKB 08, LKB 09, LKB 10, LKB 11, LKB 12, LKB 13, LKB 14, LKB 15, LKB 16, LKB 17, LKB 18, LKB 19, LKB 20, LKB 21, LKB 22, LKB 23

หมายเหตุ : CCS คือ ไอโซเลทที่เก็บได้จาก ตำบลคลองหลวงแพ่ง อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา

CLK คือ ไอโซเลทที่เก็บได้จาก แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร

LKB คือ ไอโซเลทที่เก็บได้จาก แขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร

XX คือ ลำดับของไอโซเลทที่แยกได้ในแต่ละตัวอย่าง

## 4.2 ผลการหาคุณสมบัติทางกายภาพบางประการของดินตัวอย่าง

จากการเก็บตัวอย่างดินรังปลวกครั้งที่ 1 ที่ ตำบลคลองหลวงแพ่ง อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทราเมื่อ วันที่ 29 ธันวาคม 2560 จำนวน 3 รัง การเก็บตัวอย่างดินรังปลวกครั้งที่ 2 ที่เขตลำปลาทิว แขวงลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร วันที่ 21 มีนาคม 2561 จำนวน 1 รัง และครั้งที่ 3 ที่เขตลาดกระบัง แขวงลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร วันที่ 3 พฤษภาคม 2561 จำนวน 1 รัง รวมทั้งหมด 5 รัง (ภาคผนวก ข) นำมาหาคุณสมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดิน ได้แก่ การหาน้ำหนักดิน (ตั้งวิธีการทดลองที่ 3.8.3.1) การหาความชื้น (ตั้งวิธีการทดลองที่ 3.8.3.2) และการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (ตั้งวิธีการทดลองที่ 3.8.3.3) (ภาคผนวก ข) ได้ผลดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดิน

ตัวอย่างดิน	น้ำหนักดิน (กรัม)	ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)	ค่าความเป็นกรด - ด่าง	
			จุดเก็บตัวอย่าง	ห้องปฏิบัติการ
1	9.33	9.28	6.9	7.0
2	9.19	9.50	6.7	6.7
3	9.22	8.85	6.7	6.8
4	9.13	9.41	6.5	6.8
5	9.27	9.63	6.4	6.5

หมายเหตุ : ตัวอย่างดินที่ 1 – 3 จากตำบลคลองหลวงแพ่ง อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา

ตัวอย่างดินที่ 4 จากเขตลำปลาทิว แขวงลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร

ตัวอย่างดินที่ 5 จากเขตลาดกระบัง แขวงลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร

## 4.3 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีท

### 4.3.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อแอคติโนมัยซีท

เชื้อแอคติโนมัยซีทจะถูก Cross streak ให้เป็นโคโลนีเดี่ยว บนอาหาร Starch casein agar (SCA) ที่เติม Nystatin (ตั้งวิธีการที่ 3.8.4) จากนั้นนำเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ทำการคัดแยกได้ทั้งหมด 44 ไอโซเลท (ดังแสดงในตารางที่ 4.1) มาทำการตรวจสอบลักษณะการเจริญ สีของเส้นใยอากาศ และรงควัตถุที่ละลายน้ำ โดยทำการ Cross streak ลงบนจานอาหารเพาะเชื้อ International Streptomyces Project Medium 2 (ISP2) โดยเทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน (The NBs/IBCC color system) (ตั้งวิธีการที่ 3.9) (Mundie, 1995) (ภาคผนวก ฉ) และทำการตรวจดูลักษณะของเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีท โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อบนวุ้นบนแผ่นสไลด์ แล้วไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งจะให้เห็นการเรียงตัวของเส้นสายสปอร์ได้อย่างชัดเจน ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีท

กลุ่ม ที่	หมายเลข ไอโซเลท	การเจริญบน อาหาร ISP2	สีของ Substrate Mycelium	สีของ Aerial Mycelium	สีของรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	ลักษณะของสปอร์
1	CCS16	ปานกลาง	Dark Yellowish pink #C48379	Brownish pink #C2AC99	สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	-
	CCS19	ปานกลาง	Yellowish white #F0EAD6	Pinkish white #EAE3E1	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	-
	LKB05	ดี	Moderate Orange #D99058	Pinkish white #EAE3E1	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti
2	LKB13	ปานกลาง	Vivid red #BE0032	Deep red #841B2D	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles
	LKB15	ปานกลาง	Very deep red #5C0923	Vivid red #BE0032	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles
	LKB19	ดี	Deep brown #593319	Deep reddish brown #56070C	สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles
	LKB21	น้อย	Moderate reddish brown #79443B	Grayish red #905D5D	สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Verticillati

ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะสีฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอสคิตินมัยซีท (ต่อ)

กลุ่ม ที่	หมายเลข ไอโซเลท	การเจริญบน อาหาร ISP2	สีของ Substrate Mycelium	สีของ Aerial Mycelium	สีของรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	ลักษณะของสปอร์
3	LKB20	ดี	Strong orange yellow #EAA221	Strong orange #ED872D	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Spiral
4	CCS14	น้อย	Light yellow #F8DE7E	Light yellow #F8DE7E	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti
	LKB01	ดี	Strong yellow #D4AF37	Yellowish gray #BFB8A5	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles
	LKB12	ดี	Deep orange yellow #C98500	Light grayish yellowish brown #AE9B82	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti
	LKB18	ดี	Strong orange yellow #EAA221	Light yellow #F8DE7E	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti
	LKB23	ปานกลาง	Brilliant yellow #FADA5E	Light yellow #F8DE7E	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles
5	CCS08	ดี	Pale greenish yellow #EBE8A4	Pale greenish yellow #EBE8A4	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti
	CCS17	ดี	Vivid greenish yellow #DCD300	Light yellow green #C9DC89	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	-
	CLK02	ดี	Vivid greenish yellow #DCD300	Light greenish yellow #EAE679	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles

ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะสีฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอสคิโนมัยซีท (ต่อ)

กลุ่ม ที่	หมายเลข ไอโซเลท	การเจริญ บนอาหาร ISP2	สีของ Substrate Mycelium	สีของ Aerial Mycelium	สีของรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	ลักษณะของสปอร์
5	LKB10	ดี	Deep orange yellow #C98500	Light olive gray #8A8776	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti
	LKB14	ปานกลาง	Moderate olive #665D1E	Light olive #867E36	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles
	LKB16	ดี	Pale yellow #F3E5AB	Light olive gray #8A8776	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti
	LKB22	ดี	Vivid yellow #F3C300	Brilliant greenish yellow #E9E450	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles
6	LKB08	ดี	Light greenish yellow #EAE679	Light bluish gray #66ADA4	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti
7	CCS01	ดี	Moderate greenish yellow #B9B459	White #F2F3F4	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Verticillati
	CCS03	ดี	Pale greenish yellow #EBE8A4	White #F2F3F4	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti
	CCS04	ดี	Pale greenish yellow #EBE8A4	White #F2F3F4	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti

ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีที (ต่อ)

กลุ่ม ที่	หมายเลข ไอโซเลท	การเจริญบน อาหาร ISP2	สีของ Substrate Mycelium	สีของ Aerial Mycelium	สีของรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	ลักษณะของสปอร์
7	CCS05	ดี	Pale greenish yellow #EBE8A4	White #F2F3F4	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti
	CCS06	ปานกลาง	Light greenish yellow #EAE679	White #F2F3F4	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti
	CCS09	ปานกลาง	Light greenish yellow #EAE679	White #F2F3F4	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Verticillati
	CCS10	ปานกลาง	Light greenish yellow #EAE679	White #F2F3F4	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti
	CCS11	ปานกลาง	Pinkish gray #C1B6B3	White #F2F3F4	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles
	CCS12	ปานกลาง	Pale greenish yellow #EBE8A4	White #F2F3F4	สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles
	CCS13	ปานกลาง	Light yellow #F8DE7E	White #F2F3F4	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles
	CCS15	น้อย	Light yellow #F8DE7E	White #F2F3F4	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles
	CCS18	ปานกลาง	Vivid reddish orange #E25822	White #F2F3F4	สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles

ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะสีฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอกติโนมัยซีท (ต่อ)

กลุ่ม ที่	หมายเลข ไอโซเลท	การเจริญบน อาหาร ISP2	สีของ Substrate Mycelium	สีของ Aerial Mycelium	สีของรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	ลักษณะของสปอร์
7	CLK01	ดี	Vivid greenish yellow #DCD300	White #F2F3F4	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles
	LKB11	ดี	Moderate yellow #C9AE5D	White #F2F3F4	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti
8	CCS02	ดี	Grayish yellow green #8F9779	Light gray #B9B8B5	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti
	CCS07	ดี	Light olive gray #8A8776	Light gray #B9B8B5	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti
	LKB02	ปานกลาง	Grayish reddish orange #B4745E	Light gray #B9B8B5	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Retinaculiaperti
	LKB03	ดี	Strong orange #ED872D	Light gray #B9B8B5	สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles
	LKB04	ดี	Light grayish olive #8C8767	Light gray #B9B8B5	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Spiral
	LKB06	ปานกลาง	Grayish greenish yellow #B9B57D	Light gray #B9B8B5	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles
	LKB07	ดี	Purplish gray #8B8589	Light gray #B9B8B5	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles

ตารางที่ 4.3 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาและการเจริญของเชื้อแอสคิตินัมยีสท์ (ต่อ)

กลุ่ม ที่	หมายเลข ไอโซเลท	การเจริญบน อาหาร ISP2	สีของ Substrate Mycelium	สีของ Aerial Mycelium	สีของรงควัตถุ ที่ละลายน้ำ	ลักษณะของสปอร์
8	LKB09	ปานกลาง	Yellowish gray #BFB8A5	Medium gray #848482	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles
	LKB17	ดี	Strong orange yellow #EAA221	Light gray #B9B8B5	ไม่สร้างรงควัตถุละลายน้ำ	Rectiflexbiles

หมายเหตุ : #XXXXXX แสดงสัญลักษณ์ระบบสี RGB (Red, Green และBlue) ซึ่งเป็นระบบสีที่เกิดจากการรวมตัวของแสงสีแดง, สีเขียว และสีน้ำเงิน เช่น #BFB8A5 หมายถึง สี Yellowish gray

#### 4.3.2 ลักษณะทางสรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีท

ในการศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่แยกได้จากตำบลคลองหลวงแพ่ง อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร และแขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร (ภาคผนวก ข) (ดังวิธีการที่ 3.9) มีการทดสอบ 5 การทดสอบ ได้แก่

1. การทดสอบการย่อยสลายโปรตีนในอาหาร Skim milk agar หากเกิดการย่อยสลายโปรตีน จะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารจากสีขาวขุ่นเป็นสีใส
2. การทดสอบการย่อยสลายเจลาตินในหลอดอาหารเหลว Bouillon gelatin broth หากเกิดการย่อยสลายเจลาติน จะไม่เกิดการแข็งตัวของเจลาตินเมื่อเทียบกับชุดควบคุม
3. การย่อยสลายไนเตรทในหลอดอาหารเหลว Peptone  $\text{KNO}_3$  เมื่อทำการตรวจผลด้วยกรดซัลฟาลิก และสารละลาย N,N-Dimethyl-1-naphthylamine หากเชื้อสามารถเปลี่ยนไนเตรทเป็นไนไตรต์ได้ สารละลายจะเปลี่ยนไปเป็นสีชมพูถึงแดง
4. การทดสอบการย่อยสลายแป้งบนจานอาหารเพาะเชื้อ Inorganic Salt-Starch agar (ISP4) ตรวจผลโดยการเติมสารละลายแกรมไอโอดีนลงไปบนจานอาหารเพาะเชื้อที่มีการเพาะเลี้ยงเชื้อไว้ หากมีการย่อยสลายแป้งจะเกิดบริเวณใสรอบ ๆ โคลนินของเชื้อ
5. การทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแลคโตส น้ำตาลซูโครส น้ำตาลไซโลส และน้ำตาลแมนนิทอลในหลอดอาหารเหลว Phenol red glucose broth, Phenol red lactose broth, Phenol red sucrose broth, Phenol red xylose broth และ Phenol red mannitol broth ที่มีหลอดดักแก๊ส ตรวจผลโดยสังเกตการเกิดแก๊สในหลอดดักแก๊ส และหากเชื้อมีการหมักน้ำตาล น้ำตาลจะเปลี่ยนสีจากสีแดงไปเป็นสีเหลือง

ซึ่งจากการศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่กล่าวมาทั้ง 44 ไอโซเลท สามารถจัดกลุ่มเชื้อได้เป็น 8 กลุ่ม ดังตารางที่ 4.4.1 และ 4.4.2

ตารางที่ 4.4.1 แสดงลักษณะทางสรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีท (Gelatin liquefaction, Nitrate reduction, Starch hydrolysis และPeptonization)

กลุ่มที่	หมายเลขไอโซเลท	Gelatin liquefaction	Nitrate reduction	Starch hydrolysis	Peptonization
1	CCS16	-	+	-	+
	CCS19	-	+	-	-
	LKB05	-	-	-	-
2	LKB13	-	-	+	-
	LKB15	-	+	-	-
	LKB19	-	-	-	+
	LKB21	-	+	-	-
3	LKB20	-	+	-	+
4	CCS14	+	+	-	-
	LKB01	-	-	W	-
	LKB12	+	-	-	-
	LKB18	+	-	-	-
	LKB23	-	-	-	-
5	CCS08	+	-	+	-
	CCS17	+	-	+	+
	CLK02	-	-	-	+
	LKB10	+	+	+	-
	LKB14	-	-	-	-
	LKB16	-	W	W	-
	LKB22	W	-	-	+
6	LKB08	-	+	+	-
7	CCS01	+	+	+	+
	CCS03	+	-	-	+
	CCS04	+	+	+	+
	CCS05	+	-	W	+
	CCS06	+	+	+	-
	CCS09	+	-	+	+

ตารางที่ 4.4.1 แสดงลักษณะทางสรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีท (Gelatin liquefaction, Nitrate reduction, Starch hydrolysis และPeptonization) (ต่อ)

กลุ่มที่	หมายเลขไอโซเลท	Gelatin liquefaction	Nitrate reduction	Starch hydrolysis	Peptonization
7	CCS10	+	+	+	+
	CCS11	+	+	+	-
	CCS12	+	+	+	-
	CCS13	+	-	+	-
	CCS15	+	+	-	+
	CCS18	-	+	W	-
	CLK01	-	-	-	-
	LKB11	-	+	W	-
8	CCS02	+	+	+	-
	CCS07	+	-	+	-
	LKB02	-	W	+	-
	LKB03	-	-	W	+
	LKB04	-	-	-	-
	LKB06	-	-	-	-
	LKB07	+	-	+	-
	LKB09	-	-	-	+
	LKB17	-	-	-	-

หมายเหตุ ( - ) : ผลลบ (Negative) คือ เชื้อแอกติโนมัยซีทไม่สามารถทำปฏิกิริยาทางชีวเคมีได้

( W ) : Weak คือ เชื้อแอกติโนมัยซีทสามารถทำปฏิกิริยาทางชีวเคมีได้เล็กน้อย

( + ) : ผลบวก (Positive) คือ เชื้อแอกติโนมัยซีทสามารถทำปฏิกิริยาทางชีวเคมีได้

ตารางที่ 4.4.2 แสดงลักษณะทางสรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีท (การหมักน้ำตาล)

กลุ่ม ที่	หมายเลข ไอโซเลท	กลูโคส		แลคโตส		ซูโครส		ไซโลส		แมนนิทอล	
		การเปลี่ยน สี	การเกิด แก๊ส	การเปลี่ยน สี	การเกิด แก๊ส	การเปลี่ยน สี	การเกิด แก๊ส	การเปลี่ยน สี	การเกิด แก๊ส	การเปลี่ยน สี	การเกิด แก๊ส
1	CCS16	+	N	-	N	-	N	+	G	W	N
	CCS19	+	N	-	N	W	G	+	G	W	N
	LKB05	+	N	+	N	-	G	+	G	-	N
2	LKB13	W	N	-	G	-	N	+	N	+	N
	LKB15	-	N	+	N	-	N	-	G	-	N
	LKB19	-	G	-	N	-	G	W	G	-	N
	LKB21	-	G	-	G	-	N	-	G	-	N
3	LKB20	-	N	-	G	+	N	+	G	+	N
4	CCS14	+	N	-	G	-	G	-	G	W	N
	LKB01	-	N	-	G	-	N	W	G	-	N
	LKB12	+	N	-	G	-	N	W	G	-	N
	LKB18	-	G	-	N	+	N	-	G	-	N
	LKB23	W	G	+	N	-	N	+	N	+	N
5	CCS08	W	N	-	N	-	G	-	N	-	N
	CCS17	+	N	+	N	W	N	-	G	-	N
	CLK02	-	N	+	G	+	G	W	G	-	N

ตารางที่ 4.4.2 แสดงลักษณะทางสรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีท (การหมักน้ำตาล) (ต่อ)

กลุ่ม ที่	หมายเลข ไอโซเลท	กลูโคส		แลคโตส		ซูโครส		ไซโลส		แมนนิทอล	
		การเปลี่ยน สี	การเกิด แก๊ส	การเปลี่ยน สี	การเกิด แก๊ส	การเปลี่ยน สี	การเกิด แก๊ส	การเปลี่ยน สี	การเกิด แก๊ส	การเปลี่ยน สี	การเกิด แก๊ส
5	LKB10	-	G	+	N	-	N	-	N	-	N
	LKB14	W	N	-	N	+	G	+	N	+	N
	LKB16	-	N	-	N	-	G	-	G	-	N
	LKB22	+	G	+	N	-	N	W	G	-	N
6	LKB08	+	G	-	N	-	N	W	N	-	N
7	CCS01	W	N	-	N	-	N	+	N	W	N
	CCS03	W	N	W	N	+	N	W	N	W	N
	CCS04	-	N	W	N	-	N	W	N	W	N
	CCS05	+	G	+	G	-	N	-	N	-	N
	CCS06	W	N	-	G	-	G	W	N	-	N
	CCS09	W	N	-	N	-	G	-	N	-	N
	CCS10	-	N	W	G	-	N	-	G	-	N
	CCS11	+	N	-	G	-	N	-	N	W	N
	CCS12	+	N	W	G	-	G	-	G	-	N
	CCS13	-	N	+	G	W	N	-	G	-	N
CCS15	+	N	-	G	-	N	+	G	-	N	

ตารางที่ 4.4.2 แสดงลักษณะทางสรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีท (การหมักน้ำตาล) (ต่อ)

กลุ่ม ที่	หมายเลข ไอโซเลท	กลูโคส		แลคโตส		ซูโครส		ไซโลส		แมนนิทอล	
		การ เปลี่ยนสี	การเกิด แก๊ส	การเปลี่ยน สี	การเกิด แก๊ส	การเปลี่ยน สี	การเกิด แก๊ส	การเปลี่ยน สี	การเกิด แก๊ส	การเปลี่ยน สี	การเกิด แก๊ส
7	CCS18	+	N	+	N	+	N	-	G	+	N
	CLK01	+	N	+	N	+	G	-	G	-	N
	LKB11	-	N	-	G	+	G	+	G	-	N
8	CCS02	W	N	-	N	+	G	-	N	-	N
	CCS07	+	N	W	N	-	G	+	N	-	N
	LKB02	-	N	-	G	W	N	W	G	-	N
	LKB03	+	G	-	N	-	N	W	G	-	N
	LKB04	+	G	-	G	-	N	-	G	-	N
	LKB06	+	G	+	N	-	N	+	G	+	N
	LKB07	W	N	-	N	-	G	+	N	-	N
	LKB09	W	N	-	G	+	N	+	N	-	N
	LKB17	-	N	-	N	-	N	W	G	-	N

หมายเหตุ (-) : ผลลบ (Negative) คือ เชื้อแอคติโนมัยซีทไม่สามารถหมักน้ำตาลได้

(W) : Weak คือ เชื้อแอคติโนมัยซีทสามารถหมักน้ำตาลได้เล็กน้อย

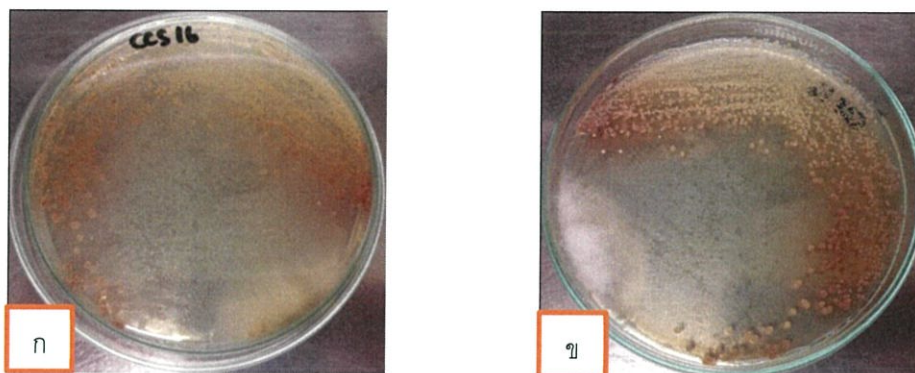
(+) : ผลบวก (Positive) คือ เชื้อแอคติโนมัยซีทสามารถหมักน้ำตาลได้

(G) : Gas คือ เชื้อแอคติโนมัยซีทสามารถสร้างแก๊สได้

(N) : No gas คือ เชื้อแอคติโนมัยซีทสามารถไม่สามารถสร้างแก๊สได้

ซึ่งจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และชีวเคมีของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่สามารถจัดกลุ่มเชื้อได้เป็น 8 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่ม 1 กลุ่มของแอกติโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสีชมพู (ดังรูปที่ 4.1) มีสมาชิกทั้งหมด 3 ไอโซเลท ได้แก่ CCS16, CCS19 และ LKB05

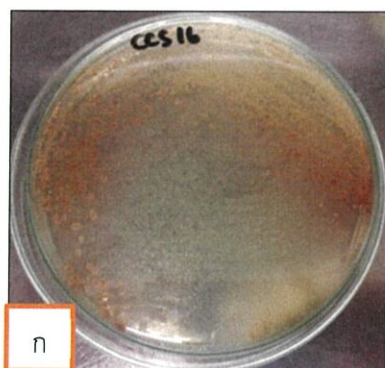


รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทในกลุ่มที่ 1

( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทกลุ่มที่ 1 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทกลุ่มที่ 1 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

ไอโซเลท CCS16 สร้างเส้นใยอากาศสี Brownish pink และสร้างเส้นใยอาหารสี Dark yellowish pink สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ และย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ และไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส การหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และมีการหมักน้ำตาลแมนนิทอลเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS16 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS16 (ดังรูปที่ 4.2)

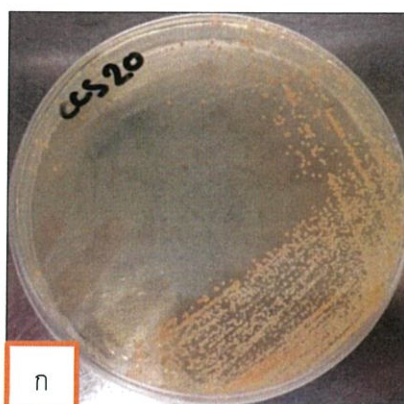


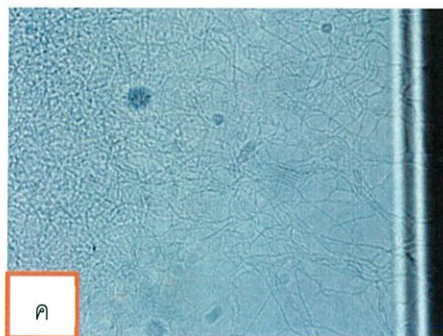


รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS16

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS16 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS16 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS16 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท CCS19 สร้างเส้นใยอากาศสี Pinkish white และสร้างเส้นใยอาหารสี Yellowish white ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำมันได้ ไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ และไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่ามีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลซูโครสเล็กน้อย มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และมีการหมักน้ำตาลแมนนิทอลเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS19 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS19 (ดังรูปที่ 4.3)

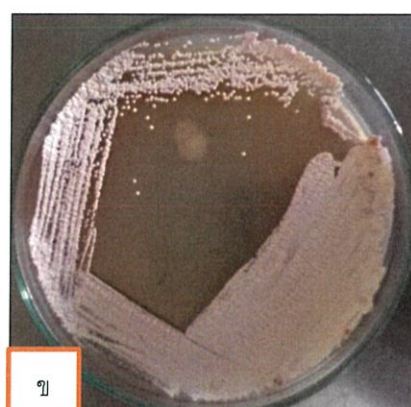
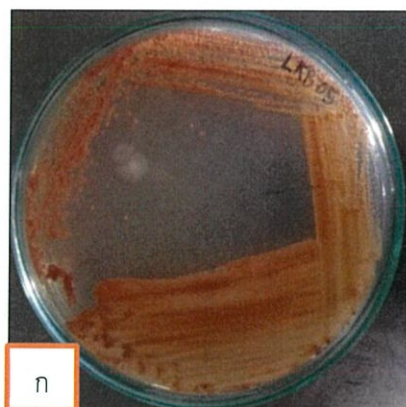


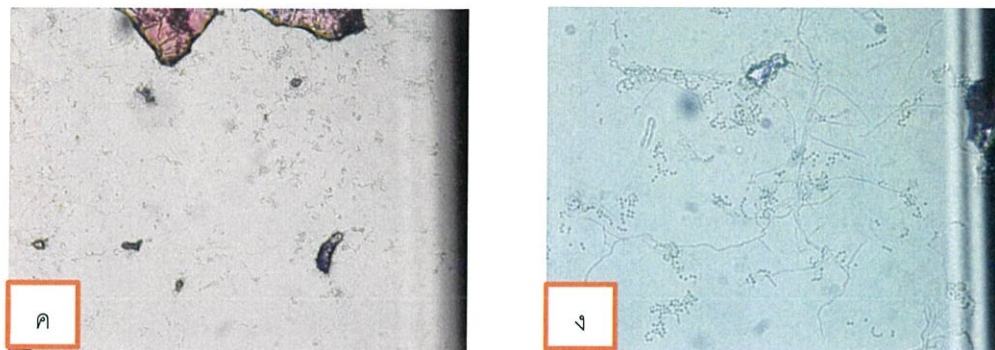


รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS19

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS19 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS19 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS19 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB05 สร้างเส้นใยอากาศสี Pinkish white และสร้างเส้นใยอาหารสี Moderate orange ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ ไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำมันได้ ไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ และไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่ามีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB05 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB05 (ดังรูปที่ 4.4)

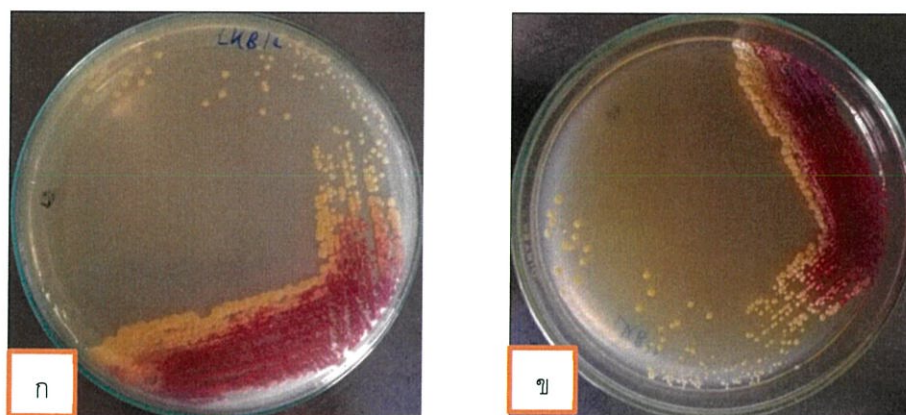




รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB05

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB05 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB05 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB05 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 400 เท่า)
- ( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB05 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

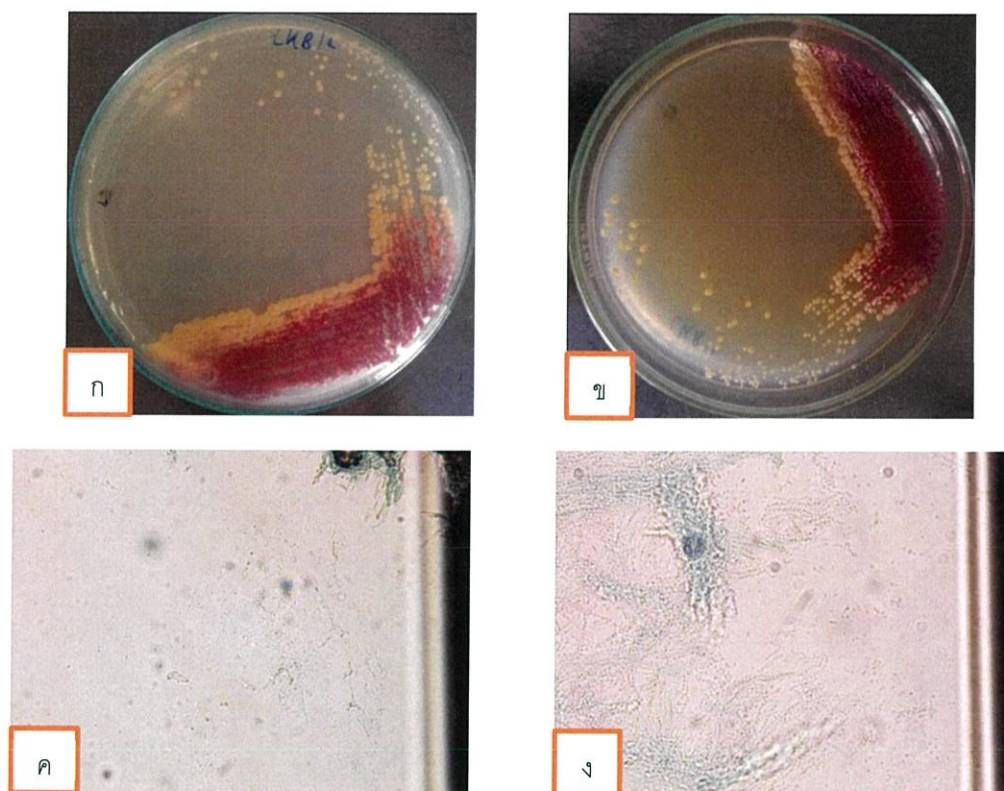
กลุ่ม 2 กลุ่มของแอกติโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสีแดง (ดังรูปที่ 4.5) มีสมาชิกทั้งหมด 4 ไอโซเลท ได้แก่ LKB13, LKB15, LKB19 และ LKB21



รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทในกลุ่มที่ 2

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทกลุ่มที่ 2 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทกลุ่มที่ 2 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

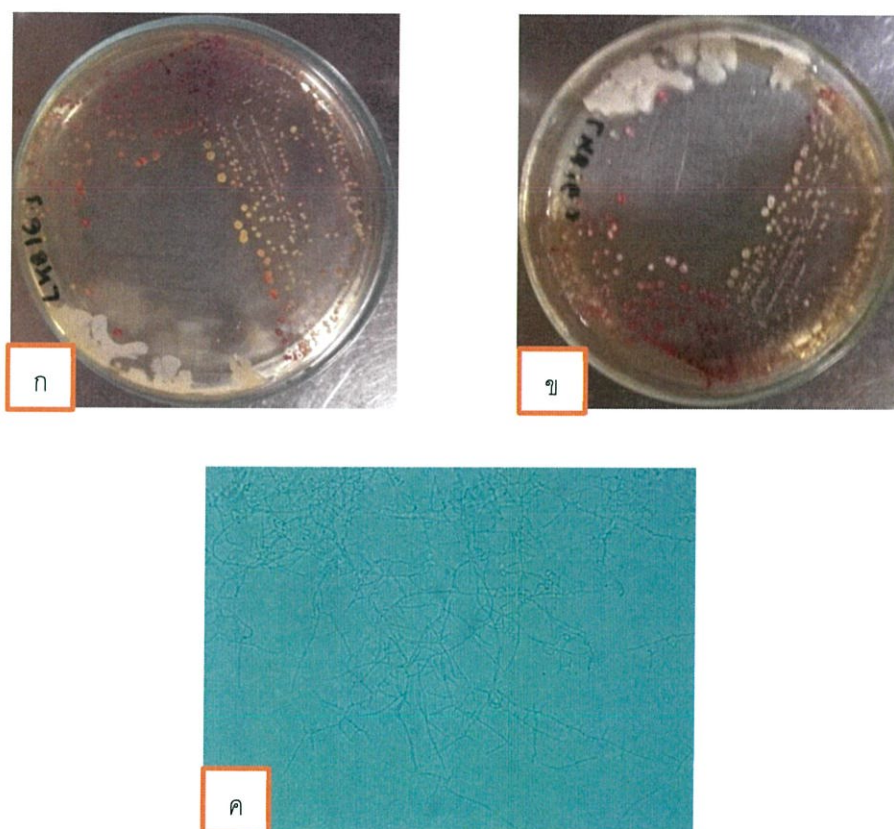
ไอโซเลท LKB13 สร้างเส้นใยอากาศสี Deep red และสร้างเส้นใยอาหารสี Vivid red ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายแป้งได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ ไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ และไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่ามีการหมักน้ำตาลกลูโคสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลส ไม่มีการสร้างแก๊ส และมีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB13 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB13 (ดังรูปที่ 4.6)



รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB13

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB13 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB13 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB13 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 400 เท่า)
- ( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB13 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

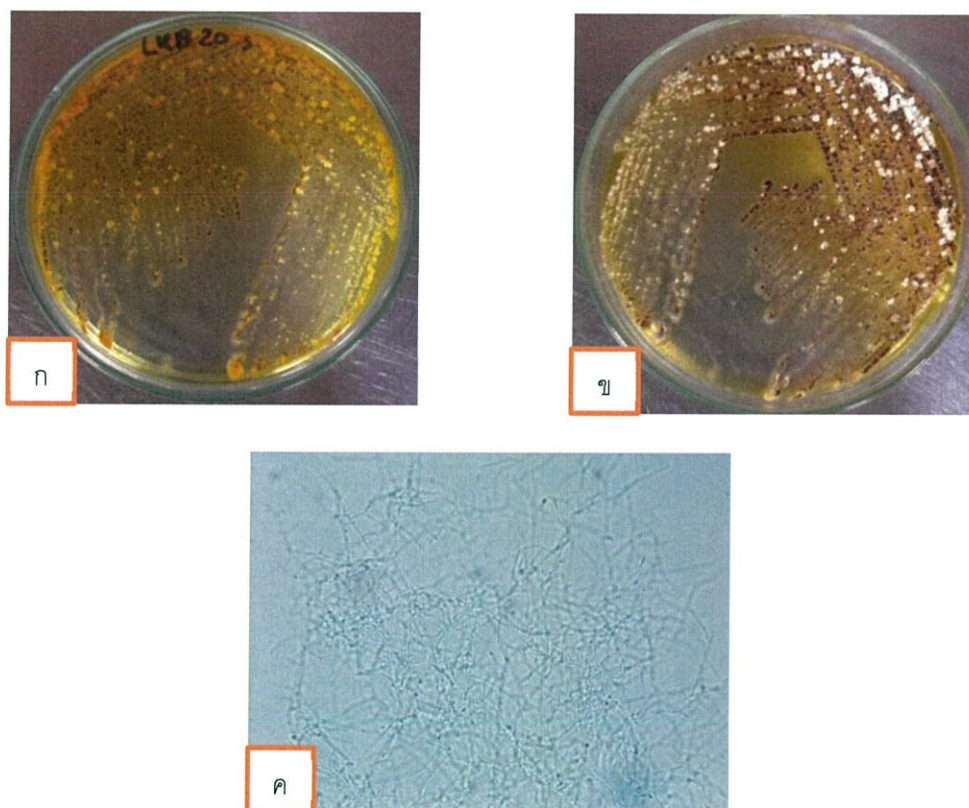
ไอโซเลท LKB15 สร้างเส้นใยอากาศสี Vivid red และสร้างเส้นใยอาหารสี Very deep red ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ ไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ และไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่าไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB15 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB15 (ดังรูปที่ 4.7)



รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB15

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB15 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB15 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB15 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB19 สร้างเส้นใยอากาศสี Deep reddish brown และสร้างเส้นใยอาหารสี Deep brown สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ และไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า ไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB19 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB19 (ดังรูปที่ 4.8)

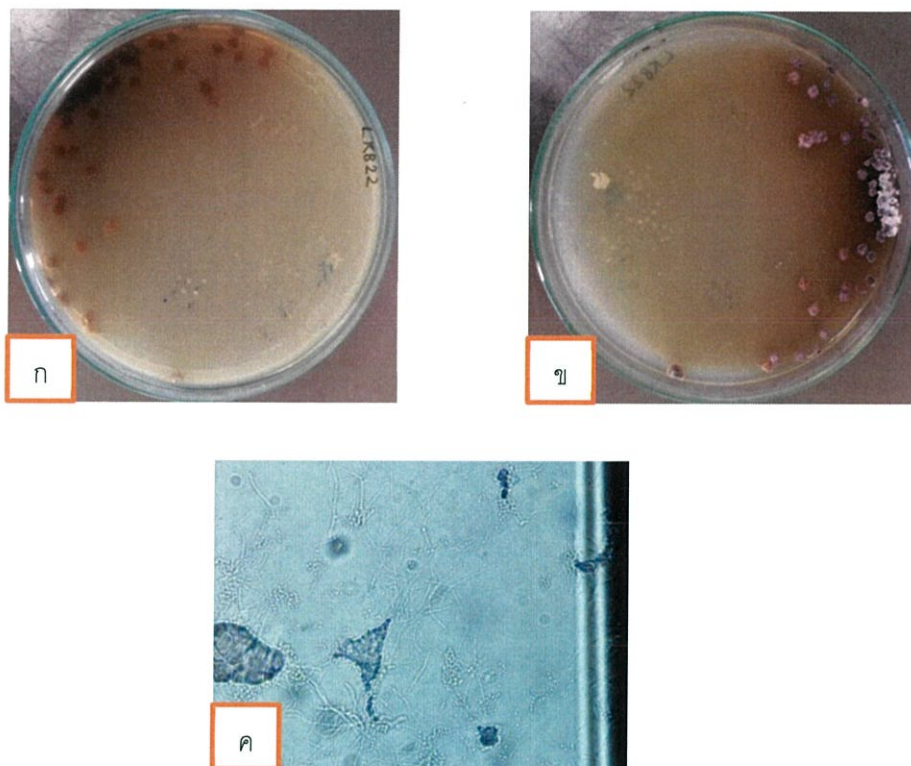


รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB19

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB19 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB19 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB19 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB21 สร้างเส้นใยอากาศสี Grayish red และสร้างเส้นใยอาหารสี Moderate reddish brown สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลาย

ไนเตรทได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ ไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ และไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่าไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB21 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB21 (ดังรูปที่ 4.9)



รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB21

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB21 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB21 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB21 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

กลุ่ม 3 กลุ่มของแอกติโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสีส้ม (ดังรูปที่ 4.10) มีสมาชิกทั้งหมด 1 ไอโซเลท ได้แก่ LKB20

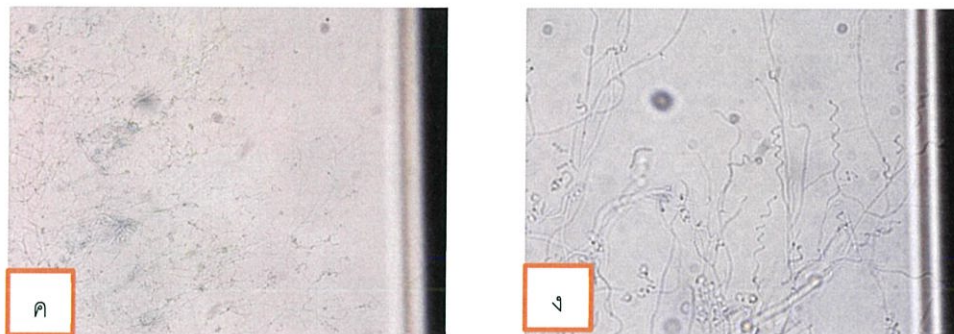


รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทในกลุ่มที่ 3

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทกลุ่มที่ 3 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทกลุ่มที่ 3 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

ไอโซเลท LKB20 สร้างเส้นใยอากาศสี Strong orange และสร้างเส้นใยอาหารสี Strong orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ และสามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ และไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า ไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และมีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB20 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB20 (ดังรูปที่ 4.11)

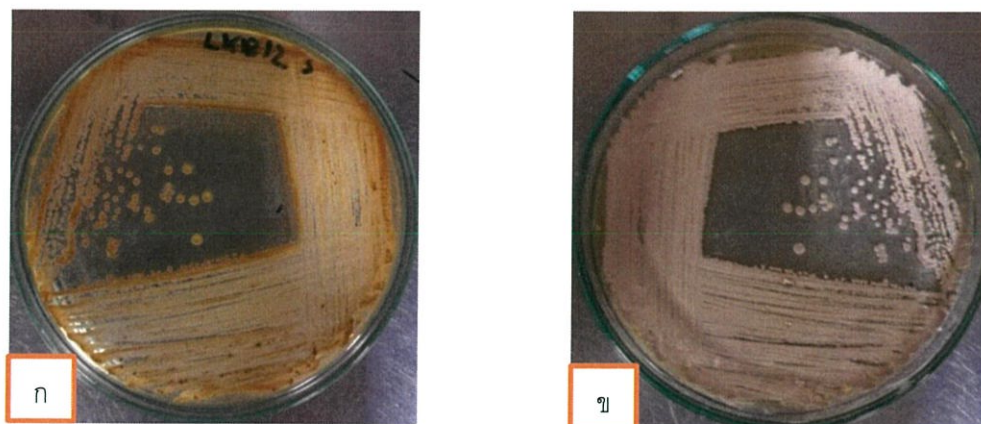




รูปที่ 4.11 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB20

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB20 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB20 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB20 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 400 เท่า)
- ( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB20 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

กลุ่ม 4 กลุ่มของแอกติโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสีเหลือง (ดังรูปที่ 4.12) มีสมาชิกทั้งหมด 5 ไอโซเลท ได้แก่ CCS14, LKB01, LKB12, LKB18 และ LKB23

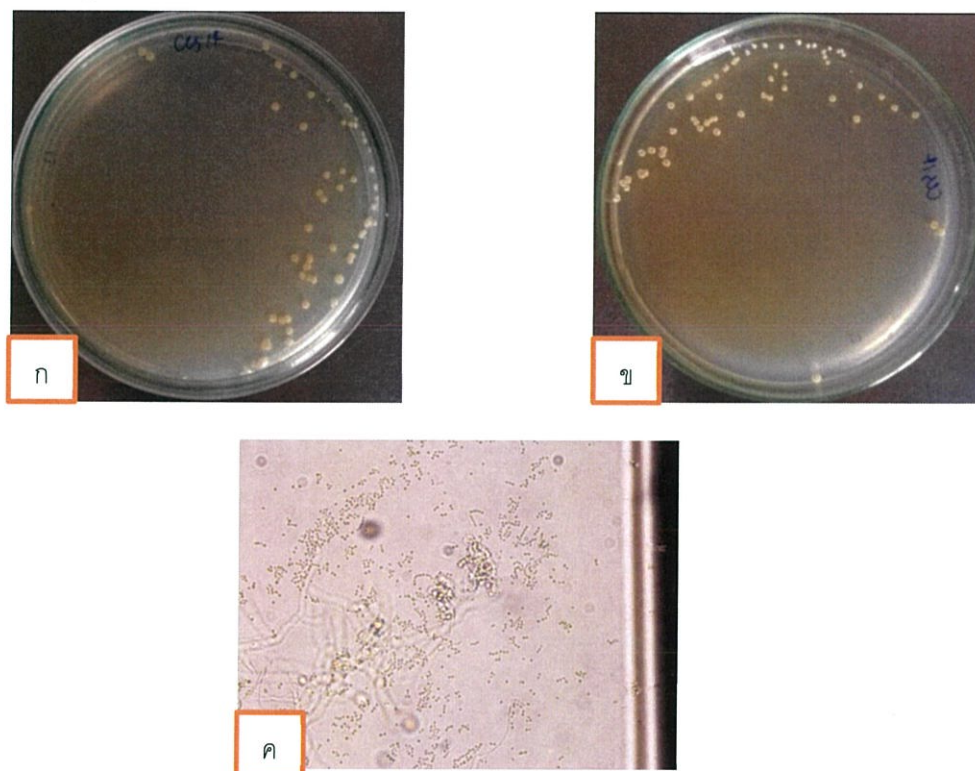


รูปที่ 4.12 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทในกลุ่มที่ 4

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทกลุ่มที่ 4 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทกลุ่มที่ 4 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

ไอโซเลท CCS14 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish gray และสร้างเส้นใยอาหารสี Strong yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายไนเตรทได้

และสามารถย่อยสลายเจลาตินได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำมันได้ และไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และมีการหมักน้ำตาลแมนนิทอลเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS14 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS14 (ดังรูปที่ 4.13)

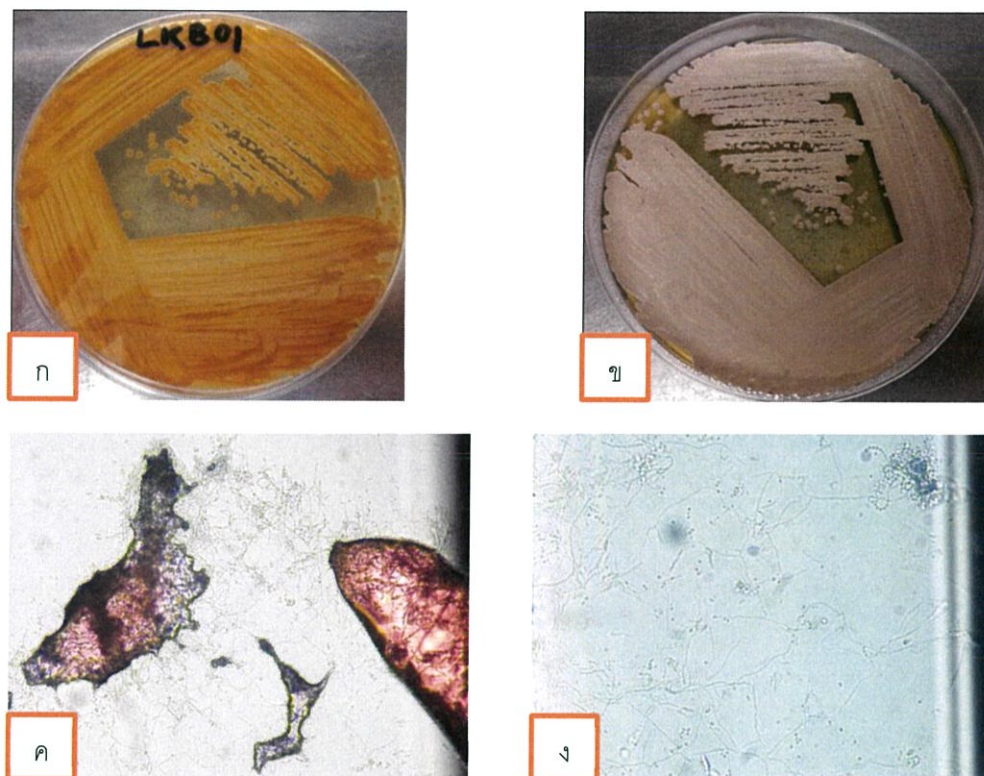


รูปที่ 4.13 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS14

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS14 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS14 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS14 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB01 สร้างเส้นใยอากาศสี Yellowish gray และสร้างเส้นใยอาหารสี Strong yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายแป้งได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ ไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ และไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำมันได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า ไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการ

สร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอลเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB01 สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB01 (ดังรูปที่ 4.14)

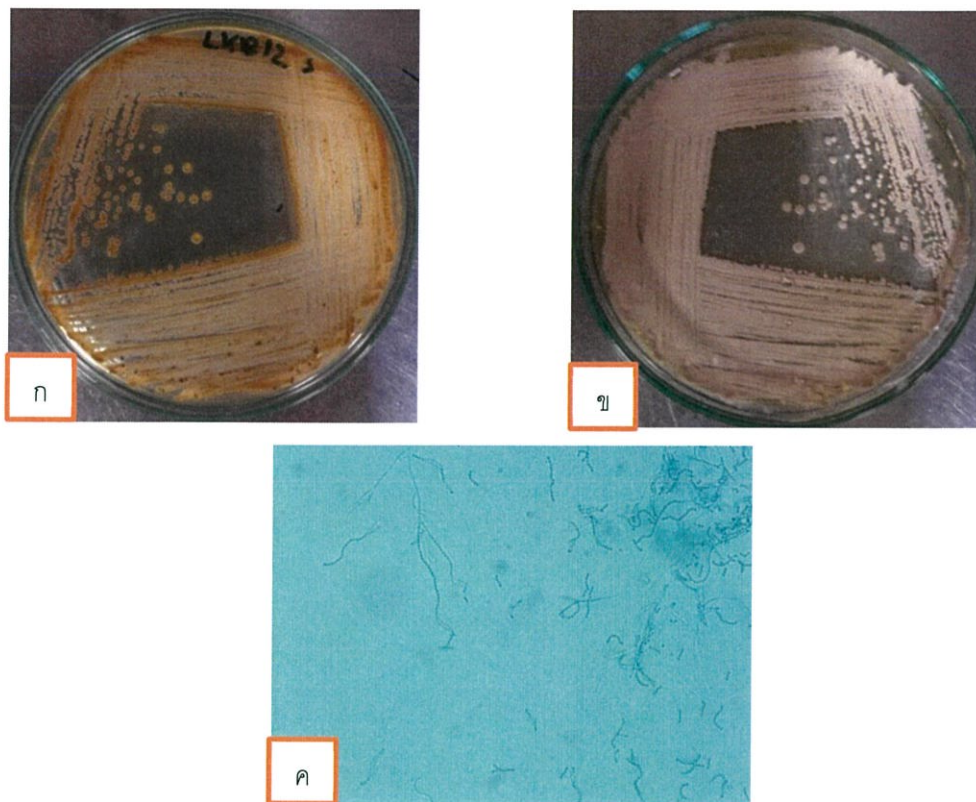


รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB01

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านข้างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB01 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB01 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB01 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 400 เท่า)
- ( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB01 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB12 สร้างเส้นใยอากาศสี Light grayish yellowish brown และสร้างเส้นใยอาหารสี Deep orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ ไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ และไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำมันได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่ามีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการ

หมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB12 สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB12 (ดังรูปที่ 4.15)

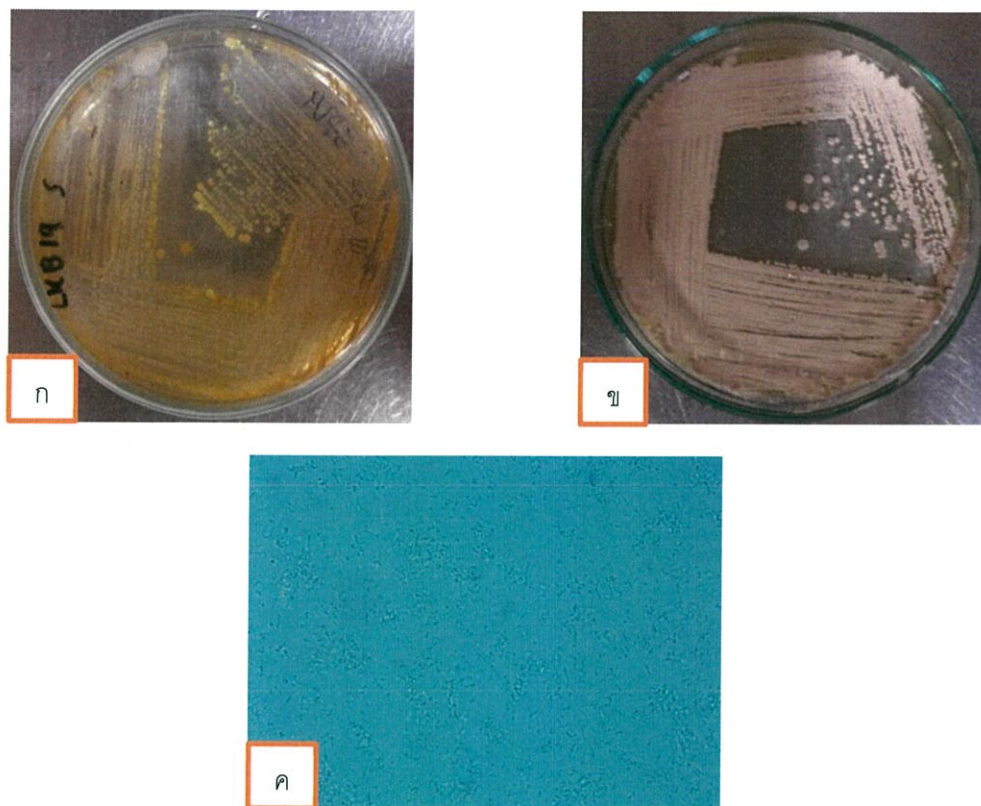


รูปที่ 4.15 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB12

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB12 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB12 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB12 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB18 สร้างเส้นใยอากาศสี Light yellow และสร้างเส้นใยอาหารสี Strong orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ ไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ และไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า ไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิ

ทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB18 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB18 (ดังรูปที่ 4.16)

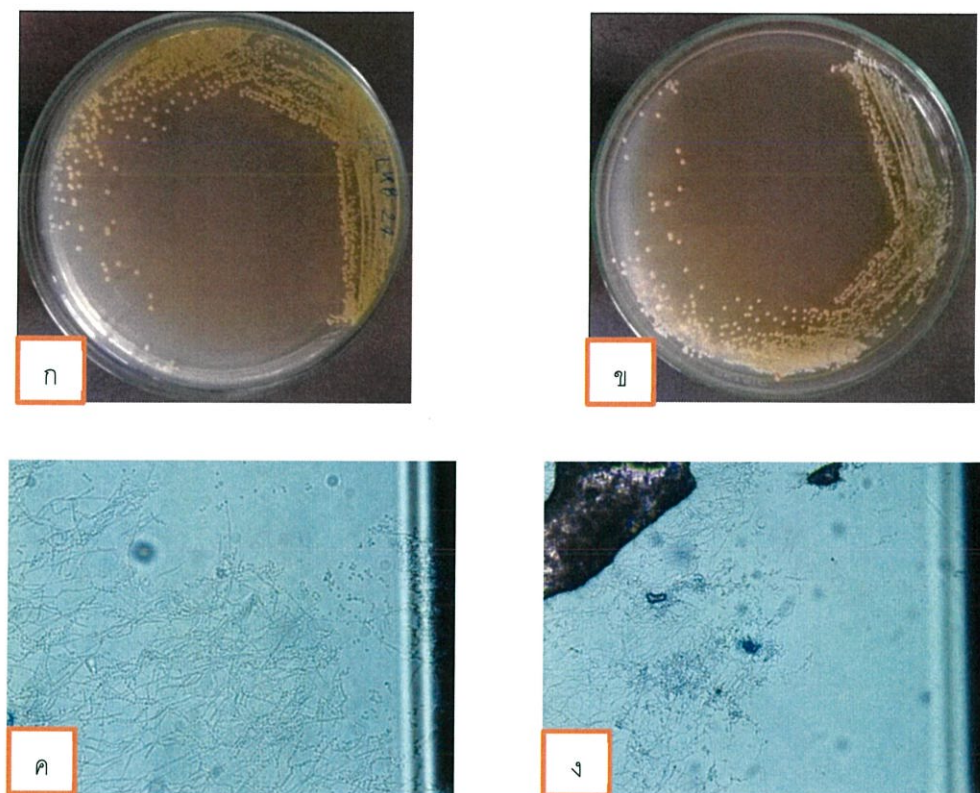


รูปที่ 4.16 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB18

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB18 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB18 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB18 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB23 สร้างเส้นใยอากาศสี Light yellow และสร้างเส้นใยอาหารสี Brilliant yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ ไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ ไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำมันได้ และไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคสเล็กน้อย มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลส ไม่มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB23

ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB23 (ดังรูปที่ 4.17)



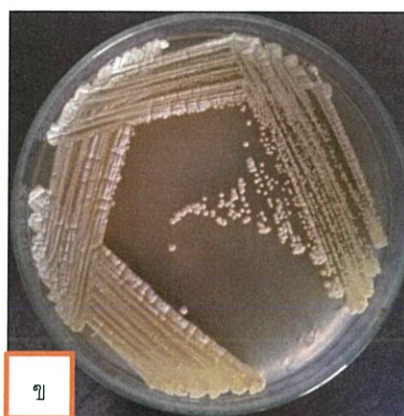
รูปที่ 4.17 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB23

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB23 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB23 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB23 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 400 เท่า)
- ( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB23 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

กลุ่ม 5 กลุ่มของแอกติโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสีเขียว (ดังรูปที่ 4.18) มีสมาชิกทั้งหมด 7 ไอโซเลท ได้แก่ CCS08, CCS17, CLK02, LKB10, LKB14, LKB16 และ LKB22



ก



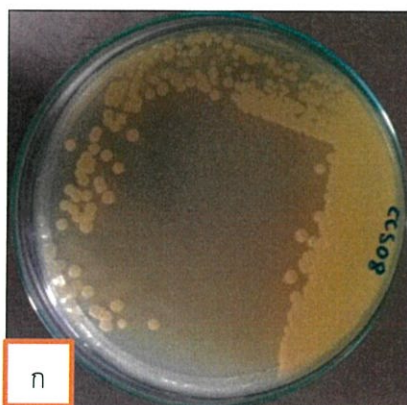
ข

รูปที่ 4.18 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทในกลุ่มที่ 5

( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทกลุ่มที่ 5 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทกลุ่มที่ 5 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

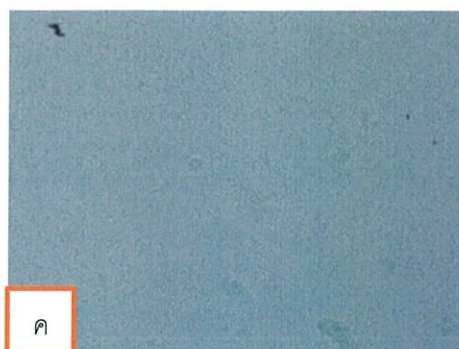
ไอโซเลท CCS08 สร้างเส้นใยอากาศสี Pale greenish yellow และสร้างเส้นใยอาหารสี Pale greenish yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ และสามารถย่อยสลายแป้งได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำมันได้ และไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS08 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS08 (ดังรูปที่ 4.19)



ก



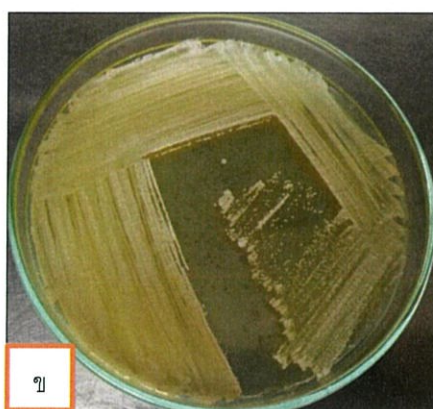
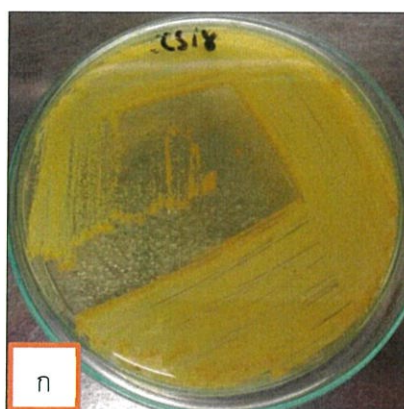
ข



รูปที่ 4.19 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS08

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS08 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS08 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS08 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท CCS17 สร้างเส้นใยอากาศสี Light yellow green และสร้างเส้นใยอาหารสี Vivid greenish yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ สามารถย่อยสลายแป้งได้ และสามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำมันได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลซูโครส เล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS17 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS17 (ดังรูปที่ 4.20)

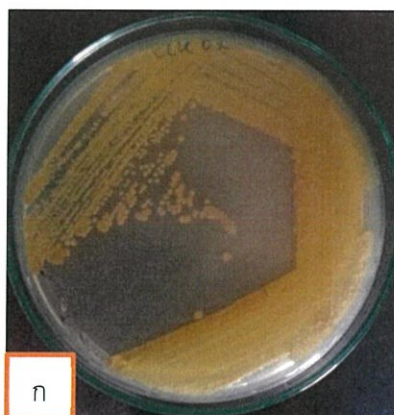


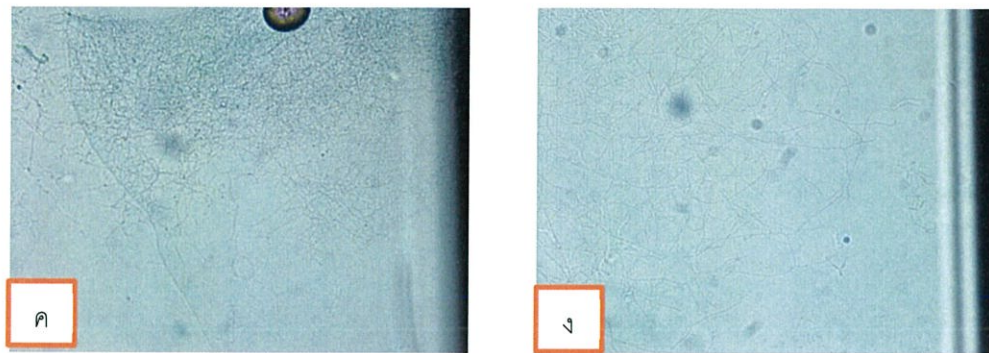


รูปที่ 4.20 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท CCS17

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท CCS17 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท CCS17 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท CCS17 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท CLK02 สร้างเส้นใยอากาศสี Light gray และสร้างเส้นใยอาหารสี Grayish reddish orange ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ และสามารถย่อยสลายเจลาตินได้เล็กน้อย แต่ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ และไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า ไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลซูโครส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CLK02 สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CLK02 (ดังรูปที่ 4.21)

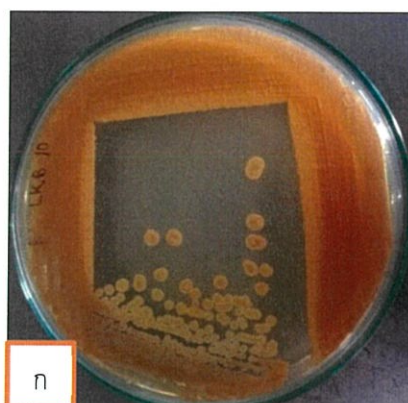


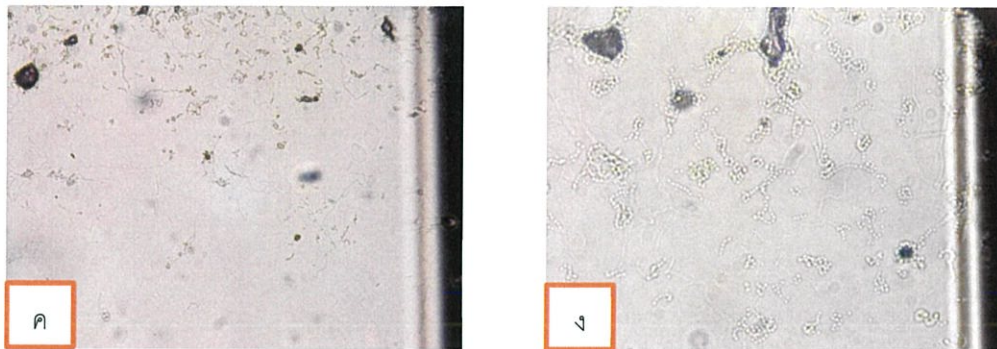


รูปที่ 4.21 แสดงลักษณะของเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลท CLK02

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลท CLK02 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลท CLK02 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลท CLK02 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 400 เท่า)
- ( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอสคิโนมัยซีทไอโซเลท CLK02 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB10 สร้างเส้นใยอากาศสี Light olive gray และสร้างเส้นใยอาหารสี Deep orange yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ สามารถย่อยสลายแป้งได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า ไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลไซโลส ไม่มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB10 สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB10 (ดังรูปที่ 4.22)

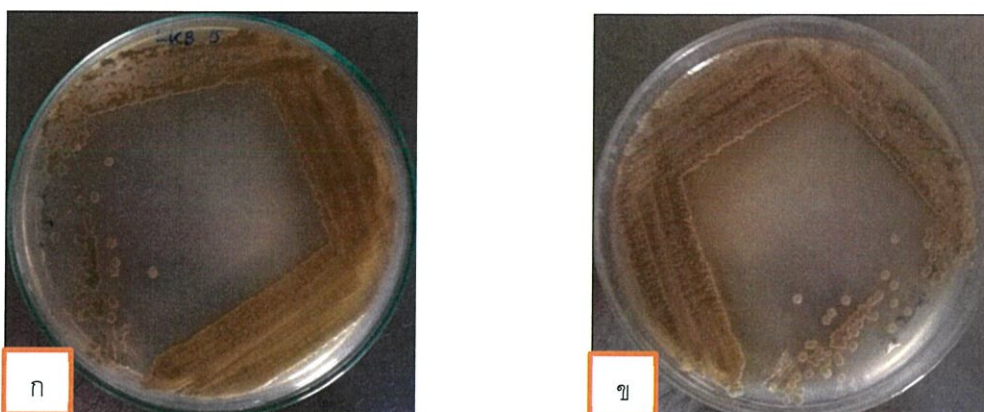


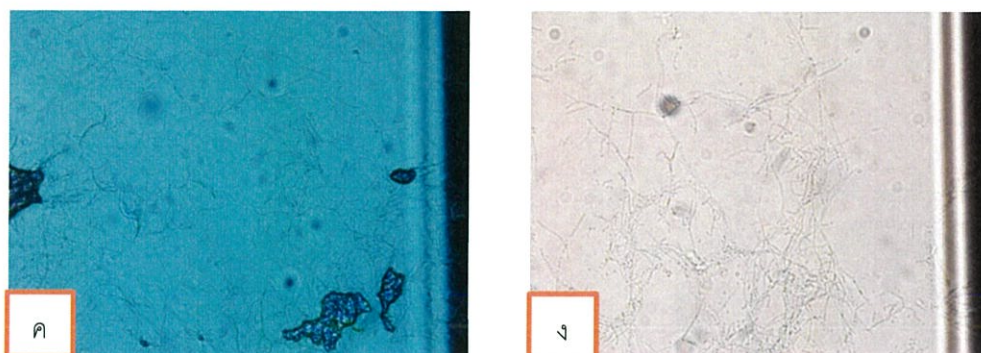


รูปที่ 4.22 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB10

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB10 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB10 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB10 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 400 เท่า)
- ( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB10 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB 14 สร้างเส้นใยอากาศสี Light olive และสร้างเส้นใยอาหารสี Moderate olive ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 ไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ ไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ ไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ และไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลซูโครส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส และมีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB14 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB14 (ดังรูปที่ 4.23)

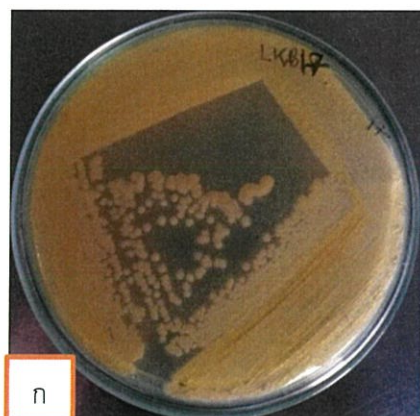


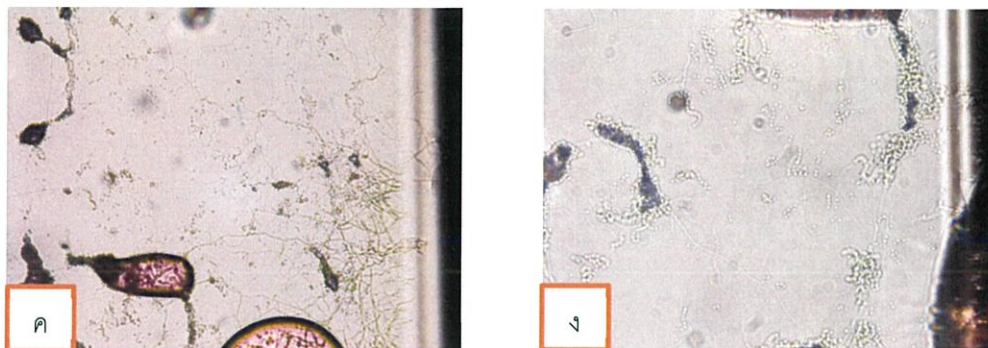


รูปที่ 4.23 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB14

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB14 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB14 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB14 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 400 เท่า)
- ( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB14 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB16 สี Light olive gray และสร้างเส้นใยอาหารสี Pale yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายไนเตรทได้เล็กน้อย แต่ไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ ไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ และไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า ไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB16 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB16 (ดังรูปที่ 4.24)

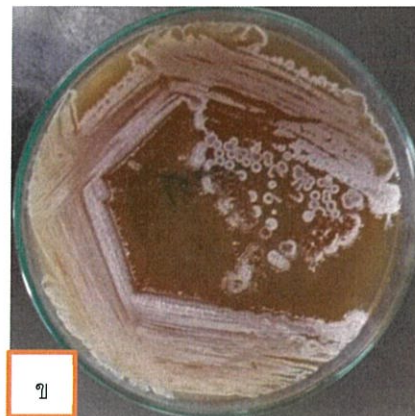
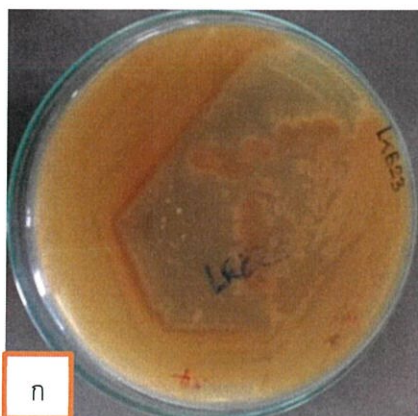




รูปที่ 4.24 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB16

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB16 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB16 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB16 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 400 เท่า)
- ( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB16 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB22 สร้างเส้นใยอากาศสี Brilliant greenish yellow และสร้างเส้นใยอาหารสี Vivid yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ และสามารถย่อยสลายเจลาตินได้เล็กน้อย แต่ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ และไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย มีการสร้างแก๊ส และ ไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอลเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้นพบว่าไอโซเลท LKB22 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB22 (ดังรูปที่ 4.25)

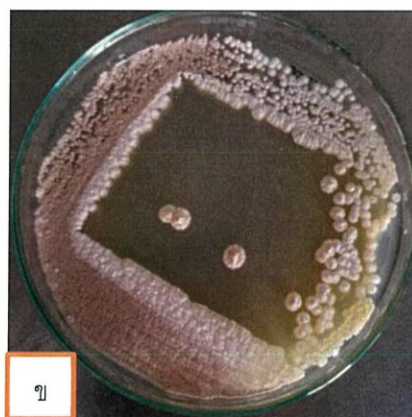
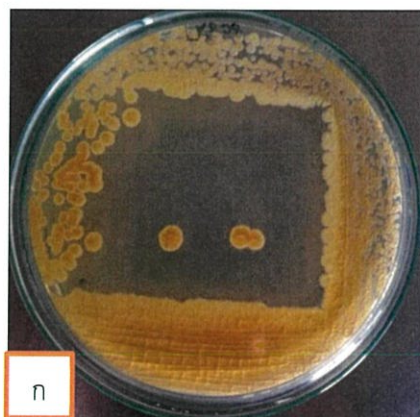




รูปที่ 4.25 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB22

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB22 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB22 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB22 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 400 เท่า)

กลุ่ม 6 กลุ่มของแอคติโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสีน้ำเงิน (ดังรูปที่ 4.26) มีสมาชิกทั้งหมด 1 ไอโซเลท ได้แก่ LKB08

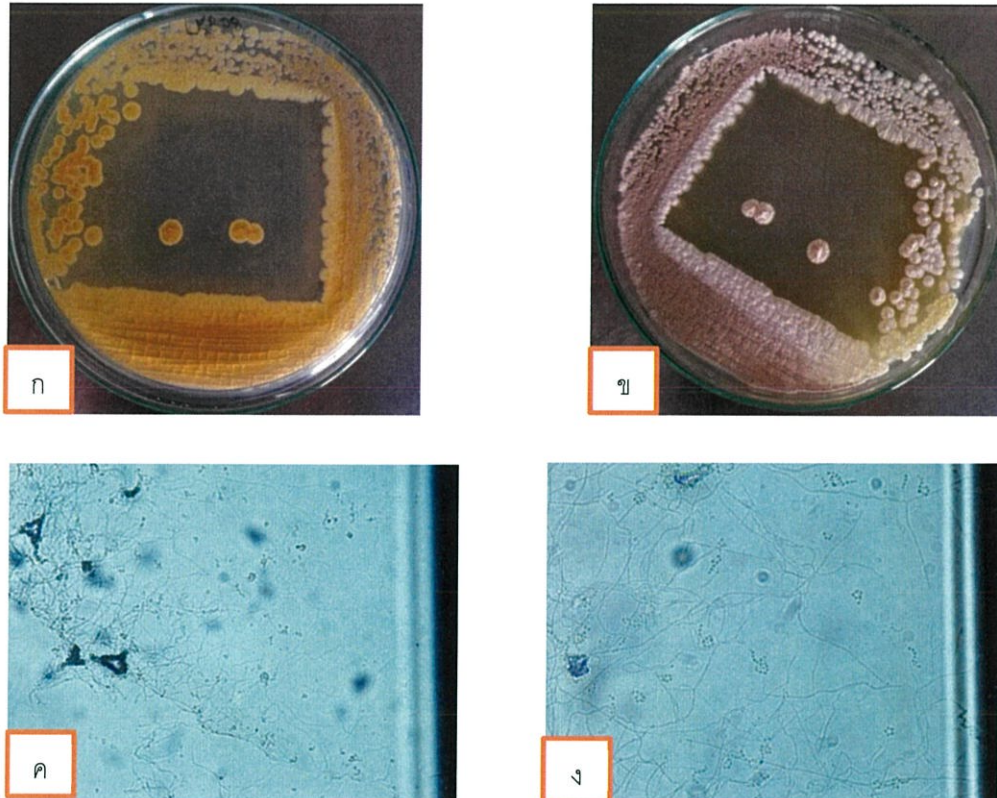


รูปที่ 4.26 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทในกลุ่มที่ 6

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทกลุ่มที่ 6 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลทกลุ่มที่ 6 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

ไอโซเลท LKB08 สร้างเส้นใยอากาศสี Light bluish gray และสร้างเส้นใยอาหารสี Light greenish yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายแป้งได้ และสามารถย่อยสลายไนเตรทได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ และไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำมันได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมัก

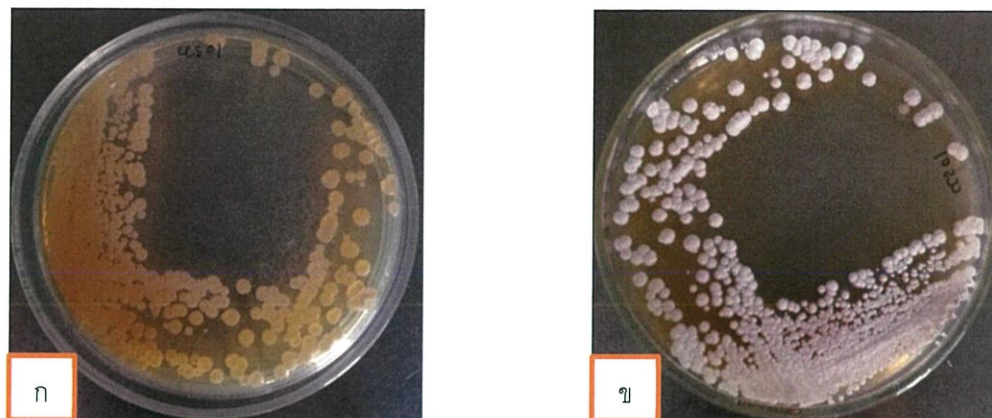
น้ำตาลกลูโคส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB08 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB08 (ดังรูปที่ 4.27)



รูปที่ 4.27 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB08

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB08 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB08 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB08 ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 400 เท่า)
- ( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB08 ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

กลุ่ม 7 กลุ่มของแอกติโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสีขาว (ดังรูปที่ 4.28) มีสมาชิกทั้งหมด 14 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01, CCS03, CCS04, CCS05, CCS06, CCS09, CCS10, CCS11, CCS12, CCS13, CCS15, CCS18, CLK01 และLKB11



รูปที่ 4.28 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทในกลุ่มที่ 7

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทกลุ่มที่ 18 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทกลุ่มที่ 18 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

ไอโซเลท CCS01 สร้างเส้นใยอากาศสี White และสร้างเส้นใยอาหารสี Moderate greenish ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายแป้งได้ สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ และสามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลส ไม่มีการสร้างแก๊ส และมีการหมักน้ำตาลแมนนิทอลเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS01 สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS01 (ดังรูปที่ 4.29)





ค

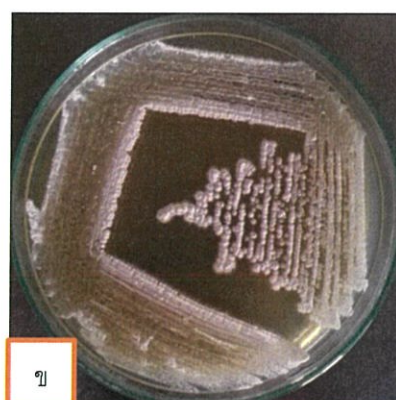
#### รูปที่ 4.29 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS01

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS01 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS01 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS01 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

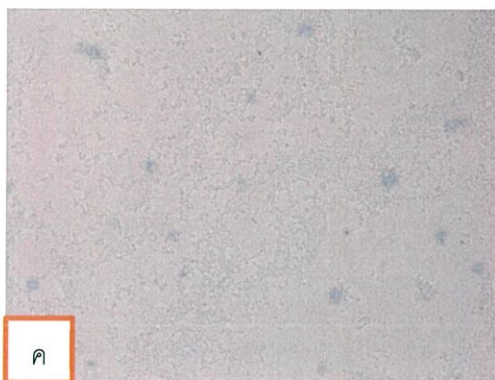
ไอโซเลท CCS03 สร้างเส้นใยอากาศสี White และสร้างเส้นใยอาหารสี Pale greenish yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ และสามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ และไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลซูโครสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส และมีการหมักน้ำตาลแมนนิทอลเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS03 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS03 (ดังรูปที่ 4.30)



ก



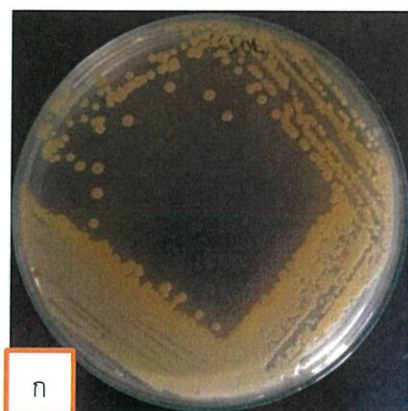
ข

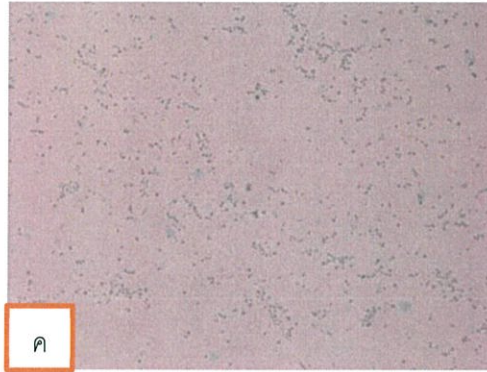


รูปที่ 4.30 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS03

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS03 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS03 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS03 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท CCS04 สร้างเส้นใยอากาศสี White และสร้างเส้นใยอาหาร Pale greenish yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายแป้งได้ สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ และสามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า ไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส และมีการหมักน้ำตาลแมนนิทอลเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS04 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS04 (ดังรูปที่ 4.31)

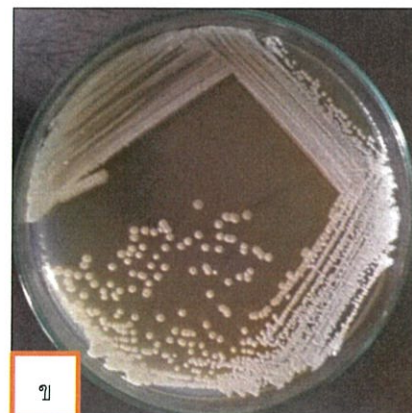
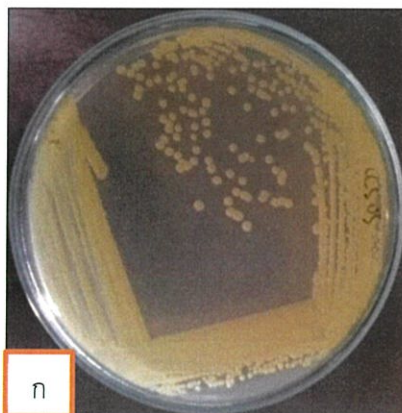




รูปที่ 4.31 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS04

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS04 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS04 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS04 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท CCS05 สร้างเส้นใยอากาศสี White และสร้างเส้นใยอาหาร Pale greenish yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายแป้งได้ สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ และสามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลไซโลส ไม่มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS05 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS05 (ดังรูปที่ 4.32)

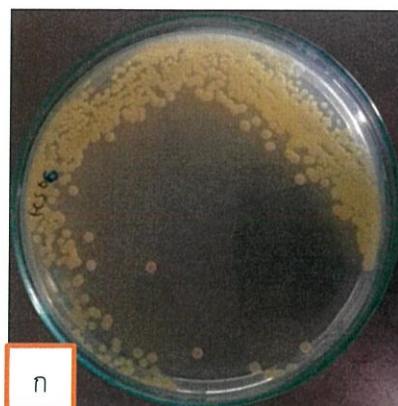




รูปที่ 4.32 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS05

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS05 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS05 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS05 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท CCS06 สร้างเส้นใยอากาศสี White และสร้างเส้นใยอาหารสี Light greenish yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายแป้งได้ สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ และสามารถย่อยสลายเจลาตินได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS06 สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS06 (ดังรูปที่ 4.33)

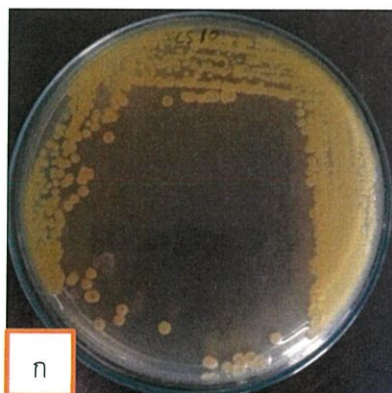




รูปที่ 4.33 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท CCS06

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท CCS06 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท CCS06 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท CCS06 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท CCS09 สร้างเส้นใยอากาศสี White และสร้างเส้นใยอาหาร Light greenish yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายแป้งได้ สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ และสามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำมันได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคส เล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลไซโลส ไม่มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS09 สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS09 (ดังรูปที่ 4.34)

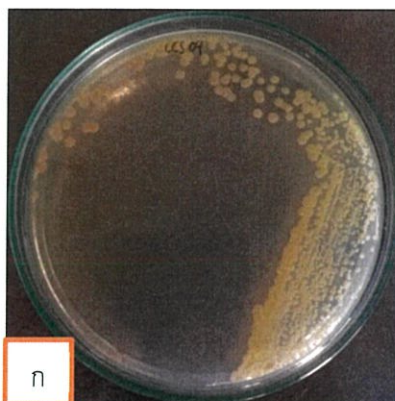


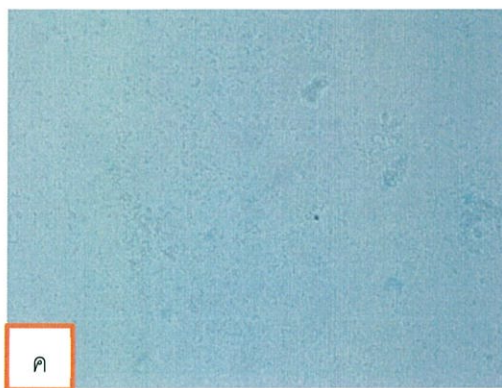


รูปที่ 4.34 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS09

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS09 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS09 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS09 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท CCS10 สร้างเส้นใยอากาศสี White และสร้างเส้นใยอาหารสี Light greenish yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายแป้งได้ สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ และสามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำมันได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า ไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตสน้อยเล็กน้อย มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS10 สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS10 (ดังรูปที่ 4.35)

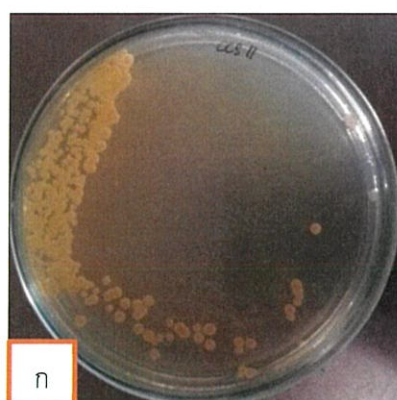




รูปที่ 4.35 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS10

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS10 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS10 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS10 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท CCS11 สร้างเส้นใยอากาศสี White และสร้างเส้นใยอาหาร Pinkish gray ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ และสามารถย่อยสลายแป้งได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำมันได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลไซโลส ไม่มีการสร้างแก๊ส และมีการหมักน้ำตาลแมนนิทอลเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS11 สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS11 (ดังรูปที่ 4.36)

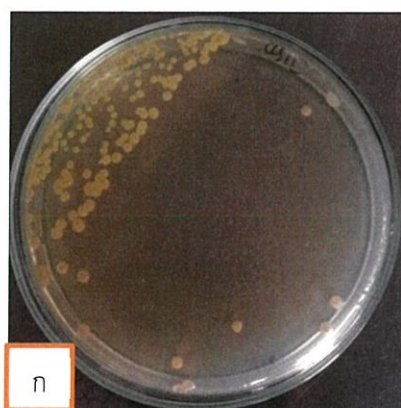


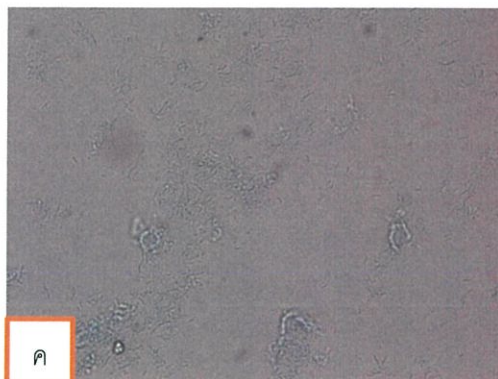


รูปที่ 4.36 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS11

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS11 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS11 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS11 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท CCS12 สร้างเส้นใยอากาศสี White และสร้างเส้นใยอาหารสี Pale greenish yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ และสามารถย่อยสลายแป้งได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำมันได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตสเล็กน้อย มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS12 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS12 (ดังรูปที่ 4.37)

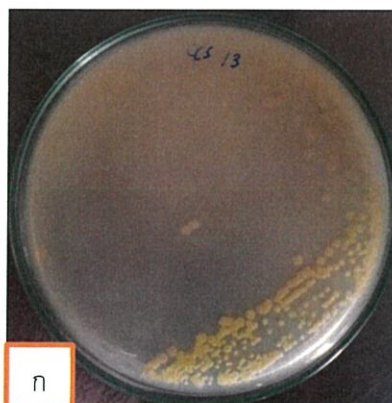


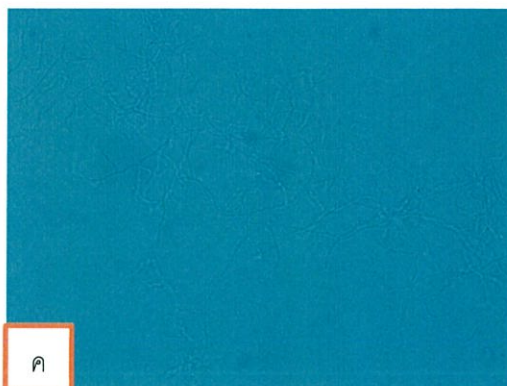


รูปที่ 4.37 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS12

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS12 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS12 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS12 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท CCS13 สร้างเส้นใยอากาศสี White และสร้างเส้นใยอาหารสี Light yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ และสามารถย่อยสลายแป้งได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ และไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า ไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลซูโครสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS13 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS13 (ดังรูปที่ 4.38)

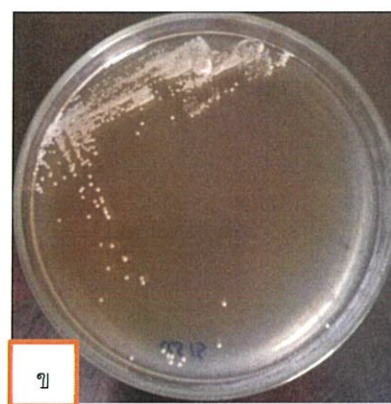
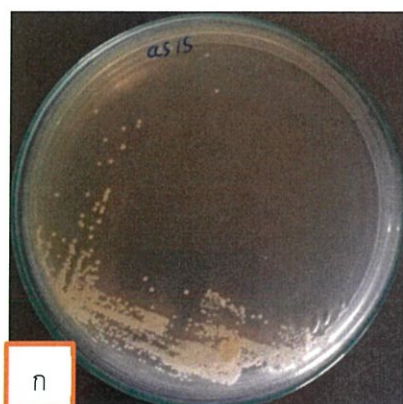


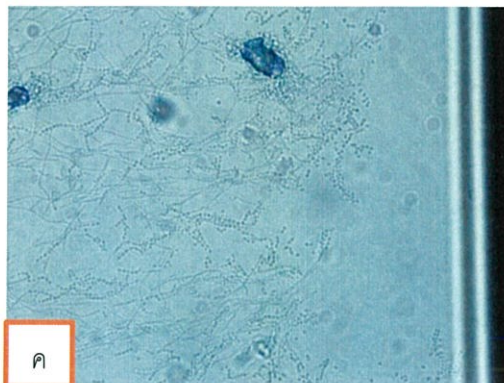


รูปที่ 4.38 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS13

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS13 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS13 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS13 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท CCS15 สร้างเส้นใยอากาศสี White และสร้างเส้นใยอาหารสี Light yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ และสามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำมันได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS15 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS15 (ดังรูปที่ 4.39)

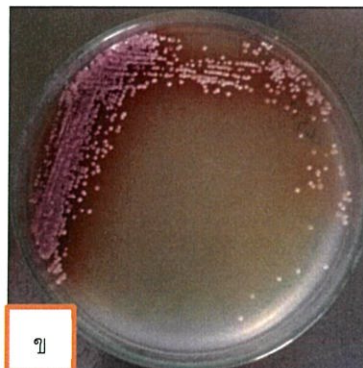
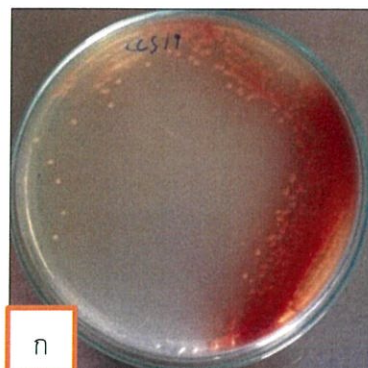


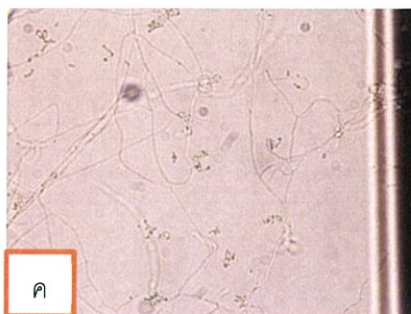


รูปที่ 4.39 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS15

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS15 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS15 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS15 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท CCS18 สร้างเส้นใยอากาศสี White และสร้างเส้นใยอาหารสี Vivid reddish orange สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ ไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ และไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และมีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS18 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS18 (ดังรูปที่ 4.40)

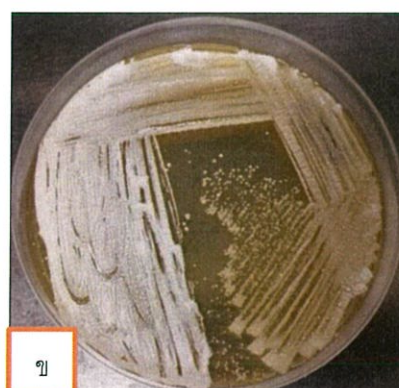


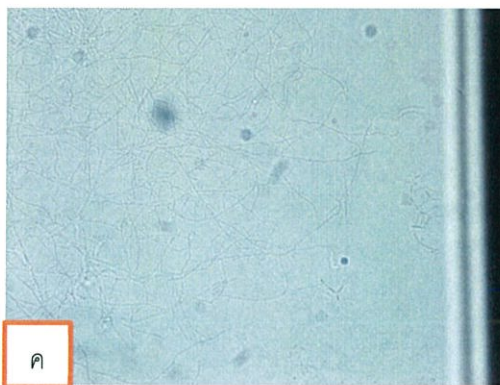


รูปที่ 4.40 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท CCS18

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท CCS18 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท CCS18 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท CCS18 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท CLK01 สร้างเส้นใยอากาศสี White และสร้างเส้นใยอาหาร Vivid greenish yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ สามารถย่อยสลายแป้งได้ และสามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำมันได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลซูโครส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CLK01 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CLK01 (ดังรูปที่ 4.41)

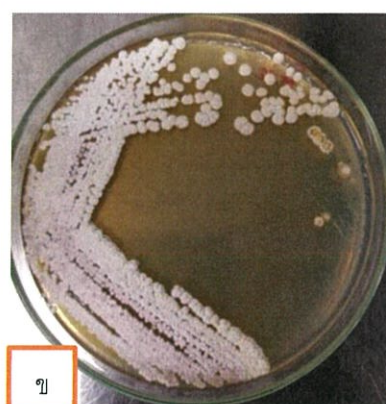
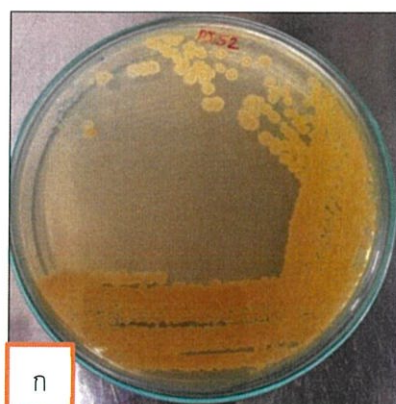


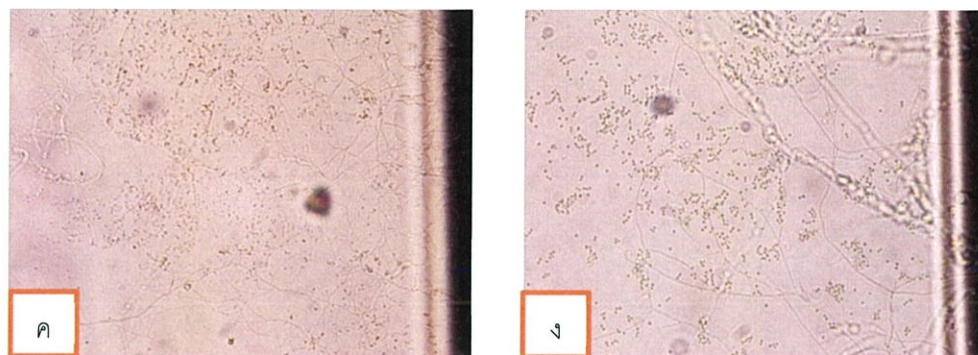


รูปที่ 4.41 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท CLK01

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท CLK01 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท CLK01 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท CLK01 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB11 สร้างเส้นใยอากาศสี White และสร้างเส้นใยอาหารสี Moderate yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ และสามารถย่อยสลายแป้งได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ และไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า ไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลซูโครส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลส มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB11 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB11 (ดังรูปที่ 4.42)

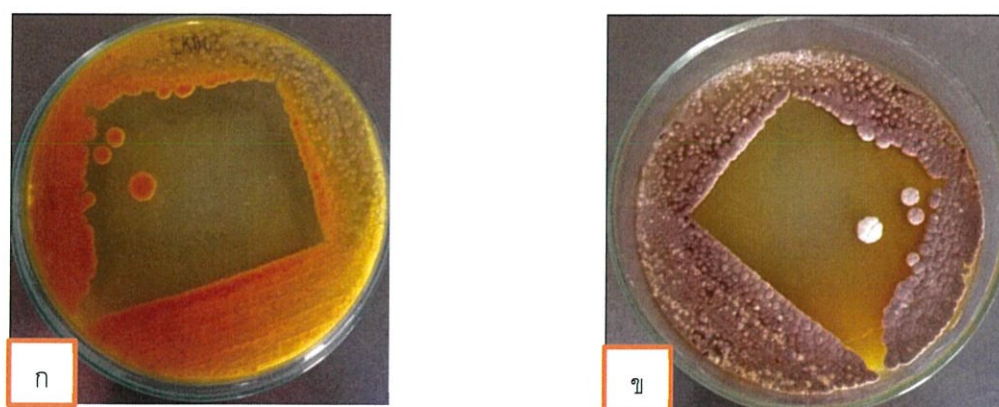




รูปที่ 4.42 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB11

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB11 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB11 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB11 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 400 เท่า)
- ( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB11 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

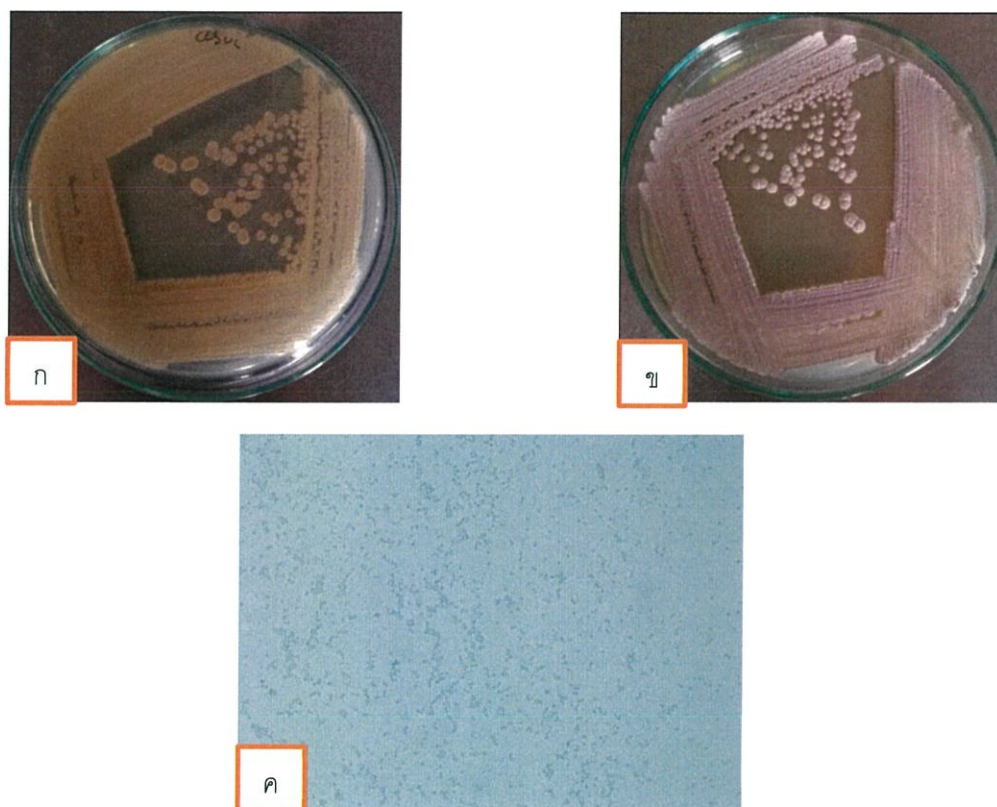
กลุ่ม 8 กลุ่มของแอกติโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสีเทา (ดังรูปที่ 4.54) มีสมาชิกทั้งหมด 9 ไอโซเลท ได้แก่ CCS02, CCS07, LKB02, LKB03, LKB04, LKB06, LKB07, LKB09 และ LKB17



รูปที่ 4.43 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทในกลุ่มที่ 8

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทกลุ่มที่ 8 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลทกลุ่มที่ 8 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

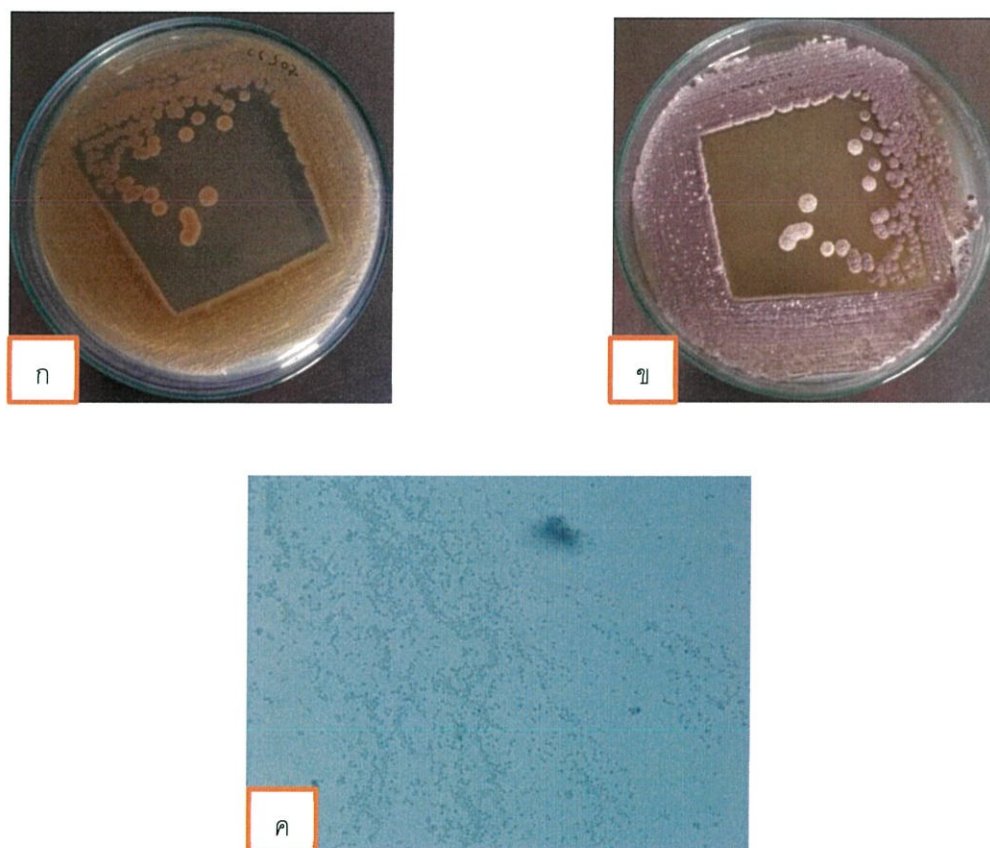
ไอโซเลท CCS02 สร้างเส้นใยอากาศสี Light gray และสร้างเส้นใยอาหารสี Grayish yellow green ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ และสามารถย่อยสลายแป้งได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า ไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลซูโครสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS02 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS02 (ดังรูปที่ 4.44)



รูปที่ 4.44 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS02

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS02 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS02 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS02 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

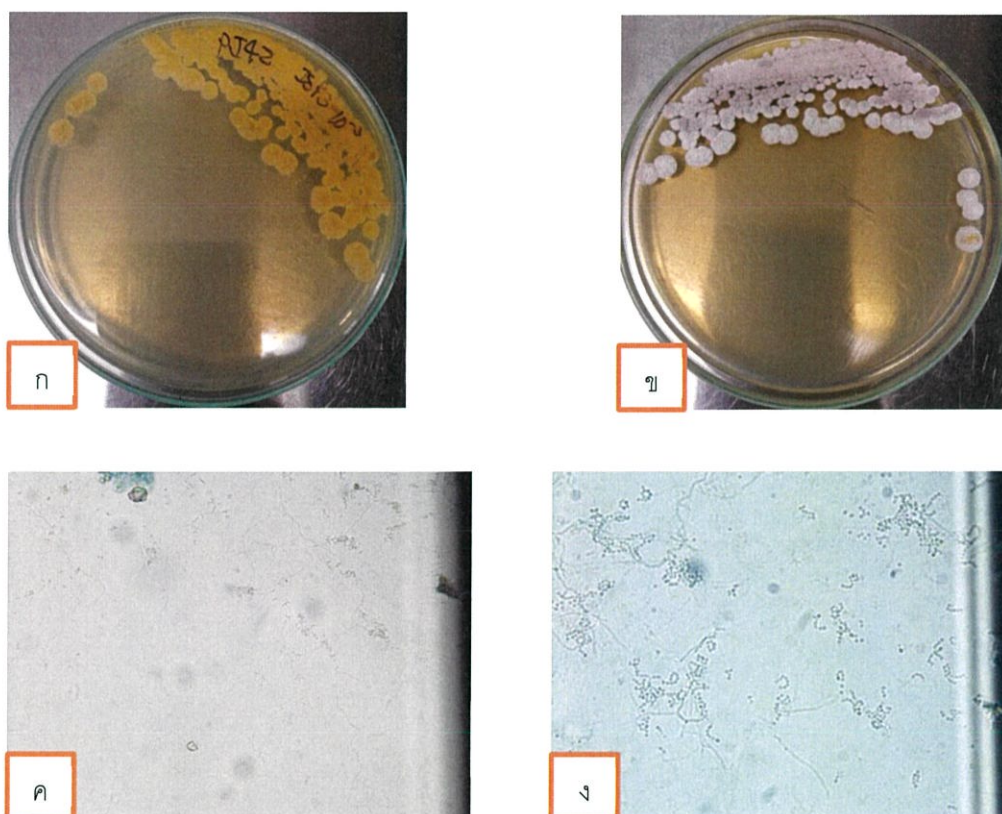
ไอโซเลท CCS07 สร้างเส้นใยอากาศสี Light gray และสร้างเส้นใยอาหารสี Light olive gray ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ และสามารถย่อยสลายแป้งได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ และไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลส ไม่มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท CCS07 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท CCS07 (ดังรูปที่ 4.45)



รูปที่ 4.45 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS07

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS07 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS07 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท CCS07 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB02 สร้างเส้นใยอากาศสี Light gray และสร้างเส้นใยอาหารสี Grayish reddish orange ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายแป้งได้ และสามารถย่อยสลายไนเตรทได้เล็กน้อย แต่ไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ และไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า ไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลซูโครสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย มีการสร้างแก๊ส และ ไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB02 สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB02 (ดังรูปที่ 4.46)

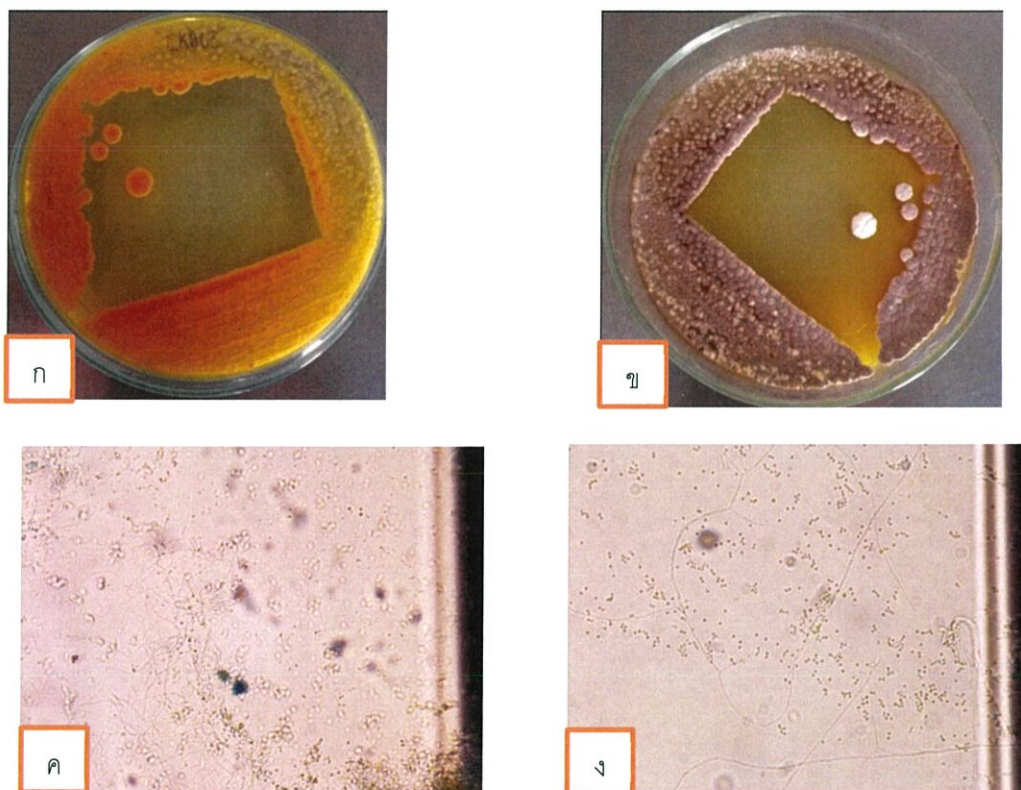


รูปที่ 4.46 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB02

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB02 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB02 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB02 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 400 เท่า)

( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB03 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB03 สร้างเส้นใยอากาศสี Light gray และสร้างเส้นใยอาหาร Strong orange สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ และไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย มีการสร้างแก๊ส และ ไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB03 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB03 (ดังรูปที่ 4.47)

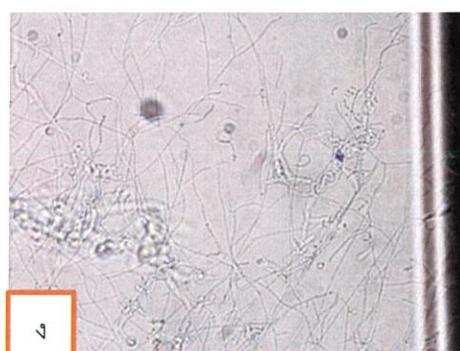
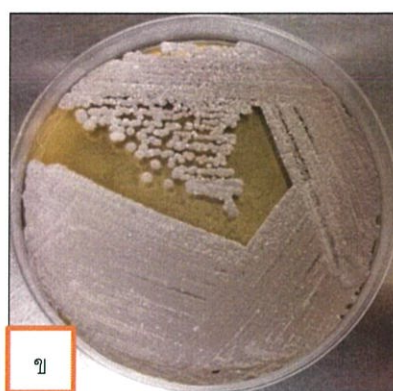


รูปที่ 4.47 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB03

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB03 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB03 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB03 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 400 เท่า)

( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB03 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB04 สร้างเส้นใยอากาศสี Light gray และสร้างเส้นใยอาหารสี Light grayish olive ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 ไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ ไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ และไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB04 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB04 (ดังรูปที่ 4.48)



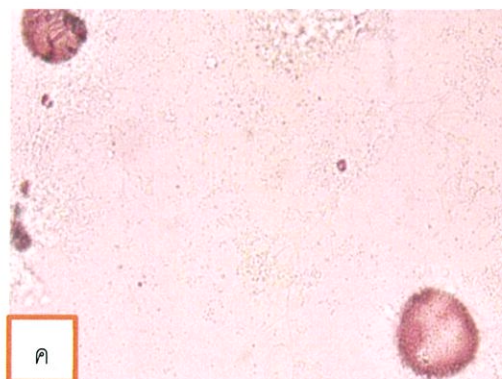
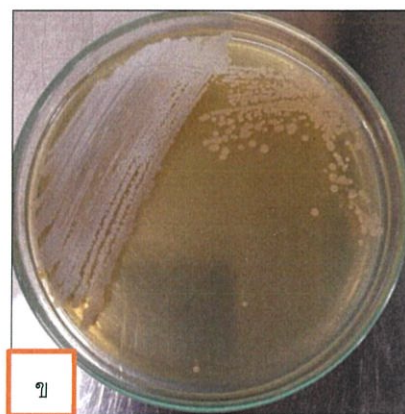
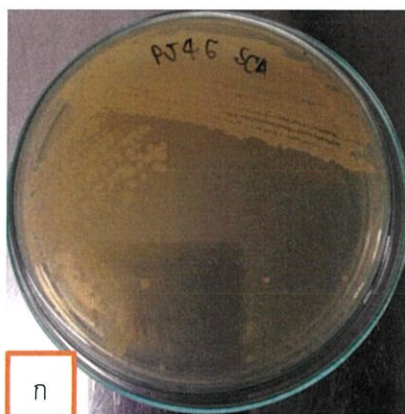
รูปที่ 4.48 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB04

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB04 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB04 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB04 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 400 เท่า)

( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB04 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB06 สร้างเส้นใยอากาศสี Light gray และสร้างเส้นใยอาหารสี Grayish greenish yellow ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 ไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ ไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ และไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย มีการสร้างแก๊ส และมีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB06 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB06 (ดังรูปที่ 4.49)



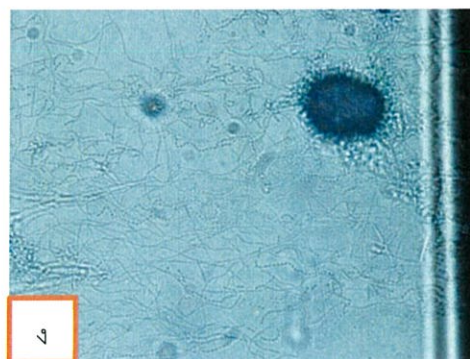
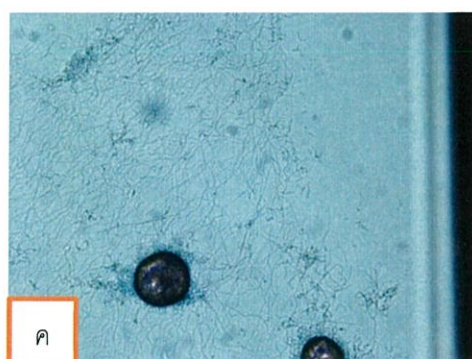
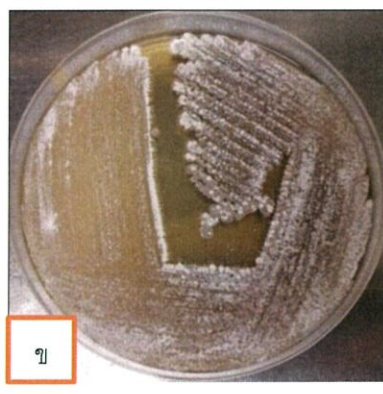
รูปที่ 4.49 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB06

( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB04 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB06 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB06 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB07 สร้างเส้นใยอากาศสี Light gray และสร้างเส้นใยอาหารสี Purplish gray ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ และสามารถย่อยสลายแป้งได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ และไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า มีการหมักน้ำตาลกลูโคสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB07 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB07 (ดังรูปที่ 4.50)

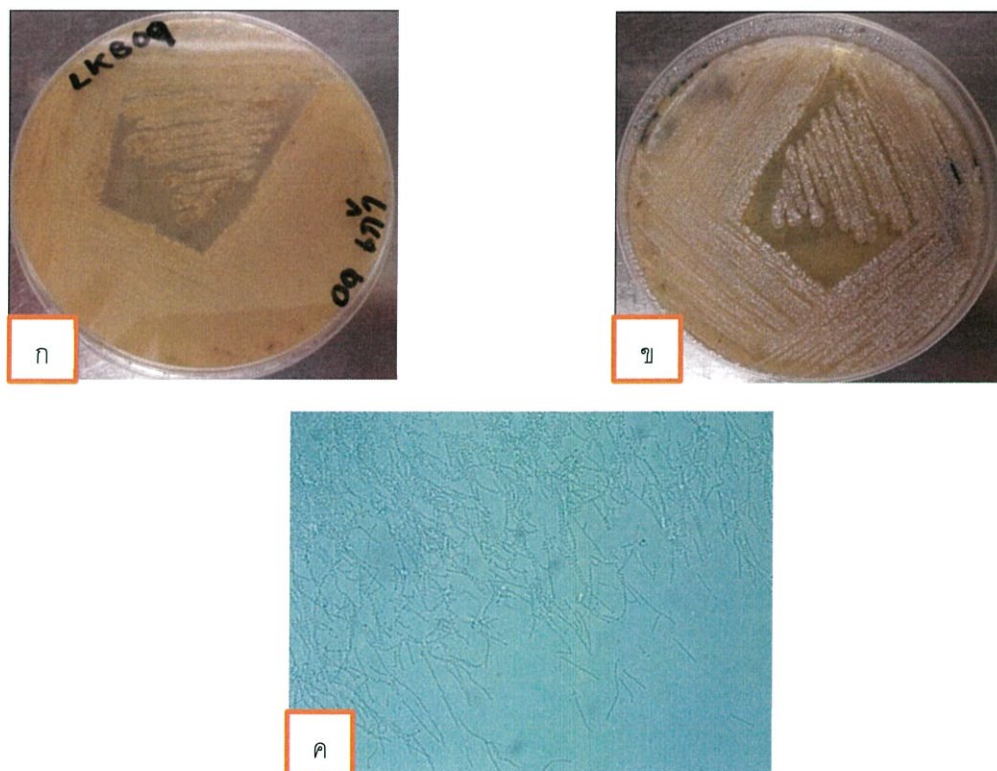


รูปที่ 4.50 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB07

( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB07 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB07 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB07 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 400 เท่า)
- ( ง ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB07 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB09 สร้างเส้นใยอากาศสี Medium gray และสร้างเส้นใยอาหารสี Yellowish gray ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ และไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า ไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคสเล็กน้อย ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย มีการสร้างแก๊ส และไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้นพบว่าไอโซเลท LKB09 ไม่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB09 (ดังรูปที่ 4.51)



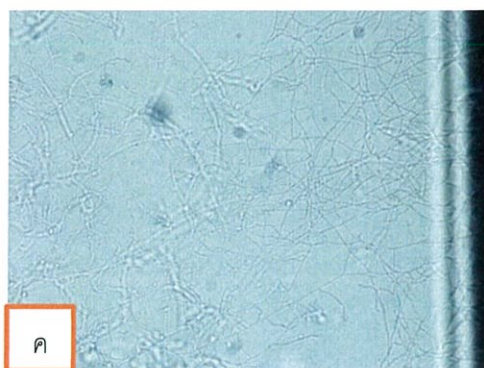
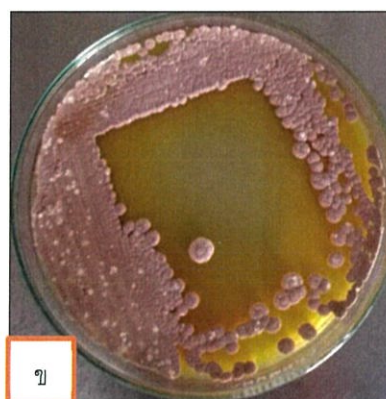
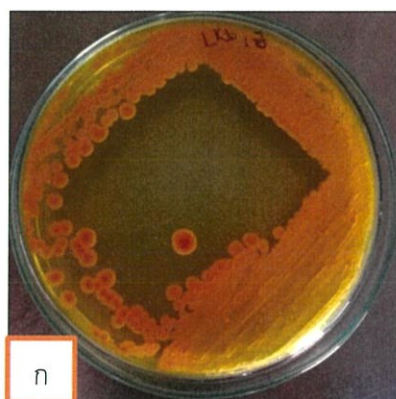
รูปที่ 4.51 แสดงลักษณะของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB09

- ( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB09 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB09 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB09 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

ไอโซเลท LKB17 สร้างเส้นใยอากาศสี Light gray และสร้างเส้นใยอาหารสี Strong orange yellow สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้บนอาหาร ISP medium no.2 ไม่สามารถย่อยสลายเจลาตินได้ ไม่สามารถย่อยสลายไนเตรทได้ ไม่สามารถย่อยสลายแป้งได้ และไม่สามารถย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมได้ (ตารางที่ 4.4.1) จากการทดสอบการหมักน้ำตาล 5 ชนิด พบว่า ไม่มีการหมักน้ำตาลกลูโคส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลแลคโตส ไม่มีการสร้างแก๊ส ไม่มีการหมักน้ำตาลซูโครส ไม่มีการสร้างแก๊ส มีการหมักน้ำตาลไซโลสเล็กน้อย มีการสร้างแก๊ส และ ไม่มีการหมักน้ำตาลแมนนิทอล ไม่มีการสร้างแก๊ส (ตารางที่ 4.4.2) จากการทดสอบการผลิตสารทุติยภูมิเบื้องต้น พบว่าไอโซเลท LKB17 สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อทดสอบได้ ลักษณะโคโลนีของไอโซเลท LKB17 (ดังรูปที่ 4.52)

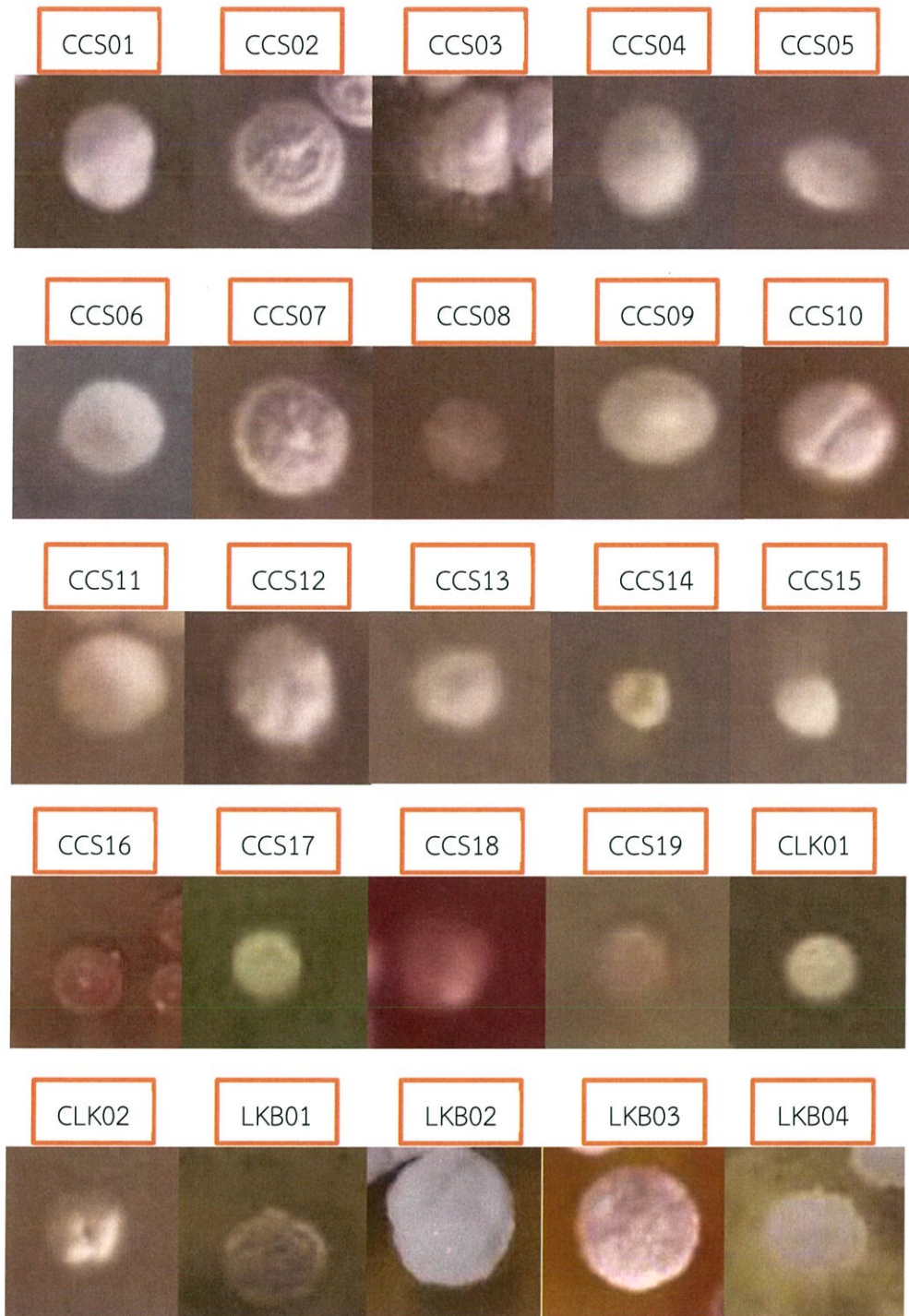


รูปที่ 4.52 แสดงลักษณะของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB17

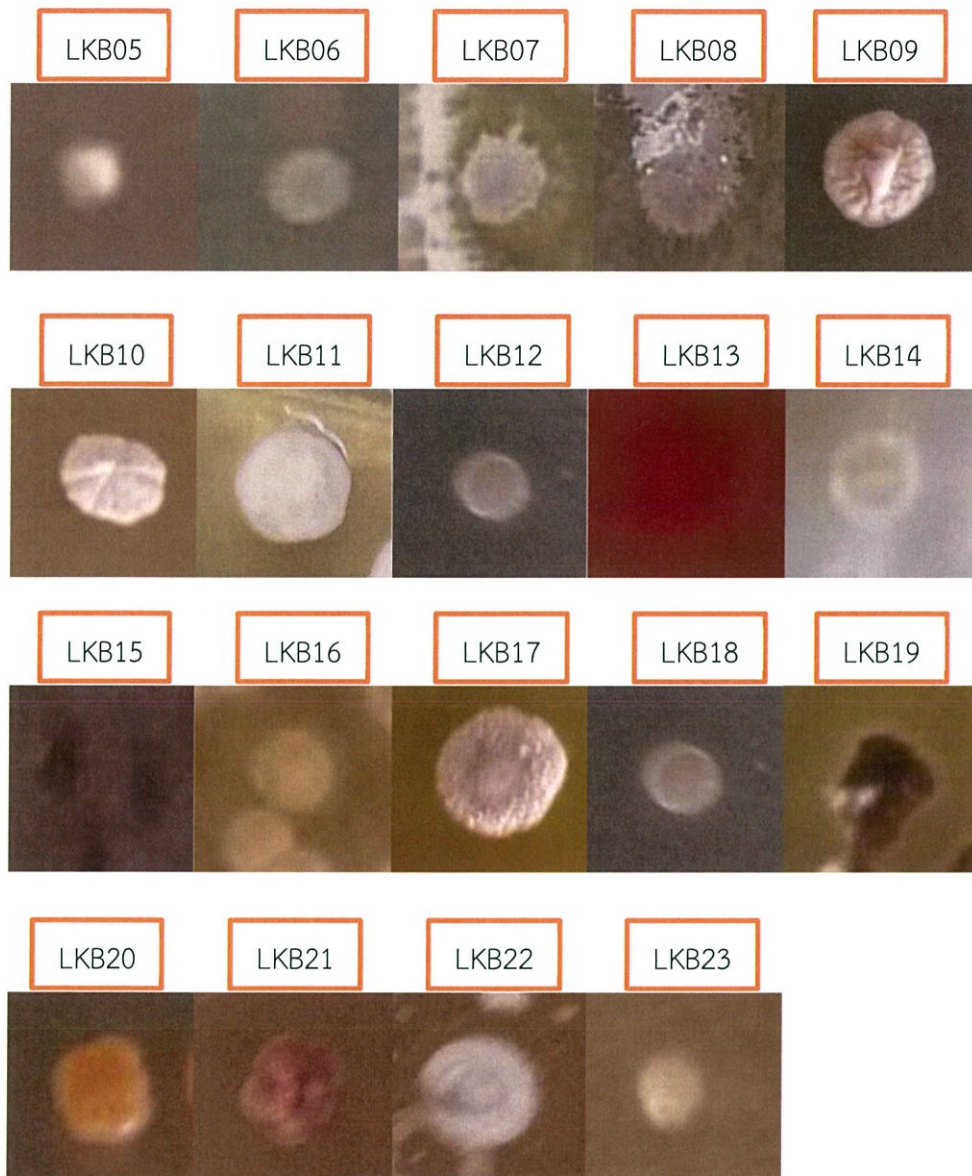
( ก ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านล่างของเชื้อแอคติโนมัยซีทไอโซเลท LKB17 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน

- ( ข ) แสดงลักษณะโคโลนีด้านบนของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB17 บนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน
- ( ค ) แสดงลักษณะเส้นใย และสปอร์ของเชื้อแอกติโนมัยซีทไอโซเลท LKB17 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (กำลังขยายภาพ 1000 เท่า)

แสดงลักษณะโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแอคติโนมัยซีททุกไอโซเลทบนอาหาร ISP medium no.2 (ISP2) ระยะเวลา 7-14 วัน



รูปที่ 4.53 ลักษณะโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแอคติโนมัยซีททุกไอโซเลท



รูปที่ 4.53 ลักษณะโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแอคติโนมัยซีททุกไอโซเลท (ต่อ)

#### 4.4 ผลการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อทดสอบ

##### 4.4.1 การคัดเลือกเชื้อที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น (Dual test) (ภาคผนวก ง)

เชื้อแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกได้ทั้งหมด 46 ไอโซเลท ถูกนำมาทดสอบความสามารถในการผลิตสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อทดสอบ 7 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรียแกรมลบ คือ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Escherichia coli* ATCC 25922 แบคทีเรียแกรมบวก คือ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 1466 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ยีสต์ คือ *Candida albicans* ATCC 9779 โดยวิธีการทดสอบขั้นต้น (ดังวิธีการทดลองที่ 3.10) พบว่า มีเชื้อแอคติโนมัยซีททั้งหมด 11 ไอโซเลทที่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.5 โดยมีเชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ ดังนี้

1. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 มีทั้งหมด 7 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท CCS01 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 7.54 และ 8.54 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CCS06 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 13.52 และ 12.44 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CCS09 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 11.00 และ 9.38 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CCS10 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 22.94 และ 20.98 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CCS11 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 8.66 และ 18.94 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CLK04 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 13.52 และ 12.44 มิลลิเมตร ตามลำดับ และไอโซเลท LKB18 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 9.22 และ 12.23 มิลลิเมตร ตามลำดับ

2. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Micrococcus luteus* ATCC 9341 มีทั้งหมด 2 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท CCS01 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 10.96 และ 10.60 มิลลิเมตร ตามลำดับ และไอโซเลท CCS10 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 11.84 และ 15.06 มิลลิเมตร ตามลำดับ

3. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ATCC 1466 มีทั้งหมด 11 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท CCS01 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 18.96 และ 19.54 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CCS06 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 14.92 และ 13.60 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CCS09 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 11.54 และ 12.62 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CCS10 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 6.24 และ 7.84 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CCS11 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 7.20 และ 12.70 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CLK04 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 14.28 และ 7.22 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท LKB01 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 9.72 และ 15.60 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท LKB02 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 11.14 และ 15.06

มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท LKB10 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 11.76 และ 10.98 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท LKB12 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 12.34 และ 14.50 มิลลิเมตร ตามลำดับ และไอโซเลท LKB18 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 9.22 และ 12.23 มิลลิเมตร ตามลำดับ

4. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 มีทั้งหมด 11 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท CCS01 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 11.10 และ 11.28 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CCS06 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 10.36 และ 9.38 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CCS09 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 9.86 และ 9.30 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CCS10 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 8.20 และ 7.12 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CCS11 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 9.04 และ 8.90 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CLK04 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 5.62 และ 5.62 มิลลิเมตร ตามลำดับ ไอโซเลท LKB01 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 3.70 และ 5.70 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท LKB02 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 4.08 และ 5.06 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท LKB10 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 8.82 และ 6.24 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท LKB12 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 6.86 และ 6.04 มิลลิเมตร ตามลำดับ และไอโซเลท LKB18 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 2.38 และ 6.88 มิลลิเมตร ตามลำดับ

5. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *Candida albicans* ATCC 9779 มีทั้งหมด 11 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท CCS01 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 6.86 และ 10.28 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CCS06 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 9.58 และ 17.72 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CCS09 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 11.90 และ 11.18 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CCS10 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 6.86 และ 5.16 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CCS11 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 7.02 และ 9.42 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท CLK04 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 0.68 และ 0.76 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท LKB01 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 1.74 และ 5.60 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท LKB02 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 6.86 และ 5.26 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท LKB10 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 1.96 และ 1.24 มิลลิเมตร ตามลำดับ, ไอโซเลท LKB12 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 1.14 และ 6.26 มิลลิเมตร ตามลำดับ และไอโซเลท LKB18 มีบริเวณยับยั้งด้านซ้าย และด้านขวา 9.16 และ 17.02 มิลลิเมตร ตามลำดับ







#### 4.4.2 ผลทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพด้วยเทคนิค Agar disc diffusion (ภาคผนวก ง)

จากการทดสอบการสร้างสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ 7 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 1466, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 และ *Candida albicans* ATCC 9779 โดยลากเชื้อทดสอบตั้งฉากกับเชื้อแอคติโนมัยซีท (ดังวิธีการทดลองที่ 3.11) พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยซีททั้งหมด 11 ไอโซเลท ที่สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ดีที่สุดมาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว เพื่อนำมาสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ คือ เอทิลอะซิเตท และเมทานอล แล้วนำมาทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion (ดังวิธีการทดลองที่ 3.11) กับเชื้อทดสอบทั้ง 7 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซิเตท และเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ พบว่าน้ำหมักในชั้นเอทิลอะซิเตทที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ดังตารางที่ 4.6) พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีททั้ง 11 ไอโซเลทสามารถออกฤทธิ์ต้านต่อเชื้อทดสอบได้ดังนี้

1. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 มีทั้งหมด 1 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01 โดยไอโซเลท CCS01 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ที่ 7.82 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)
2. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ไม่มีไอโซเลทที่สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้
3. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ATCC 25922 ไม่มีไอโซเลทที่สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้
4. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Micrococcus luteus* ATCC 9341 มีทั้งหมด 3 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01 CCS06 และ LKB18 โดยไอโซเลท LKB18 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 23.72 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)
5. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ATCC 1466 มีทั้งหมด 3 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01, CCS06 และ LKB18 โดยไอโซเลท LKB18 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 22.64 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)
6. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 มีทั้งหมด 4 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01, CCS06, LKB10 และ LKB18 โดยไอโซเลท LKB18 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 15.38 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

7. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans* ATCC 9779 มีทั้งหมด 6 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01, CCS06, CCS09, CCS10, CCS11 และCLK02 โดยไอโซเลท CCS01 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 20.72 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ พบว่าตัวเซลล์ในชั้นเมทานอลที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ดังตารางที่ 4.7) พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีททั้ง 11 ไอโซเลทสามารถออกฤทธิ์ต้านต่อเชื้อทดสอบได้ดังนี้

1. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 มีทั้งหมด 3 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01, CCS06 และLKB18 โดยไอโซเลท LKB18 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 13.22 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

2. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 มีทั้งหมด 1 ไอโซเลท ได้แก่ LKB02 โดยไอโซเลท LKB02สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 8.34 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

3. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ATCC 25922 ไม่มีไอโซเลทที่สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้

4. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Micrococcus luteus* ATCC 9341 มีทั้งหมด 2 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01 และLKB18 โดยไอโซเลท LKB18 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 24.96 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

5. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ATCC 1466 มีทั้งหมด 1 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01 โดยไอโซเลท CCS01 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 9.34 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

6. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 มีทั้งหมด 2 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01 และLKB18 โดยไอโซเลท LKB18 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 13.48 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

7. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans* ATCC 9779 มีทั้งหมด 5 ไอโซเลท ได้แก่ CCS06, CCS09, CCS10, CCS11 และCLK02 โดยไอโซเลท CCS10 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 17.62 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

ตารางที่ 4.6 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารสกัดหยาบที่ได้จากน้ำหมักโดยเอทิลอะซิเตทโดยเทคนิค Agar disc diffusion

หมายเลข ไอโซเลท	บริเวณยับยั้งเชื้อทดสอบ (มิลลิเมตร)						
	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>M. luteus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>C. albicans</i>
CCS01	7.82	-	11.12	-	9.34	12.56	20.72
CCS06	-	-	9.36	-	-	-	-
CCS09	-	-	-	-	-	-	10.02
CCS10	-	-	-	-	-	-	12.48
CCS11	-	-	-	-	-	-	9.66
CLK02	-	-	-	-	-	-	18.58
LKB01	-	-	-	-	-	-	-
LKB02	-	-	-	8.34	-	-	-
LKB10	-	-	-	-	-	9.42	-
LKB12	-	-	-	-	-	-	-
LKB18	-	-	24.96	-	-	15.38	-

หมายเหตุ : บริเวณยับยั้งเชื้อทดสอบรวมขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นทดสอบ (6 มิลลิเมตร)

ตารางที่ 4.7 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของสารสกัดหยาบที่ได้จากเซลล์โดยของเมทานอลโดยเทคนิค Agar disc diffusion

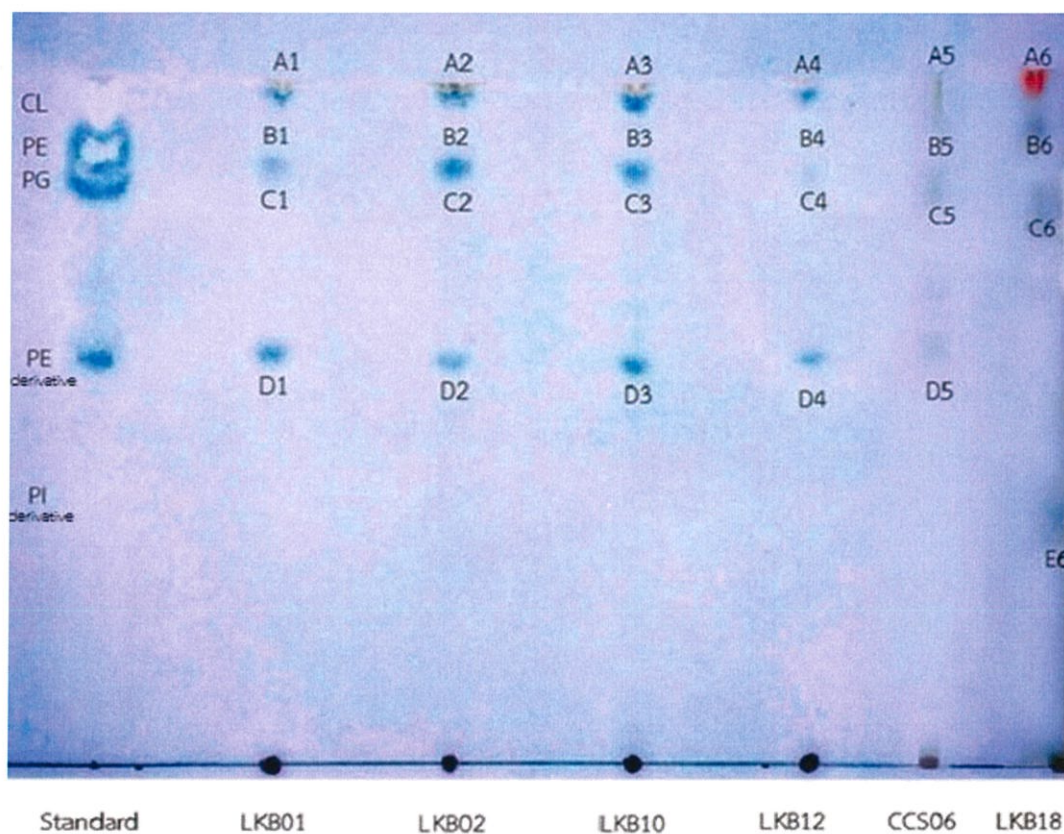
หมายเลข ไอโซเลท	บริเวณยับยั้งเชื้อทดสอบ (มิลลิเมตร)						
	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>M. luteus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>C. albicans</i>
CCS01	10.34	-	19.46	-	6.42	8.64	-
CCS06	10.60	-	-	-	9.76	-	12.70
CCS09	-	-	-	-	-	-	11.64
CCS10	-	-	-	-	-	-	17.62
CCS11	-	-	-	-	-	-	10.08
CLK02	-	-	-	-	-	-	15.32
LKB01	-	-	-	-	-	-	-
LKB02	-	-	-	-	-	-	-
LKB10	-	-	-	-	-	-	-
LKB12	-	-	-	-	-	-	-
LKB18	13.22	-	23.72	-	22.64	13.48	-

หมายเหตุ : บริเวณยับยั้งเชื้อทดสอบรวมขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของแผ่นทดสอบ (6 มิลลิเมตร)

#### 4.5 ผลการศึกษาฟอสโฟลิปิดของเชื้อแอกติโนมัยซีทโดยใช้เทคนิค Thin layer chromatography (TLC)

จากการคัดเลือกเชื้อแอกติโนมัยซีท 11 ไอโซเลทมาทำการศึกษาฟอสโฟลิปิดโดยเทคนิค Thin layer chromatography สามารถอธิบายได้ดังรูปที่ 4.56 ซึ่งเปรียบเทียบจุด unknown spot กับ standard ที่หยดไว้ซึ่งจะเกิดสปอตเรียงกัน 3 ตำแหน่งได้แก่ CL PE และ PG จุดที่เกิดขึ้นนั้นสามารถนำไปใช้เป็นจุดอ้างอิงและระบุชนิดของสารตัวอย่างที่ทำการศึกษาได้

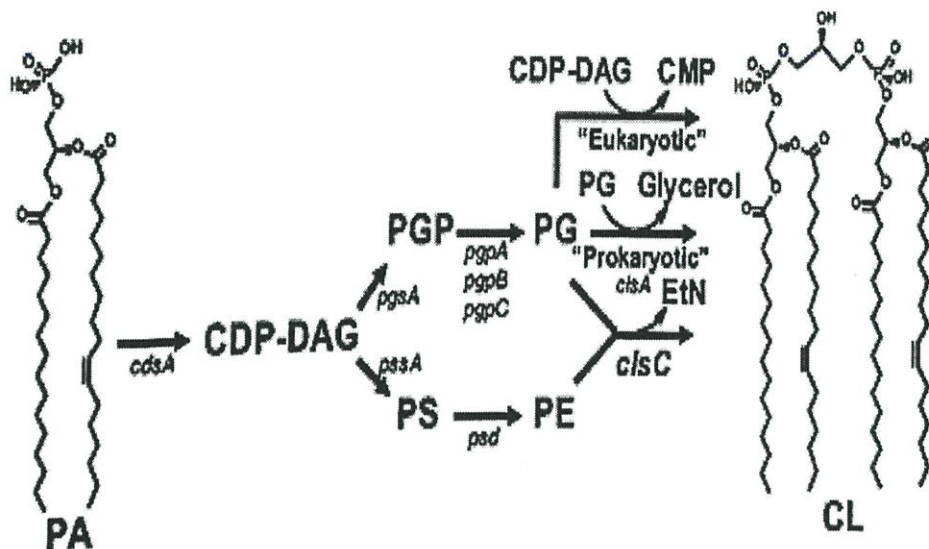
ผลจากการศึกษาฟอสโฟลิปิด ของเชื้อแอกติโนมัยซีทโดยใช้เทคนิค Thin layer chromatography (TLC) โดยศึกษาจากเชื้อที่ได้รับการคัดเลือกทั้ง 6 ไอโซเลทคือ LKB01, LKB02, LKB10, LKB12, CCS06 และ LKB18 จากนั้นฉีดพ่นด้วยสารละลาย molybdenum blue spray reagent ทิ้งไว้ 2-3 นาที จะเห็นจุดสีฟ้าเกิดขึ้นบนแผ่น TLC ที่ได้จากการสปอตของสารละลายตัวอย่างของแต่ละไอโซเลท



รูปที่ 4.54 แสดงชนิดของฟอสโฟลิปิดบนแผ่นโครมาโตกราฟีเทียบกับสาร standard

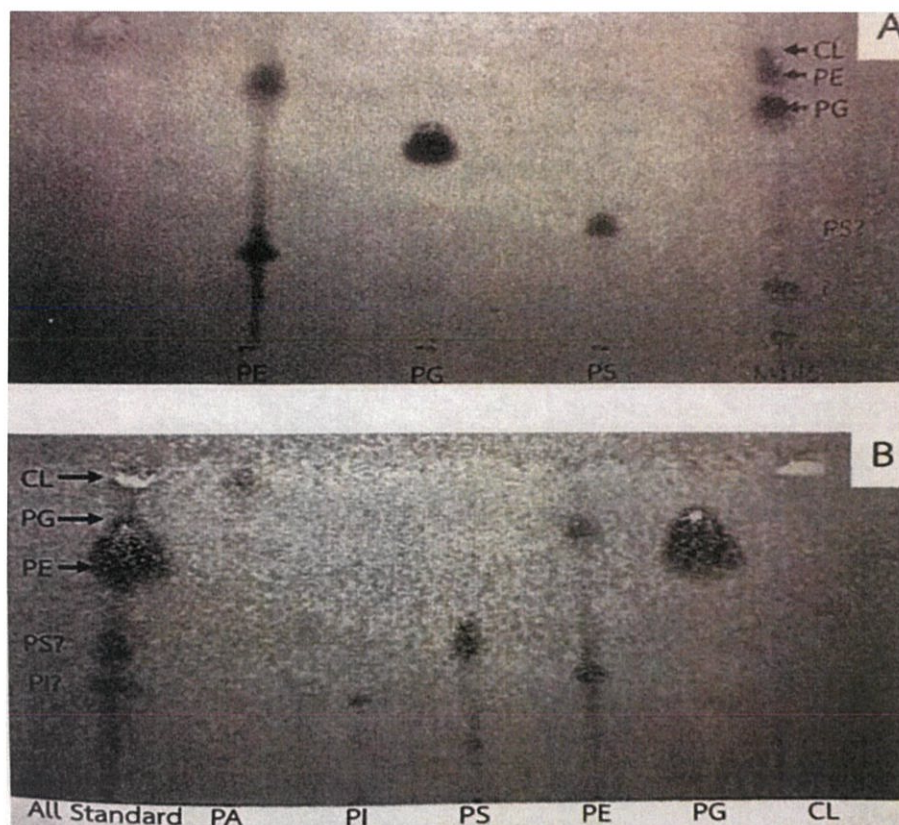
ผลจากการทำ Thin layer chromatography (TLC) เพื่อศึกษาสารสกัดหยาบที่ได้จากแอกติโนมัยซีทที่ได้ทำการคัดเลือกทั้งหมด 6 ไอโซเลทแล้วนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง และคัดเลือกระยะ log phase คือ LKB01, LKB02, LKB10, LKB12, CCS06 และ LKB18 ตามลำดับ

จากทฤษฎีการสร้างฟอสโฟลิปิดของแบคทีเรียพบว่า PG และ PE เป็นสเหมือนสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ CL ดังนั้นหากพบสปอตของ CL นั้นหมายความว่า PG และ PE ได้เปลี่ยนแปลงไปเป็น CL เรียบร้อยแล้ว (Tan *et al.*, 2012)



รูปที่ 4.55 แสดงถึงยีนที่เกี่ยวข้องและกระบวนการสังเคราะห์คาดีโอลิปีนภายในแบคทีเรีย (Tan *et al.*, 2012)

จากการทดลองข้างต้นพบว่าในขั้นตอนการปั่นเหวี่ยงเพื่อทำลายชั้นผนังเซลล์พบว่า หลังการปั่นเหวี่ยงปริมาณของเซลล์ หรือชั้นออกแกนนิคมักเกินไปทำให้ในระหว่างหยอดสารละลายสกัดหยาบของเชื้อมีชั้นออกแกนนิคมของตัวเซลล์ติดมาด้วยทำให้เกิดไปก้อนที่ขนาดใหญ่บนแผ่นโครมาโตกราฟฟีทำให้รบกวนการไหลของสารละลายในชั้น mobile phase ทำให้ไม่เกิดสปอตสีฟ้าของ molybdenum blue spray reagent จึงได้ทำการทดลองโดยอ้างอิงจากวิธีการทดลองของ Klanbut (2013) ที่ได้ทำการศึกษา การสร้าง CL, PE และ PG โดยการเพาะเลี้ยงแอกติโนมัยซีทบนอาหารแข็ง และศึกษาฟอสโฟลิปิดโดยใช้เทคนิค Thin layer chromatography (TLC) และใช้ปริมาณเซลล์ 100 มิลลิกรัม หลังจากการปั่นเหวี่ยงพบการแยกชั้นของชั้นออกแกนนิคมกับอินออกแกนนิค จากนั้นดูดชั้นอินออกแกนนิคส่วนใสขึ้นมาหยอดลงบนแผ่นโครมาโตกราฟฟี พบว่าทำให้เห็นสปอตของฟอสโฟลิปิดได้ชัดเจนขึ้น

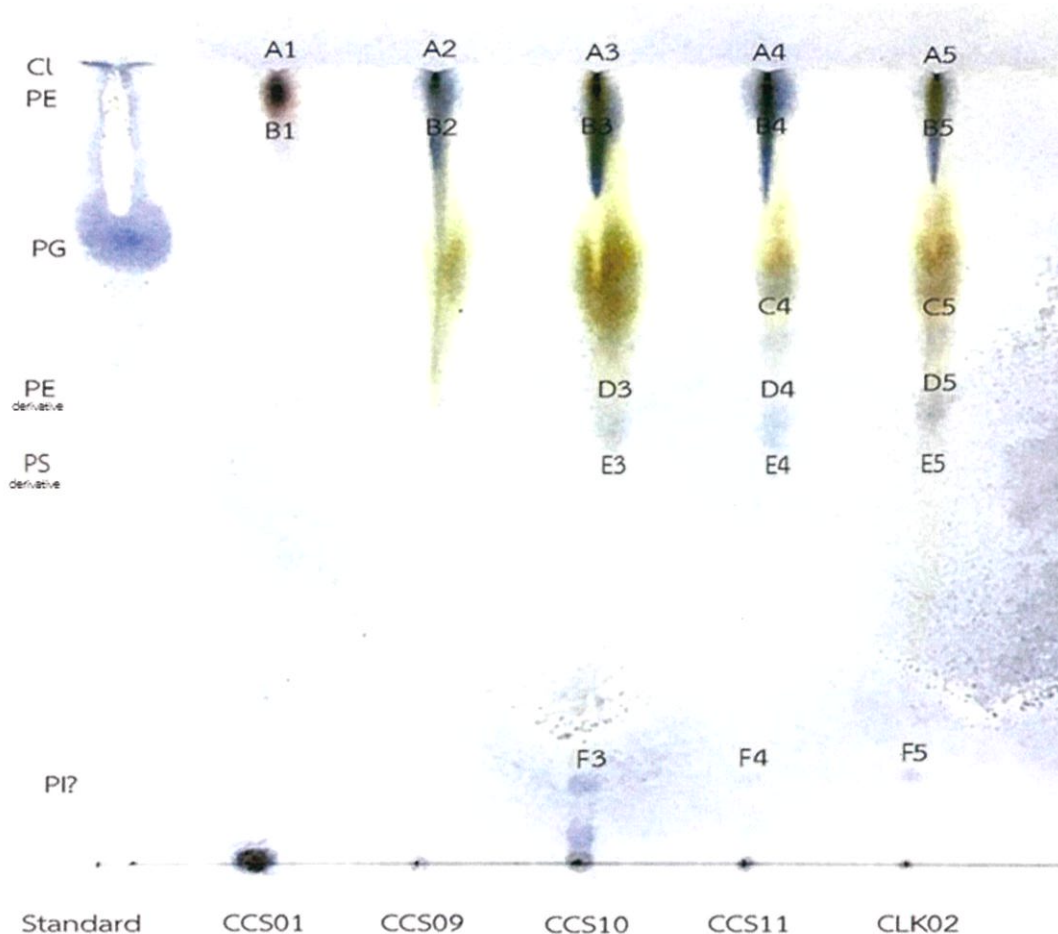


รูปที่ 4.56 แสดงระยะการพา ( $R_f$ ) ของสารละลายฟอสโฟลิปิดมาตรฐาน (PLs standard)

A : แผ่นโครมาโตกราฟฟีได้แสดงถึงตำแหน่งของฟอสโฟลิปิดที่ใช้เป็นมาตรฐาน 4 ชนิด ได้แก่ phosphatidic acid (PA), phosphatidylglycerol (PG), phosphatidylethanolamine (PE) และ cardiolipin (CL) ช่อง 1, 2, 3, 4 และช่องที่ 5 เมื่อจุดสารละลายตัวอย่างทั้ง 4 หยอดในจุดเดียวกัน และปล่อยให้สารเกิดการ developed ในสารละลาย chloroform : methanol : acetic acid : distilled water ในอัตราส่วน 80:12:15:4 ตามลำดับ

B : แผ่นโครมาโตกราฟฟีที่แสดงตำแหน่งของฟอสโฟลิปิดมาตรฐาน 6 ชนิด ได้แก่ phosphatidic acid (PA), phosphatidylglycerol (PG), phosphatidylethanolamine (PE) และ cardiolipin (CL) โดยช่องที่ 1 เป็นการสเปคตรัลละลาย phospholipid standard แบบแยกจุดสเปคต จากนั้นปล่อยให้สาร developed ในสารละลาย chloroform : methanol : acetic acid : distilled water ในอัตราส่วน 80:12:15:4 (Klanbut, 2013)

ผลจากการศึกษาฟอสโฟลิปิดของเชื้อแอกติโนมัยซีทที่ได้รับการคัดเลือก 5 ไอโซเลทคือ CCS01, CCS09, CCS10 และ CLK04 โดยใช้เทคนิค Thin layer chromatography (TLC) และฉีดยึดพ่นด้วยสารละลาย molybdenum blue spray reagent ทิ้งไว้ 2-3 นาทีที่จะเห็นจุดสีฟ้าเกิดขึ้นบนแผ่น TLC ที่ได้จากการสปอตของสารละลายตัวอย่างของแต่ละไอโซเลท



รูปที่ 4.57 แสดงชนิดของฟอสโฟลิปิดบนแผ่นโครมาโตกราฟีเปรียบเทียบกับสาร Standard

ผลจากการทำ Thin layer chromatography (TLC) เพื่อศึกษาฟอสโฟลิปิดจากสารสกัดหยาบที่ได้จากเชื้อแอกติโนมัยซีทในระยะ log phase ที่ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร Yeast extract - malt extract agar (YEME agar) นำเชื้อที่ได้รับการคัดเลือกมา 5 ไอโซเลทคือ CCS01, CCS09, CCS10, CCS11 และ CLK02 ตามลำดับ

จากการทดลองข้างต้น สังเกตได้ว่าเกิดแถบสีเหลืองขึ้นมาระหว่างการไหลทำให้บดบังสปอตสีน้ำเงินบนแผ่นโครมาโตกราฟี แถบสีเหลืองดังกล่าวเกิดจากฟอสโฟลิปิดมีอายุการเก็บนานเกินทำ

ให้ตายและเกิดเป็นคราบสีเหลืองบดบังสเปกตรัมสีน้ำเงินที่ฉีดด้วยสเปรย์สารละลาย molybdenum blue spray reagent

ผลจากการศึกษาฟอสโฟลิปิดของเชื้อแอกติโนมัยซีทหมายเลขไอโซเลท LKB01, LKB02, LKB10 และ LKB12 ไม่เกิดสเปกตรัมสีฟ้าของ molybdenum blue spray reagent จากการทดลองครั้งที่ 1 เนื่องจากมีจำนวนของชั้นไขมันมากเกินไป จึงได้ทำการทดลองโดยอ้างอิงจากวิธีการทดลองของ Klanbut, (2013) จากนั้นฉีดพ่นด้วยสารละลาย molybdenum blue spray reagent ทิ้งไว้ 2-3 นาทีที่จะเห็นจุดสีฟ้าเกิดขึ้นบนแผ่น TLC ที่ได้จากการสเปกตรัมของสารละลายตัวอย่างของแต่ละไอโซเลท คือ PG จะถูกเปลี่ยนให้เป็น CL อีกทั้งยังสามารถสร้างอนุพันธ์ของ PE?, PS? และPI? ที่เป็นสารตั้งต้นในการผลิต PE และCL

จากนั้นทำการคำนวณระยะทางที่สารเคลื่อนที่คือค่า Rate of flow ( $R_f$ ) ซึ่งเป็นอัตราส่วนของระยะทางที่สารเคลื่อนที่จากบริเวณที่ได้ทำการสเปกตรัมตัวอย่าง เทียบกับระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (solvent front) Mobile phase ที่ใช้คือ คลอโรฟอร์ม เมทานอล กรดอะซิติก และน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 80:12:15:4 ปริมาตรต่อปริมาตร ตามลำดับ สารแต่ละชนิดจะมีค่า  $R_f$  คงที่เสมอ ค่า  $R_f$  ของสารซึ่งจะหาได้จากอัตราส่วนระยะทางที่สารเคลื่อนที่เทียบกับระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่

$$R_f = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ (ซม)}}{\text{ระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ (ซม)}}$$

ตารางที่ 4.8 แสดงผลการศึกษาฟอสโฟลิปิดของเชื้อแอคติโนมัยซีทที่ถูกคัดเลือกทั้ง 11 ไอโซเลทด้วยเทคนิค Thin layer chromatography

หมายเลขไอโซเลท	ชนิดของฟอสโฟลิปิด									
	Phosphatidyl glycerol (PG)		Phosphatidyl ethanolamine (PE)		Cardiolipin (CL)		(อนุพันธ์ของ PE)		Phosphatidylinositol (PI)	
	ตำแหน่ง	ค่า R <sub>f</sub>	ตำแหน่ง	ค่า R <sub>f</sub>	ตำแหน่ง	ค่า R <sub>f</sub>	ตำแหน่ง	ค่า R <sub>f</sub>	ตำแหน่ง	ค่า R <sub>f</sub>
Standard	PG	0.67	PE	0.80	CL	0.92	อนุพันธ์ PE	0.075	อนุพันธ์ PI	0.12
CCS01	-	-	B1	10.3	A1	1.01	-	-	-	-
CCS09	-	-	B2	10.1	A2	0.95	-	-	-	-
CCS10	-	-	B3	10.6	A3	0.92	D3	0.13	E3	0.03
CCS11	C4	0.55	B4	9.9	A4	0.91	D4	0.11	E4	0.03
CLK02	C5	0.59	B5	11.0	A5	0.93	D5	0.11	E5	0.04
Standard	PG	0.60	PE	0.83	CL	0.93	อนุพันธ์ PE	-	อนุพันธ์ PI	-
LKB01	C1	0.56	B1	0.81	A1	0.90	-	-	-	-
LKB02	C2	0.54	B2	0.80	A2	0.90	-	-	-	-
LKB10	C3	0.54	B3	0.79	A3	0.89	-	-	-	-
LKB12	C4	0.55	B4	0.78	A4	0.90	-	-	-	-
CCS06	C5	0.90	B5	0.96	A5	1.07	-	-	-	-
LKB18	C6	0.78	B6	0.95	A6	1.06	-	-	E6	0.32

## บทที่ 5

# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

### 5.1 สรุปผลการวิจัย

#### 5.1.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีท

จากการศึกษาการคัดแยกเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทจากดินรังกปลวกสามารถคัดแยกเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทได้ทั้งหมด 44 ไอโซเลทจาก 3 แหล่งที่มาคือ ตำบลคลองหลวงแพ่ง อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร และแขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร โดยบริเวณจุดเก็บตัวอย่างดินมีค่าความเป็นกรด-ด่างตั้งแต่ 6-7 มีค่าความชื้นเฉลี่ยอยู่ที่ 9.76 และเมื่อนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญของเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทบนอาหาร Starch casein agar (SCA) ที่เติม Nystatin พบว่าเชื้อใช้เวลาในการเจริญเฉลี่ยแล้วประมาณ 7-14 วัน หลังจากลงเชื้อจากนั้นนำเชื้อแอสโคดีโนมัยซีทที่ทำการคัดแยกได้ทั้งหมด 44 ไอโซเลท มาทำการตรวจสอบลักษณะการเจริญ สีของเส้นใยอากาศ และรงควัตถุที่ละลายน้ำ โดยทำการ Cross streak ลงบนจานอาหารเพาะเชื้อ International Streptomyces Project Medium 2 (ISP2) โดยเทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน (The NBs/IBCC color system) โดยสามารถแบ่งกลุ่มของแอสโคดีโนมัยซีททั้ง 44 ไอโซเลทได้เป็น 8 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มของแอสโคดีโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสีชมพู มีสมาชิกทั้งหมด 3 ไอโซเลท ได้แก่ CCS16, CCS19 และ LKB05

กลุ่มที่ 2 กลุ่มของแอสโคดีโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสีแดง มีสมาชิกทั้งหมด 4 ไอโซเลท ได้แก่ LKB13, LKB15, LKB19 และ LKB21

กลุ่มที่ 3 กลุ่มของแอสโคดีโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสีส้ม มีสมาชิกทั้งหมด 1 ไอโซเลท ได้แก่ LKB20

กลุ่มที่ 4 กลุ่มของแอสโคดีโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสีเหลือง มีสมาชิกทั้งหมด 5 ไอโซเลท ได้แก่ CCS14, LKB01, LKB12, LKB18 และ LKB23

กลุ่มที่ 5 กลุ่มของแอสโคดีโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสีเขียว มีสมาชิกทั้งหมด 7 ไอโซเลท ได้แก่ CCS08, CCS17, CLK02, LKB10, LKB14, LKB16 และ LKB22

กลุ่มที่ 6 กลุ่มของแอสโคดีโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสีน้ำเงิน มีสมาชิกทั้งหมด 1 ไอโซเลท ได้แก่ LKB08

กลุ่มที่ 7 กลุ่มของแอสโคดีโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสีขาว มีสมาชิกทั้งหมด 14 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01, CCS03, CCS04, CCS05, CCS06, CCS09, CCS010, CCS011, CCS012, CCS013, CCS015, CCS18, CLK01 และ LKB11

กลุ่ม 8 กลุ่มของแอสโคดีโนมัยซีทที่สร้างเส้นใยอากาศสีเทา (ดังรูปที่ 4.54) มีสมาชิกทั้งหมด 9 ไอโซเลท ได้แก่ CCS02, CCS07, LKB02, LKB03, LKB04, LKB06, LKB07, LKB09 และ LKB17

### 5.1.2 การคัดเลือกเชื้อที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น (Dual test)

เชื้อแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกได้ทั้งหมด 44 ไอโซเลท ถูกนำมาทดสอบความสามารถในการผลิตสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อทดสอบ 7 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรียแกรมลบ คือ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Escherichia coli* ATCC 25922 แบคทีเรียแกรมบวก คือ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 1466 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ยีสต์คือ *Candida albicans* ATCC 9779 โดยทำการชิตเชื้อแอคติโนมัยซีทบนจานอาหารเพาะเชื้อ Glucose Yeast Extract Agar (GYE) แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน และชิตเชื้อทดสอบทั้ง 7 ชนิด ให้ตั้งฉากกับเชื้อแอคติโนมัยซีท แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยสังเกตระยะห่างระหว่างแนวการเจริญของแอคติโนมัยซีทกับเชื้อทดสอบที่เกิดขึ้น พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีททั้งหมด 11 ไอโซเลทที่สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้โดยมีเชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้

จากนั้นนำเชื้อที่มีความโดดเด่นทั้ง 11 ไอโซเลทมาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว เพื่อนำมาสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยตัวทาละลายอินทรีย์ คือ เอทิลอะซิเตท และเมทานอล แล้วนำมาทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion กับเชื้อทดสอบทั้ง 7 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซิเตท และเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ พบว่าน้ำหมักในชั้นเอทิลอะซิเตทที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีททั้ง 11 ไอโซเลท สามารถออกฤทธิ์ต้านต่อเชื้อทดสอบได้ดังนี้

1. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 มีทั้งหมด 1 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01 โดยไอโซเลท CCS01 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ที่ 7.82 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

2. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ไม่มีไอโซเลทที่สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้

3. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ATCC 25922 ไม่มีไอโซเลทที่สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้

4. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Micrococcus luteus* ATCC 9341 มีทั้งหมด 3 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01 CCS06 และ LKB18 โดยไอโซเลท LKB18 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 23.72 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

5. เชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ATCC 1466 มีทั้งหมด 3 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01, CCS06 และ LKB18 โดยไอโซเลท LKB18 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 22.64 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

6. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 มีทั้งหมด 4 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01, CCS06, LKB10 และ LKB18 โดยไอโซเลท LKB18 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 15.38 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

7. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans* ATCC 9779 มีทั้งหมด 6 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01, CCS06, CCS09, CCS10, CCS11 และ CLK02 โดยไอโซเลท CCS01 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 20.72 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ พบว่าตัวเซลล์ในชั้นเมทานอลที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ดังตารางที่ 4.7) พบว่าเชื้อแอกติโนมัยซีททั้ง 11 ไอโซเลทสามารถออกฤทธิ์ต้านต่อเชื้อทดสอบได้ดังนี้

1. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 มีทั้งหมด 3 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01, CCS06 และ LKB18 โดยไอโซเลท LKB18 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 13.22 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

2. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 มีทั้งหมด 1 ไอโซเลท ได้แก่ LKB02 โดยไอโซเลท LKB02 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 8.34 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

3. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ATCC 25922 ไม่มีไอโซเลทที่สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้

4. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Micrococcus luteus* ATCC 9341 มีทั้งหมด 2 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01 และ LKB18 โดยไอโซเลท LKB18 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 24.96 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

5. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ATCC 1466 มีทั้งหมด 1 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01 โดยไอโซเลท CCS01 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 9.34 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

6. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 มีทั้งหมด 2 ไอโซเลท ได้แก่ CCS01 และ LKB18 โดยไอโซเลท LKB18 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 13.48 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

7. เชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans* ATCC 9779 มีทั้งหมด 5 ไอโซเลท ได้แก่ CCS06, CCS09, CCS10, CCS11 และ CLK02 โดยไอโซเลท CCS10 สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดที่ 17.62 มิลลิเมตร (รวมขนาดของแผ่นทดสอบ)

จากผลการทดลองพบว่า หมายเลขไอโซเลท CCS01 และ LKB18 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ทั้งหมด 4 เชื้อทดสอบคือ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 1466, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Candida albicans* ATCC 9779 จากตัวเซลล์ในชั้นเมทานอล และน้ำหมักในชั้น

เอทิลอะซิเตท โดยหมายเลขไอโซเลท LKB18 สามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 1466, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis* ได้ดีที่สุดจากตัวเซลล์ในชั้นเมทานอล และน้ำหมักในชั้นเอทิลอะซิเตท และหมายเลขไอโซเลท LKB02 เป็นไอโซเลทเดียวที่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบคือ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 จากตัวเซลล์ในชั้นเมทานอล

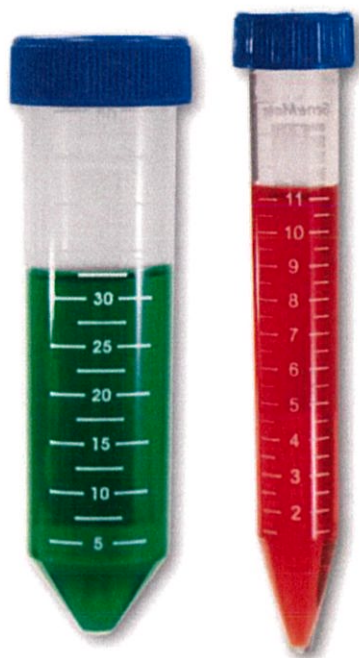
### 5.1.3 การศึกษาฟอสโฟลิปิดของเชื้อแอกติโนมัยซีท

จากการศึกษาฟอสโฟลิปิดของเชื้อแอกติโนมัยซีทเริ่มจากการคัดเลือกเชื้อแอกติโนมัยซีทที่มีความโดดเด่นในการสร้างสารปฏิชีวนะมาจำนวน 11 ไอโซเลท จากนั้นทำการเลี้ยงเชื้อแอกติโนมัยซีทบนจานอาหารเพาะเชื้อ Yeast extract - malt extract agar (YEME agar) ให้เจริญเติบโตให้ทั่วจานอาหารเพาะเชื้อเป็นเวลา 7 วัน หรือจนกว่าเชื้อแอกติโนมัยซีทจะเจริญเติบโตเต็มที่ ผลจากการศึกษาฟอสโฟลิปิด ของเชื้อแอกติโนมัยซีทโดยใช้เทคนิค Thin layer chromatography (TLC) โดยศึกษาจากเชื้อที่ได้รับการคัดเลือกทั้ง 11 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลทหมายเลข CCS01, CCS06, CCS09, CCS10, CCS11, CLK02, LKB01, LKB02, LKB10, LKB12 และ LKB18 ตามลำดับ หลังจากการปั่นเหวี่ยงปิเปตเอาชั้นอินออร์แกนิกเฟสที่อยู่ด้านล่างใส่ขวดแก้วขนาดเล็กมาทำการระเหยแห้ง นำส่วนที่เหลือมาทำการ resuspension ด้วยคลอโรฟอร์มปริมาตร 6-10 ไมโครลิตร จากนั้นใช้เครื่องดูดจ่ายสารละลายดูดสารลงบนแผ่น TLC ขนาด 20 x 20 เซนติเมตร ครั้งละ 1 ไมโครลิตรจนหมด และหยดฟอสโฟลิปิดมาตรฐาน ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 3 ชนิด ได้แก่ L- $\alpha$  phosphatidyl-DL-glycerol sodium salt from egg yolk lecithin (PG) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร, 3-sn phosphatidylethanolamine from bovine brain (PE) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และ Cardiolipin sodium salt from bovine heart (CL) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการเปรียบเทียบกับสารผสมตัวอย่าง พบว่า ทั้ง 11 ไอโซเลทสามารถสร้างฟอสโฟลิปิดชนิด CL และ PE ได้สอดคล้องกับรูปที่ 4.66 ที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น นั่นคือ PG จะถูกเปลี่ยนให้เป็น CL และหมายเลขไอโซเลทที่ CCS06, CCS10, CCS11, CLK02 และ LKB18 ตามลำดับ

จากการทดลองพบว่าในขั้นตอนการปั่นเหวี่ยงเพื่อทำลายชั้นผนังเซลล์พบว่า หลังการปั่นเหวี่ยงปริมาณของเซลล์มีมากเกินไปทำให้ในระหว่างหยอดสารละลายสกัดหยาดของเชื้อมีชั้นอินออร์แกนิกของตัวเซลล์ติดมาด้วยทำให้เกิดไปก้อนที่ขนาดใหญ่บนแผ่นโครมาโตกราฟีทำให้รบกวนการไหลของสารละลายในชั้น mobile phase ทำให้ไอโซเลทหมายเลข LKB01, LKB02, LKB10 และ LKB12 ไม่เกิดสเปคตีสีฟ้าของ molybdenum blue spray reagent จึงได้ทำการทดลองโดยอ้างอิงจากวิธีการทดลองของ Klanbut (2013) ที่ได้ทำการศึกษา การสร้าง CL, PE และ PG โดยการเพาะเลี้ยงแอกติโนมัยซีทบนอาหารแข็ง และศึกษาฟอสโฟลิปิดโดยใช้เทคนิค Thin layer chromatography (TLC) และใช้ปริมาณเซลล์ 100 มิลลิกรัม พบว่าทำให้เห็นสเปคตของฟอสโฟลิปิดได้ชัดเจนขึ้น

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองเรื่องการศึกษาลิโปลิปิดของเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินรังปลวก และทำการคัดเลือก 11 ไอโซเลทที่มีความโดดเด่นด้านการสร้างสารปฏิชีวนะมาทำการศึกษาลิโปลิปิดบนชั้นผนังเซลล์ เมื่อนำเชื้อแอคติโนมัยซีทที่มีอายุ 7-14 วันซึ่งอยู่ในช่วงของ Stationary phase มาทำการขูดสปอร์ลงใน centrifuge tube 50 ml ทำการเติมการเติมคลอโรฟอร์มปริมาตร 100 ไมโครลิตร ปั่นด้วยเครื่องผสมสารละลาย (vortex) เป็นเวลา 2 นาที แล้วเติมเมทานอลปริมาตร 200 ไมโครลิตร ปั่นด้วยเครื่องผสมสารละลายเป็นเวลา 2 นาที และเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 80 ไมโครลิตร ปั่นด้วยเครื่องผสมสารละลายเป็นเวลา 2 นาที จากนั้นทำการปั่นรวมกันด้วยเครื่องผสมสารละลายเป็นเวลา 10 นาที แล้วเติมคลอโรฟอร์มปริมาตร 100 ไมโครลิตร ปั่นด้วยเครื่องผสมสารละลายเป็นเวลา 1 นาที เมื่อสารตัวอย่างผสมเข้ากันแล้วจึงเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปริมาตร 80 ไมโครลิตร ปั่นด้วยเครื่องผสมสารละลายเป็นเวลา 1 นาที เพื่อทำการแยกเฟส เนื่องจากปริมาตรของหลอด centrifuge tube ปริมาตร 50 ml มีความกว้าง และทำให้มองเห็นชั้นอินอแกนิคได้ไม่ชัดเจน ทำให้ไม่สามารถดูชั้นไขมัน หรือชั้นอินอแกนิคที่เท่าที่ควร ทำให้บริเวณชั้นอินอแกนิคติดมาเป็นจำนวนมาก เมื่อทำการหยอดสารละลายสกัดหยาดของเชื้อลงบนแผ่นโครโมโตกราฟฟี ทำให้เกิดเป็นก้อนตะกอนเป็นกระจุกใหญ่อยู่บนแผ่นโครโมโตกราฟฟี ตะกอนของชั้นอินอแกนิคทำให้เกิดการรบกวนการ develop ของสารบนแผ่นโครโมโตกราฟฟี เมื่อทำการตรวจผลการทดลองโดยการฉีดด้วยสเปรย์ molybdenum blue spray reagent ไม่เกิดเป็นสปอตสีฟ้าขึ้นมาบนแผ่นโครมาโตกราฟฟี คณะผู้วิจัยได้ทำการทดลองโดยอ้างอิงจากวิธีการทดลองของ (Klanbut, 2013) จึงเปลี่ยนมาใช้ centrifuge tube 15 ml และใช้ปริมาณเซลล์ 100 มิลลิกรัม หลังจากการปั่นเหวี่ยงปรากฏว่าสามารถมองเห็นการแยกชั้นของชั้นอินอแกนิค และอินอแกนิคได้ชัดเจน และเมื่อดูสารอินอแกนิคด้วยอโต้ปิเปตขึ้นมา ปรากฏว่าไม่มีชั้นอินอแกนิคติดมาด้วย ทำให้ทำการหยอดลงบนแผ่นโครมาโตกราฟฟีไม่เกิดเป็นกระจุกของตะกอน เมื่อตรวจสอบด้วยการฉีดด้วยสเปรย์ molybdenum blue spray reagent เกิดเป็นสปอตสีฟ้ามองเห็นได้ชัดเจนและตรงกับสาร Standard ที่หยอดไว้ ได้แก่ L- $\alpha$  phosphatidyl-DL-glycerol sodium salt from egg yolk lecithin (PG) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร, 3-sn phosphatidylethanolamine from bovine brain (PE) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และCardiolipin sodium salt from bovine heart (CL) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร



รูปที่ 5.1 ความแตกต่างของ centrifuge tube ปริมาตร 50 ml และ 15 ml  
(อ้างอิง : <https://www.universalmedicalinc.com/premiuml-centrifuge-tubes.html>)

## เอกสารอ้างอิง

- กิ่งจันทร์ มะลิซ้อน. (2555). "ความหลากหลายของแอคติโนแบคทีเรียในดิน" รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี.
- คณิงกานต์ กลั่นบุศย์. (2559). การเพาะเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซีทในอาหารเหลวและการทดสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีบางประการของเชื้อ เอกสารประกอบการเรียนวิชาปฏิบัติการสรีรวิทยาของจุลินทรีย์. คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- จามจุรี เกตุบัวขาว นิชาภา ชมภู สุพัตรา ขาวสวน. (2555). การคัดแยกแอคติโนมัยซีทจากมูลสัตว์เพื่อใช้ในการย่อยสลายวัสดุทางการเกษตรเบื้องต้น. วิทยาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.
- จารุณี วงศ์ข้าหลวง. (2554). “ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับปลวก และ การป้องกันกำจัด” เข้าถึงได้จาก jcc2u. : [http://jcc2u.com/book\\_termite/book\\_termite.html](http://jcc2u.com/book_termite/book_termite.html).
- ณัฐภูมิ ธานี. (2557) “ความหลากหลายของชนิดของแมลงในดินและความสัมพันธ์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการที่สถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสระเกษ” รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี.
- นิคม พรหมศิลป์. (2527) “ดัชนีชั้นคุณภาพของพื้นที่และผลผลิตของสวนป่าไม้สักในจังหวัดลำปาง” รายงานค้นคว้าวิจัยฉบับสมบูรณ์.
- ลลิตา ชวงเงิน. (2554). การคัดกรอง และพิสูจน์เอกลักษณ์แอคติโนมัยซีทหายากที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- Abd-El-Halim, A.M. and Joosten, M.H.A.J. (2017) “Plant phosphatidylinositol-specific phospholipase C at the center of plant innate immunity” *J. Integr. Plant Biol.*, **59**, 164-179.
- Aiken, G. R.; McKnight, D. M.; Thorn, K. A.; Thurman, E. M. (1992). "Isolation of hydrophilic organic acids from water using nonionic macroporous resins"
- Bonev, B; Hooper, J; Parisot, J (2008). "Principles of assessing bacterial susceptibility to antibiotics using the agar diffusion method". *The Journal of antimicrobial chemotherapy.* 61 (6): 1295–301.
- Bremner, J. M. (1951). "A Review of Recent Work on Soil Organic Matter Part I". *Journal Of Soil Science.* 2 (1): 67–82.
- Breznak, John A. (1994). “Role of microorganisms in the digestion of lignocellulose by termite.” *Annu. Rev. Entomol.* 39:453-87.

- Breznak, J. A. (2002). "Phylogenetic Diversity and Physiology of Termite Gut Spirochetes." *Integ. And Comp. Biol*, 42:313-318.
- Brown DF, Kothari D (1975). "Comparison of antibiotic discs from different sources" *J. Clin. Pathol.* **28**: 779–83.
- Brune, Andreas. (1998). "Termite guts: the world's smallest bioreactors." *Tibtech 16 Tropical Topics newsletter*, No. 64 December 2000.
- Brune, Andreas. (2000). "Microecology of the termite gut: structure and function on a Microscale." *Current Opinion in Microbiology* 3:263-269 (2000).
- Bugg TD, Ahmad M, Hardiman EM, Singh R (2011). "The emerging role for bacteria in lignin degradation and bio-product formation." *Curr Opin Biotechnol* 22:394–400.
- Cohn F (1872). "Untersuchungen über Bacterien". *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*. 1. pp. 127–224.
- D. Prakash, N. Nawani, M. Prakash et al., (2013). "Actinomycetes: a repertory of green catalysts with a potential revenue resource," *BioMed Research International*, vol. 2013, Article ID 264020, 8pages.
- Dangerfield, J.M., McCarthy, T.S. and Ellery, W.N. (1998). "The mound-building termite *Macrotermes michaelseni* as an ecosystem engineer". *Journal of Tropical Ecology* 14: 507–20.
- Dawaliby, R., Trubbia, C., Delporte, C., Caroline Noyon, C., Ruyschaert, J.-M., Van Antwerpen.
- Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM (2000). "Exotoxins of *Staphylococcus aureus*". *Clinical Microbiology Reviews*. 13 (1): 16–34.
- Dwivedi UN, Singh P, Pandey VP, Kumar A (2011). "Structure-function relationship among Bacterial fungal and plant laccases" *J Molec Catal B* 68:117–128.
- Eleonor A. Tendendia. 2004. Disk diffusion method. Philippines : Southeast Asian Fisheries Development Center.
- Emily Singer (2007). "Why Termite Guts Could Bring Better Biofuels". *Technology Review*. Kappler (1999). "Influence of gut alkalinity and oxygen status on mobilization and size-class distribution of humic acids in the hindgut of soil-feeding termites." *Applied Soil Ecology* 13:3.

- F. H. Isikgor and C. R. Becer, (2015). "Lignocellulosic biomass: a sustainable platform for the production of bio-based chemicals and polymers," *Polymer Chemistry*, vol. 6, no. 25, pp. 4497–4559.
- Fahy, E., et al., (2005). "A comprehensive classification system for lipids" *J Lipid Res.*, **46**(5): p. 839-61.
- G. Y. S. Mtui, (2012). "Lignocellulolytic enzymes from tropical fungi: types, substrates and applications," *Scientific Research and Essays*, vol. 7, no. 15, pp. 1544–1555.
- Harry W. Lewis & Christopher J. Moody (1989). "Experimental Organic Chemistry: Principles and Practice (Illustrated ed.)." Wiley Blackwell. pp. 159–173.
- Hedin G (1993). "*Staphylococcus epidermidis* — hospital epidemiology and the detection of methicillin resistance", *Scandinavian Journal of Infectious Diseases Supplementum*, Oslo Norway: Scandinavian University Press, **90**: 1–59.
- Holdo, R.M. (2003). "Woody plant damage by African elephants in relation to leaf nutrients in Western Zimbabwe". *Journal of Tropical Ecology* 19: 189–96.
- Holt JG, ed. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9th ed.). Williams & Wilkins.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins p. 125-9.
- J. Pl'acido and S. Capareda (2015). "Ligninolytic enzymes: a biotechnological alternative for bioethanol production," *Bioresources and Bioprocessing*, vol. 2, no. 23, pp. 1–12.
- Jarun jetanajit (1967). "Termite soil of the dry-evergreen forest and the dipterocarp forest Sakaerat." Department of Mycology Faculty of Science, Kasetsart University.
- John A. Breznak (2001). "Microbiologists find a New Source of Nitrogen Fixation" Retrieved from <<http://www.nsf.gov/od/lpa/news/press/01/pr0154.htm>>
- John A. Breznak. (2002). "Phylogenetic Diversity and Physiology of Termite Gut Spirochetes."
- Kirienko NV, Ausubel FM, Ruvkun G (2015). "Mitophagy confers resistance to siderophore-mediated killing by *Pseudomonas aeruginosa*". *Proceedings of the*

- National Academy of Sciences of the United States of America. 112 (6): 1821–6.
- Kluwer Academic Publishers, Dordrecht., p.209-227., p.307-332
- Lehmann, J.; Kleber, M. (2015). "The contentious nature of soil organic matter". *Nature*. 528(7580): 60–8.
- Levinson, W. (2010). "Review of Medical Microbiology and Immunology (11th ed.)." pp. 94–99.
- Loveridge, J.P. and Moe (2004). "Termitaria as browsing hotspots for African megaherbivores in miombo woodland". *Journal of Tropical Ecology* 20: 337–43.
- Nikhom Sujada et al. 2014. "Termite Nests as an Abundant Source of Cultivable Actinobacteria for Biotechnological Purposes" Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University.
- M. G.Mason, A. S. Ball, B. J. Reeder, G. Silkstone, P. Nicholls, and M. T. Wilson (2001.) "Extracellular heme peroxidases in actinomycetes: a case of mistaken identity," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 67, no. 10, pp. 4512–4519.
- Manteca A, Mader U, Connolly BA, Sánchez J. A (2006). "proteomic analysis of *Streptomyces coelicolor* programmed cell death" *Proteomics*.
- Masalha M, Borovok I, Schreiber R, Aharonowitz Y, Cohen G (2001). "Analysis of transcription of the *Staphylococcus aureus* aerobic class Ib and anaerobic class III ribonucleotide reductase genes in response to oxygen". *Journal of Bacteriology*. 183(24): 7260–72.
- McBride MJ, Ensign JC. (1987). "Metabolism of endogenous trehalose by *Streptomyces griseus* spores and by spores or cells of other actinomycetes." *J Bacteriol.* ;169:5002–5007.
- McMurry, John (2011). "Organic chemistry: with biological applications (2nd ed.)." Belmont, CA: Brooks/Cole. p. 395.
- Minussi RC, Pastore GM, Durán N (2007). " Laccase induction in fungi and laccase/N-OH mediator systems applied in paper mill effluent." *Bioresour Technol* 98:158–164.
- Moe, S.R., Mobaek, R. and Narmo, A.N. (2009). "Mound building termites contribute to savanna vegetation heterogeneity". *Plant Ecology* 202: 31-40.

- Ohkuma, M., and Kudo, T. (1996). "Phylogenetic Diversity of the Intestinal Bacterial Community in the Termite *Reticulitermes speratus*". *Applied and Environmental* p.461-468.
- Ohkuma, M. (2001). "Symbiosis within the gut microbial community of termites." *RIKEN Review* No.41. Nov. 2001, p.69-72.
- Ohkuma, M. (2006). "Metabiotic Symbiosis between Termite Gut Protists and Their Intracellular Bacteria". *Noda Institute for Scientific Research*, p.35-36.
- P. and Govaerts (2016). "C. Phosphatidylethanolamine is a key regulator of membrane fluidity in eukaryotic cells" *J. Biol. Chem.*, **291**, 3658-3667.
- Padilla et al. 2015. "Actinobacteria from Termite Mounds Show Antiviral Activity against Bovine Viral Diarrhea Virus, a Surrogate Model for Hepatitis C Virus" *Laboratory of Virology, Department of Genetics and Evolution and Bioagents, Institute of Biology, University of Campinas.*
- Pasti MB, Belli ML (1985). "Cellulolytic activity of actinomycetes isolated from termites (Termitidae) gut" *FEMS Microbiol Lett* 26: 107-112.
- Pensri waiwanitchakul (1976). "Life cycle of mite in soil at Sakaerat forest areas" *Research report Submitted to the National Research Council.*,
- Pereto, J., P. Lopez-Garcia, and D. Moreira (2004). "*Ancestral lipid biosynthesis and early membrane evolution*" *Trends Biochem Sci*, 2004. **29**(9): p. 469-77.
- Petrova, Mariya I.; Lievens, Elke; Malik, Shweta; Imholz, Nicole; Lebeer, Sarah (2015). "Lactobacillus species as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health". *Frontiers in Physiology*.
- Polak J, Jarosz-Wilkolazka A (2012). "Fungal laccases as green catalysts for dye synthesis" *Process Biochemistry* 47:1295–1307.
- Pothiraj C, Kanmani P, Balaji P. (2006). "Bioconversion of lignocellulose materials". *Mycobiology* 34:159–65.
- Ramachandra M, Crawford DL, Hertel G (1988). "Characterization of an extracellular lignin peroxidase of the lignocellulolytic actinomycete *Streptomyces viridosporus*." *Appl Environ Microbiol* 54:3057–3063.
- Ravindran R, Jaiswal AK. (2016). "A comprehensive review on pre-treatment strategy for lignocellulosic" *food industry waste: challenges and opportunities. Bioresource Technol* 199:92–102.

- Reich, E.; Schibli A. (2007). "High-performance thin-layer chromatography for the analysis of medicinal plants " (Illustrated ed.). New York: Thieme.
- Robert, O.E., U.O. Frank and O.U. Agbonsalo, 2007. Influence of activities of termites on some physical and chemical properties of soils under different land use patterns: A review. *Int. J. Soil Sci.*, 2: 1-14.
- Sazzad Hossen Toughik, Kyung-Tai Lee, Jin-Sung Lee, and Keun-Sung Kim (2017). "Functional Applications of Lignocellulolytic Enzymes in the Fruit and Vegetable Processing Industries"
- Servin JA, Herbold CW, Skophammer RG, Lake JA (2008). "Evidence excluding the root of the tree of life from the actinobacteria" Hogg, S. (2005). *Essential Microbiology* (1st ed.) Wiley. pp. 99–100.
- Schleifer, K. H.; Kloos, W. E. (1975). "Isolation and Characterization of Staphylococci from Human Skin I. Amended Descriptions of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* and Descriptions of Three New Species *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus haemolyticus*, and *Staphylococcus xylosus*". *International Journal of Systematic Bacteriology*. 25 (1): 50–61.
- Stevenson F.J. (1994). "Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions".
- T. Abe, D.E. Bignell, and M. Higashi (2000). *Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology*.
- Tanticharoen, M. and S. Cheevadhanarak. (1984). "The production of cellulase and xylanase from cellulolytic microorganisms isolated from pineapple anaerobic digester. II. p. 3057-3063 "Characterization of an Extracellular Lignin Peroxidase of the Lignocellulolytic Actinomycete *Streptomyces viridosporus*"
- Tenaillon, Olivier; Skurnik, David; Picard, Bertrand; Denamur, Erick (2010). "The population genetics of commensal *Escherichia coli*". *Nature Reviews Microbiology*. 8 (3): 207–217.
- W. R. de-Souza (2013). "Microbial degradation of lignocellulosic biomass," in *Sustainable Degradation of Lignocellulosic Biomass—Techniques, Applications and Commercialization*, A. Chandel, Ed., InTech,
- Whitehead, D. C.; Tinsley, J. (1963). "The biochemistry of humus formation". *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 14 (12): 849–857.

- World J Microbiol Biotechnol (2009). "Screening of marine actinomycetes isolated from the Bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzymes."
- Van der Plas, F., Howison, R., Reinders, J., Fokkema, W. and Olff, H. (2013). "Functional traits of trees on and off termite mounds: understanding the origin of biotically-driven heterogeneity in savannas". *Journal of Vegetation Science* 24: 227–38.
- Yamauchi, Masashige; Katayama, Sadamu; Todoroki, Toshiharu; Watanabe, Toshio (1984). "Total synthesis of fulvic acid". *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* (23): 1565–6. doi:10.1039/C39840001565.
- Yoshio WATANABE, Naoya SHINZATO & Takema FUKATSU (2003). "Isolation of Actinomycetes from Termites' Guts, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry",

ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

### สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ และการเตรียมสารละลาย

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

#### 1. Starch - casein agar (SCA)

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

pH 7.0 – 7.2

#### 2. ISP2A (Padilla *et al.*, 2015)

Soluble starch	10.0	กรัม
Yeast extract	4.0	กรัม
Malt extract	10.0	กรัม
Dextrose	4.0	กรัม
Agar	20.0	กรัม

pH 7.0 – 7.2

#### 3. CCA (Padilla *et al.*, 2015)

Soluble starch	10.0	กรัม
KNO <sub>3</sub>	0.3	กรัม
MgSO <sub>4</sub>	2.0	กรัม
CaCO <sub>3</sub>	0.02	กรัม
FeSO <sub>4</sub>	0.01	กรัม
NaCl	2.0	กรัม

$K_2PO_4 \cdot 3H_2O$	2.0	กรัม
Agar	20.0	กรัม
pH 7.0 – 7.2		

## 4. International Streptomyces Project Medium 2 (ISP2)

Yeast extract	4.0	กรัม
Malt extract	10.0	กรัม
Dextrose	4.0	กรัม
Agar	20.0	กรัม
pH 7.2		

5. Oatmeal agar (*ISP medium no. 3*)

Oat meal	20.0	กรัม
$Fe_2H_{14}O_{19}S_3$	0.001	กรัม
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	0.001	กรัม
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.001	กรัม
Agar	18.0	กรัม
pH 7.1 – 7.5		

6. Inorganic salts- starch agar (*ISP medium no. 4*)

Soluble starch	10.0	กรัม
$K_2HPO_4$	1.0	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1.0	กรัม
NaCl	1.0	กรัม
$(NH_4)_2SO_4$	2.0	กรัม
$CaCO_3$	2.0	กรัม
$FeO_4S \cdot 7H_2O$	0.001	กรัม
$MnCl_2 \cdot 7H_2O$	0.001	กรัม
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.001	กรัม
Agar	20.0	กรัม
pH 7.2 ± 0.2		

## 7. Yeast extract – malt extract agar (YEME agar)

Dextrose	10.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Malt extract	3.0	กรัม
Yeast extract	3.0	กรัม
Agar	20.0	กรัม

pH 6.2 ± 0.2

## 8. Yeast extract – malt extract broth (YEME broth)

Dextrose	10.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Malt extract	3.0	กรัม
Yeast extract	3.0	กรัม

pH 6.2 ± 0.2

## 9. Glucose Yeast Extract Agar (GYE)

Glucose	10.0	กรัม
Yeast extract	10.0	กรัม
Agar	20.0	กรัม

pH 7.0

## 10. Bouillon gelatin broth

Peptone	10.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
Malt extract	5.0	กรัม
Gelatin	150.0	กรัม

pH 7.2 ± 0.2

11. Peptone KNO<sub>3</sub> broth

Peptone	10.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
KNO <sub>3</sub>	1.0	กรัม

pH 7.2 ± 0.2

## 12. Skim milk agar

Casein	5.0	กรัม
Glucose monohydrate	1.0	กรัม
Skim milk powder	1.0	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Agar	15.0	กรัม
pH	7.0±0.2	

## 13. Nutrient agar (NA)

Peptone	5.0	กรัม
Beef extract	3.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
pH	7.4 ± 0.2	

## 14. Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

Glucose	40.0	กรัม
Peptone	10.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
pH	5.6 ± 0.2	

## 15. Mueller Hinton Agar (MHA)

Beef extract	2.0	กรัม
Casein	17.5	กรัม
Soluble starch	1.5	กรัม
Agar	17.0	กรัม
pH	7.3 ± 0.1	

## 16. Phenol red glucose broth

Glucose	10.0	กรัม
Peptone	10.0	กรัม
Beef extract	1.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
Phenol red	0.025	กรัม

pH 7.4

## 17. Phenol red lactose broth

Lactose	10.0	กรัม
Peptone	10.0	กรัม
Beef extract	1.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
Phenol red	0.025	กรัม

pH 7.4

## 18. Phenol red sucrose broth

Sucrose	10.0	กรัม
Peptone	10.0	กรัม
Beef extract	1.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
Phenol red	0.025	กรัม

pH 7.4

## 19. Phenol red xylose broth

Xylose	10.0	กรัม
Peptone	10.0	กรัม
Beef extract	1.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
Phenol red	0.025	กรัม

pH 7.4

## 20. Phenol red mannitol broth

Mannitol	10.0	กรัม
Peptone	10.0	กรัม
Beef extract	1.0	กรัม
NaCl	5.0	กรัม
Phenol red	0.025	กรัม

pH 7.4

### การเตรียมสารละลาย McFarland No.0.5 (JAMA, 1907)

สารละลาย McFarland standard No. 0.5 ถูกนำมาใช้ในการเปรียบเทียบความขุ่นมาตรฐานในการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบสำหรับทดสอบกิจกรรมด้านการเจริญของเชื้อ ซึ่งสารละลาย McFarland standard No. 0.5 สามารถเทียบเท่ากับจำนวนเซลล์โดยประมาณเท่ากับ  $1.0 \times 10^8$  CFU/ml

#### ส่วนประกอบของสารละลาย McFarland standard No. 0.5

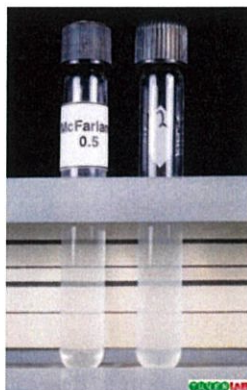
1% v/v Conc. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	99.50	มิลลิลิตร
1.175% w/v BaCl <sub>2</sub> • 2H <sub>2</sub> O	0.50	มิลลิลิตร

#### ขั้นตอนการเตรียม

1. ปิเปตกรดซัลฟิวริก 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตรที่มีน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำหนักให้มีปริมาตรสุทธิ 100 มิลลิลิตร
2. ชั่งสารแบเรียมคลอไรด์ 1 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุทธิ 100 มิลลิลิตร
3. นำสารละลายจากข้อ 1 ปริมาตร 99.5 มิลลิลิตร และสารละลายในข้อ 2 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร มาผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่า absorbance อยู่ในช่วง (0.08-0.1)
4. นำสารละลาย McFarland standard No. 0.5 ที่ได้มาบรรจุใส่หลอดฝาเกลียวปิดสนิทเพื่อป้องกันการระเหย แล้วนำไปเก็บในที่มืดที่มีอุณหภูมิ 2-30 องศาเซลเซียส ก่อนการใช้งานต้องเขย่าสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน รวมทั้งตรวจสอบความขุ่นทุกเดือน

#### วิธีการใช้

นำสารละลาย McFarland standard No. 0.5 ใส่หลอดทดลอง ทำการเจือจางเชื้อที่ต้องการในน้ำเกลือ 0.85% ให้ความขุ่นเทียบเท่ากับสารละลาย McFarland standard No. 0.5 โดยเทียบกับแถบกระดาษสีดังรูปที่ 1



รูปที่ ก.1 การเทียบสารละลาย McFarland standard No. 0.5

(อ้างอิง : <https://www.tuyenlab.net/2016/08/microbiology-atlas-of-antimicrobial.html>)

### การเตรียมสารละลายทดสอบไนเตรท Sulfalnic acid reagent

#### ส่วนประกอบของสารละลาย

Sulfalnic acid	1.0	กรัม
Conc. Acetic acid 5 N	125.0	กรัม

#### ขั้นตอนการเตรียม

1. ชั่งสาร Sulfalnic acid 1.0 กรัม ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร
2. ทำการปิเปตสารละลายกรดอะซิติก 5 นอร์มอล ปริมาตร 125 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร
3. เติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรให้มีปริมาตรสุทธิ 1000 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน

### การเตรียมสาร $\alpha$ – naphthol reagent

#### ส่วนประกอบของสารละลาย

Alpha – naphthol	1.0	กรัม
Conc. Acetic acid 5 N	200.0	กรัม

#### ขั้นตอนการเตรียม

1. นำ  $\alpha$  – naphthol 1 กรัม ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร
2. ทำการปิเปตสารละลายกรดอะซิติก 5 นอร์มอล ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร
3. เติมน้ำกลั่นเพื่อปรับปริมาตรให้มีปริมาตรสุทธิ 1000 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันกับส่วนสารละลายกรดอะซิติก ความเข้มข้น 5 นอร์มอล เตรียมได้ด้วยการเติม glacial acetic acid 28.75 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 71.25 กรัม

#### วิธีเก็บรักษา

ควรเก็บสารเคมีทั้ง 2 ชนิด ลงในขวดสีชาซึ่งมีจุกยางที่ใช้ในการดูดสาร

## ภาคผนวก ข

### การคำนวณคุณสมบัติทางกายภาพบางประการของตัวอย่าง

ดัดแปลงมาจาก (AOAC, 1990)

#### การคำนวณน้ำหนักดิน

ตัวอย่างดินที่ 1 : น้ำหนักปีกเกอร์	228.70 กรัม
น้ำหนักสารแขวนลอยของดินที่ความเจือจางที่ $10^{-1}$ ก่อนอบ	10.41 กรัม
น้ำหนักของสารแขวนลอยของดินและปีกเกอร์หลังอบ	230.03 กรัม

คำนวณหาปริมาณน้ำหนักปีกเกอร์และสารแขวนลอยของดินที่ความเจือจางที่  $10^{-1}$  (กรัม) ก่อนอบได้จาก

$$\begin{aligned} \text{น้ำหนักของปีกเกอร์และดินก่อนอบ} &= \text{น้ำหนักปีกเกอร์ (กรัม)} + \text{น้ำหนักสารแขวนลอยของดินที่} \\ &\quad \text{ความเจือจาง } 10^{-1} \text{ ก่อนอบ} \\ &= 228.70 + 10.41 \text{ กรัม} \\ &= 239.11 \text{ กรัม} \end{aligned}$$

คำนวณหาปริมาณน้ำหนักดินที่ใช้ในการแยกเชื้อ (กรัม) ได้จาก

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณน้ำหนักดิน (กรัม)} &= \text{น้ำหนักสารแขวนลอยดินและปีกเกอร์ก่อนอบ} - \text{น้ำหนักสารแขวนลอย} \\ &\quad \text{ของดินและปีกเกอร์หลังอบ} \\ &= 239.11 - 230.03 \text{ กรัม} \\ &= 9.08 \text{ กรัม} \end{aligned}$$

ตัวอย่างดินที่ 1 มีปริมาณน้ำหนักดินที่ใช้ในการแยกเชื้อ เท่ากับ 1.08 กรัม

#### วิธีการคำนวณหาปริมาณความชื้นในดิน

ตัวอย่างดินที่ 1 : น้ำหนักปีกเกอร์	84.72	กรัม
น้ำหนักดินก่อนอบ	10.02	กรัม
น้ำหนักดินและปีกเกอร์หลังอบ	93.81	กรัม

คำนวณหาปริมาณน้ำหนักดินหลังอบ (กรัม) จาก

$$\begin{aligned} \text{น้ำหนักดินหลังอบ (กรัม)} &= \text{น้ำหนักดินและปีกเกอร์หลังอบ (กรัม)} - \text{น้ำหนักปีกเกอร์ก่อนอบ} \\ &= 93.81 - 84.72 \text{ กรัม} \\ &= 9.09 \text{ กรัม} \end{aligned}$$

คำนวณหาปริมาณความชื้นในดิน (%) จาก

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณความชื้นในดิน (\%)} &= \frac{\text{น้ำหนักดินก่อนอบ (กรัม)} - \text{น้ำหนักดินหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักดินก่อนอบ (กรัม)}} \times 100\% \\ &= \frac{10.02 - 9.09}{10.02} \times 100\% \end{aligned}$$

$$= \frac{0.93}{10.02} \times 100\%$$

$$= 9.28 \%$$

ตัวอย่างดินที่ 1 มีปริมาณความชื้นในดิน (%) เท่ากับ 9.28 %

ตารางที่ ข.1 แสดงปริมาตรของน้ำหนักสารแขวนลอยของดินที่ความเจือจางหลังอบ

ตัวอย่างดิน	น้ำหนักภาชนะ (กรัม)	น้ำหนักสารแขวนลอยของดินที่ความเจือจางที่ 10-1 ก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนักปิ๊กเกอร์กับน้ำหนักสารแขวนลอยของดินที่ความเจือจางที่ 10-1 ก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนักปิ๊กเกอร์กับน้ำหนักสารแขวนลอยของดินที่ความเจือจางที่ 10-1 หลังอบ (กรัม)	ปริมาณน้ำหนักดินที่ใช้ในการแยกเชื้อ (กรัม)
1	228.70	10.41	239.11	230.03	9.08
2	230.04	10.56	240.60	231.41	9.19
3	228.67	10.76	239.43	230.21	9.22
4	231.32	9.89	241.21	232.08	9.13
5	229.98	10.24	240.22	230.95	9.27

ตารางที่ ข.2 แสดงปริมาณความชื้นในตัวอย่างดินจากน้ำหนักของดินที่หายไป หลังจากนำไปอบอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่

ตัวอย่างดิน	น้ำหนักภาชนะ (กรัม)	น้ำหนักดินก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนักดินและภาชนะหลังอบ (กรัม)	น้ำหนักดินหลังอบ (กรัม)	น้ำหนักของน้ำ (กรัม)	ปริมาณความชื้น (%)
1	84.72	10.02	93.81	9.09	0.93	9.28
2	86.53	10.21	95.77	9.24	0.97	9.50
3	85.34	10.05	94.50	9.16	0.89	8.85
4	87.12	10.10	96.27	9.15	0.95	9.41
5	85.24	10.07	94.34	9.10	0.97	9.63

ตารางที่ ข.3 แสดงค่าความเป็นกรด - ด่างของตัวอย่างดิน

ตัวอย่างดิน	ค่าความเป็นกรด - ด่าง	
	จุดเก็บตัวอย่าง	ห้องปฏิบัติการ
1	6.9	7.0
2	6.7	6.7
3	6.7	6.8
4	6.5	6.8
5	6.4	6.5

## ภาคผนวก ค

### การทดสอบทางชีวเคมี

#### การทดสอบการย่อยสลายเจลาติน

การย่อยสลายเจลาตินในอาหารเหลว Bouillon gelatin broth



ก



ข



ค



ง

(ก) ชุดควบคุมการย่อยสลายเจลาติน

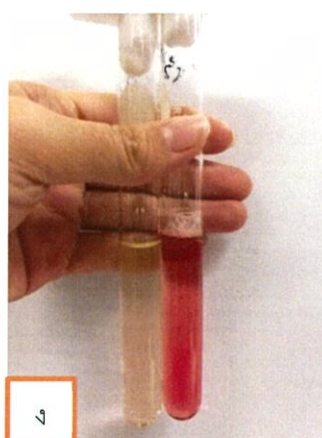
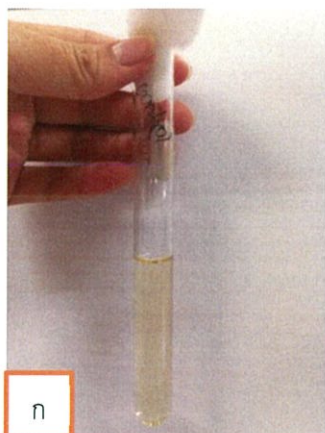
(ข) แสดงผล ( - ) อาหารแข็งตัว ไม่เกิดการย่อยสลายเจลาตินเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

(ค) แสดงผล ( W ) อาหารเหลวขึ้นเล็กน้อย เกิดการย่อยสลายเจลาตินเล็กน้อยเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

(ง) แสดงผล ( + ) อาหารเหลว เกิดการย่อยสลายเจลาตินเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

## การทดสอบการย่อยสลายไนเตรท

การย่อยสลายไนเตรทในอาหารเหลว Peptone KNO<sub>3</sub> broth



(ก) ชุดควบคุมการย่อยสลายไนเตรท

(ข) แสดงผล ( - ) อาหารไม่เปลี่ยนสี ไม่เกิดการย่อยสลายไนเตรทเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

(ค) แสดงผล ( W ) อาหารเปลี่ยนสีไปเป็นสีชมพู เกิดการย่อยสลายไนเตรทเล็กน้อยเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

(ง) แสดงผล ( + ) อาหารเปลี่ยนสีไปเป็นสีแดง เกิดการย่อยสลายไนเตรทเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

### การทดสอบการย่อยสลายแป้ง

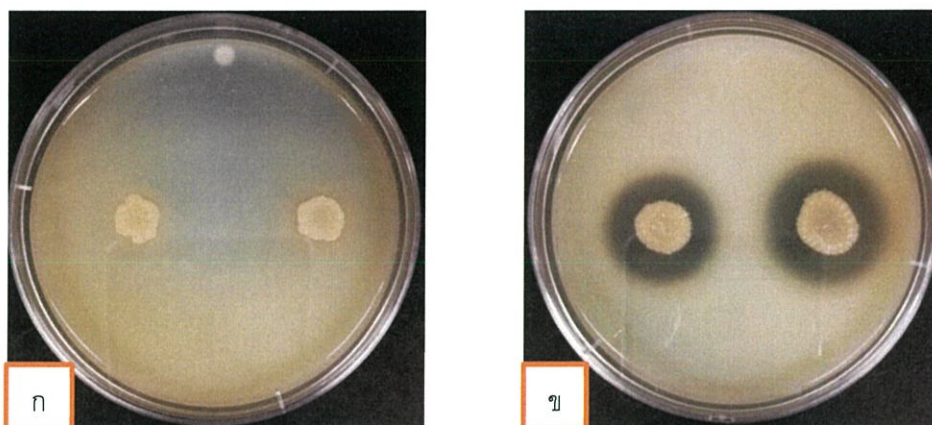
การย่อยสลายแป้งบนอาหาร Inorganic salts- starch agar (no. 4)



- (ก) แสดงผล ( - ) ไม่เกิดการย่อยสลายแป้ง
- (ข) แสดงผล ( W ) เกิดการย่อยสลายแป้งเล็กน้อย
- (ค) แสดงผล ( + ) เกิดการย่อยสลายแป้ง

### การทดสอบการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม

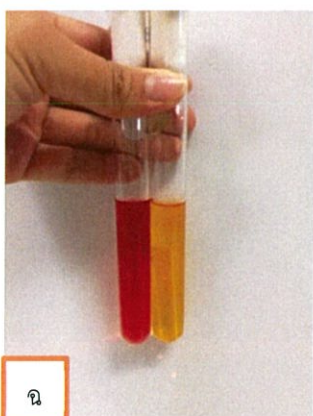
การย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมบนอาหาร Skim milk agar



- (ก) แสดงผล ( - ) ไม่เกิดการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม
- (ข) แสดงผล ( + ) เกิดการย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม

### การทดสอบความสามารถในการหมักน้ำตาล 5 ชนิด

ความสามารถในการหมักน้ำตาลในอาหารเหลว Phenol red glucose broth, Phenol red lactose broth, Phenol red sucrose broth, Phenol red xylose broth และ Phenol red mannitol broth ที่มีหลอดดักแก๊ส



(ก) ชุดควบคุมความสามารถในการหมักน้ำตาล

(ข) แสดงผล (-, N) ไม่เกิดการหมักน้ำตาล และไม่เกิดแก๊ส

(ค) แสดงผล (-, G) ไม่เกิดการหมักน้ำตาล และเกิดแก๊ส

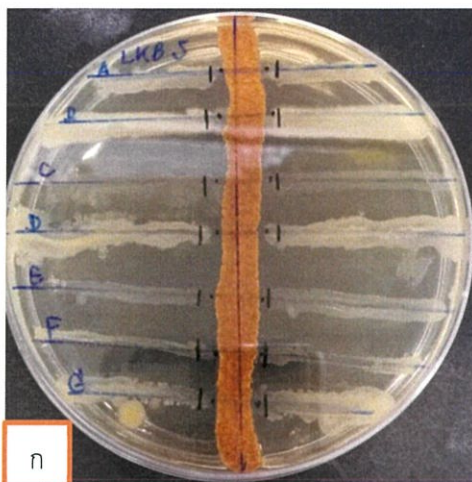
(ง) แสดงผล (W, N) เกิดการหมักน้ำตาลเล็กน้อย และไม่เกิดแก๊ส

- (ข) แสดงผล ( W, G ) เกิดการหมักน้ำตาลเล็กน้อย และเกิดแก๊ส
- (ข) แสดงผล ( +, N ) เกิดการหมักน้ำตาล และไม่เกิดแก๊ส
- (ข) แสดงผล ( +, G ) เกิดการหมักน้ำตาล และเกิดแก๊ส

## ภาคผนวก ง

## การทดสอบสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพของเชื้อทดสอบ

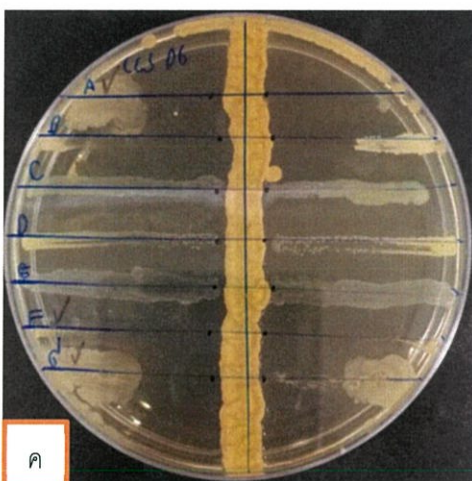
การคัดเลือกเชื้อที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น (Dual test)



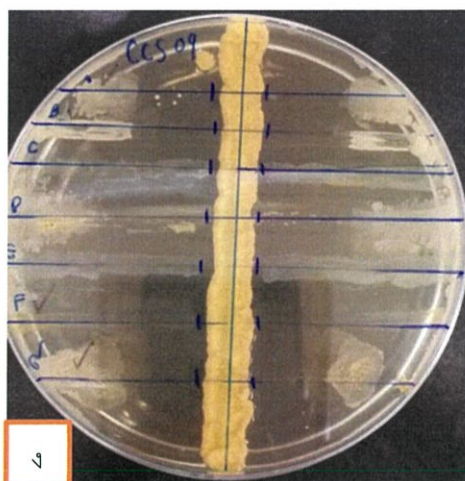
ก



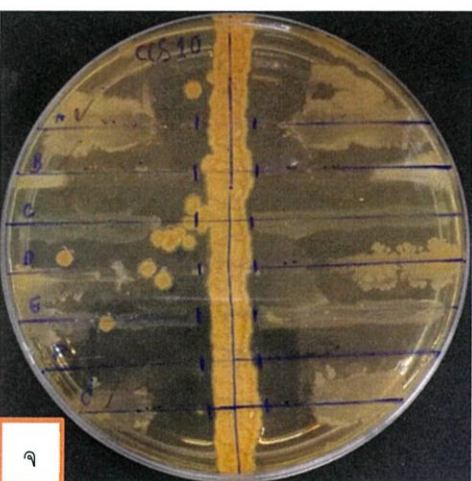
ข



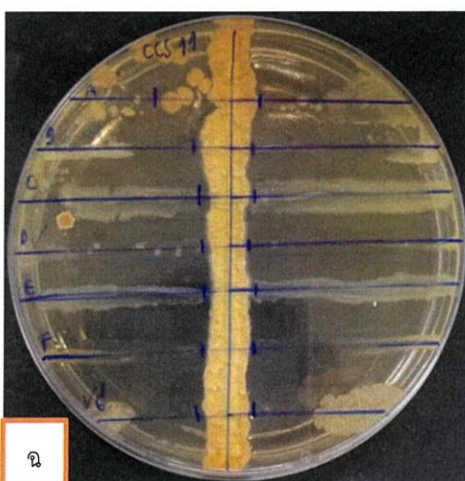
ค



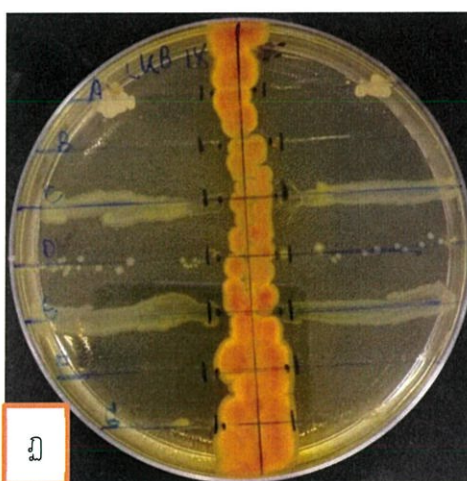
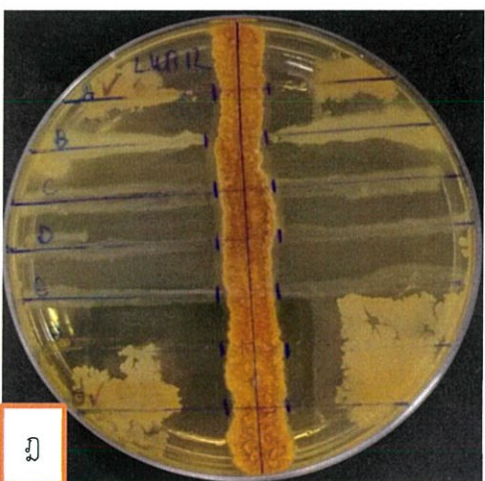
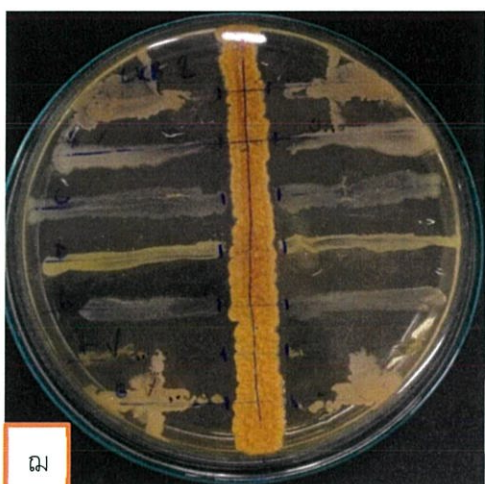
ง



จ



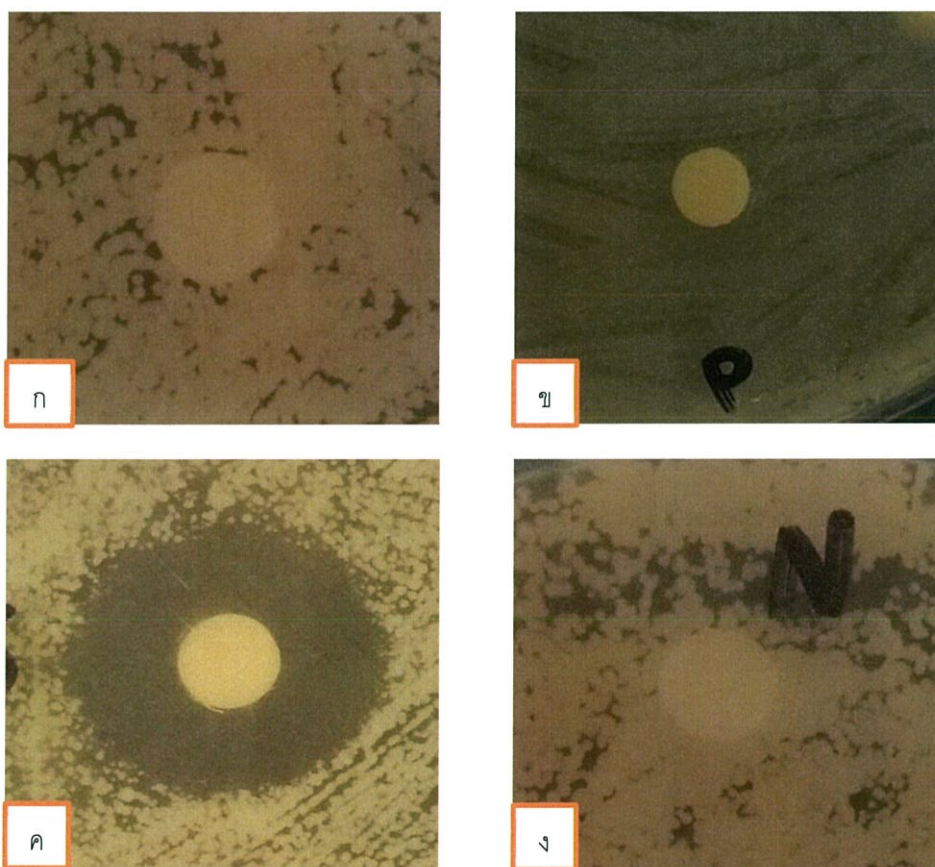
ฉ



- (ก) แสดงผล (-) เชื้อแอกติโนมัยซีทไม่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น  
 (ข) แสดงผล ไอโซเลท CCS01 ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น  
 (ค) แสดงผล ไอโซเลท CCS06 ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น

- (ง) แสดงผล ไอโซเลท CCS09 ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น
- (จ) แสดงผล ไอโซเลท CCS010 ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น
- (ฉ) แสดงผล ไอโซเลท CCS011 ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น
- (ช) แสดงผล ไอโซเลท CLK02 ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น
- (ซ) แสดงผล ไอโซเลท LKB01 ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น
- (ฌ) แสดงผล ไอโซเลท LKB02 ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น
- (ญ) แสดงผล ไอโซเลท LKB10 ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น
- (ฎ) แสดงผล ไอโซเลท LKB12 ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น
- (ฏ) แสดงผล ไอโซเลท LKB18 ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น

#### การทดสอบสารออกฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพด้วยเทคนิค Agar disc diffusion



- (ก) แสดงผล ชุดควบคุม Negative
- (ข) แสดงผล ชุดควบคุม Positive
- (ค) แสดงผล เชื้อแอกติโนมัยซีทสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพด้วยเทคนิค Agar disc diffusion
- (ง) แสดงผล เชื้อแอกติโนมัยซีทไม่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งทางชีวภาพด้วยเทคนิค Agar disc diffusion

## ภาคผนวก จ

### เชื้อที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

*Candida albicans*



***Candida albicans***

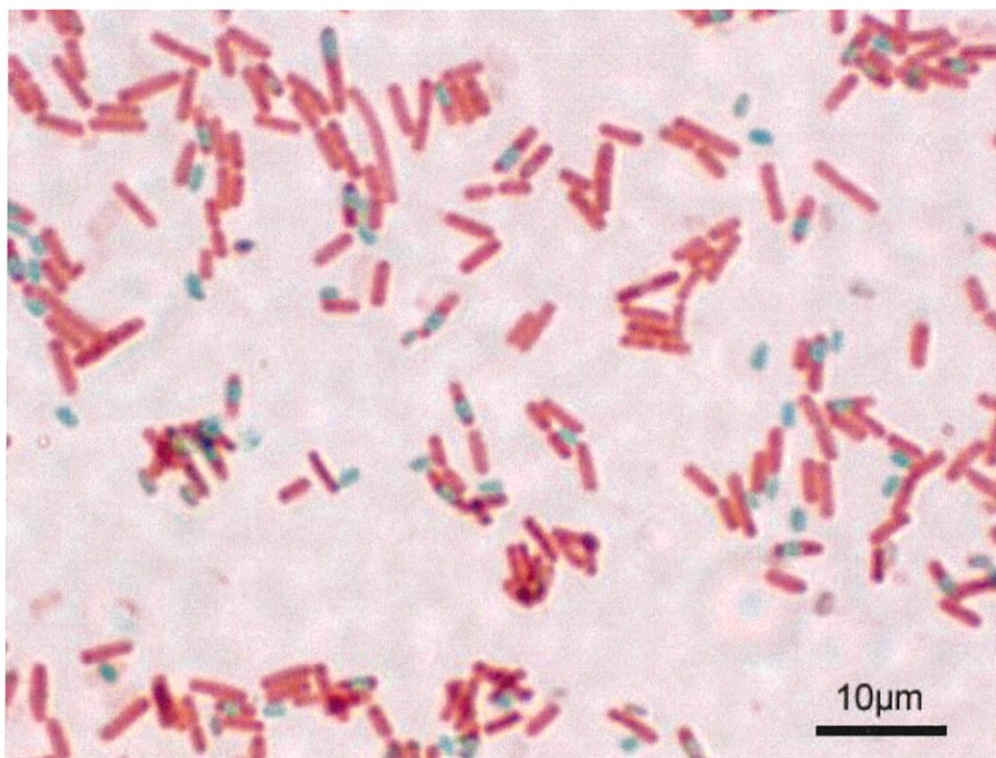
รูปที่ จ.1 ลักษณะของเซลล์ *Candida albicans* เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยาย 1000 เท่า

(อ้างอิง : [http://www.si.mahidol.ac.th/sidoctor/e-pl/admin/article\\_files/867\\_1.pdf](http://www.si.mahidol.ac.th/sidoctor/e-pl/admin/article_files/867_1.pdf))

*Candida albicans* เป็นเชื้อรา ที่เมื่อย่อมสีแกรมจะติดสีน้ำเงินปรากฏให้เห็นสองรูปแบบ คือยีสต์ และสายยาวสามารถเจริญเติบโตได้ทั้งบนพื้นผิว และในสารคัดหลั่งของร่างกาย โดยเมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์จะเห็นรูปแบบยีสต์ที่มีการแตกหน่อจำนวนมาก ขณะที่เจริญจะแทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อ และเกิดการเปลี่ยนรูปร่างเป็นเส้นใยและไม่มีผนังกัน พบในคนปกติทั่วไปเนื่องจากเป็นเชื้อประจำถิ่น (Normal flora) โดยพบได้ตามเยื่อเมือกที่มีอยู่ในระบบทางเดินอาหารเช่น ช่องปาก, หลอดอาหาร, กระเพาะอาหาร, อวัยวะเพศหญิงเช่น โยนี และช่องคลอด และอวัยวะเพศชาย (องคชาติ) ซึ่งในภาวะร่างกายมีภูมิคุ้มกันต้านทานโรคปกติ ยีสต์กลุ่มนี้จะไม่ก่อโรค แต่ถ้าสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป เช่น อวัยวะนั้นมีการอักเสบ หรือร่างกายมีภูมิคุ้มกันผิดปกติ เช่น

อุณหภูมิในร่างกายต่ำลง ยีสต์นี้จะมีความรุนแรงขึ้น หรือเจริญเติบโตในปริมาณมากเกินไปจนก่อให้เกิดเป็นโรคขึ้นได้ ที่เรียกว่า “โรคแคนดิไดอะซิส” (เจนจิต, 2556)

### *Bacillus subtilis*



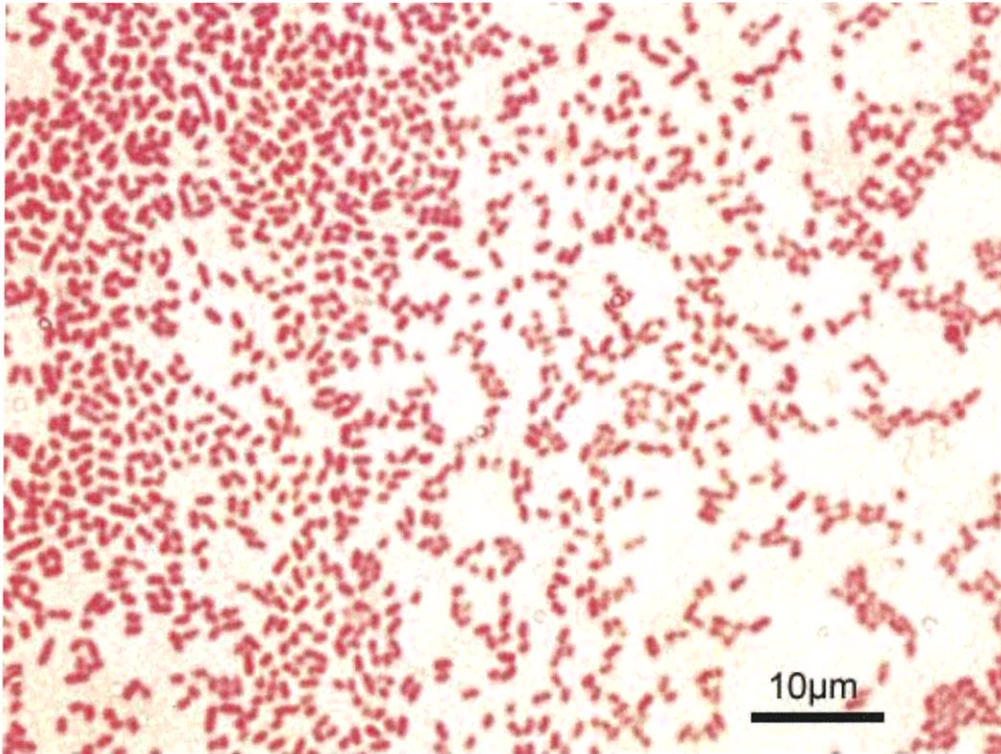
รูปที่ จ.2 ลักษณะของเซลล์ *Bacillus subtilis* เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยาย 1000 เท่า

(อ้างอิง : [https://en.wikipedia.org/wiki/Bacillus\\_subtilis](https://en.wikipedia.org/wiki/Bacillus_subtilis))

*Bacillus subtilis* เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นรูปท่อนตรง (Conh, 1872) ขนาด 0.3-2.2 x 1.2-7.0 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้มีการสร้างสปอร์ และสร้างสารพิษ ซึ่งจะขับสารพิษออกมาขณะปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ช่วงอุณหภูมิในการเติบโต อยู่ระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์สามารถเติบโตได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 55 องศาเซลเซียส และบางสายพันธุ์เติบโตได้ที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส สำหรับค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อชนิดนี้อยู่ระหว่าง 6-7 และสามารถเติบโตได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจน เชื้อ *Bacillus subtilis* พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ในดิน ฟันละออง ผลิตภัณฑ์จากพืช เช่น ข้าว ธัญพืช แป้ง ผลิตภัณฑ์จากแป้ง เครื่องเทศ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ และเครื่องปรุงแต่ง รสต่าง ๆ นอกจากนี้ยังพบในอุจจาระของคนที่มีสุขภาพปกติได้ประมาณ

15% และจะสร้างสารพิษเมื่ออยู่ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนน้อย การเกิดพิษมี 2 ลักษณะอาการคือทำให้ อาเจียน (Emetic illness) และทำให้ท้องเสีย (Diarrhea illness)

### *Pseudomonas aeruginosa*

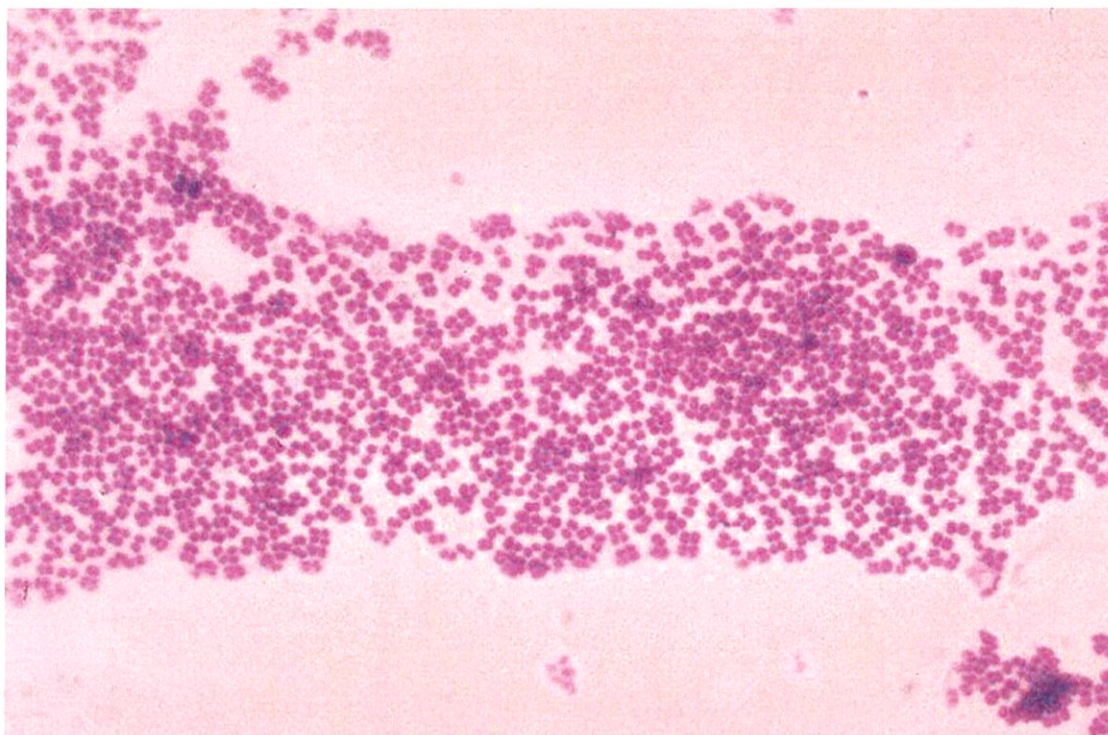


รูปที่ จ.3 ลักษณะของเซลล์ *Pseudomonas aeruginosa* เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า

(อ้างอิง : [https://th.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas\\_aeruginosa](https://th.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa))

*Pseudomonas aeruginosa* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างแท่ง aerobic เป็นแบคทีเรียในวงศ์ *Pseudomonadaceae* สามารถเคลื่อนที่ได้โดย *flagellum* 1 เส้นที่ติดอยู่ตรงหัว ปกติจะพบกระจายในดิน น้ำ ขยะ หรือในพืช และเป็น *normal flora* ในลำไส้คน *Pseudomonas aeruginosa* สามารถทำให้เกิดโรคในคนได้ รวมทั้งสัตว์ แมลง และต้นไม้ได้บ้าง

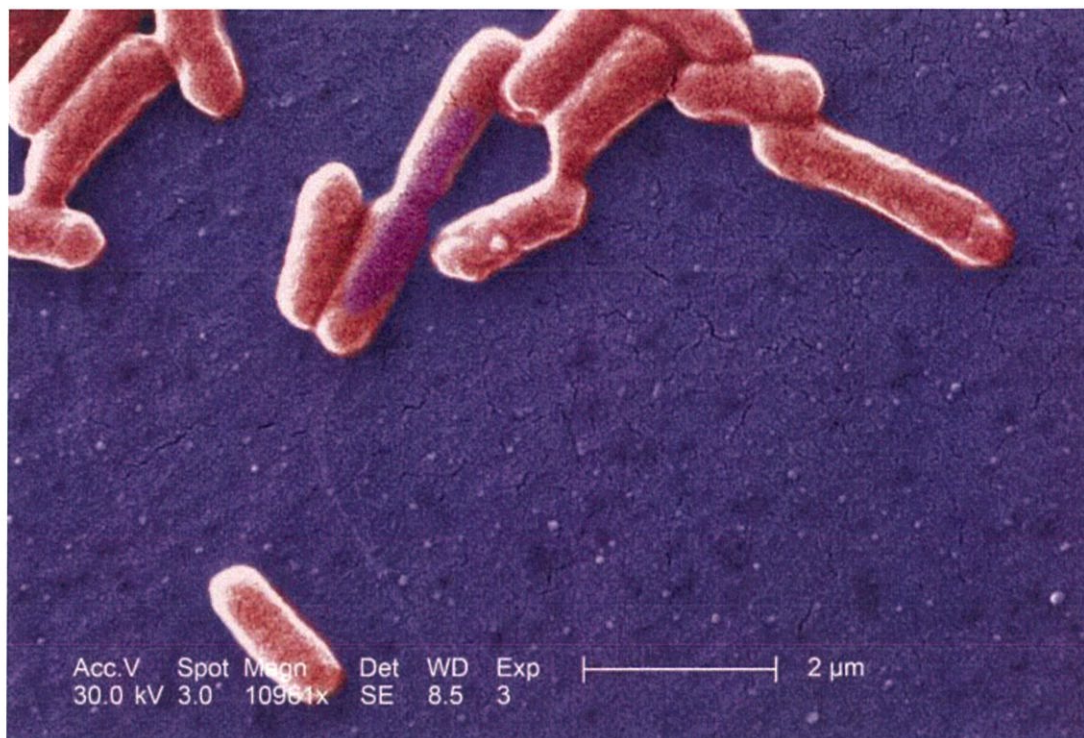
*Pseudomonas aeruginosa* เป็นเชื้อโรคฉวยโอกาสจะมีการติดเชื้อมักเกิดกับผู้ที่ภูมิคุ้มกันต่ำหรือป่วยมาก ๆ หรือผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาล บางทีจึงเรียกโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *Pseudomonas aeruginosa* ว่าโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล (Kirienko, 2015)

*Micrococcus luteus*

รูปที่ จ.4 ลักษณะของเซลล์ *Pseudomonas aeruginosa* เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า

(อ้างอิง : <https://en.wikipedia.org/wiki/Micrococcus#/media/File:Micrococcus>)

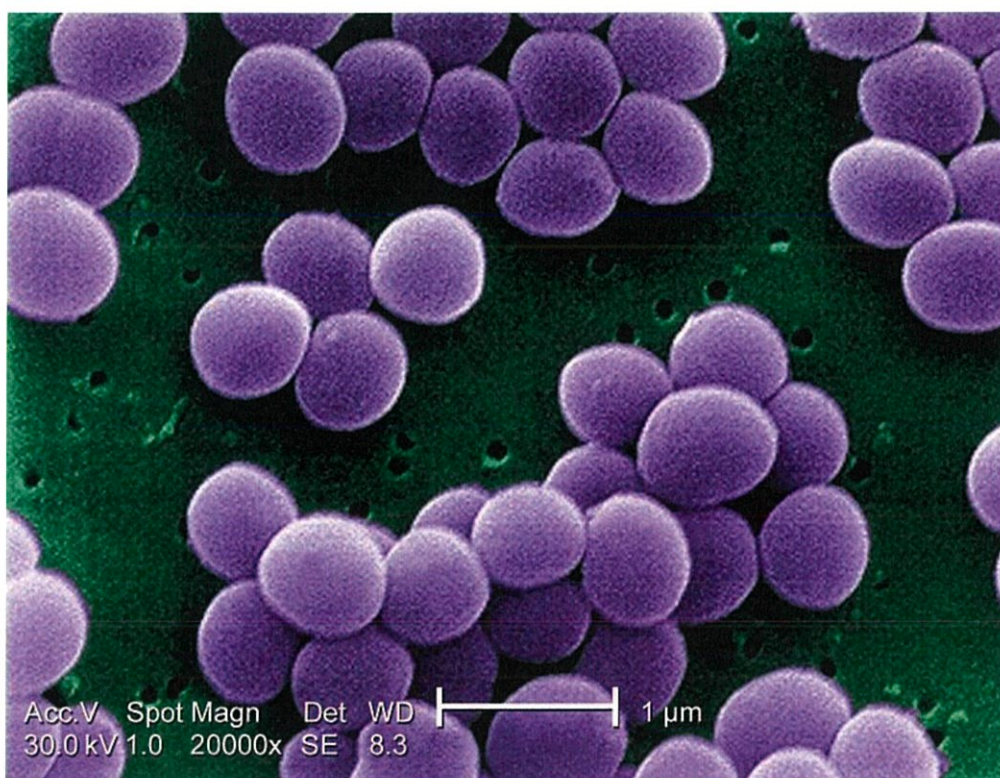
*Micrococcus luteus* เป็นแบคทีเรียซึ่งอยู่วงศ์ (family) *Micrococcaceae* ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกับ *Staphylococcus* เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram-positive bacteria) มีรูปร่างกลม (coccus) การแบ่งเซลล์แบบ binary fission ของแบคทีเรียวงศ์นี้ จะเกิดการแบ่งมากกว่าหนึ่งแนวทำให้เซลล์เกาะกันเป็นกลุ่ม ไม่สร้างสปอร์แต่สามารถสร้างเม็ดสี (pigment) ได้ ทำให้มีสีต่าง ๆ เช่น สีชมพู สีแดง สีส้มมี metabolism แบบ respiratory คือ อาศัยปฏิกิริยาออกซิเดทีฟในการเปลี่ยนสารประกอบคาร์บอนเป็นน้ำและพลังงาน สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรด แต่ไม่ผลิตก๊าซต้องการอากาศในการเจริญ (aerobic bacteria) *Micrococcus* เป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรค แต่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (microbial spoilage) ได้หลายประเภท เช่น การเสื่อมเสียของนํ้านม การเสื่อมเสียของไข่ การเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์ สัตว์ปีก อาหารกึ่งแห้ง อาหารทะเล ปลาหอย รวมทั้งผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เช่น ไส้กรอก แฮม (พิมพ์เพ็ญ, 2554)

*Escherichia coli*

รูปที่ จ.5 ลักษณะของเซลล์ *Escherichia coli* เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยาย 1000 เท่า

อ้างอิง : ([https://en.wikipedia.org/wiki/Escherichia\\_coli#/File:Scanning](https://en.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli#/File:Scanning))

*Escherichia coli* หรือเรียกโดยย่อว่า *E. coli* (อี. โคลิ) เป็นแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์มเป็นตัวชี้การปนเปื้อนของอุจจาระในน้ำ มีอยู่ตามธรรมชาติในลำไส้ใหญ่ของสัตว์ และมนุษย์ แบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดอาการท้องเสียบ่อยที่สุด ทั้งในเด็ก และผู้ใหญ่ (Tenailon, 2010) ทำให้ถ่ายอุจจาระเหลว หรือเป็นน้ำ แต่อาการมักไม่รุนแรง เพราะทั้งเด็ก และผู้ใหญ่มักมีภูมิคุ้มกันอยู่บ้างแล้ว เนื่องจาก ได้รับเชื้อนี้เข้าไปทีละน้อยอยู่เรื่อย ๆ เชื้อนี้มักปนเปื้อนมากับอาหาร น้ำ หรือ มือของผู้ประกอบอาหาร ปกติเชื้อเหล่านี้อาจพบในอุจจาระได้อยู่แล้วแม้จะไม่มีอาการอะไร มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น พม่า ไทย ลาว กัมพูชา อินโดนีเซีย เป็นต้น

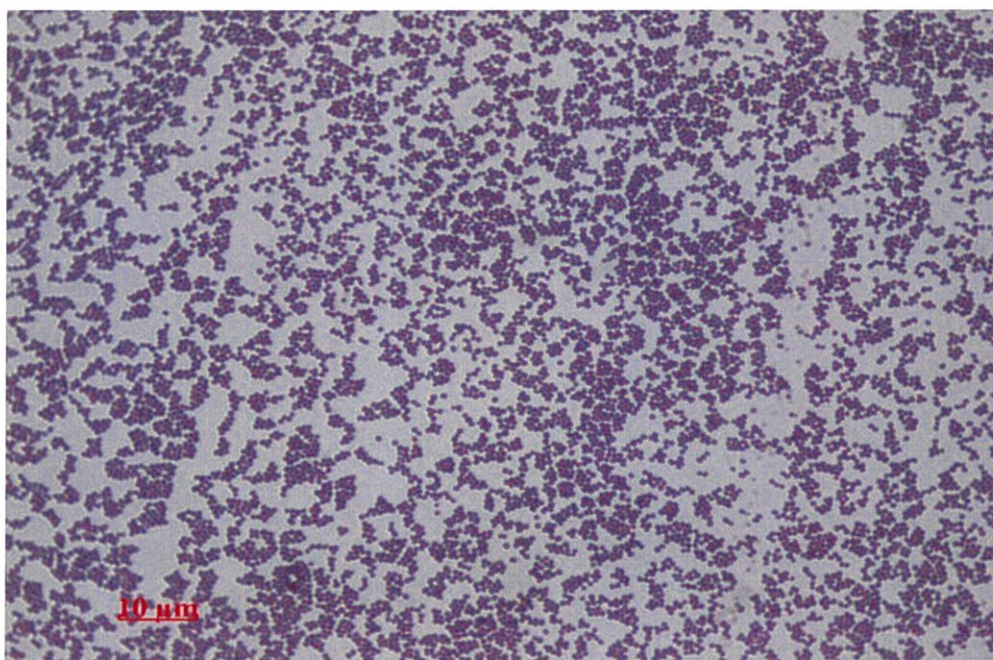
*Staphylococcus aureus*

รูปที่ จ.6 ลักษณะของเซลล์ *Staphylococcus aureus* เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 1000 เท่า

(อ้างอิง : [https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus\\_aureus#cite\\_note-49](https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus#cite_note-49))

*Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะกลมเรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น หรือ เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้น ๆ ไม่เคลื่อนที่ โคลนีสีเหลืองหรือสีทอง เจริญเติบโตได้ดีในสภาพมี ออกซิเจนมากกว่าในสภาพไม่มีออกซิเจน ช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตคือ 35-40 องศาเซลเซียส ช่วง pH หรือความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ที่ 7-7.5 (Masalha, 2001) เชื้อ *Staphylococcus aureus* มีชีวิตอยู่ได้ในอากาศ ฝุ่นละออง ขยะมูลฝอย น้ำ อาหาร และนม หรืออาหารบรรจุเสร็จ สภาวะ แวดล้อมภายนอกมนุษย์ และสัตว์ โดยจะพบอยู่ตาม ทางเดินหายใจ ลำคอ หรือเส้นผม และผิวหนัง *Staphylococcus aureus* บางสายพันธุ์ผลิตสารพิษที่ เรียกว่า เอนเทอโรทอกซิน (Enterotoxin) ทำให้อาหารเป็นพิษเอนเทอโรทอกซินที่ผลิตมีหลายชนิด แต่ชนิดที่พบว่าทำให้เกิดอาหารเป็นพิษบ่อย คือ ชนิดเอ และดี โดยช่วงอุณหภูมิที่เชื้อผลิตเอนเทอโรทอกซินอยู่ระหว่าง 15.6 และ 46.1 องศาเซลเซียส และผลิตได้ดีที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส(Dinges, 2000)

## *Staphylococcus epidermidis*



รูปที่ จ.7 ลักษณะของเซลล์ *Staphylococcus epidermidis* เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยาย 1000 เท่า







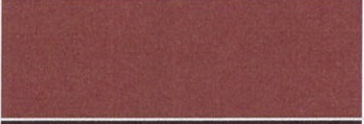

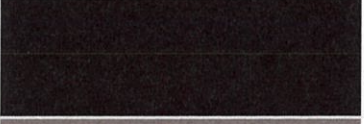
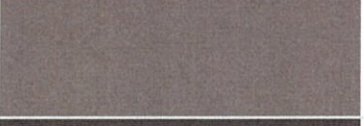

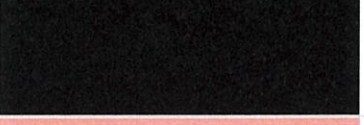



(อ้างอิง : [https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus\\_epidermidis](https://en.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_epidermidis))









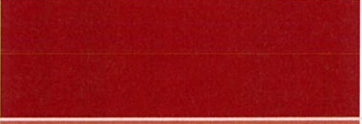




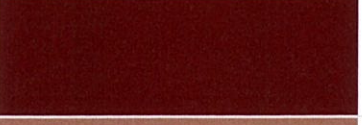
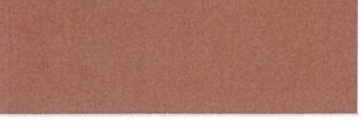
*Staphylococcus epidermidis* เป็นแบคทีเรียชนิด facultative anaerobic แกรมบวก รูปลูกกลม เป็นส่วนหนึ่งของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อประจำถิ่นในผิวหนัง และโพรงจมูก (Schleifer, 1975) เป็นแบคทีเรียก่อโรคชนิดหนึ่ง เมื่อ *S. aureus* ปนเปื้อนลงไปในการอาหาร จะสร้างสารพิษที่เรียกว่าเอนเทอโรทอกซินขึ้น ซึ่งแบ่งออกเป็น 8 ชนิด ได้แก่ ชนิด A, B, C1, C2, C3, D, E และ H สารพิษนี้ทนต่อความร้อนได้ดีมาก ทำให้ผู้บริโภคเกิดอาการเป็นพิษ หลังจากรับประทานอาหารที่มีแบคทีเรียปนเปื้อนเข้าไปประมาณ 1-6 ชั่วโมง อาการของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจาก *S. aureus* คือ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง ปวดท้องจากสารพิษ อาการมักเกิดขึ้นอย่างเฉียบพลัน ส่วนมากไม่มีไข้ ในรายรุนแรงอาจช็อกได้ (Levinson, 2010) เชื้อ *S. aureus* ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งเกิดจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนสารพิษแมในปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม ก็สามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ สารพิษชนิดนี้จะมีปริมาณสูงมากเมื่อมีเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร 100,000 เซลล์ต่อกรัมอาหารทำให้เกิดโรค Acute infection (ฝหนองแผลติดเชื้อ septicemia) และ Acute toxicosis (heat stable enterotoxin) (Hedin, 1993)

## ภาคผนวก ฉ

## กระดาศสีมาตรฐาน (The NBs/IBCC color system)

Hex	Color	Name
#FFB5BA		Vivid Pink
#EA9399		Strong Pink
#A4717A		Deep Pink
#F9CCCA		Light Pink
#DEA5A4		Moderate Pink
#C08081		Dark Pink
#EAD8D7		Pale Pink
#C4AEAD		Grayish Pink
#EAE3E1		Pinkish White
#C1B6B3		Pinkish Gray
#BE0032		Vivid Red
#BC3F4A		Strong Red

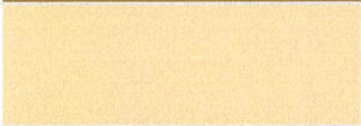

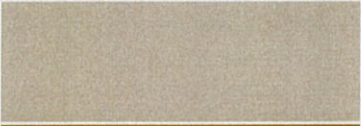




#841B2D		Deep Red
#5C0923		Very Deep Red
#AD4E52		Moderate Red
#722F37		Dark Red
#3F1728		Very Dark Red
#AD8884		Light Grayish Red
#905D5D		Grayish Red
#543D3F		Dark Grayish Red
#2E1D21		Blackish Red
#8F817F		Reddish Gray
#5C504F		Dark Reddish Gray
#282022		Reddish Black
#FFB7A5		Vivid Yellowish Pink
#F99379		Strong Yellowish Pink
#E66721		Deep Yellowish Pink


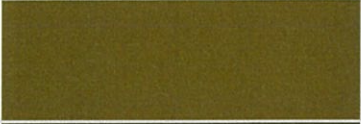

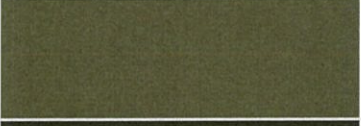
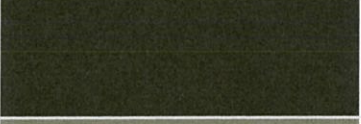


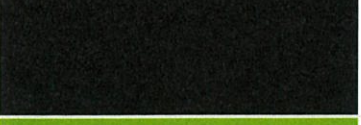


#F4C2C2		Light Yellowish Pink
#D9A6A9		Moderate Yellowish Pink
#C48379		Dark Yellowish Pink
#ECD5C5		Pale Yellowish Pink
#C7ADA3		Grayish Yellowish Pink
#C2AC99		Brownish Pink
#E25822		Vivid Reddish Orange
#D9603B		Strong Reddish Orange
#AA381E		Deep Reddish Orange
#CB6D51		Moderate Reddish Orange
#9E4732		Dark Reddish Orange
#B4745E		Grayish Reddish Orange
#882D17		Strong Reddish Brown
#56070C		Deep Reddish Brown
#A87C6D		Light Reddish Brown

#79443B		Moderate Reddish Brown
#3E1D1E		Dark Reddish Brown
#977F73		Light Grayish Reddish Brown
#674C47		Grayish Reddish Brown
#43302E		Dark Grayish Reddish Brown
#F38400		Vivid Orange
#FD943F		Brilliant Orange
#ED872D		Strong Orange
#BE6516		Deep Orange
#FAB57F		Light Orange
#D99058		Moderate Orange
#AE6938		Brownish Orange
#80461B		Strong Brown
#593319		Deep Brown
#A67B5B		Light Brown









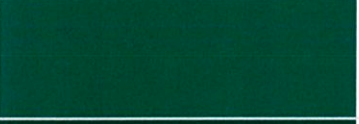
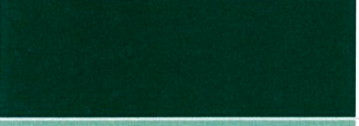





#6F4E37		Moderate Brown
#422518		Dark Brown
#958070		Light Grayish Brown
#635147		Grayish Brown
#3E322C		Dark Grayish Brown
#8E8279		Light Brownish Gray
#5B504F		Brownish Gray
#28201C		Brownish Black
#F6A600		Vivid Orange Yellow
#FFC14F		Brilliant Orange Yellow
#EAA221		Strong Orange Yellow
#C98500		Deep Orange Yellow
#FBC97F		Light Orange Yellow
#E3A857		Moderate Orange Yellow
#BE8A3D		Dark Orange Yellow








#FAD6A5		Pale Orange Yellow
#996515		Strong Yellowish Brown
#654522		Deep Yellowish Brown
#C19A6B		Light Yellowish Brown
#826644		Moderate Yellowish Brown
#4B3621		Dark Yellowish Brown
#AE9B82		Light Grayish Yellowish Brown
#7E6D5A		Grayish Yellowish Brown
#483C32		Dark Grayish Yellowish Brown
#F3C300		Vivid Yellow
#FADA5E		Brilliant Yellow
#D4AF37		Strong Yellow
#AF8D13		Deep Yellow
#F8DE7E		Light Yellow
#C9AE5D		Moderate Yellow









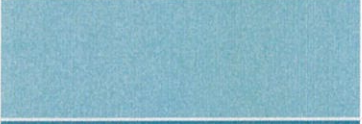






#AB9144		Dark Yellow
#F3E5AB		Pale Yellow
#C2B280		Grayish Yellow
#A18F60		Dark Grayish Yellow
#F0EAD6		Yellowish White
#BFB8A5		Yellowish Gray
#967117		Light Olive Brown
#6C541E		Moderate Olive Brown
#3B3121		Dark Olive Brown
#DCD300		Vivid Greenish Yellow
#E9E450		Brilliant Greenish Yellow
#BEB72E		Strong Greenish Yellow
#9B9400		Deep Greenish Yellow
#EAE679		Light Greenish Yellow
#B9B459		Moderate Greenish Yellow







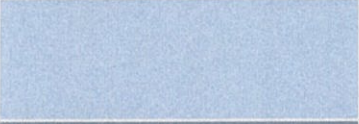
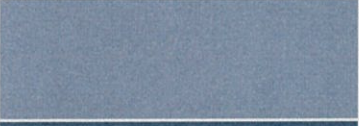



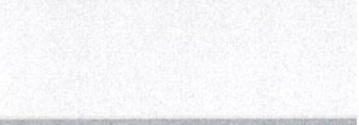



#98943E		Dark Greenish Yellow
#EBE8A4		Pale Greenish Yellow
#B9B57D		Grayish Greenish Yellow
#867E36		Light Olive
#665D1E		Moderate Olive
#403D21		Dark Olive
#8C8767		Light Grayish Olive
#5B5842		Grayish Olive
#363527		Dark Grayish Olive
#8A8776		Light Olive Gray
#57554C		Olive Gray
#25241D		Olive Black
#8DB600		Vivid Yellow Green
#BDDA57		Brilliant Yellow Green
#7E9F2E		Strong Yellow Green

#467129		Deep Yellow Green
#C9DC89		Light Yellow Green
#8A9A5B		Moderate Yellow Green
#DADFB7		Pale Yellow Green
#8F9779		Grayish Yellow Green
#404F00		Strong Olive Green
#232F00		Deep Olive Green
#4A5D23		Moderate Olive Green
#2B3D26		Dark Olive Green
#515744		Grayish Olive Green
#31362B		Dark Grayish Olive Green
#27A64C		Vivid Yellowish Green
#83D37D		Brilliant Yellowish Green
#44944A		Strong Yellowish Green
#00622D		Deep Yellowish Green

#003118		Very Deep Yellowish Green
#B6E5AF		Very Light Yellowish Green
#93C592		Light Yellowish Green
#679267		Moderate Yellowish Green
#355E3B		Dark Yellowish Green
#173620		Very Dark Yellowish Green
#008856		Vivid Green
#3EB489		Brilliant Green
#007959		Strong Green
#00543D		Deep Green
#8ED1B2		Very Light Green
#6AAB8E		Light Green
#3B7861		Moderate Green
#1B4D3E		Dark Green
#1C352D		Very Dark Green

#C7E6D7		Very Pale Green
#8DA399		Pale Green
#5E716A		Grayish Green
#3A4B47		Dark Grayish Green
#1A2421		Blackish Green
#DFEDE8		Greenish White
#B2BEB5		Light Greenish Gray
#7D8984		Greenish Gray
#4E5755		Dark Greenish Gray
#1E2321		Greenish Black
#008882		Vivid Bluish Green
#00A693		Brilliant Bluish Green
#007A74		Strong Bluish Green
#00443F		Deep Bluish Green
#96DED1		Very Light Bluish Green









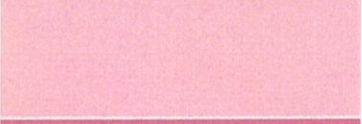






#66ADA4		Light Bluish Green
#317873		Moderate Bluish Green
#004B49		Dark Bluish Green
#002A29		Very Dark Bluish Green
#0085A1		Vivid Greenish Blue
#239EBA		Brilliant Greenish Blue
#007791		Strong Greenish Blue
#2E8495		Deep Greenish Blue
#9CD1DC		Very Light Greenish Blue
#66AABC		Light Greenish Blue
#367588		Moderate Greenish Blue
#004958		Dark Greenish Blue
#002E3B		Very Dark Greenish Blue
#00A1C2		Vivid Blue
#4997D0		Brilliant Blue














#0067A5		Strong Blue
#00416A		Deep Blue
#A1CAF1		Very Light Blue
#70A3CC		Light Blue
#436B95		Moderate Blue
#00304E		Dark Blue
#BCD4E6		Very Pale Blue
#91A3B0		Pale Blue
#536878		Grayish Blue
#36454F		Dark Grayish Blue
#202830		Blackish Blue
#E9E9ED		Bluish White
#B4BCC0		Light Bluish Gray
#81878B		Bluish Gray
#51585E		Dark Bluish Gray

#202428		Bluish Black
#30267A		Vivid Purplish Blue
#6C79B8		Brilliant Purplish Blue
#545AA7		Strong Purplish Blue
#272458		Deep Purplish Blue
#B3BCE2		Very Light Purplish Blue
#8791BF		Light Purplish Blue
#4E5180		Moderate Purplish Blue
#252440		Dark Purplish Blue
#C0C8E1		Very Pale Purplish Blue
#8C92AC		Pale Purplish Blue
#4C516D		Grayish Purplish Blue
#9065CA		Vivid Violet
#7E73B8		Brilliant Violet
#604E97		Strong Violet

#32174D		Deep Violet
#DCD0FF		Very Light Violet
#8C82B6		Light Violet
#604E81		Moderate Violet
#2F2140		Dark Violet
#C4C3DD		Very Pale Violet
#9690AB		Pale Violet
#554C69		Grayish Violet
#9A4EAE		Vivid Purple
#D399E6		Brilliant Purple
#875692		Strong Purple
#602F6B		Deep Purple
#401A4C		Very Deep Purple
#D5BADB		Very Light Purple
#B695C0		Light Purple

#86608E		Moderate Purple
#563C5C		Dark Purple
#301934		Very Dark Purple
#D6CADD		Very Pale Purple
#AA98A9		Pale Purple
#796878		Grayish Purple
#50404D		Dark Grayish Purple
#291E29		Blackish Purple
#E8E3E5		Purplish White
#BFB9BD		Light Purplish Gray
#8B8589		Purplish Gray
#5D555B		Dark Purplish Gray
#242124		Purplish Black
#870074		Vivid Reddish Purple
#9E4F88		Strong Reddish Purple

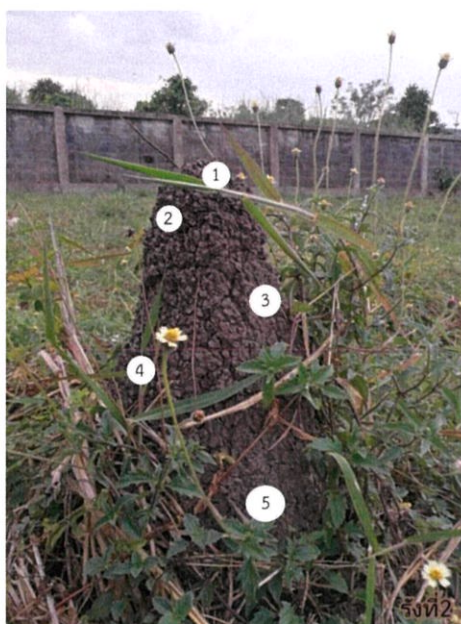
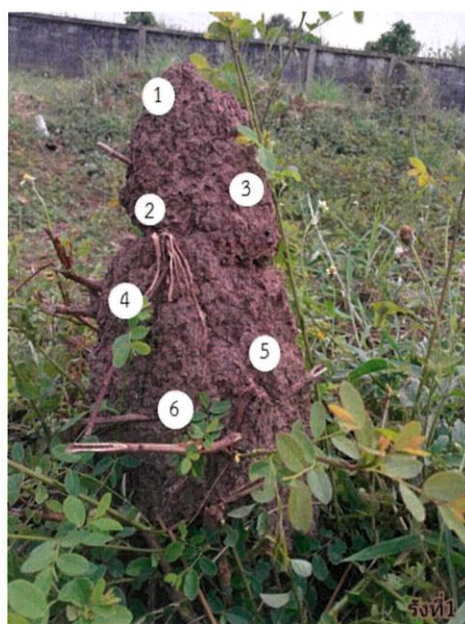
#702963		Deep Reddish Purple
#54194E		Very Deep Reddish Purple
#B784A7		Light Reddish Purple
#915C83		Moderate Reddish Purple
#5D3954		Dark Reddish Purple
#341731		Very Dark Reddish Purple
#AA8A9E		Pale Reddish Purple
#836479		Grayish Reddish Purple
#FFC8D6		Brilliant Purplish Pink
#E68FAC		Strong Purplish Pink
#DE6FA1		Deep Purplish Pink
#EFBBCC		Light Purplish Pink
#D597AE		Moderate Purplish Pink
#C17E91		Dark Purplish Pink
#E8CCD7		Pale Purplish Pink

#C3A6B1		Grayish Purplish Pink
#CE4676		Vivid Purplish Red
#B3446C		Strong Purplish Red
#78184A		Deep Purplish Red
#54133B		Very Deep Purplish Red
#A8516E		Moderate Purplish Red
#673147		Dark Purplish Red
#38152C		Very Dark Purplish Red
#AF868E		Light Grayish Purplish Red
#915F6D		Grayish Purplish Red
#F2F3F4		White
#B9B8B5		Light Gray
#848482		Medium Gray
#555555		Dark Gray
#222222		Black

## ภาคผนวก ข

## ภาพถ่ายดินรังปลวกจากแหล่งที่เก็บ

จุดเก็บตัวอย่างดินรังปลวกครั้งที่ 1 ที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากสถานที่เก็บตัวอย่างที่ ตำบลคลองหลวงแพ่ง อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา เมื่อวันที่ 13 ธันวาคม พ.ศ. 2560



รูปที่ ข.1 ดินรังปลวกที่ ตำบลคลองหลวงแพ่ง อำเภอเมือง จังหวัดฉะเชิงเทรา

จุดเก็บตัวอย่างดินร้งปลวกครั้งที่ 2 ที่ใช้ในการตัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากสถานที่เก็บตัวอย่างที่แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร เมื่อวันที่ 18 มกราคม พ.ศ. 2561



รูปที่ ข.2 ดินร้งปลวกที่แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

จุดเก็บตัวอย่างดินร้งปลวกครั้งที่ 3 ที่ใช้ในการตัดแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากสถานที่เก็บตัวอย่างที่ แขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร เมื่อวันที่ 3 พฤษภาคม พ.ศ. 2561



รูปที่ ข.3 ดินร้งปลวกที่แขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล นางสาวเมทิกา วิจิตรโชติ (หยก)

E-mail jademetika@gmail.com

### ประวัติการศึกษา

2556 มัธยมศึกษา (วิทยาศาสตร์ – คณิตศาสตร์)

โรงเรียนมงฟอร์ตวิทยาลัย เชียงใหม่

2561 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กำลังศึกษาต่อ Diploma in Business Management ที่ Arbutus college, 473 W Hastings St, Vancouver, BC V6B 1L4, Canada

ชื่อ-นามสกุล นางสาวสุพินดา เขียรสรราชัย (ปิ๊ก)

E-mail psupinda.th@gmail.com

### ประวัติการศึกษา

2556 มัธยมศึกษา (วิทยาศาสตร์ – คณิตศาสตร์)

โรงเรียนเซนต์หลุยส์ ฉะเชิงเทรา

2561 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
คำรับรองเล่มโครงการพิเศษ

วันที่ 11 เดือน กรกฎาคม พ.ศ 2561

ข้าพเจ้า นางสาวเมธิกา วิจิตรโชติ รหัสประจำตัว 57050878  
นางสาวสุพินดา เขียรสรราชัย รหัสประจำตัว 57050911

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์  
ขอรับรองว่าโครงการพิเศษ เรื่อง  
ชื่อภาษาไทย การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินรังปลวกที่สร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและ  
ฟอสโฟลิปิด

ชื่อภาษาอังกฤษ Actinomycetes Isolation From Termite Nests With Their Antimicrobial  
Activity And Phospholipid Profile

ปีการศึกษา 2560

เป็นผลงานวิจัยที่มีได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อน  
เรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่ม  
โครงการพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 2.13 %

ลงชื่อ.....*เมธิกา วิจิตรโชติ*.....

( นางสาวเมธิกา วิจิตรโชติ )

นักศึกษา

ลงชื่อ.....

( นางสาวสุพินดา เขียรสรราชัย )

นักศึกษา

ข้าพเจ้า ดร. คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ อาจารย์ที่โครงการพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงการพิเศษของนักศึกษา  
ข้างต้นแล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็น  
หลักฐาน

ลงชื่อ.....*คณิงกานต์ กลั่นบุศย์*.....

อาจารย์ที่ปรึกษา