



## โครงการ

### การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ	การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยรา Fungal biotransformation of ginger bagasse extract
ชื่อนิสิต	นายภัทรนนท์ วงศ์ภาค
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2562

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยรา

Fungal biotransformation of ginger bagasse extract

โดย

นายภัทรนนท์ วงศ์กาศ

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2562

โครงการ การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยรา

โดย นายภัทรนนท์ วงศ์กาศ

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

- |  |                  |
|--|------------------|
| 1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราวุฒิ ตั้งพสุธาตล | ประธานกรรมการ    |
| 2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปาริฉัตร วนลาภพัฒนา | กรรมการ          |
| 3. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพพร วินยเวคิน      | อาจารย์ที่ปรึกษา |

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี

  
.....อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพพร วินยเวคิน)

อาจารย์ที่ปรึกษา

  
.....หัวหน้าภาควิชาเคมี

(รองศาสตราจารย์ ดร.วุฒิชัย พาราสุข)

วันที่.....เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2563

ชื่อโครงการ                      การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยรา

ชื่อนิสิตในโครงการ            นายภัทรนนท์ วงศ์ภาค                      เลขประจำตัว 5933081523

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา            ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นวพร วินยเวคิน

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2562

### บทคัดย่อ

การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพ (Biotransformation) เป็นกระบวนการแปลงเปลี่ยนสารเป็นสารใหม่ด้วยวิธีการทางชีวภาพ เช่น จุลินทรีย์ งานวิจัยนี้ต้องการนำวิธีการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพมาเปลี่ยนโครงสร้างทางโมเลกุลของสารสำคัญหลักที่พบในกากขิงให้เป็นสารใหม่ ที่อาจมีฤทธิ์ดีกว่าหรือแตกต่างไปจากเดิม ซึ่งอาจช่วยเพิ่มมูลค่าให้กากขิงได้ ผู้วิจัยได้แยกรา 12 สายพันธุ์จากดินใต้ต้นขิง ได้แก่ ราสายพันธุ์ GS1, GS2, GS3, GS4, GS6, GS7, GS8, GS10, GS12, GS13, GS14 และ GS15 และศึกษาความสามารถของราเหล่านี้ในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสำคัญหลักในสารสกัดจากกากขิง เช่น 6-gingerol และ 6-shogaol ซึ่งพบว่า ราเหล่านี้สามารถเปลี่ยนสารสำคัญหลักในสารสกัดจากกากขิงเป็นผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกันทั้งหมด 8 ชนิด ในราเหล่านี้ มีรา 5 สายพันธุ์ ได้แก่ ราสายพันธุ์ GS1, GS3, GS6, GS7 และ GS14 ที่มีความสามารถเปลี่ยนสารตั้งต้นเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีพื้นที่ใต้พีคค่อนข้างสูงในโครมาโทแกรม HPLC อีกทั้งยังครอบคลุมกับพีคของผลิตภัณฑ์ใหม่ทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากราสายพันธุ์อื่น ผู้วิจัยจึงได้ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการเก็บและแยกผลิตภัณฑ์ใหม่ที่เกิดขึ้นจากรา 5 สายพันธุ์นี้ โดยวิเคราะห์จากการเปลี่ยนแปลงของพื้นที่ใต้พีคของสารตั้งต้น คือ 6-gingerol และ 6-shogaol ในสารสกัดจากกากขิง และผลิตภัณฑ์ใหม่จากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพ ซึ่งมีเวลาบนโครมาโทแกรม HPLC ต่างออกไปจากชุดควบคุมที่ไม่มีราที่เวลาต่างๆ จากการทดลอง พบว่า ราสายพันธุ์ GS1, GS3, GS6 และ GS7 สามารถเปลี่ยนรูปทางชีวภาพได้ทั้ง 6-gingerol และ 6-shogaol โดย GS1 และ GS3 ให้ผลิตภัณฑ์ที่เวลา 12.9 นาที โดยภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการเก็บและแยกผลิตภัณฑ์นี้คือที่เวลา 3 และ 2 วันหลังการบ่ม ตามลำดับ, GS6 ให้ผลิตภัณฑ์ที่เวลา 15.9 และ 19.5 นาที และภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือที่เวลา 2 วันหลังการบ่ม และ GS7 ให้ผลิตภัณฑ์ที่เวลา 10.7, 15.4, 19.5 และ 23.1 นาที ภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ ที่เวลา 7, 7, 1 และ 3 วันหลังการบ่ม ตามลำดับ ในขณะที่ราสายพันธุ์ GS14 สามารถเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-shogaol เท่านั้น และให้ผลิตภัณฑ์ใหม่ที่เวลา 19.5 นาที ซึ่งภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการเก็บและแยกผลิตภัณฑ์นี้คือ ที่เวลา 2 วันหลังการบ่ม ผลการทดลองนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ และการแยกสารเพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพทั้งต่อสุขภาพและทางการแพทย์ต่อไป

คำสำคัญ : การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพ, 6-gingerol, 6-shogaol

Project Title                    Fungal biotransformation of ginger bagasse extract

Student Name                    Ms. Pattaranon Wongkart                    Student ID 5933081523

Advisor Name                    Assistant Professor Nawaporn Vinayavekhin, Ph.D.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2019

### **Abstract**

Biotransformation is a process that changes a substance to a new compound by a biological method, such as by microorganisms. This research aims to use the process of biotransformation for changing the molecular structure of major substances founded in ginger bagasse extract into new substances. The quality of new substances may be better than or different from the former substances, and it may increase the value of ginger bagasse. Therefore, the researcher isolated 12 strains of fungi from soil underneath ginger tree, which were strains GS1, GS2, GS3, GS4, GS6, GS7, GS8, GS10, GS12, GS13, GS14 and GS15, and studied the abilities of these fungi for biotransformation of the major substances in ginger bagasse extract, e.g. 6-gingerol and 6-shogaol, which found that these fungi had the abilities to change the major substances in ginger bagasse extract into 8 new different products. Among these fungi, five of them, GS1, GS3, GS6, GS7 and GS14, were able to change the reactants into new products with relatively high peak areas on HPLC chromatograms. In addition, these product peaks covered all other product peaks produced by other fungal strains. Thus, the researcher examined the most appropriate conditions for storing and separating the new products occurring from these 5 fungal strains by analyzing the changes in peak areas of the reactants which are 6-gingerol and 6-shogaol, in ginger bagasse extract and of new products from biotransformation, which had different retention time (RT) on HPLC chromatograms from those of controls without fungus, at various time. From the experiment, it was found that the fungal strains GS1, GS3, GS6 and GS7 could biotransform both 6-gingerol and 6-shogaol. GS1 and GS3 gave the product with the RT of 12.9 minutes, and the most appropriate condition for storing and separating the product was at day 3 and 2 after incubation, respectively. GS6 gave the products with the RT of 15.9 and 19.5 minutes, and the most appropriate conditions were at days 2 after incubation. GS7 gave the products with the RT of 10.7, 15.4, 19.5, and 23.1 minutes, and the most appropriate conditions were at days 7, 7, 1 and 3 after incubation, respectively.

On the other hand, GS14 could biotransform 6-shogaol only, and gave new product at the RT of 19.5 minutes, and its most appropriate condition for storing and separating product was at day 2 after incubation. The findings will be beneficial for the characterization and the separation of products to test for the biological activities both relating to health and agriculture in the future.

Keywords : Biotransformation, 6-gingerol, 6-shogaol

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดีเนื่องจากความอนุเคราะห์ของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นวพร วินยเวคิน อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ ที่กรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย ให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำต่าง ๆ ต่อการดำเนินงานวิจัยนี้ ตลอดจนตรวจทาน แก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความใส่ใจตั้งแต่เริ่มต้น จนกระทั่งงานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์ อีกทั้งยังได้ให้ข้อคิดและกำลังใจยามท้อแท้ ผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราวุฒิ ตั้งพสุธาตล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปาริฉัตร วนลาภพัฒนา ที่สละเวลาให้เกียรติมาเป็นกรรมการสอบและตรวจสอบแก้ไขรายงานให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตรตรา เพ็ญภูเขียว ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ และสารเคมี ภาควิชาพฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และนิสิตปริญญาเอก ในกลุ่มวิจัยของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิตรตรา เพ็ญภูเขียว นายคณิน เลิศรังษี นิสิตปริญญาโท ในกลุ่มวิจัยของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นวพร วินยเวคิน ที่ให้ความรู้คำปรึกษาขณะทำงานวิจัยและช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่าน ที่ได้กรุณาถ่ายทอดความรู้ ประสบการณ์ และเทคนิคปฏิบัติการอันเป็นพื้นฐานในการทำงานวิจัยตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา และขอระลึกถึงกำลังใจและความช่วยเหลือจากครอบครัวและเพื่อน ๆ รวมถึงบุคคลที่ไม่ได้เอ่ยนามมา ณ ที่นี้ จนสามารถดำเนินงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ผู้วิจัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญตาราง	ณ
สารบัญรูป	ญ
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
1.2.1 ชิง ( <i>Zingiber officinale</i> ) และประโยชน์ของชิง	2
1.2.2 สารองค์ประกอบสำคัญในเหง้าชิง และสมบัติต่าง ๆ	2
1.2.3 การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพด้วยจุลินทรีย์ (Microbial Biotransformation)	4
1.3 วัตถุประสงค์	8
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	8
<b>บทที่ 2 การทดลอง</b>	9
2.1 รายการเครื่องมือและอุปกรณ์	9
2.2 รายการสารเคมี	10
2.2.1 สารตัวอย่าง	10
2.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อโรสเบนกอล (rose bengal)	10
2.2.3 สารเคมีที่ใช้ใน HPLC	10
2.2.4 สารเคมีอื่นๆ	10
2.3 การเตรียมสารสกัดจากกาบชิง	11
2.4 การเตรียมสารละลายสเตรปโตมัยซิน	11

2.5 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งโรสเบนกอล	11
2.6. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Potato Dextrose Agar (PDA) และอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Patato Dextrose Broth (PDB)	12
2.6.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Potato Dextrose Agar (PDA)	12
2.6.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Potato Dextrose Broth (PDB)	12
2.7 การเตรียมสารละลาย 60% กลีเซอรอลในน้ำ	12
2.8 การแยกราจากดินใต้ต้นขิง	12
2.9 การเก็บรักษา	13
2.10 การเตรียมสารละลายของสารสกัดจากกากขิง 2% ใน DMSO	13
2.11 การเตรียมสารละลาย 20% Tween 80 ในน้ำ	13
2.12 การเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC	13
2.13 การวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิค HPLC	14
2.14 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมและจลนพลศาสตร์ของการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ สารสกัดจากกากขิง	15
<b>บทที่ 3 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง</b>	16
3.1 การแยกราจากดินใต้ต้นขิง	16
3.2 ทดสอบการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดจากกากขิงโดยราที่คัดแยกมา	19
3.3 การหาภาวะที่เหมาะสมและจลนพลศาสตร์ของการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัด จากกากขิงโดยรา	24
<b>บทที่ 4 สรุปผลการทดลองและการศึกษาในอนาคต</b>	35
เอกสารอ้างอิง	37
ภาคผนวก	39
ประวัติผู้วิจัย	103

## สารบัญตาราง

## หน้า

ตารางที่ 3.1	สายพันธุ์ของราที่ถูกแยกจากดินใต้ต้นขิงจนมีความบริสุทธิ์และลักษณะที่สังเกตเห็นบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA หลังจากบ่ม 7 วัน	17
ตารางที่ 3.2	ระยะเวลาที่สารถูกหน่วงเหนี่ยวไว้กับเฟสคงที่ (retention time) พื้นที่ใต้พีคของ 6-gingerol และ 6-shogaol ในสารสกัดจากกากขิง และผลิตภัณฑ์จากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพด้วยราสายพันธุ์ต่างๆ ที่คัดแยกจากดินใต้ต้นขิง ที่พบบนโครมาโทแกรม HPLC ที่ 220 nm	22

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1.1 โครงสร้างสารสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยของชิงกลุ่ม monoterpenoids	3
รูปที่ 1.2 โครงสร้างสารสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยของชิงกลุ่ม sesquiterpenoids	3
รูปที่ 1.3 สมมติฐานกระบวนการในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ $\alpha$ -mangostin เป็น cyclo-magostanin ด้วย <i>Colletotrichum sp.</i> MT02	5
รูปที่ 1.4 การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-gingerol ด้วย <i>Aspergillus niger</i>	5
รูปที่ 1.5 การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-shogaol ด้วย <i>Aspergillus niger</i>	6
รูปที่ 1.6 โครงสร้าง capsaicinoid ชนิด vaniloids	6
รูปที่ 1.7 กระบวนการในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพที่เป็นไปได้ของ 6-shogaol เป็น $\gamma$ -lactone ของ 6-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-4-hydroxy-hexanoic acid ด้วย <i>Aspergillus niger</i>	7
รูปที่ 1.8 กระบวนการในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-shogaol เป็น (E)-4-(3-hydroxydec-4-en-1-yl)-2-methoxyphenol, 6-paradol, 9-hydeoxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)nonan-3-one และ 9-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)nonane-1,7-diol ด้วยรา <i>Aspergillus niger</i> จากการศึกษาด้วยเทคนิค LC-QTOF MS	8
รูปที่ 3.1 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ในการทดสอบการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพเบื้องต้นที่ 220 nm	20
รูปที่ 3.2 พื้นที่ใต้พีคของ 6-gingerol และ 6-shogaol ณ วันที่ 0-7 บนโครมาโทแกรม HPLC ของชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ทั้งนี้ พื้นที่ใต้พีค ณ วันที่ 0 เป็นข้อมูลจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่ราและไม่ได้บ่ม	25
รูปที่ 3.3 ตัวอย่างโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากชิงด้วยราสายพันธุ์ GS1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน	26
รูปที่ 3.4 ตัวอย่างโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากชิงของราสายพันธุ์ GS1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน	26
รูปที่ 3.5 พื้นที่ใต้พีคของ 6-gingerol 6-shogaol และผลิตภัณฑ์ ณ วันที่ 0-7 บนโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากชิงด้วยราสายพันธุ์ GS1 ทั้งนี้ พื้นที่ใต้พีค ณ วันที่ 0 ของ 6-gingerol และ 6-shogaol เป็นข้อมูลจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่ราและไม่ได้บ่ม	27
รูปที่ 3.6 ตัวอย่างโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากชิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน	28
รูปที่ 3.7 ตัวอย่างโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากชิงของราสายพันธุ์ GS3 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน	28



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สารประกอบทางเคมีที่พบในขิงส่วนใหญ่เป็นสารประกอบฟีนอล เช่น จินเจอร์อล (gingerol) โชกาออล (shogaol)<sup>1</sup> ซิงเจอโรน (zingeron)<sup>2</sup> สารเหล่านี้มีสมบัติเป็นเครื่องเทศที่ใช้แต่งกลิ่นอาหารเพิ่มรสชาติ และดับกลิ่นคาวของเนื้อสัตว์ อีกทั้งยังมีสรรพคุณเป็นยาแก้ท้องอืดและท้องเฟ้อ แก้ไข้หวัด ไอ คลื่นไส้ อาเจียน<sup>3</sup>

วิธีการบริโภคขิงรูปแบบหนึ่ง คือ การนำมาทำเป็นน้ำขิงซึ่งเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก<sup>4</sup> จากประโยชน์ในการช่วยลดอาการท้องอืด และบรรเทาอาการคลื่นไส้อาเจียน ปัจจุบันจึงมีอุตสาหกรรมแปรรูปขิงเป็นน้ำขิงเกิดขึ้น ทำให้ง่ายต่อการบริโภคและช่วยยืดอายุของขิง<sup>5</sup> อย่างไรก็ตาม กระบวนการแปรรูปดังกล่าวส่งผลให้มีกากขิงเกิดขึ้นในปริมาณมาก ซึ่งโดยปกติแล้วกลายเป็นปุ๋ยราคาถูก การเพิ่มมูลค่าให้กากขิงที่เหลือจากการแปรรูปนี้จะช่วยเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้กับอุตสาหกรรมนี้ได้

การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพ (Biotransformation)<sup>6</sup> คือการปรับเปลี่ยนโครงสร้างทางโมเลกุลของสารที่สนใจไปเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างทางโมเลกุลหรือมีสมบัติที่แตกต่างไปจากเดิม โดยการใช้แบคทีเรีย<sup>7</sup> รา<sup>8</sup> หรือ เอ็นไซม์ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพ ถือเป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เพื่อสังเคราะห์อนุพันธ์ของสารที่อาจมีฤทธิ์เป็นยารักษาโรคหรือสารที่สังเคราะห์ได้ยากด้วยวิธีทางเคมี<sup>9</sup> เพื่อเปลี่ยนรูปให้สารมีมูลค่าสูงขึ้น และเพื่อย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนหรือสารปนเปื้อนอื่น ๆ<sup>6</sup> เนื่องจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพนี้เป็นวิธีที่ไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมี วิธีการนี้จึงมีความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม<sup>10</sup>

ในงานวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำวิธีการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพมาปรับเปลี่ยนโครงสร้างทางโมเลกุลของสารสำคัญหลักที่พบในกากขิงให้เป็นสารใหม่ ที่อาจมีฤทธิ์ดีกว่าหรือแตกต่างไปจากเดิม ซึ่งอาจช่วยเพิ่มมูลค่าให้กากขิงได้

## 1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 1.2.1 ชิง (*Zingiber officinale*) และประโยชน์ของชิง

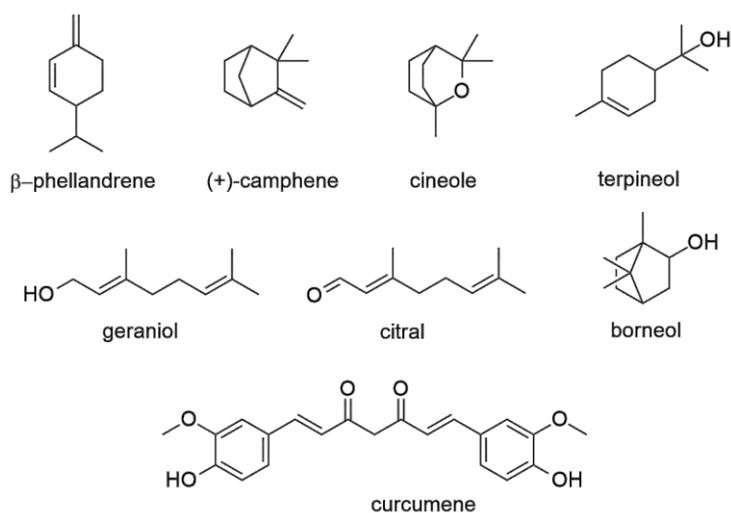
ชิง เป็นสมุนไพรพื้นบ้านใกล้ตัว ถูกใช้เป็นเครื่องเทศในการประกอบอาหาร มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zingiber officinale* จัดเป็นพืชวงศ์ Zingiberaceae ซึ่งเป็นพืชล้มลุกมีเหง้า (รากชิง) ใต้ดิน แตกแขนงคล้ายนิ้วมือ เปลือกนอกมีสีน้ำตาลแกมเหลือง เนื้อด้านในสีเหลืองนวล และมีกลิ่นเฉพาะตัว ลำต้นที่อยู่เหนือดินสูงประมาณ 2-3 ฟุต เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ใบมีลักษณะเรียวยาวแคบ ปลายใบแหลม เรียงสลับ ดอกเป็นช่อขนาดเล็ก ก้านดอกสั้น แทงออกจากเหง้า กลีบดอกสีเหลืองบานจากโคนสู่ปลาย ผลเป็นผลแห้งมี 3 พู<sup>11</sup>

ชิงเป็นส่วนประกอบของอาหารหลากหลายชนิด โดยเฉพาะอาหารเอเชีย ส่วนที่นำมาใช้ประกอบอาหารมักเป็นส่วนของเหง้าชิง ที่มีรสชาติเผ็ดร้อน เป็นส่วนประกอบที่ช่วยเพิ่มกลิ่นและรสชาติให้อาหาร นอกจากนี้ ยังสามารถนำชิงมาดองเพื่อใช้เป็นเครื่องเคียง หรือนำมาต้มเป็นเครื่องดื่ม เช่น น้ำชิงเพื่อช่วยเพิ่มความอบอุ่น และช่วยปรับสมดุลของธาตุลมในร่างกายได้อีกด้วย<sup>12</sup>

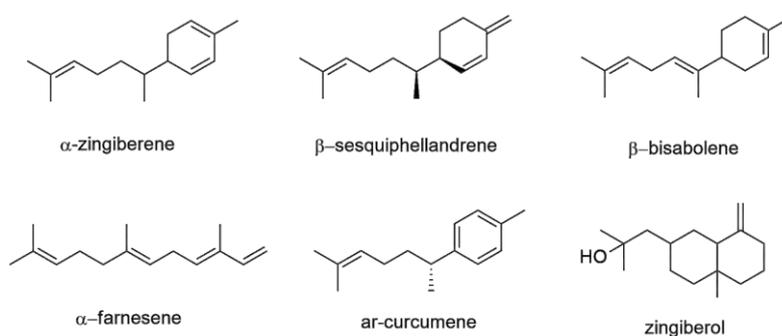
นอกจากเป็นอาหารแล้วชิงยังมีสรรพคุณเป็นยาโดยเป็นส่วนประกอบทั้งในตำรับยาไทย ยาจีน และยาอายุรเวท ส่วนที่นิยมนำมาใช้ คือเหง้า มีสรรพคุณช่วยขับลม แก้อท้องอืด จุกเสียด แน่นเฟ้อ แก้กลิ้นไส้ อาเจียน แก้อหอบไอ ขับเสมหะ<sup>3</sup> สารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจะออกฤทธิ์กระตุ้นการบีบตัวของกระเพาะอาหารและลำไส้<sup>13</sup> นอกจากนี้ยังมีส่วนอื่นที่มีสรรพคุณทางยา<sup>14</sup> ได้แก่ ส่วนลำต้นช่วยขับลมให้ผายเรอ แก้อจุกเสียด แก้อท้องร่วง ส่วนใบช่วยบำรุงกำเดา แก้อฟกัซ้ แก้นิว แก้อขัดปัสสาวะ แก้อโรคตา ฆ่าพยาธิ ส่วนดอกช่วยแก้อโรคประสาท ช่วยย่อยอาหาร ส่วนผลช่วยบำรุงน้ำมัน แก้อไข้ แก้อค้อแห้ง เจ็บคอ แก้อตาฟาง เป็นยาอายุวัฒนะ

### 1.2.2 สารองค์ประกอบสำคัญในเหง้าชิง และสมบัติต่าง ๆ

เหง้าชิงมีกลิ่นฉุน มีเส้นใยที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบ มีน้ำมันหอมระเหย เม็ดสี (pigments) และ oleoresin<sup>1</sup> สารสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยของชิงมีมากกว่า 50 ชนิด ส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่ม monoterpenoids<sup>15,16</sup> (รูปที่ 1.1) เช่น  $\beta$ -phellandrene, (+)-camphene, cineole, geraniol, curcumene, citral, terpineol, borneol และกลุ่ม sesquiterpenoids (รูปที่ 1.2) ได้แก่  $\alpha$ -zingiberene,  $\beta$ -sesquiphellandrene,  $\beta$ -bisabolene,  $\alpha$ -farnesene, ar-curcumene และ zingiberol ส่วนสารที่ทำให้ชิงมีกลิ่นฉุน คือสาร phenolics ในกลุ่ม gingerols ที่พบมากที่สุดคือ 6-gingerol แต่เมื่อทำให้ชิงแห้งสารเหล่านี้อาจเปลี่ยนแปลงเป็นสารไม่มีกลิ่น



รูปที่ 1.1 โครงสร้างสารสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยของขิงกลุ่ม monoterpenoids<sup>15,16</sup>



รูปที่ 1.2 โครงสร้างสารสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยของขิงกลุ่ม sesquiterpenoids<sup>15,16</sup>

จากการศึกษาก่อนหน้า มีการค้นพบสารออกฤทธิ์ในสารสกัดจากขิงที่เป็นส่วนของโมเลกุลที่ไม่มีขั้ว และละลายได้ดีในน้ำมัน ที่สามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็น shogaol, zingerone และ paradol ได้<sup>17</sup> ในปี ค.ศ. 2008 จากการศึกษาของ Zick SM และคณะ<sup>18</sup> พบว่ามีองค์ประกอบมากมายที่ปรากฏในขิง ได้แก่ terpene และ oleoresin ที่ถูกเรียกรวมว่า น้ำมันขิง (ginger oil) ยิ่งไปกว่านั้นขิงยังประกอบด้วยสารระเหยได้ประมาณ 1-3 % และสารประกอบที่ระเหยยากอย่าง oleoresin และในปี ค.ศ. 2012 จากการศึกษาของ Hasan HA และคณะ<sup>19</sup> ยังมีการค้นพบองค์ประกอบสำคัญหลักในขิงเพิ่มเติม คือ sesquiterpene hydrocarbon และ phenolic compound ซึ่งก็คือ gingerol และ shogaol นั่นเอง

การศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของขิง พบว่า ขิงมีฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหาร เช่น ฤทธิ์ขับลมเกิดจากสาร menthol, cineole, shogaol และ gingerol<sup>13</sup> กระตุ้นการทำงานของกล้ามเนื้อที่ระบบทางเดินอาหารให้มีการบีบตัวมากขึ้น จึงเกิดการขับลมออกมา ฤทธิ์เพิ่มการหลั่งน้ำดีในลำไส้เล็กส่วนต้นของหนู (mice) โดยสารสกัดอะซิโตนของเหง้าขิง<sup>20</sup> ซึ่งสารที่ออกฤทธิ์ คือ 6- และ 10-gingerol สำหรับฤทธิ์ลดการอักเสบ พบว่า ขิงมีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างพรอสตาแกลนดิน (prostaglandins) สารสำคัญในขิง ได้แก่

gingerdiones และ shogaols มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ คล้ายกลุ่มยาต้านอาการอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ และ gingerols มีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ leukotrienes<sup>21</sup> นอกจากนี้สารสกัดด้วยน้ำของขิงยังช่วยลดอาการอักเสบ และบวมจากการฉีก

การาจี้แนน (carrageenan) เข้าไปในอุ้งเท้าของหนูทดลอง ที่เสมือนเป็นสิ่งแปลกปลอมที่ทำให้อุ้งเท้าหนูอักเสบ เมื่อให้โดยการป้อนและฉีดเข้าช่องท้องด้วย<sup>22</sup>

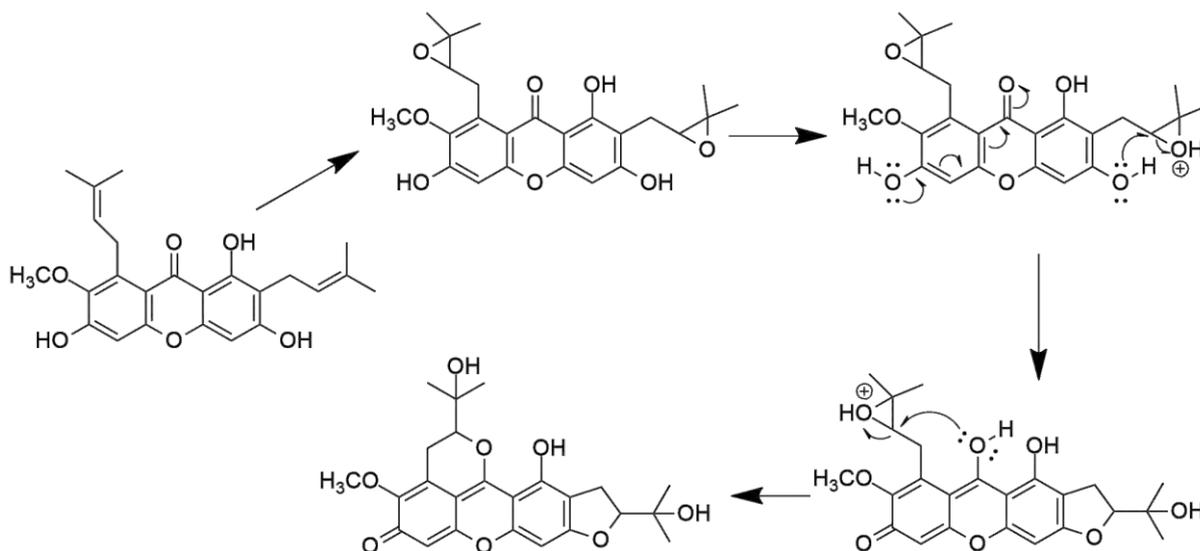
### 1.2.3 การเปลี่ยนรูปร่างชีวภาพด้วยจุลินทรีย์ (Microbial Biotransformation)

การเปลี่ยนรูปร่างชีวภาพ (Biotransformation) คือ การเปลี่ยนแปลงสารโดยกระบวนการทางชีวภาพ เช่น การใช้จุลินทรีย์จำพวกยีสต์ เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ หรือการใช้แบคทีเรียเปลี่ยนแปลงเป็นผงชูรส นั่นคือ การเปลี่ยนแปลงทางเมแทบอลิซึมที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิต<sup>9</sup> (metabolic transformation) ขบวนการดังกล่าวจะเปลี่ยนสารแปลกปลอมในสิ่งมีชีวิตไปอยู่ในรูปอื่น ปกติจะก่อให้เกิดสารที่มีลักษณะมีขี้มากขึ้น และละลายน้ำได้ดี ซึ่งจะขับถ่ายออกจากร่างกายได้อย่างรวดเร็ว และมักจะเปลี่ยนไปเป็นสารที่มีพิษน้อยลง อย่างไรก็ตามมีบางกรณีที่มีการเมตาบอลิซึมจะเปลี่ยนไปเป็นสารที่มีพิษสูงขึ้น เมื่อไม่นานมานี้ กระบวนการเปลี่ยนรูปร่างชีวภาพ ถูกมองว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ ประหยัด และใช้งานง่าย สำหรับการจัดการกำจัดของเสียทางการเกษตร ด้วยศักยภาพในการเพิ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และการสังเคราะห์สารประกอบใหม่<sup>6</sup>

จุลินทรีย์ (Microorganism) คือสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กมาก ตัวอย่างเช่น แบคทีเรีย รา และยีสต์ สามารถกระตุ้นปฏิกิริยาของสารประกอบได้หลากหลาย จึงมีการนำจุลินทรีย์ และเอ็นไซม์ที่จุลินทรีย์เหล่านี้ผลิตขึ้นมาใช้อย่างแพร่หลายในการเปลี่ยนรูปร่างชีวภาพ หรือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบต้นแบบให้เป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างทางโมเลกุลหรือมีสมบัติที่แตกต่างไปจากเดิม<sup>23</sup> ปัจจุบันวิธีการเปลี่ยนรูปร่างชีวภาพด้วยจุลินทรีย์ (Microbial Biotransformation) ถือเป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เพื่อสังเคราะห์อนุพันธ์ของสารที่อาจมีฤทธิ์เป็นยารักษาโรคหรือสารที่สังเคราะห์ได้ยากด้วยวิธีทางเคมี เพื่อเปลี่ยนรูปให้สารมีมูลค่าสูงขึ้น และเพื่อย่อยสลายไฮโดรคาร์บอนหรือสารปนเปื้อนอื่นๆ เนื่องจากการเปลี่ยนรูปร่างชีวภาพนี้เป็นวิธีที่ไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมี วิธีการนี้จึงมีความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมให้ผลลัพธ์ที่มีประสิทธิภาพ<sup>24</sup>

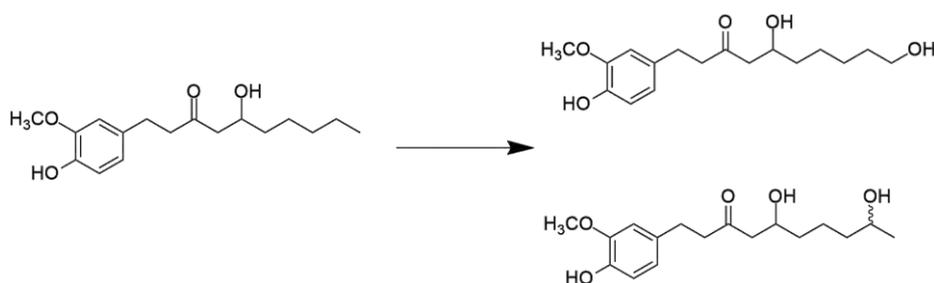
ในปี ค.ศ. 2014 Panarat Arunrattiyakorn และคณะ<sup>7</sup> ทดลองเปลี่ยนรูปร่างชีวภาพของ  $\alpha$ -mangostin สารประเภท Xanthene ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในเปลือกมังคุด ด้วยราเอนโดไฟต์ (Endophytic fungi) ชนิด *Colletotrichum* sp. MT02 และ *Phomopsis euphorbiae* K12 พบว่า หลังการเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนรูปร่างชีวภาพทำให้เกิดสารอนุพันธ์ของ  $\alpha$ -mangostin ใหม่ขึ้น 5 ชนิด ที่มีโครงสร้างต่างไปจาก Xanthene ที่พบในธรรมชาติ ได้แก่ 17,18-dihydroxymangostanin และ cyclomangostanin

ที่ถูกเปลี่ยนรูปทางชีวภาพด้วย *Colletotrichum* sp. MT02 (รูปที่ 1.3) และ 12,13,20-trihydroxymangostanin 12,13,19-trihydroxymangostin และ 20-hydroxymangostannin ที่ถูกเปลี่ยนรูปทางชีวภาพด้วย *Phomopsis euphorbiae* K12

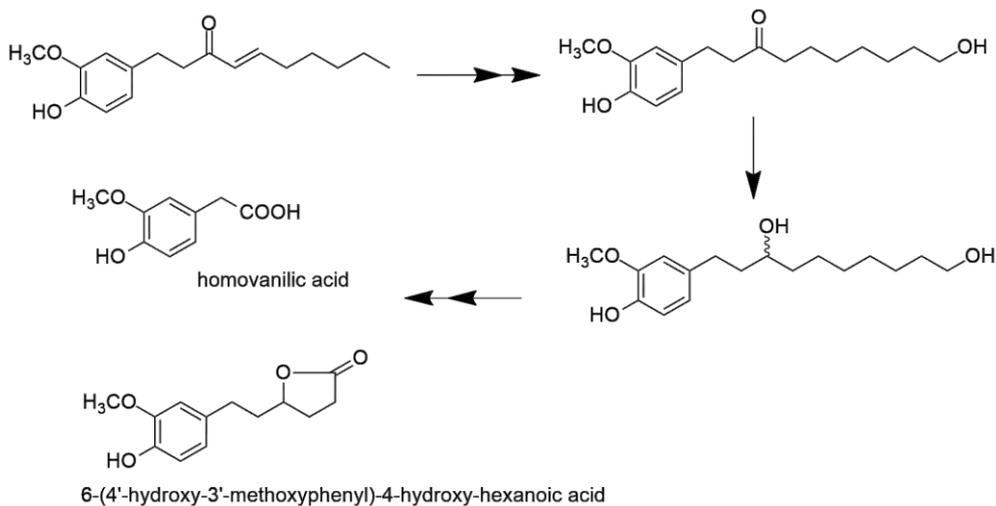


รูปที่ 1.3 สมมติฐานกระบวนการในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ  $\alpha$ -mangostin เป็น cyclomangostanin ด้วย *Colletotrichum* sp. MT02<sup>7</sup>

สำหรับการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสำคัญในขิง มีงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่เกี่ยวข้อง ดังนี้ ในปี ค.ศ. 1993 Takahashi H. และคณะ<sup>25</sup> ทดลองเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-gingerol และ 6-shogaol ในขิง ด้วยการบ่มกับรา *Aspergillus niger* เป็นระยะเวลา 7 วัน ผลการทดลอง พบว่า 6-gingerol ถูกเปลี่ยนรูปเป็น 2 โครงสร้างที่มีหมู่แอลกอฮอล์ปฐมภูมิ (primary alcohol) เพิ่มขึ้นมาเป็นผลิตภัณฑ์หลัก และโครงสร้างที่มีหมู่แอลกอฮอล์ทุติยภูมิเป็นผลิตภัณฑ์รอง ทั้งยังมีหมู่คีโตนในโมเลกุลดั้งเดิม (รูปที่ 1.4) แต่ใน 6-shogaol พันธะคู่ และหมู่คีโตนในโมเลกุล จะถูกรีดิวซ์เป็นพันธะเดี่ยว และหมู่แอลกอฮอล์ทุติยภูมิ ตามลำดับ ส่วนหมู่เมทิลตรงปลายโมเลกุลจะถูกออกซิไดซ์เป็นคีโตแอลกอฮอล์ (ketoalcohol) และไดออล (diol) (รูปที่ 1.5)

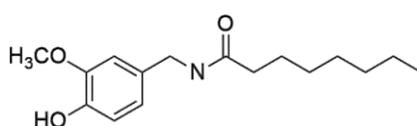


รูปที่ 1.4 การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-gingerol ด้วย *Aspergillus niger*<sup>25</sup>

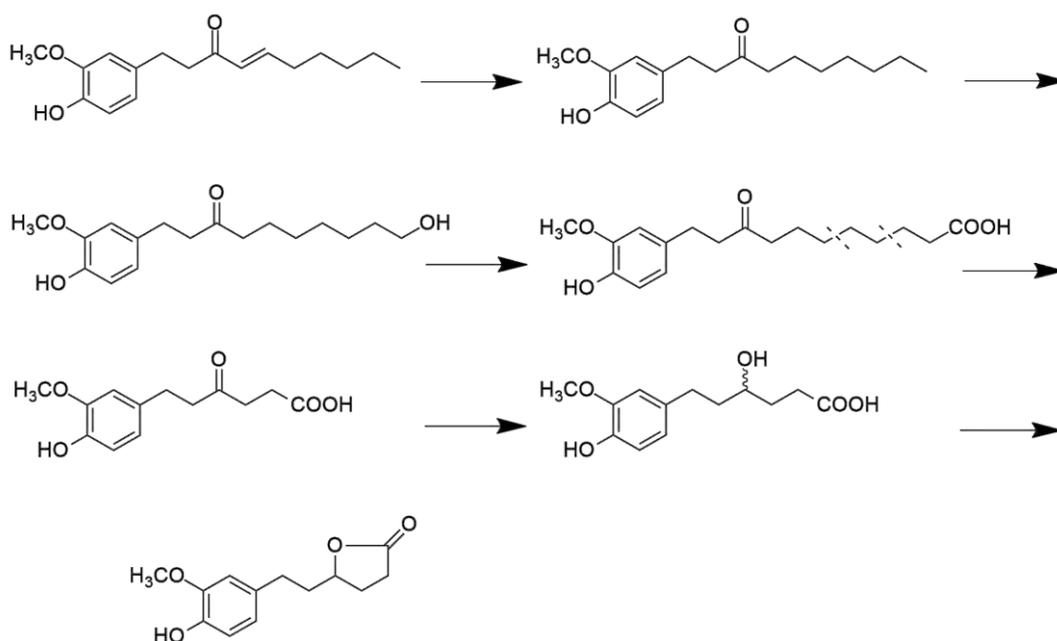


### รูปที่ 1.5 การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-shogaol ด้วย *Aspergillus niger*<sup>25</sup>

อย่างไรก็ตาม คณะของ Takahashi ไม่สามารถที่จะแสดงขั้นตอนกระบวนการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-shogaol ทั้งหมดได้ เป็นผลทำให้ในปี ค.ศ. 1995 ต่อมา Sang-Sup Lee<sup>26</sup> ได้ทดลองเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-shogaol ในเชิงด้วยรา *Aspergillus niger* ซ้ำอีกครั้ง เพื่อต้องการจะระบุกระบวนการการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพที่กล่าวข้างต้นนี้ให้สมบูรณ์ โดยได้มุ่งศึกษาและระบุชนิดของโครงสร้างซึ่งเป็นสารมัธยันตร์ที่เกิดขึ้นในกระบวนการ ที่ยังไม่ทราบโครงสร้างมาก่อนเพราะเป็นสารเมแทบอไลต์ที่สลายไปอย่างรวดเร็ว จากหลักฐานจากการศึกษาการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ capsaicinoid (รูปที่ 1.6) ชนิด vanilloids ที่มีความยาวของโซ่ข้างของหมู่วานิลลิล (vanillyl sidechain) เท่ากับของ 6-shogaol ด้วย *Aspergillus niger* Sang-Sup Lee ได้นำเสนอกระบวนการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-shogaol เป็น  $\gamma$ -lactone เพิ่มเติม ดังแสดงในรูปที่ 1.7



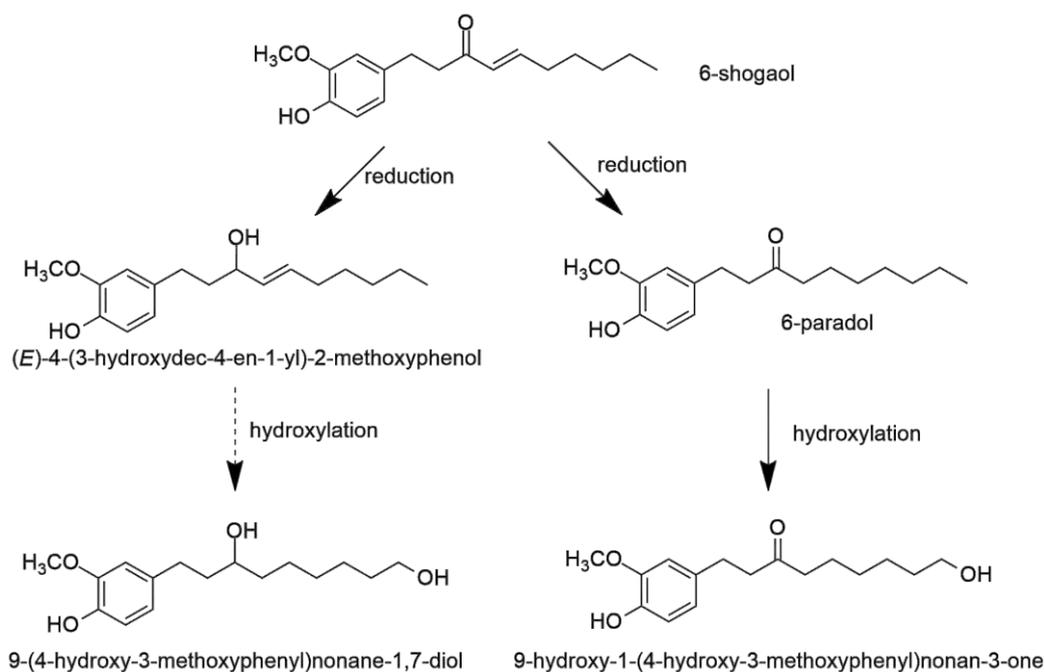
### รูปที่ 1.6 โครงสร้าง capsaicinoid ชนิด vanilloids<sup>26</sup>



6-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-4-hydroxy-hexanoic acid

รูปที่ 1.7 กระบวนการในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพที่เป็นไปได้ของ 6-shogaol เป็น  $\gamma$ -lactone ของ 6-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-4-hydroxy-hexanoic acid ด้วย *Aspergillus niger*<sup>26</sup>

ต่อมาในปี ค.ศ. 2016 Soo Kyung Jo และคณะ<sup>8</sup> ติดตามผลของการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-shogaol ด้วยรา *Aspergillus niger* ด้วยเทคนิค liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (LC-QTOF MS) และศึกษาผลของระยะเวลาในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-shogaol เป็นสารเมแทบอไลต์หลัก ผลการทดลอง พบว่า *Aspergillus niger* สามารถเปลี่ยนรูป 6-shogaol ผ่านปฏิกิริยารีดักชัน และปฏิกิริยาออกซิเดชันที่หมู่คาร์บอนิล และพันธะคู่นโมเลกุล 6-shogaol เป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ ได้แก่ (E)-4-(3-hydroxydec-4-en-1-yl)-2-methoxyphenol, 6-paradol, 9-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)nonan-3-one และ 9-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)nonane-1,7-diol ดังแสดงในรูปที่ 1.8



**รูปที่ 1.8** กระบวนการในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-shogaol เป็น (E)-4-(3-hydroxydec-4-en-1-yl)-2-methoxyphenol, 6-paradol, 9-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)nonan-3-one และ 9-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)nonane-1,7-diol ด้วยรา *Aspergillus niger* จากการศึกษาด้วยเทคนิค LC-QTOF MS<sup>8</sup>

### 1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1. แยกออกจากดินใต้ต้นขิงที่สามารถเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสำคัญหลักในกากขิงได้

1.3.2. ทหาภาวะและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสำคัญหลักในกากขิงให้กลายเป็นผลิตภัณฑ์

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบข้อมูลราที่แยกได้จากดินใต้ต้นขิง ที่มีความสามารถในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสำคัญหลักในกากขิง เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการนำไปศึกษาและระบุชนิดของสารเมแทบอไลต์ที่เกิดขึ้นหลังจากการบ่มปฏิกริยาเปลี่ยนรูปทางชีวภาพด้วยราจากดินใต้ต้นขิง ที่อาจมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีกว่าหรือแตกต่างจากสารสำคัญหลักเดิมในกากขิงต่อไป

## บทที่ 2

### การทดลอง

#### 2.1 รายการเครื่องมือและอุปกรณ์

- 2.1.1 ขวดดูแรน (duran) ขนาด 1 ลิตร
- 2.1.2 กระดาษกรองเบอร์ 1 ยี่ห้อ Whatman
- 2.1.3 ชุดกรองสารละลายระบบสุญญากาศ (Buchner funnel)
- 2.1.4 เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary Evaporator)
- 2.1.5 ขวดกั้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร
- 2.1.6 หลอดเซนตริฟิวจ์พลาสติกชนิดก้นแหลม ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร
- 2.1.7 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)
- 2.1.8 เครื่องวัดค่าพีเอช
- 2.1.9 จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- 2.1.10 เครื่องไมโครเวฟ
- 2.1.11 ตัวกรองสารสำหรับไซริงค์ (syringe filter) ขนาด 0.2 ไมครอน
- 2.1.12 หลอดไมโครทูบ (microtube) ขนาด 1.7 มิลลิลิตร
- 2.1.13 ตู้ปลอดเชื้อ
- 2.1.14 เครื่องเขย่าสาร
- 2.1.15 ตู้ทำความเย็น -20 และ 4 องศาเซลเซียส
- 2.1.16 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
- 2.1.17 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบอินทรีย์ในสถานะของเหลวสมรรถนะสูงภายใต้ความดันของเหลว (High performance liquid chromatograph หรือ HPLC)
- 2.1.18 เครื่องชั่งสารทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2.1.19 คอลัมน์ชนิด Gemini C18 ( $5\mu\text{m}$ , 4.60 mm  $\times$  50mm; Phenomenex)

## 2.2 รายการสารเคมี

### 2.2.1 สารตัวอย่าง

- 1) กากขิงอบแห้งจากบริษัท นิวคอนเซพท์ โปรดักต์ จำกัด
- 2) ดินใต้ต้นขิงจาก Kewaleen Ginger Farm จังหวัดเพชรบูรณ์

### 2.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อโรสเบนกอล (rose bengal)

- 1) เปปโตน (Peptone) (HiMedia Laboratories, Bacteriological grade)
- 2) D-glucose (Ajax Finechem, Univar)
- 3) โพแทสเซียม ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (Alax Finechem, Univar)
- 4) แมกนีเซียมซัลเฟต ( $\text{MgSO}_4$ ) (Alax Finechem, Univar)
- 5) ผงวุ้น agar

### 2.2.3 สารเคมีที่ใช้ใน HPLC

- 1) Ultrapure water
- 2) Acetonitrile (Anhui Fulltime, HPLC grade)
- 3) Formic acid (Merck KGaA, Emsure, ACS, 98-100%)
- 4) Hexanes (RCI Labscan, Commercial grade)
- 5) Isopropyl alcohol (Burdick&Jackson, HPLC grade)

### 2.2.4 สารเคมีอื่นๆ

- 1) เอทิล อะซิเตต (RCI Labscan, Commercial grade)
- 2) Potato Dextrose Broth (PDB) (HiMedia Laboratories, Laboratory reagent)
- 3) สเตربتโตมัยซิน (Streptomycin) (SIGMA-ALDRICH, powder)
- 4) Dimethyl sulfoxide (DMSO) (RCI Labscan, AR grade)
- 5) Tween 80 (SIGMA-ALDRICH, cell culture)
- 6) น้ำมันแร่ (Daejung, Extra pure)

### 2.3 การเตรียมสารสกัดจากกากขิง

ชั่งกากขิงในขวดดูแรนขนาด 1 ลิตร 4 ขวด ๆ ละ 50 กรัม เติมน้ำเอทิล อะซิเตต ปริมาตร 600 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองสารสกัดจากกากขิงที่ได้ ผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 สกัดกากขิงซ้ำอีก 1 ครั้ง แล้วระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ และทำให้แห้งสนิทด้วยระบบสุญญากาศกำลังสูงเป็นเวลา 2-3 วัน เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

### 2.4 การเตรียมสารละลายสเตรปโตมัยซิน

เตรียมสารละลายสเตรปโตมัยซิน ความเข้มข้น 30 mg/mL โดยชั่งสเตรปโตมัยซิน 300 มิลลิกรัม ในหลอดเซนตริฟิวจ์พลาสติกชนิดกันแหลม เติมน้ำกลั่นจนสารละลายมีปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นกรองฆ่าเชื้อผ่านตัวกรองสำหรับไซริงค์ขนาด 0.2 ไมครอน ลงในหลอดไมโครทูปหลอดเชื้อขนาด 1.7 มิลลิลิตร ในตู้ปลอดเชื้อ เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

### 2.5 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งโรสเบนกอล

อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งโรสเบนกอล ปริมาตร 600 มิลลิลิตร มีส่วนประกอบดังนี้

เปปโตเน	3.0	กรัม
D-Glucose	6.0	กรัม
โพแทสเซียม ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	0.6	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ( $\text{MgSO}_4$ )	0.3	กรัม
ผงวุ้น agar	0.05	กรัม

ปรับ pH ของสารละลายด้วย HCl จน pH เท่ากับ  $7.2 \pm 0.2$

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อโรสเบนกอล ปริมาตร 600 มิลลิลิตร โดยชั่งน้ำหนักตามสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่มีโรสเบนกอลข้างต้นในปีกเกอร์พลาสติกขนาด 1 ลิตร เติมน้ำกลั่นจนสารละลายมีปริมาตร 600 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH ของสารละลายด้วยสารละลาย HCl ให้มี pH  $7.2 \pm 0.2$  ฆ่าด้วยเครื่องวัดค่าพีเอช แบ่งใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร 3 ขวด ๆ ละ 200 มิลลิลิตร และเติมผงวุ้น agar ในขั้นตอนสุดท้ายขวดละ 3.0 กรัม ปิดปากขวดด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ กระจาย และรัดด้วยหนังยาง ตามลำดับ จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธีการอบด้วยความร้อน (autoclave)

หลังฆ่าเชื้อเสร็จเรียบร้อย นำอาหารเลี้ยงเชื้อมาทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส แล้วเติมสารละลายสเตรปโตมัยซิน ความเข้มข้น 30 mg/mL ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 200 มิลลิลิตรในแต่ละขวด ก่อนนำไปเทลงจานเพาะเชื้อ โดยอาหารเลี้ยงเชื้อ 200 มิลลิลิตร สามารถเทลงจานเพาะเชื้อได้ประมาณ 10 จาน ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมวุ้นแข็งตัว เก็บที่อุณหภูมิห้องโดยตั้งเป็นชั้นภายในตู้พลาสติกที่ปิดมิดชิด

## 2.6. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Potato Dextrose Agar (PDA) และอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Potato Dextrose Broth (PDB)

### 2.6.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Potato Dextrose Agar (PDA)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA ปริมาตร 1 ลิตร โดยชั่งผงของอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB 24 กรัม เติมน้ำกลั่นจนสารละลายมีปริมาตร 1000 มิลลิลิตร แบ่งใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร 5 ขวด ๆ ละ 200 มิลลิลิตร และเติมผงวุ้น agar ในขั้นตอนสุดท้ายขวดละ 3.0 กรัม ปิดปากขวดด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ กระดาษ และรัดด้วยหนังยาง ตามลำดับ จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธีการอบด้วยความร้อน

หลังฆ่าเชื้อเสร็จเรียบร้อยแล้ว นำอาหารเลี้ยงเชื้อมาทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปเทลงจานเพาะเชื้อ โดยอาหารเลี้ยงเชื้อ 200 มิลลิลิตร สามารถเทลงจานเพาะเชื้อได้ประมาณ 10 จาน ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมวุ้นแข็งตัว เก็บที่อุณหภูมิห้องในถุงพลาสติกที่ปิดมิดชิด

### 2.6.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Potato Dextrose Broth (PDB)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว PDB ปริมาตร 600 มิลลิลิตร โดยชั่งผงของอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB 14.4 กรัม เติมน้ำกลั่นจนสารละลายมีปริมาตร 600 มิลลิลิตร แบ่งใส่ในขวดแก้ว 450 มิลลิลิตร 2 ขวด ๆ ละ 300 มิลลิลิตร หมุนปิดฝาครึ่งเกลียวและหุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธีการอบด้วยความร้อน

## 2.7 การเตรียมสารละลาย 60% กลีเซอรอลในน้ำ

เตรียมสารละลาย 60% กลีเซอรอลในน้ำ ปริมาตร 80 มิลลิลิตร โดยตวงกลีเซอรอล 48 มิลลิลิตร ด้วยกระบอกตวง เติมน้ำกลั่นจนสารละลายมีปริมาตร 80 มิลลิลิตร เทสารละลายที่ได้แบ่งลงในขวดแก้วขนาด 60 มิลลิลิตร 2 ขวด ๆ ละ 40 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธีการอบด้วยความร้อน

## 2.8 การแยกรากจากดินใต้ต้นขิง

เตรียมสารแขวนลอยของดินใต้ต้นขิง โดยชั่งดิน 1.41 กรัม ใส่ในหลอดเซนตริฟิวจ์พลาสติกชนิดก้นแหลมขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อจนมีปริมาตร 14 มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้จนตะกอนของดินส่วนใหญ่ตกลงมาที่ก้นหลอด นำส่วนของเหลวของสารแขวนลอยดินที่ถูกเจือจางเป็น  $10^{-2}$  เท่านี้ มาเจือจางต่อด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อจนความเข้มข้นของสารแขวนลอยดินเป็น  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  และ  $10^{-7}$  เท่าในหลอดไมโครทูบ จากนั้นนำส่วนเหลวของสารแขวนลอยดินแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 100 ไมโครลิตร มากระจายให้ทั่วบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งโรสเบนกอลในจานเพาะเชื้อ ด้วยแท่งแก้วรูปตัว L บ่มที่อุณหภูมิห้องในถุงพลาสติกที่ปิดมิดชิด ระยะเวลาในการบ่มขึ้นอยู่กับการปรากฏเห็นราขึ้นเป็นกลุ่ม ๆ จากนั้นจึงนำแท่งสับเชื้อที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 0.4 เซนติเมตร ตัดแผ่นวุ้นที่มีราลักษณะแตกต่างกันบนจานเพาะเชื้อจากสารแขวนลอยดินความเข้มข้นต่าง ๆ โดยเฉพาะที่มีความเข้มข้นเจือจางลงเป็น  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  เท่า แล้วตัดไปวางตรง

กลางอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งโรสเบนกอลในงานเพาะเชื้ออีกงานหนึ่ง บ่มราเป็นระยะเวลา 7 วัน ก่อนเก็บแยกเชื้อราที่มีความบริสุทธิ์ ตามขั้นตอนในหัวข้อที่ 2.9 การเก็บรักษา แต่สำหรับราที่ยังพบการปนเปื้อนกับราชนิดอื่นอยู่ ตัดไปเลี้ยงใหม่ตามขั้นตอนข้างต้น ทั้งนี้ เรียกราที่แยกได้นี้ว่า สายพันธุ์ GS1-GS15

## 2.9 การเก็บรักษา

เก็บแยกราที่มีความบริสุทธิ์ โดยตัดวุ้นบริเวณขอบนอกสุด ที่ราโตแบบแผ่รัศมีออกไปด้วยแท่งสับเชื้อ แล้วนำมาเก็บรักษา 2 วิธี ๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

วิธีที่ 1 เก็บในน้ำกลั่น เติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 1000 ไมโครลิตร ในหลอดไมโครทูบขนาด 1.7 มิลลิลิตร ใส่ชิ้นวุ้นที่มีราที่ต้องการเก็บรักษา 5 ชิ้น จากนั้นบีบน้ำมันแร่ปราศจากเชื้อปริมาตร 200 ไมโครลิตรลงไป แบ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

วิธีที่ 2 เก็บในสารละลาย 60% กลีเซอรอลในน้ำ เติมสารละลาย 60% กลีเซอรอล (หัวข้อ 2.7 การเตรียม 60% กลีเซอรอลในน้ำ) 1200 ไมโครลิตร ในหลอดไมโครทูบขนาด 1.7 มิลลิลิตร ใส่ชิ้นวุ้นที่มีราที่ต้องการเก็บรักษา 5 ชิ้น แบ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

## 2.10 การเตรียมสารละลายของสารสกัดจากกากขิง 2% ใน DMSO

ละลายสารสกัดจากกากขิงจากหัวข้อที่ 2.3 ปริมาณ 1 กรัม ด้วย DMSO จนมีปริมาตร 50 มิลลิลิตร แบ่งใส่ขวดแก้วขนาด 60 มิลลิลิตร 2 ขวด ๆ ละ 25 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อด้วยวิธีการอบด้วยความร้อน เก็บในตู้ทำความเย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

## 2.11 การเตรียมสารละลาย 20% Tween 80 ในน้ำ

ตวง Tween 80 ปริมาตร 16 มิลลิลิตร ในกระบอกตวง เติมน้ำกลั่นจนสารละลายมีปริมาตร 80 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันจนเป็นเนื้อเดียว เทใส่ขวดแก้วขนาด 60 มิลลิลิตร 2 ขวด ๆ ละ 40 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อด้วยวิธีการอบด้วยความร้อน เขย่าอีกครั้งทันทีหลังฆ่าเชื้อ เพื่อให้สารละลายคงสภาพความเป็นเนื้อเดียว

## 2.12 การเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

เพาะเลี้ยงราที่แยกได้ในหัวข้อที่ 2.8 และเก็บรักษาในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้องในหลอดไมโครทูบ (ในหัวข้อ 2.9) บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA บ่มในถุงพลาสติกที่ถูกปิดมิดชิดเป็นระยะเวลา 7 วัน จากนั้นตัดวุ้นที่มีราที่ต้องการด้วยแท่งสับเชื้อ จำนวน 3 ชิ้น ลงขวดแก้วขนาด 30 มิลลิลิตร ที่มีสารละลายของสารสกัดจากกากขิง 2% ใน DMSO ที่ปราศจากเชื้อ : สารละลาย 20% Tween 80 ที่ปราศจากเชื้อ : อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว PDB ที่ปราศจากเชื้อ (0.5 mL : 0.5 mL : 9 mL) ภายใต้ตู้ปลอดเชื้อ หลังจากนั้นปิดฝาขวดให้สนิท และนำไปบ่มพร้อมเขย่าที่ 170 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 7 วัน ด้วยเครื่องเขย่าสาร ทดลองตัวอย่างละ 2

ซ้ำ จากนั้นเก็บส่วนของเหลว (Supernatant) โดยกรองผ่านสำลีในกระบอกฉีดยา แล้วเก็บที่ตู้ทำความเย็น อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

สำหรับชุดควบคุมที่ไม่มีรา (compound control) และชุดควบคุมที่ไม่มีสารสกัดจากกากขิง (fungi control) มีวิธีการเตรียมและองค์ประกอบของสารละลายของสารสกัดจากกากขิง 2% ใน DMSO ที่ปราศจากเชื้อ : สารละลาย 20% Tween 80 ที่ปราศจากเชื้อ : อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว PDB ที่ปราศจากเชื้อ เหมือนกับของสารตัวอย่างในการวิเคราะห์ แต่ไม่ใส่ส่วนที่มีราลงไป หรือไม่ใส่สารสกัดจากกากขิง ตามลำดับ

สำหรับชุดควบคุมที่ไม่มีราและไม่ได้บ่ม (standard) เตรียมโดยเติมสารละลายของสารสกัดจากกากขิง 2% ใน DMSO ที่ปราศจากเชื้อ : สารละลาย 20% Tween 80 ที่ปราศจากเชื้อ : อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว PDB ที่ปราศจากเชื้อ (500  $\mu$ L : 500  $\mu$ L : 0.9 mL) ในหลอดไมโครทูป เก็บในตู้ทำความเย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC พร้อมตัวอย่างทั้งหมด

### 2.13 การวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิค HPLC

การวิเคราะห์ตัวอย่างในหัวข้อที่ 2.12 ด้วยเทคนิค HPLC ใช้คอลัมน์ชนิด Gemini C18 ขนาด 5  $\mu$ m, 4.60 mm  $\times$  50mm เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) 2 ชนิด ได้แก่ Mobile phase A (MP A) ซึ่งประกอบด้วย น้ำ Milli-Q : Acetonitrile ในอัตราส่วน 95 : 5 และ 0.1% Formic acid และ Mobile phase B (MP B) ประกอบด้วย น้ำ Milli-Q : Acetonitrile ในอัตราส่วน 5 : 95 และ 0.1% Formic acid วิเคราะห์ตัวอย่างโดยใช้อัตราการไหล (flow rate) ที่ 0.5 mL/min เป็นเวลา 30 นาที โดยจับสัญญาณด้วย Photodiode array detector (PAD) ที่ 190-800 nm และใช้ Gradient ดังนี้

Retention (min)	Flow rate (mL/min)	% MP B
0.0	0.5	0.0
5.0	0.5	0.0
20.0	0.5	100.0
25.0	0.5	100.0
25.1	0.5	0.0
29.5	0.5	0.0
30.0	0.1	0.0

เตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC โดยเติมตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ ปริมาตร 80  $\mu$ L และ MP A ปริมาตร 320  $\mu$ L ลงในขวดตัวอย่าง ขนาด 2 มิลลิลิตร ฉีดตัวอย่างนี้ 100  $\mu$ L เข้าเครื่อง HPLC เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง

## 2.14 การศึกษาภาวะที่เหมาะสมและจลนพลศาสตร์ของการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิง

ทำการทดลองดังเช่นหัวข้อที่ 2.12 โดยใช้ตัวอย่างราสายพันธุ์ GS1, GS3, GS6, GS7 และ GS14 พร้อมทั้งชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา (compound control) ชุดควบคุมไม่ใส่สารสกัดจากกากขิง (fungi control) และชุดควบคุมที่ไม่ใส่ราและไม่ได้บ่ม (standard) ทดลองตัวอย่างละ 2 ซ้ำ โดยเก็บตัวอย่างทุกวัน ๆ ละ 500  $\mu$ l จนครบ 7 วัน โดยหลังเก็บตัวอย่างในแต่ละวันจะนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ 15000 g เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเทของเหลวใสในหลอดไมโครทูบหลอดใหม่ เก็บในตู้ทำความเย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ดังเช่นหัวข้อที่ 2.13

## บทที่ 3

### ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

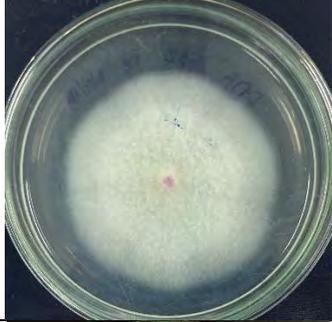
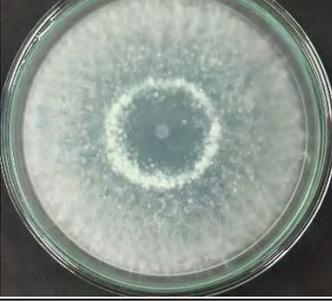
งานวิจัยนี้ศึกษาความสามารถในการเปลี่ยนรูปร่างชีวภาพของสารสำคัญหลักในสารสกัดจากกากขิง ด้วยรา 12 สายพันธุ์ที่แยกได้จากดินใต้ต้นขิงได้แก่ GS1, GS2, GS3, GS4, GS6, GS7, GS8, GS10, GS12, GS13, GS14 และ GS15 ให้เป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ และศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมและจลนพลศาสตร์ของการเปลี่ยนรูปร่างชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงได้แก่ 6-gingerol และ 6-shogaol ด้วยรา 5 สายพันธุ์ที่คัดเลือกออกมา ได้แก่ GS1, GS3, GS6, GS7 และ GS14 วิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค HPLC

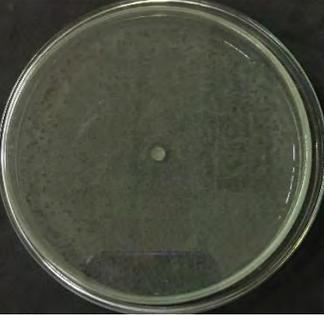
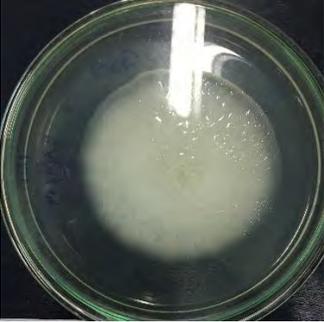
#### 3.1 การแยกราจากดินใต้ต้นขิง

สำหรับการทดลองนี้ ผู้วิจัยต้องการแยกราจากดินใต้ต้นขิง เพื่อนำไปทดสอบความสามารถในการเปลี่ยนรูปร่างชีวภาพ เนื่องจากดินใต้ต้นขิงเป็นที่อยู่ของจุลินทรีย์ที่มีปฏิสัมพันธ์กับเหง้าขิง ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้ อาจสามารถปรับตัวให้อยู่ในภาวะที่มีสารประกอบในขิง หรือนำสารในขิงไปใช้ประโยชน์ได้ การแยกราให้บริสุทธิ์จะทำให้ทราบลักษณะทางกายภาพของราแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งจะเป็นส่วนหนึ่งที่ช่วยบ่งชี้สปีชีส์ของราที่ถูกแยกออกจากดินดังกล่าว ในการทดลองนี้ ผู้วิจัยได้นำดินจากใต้ต้นขิงมาทำเป็นสารแขวนลอย และเจือจางลงเป็น  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  และ  $10^{-7}$  เท่า เพาะบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเชิงโรสเบนกอล จากนั้นแยกราให้มีความบริสุทธิ์ จากจานเพาะเชื้อที่มีความเข้มข้นของสารแขวนลอยดินเจือจาง  $10^{-4}$  และ  $10^{-5}$  เท่า บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นสังเกตและบันทึกผลลักษณะทางกายภาพของราแต่ละชนิด ในตารางที่ 3.1

เมื่อพิจารณาตารางที่ 3.1 พบว่าราแต่ละสายพันธุ์ที่แยกได้มีลักษณะร่วมกัน คือมีลักษณะเป็นเส้นใยที่กระจุกรวมกันเป็นไมซีเลียม (mycelium) อย่างไรก็ตาม ราแต่ละชนิดมีความหนาบางแตกต่างกัน และราหลายชนิดมีสีแตกต่างกัน เช่น ราสายพันธุ์ GS1 มีเส้นใยสีขาว ในขณะที่ราสายพันธุ์ GS15 มีสีแดงและมีเส้นใยสีขาว นอกจากนี้รียบางชนิด เช่น ราสายพันธุ์ GS6 GS7 และ GS12 มีลักษณะของไฮฟาที่สร้างสปอร์ชัดเจน จากการทดลองจะเห็นได้ว่าดินจากใต้ต้นขิงมีราหลายชนิดที่อยู่ร่วมกัน

ตารางที่ 3.1 สายพันธุ์ของราที่ถูกแยกจากดินใต้ต้นขิงจนมีความบริสุทธิ์และลักษณะที่สังเกตเห็นบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA หลังจากบ่ม 7 วัน

สายพันธุ์ของรา	ลักษณะที่สังเกตเห็นของรา	รูปประกอบ
GS1	เส้นใยสีขาวที่ค่อย ๆ โตแผ่ออกเป็นรัศมีจากตรงกลาง และเห็นเป็น 2 กระจุกที่ติดกัน	
GS2	เส้นใยสีขาว โตแผ่ออกเป็นรัศมีจากตรงกลาง	
GS3	เส้นใยสีขาวที่ค่อย ๆ โตแผ่ออกเป็นรัศมีจากตรงกลาง (คล้ายกับราสายพันธุ์ GS 2)	
GS4	เส้นใยสีขาวบาง ๆ ที่โตแผ่เส้นใยออกเป็นหลายกระจุก	
GS6	เส้นใยสีขาวหนา โตสมำเสมอทั่วจานเพาะเชื้อ	

สายพันธุ์ของเรา	ลักษณะที่สังเกตเห็นของเรา	รูปประกอบ
GS7	เส้นใยสีดำบาง ๆ มีสปอร์กระจาย สม่ำเสมอทั่วจานเพาะเชื้อ	
GS8	เส้นใยสีเทา โตแผ่ออกเป็นรัศมีจาก ตรงกลาง	
GS10	ตัวรามีสีเหลือง และเส้นใยสีขาว หนา ที่ค่อย ๆ โตแผ่ออกเป็นรัศมี จากตรงกลาง	
GS12	เส้นใยสีดำบาง ๆ มีสปอร์กระจาย เป็นกระจุก ๆ ทั่วจานเพาะเชื้อ	
GS13	เส้นใยสีขาวหนา ที่ค่อย ๆ โตแผ่ ออกเป็นรัศมีจากตรงกลาง	

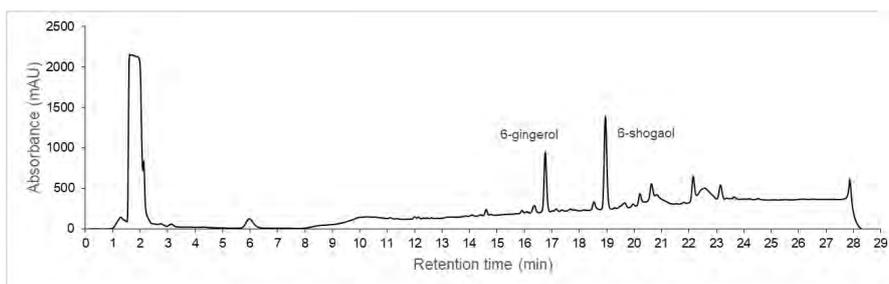
สายพันธุ์ของรา	ลักษณะที่สังเกตเห็นของรา	รูปประกอบ
GS14	ตัวรามีสีแดง และเส้นใยสีขาวหนา โตแผ่ออกเป็นรัศมีจากตรงกลาง	
GS15	ตัวรามีสีแดง และเส้นใยสีขาวบาง ๆ ที่ค่อย ๆ โตแผ่ออกเป็นรัศมีจากตรงกลาง	

### 3.2 การทดสอบการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดจากกากขิงโดยราที่คัดแยกมา

สำหรับการทดลองนี้ ผู้วิจัยสนใจศึกษาความสามารถของราแต่ละสายพันธุ์ที่แยกได้จากดินใต้ต้นขิงในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงจนเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ ก่อนจะเลือกราในบางสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพที่น่าสนใจไปศึกษาให้ละเอียดมากขึ้น เพื่อการศึกษาภาวะที่เหมาะสม และจลนพลศาสตร์ของการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงต่อไป

ผู้วิจัยเริ่มทดลองด้วยการเพาะเลี้ยงราทั้งหมด 12 สายพันธุ์ที่แยกได้จนบริสุทธิ์และเก็บรักษาในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้องบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA บ่มในถุงพลาสติกที่ถูกปิดมิดชิดเป็นระยะเวลา 7 วัน จากนั้นทดสอบความสามารถของราในการเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิง โดยตัดขุ่นที่มีราที่ต้องการด้วยแท่งสับลงขวดแก้วที่มีสารละลายของสารสกัดจากกากขิงใน DMSO ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว PDB แล้วนำไปบ่มพร้อมเขย่า 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเก็บตัวอย่างในส่วนที่เป็นของเหลวใสเหนือรา (Supernatant) แล้ววิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิค HPLC เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา

เมื่อพิจารณาผลการทดลองของชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา (รูปที่ 3.1 และตารางที่ 3.2) พบว่า เกิดพีคที่เวลา 16.8 และ 19.0 นาที บน HPLC โครมาโทแกรม ที่ความยาวคลื่น 220 nm โดยพื้นที่ใต้พีคเฉลี่ยเท่ากับ 69.1 และ 116.9 mAU\*min ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยก่อนหน้าในห้องปฏิบัติการของ ผศ. ดร. นวพร วินยเวคิน พบว่าเป็นพีคของ 6-gingerol และ 6-shogaol ตามลำดับ สำหรับพีคเล็กๆ อื่นที่ปรากฏขึ้นบนโครมาโทแกรม อาจเป็นสารประกอบชนิดอื่นที่พบในกากขิง



**รูปที่ 3.1** HPLC โครมาโทแกรมของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ในการทดสอบการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพ เบื้องต้นที่ 220 nm

สำหรับการทดลองกับรา 12 สายพันธุ์ เมื่อพิจารณาตารางที่ 3.2 และรูปที่ A1-A28 พบว่า ราทั้งหมด 12 สายพันธุ์ที่ทดสอบสามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารตั้งต้น ได้แก่ 6-gingerol และ 6-shogaol ในสารสกัดจากกากขิงด้วยกระบวนการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพได้ ซึ่งสังเกตได้จากการที่พีคของ 6-gingerol และ 6-shogaol มีพื้นที่ใต้พีคลดลง และจากการตรวจพบพีคที่เกิดขึ้นมีพื้นที่ใต้พีคเพิ่มขึ้นใน HPLC โครมาโทแกรมของตัวอย่างที่มีรา เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นนี้มีทั้งผลิตภัณฑ์ที่มีขั้วมากกว่าสารตั้งต้น ได้แก่ พีคที่พบที่เวลาน้อยกว่าสารตั้งต้น (ผลิตภัณฑ์ที่ 1-6) และผลิตภัณฑ์ที่มีขั้นน้อยกว่าสารตั้งต้น คือ พีคที่ออกจากคอลัมน์หลังจากสารตั้งต้น (ผลิตภัณฑ์ที่ 7-8)

ราที่มีความสามารถในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของทั้ง 6-gingerol และ 6-shogaol ได้แก่ GS1, GS2, GS3, GS4, GS6, GS7, GS10, GS12, GS13 และ GS15 จากรายสายพันธุ์เหล่านี้ ราที่มีความสามารถในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-shogaol สูงกว่า 6-gingerol ได้แก่ GS3, GS4 และ GS10 โดยสังเกตจากปริมาณพื้นที่ใต้พีคที่ลดลงของทั้งสองที่ต่างกันอย่างมากเมื่อเทียบกับชุดควบคุม สุดท้ายราที่มีความสามารถในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-shogaol เท่านั้น ได้แก่ GS8 และ GS14 อย่างไรก็ตาม หากพิจารณาจากชนิดของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น พบว่า สามารถแบ่งราได้ 4 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ได้แก่ ราสายพันธุ์ GS3, GS7 และ GS12 สามารถเปลี่ยนรูปของสารสกัดจากกากขิงให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ได้มากกว่าสามชนิด ส่วนในกลุ่มที่ 2, 3 และ 4 สามารถเปลี่ยนรูปของสารสกัดจากกากขิงเป็นผลิตภัณฑ์ได้น้อยกว่าสามชนิด โดยกลุ่มที่ 2 ได้แก่ ราสายพันธุ์ GS1, GS2, GS10 และ GS13 ให้พีคของผลิตภัณฑ์ที่เวลาน้อยกว่าสารตั้งต้น ส่วนกลุ่มที่ 3 ได้แก่ ราสายพันธุ์ GS6, GS8 และ GS14 ให้พีคของผลิตภัณฑ์ที่เวลาสูงกว่าสารตั้งต้น และกลุ่มที่ 4 ได้แก่ ราสายพันธุ์ GS15 ให้พีคของผลิตภัณฑ์ทั้งที่เวลาน้อยกว่าและสูงกว่าสารตั้งต้น ดังนั้นจึงสามารถจัดกลุ่มผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-shogaol และ 6-gingerol ได้ว่า ผลิตภัณฑ์ที่ 1-6 ส่วนใหญ่เกิดจากการบ่มปฏิกิริยากับรากลุ่มที่ 2 และผลิตภัณฑ์ที่ 7-8 ส่วนใหญ่เกิดจากการบ่มปฏิกิริยากับรากลุ่มที่ 3 ส่วนรากลุ่มที่ 1 มีความสามารถในการเปลี่ยนรูปของสารสกัดจากกากขิงเป็นผลิตภัณฑ์ในช่วงผลิตภัณฑ์ 1-8 โดยสรุปจะเห็นว่า ราแต่ละชนิดมีความสามารถในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงเป็นสารผลิตภัณฑ์ใหม่ที่แตกต่างกัน

จากข้อมูลเบื้องต้นเหล่านี้ ผู้วิจัยได้เลือกรายที่มีความน่าสนใจในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงออกมา 5 สายพันธุ์ ได้แก่ GS1, GS3, GS6, GS7 และ GS14 โดยพิจารณาจากความสามารถในการเปลี่ยนสารตั้งต้นเป็นผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกัน และมีพื้นที่ได้ฟีดของผลิตภัณฑ์ค่อนข้างสูง อีกทั้งยังครอบคลุมกับฟีดใหม่ทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากราชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ได้เลือกด้วย เพื่อนำมาศึกษาภาวะที่เหมาะสมและจลนพลศาสตร์ของการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงต่อไป

ตารางที่ 3.2 ระยะเวลาที่สารถูกหน่วงเหนี่ยวไว้กับเฟสคงที่ (retention time) พื้นที่ใต้พีคของ 6-gingerol และ 6-shogaol ในสารสกัดจากกากขิง และผลิตภัณฑ์จากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพ ด้วยரசายพันธุ์ต่างๆ ที่คัดแยกจากดินใต้ต้นขิง ที่พบบนโครมาโทแกรม HPLC ที่ 220 nm

ตัวอย่าง	ครั้งที่	เวลา (นาที) : พื้นที่ใต้พีค (mAU*min)										
		ผลิตภัณฑ์ 1	ผลิตภัณฑ์ 2	ผลิตภัณฑ์ 3	ผลิตภัณฑ์ 4	ผลิตภัณฑ์ 5	ผลิตภัณฑ์ 6	ผลิตภัณฑ์ 7	6-gingerol	6-shogaol	ผลิตภัณฑ์ 8	ผลิตภัณฑ์ 9
ชุดควบคุมไม่ใส่รา ไม่ได้บ่ม	1	-	-	-	-	-	-	-	17.0 : 81.2	19.2 : 133.0	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	16.7 : 81.1	18.9 : 131.1	-	-
ชุดควบคุมไม่ใส่รา	1	-	-	-	-	-	-	-	16.7 : 59.1	18.9 : 105.0	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	16.7 : 79.1	18.9 : 128.8	-	-
GS 1	1	-	-	11.0 : 25.1	-	-	13.1 : 51.4	-	-	-	-	-
	2	-	-	11.7 : 20.1	-	-	13.5 : 46.4	-	-	-	-	-
GS 2	1	-	-	-	-	-	13.1 : 57.2	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	13.3 : 52.2	-	-	-	-	-
GS 3	1	9.5 : 45.9	-	-	12.7 : 26.4	13.1 : 27.3	-	-	16.7 : 20.6	-	-	23.2 : 88.3
	2	10.5 : 45.9	-	-	13.2 : 29.8	13.5 : 26.3	-	-	17.1 : 20.1	-	-	23.3 : 35.8
GS 4	1	-	10.5 : 56.5	-	-	-	-	-	16.7 : 25.3	-	-	23.2 : 29.3
	2	-	11.0 : 74.2	-	-	-	-	-	16.7 : 6.5	-	-	23.4 : 40.3
GS 6	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23.2 : 194.4
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23.5 : 141.1
GS 7	1	9.6 : 23.2	10.6 : 95.4	11.1 : 68.0	-	-	-	15.6 : 39.0	-	-	-	23.2 : 26.6
	2	10.2 : 51.7	11.2 : 144.3	11.5 : 48.7	-	-	-	15.8 : 60.0	-	-	-	23.3 : 14.9

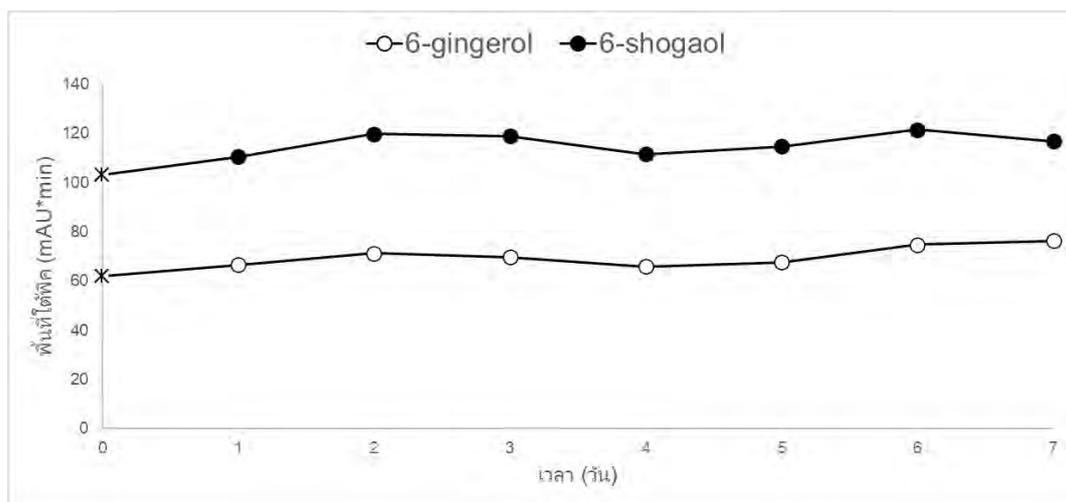
ตัวอย่าง	ครั้งที่	เวลา (นาที) : พื้นที่ใต้พีค (mAU*min)										
		ผลิตภัณฑ์ 1	ผลิตภัณฑ์ 2	ผลิตภัณฑ์ 3	ผลิตภัณฑ์ 4	ผลิตภัณฑ์ 5	ผลิตภัณฑ์ 6	ผลิตภัณฑ์ 7	6-gingerol	6-shogaol	ผลิตภัณฑ์ 8	ผลิตภัณฑ์ 9
GS 8	1	-	-	-	-	-	-	-	16.7 : 73.0	19.7 : 29.8	-	23.2 : 23.6
	2	-	-	-	-	-	-	-	15.7 : 77.5	18.4 : 24.9	-	23.2 : 34.9
GS 10	1	-	-	11.0 : 27.0	-	-	-	15.5 : 23.5	16.6 : 28.1	-	-	-
	2	-	-	11.3 : 23.9	-	-	-	15.7 : 22.8	16.8 : 24.2	-	-	-
GS 12	1	-	10.6 : 105.7	11.1 : 80.6	-	-	-	15.6 : 46.6	-	-	-	23.2 : 116.8
	2	-	10.9 : 93.1	11.3 : 78.7	-	-	-	15.7 : 45.4	-	-	-	23.2 : 41.1
GS 13	1	-	-	-	-	13.1 : 45.3	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	13.2 : 45.3	-	-	-	-	-	-
GS 14	1	-	-	-	-	-	-	-	17.0 : 63.5	-	19.9 : 31.1	23.4 : 32.7
	2	-	-	-	-	-	-	-	16.8 : 51.9	-	19.7 : 22.8	23.2 : 21.7
GS 15	1	-	-	-	-	-	-	15.8 : 106.8	-	-	-	23.4 : 236.2
	2	-	-	-	-	-	-	15.6 : 91.3	-	-	-	23.2 : 26.6

### 3.3 การหาภาวะที่เหมาะสมและจลนพลศาสตร์ของการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงโดยรา

สำหรับการทดลองนี้ ผู้วิจัยสนใจศึกษาภาวะและระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการบ่มปฏิกิริยาของการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราที่แยกได้จากดินใต้ต้นขิง เป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มีปริมาณสูงที่สุดจากระยะเวลาในการบ่ม 7 วัน โดยวิเคราะห์จากการเปลี่ยนแปลงของพื้นที่ใต้พีคของสารตั้งต้นคือ 6-gingerol และ 6-shogaol ในสารสกัดจากกากขิง และผลิตภัณฑ์จากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพ ทั้งนี้เพื่อให้ได้ภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการเก็บและแยกผลิตภัณฑ์ใหม่ที่เกิดขึ้นนี้ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารผลิตภัณฑ์ และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพทั้งต่อสุขภาพ และทางการเกษตรต่อไป

ผู้วิจัยเพาะเลี้ยงรา 5 สายพันธุ์ ได้แก่ GS1, GS3, GS6, GS7 และ GS14 ที่แยกได้จากบริสุทธิ์และเก็บรักษาในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้อง บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA บ่มในถุงพลาสติกที่ถูกปิดมิดชิดเป็นระยะเวลา 7 วัน จากนั้นทดสอบความสามารถของราในการเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพกับสารสกัดจากกากขิง โดยตัดวุ้นที่มีราที่ต้องการด้วยแท่งสับลงขวดแก้วที่มีสารละลายของสารสกัดจากกากขิงใน DMSO ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว PDB แล้วนำไปบ่มพร้อมเขย่า และเก็บตัวอย่างทุกวัน ๆ ละ 500  $\mu$ l ในช่วง 10.00-12.00 นาฬิกา จนครบ 7 วัน แล้ววิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเทคนิค HPLC ทั้งนี้ ได้มีการจัดชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา และชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิง โดยนำไปบ่มพร้อมเขย่า และเก็บตัวอย่างทุกวัน ๆ ละ 500  $\mu$ l เช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่าง เพื่อเปรียบเทียบ

เมื่อพิจารณา HPLC โครมาโทแกรมของชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ณ วันต่าง ๆ (รูปที่ A29-A42) และคำนวณพื้นที่ใต้พีคที่เวลา 16.6 และ 18.8 นาที ซึ่งเป็นพีคของ 6-gingerol และ 6-shogaol ตามลำดับ พบว่า พื้นที่ใต้พีคของ 6-gingerol และ 6-shogaol อยู่ที่ระดับไม่ต่างกันในทุกวันที่มีการเก็บและวิเคราะห์ตัวอย่าง (วันที่ 1-7) โดยมีพื้นที่ใต้พีคในช่วง 65.0-85.0 mAU\*min และ 110.0-125.0 mAU\*min ตามลำดับ (รูปที่ 3.2) นอกจากนี้ ระดับของพื้นที่ใต้พีคนี้ยังเป็นค่าประมาณเดียวกันกับระดับในชุดควบคุมที่ไม่ใส่ราและไม่ได้บ่ม (standard) ซึ่งมีค่า 62.2 และ 103.1 mAU\*min ตามลำดับด้วย (วันที่ 0 ในรูปที่ 3.2 และรูปที่ A183-A184) ดังนั้นข้อมูลนี้แสดงให้เห็นว่า 6-gingerol และ 6-shogaol มีความเสถียรและไม่สลายตัวแม้บ่มเป็นเวลาหลายวัน ในภาวะที่ใช้ในการทดลอง และปริมาณของ 6-gingerol และ 6-shogaol ที่อาจลดลงในตัวอย่างที่บ่มกับราสายพันธุ์ต่าง ๆ เป็นผลมาจากการเร่งปฏิกิริยาของราสายพันธุ์นั้น ๆ มากกว่าที่จะเกิดจากการสลายตัวหรือการทำปฏิกิริยาของสารต่างๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือสารสกัดจากกากขิงด้วยตัวเอง



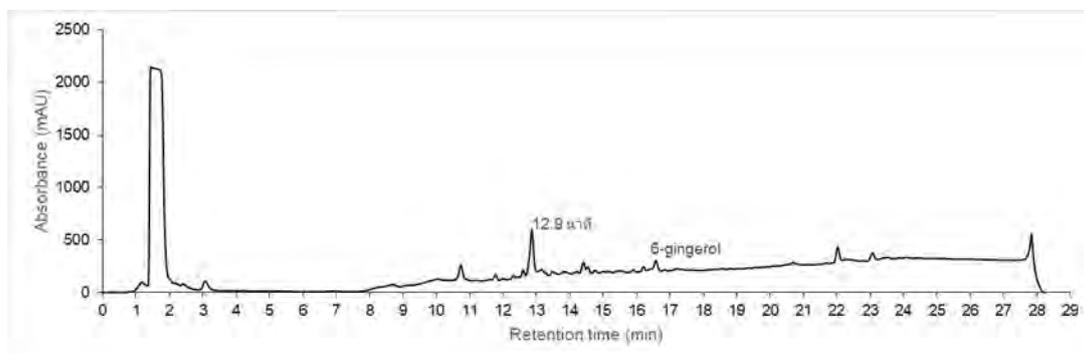
รูปที่ 3.2 พื้นที่ใต้พีคของ 6-gingerol และ 6-shogaol ณ วันที่ 0-7 บน HPLC โครมาโทแกรมของชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ทั้งนี้ พื้นที่ใต้พีค ณ วันที่ 0 เป็นข้อมูลจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่ราและไม่ได้บ่ม

การศึกษาภาวะที่เหมาะสมและจลนพลศาสตร์ของการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากชিংด้วยรา 5 สายพันธุ์ ได้แก่ GS1, GS3, GS6, GS7 และ GS14 ให้ผลการทดลองดังนี้

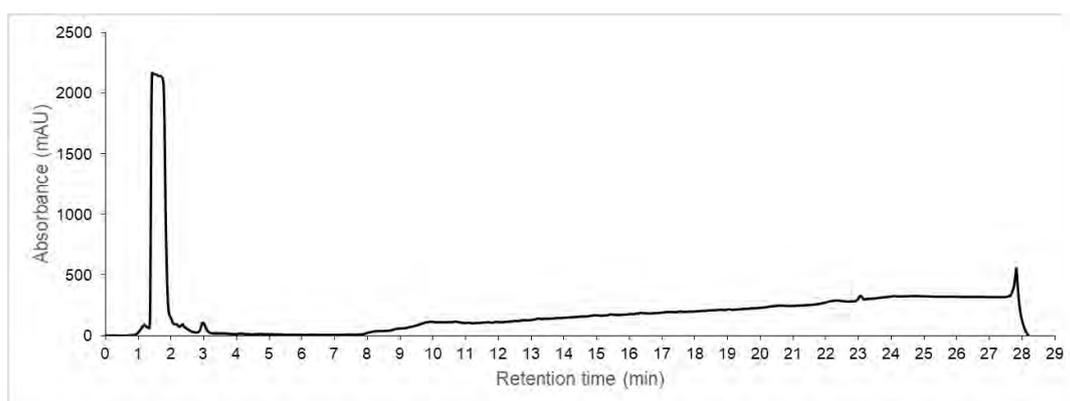
### 3.3.1 การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากชিংด้วยราสายพันธุ์ GS1

จาก HPLC โครมาโทแกรมของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากชিংด้วยราสายพันธุ์ GS1 ณ วันที่ 0-7 (รูปที่ 3.3, 3.5 และ A43-A56) เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีรา (รูปที่ A29-A42) พบว่า ราสายพันธุ์ GS1 สามารถเปลี่ยนรูป 6-shogaol ได้อย่างรวดเร็ว โดยไม่สามารถตรวจพบ 6-shogaol ได้ในตัวอย่างที่มีสารสกัดจากกากชিংและรา GS1 ตั้งแต่วันที่ 1 ของการบ่ม และสามารถเปลี่ยนรูป 6-gingerol ได้จนเหลือ 37% ของปริมาณของ 6-gingerol ในชุดควบคุมที่ไม่ใส่ราและไม่ได้บ่ม (วันที่ 0 ในรูปที่ 3.5 และรูปที่ A183-A184) ภายในวันที่ 2 โดยระดับของ 6-gingerol ลดลงเหลือระดับต่ำที่สุดคือ เหลือ 9% ณ วันที่ 5 ของการบ่ม (รูปที่ 3.5) นอกจากนี้ยังพบพีคใหม่ที่เวลา 12.9 นาที ซึ่งเป็นพีคที่ไม่พบในตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา (รูปที่ A29-A42) และชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากชিং (รูปที่ 3.4 และ A113-A126) โดยพีคที่เวลา 12.9 นาที มีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนมีพื้นที่ใต้พีคค่อนข้างคงที่ ณ วันที่ 3 เท่ากับ 50.1 mAU\*min หรือ 49% ของปริมาณของ 6-shogaol ในชุดควบคุมที่ไม่ใส่ราและไม่ได้บ่ม ทั้งนี้จากแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของสารผลิตภัณฑ์ที่ 12.9 นาที และการลดลงของสารตั้งต้นคือ 6-shogaol และ 6-gingerol เป็นไปได้ว่า ผลิตภัณฑ์ที่ 12.9 นาที อาจเป็นผลิตภัณฑ์จากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-gingerol ด้วยรา GS1 เนื่องจากการเพิ่มขึ้นและลดลงของสารทั้งสองมีความสัมพันธ์กัน ในขณะที่ 6-shogaol อาจถูกเปลี่ยนรูปไปเป็นสารอื่นที่ไม่สามารถตรวจวัดด้วย HPLC ในภาวะที่ใช้ เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองนี้กับผลการทดสอบเบื้องต้น (ตารางที่ 3.2) พีคที่ 12.9 นาที น่าจะเป็นพีคเดียวกับพีคที่ตรวจพบที่ 13.1-13.5 นาที ในการทดสอบเบื้องต้น แต่มีการคลาดเคลื่อนของเวลาที่สารออกจากคอลัมน์เล็กน้อย อย่างไรก็ตาม

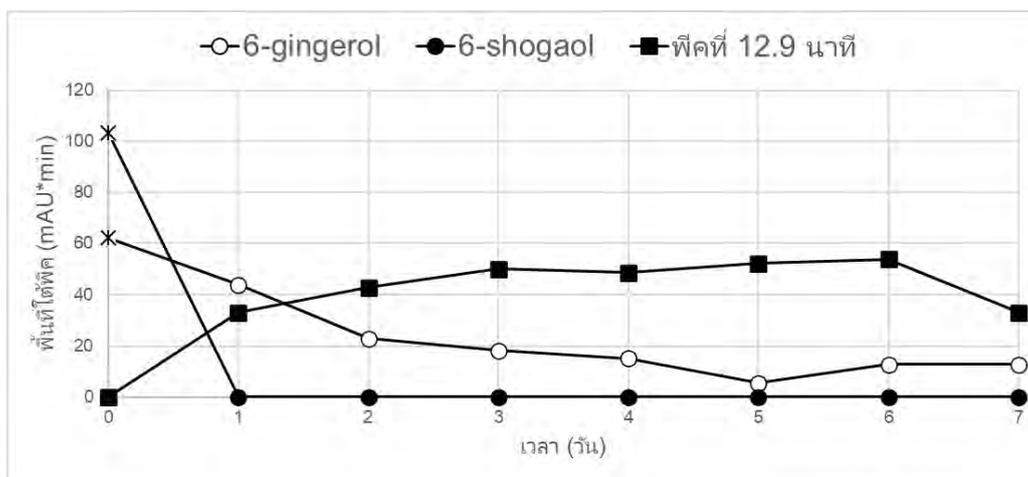
สามารถตรวจพบพีคที่ 11.1-11.7 นาที หรือพีคที่เวลาอื่นใดได้ในการทดลองนี้ในทุกวันที่เก็บตัวอย่าง จากผลการทดลองทั้งหมด จึงสรุปได้ว่า ราชายพันธ์ุ GS1 สามารถเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารในสารสกัดจากกากขิงเป็นสารใหม่ที่เวลา 12.9 นาทีได้ โดยภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการเก็บและแยกผลิตภัณฑ์ใหม่นี้คือที่เวลา 3 วันหลังการบ่ม



**รูปที่ 3.3** ตัวอย่างโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราชายพันธ์ุ GS1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน



**รูปที่ 3.4** ตัวอย่างโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการซูดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราชายพันธ์ุ GS1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน

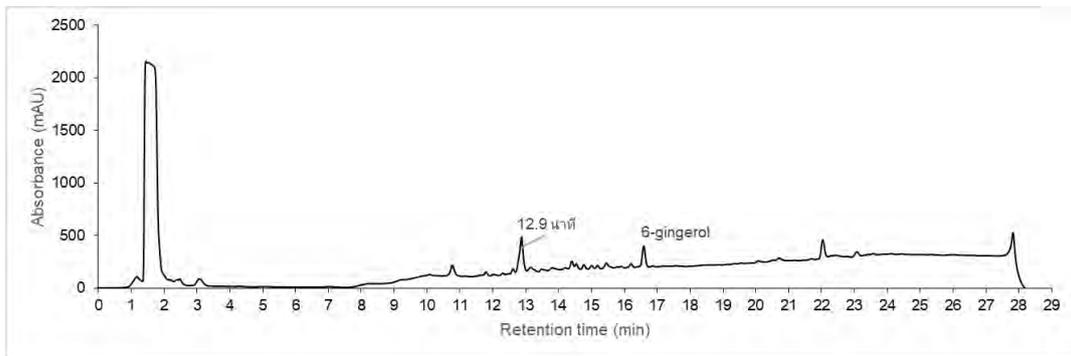


รูปที่ 3.5 พื้นที่ใต้พีคของ 6-gingerol 6-shogaol และผลิตภัณฑ์ ณ วันที่ 0-7 บนโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS1 ทั้งนี้ พื้นที่ใต้พีค ณ วันที่ 0 ของ 6-gingerol และ 6-shogaol เป็นข้อมูลจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่ราและไม่ได้บ่ม

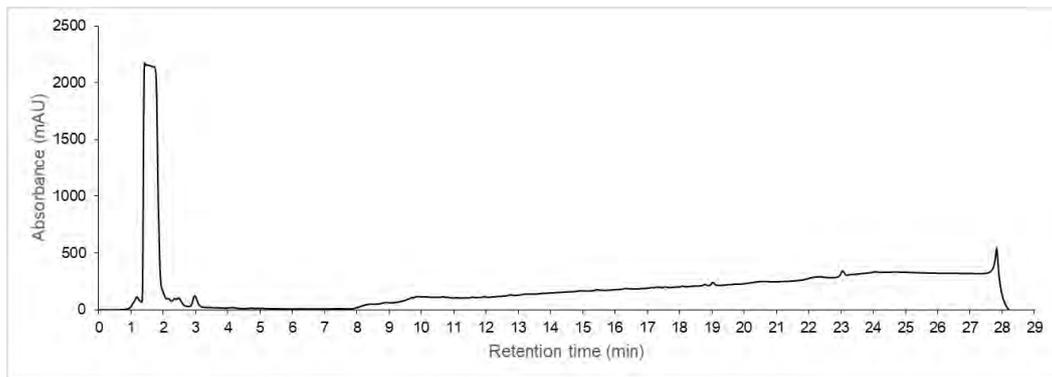
### 3.3.2 การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3

จากโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ณ วันที่ 0-7 (รูปที่ 3.6, 3.8 และ A57-A70) เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา (รูปที่ A29-A42) พบว่า ราสายพันธุ์ GS3 สามารถเปลี่ยนรูป 6-shogaol ได้อย่างรวดเร็ว ตั้งแต่เริ่มบ่มถึงวันที่ 2 และไม่สามารถตรวจพบ 6-shogaol ได้ในตัวอย่างที่มีสารสกัดจากกากขิงและรา GS3 ตั้งแต่วันที่ 2 และสามารถเปลี่ยนรูป 6-gingerol ได้จนเหลือ 48% ของปริมาณของ 6-gingerol ในชุดควบคุมที่ไม่ใส่ราและไม่ได้บ่ม (วันที่ 0 ในรูปที่ 3.8 และรูปที่ A183-A184) ภายในวันที่ 2 โดยระดับของ 6-gingerol ลดลงเหลือระดับต่ำที่สุดคือ เหลือ 17% ณ วันที่ 7 ของการบ่ม (รูปที่ 3.8) นอกจากนี้ยังพบพีคใหม่ที่เวลา 12.9 นาที ซึ่งเป็นพีคที่ไม่พบในตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา (รูปที่ A29-A42) และชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิง (รูปที่ 3.7 และ A127-A140) โดยพีคที่เวลา 12.9 นาที มีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนมีพื้นที่ใต้พีคค่อนข้างคงที่ ณ วันที่ 2 เท่ากับพื้นที่ใต้พีค 41.3 mAU\*min หรือ 40% ของปริมาณ 6-shogaol ในชุดควบคุมที่ไม่ใส่ราและไม่ได้บ่ม ทั้งนี้จากแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของสารผลิตภัณฑ์ที่ 12.9 นาที และการลดลงของสารตั้งต้นคือ 6-shogaol และ 6-gingerol เป็นไปได้ว่า ผลิตภัณฑ์ที่ 12.9 นาที อาจเป็นผลิตภัณฑ์จากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของทั้ง 6-gingerol และ 6-shogaol ด้วยรา GS3 เนื่องจากการเพิ่มขึ้นและลดลงของสารทั้งสามมีความสัมพันธ์กัน ซึ่ง 6-shogaol จะเป็นสารหลักที่ถูกเปลี่ยนรูปเพื่อสร้างสารผลิตภัณฑ์ใหม่ เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองนี้กับผลการทดสอบเบื้องต้น (ตารางที่ 3.2) พีคที่ 12.9 นาที น่าจะเป็นพีคเดียวกับพีคที่ตรวจพบที่ 13.1-13.3 นาที ในการทดสอบเบื้องต้น แต่มีการคลาดเคลื่อนของเวลาที่สารออกจากคอลัมน์เล็กน้อย อย่างไรก็ตามไม่สามารถตรวจพบพีคของผลิตภัณฑ์ที่ 1, 3 และ 8 ที่พบในการทดสอบเบื้องต้นได้ (ตารางที่ 3.2) จากผลการทดลองทั้งหมด จึงสรุปได้ว่า

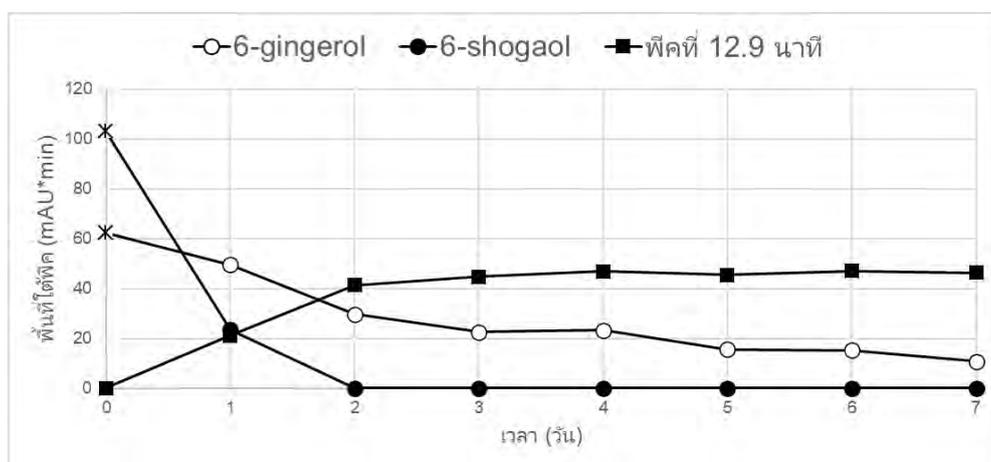
ราสายพันธุ์ GS3 สามารถเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารในสารสกัดจากกากขิงเป็นสารใหม่ที่เวลา 12.9 นาทีได้ โดยภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการเก็บและแยกผลิตภัณฑ์ใหม่นี้คือที่เวลา 2 วันหลังการบ่ม



รูปที่ 3.6 ตัวอย่างโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน



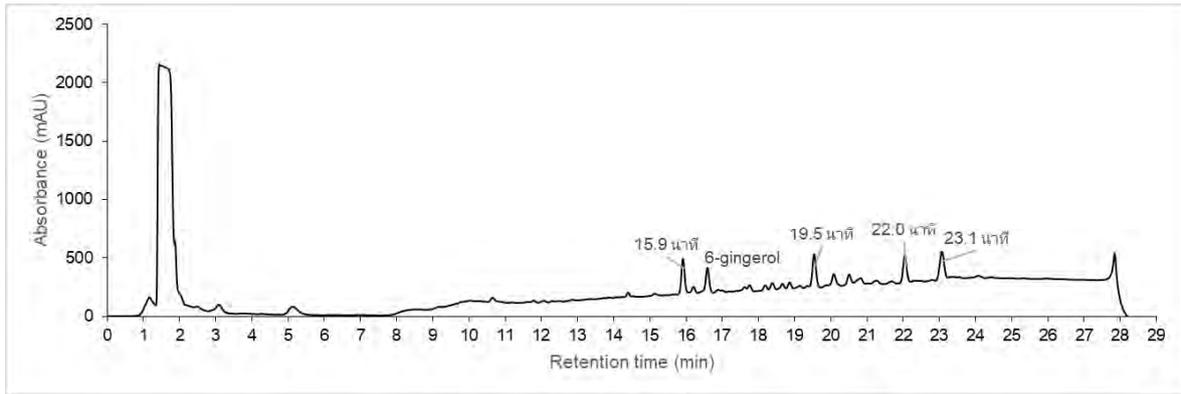
รูปที่ 3.7 ตัวอย่างโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการชดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS3 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน



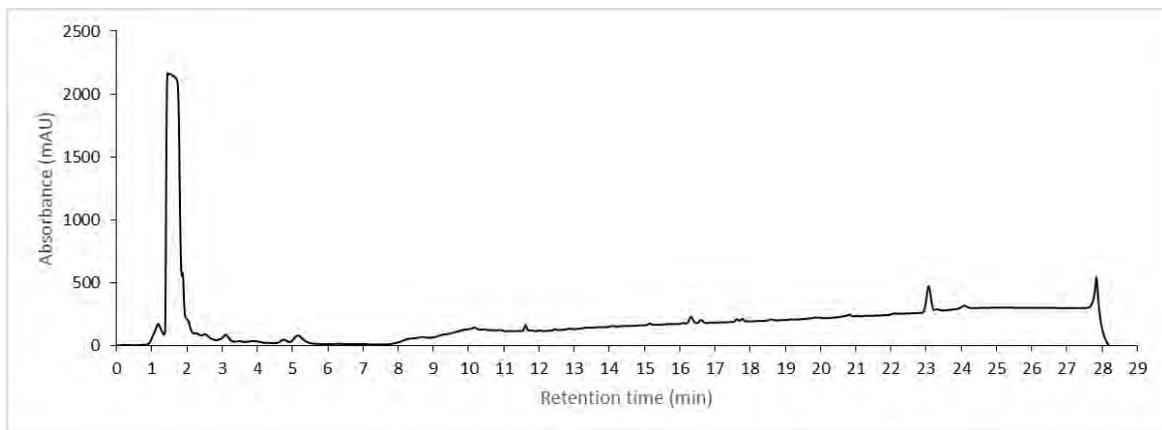
รูปที่ 3.8 พื้นที่ใต้พีคของ 6-gingerol 6-shogaol และผลิตภัณฑ์ ณ วันที่ 0-7 บนโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ทั้งนี้ พื้นที่ใต้พีค ณ วันที่ 0 ของ 6-gingerol และ 6-shogaol เป็นข้อมูลจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่ราและไม่ได้บ่ม

### 3.3.3 การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6

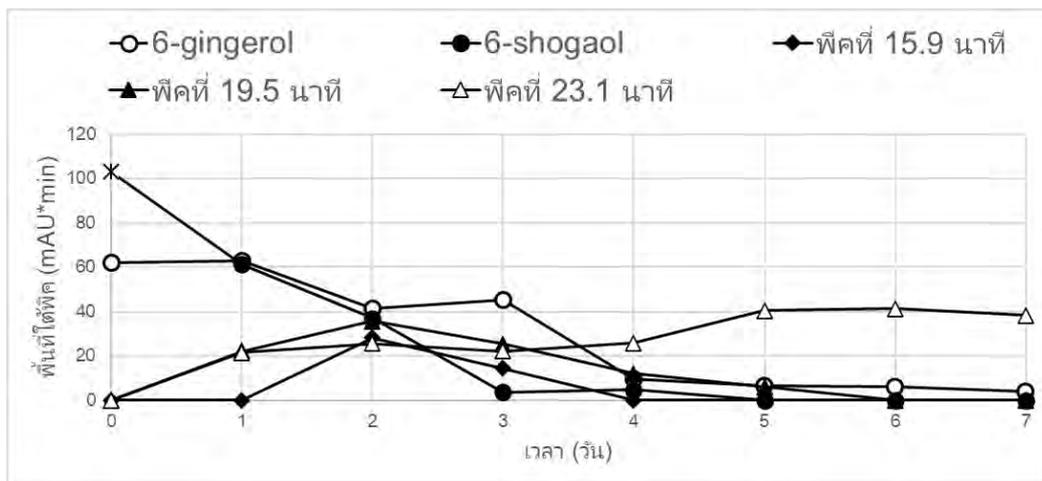
จากโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ณ วันที่ 0-7 (รูปที่ 3.9, 3.11 และ A71-A84) เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีรา (รูปที่ A29-A42) พบว่า ราสายพันธุ์ GS6 เปลี่ยนรูป 6-shogaol ได้ในอัตราค่อนข้างสูง โดยปริมาณของ 6-shogaol ลดลงจนเกือบหมด (เท่ากับ 3% ของปริมาณ 6-shogaol ในชุดควบคุมที่ไม่มีใส่ราและไม่ได้บ่ม) ภายในวันที่ 3 ของการบ่ม แล้วลดลงเป็นศูนย์ในวันที่ 5 ของการบ่ม (รูปที่ 3.11) ส่วนการเปลี่ยนรูปของ 6-gingerol นั้นปริมาณของ 6-gingerol ไม่ลดลงเลยในวันที่ 1 ของการบ่ม แต่ค่อยๆ เริ่มลดลงในวันที่ 2 ซึ่งมีปริมาณเป็น 67% ของปริมาณของ 6-gingerol ในชุดควบคุมที่ไม่มีใส่ราและไม่ได้บ่ม (วันที่ 0 ในรูปที่ 3.11 และรูปที่ A183-A184) จากนั้น ปริมาณของ 6-gingerol ค่อนข้างคงที่จากวันที่ 2 ถึงวันที่ 3 แล้วจึงลดลงอย่างรวดเร็วอีกครั้งในวันที่ 4 และลดลงต่อเนื่องจนเหลือระดับต่ำที่สุดคือ เหลือ 6% ณ วันที่ 7 ของการบ่ม นอกจากนี้ยังพบพีคใหม่ที่เวลา 15.9, 19.5 และ 23.1 นาที ซึ่งพีคที่เวลา 15.9 และ 19.5 นาที เป็นพีคที่ไม่พบในตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่มีใส่รา (รูปที่ A29-A42) และชุดควบคุมที่ไม่มีใส่สารสกัดจากกากขิง (รูปที่ 3.10 และ A141-A154) พีคที่เวลา 15.9 นาที มีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนมีพื้นที่ใต้พีคสูงสุด ณ วันที่ 2 เท่ากับ 28.1 mAU\*min หรือ 27% ของปริมาณ 6-shogaol ในชุดควบคุมที่ไม่มีใส่ราและไม่ได้บ่ม จากนั้นกลับลดลงอย่างต่อเนื่องจนเป็นศูนย์ในวันที่ 4 ส่วนพีคที่เวลา 19.5 นาที มีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนมีพื้นที่ใต้พีคสูงสุด ณ วันที่ 2 เท่ากับ 35.7 mAU\*min หรือ 35% ของปริมาณ 6-shogaol ในชุดควบคุมที่ไม่มีใส่ราและไม่ได้บ่ม จากนั้นกลับลดลงอย่างต่อเนื่องจนเป็นศูนย์ในวันที่ 6 สำหรับพีคที่เวลา 23.1 นาที พีคนี้เป็นพีคที่ไม่พบในตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่มีใส่รา แต่ถูกพบในปริมาณใกล้เคียงกับปริมาณที่พบในชุดควบคุมที่ไม่มีใส่สารสกัดจากกากขิง ดังนั้นพีคนี้จึงอาจเป็นพีคของสารผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นจากรา แต่ไม่ใช่ผลิตภัณฑ์จากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิง ทั้งนี้จากแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของสารผลิตภัณฑ์ที่ 15.9 และ 19.5 นาที และการลดลงของสารตั้งต้นคือ 6-shogaol และ 6-gingerol เป็นไปได้ว่า ผลิตภัณฑ์ที่ 15.9 และ 19.5 นาที อาจเป็นผลิตภัณฑ์จากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของทั้ง 6-gingerol และ 6-shogaol ด้วยรา GS6 เนื่องจากการเพิ่มขึ้นและลดลงในช่วง 2 วันแรกของการบ่มของสารทั้งหมดมีความสัมพันธ์กัน แต่สุดท้ายผลิตภัณฑ์ที่เวลา 15.9 และ 19.5 นาทีดังกล่าว อาจถูกใช้ไปในกระบวนการอื่นภายในราอย่างรวดเร็วต่อไป เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองนี้กับผลการทดสอบเบื้องต้น (ตารางที่ 3.2) พีคที่ 23.1 นาที น่าจะเป็นพีคเดียวกับพีคที่ตรวจพบที่ 23.2-23.5 นาที ในการทดสอบเบื้องต้น แต่มีการคลาดเคลื่อนของเวลาที่สารออกจากคอลัมน์เล็กน้อย ส่วนพีคที่เวลา 15.9 และ 19.5 ถูกใช้หมดก่อนการบ่มครบ 7 วัน จึงไม่ถูกตรวจพบ จากผลการทดลองทั้งหมด จึงสรุปได้ว่า ราสายพันธุ์ GS6 สามารถเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารในสารสกัดจากกากขิงเป็นสารใหม่ที่เวลา 15.9 และ 19.5 นาทีได้ โดยภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการเก็บและแยกผลิตภัณฑ์สองชนิดนี้คือที่เวลา 2 วันหลังการบ่ม แต่สำหรับพีคที่เวลา 23.1 นาที ไม่ใช่ผลิตภัณฑ์จากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพแต่อาจเป็นสารที่ราสายพันธุ์ GS6 สารขึ้นเองอยู่แล้ว



รูปที่ 3.9 ตัวอย่างโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยรสาสายพันธุ์ GS6 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน



รูปที่ 3.10 ตัวอย่างโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาสายพันธุ์ GS6 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน

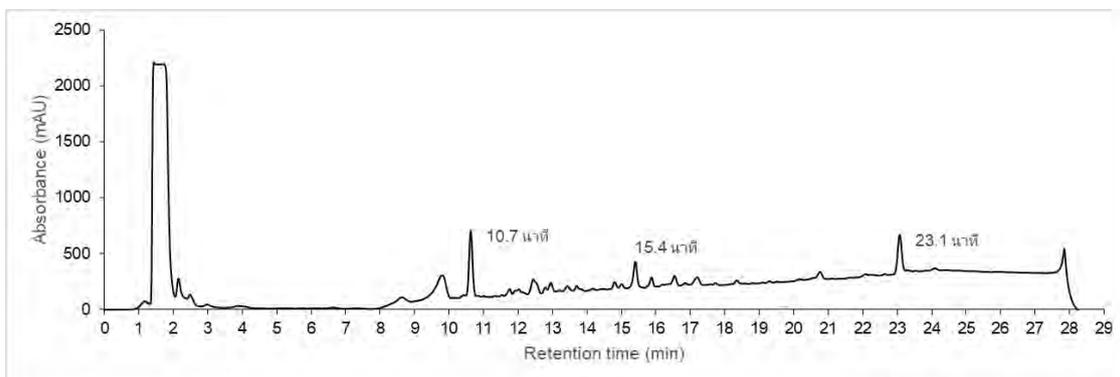


รูปที่ 3.11 พื้นที่ใต้พีคของ 6-gingerol 6-shogaol และผลิตภัณฑ์ ณ วันที่ 0-7 บนโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยรสาสายพันธุ์ GS6 ทั้งนี้ พื้นที่ใต้พีค ณ วันที่ 0 ของ 6-gingerol และ 6-shogaol เป็นข้อมูลจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รสาและไม่ได้บ่ม

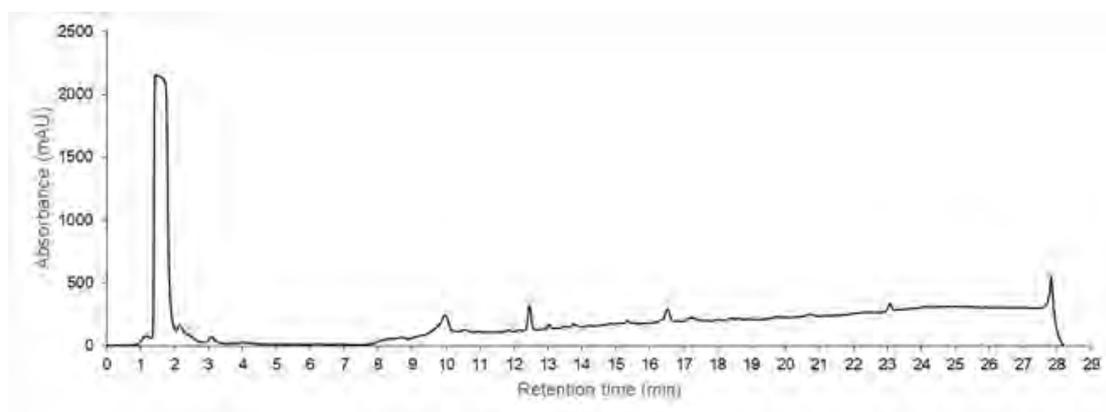
### 3.3.4 การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากชিংด้วยราสายพันธุ์ GS7

จาก HPLC โครมาโทแกรมของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากชিংด้วยราสายพันธุ์ GS7 ณ วันที่ 0-7 (รูปที่ 3.12, 3.14 และ A85-A98) เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีรา (รูปที่ A29-A42) พบว่า ราสายพันธุ์ GS7 สามารถเปลี่ยนรูป 6-shogaol ได้อย่างรวดเร็ว โดยไม่สามารถตรวจพบ 6-shogaol ได้ในตัวอย่างที่มีสารสกัดจากกากชিংและรา GS7 ตั้งแต่วันที่ 1 และสามารถเปลี่ยนรูป 6-gingerol ได้อย่างต่อเนื่องและลดลงเหลือระดับต่ำที่สุดคือ เหลือ 32% ของปริมาณ 6-gingerol ในชุดควบคุมที่ไม่มีใส่ราและไม่ได้บ่ม (วันที่ 0 ในรูปที่ 3.14 และรูปที่ A183-A184) ณ วันที่ 7 ของการบ่ม นอกจากนี้ยังพบพีคใหม่เป็นเวลา 10.7, 15.4, 19.5 และ 23.1 นาที ซึ่งเป็นพีคที่ไม่พบในตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่มีใส่รา (รูปที่ A29-A42) และชุดควบคุมที่ไม่มีใส่สารสกัดจากกากชিং (รูปที่ 3.13 และ A155-A168) โดยพีคที่เวลา 10.7 นาที เริ่มมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จากวันที่ 3 ของการบ่ม จนมีพื้นที่ใต้พีคสูงสุด ณ วันที่ 7 เท่ากับพื้นที่ใต้พีค 62.3 mAU\*min หรือ 60% ของปริมาณ 6-shogaol ในชุดควบคุมที่ไม่มีใส่ราและไม่ได้บ่ม ส่วนพีคที่เวลา 15.4 นาที เริ่มมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จากวันที่ 2 ของการบ่ม จนมีพื้นที่ใต้พีคสูงสุด ณ วันที่ 7 เท่ากับพื้นที่ใต้พีค 36.6 mAU\*min หรือ 35% ของปริมาณ 6-shogaol ในชุดควบคุมที่ไม่มีใส่ราและไม่ได้บ่ม ส่วนพีคที่เวลา 19.5 นาที มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนมีพื้นที่ใต้พีคสูงสุด ณ วันที่ 1 เท่ากับ 35.4 mAU\*min หรือ 34% ของปริมาณ 6-shogaol ในชุดควบคุมที่ไม่มีใส่ราและไม่ได้บ่ม จากนั้นกลับลดลงอย่างต่อเนื่องจนเป็นศูนย์ในวันที่ 5 และพีคที่เวลา 23.1 นาที มีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนมีพื้นที่ใต้พีคสูงสุด ณ วันที่ 3 เท่ากับ 61.1 mAU\*min หรือ 59% ของปริมาณ 6-shogaol ในชุดควบคุมที่ไม่มีใส่ราและไม่ได้บ่ม จากนั้นพื้นที่ใต้พีคกลับลดลงเล็กน้อยเหลือ 49% ณ วันที่ 7 ของการบ่ม ทั้งนี้จากแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของสารผลิตภัณฑ์ที่ 10.7, 15.4 และ 23.1 นาที และการลดลงของสารตั้งต้นคือ 6-gingerol เป็นไปได้ว่า ผลิตภัณฑ์ที่ 10.7, 15.4 และ 23.1 นาที อาจเป็นผลิตภัณฑ์จากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-gingerol ด้วยรา GS7 เนื่องจากการเพิ่มขึ้นและลดลงของสารทั้งหมดมีความสัมพันธ์กัน แต่อย่างไรก็ดี ยังพบผลิตภัณฑ์ที่เวลา 19.5 นาที ที่มีความสัมพันธ์กับการลดลงของ 6-shogaol เป็นไปได้ว่าผลิตภัณฑ์ที่เวลานี้ 19.5 นาที อาจเป็นผลิตภัณฑ์จากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-shogaol ด้วยรา GS7 แต่กลับมีปริมาณลดลง ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าราชนิดนี้ได้นำผลิตภัณฑ์นี้ไปใช้ในกระบวนการอื่นภายในราต่อ ซึ่งอาจรวมถึงการเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ที่ 23.1 นาทีด้วย ซึ่งมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่เวลา 19.5 นาทีลดลงพอดี เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองนี้กับผลการทดสอบเบื้องต้น (ตารางที่ 3.2) พีคที่ 10.7, 15.4 และ 23.1 นาที น่าจะเป็นพีคเดียวกับพีคที่ตรวจพบที่ 10.6-11.2, 15.6-15.8, 23.2-23.5 นาที ตามลำดับ ในการทดสอบเบื้องต้น แต่มีการคลาดเคลื่อนของเวลาที่สารออกจากคอลัมน์เล็กน้อย อย่างไรก็ตาม ไม่พบผลิตภัณฑ์ที่ 1 และ 3 ในตารางที่ 3.2 ในการทดลองนี้ จากผลการทดลองทั้งหมด จึงสรุปได้ว่า ราสายพันธุ์ GS7 สามารถเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารในสารสกัดจากกากชিংเป็นสารใหม่เป็นเวลา 10.7, 15.4, 19.5

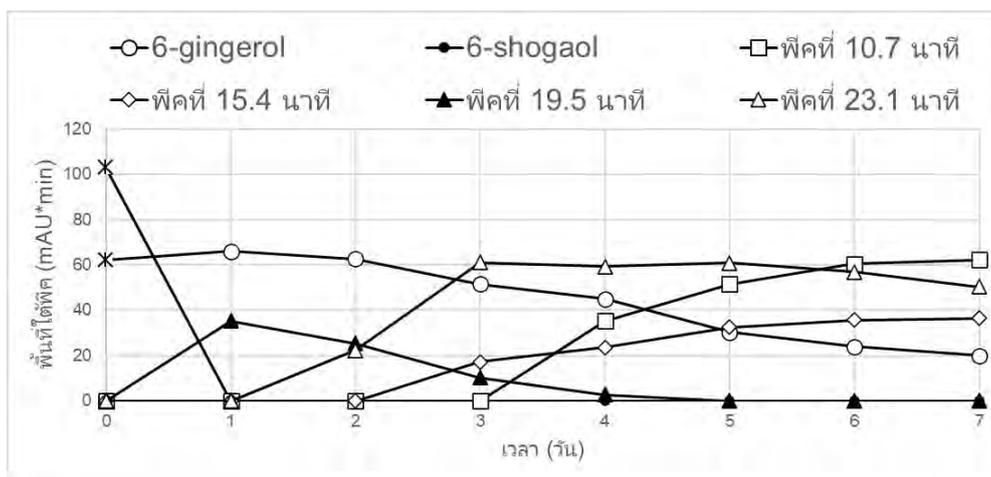
และ 23.1 นาทีได้ โดยภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการเก็บและแยกผลิตภัณฑ์ที่ 10.7 และ 15.4 นาที คือที่เวลา 7 วันหลังการบ่ม และสารใหม่ที่เวลา 19.5 และ 23.1 นาที คือที่เวลา 1 และ 3 วันหลังการบ่ม ตามลำดับ



รูปที่ 3.12 ตัวอย่างโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิง ด้วยยราสายพันธุ์ GS7 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 7 วัน



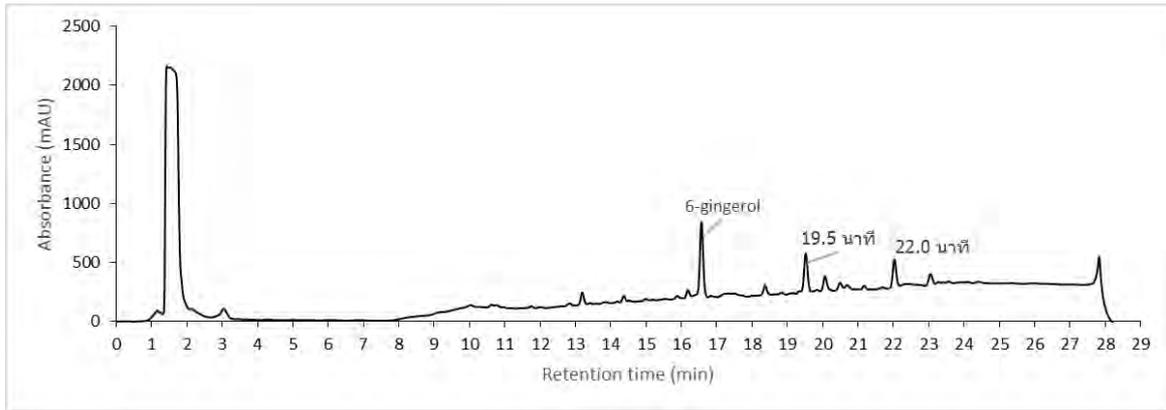
รูปที่ 3.13 ตัวอย่างโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการชูดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS7 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 7 วัน



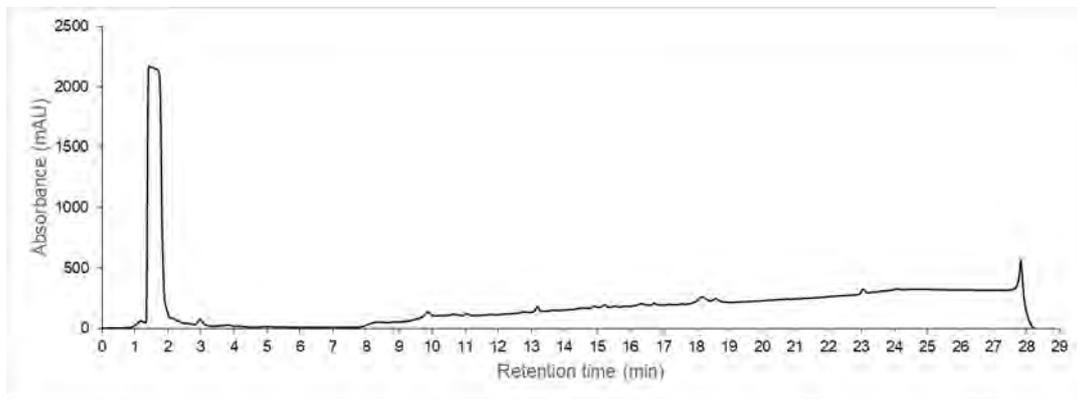
รูปที่ 3.14 พื้นที่ใต้พีคของ 6-gingerol 6-shogaol และผลิตภัณฑ์ ณ วันที่ 0-7 บนโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากชিংด้วยราสายพันธุ์ GS7 ทั้งนี้ พื้นที่ใต้พีค ณ วันที่ 0 ของ 6-gingerol และ 6-shogaol เป็นข้อมูลจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่ราและไม่ได้บ่ม

### 3.3.5 การเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากชিংด้วยราสายพันธุ์ GS14

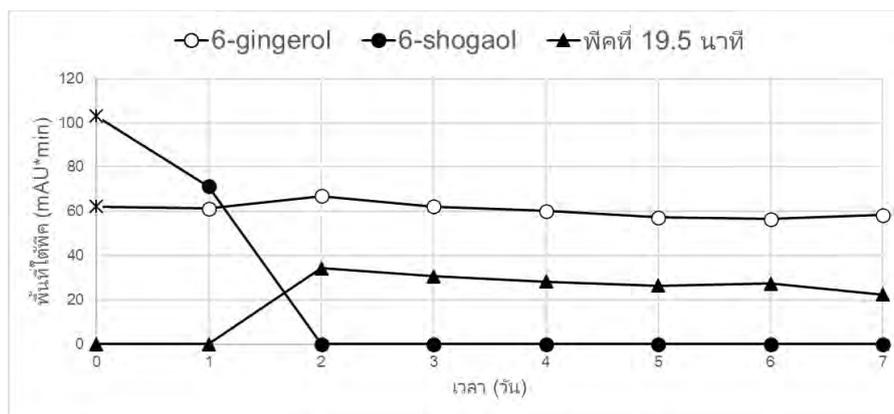
จาก HPLC โครมาโทแกรมของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากชিংด้วยราสายพันธุ์ GS14 ณ วันที่ 0-7 (รูปที่ 3.15, 3.17 และ A99-A112) เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีรา (รูปที่ A29-A42) พบว่า ราสายพันธุ์ GS14 สามารถเปลี่ยนรูป 6-shogaol ได้อย่างรวดเร็ว ตั้งแต่เริ่มบ่มถึงวันที่ 2 และไม่สามารถตรวจพบ 6-shogaol ได้ในตัวอย่างที่มีสารสกัดจากกากชিংและรา GS14 ตั้งแต่วันที่ 2 อย่างไรก็ตาม ราสายพันธุ์ GS14 ไม่สามารถเปลี่ยนรูป 6-gingerol ได้ใน 7 วัน เนื่องจากปริมาณของ 6-gingerol ในวันที่ 0-7 มีปริมาณค่อนข้างคงที่ (รูปที่ 3.17) ในการทดลองนี้พบพีคใหม่ที่เวลา 19.5 นาที ซึ่งเป็นพีคที่ไม่พบในตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา (รูปที่ A29-A42) และชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากชিং (รูปที่ 3.16 และ A169-A182) โดยพีคที่เวลา 19.5 นาที มีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 34.2 mAU\*min หรือ 33% ของปริมาณ 6-shogaol ในชุดควบคุมที่ไม่ใส่ราและไม่ได้บ่ม ณ วันที่ 2 จากนั้นพื้นที่ใต้พีคกลับลดลงเล็กน้อยจนเหลือระดับต่ำที่สุดคือ เหลือ 22% ณ วันที่ 7 ของการบ่ม ทั้งนี้จากแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของสารผลิตภัณฑ์ที่ 19.5 นาที และการลดลงของสารตั้งต้นคือ 6-shogaol ผลิตภัณฑ์ที่ 19.5 นาที ควรเป็นผลิตภัณฑ์จากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-shogaol ด้วยรา GS14 เนื่องจากการเพิ่มขึ้นและลดลงของสารทั้งสองมีความสัมพันธ์กัน เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองนี้กับผลการทดสอบเบื้องต้น (ตารางที่ 3.2) พีคที่ 19.5 นาที น่าจะเป็นพีคเดียวกับพีคที่ตรวจพบที่ 19.7-19.9 นาที ในการทดสอบเบื้องต้น แต่มีการคลาดเคลื่อนของเวลาที่สารออกจากคอลัมน์เล็กน้อย จากผลการทดลองทั้งหมด จึงสรุปได้ว่า ราสายพันธุ์ GS14 สามารถเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารในสารสกัดจากกากชিংเป็นสารใหม่ที่เวลา 19.5 นาทีได้ โดยภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการเก็บและแยกผลิตภัณฑ์ใหม่นี้คือที่เวลา 2 วันหลังการบ่ม



รูปที่ 3.15 ตัวอย่างโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยสายพันธุ์ GS14 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 2 วัน



รูปที่ 3.16 ตัวอย่างโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการซูดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของสายพันธุ์ GS14 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 2 วัน



รูปที่ 3.17 พื้นที่ใต้พีคของ 6-gingerol 6-shogaol และผลิตภัณฑ์ ณ วันที่ 0-7 บนโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยสายพันธุ์ GS14 ทั้งนี้ พื้นที่ใต้พีค ณ วันที่ 0 ของ 6-gingerol และ 6-shogaol เป็นข้อมูลจากซูดควบคุมที่ไม่ใส่ราและไม่ได้บ่ม

## บทที่ 4

### สรุปผลการทดลองและการศึกษาในอนาคต

งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาความสามารถในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพ (biotransformation) ของสารสำคัญหลักในกากขิง ด้วยราที่แยกออกมาจากดินใต้ต้นขิง

การแยกราด้วยวิธีเจือจางตามลำดับ จากดินใต้ต้นขิงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งโรสเบนกอล ได้ราบริสุทธิ์ 12 ชนิด ได้แก่ราสายพันธุ์ GS1, GS2, GS3, GS4, GS6, GS7, GS8, GS10, GS12, GS13, GS14 และ GS15 เมื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพของราแต่ละชนิด โดยเฉพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง PDA พบว่า ราแต่ละสายพันธุ์ที่แยกได้มีลักษณะร่วมกัน คือมีลักษณะเป็นเส้นใยที่กระจุกรวมกันเป็นไมซีเลียม (mycelium) อย่างไรก็ดี ราแต่ละชนิดมีความหนาบางแตกต่างกัน และราหลายชนิดมีสีแตกต่างกัน เช่น ราสายพันธุ์ GS1 มีเส้นใยสีขาว ในขณะที่ราสายพันธุ์ GS15 มีสีแดงและมีเส้นใยสีขาว อีกทั้งยังพบราที่มีลักษณะของไฮฟาที่สร้างสปอร์ชัดเจน ได้แก่ ราสายพันธุ์ GS6 GS7 และ GS12

เมื่อศึกษาความสามารถของราทั้งหมด 12 ชนิดที่แยกได้จากดินใต้ต้นขิงในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดจากกากขิง พบว่า รา 5 สายพันธุ์ ได้แก่ราสายพันธุ์ GS1, GS3, GS6, GS7 และ GS14 มีความสามารถในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสำคัญหลักในสารสกัดจากกากขิง คือ 6-gingerol และ 6-shogaol เป็นผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกันทั้งหมด 6 ชนิด ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีพื้นที่ใต้พีคค่อนข้างสูง อีกทั้งยังครอบคลุมกับพีคของผลิตภัณฑ์ใหม่ทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากราชนิดอื่น ๆ ดังนั้นจึงได้เลือกราทั้ง 5 สายพันธุ์เหล่านี้ ได้แก่ GS1, GS3, GS6, GS7 และ GS14 เพื่อนำมาศึกษาภาวะที่เหมาะสมและจลนพลศาสตร์ของการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงต่อไป

สุดท้าย ผู้วิจัยได้ศึกษาภาวะที่เหมาะสมและจลนพลศาสตร์ของการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยรา 5 สายพันธุ์ ได้แก่ GS1, GS3, GS6, GS7 และ GS14 โดยทดลองดังเช่นการทดสอบการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพเบื้องต้น แต่เก็บตัวอย่างทุกวัน เป็นระยะเวลา 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา (compound control) และชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิง (fungi control) พบว่า ราสายพันธุ์ GS1, GS3, GS6 และ GS7 สามารถเปลี่ยนรูปทางชีวภาพได้ทั้งของ 6-gingerol และ 6-shogaol โดย GS1 และ GS3 ให้ผลิตภัณฑ์ที่เวลา 12.9 นาที โดยภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการเก็บและแยกผลิตภัณฑ์นี้คือที่เวลา 3 และ 2 วัน หลังการบ่ม ตามลำดับ, GS6 ให้ผลิตภัณฑ์ที่เวลา 15.9 และ 19.5 นาที โดยภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการเก็บและแยกผลิตภัณฑ์นี้คือที่เวลา 2 วัน หลังการบ่ม และ GS7 ให้ผลิตภัณฑ์ที่เวลา 10.7, 15.4, 19.5 และ 23.1 นาที โดยภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการเก็บและแยกผลิตภัณฑ์นี้คือที่เวลา 7, 7, 1 และ 3 วัน หลังการบ่ม ตามลำดับ ในขณะที่ราสายพันธุ์ GS14 สามารถเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของ 6-shogaol เท่านั้น และให้ผลิตภัณฑ์

ใหม่เป็นเวลา 19.5 นาที โดยภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการเก็บและแยกผลิตภัณฑ์นี้คือเป็นเวลา 2 วันหลังการบ่ม แสดงให้เห็นว่า รา 5 สายพันธุ์มีความสามารถในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสำคัญหลักในกากขิงอย่าง 6-gingerol และ 6-shogaol เป็นทั้งผลิตภัณฑ์ใหม่ที่เกิดพีคขึ้นที่เวลาเท่ากันและที่เวลาต่างกัน ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ที่เวลา 10.7 และ 15.4 นาที เกิดจากการบ่มปฏิกริยากับ GS7, ผลิตภัณฑ์ที่เวลา 12.9 นาที เกิดจากการบ่มปฏิกริยากับ GS1 และ GS3, ผลิตภัณฑ์ที่เวลา 15.9 นาที เกิดจากการบ่มปฏิกริยากับ GS6, ผลิตภัณฑ์ที่เวลา 19.5 นาที เกิดจากการบ่มปฏิกริยากับ GS6 GS7 และ GS14, และผลิตภัณฑ์ที่เวลา 23.1 นาที เกิดจากการบ่มปฏิกริยากับ GS6 และ GS7

### การศึกษาในอนาคต

แยกผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิง ได้แก่ 6-gingerol และ 6-shogaol ด้วยราสายพันธุ์ GS1, GS3, GS6, GS7 และ GS14 และพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารโดยใช้เทคนิค นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (NMR) และแมสสเปกโตรเมทรี (Mass spectrometry) นอกจากนี้ควรทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารผลิตภัณฑ์เหล่านี้ทั้งต่อสุขภาพ และทางการเกษตร หากสำเร็จ การใช้ราจากดินใต้ต้นขิงในการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงที่เหลือจากการแปรรูปเป็นน้ำขิง จะเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้กับอุตสาหกรรมนี้ได้

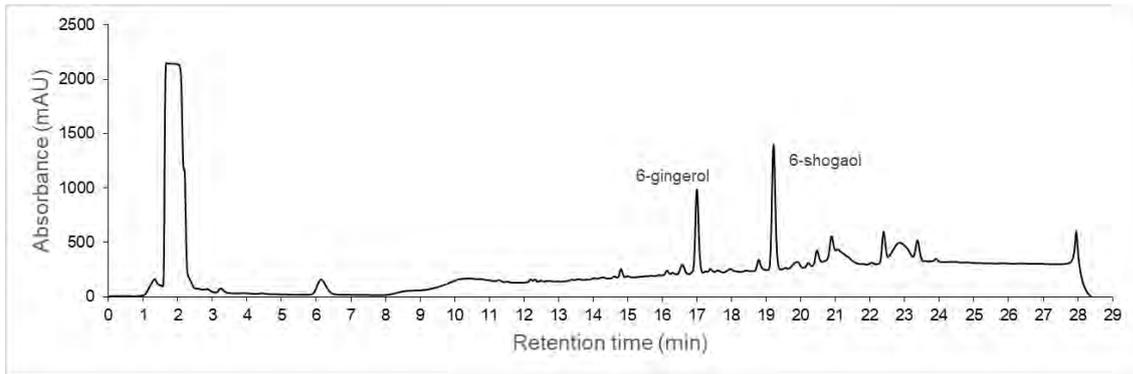
## เอกสารอ้างอิง

1. Kizhakkayil, J. A.; Sasikuman, B. Characterization of ginger germplasm based on volatile and non-volatile component. *Afr. J. Biotechnol.* 2012, 11(4), 777-786
2. Govindarajan VS. Ginger - chemistry, technology, and quality evaluation: part 2. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1982, 17, 189-258
3. <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/medplantdatabase/> (accessed April 1, 2020)
4. <https://www.ryt9.com/s/expd/1573843> (accessed April 2, 2020)
5. <http://fic.nfi.or.th/technologyandinnovation-detail.php?smid=51> (accessed April 1, 2020)
6. Smitha, M. S.; Singh, S.; Singh, R. Microbial Biotransformation: A Process for Chemical Alterations. *J.Bacteriol.Mycol.* Open access. 2017, 4, 1-6
7. Arunrattiyakron, P.; Suwannasai, N.; Aree, T.; Kanokmedhakul, S.; Ito, H.; Kanzaki, H. Biotransformation of  $\alpha$ -mangostin by *Colletotrichum* sp. MT02 and *Phomopsis euphorbiae* K12. *Molecular Catalysis B: Enzymatic.* 2014, 102, 174-179
8. Soo, K. J.; In, S. K.; Shaheed, U. R.; Sang, H. K.; Ho-Young, P.; Yong, K. P.; Hye, H. Y. Characterization of metabolites produced from the biotransformation of 6-shagaol formed by *Aspergillus niger*. *Eur Food Res Technol.* 2016, 242, 137-142
9. วิจิตรา ทศนียกุล. การเมแทบอลิซึมยาในมนุษย์ : จากพื้นฐานระดับยีนสู่การประยุกต์ใช้ทางคลินิก (Human Drug Metabolism: From Genes to Clinical Applications). พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: ปิยอนด์เอ็นเทอร์ไพรซ์. 2554
10. Amadi, Peter; Ogunka-Nnoka, Charity; Bene, Abbey. Biotransformation of plantain pseudostem fibres using local enzyme sources; analysis of their potential as commercial poultry feed. *Biocatalysis and Biotransformation.* 2018, 36, 224-232
11. Sutarno H; Hadad EA; Brink M. *Zingiber officinale* Roscoe. *Backhuys.* 1999, 238-244.
12. <https://www.honestdocs.co/benefits-of-ginger>. (accessed April 1, 2020)
13. Chrubasik S; Pittler MH; Roufogalis BD. *Zingiberis rhizoma*: A comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles. *Phytomedicine.* 2005, 12, 684-701
14. <https://www.drweil.com/vitamins-supplements-herbs/herbs/ginger>. (accessed April 1, 2020)

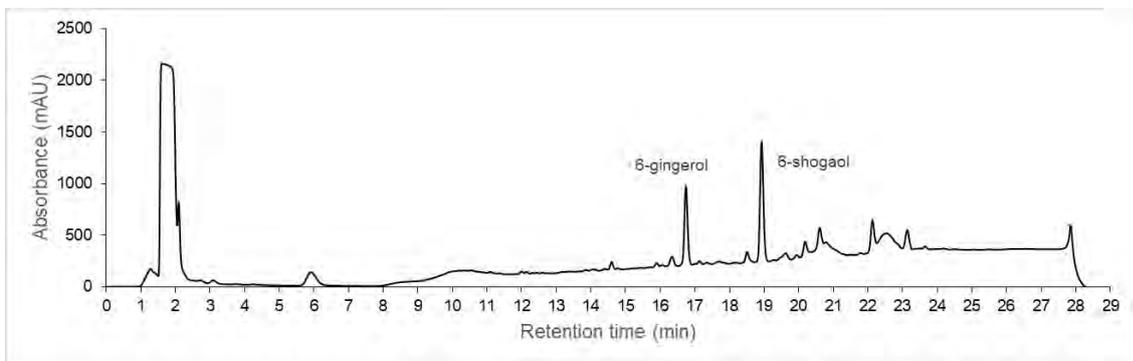
15. นันทวัน บุญยะประภัศร, อรุณช โชคชัยเจริญพร. สมุนไพรไม้พื้นบ้าน. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2539, 496-519
16. บังอร ศรีพานิชกุลชัย. ขิงเพื่อสุขภาพ. วารสารเภสัช. 2551, 4(1), 1-15
17. Govindarajan VS. Ginger - chemistry, technology, and quality evaluation: part 2. Crit Rev Food Sci Nutr. 1982, 17, 189-258
18. Zick SM; Djuric Z; Ruffin MT; Litzinger AJ; Normolle DP; Alrawi S; Feng MR; Brenner DE. Pharmacokinetics of 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol, and 6-shogaol and conjugate metabolites in healthy human subjects. AACR Journals Metrics. 2008, 17, 1930- 1936
19. Hasan HA; Rasheed Raauf AM; Abd Razik BM; Rasool Hassan BA. Pharmaceut Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Crude Extracts Isolated from Zingiber Officinale by Different Solvents. Pharmaceute Anat Acta. 2012, 3, 184
20. Ketusingh O, Wimolwattanapun S, Nilvises N. Smooth muscle actions of some Thai herbal carminatives. Thai J Pharmacol. 1984, 6(1), 11-9.
21. Kiuchi F, Iwakami S, Shibuya M. Inhibition of prostaglandin and leukotriene biosynthesis by gingerols and diarylheptanoids. Chem Pharm Bull. 1992, 40, 387-391.
22. Penna SC, Medeiros MV, Aimbire FSC. Antiinflammatory effect of the hydralcoholic extract of Zingiber officinale rhizomes on rat paw and skin edema. Phytomedicine. 2003, 10, 381-385.
23. Amadi, Peter; Ogunka-Nnoka, Charity; Bene, Abbey. Biotransformation of plantain pseudostem fibres using local enzyme sources; analysis of their potential as commercial poultry feed. Biocatalysis and Biotransformation. 2018, 36, 224-232
24. K.B. Borges; W.S. Borges; R. Durán.Patrón; M.T. Pupo; P.S. Bonato; I.G. Collado Stereoselective biotransformations using fungi as biocatalysts. Tetrahedron Asymmetr. 2009, 20, 385-397
25. Takahashi, H.; Hashimoto, T.; Noma, Y.; Asakawa, Y. Biotransformation of 6-gingerol and 6-shogaol by *Aspergillus niger*. Phytochemistry. 1993, 34, 1497-1500
26. Sang-Sup Lee. Re-examination of 6-Shogaol Biotransformation by *Aspergillus niger*. Arch. Pharm. Res. 1995, 18(2), 136-137

ภาคผนวก

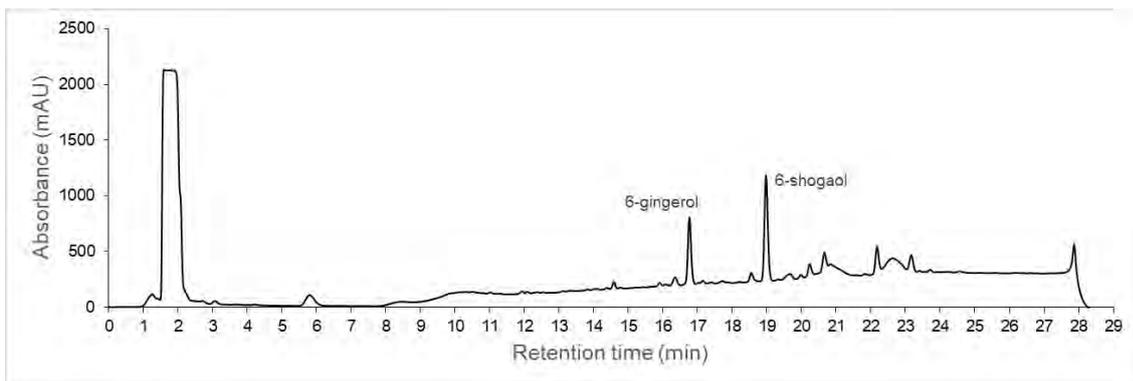
ทดสอบการเปลี่ยนแปลงรูปทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดจากกากขิงโดยราที่คัดแยกมา (หัวข้อที่ 3.2)



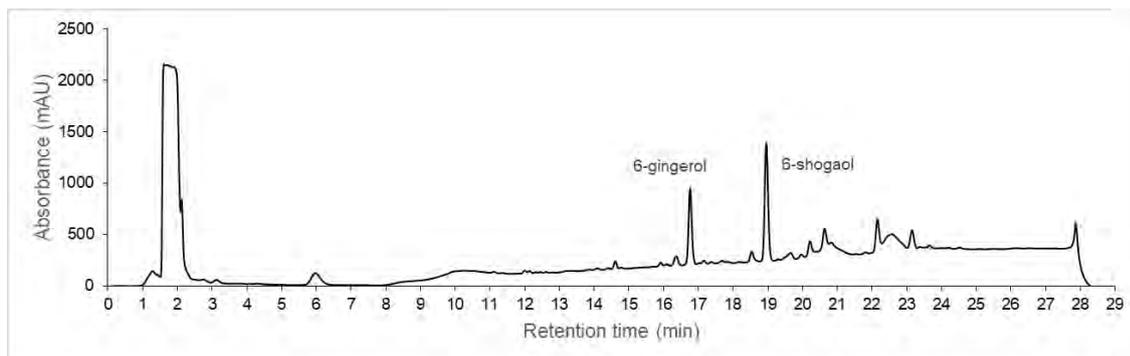
รูปที่ A1 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่ราที่ไม่ได้บ่ม ซ้ำที่ 1 ในการทดสอบการเปลี่ยนแปลงรูปทางชีวภาพเบื้องต้น ที่ 220 nm



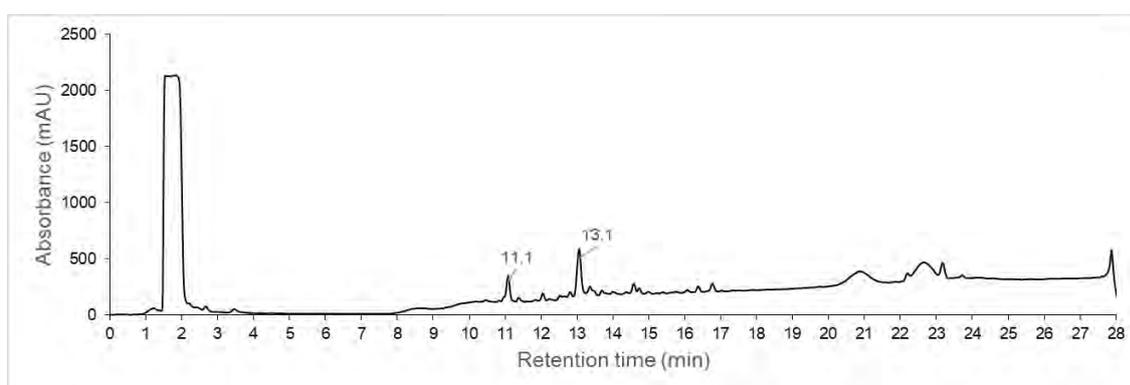
รูปที่ A2 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่ราที่ไม่ได้บ่ม ซ้ำที่ 2 ในการทดสอบการเปลี่ยนแปลงรูปทางชีวภาพเบื้องต้น ที่ 220 nm



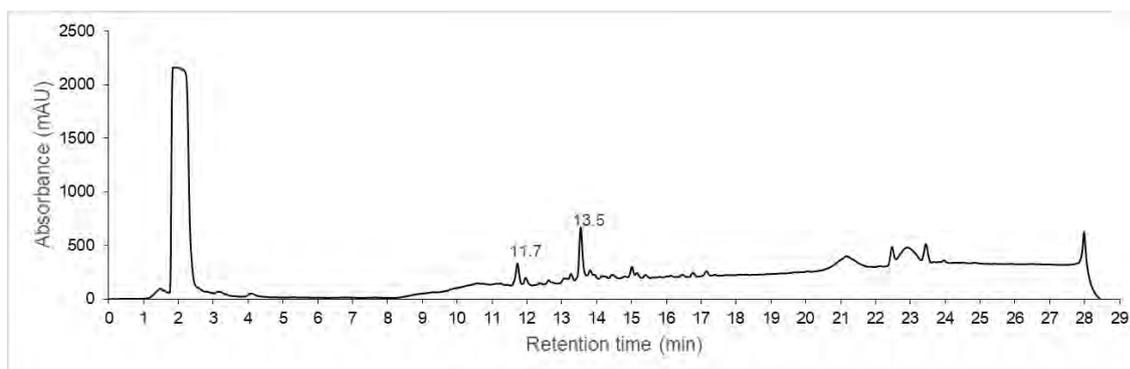
รูปที่ A3 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ซ้ำที่ 1 ในการทดสอบการเปลี่ยนแปลงรูปทางชีวภาพเบื้องต้น ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



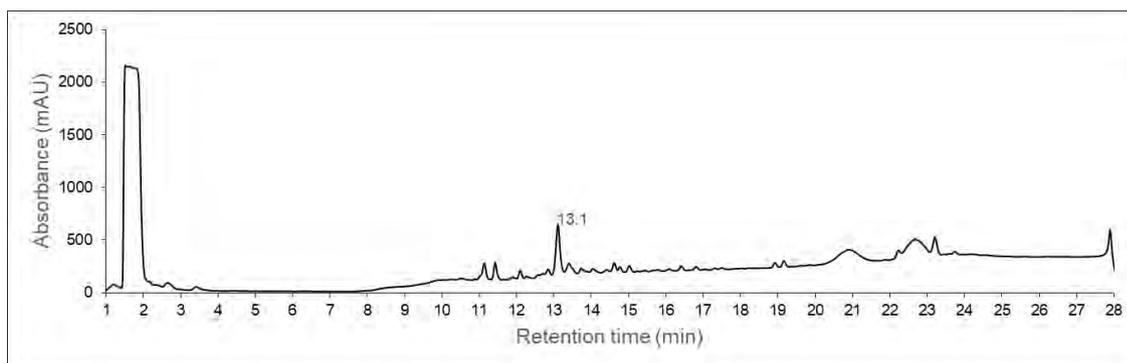
รูปที่ A4 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ช้ำที่ 2 ในการทดสอบการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพเบื้องต้น ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



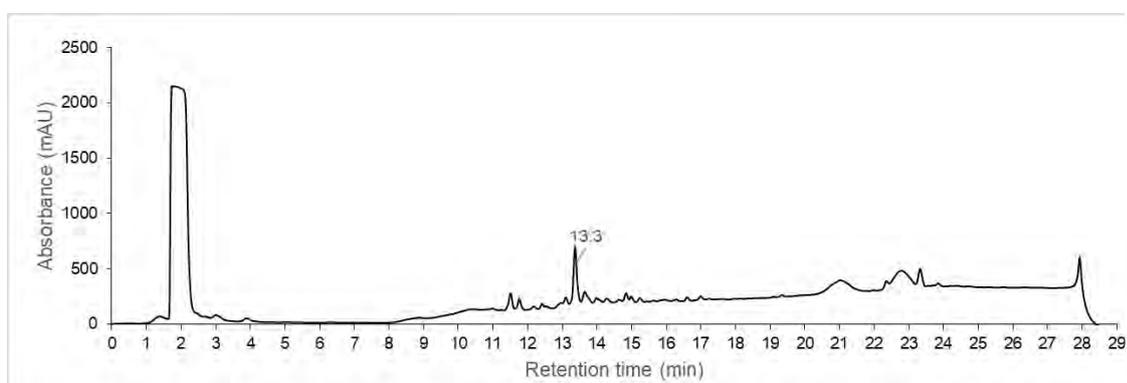
รูปที่ A5 ตัวอย่างโครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS1 ช้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



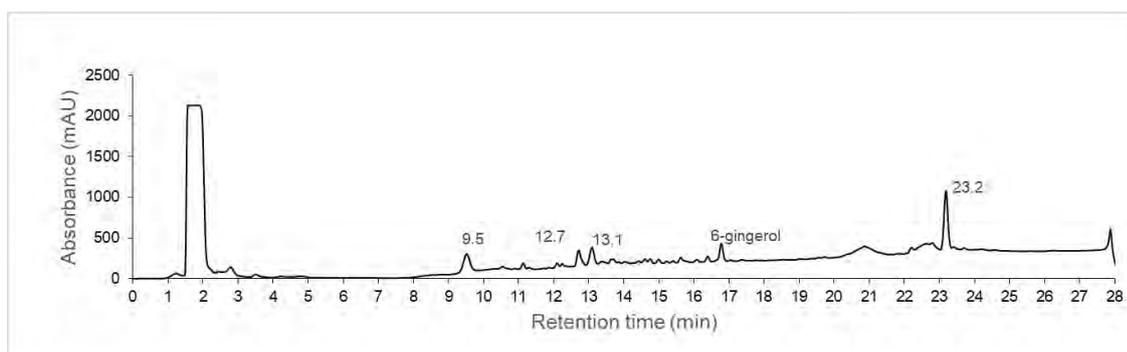
รูปที่ A6 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS1 ช้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



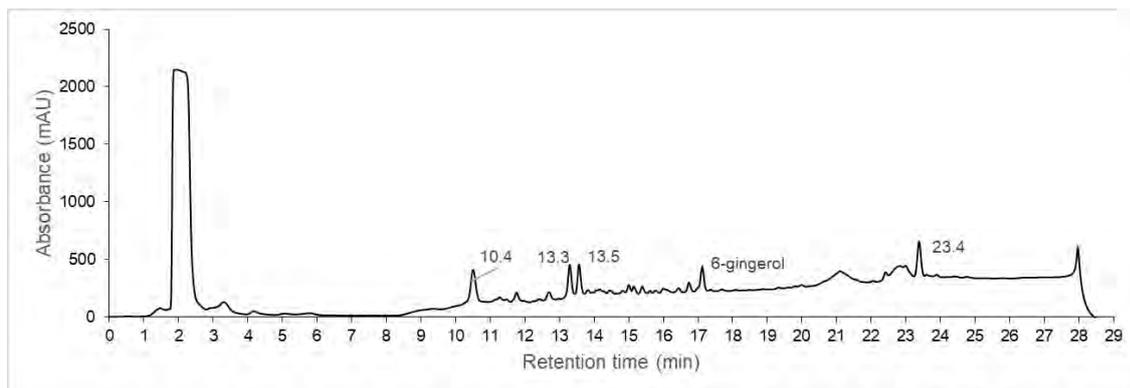
รูปที่ A7 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS2 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



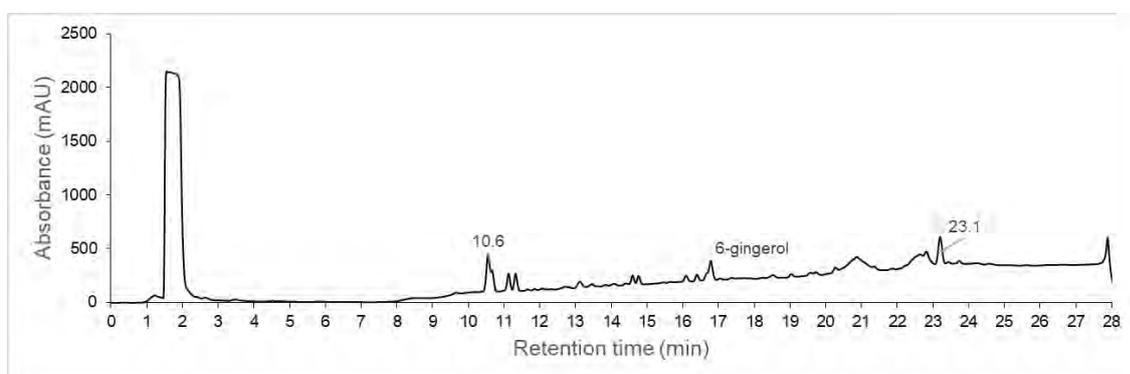
รูปที่ A8 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS2 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



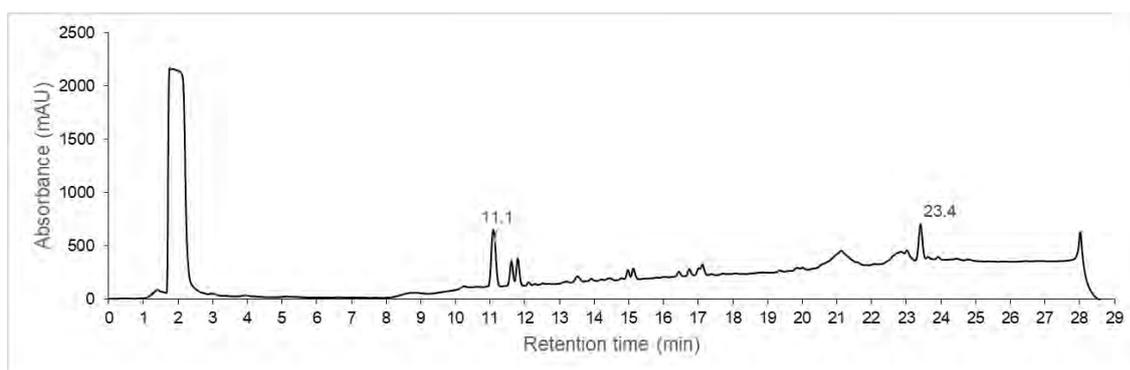
รูปที่ A9 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



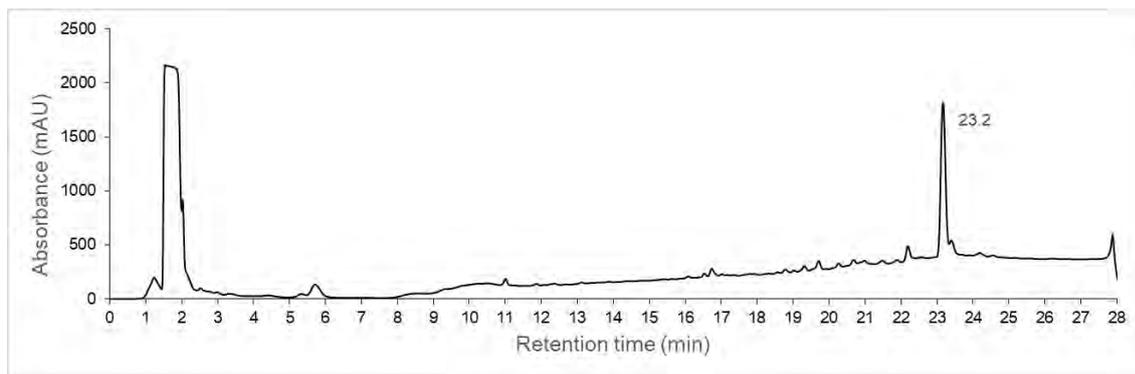
**รูปที่ A10** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



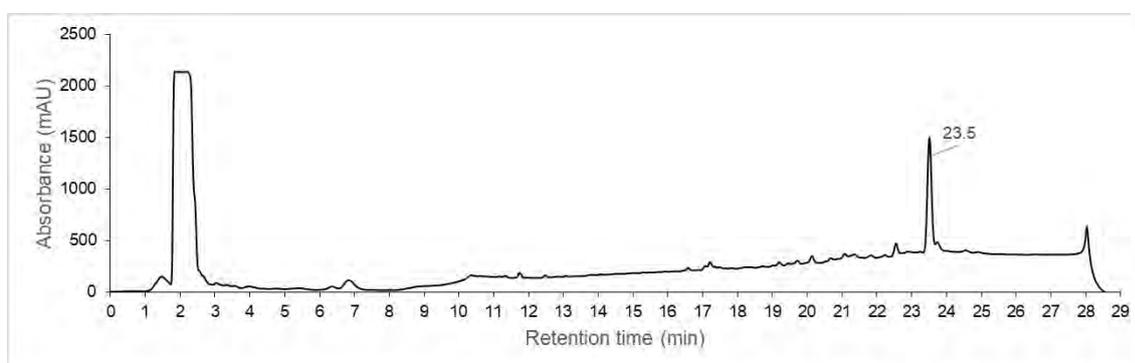
**รูปที่ A11** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS4 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



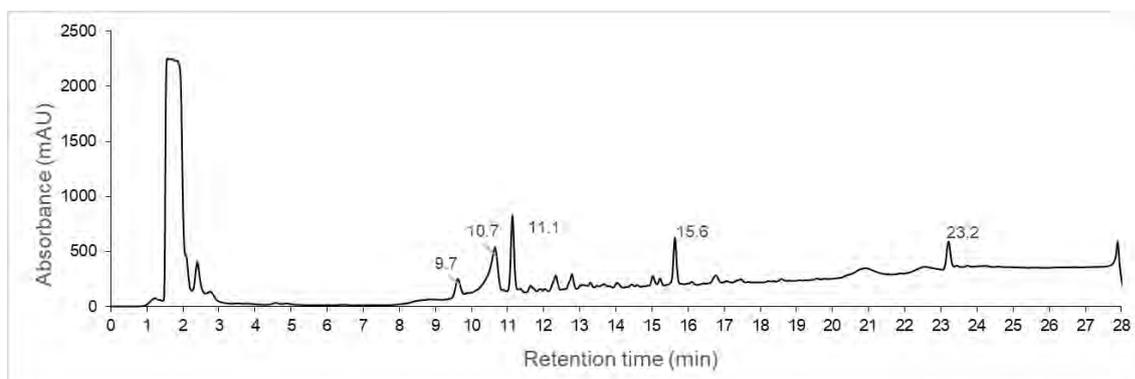
**รูปที่ A12** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS4 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



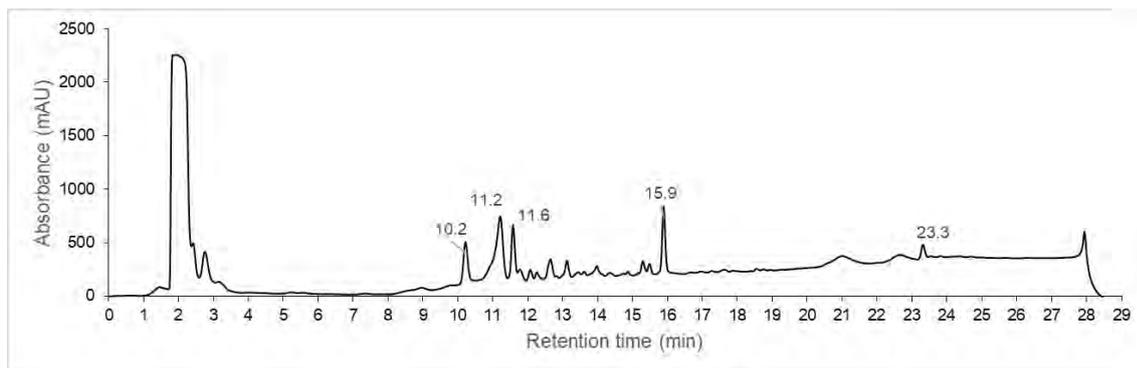
รูปที่ A13 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



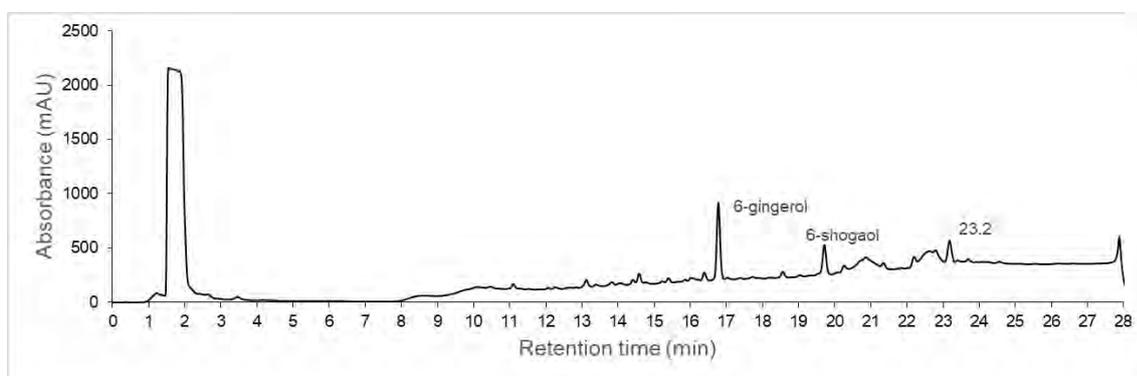
รูปที่ A14 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



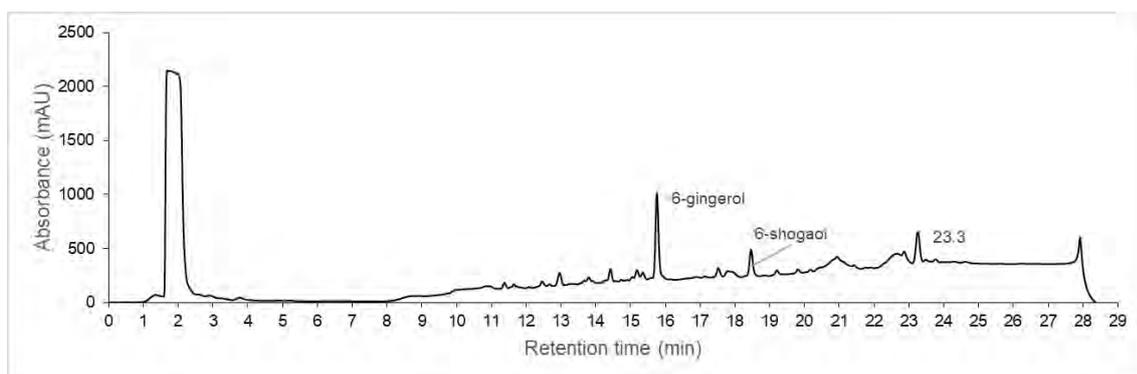
รูปที่ A15 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



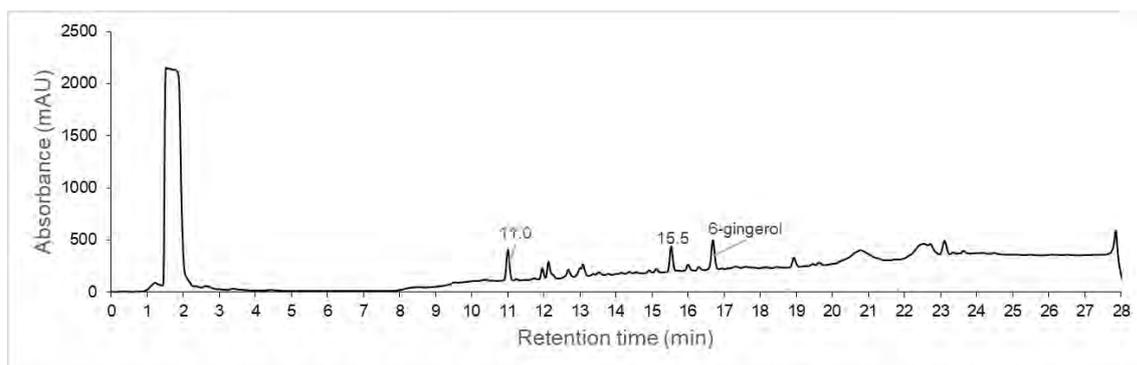
**รูปที่ A16** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



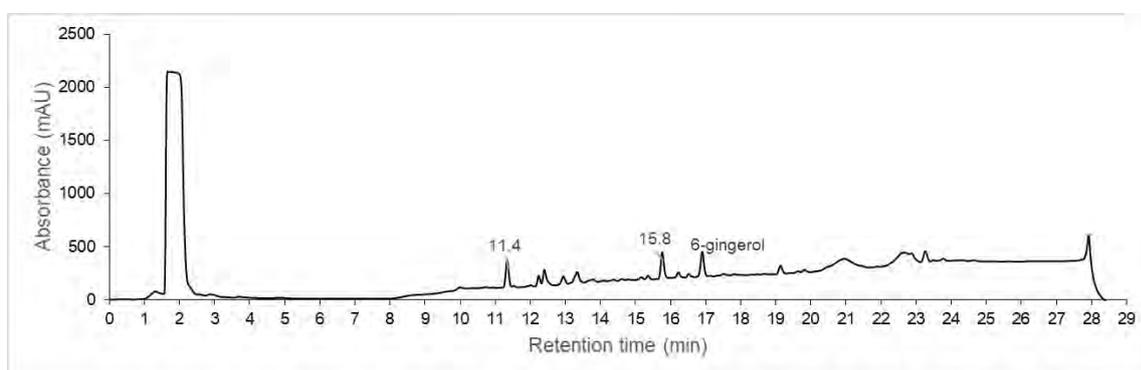
**รูปที่ A17** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS8 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



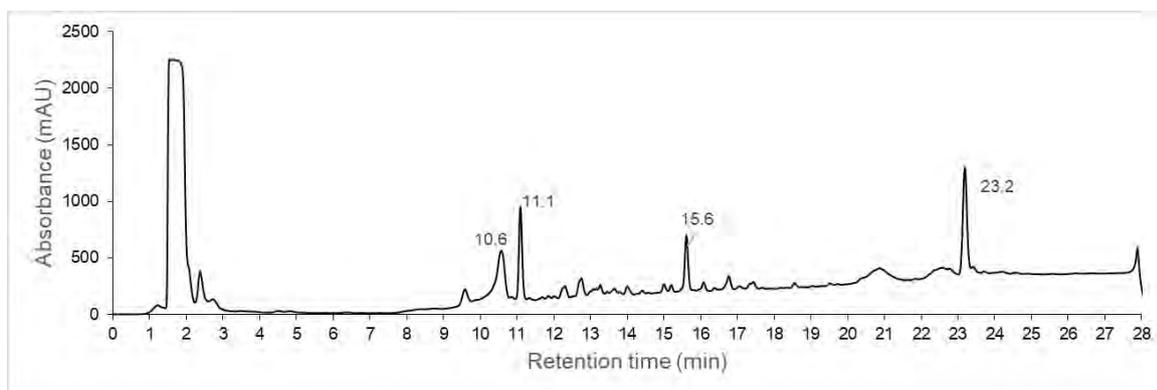
**รูปที่ A18** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS8 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



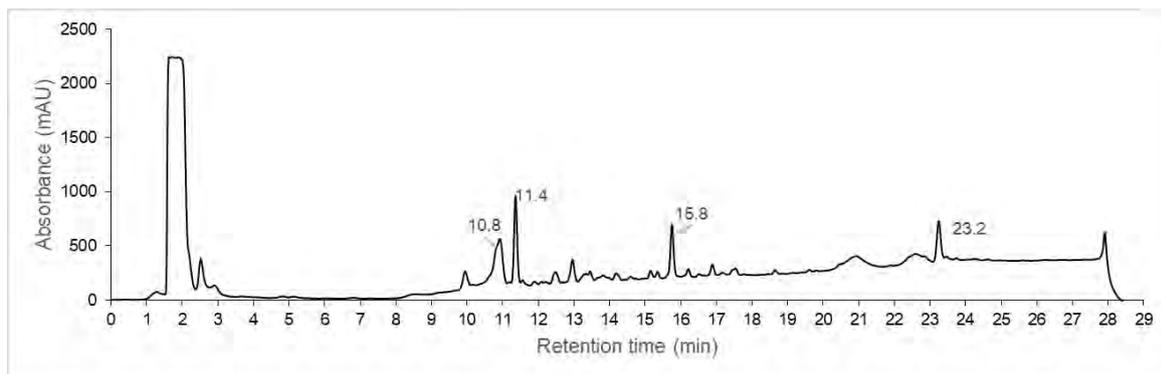
**รูปที่ A19** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS10 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



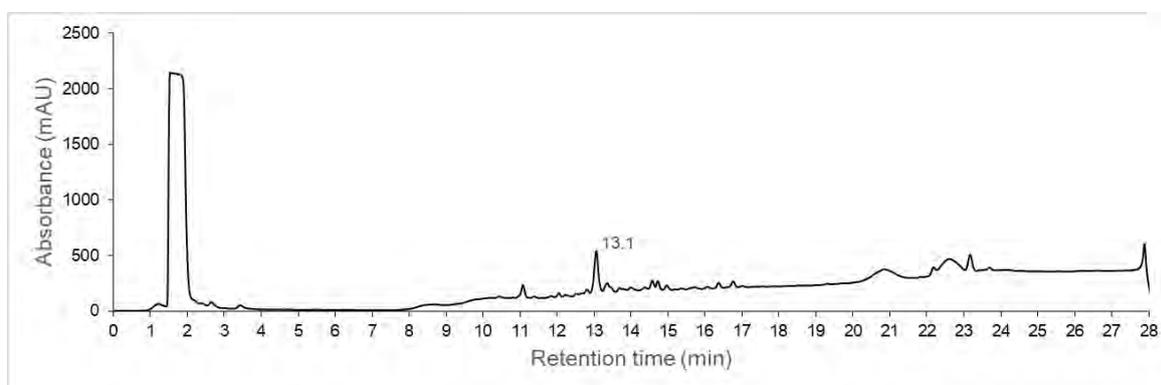
**รูปที่ A20** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS10 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



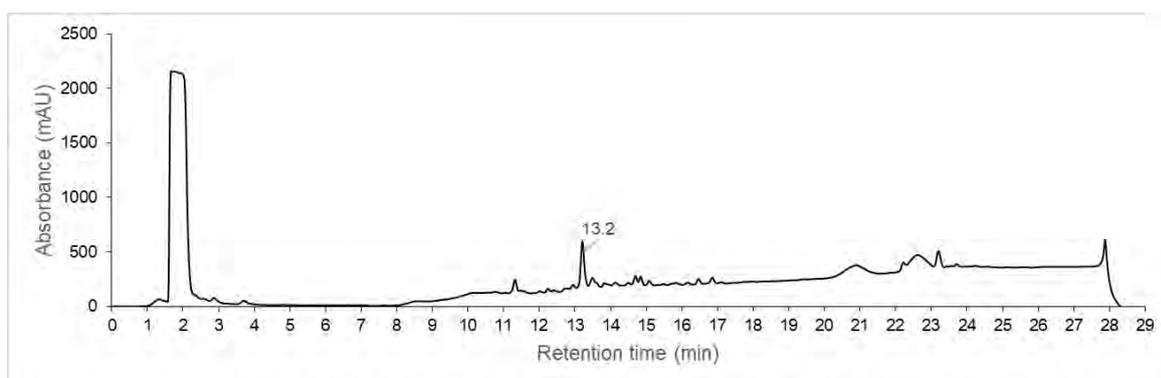
**รูปที่ A21** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS12 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



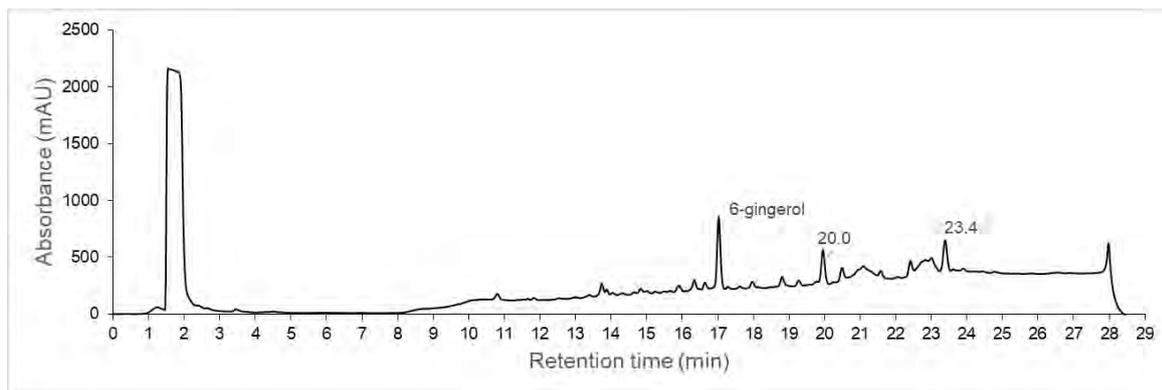
รูปที่ A22 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS12 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



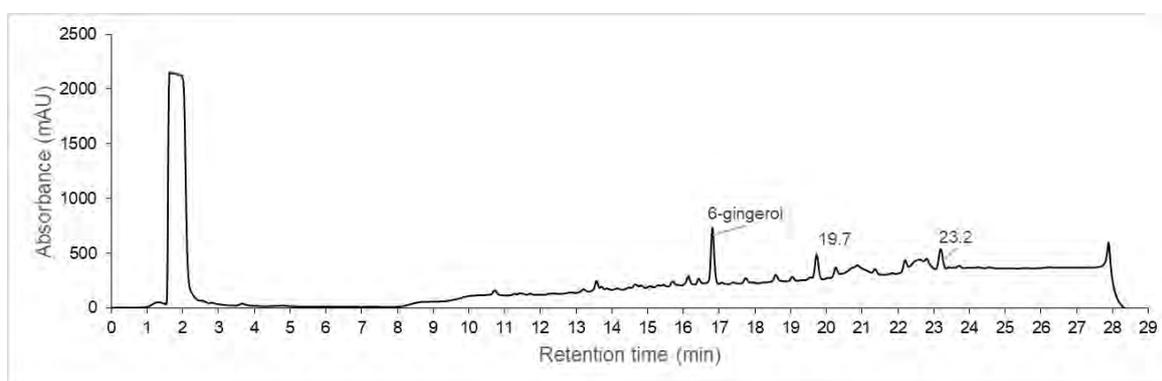
รูปที่ A23 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS13 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



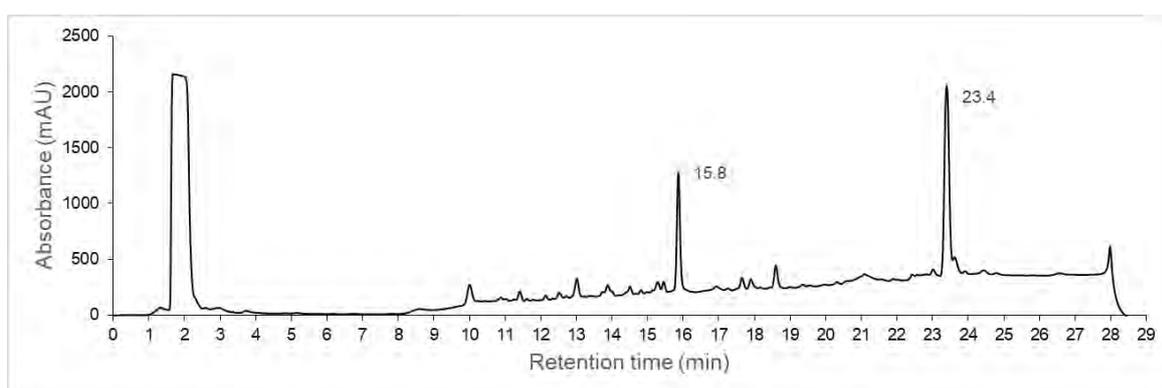
รูปที่ A24 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS13 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



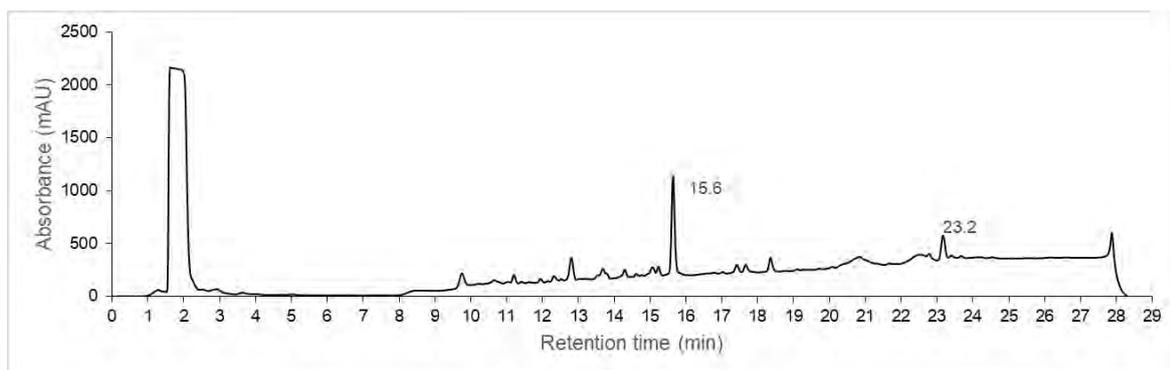
รูปที่ A25 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



รูปที่ A26 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



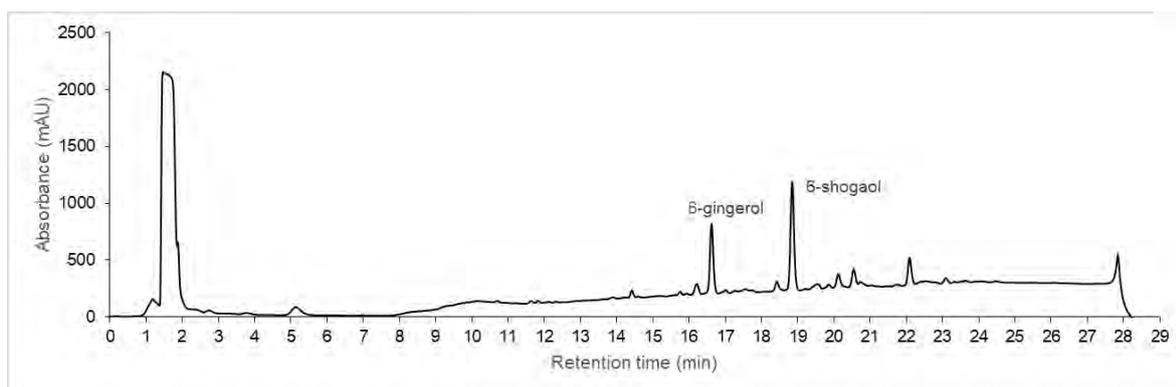
รูปที่ A27 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS15 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน



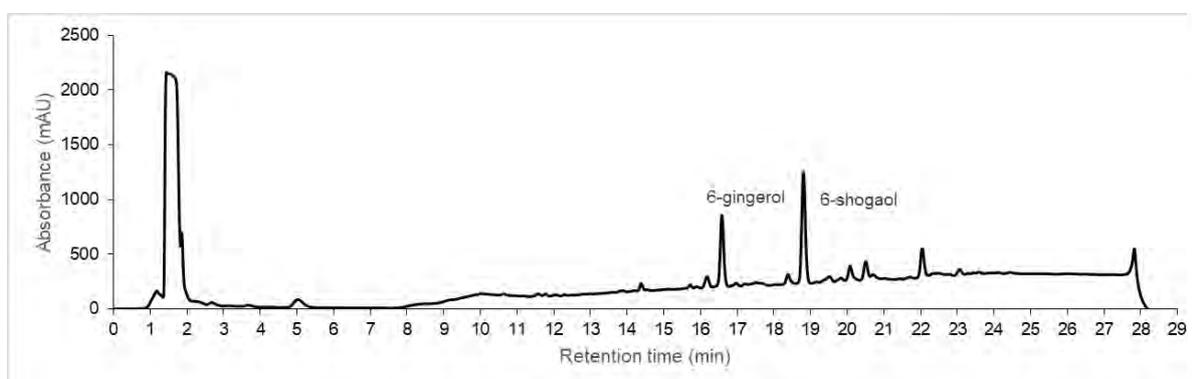
รูปที่ A28 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS15 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน

การหาภาวะที่เหมาะสมและจลนพลศาสตร์ของการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงโดยรา (หัวข้อที่ 3.3)

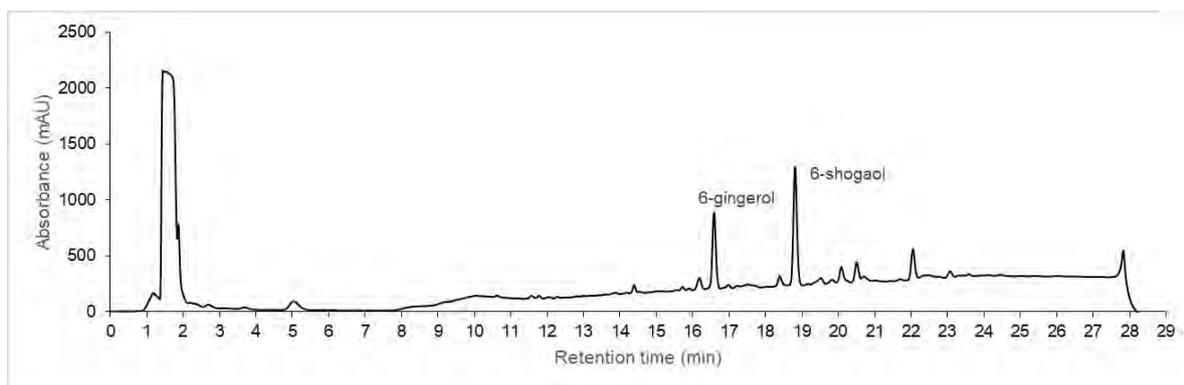
ชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา (compound control)



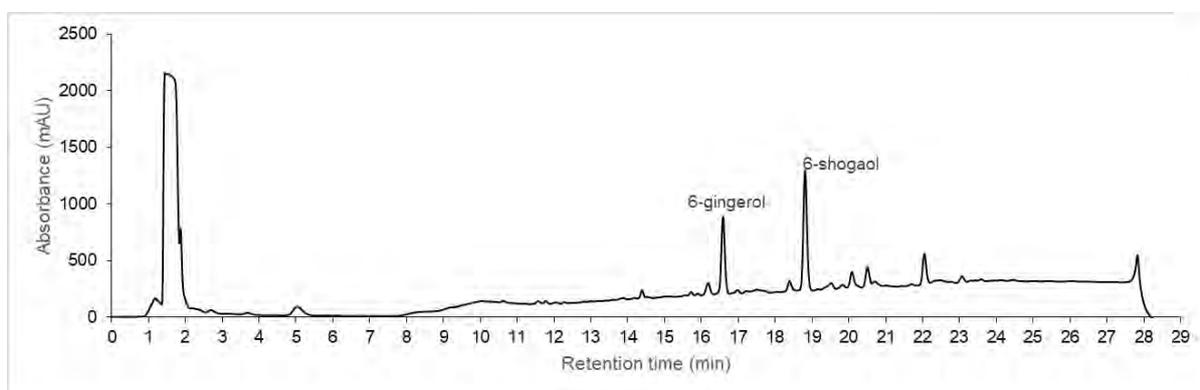
รูปที่ A29 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่ม 1 วัน



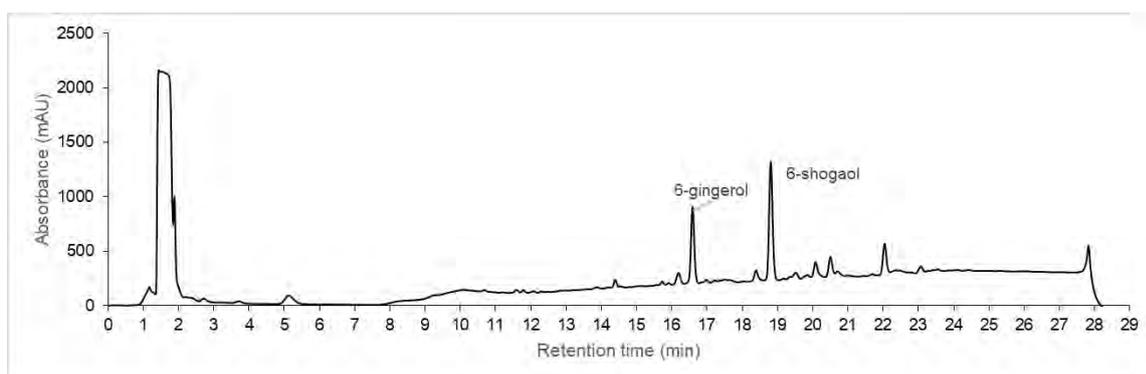
รูปที่ A30 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่ม 1 วัน



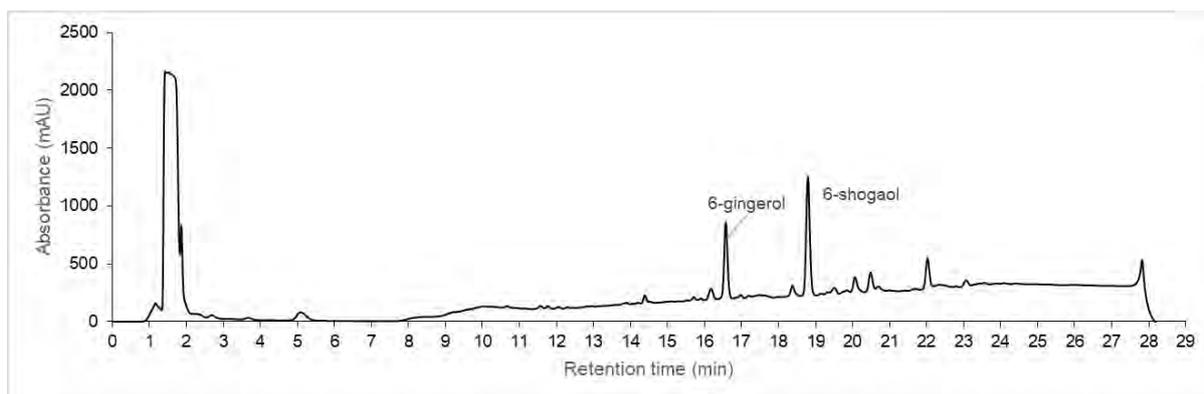
รูปที่ A31 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่ม 2 วัน



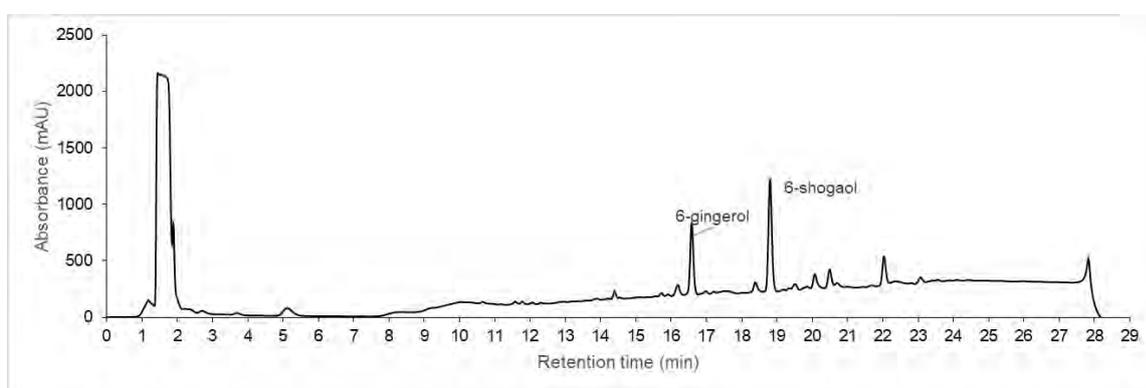
รูปที่ A32 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่ม 2 วัน



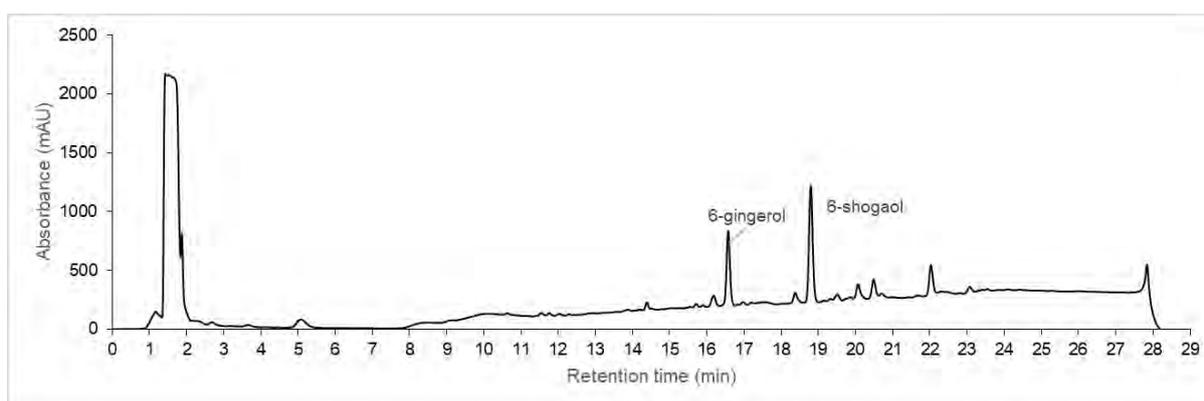
รูปที่ A33 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่ม 3 วัน



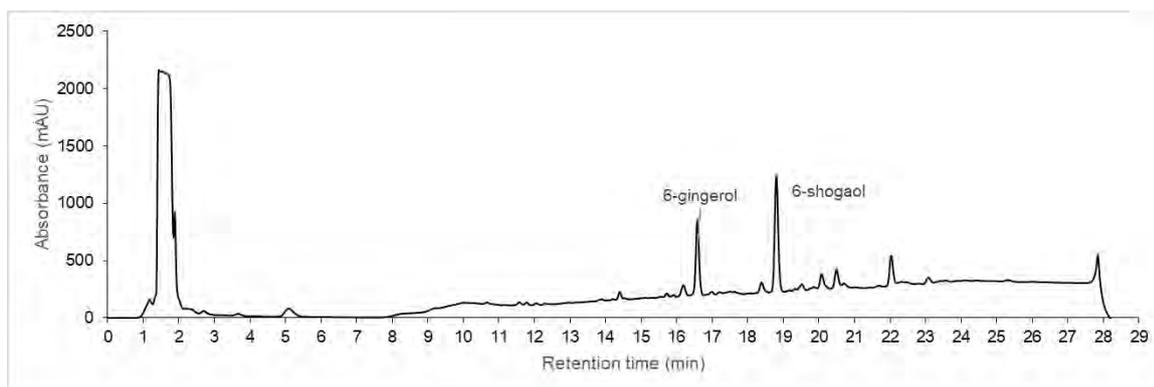
รูปที่ A34 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่ม 3 วัน



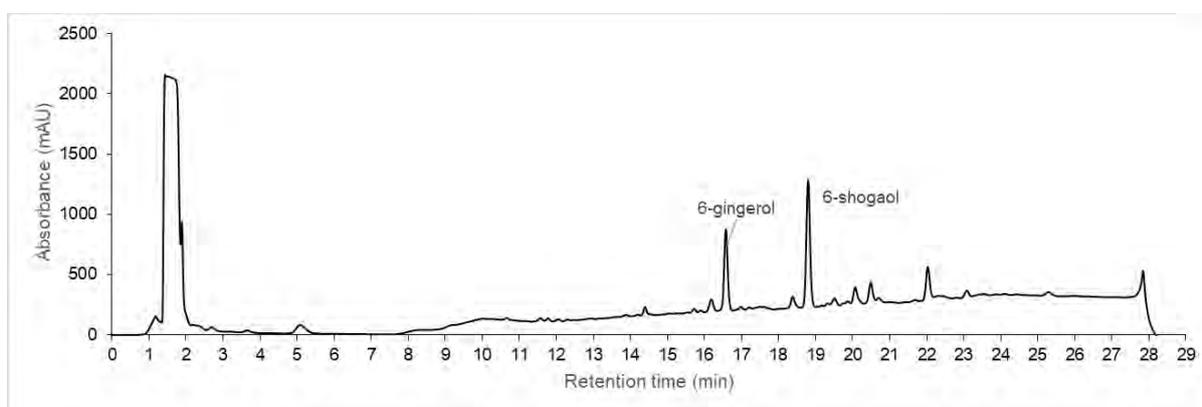
รูปที่ A35 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่ม 4 วัน



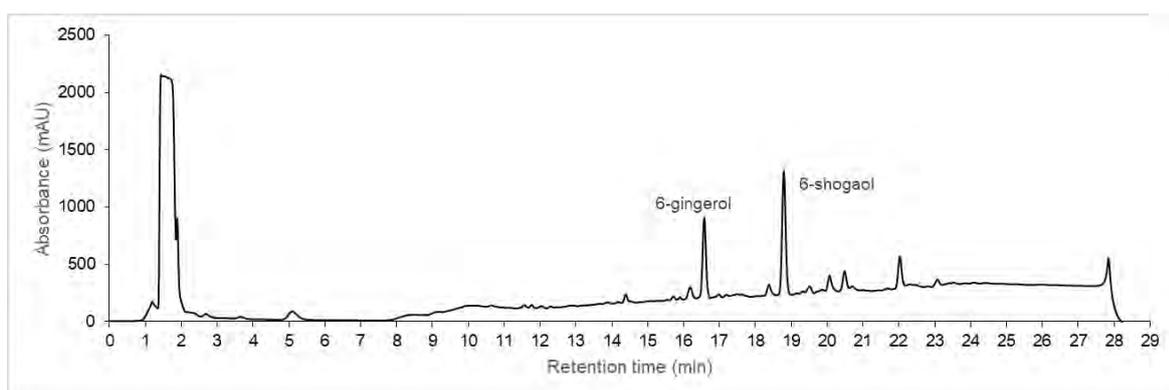
รูปที่ A36 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่ม 4 วัน



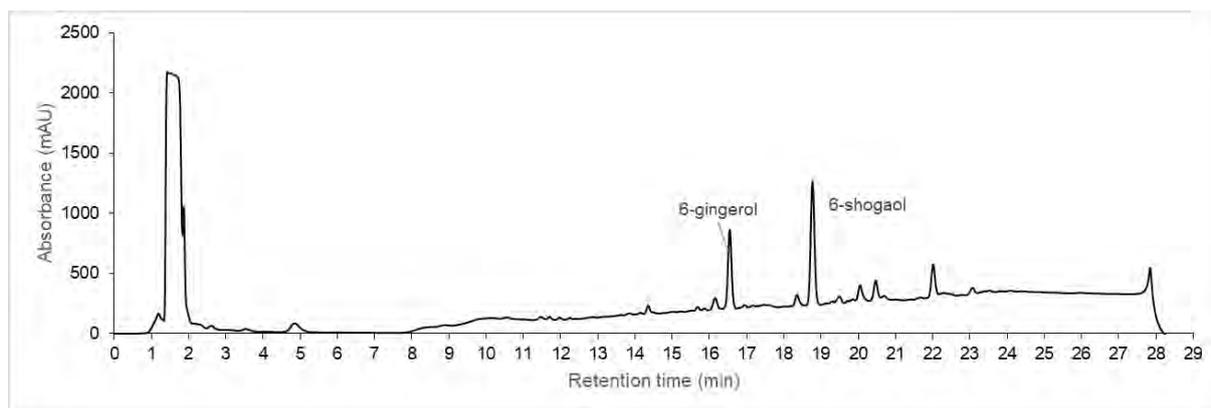
รูปที่ A37 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่ม 5 วัน



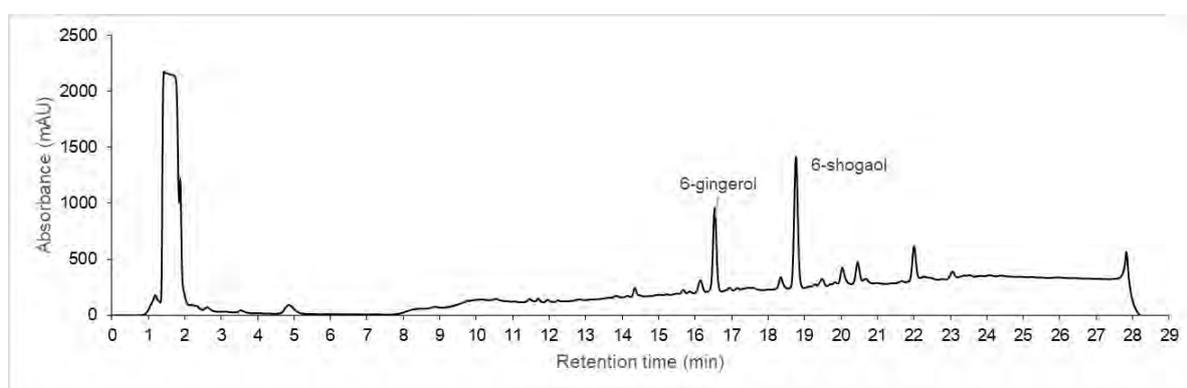
รูปที่ A38 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่ม 5 วัน



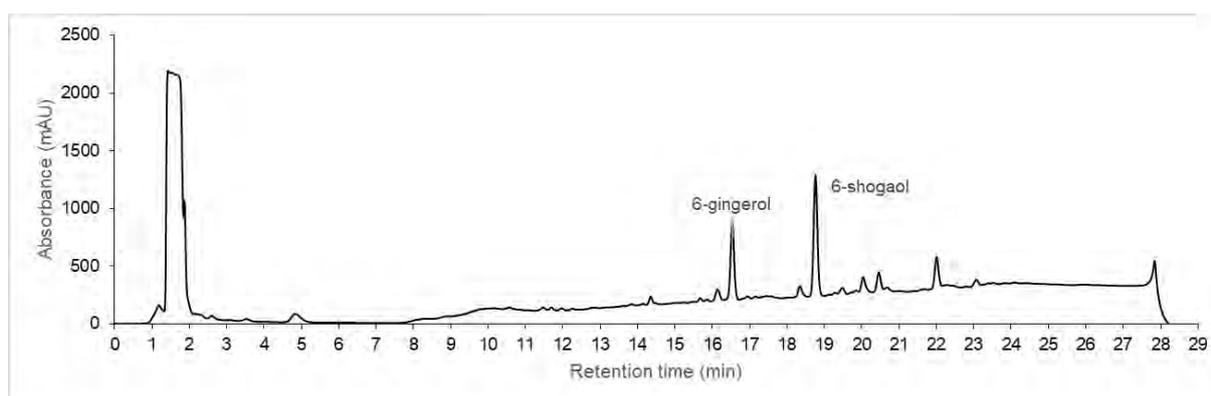
รูปที่ A39 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่ม 6 วัน



รูปที่ A40 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่ม 6 วัน

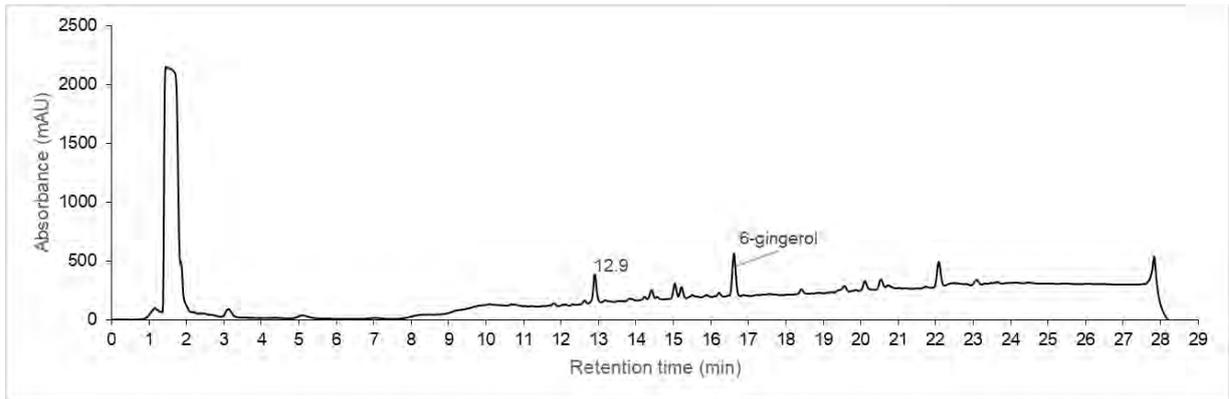


รูปที่ A41 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่ม 7 วัน

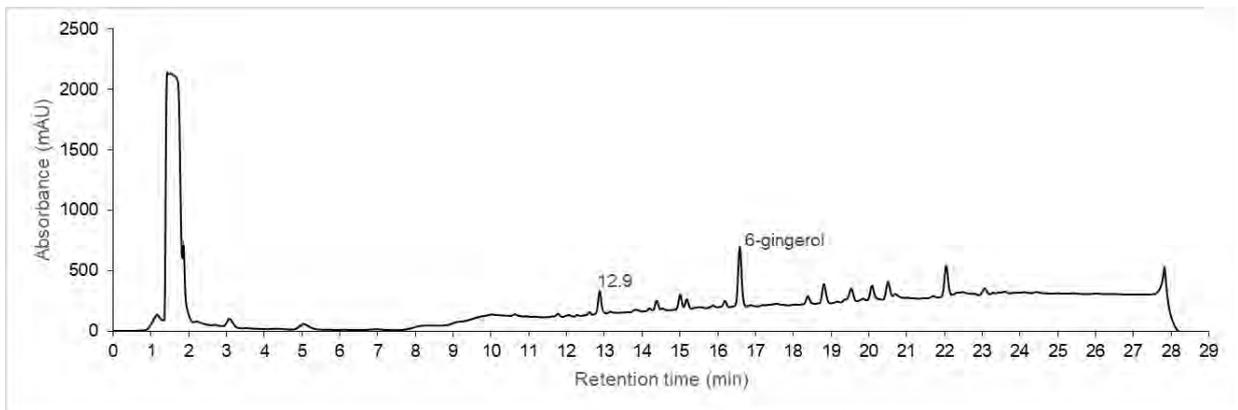


รูปที่ A42 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่ม 7 วัน

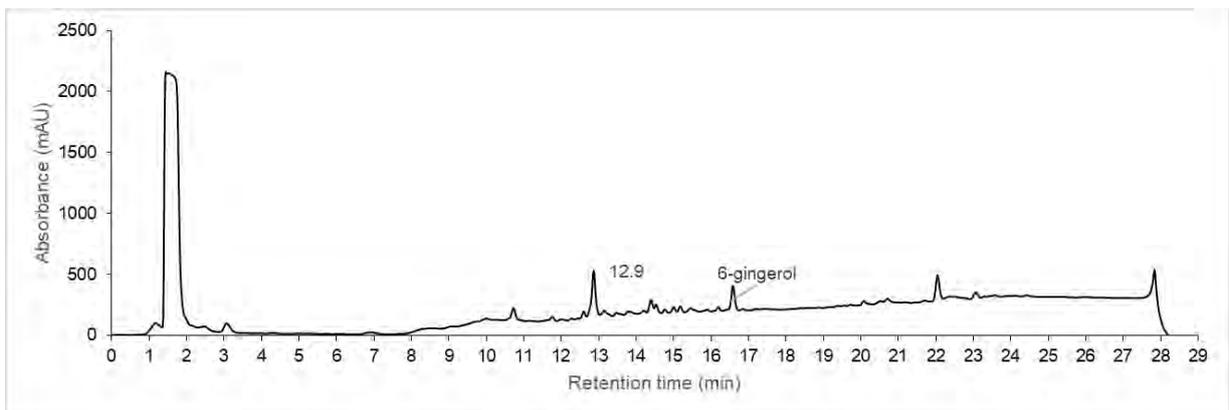
### สายพันธุ์ GS1



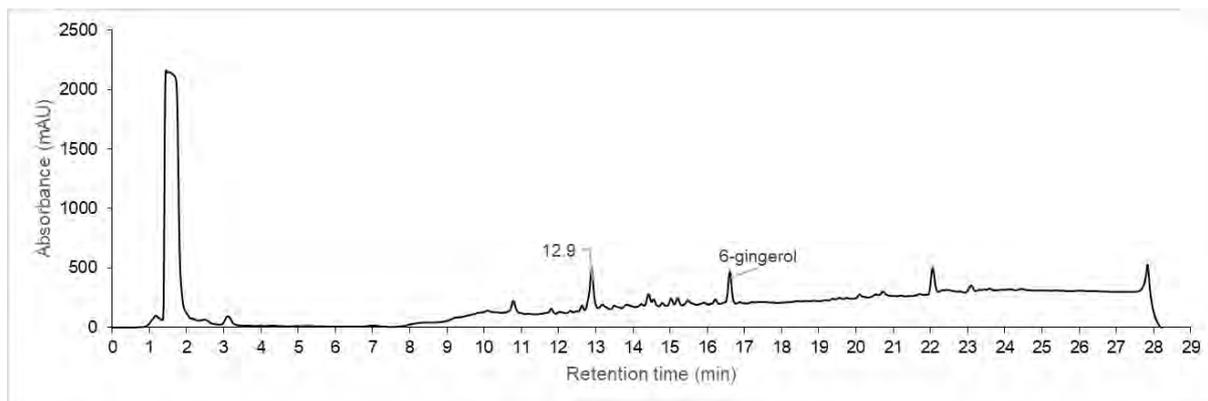
รูปที่ A43 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 1 วัน



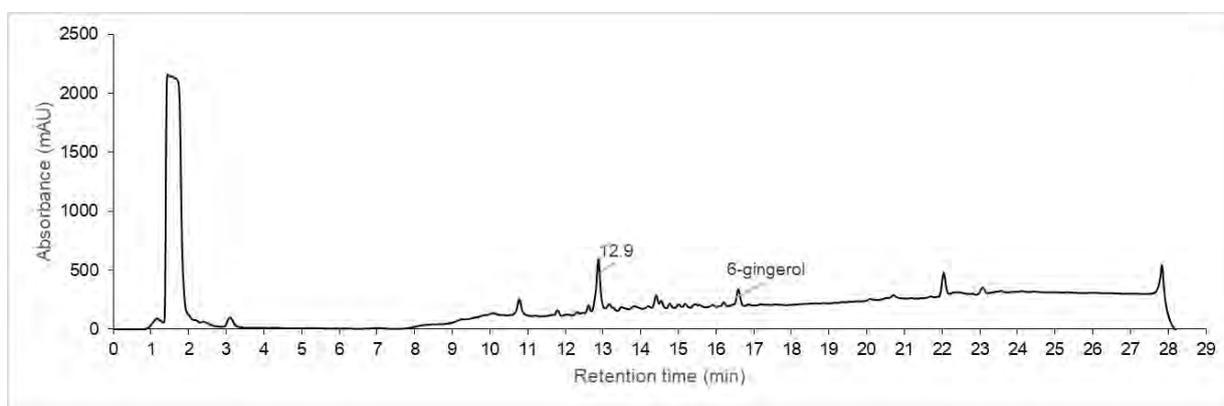
รูปที่ A44 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 1 วัน



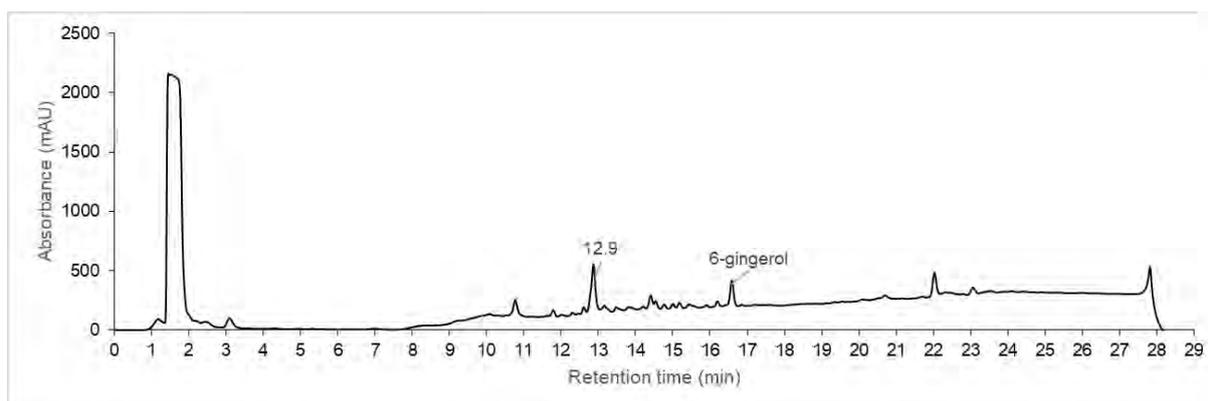
รูปที่ A45 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 2 วัน



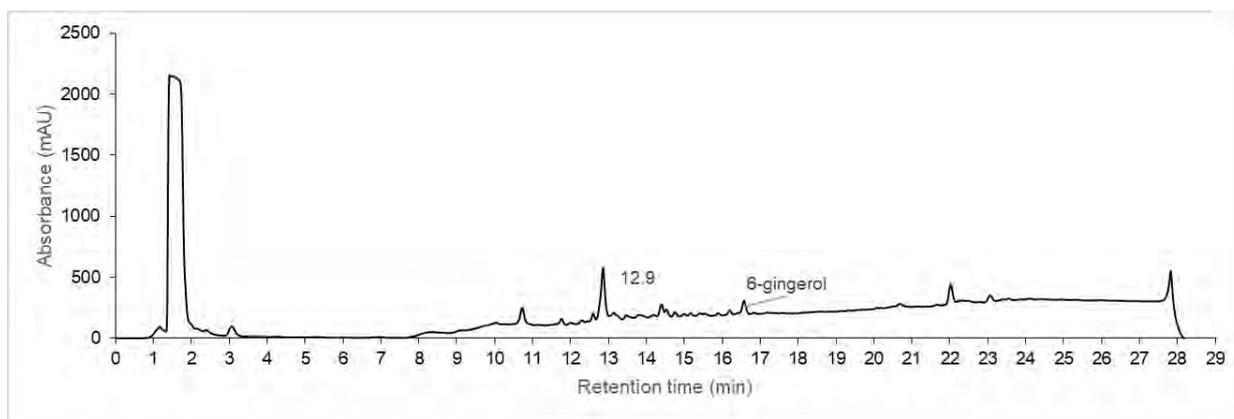
รูปที่ A46 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังป่มรา 2 วัน



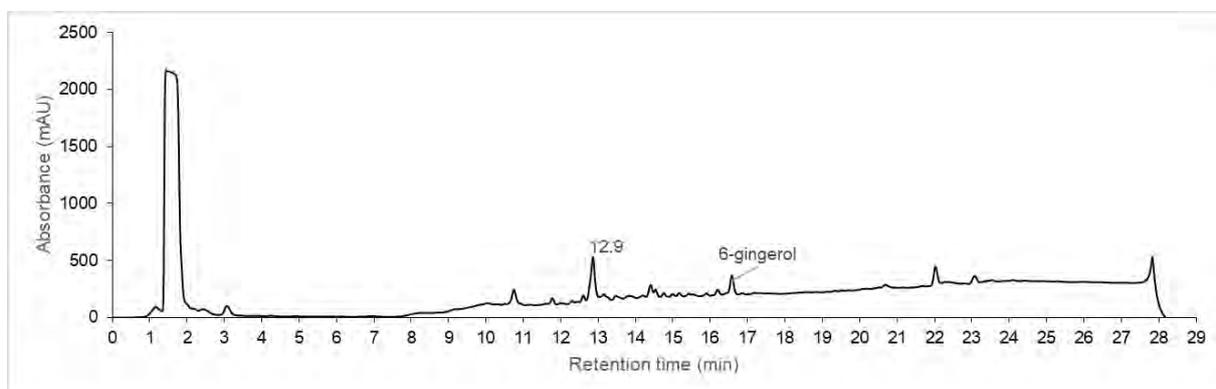
รูปที่ A47 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังป่มรา 3 วัน



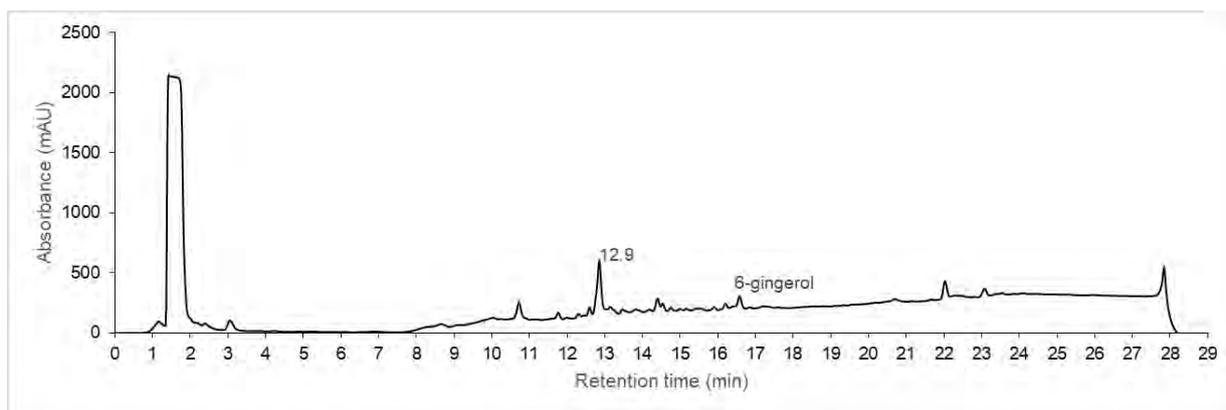
รูปที่ A48 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังป่มรา 3 วัน



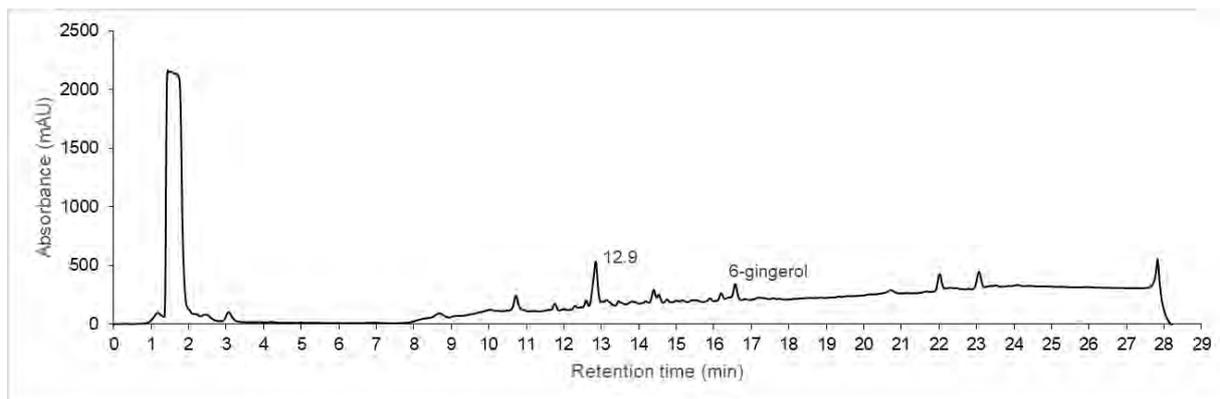
รูปที่ A49 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 4 วัน



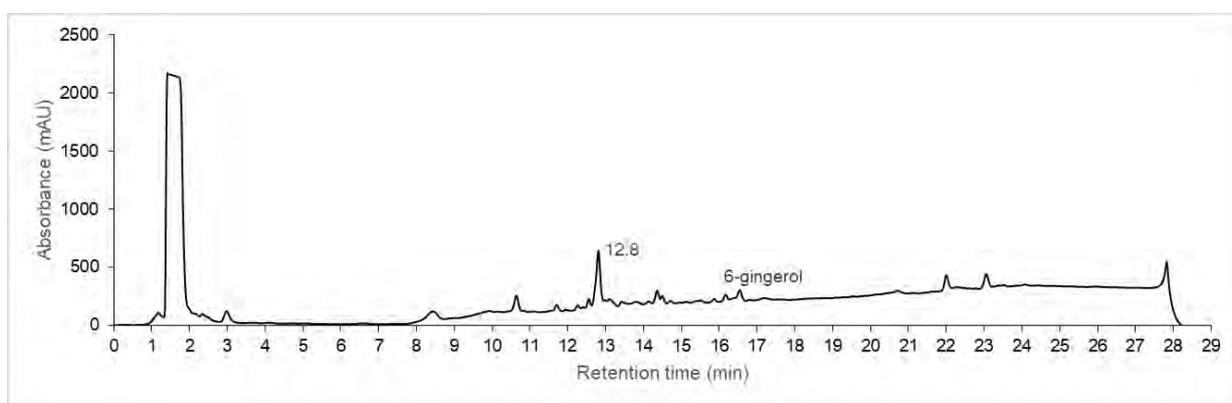
รูปที่ A50 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 4 วัน



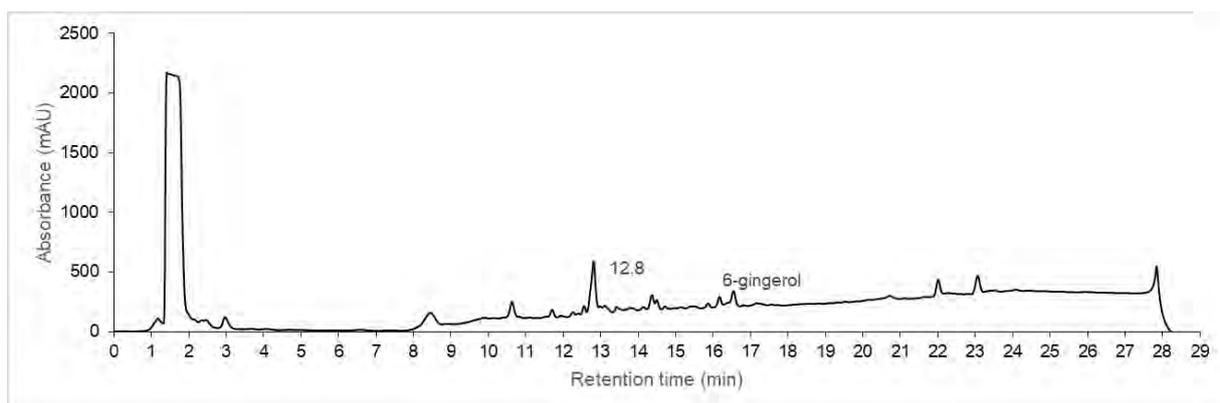
รูปที่ A51 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 5 วัน



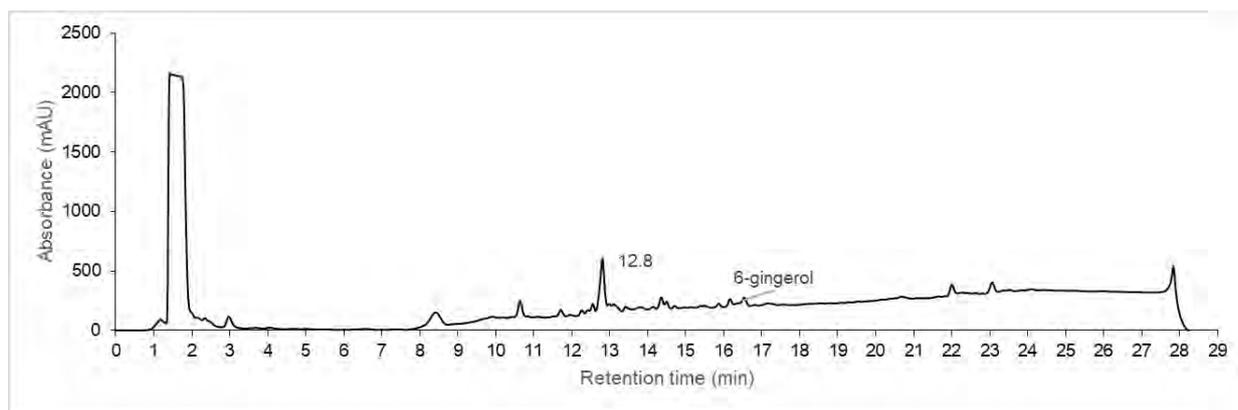
รูปที่ A52 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 5 วัน



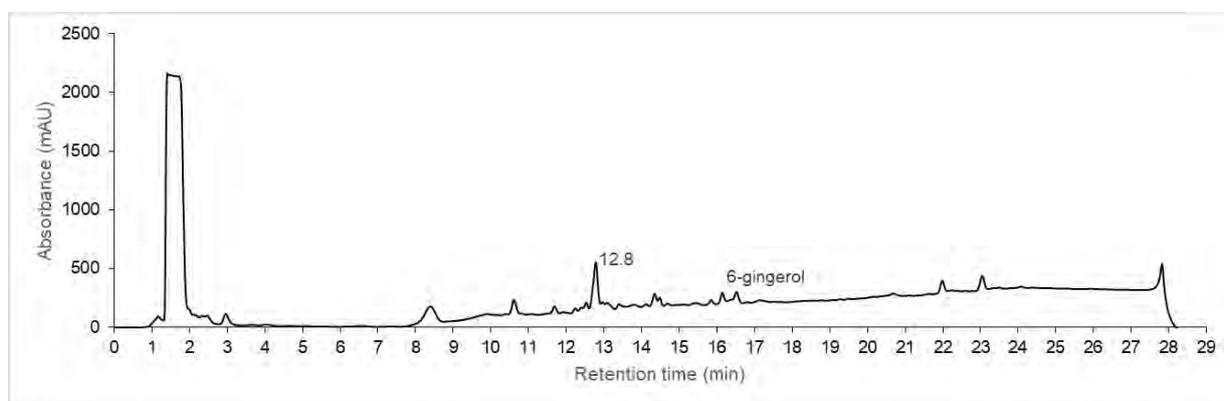
รูปที่ A53 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 6 วัน



รูปที่ A54 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 6 วัน

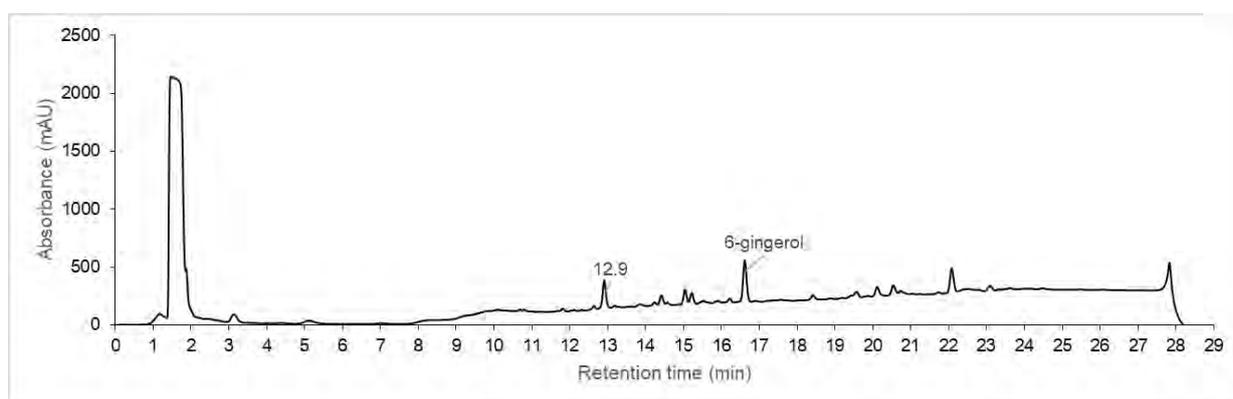


รูปที่ A55 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS1 ชั่วโมงที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน

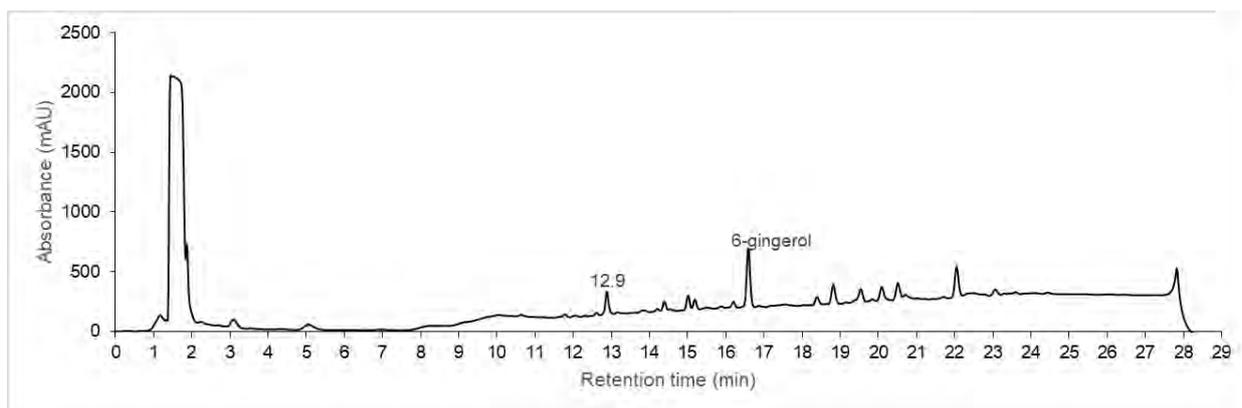


รูปที่ A56 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS1 ชั่วโมงที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน

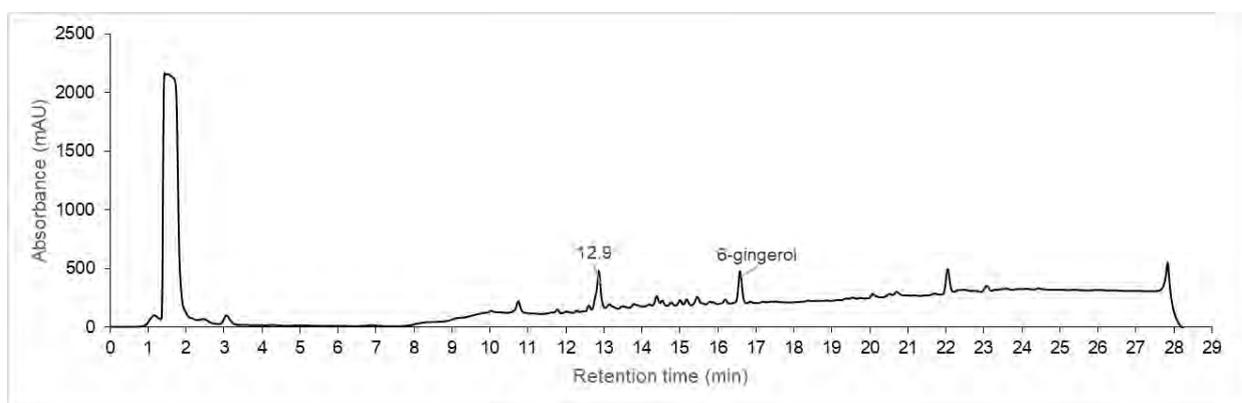
สายพันธุ์ GS3



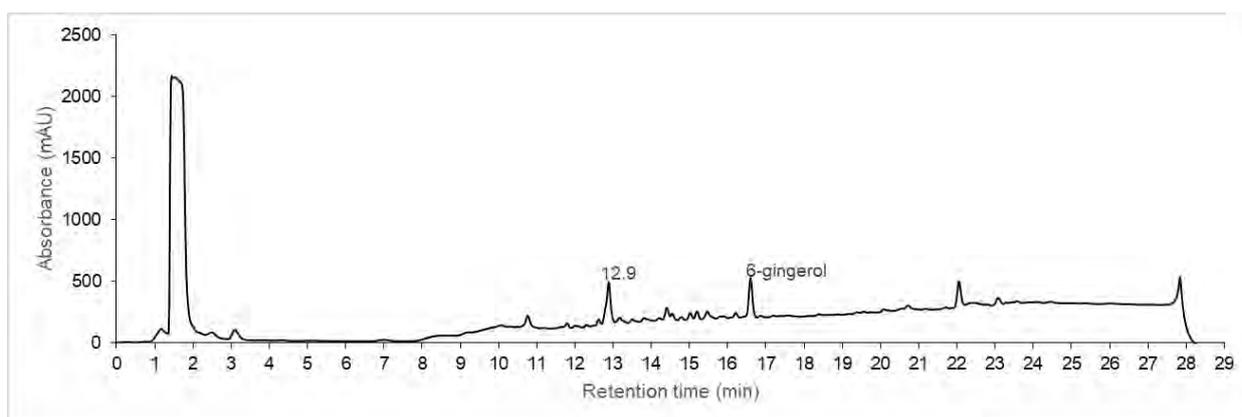
รูปที่ A57 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ชั่วโมงที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 1 วัน



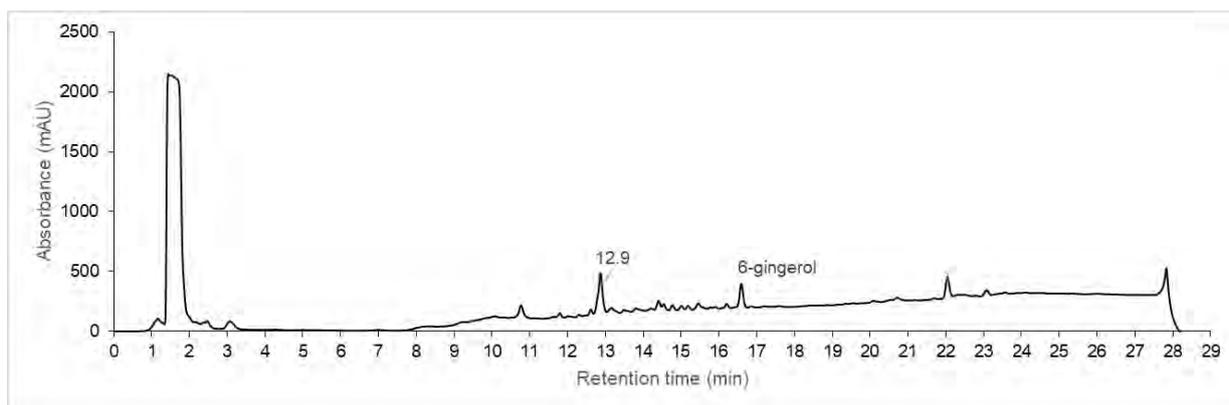
รูปที่ A58 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังป่มรา 1 วัน



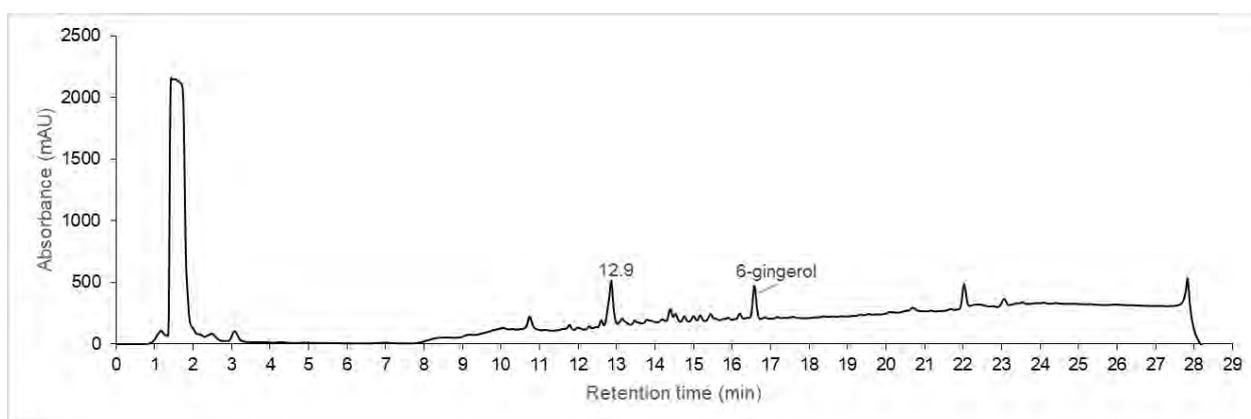
รูปที่ A59 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังป่มรา 2 วัน



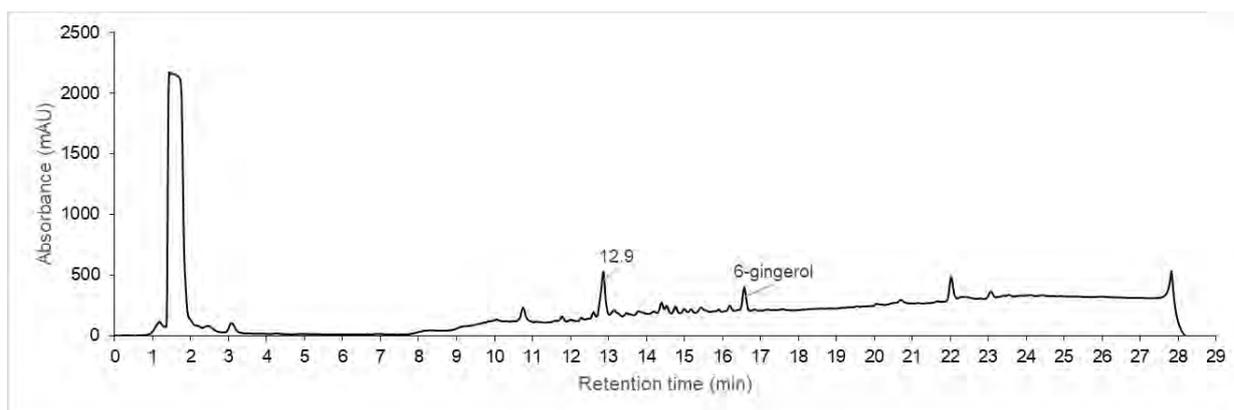
รูปที่ A60 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังป่มรา 2 วัน



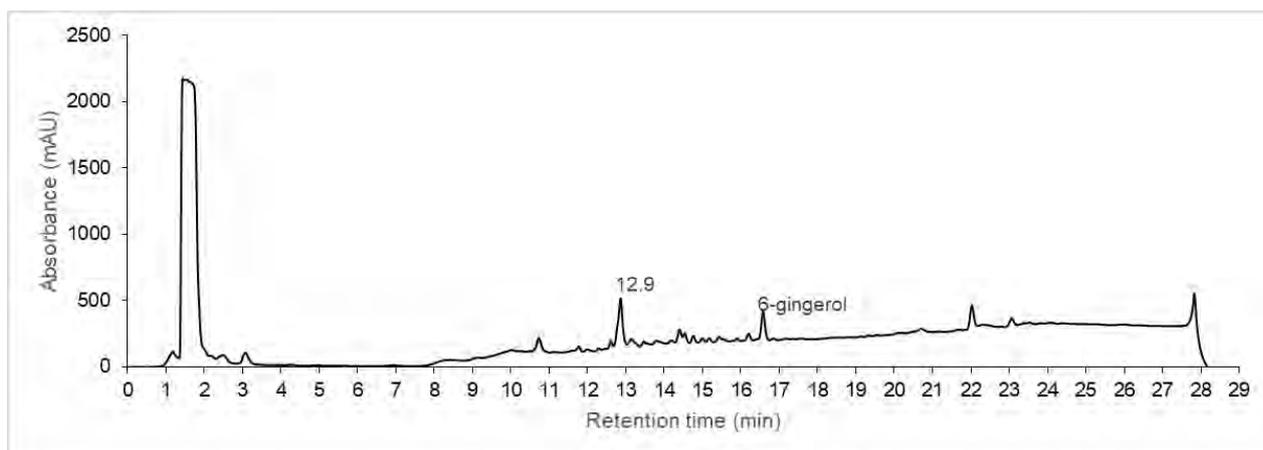
รูปที่ A61 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 3 วัน



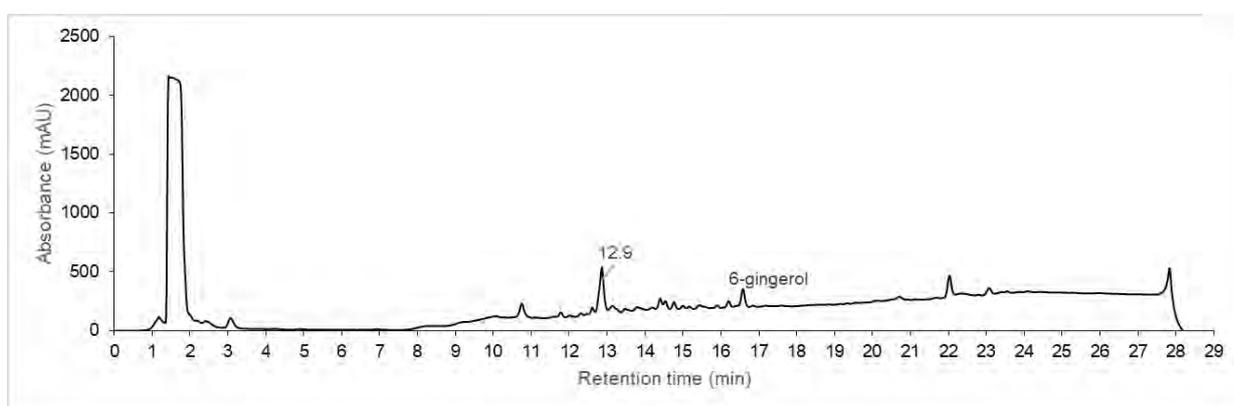
รูปที่ A62 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 3 วัน



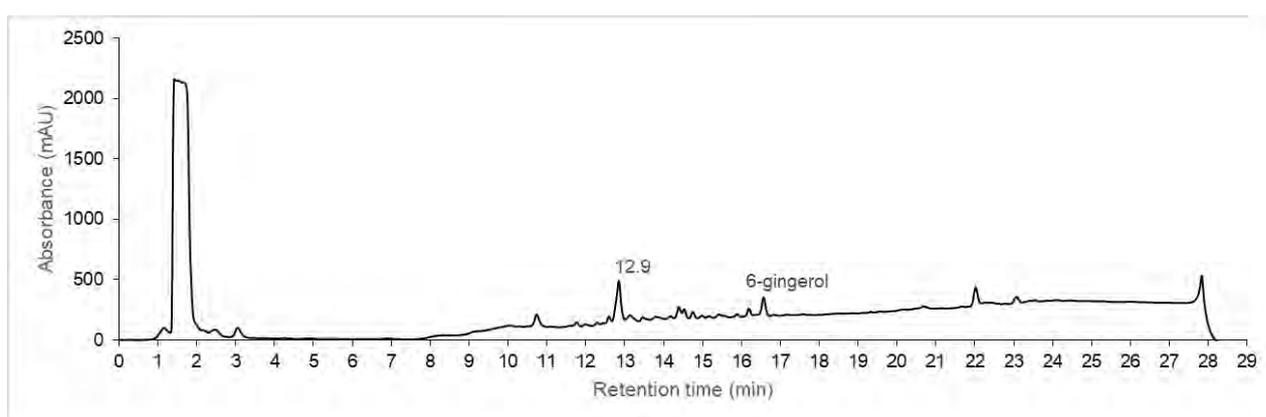
รูปที่ A63 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 4 วัน



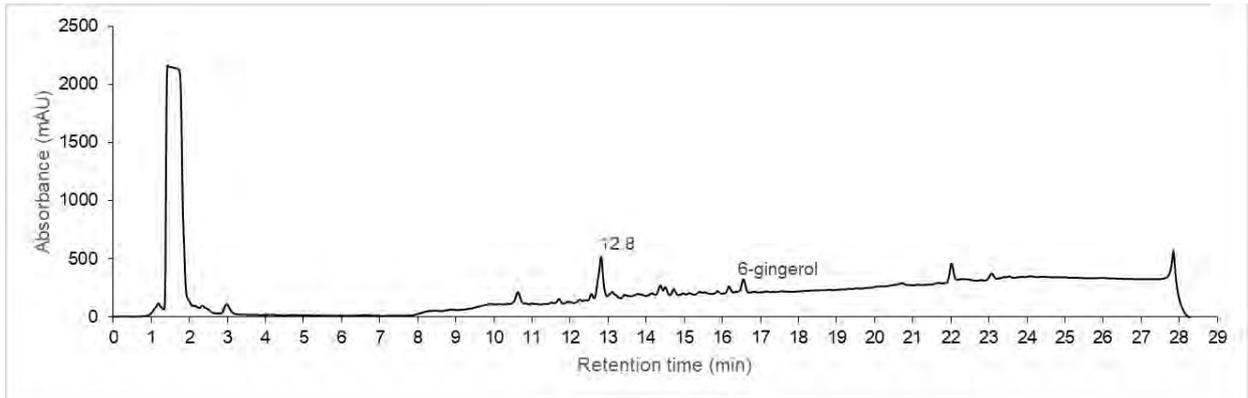
**รูปที่ A64** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 4 วัน



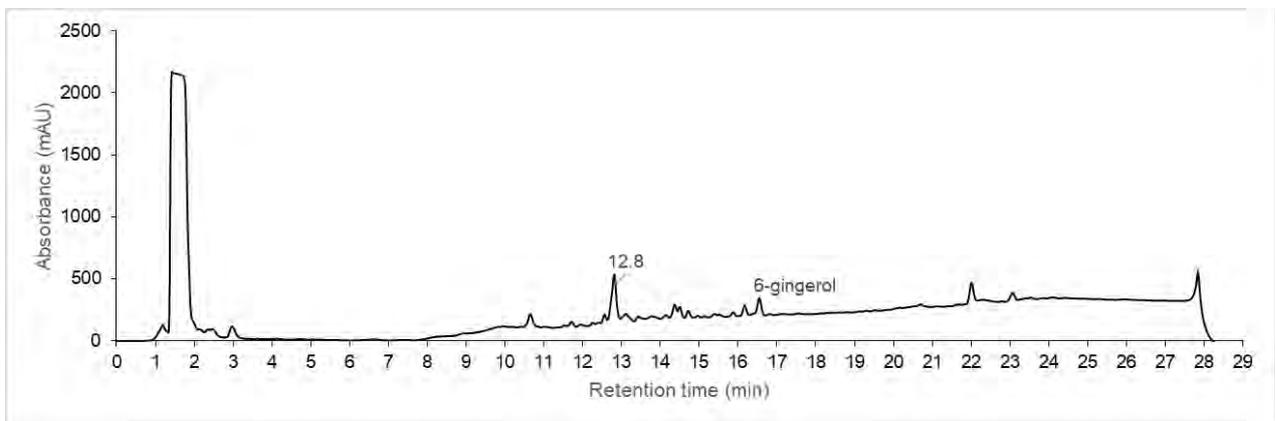
**รูปที่ A65** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 5 วัน



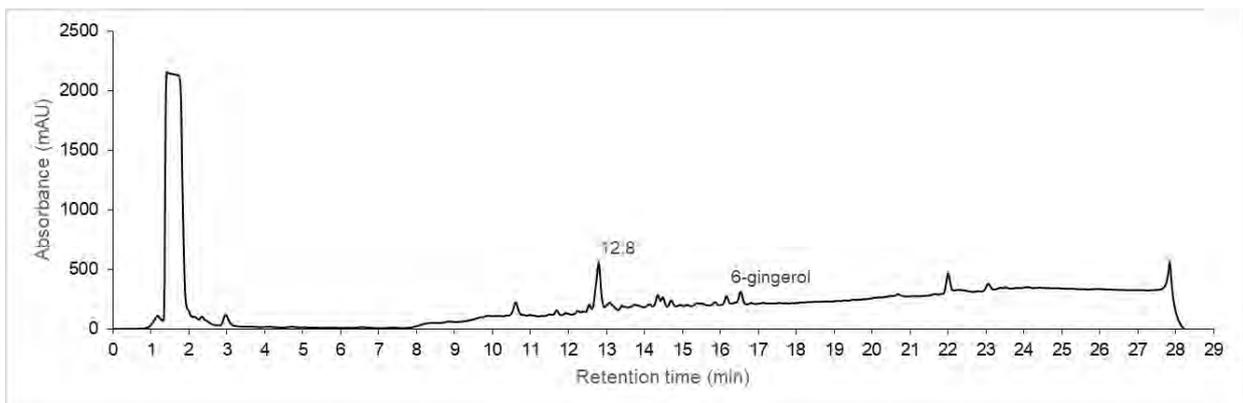
**รูปที่ A66** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 5 วัน



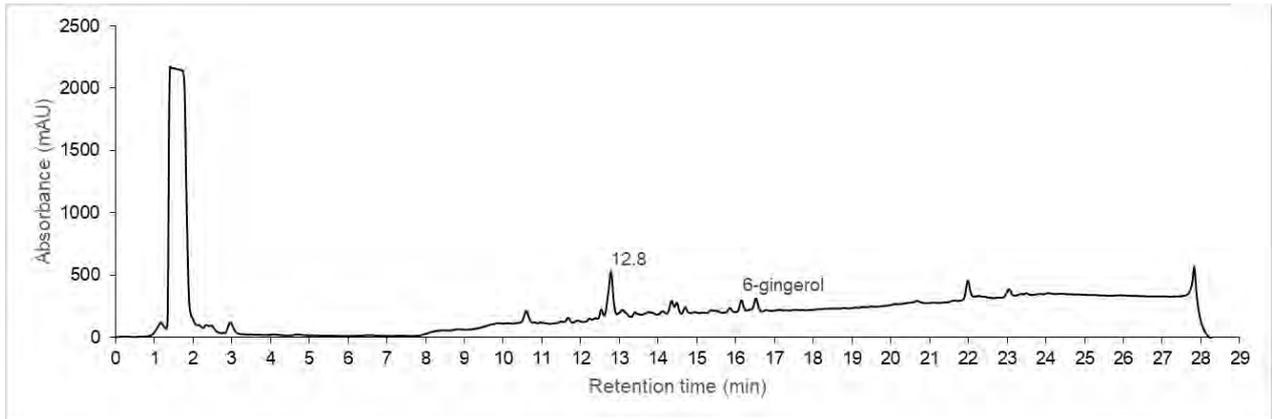
รูปที่ A67 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 6 วัน



รูปที่ A68 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 6 วัน

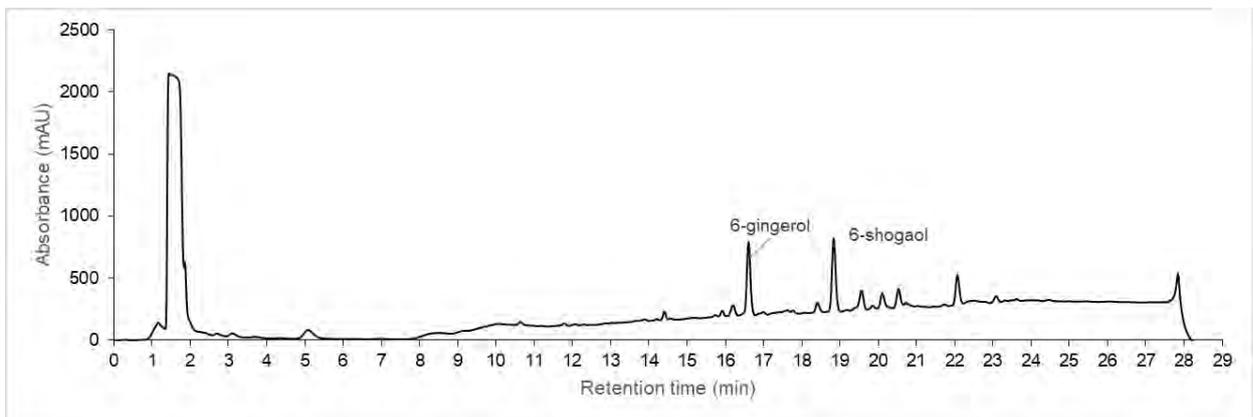


รูปที่ A69 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน

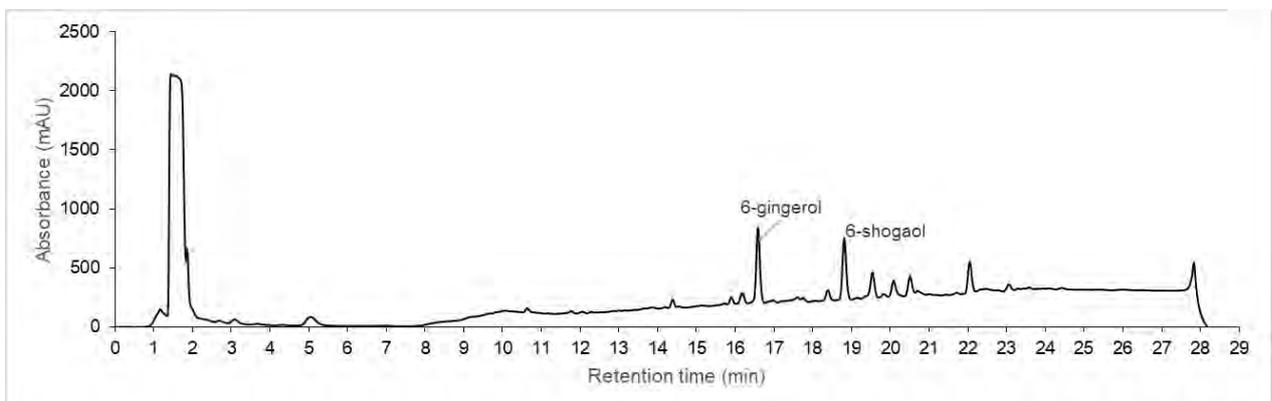


รูปที่ A70 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน

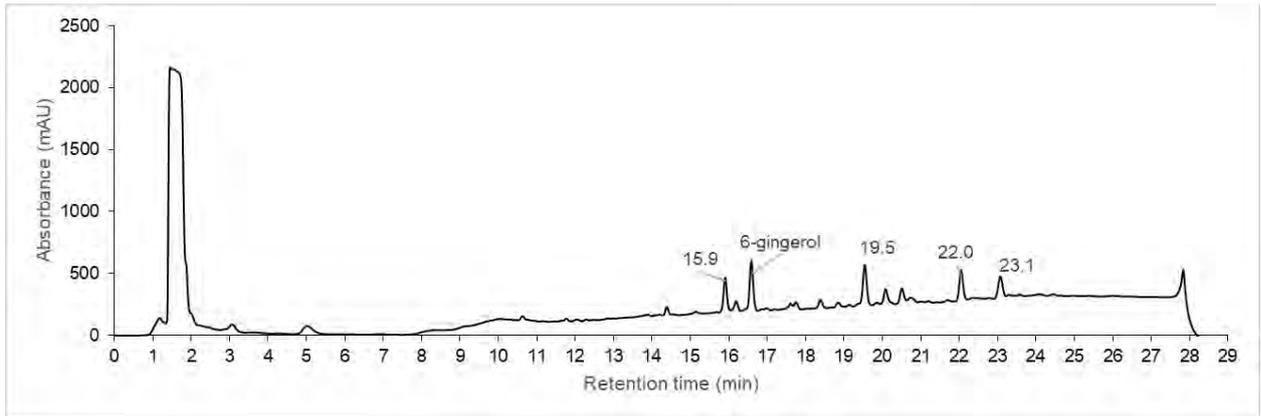
### สายพันธุ์ GS6



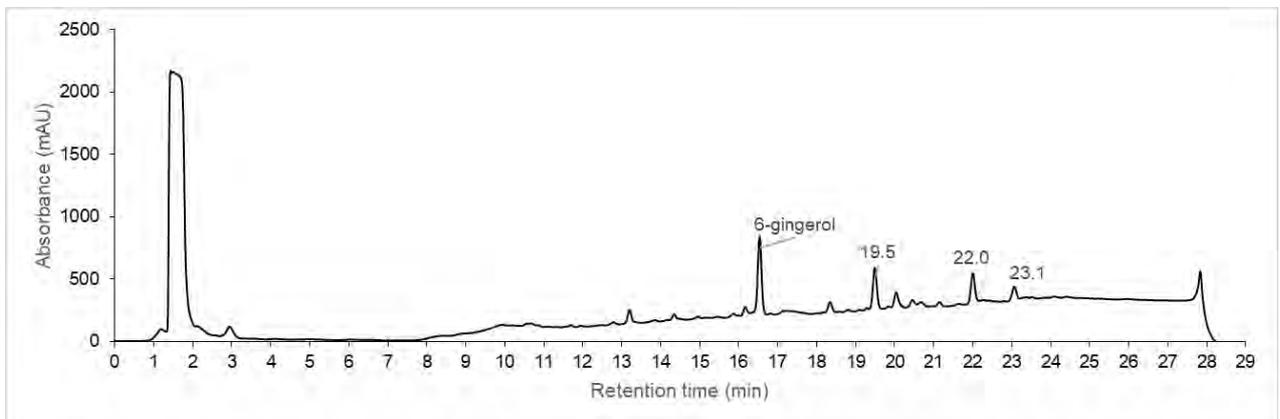
รูปที่ A71 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 1 วัน



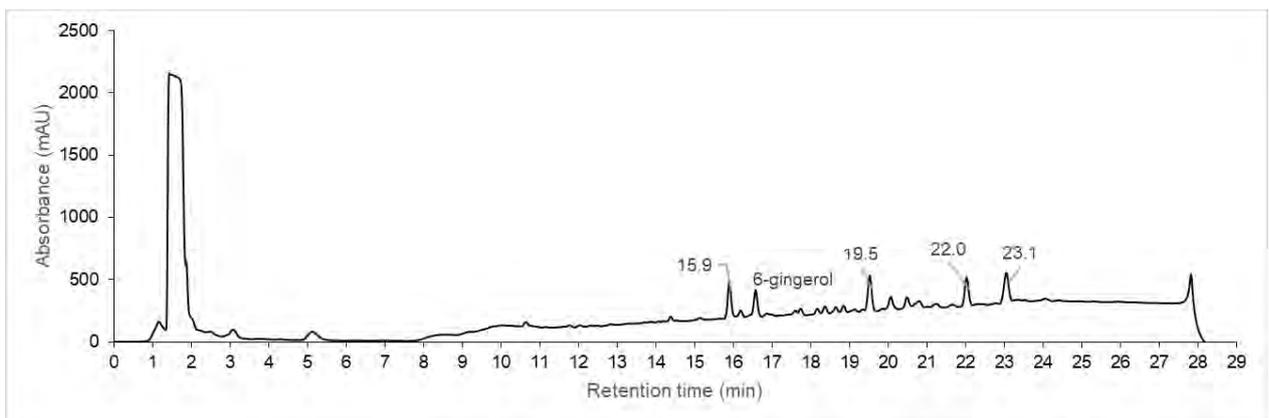
รูปที่ A72 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 1 วัน



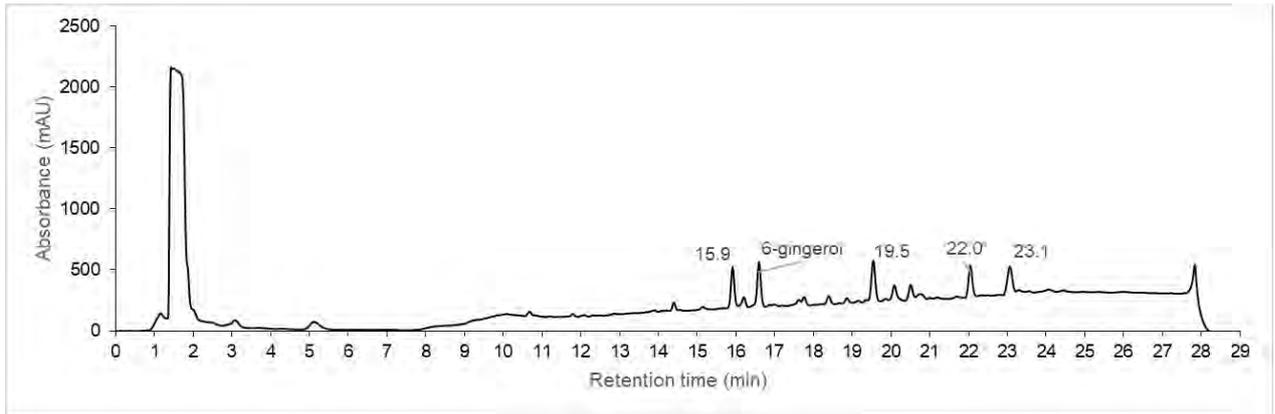
รูปที่ A73 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 2 วัน



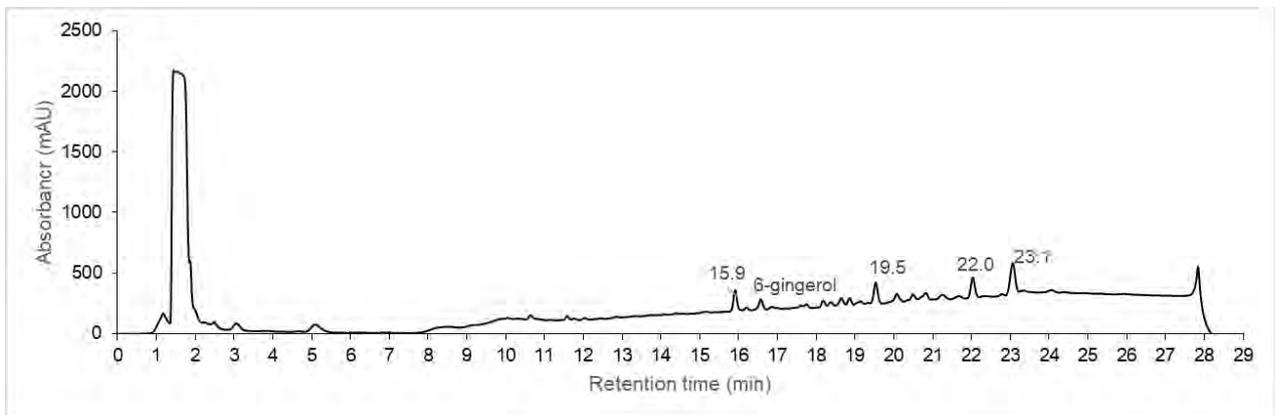
รูปที่ A74 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 2 วัน



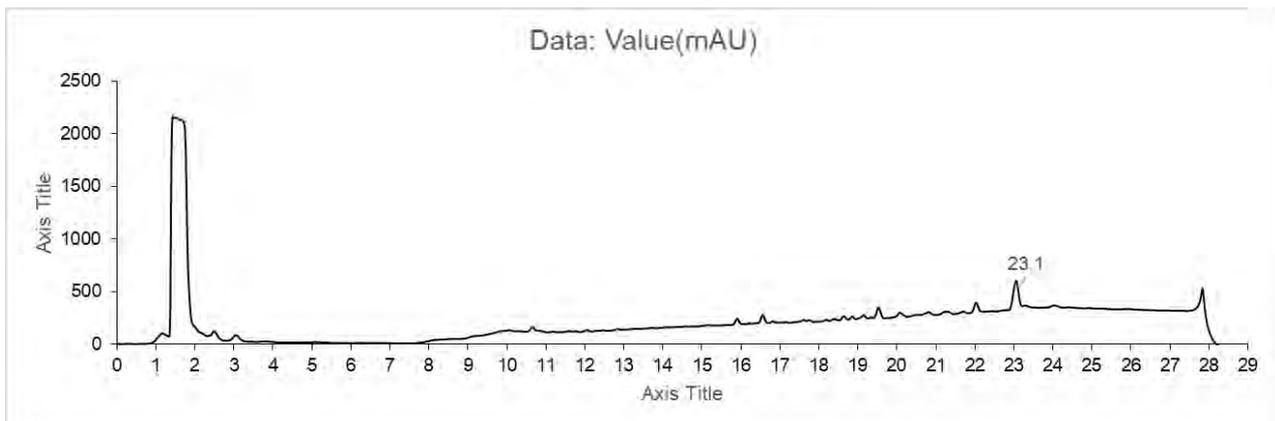
รูปที่ A75 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 3 วัน



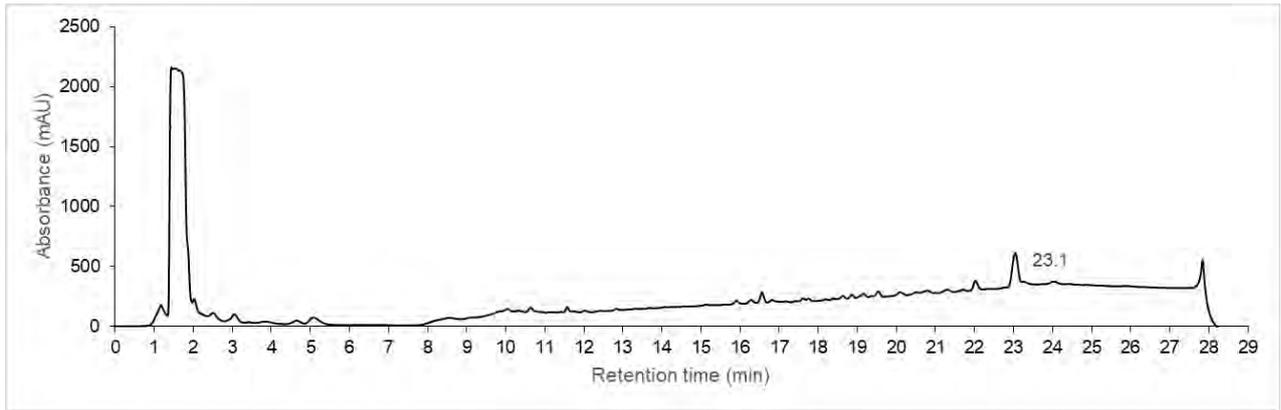
รูปที่ A76 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 3 วัน



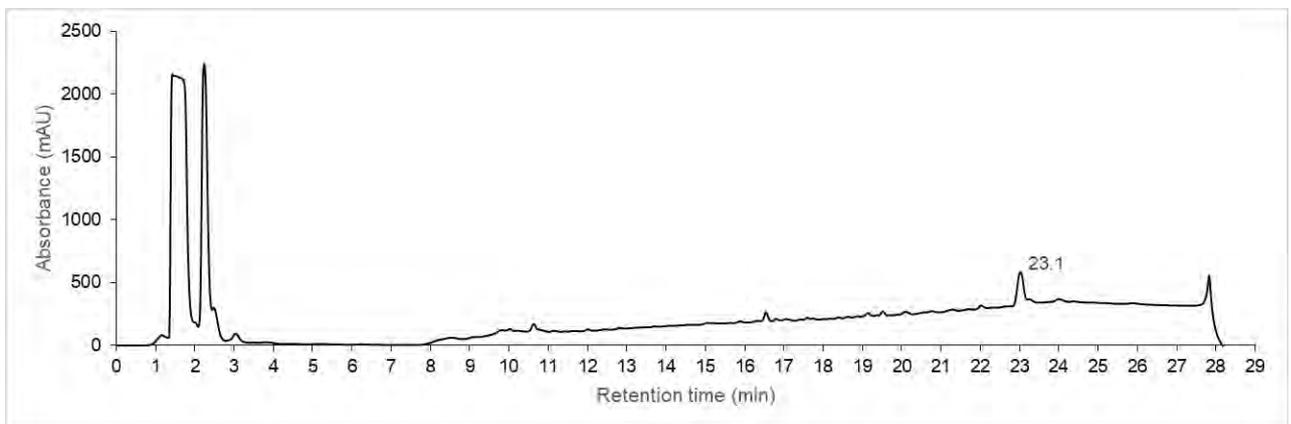
รูปที่ A77 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 4 วัน



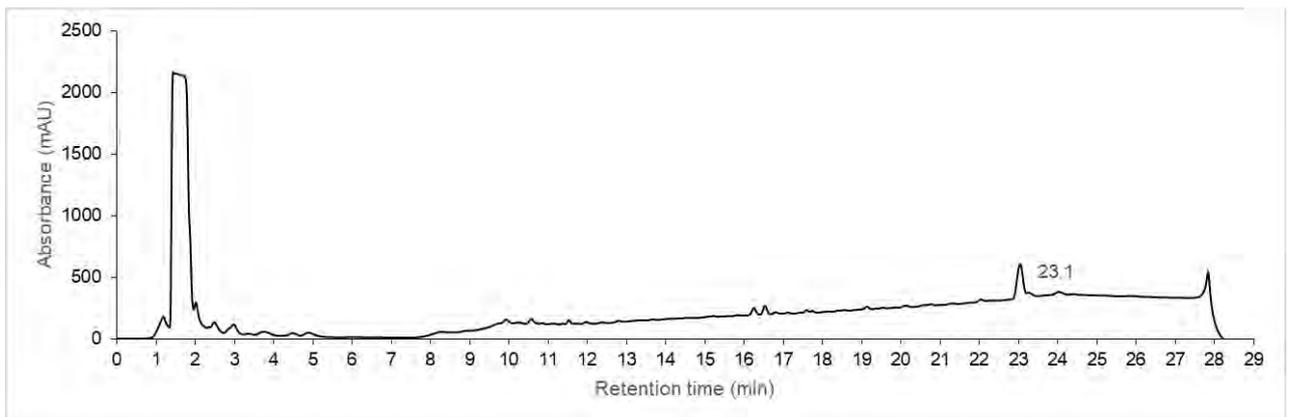
รูปที่ A78 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 4 วัน



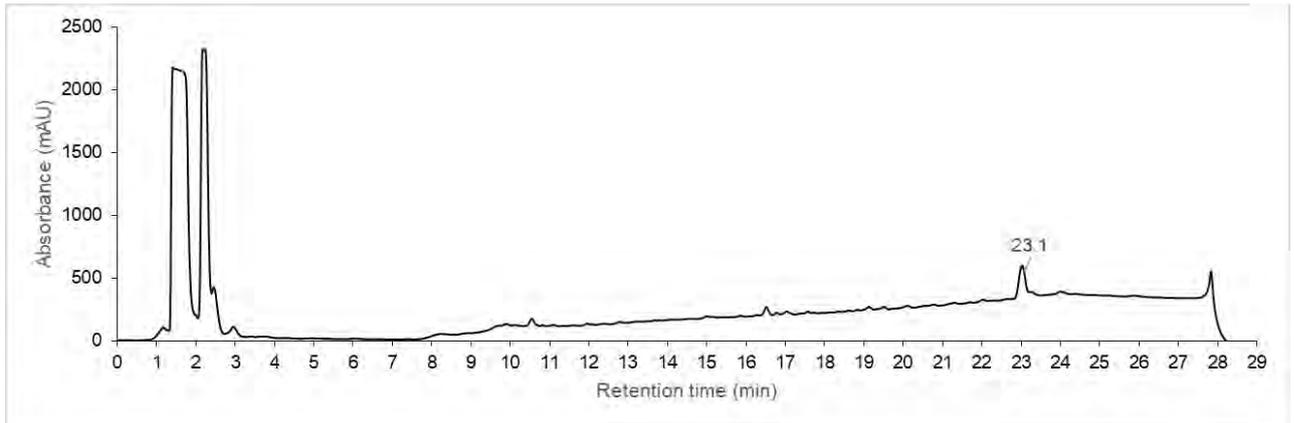
รูปที่ A79 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารกักตุนจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังปฏิกิริยา 5 วัน



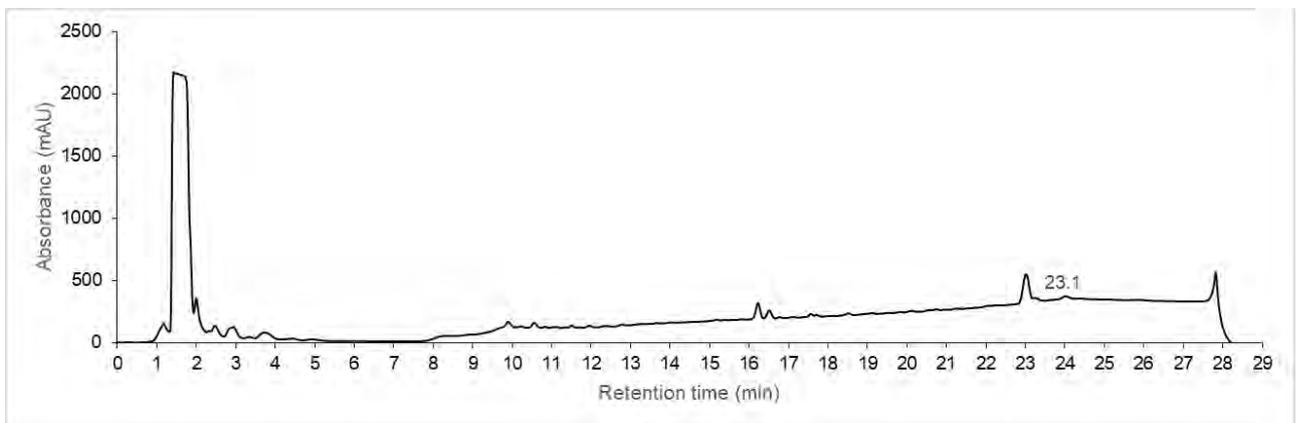
รูปที่ A80 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารกักตุนจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังปฏิกิริยา 5 วัน



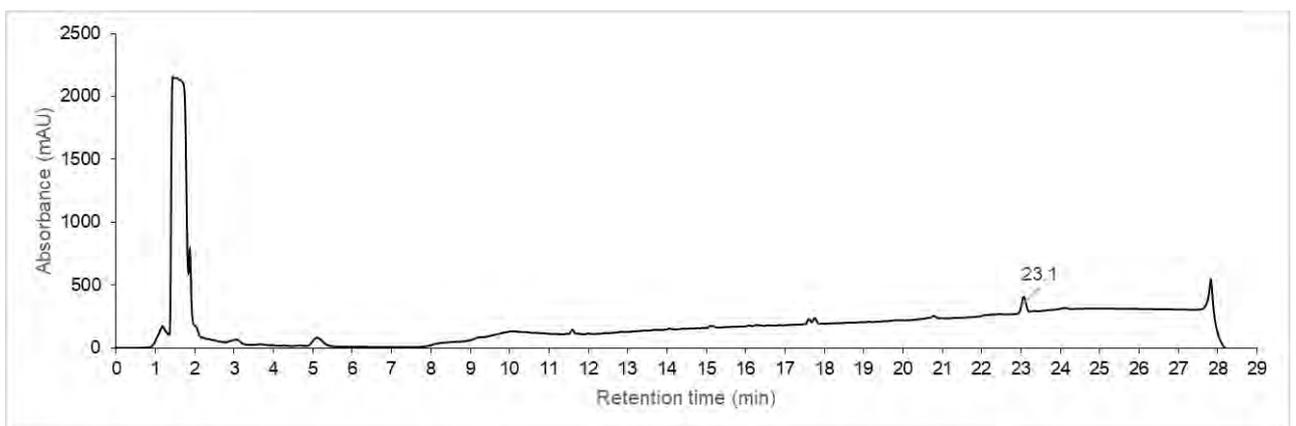
รูปที่ A81 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารกักตุนจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังปฏิกิริยา 6 วัน



รูปที่ A82 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 6 วัน

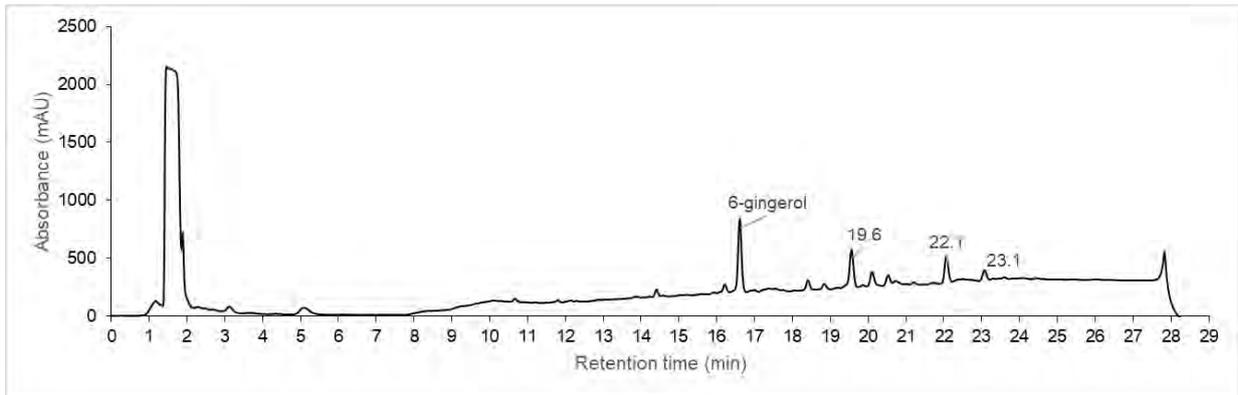


รูปที่ A83 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน

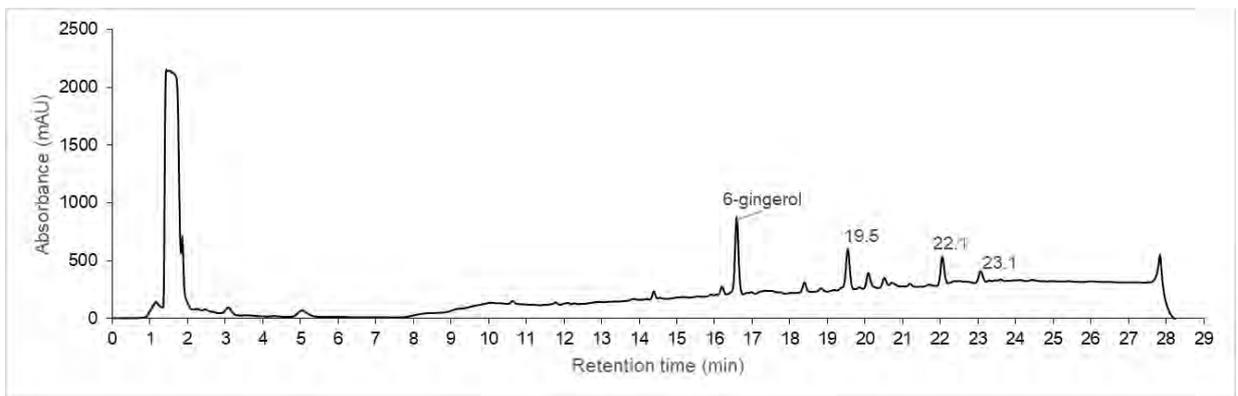


รูปที่ A84 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน

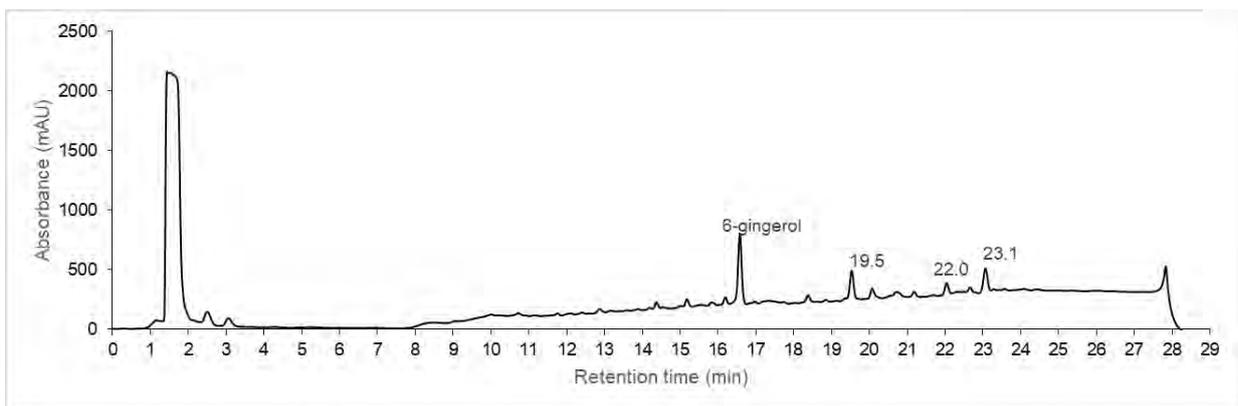
## สายพันธุ์ GS7



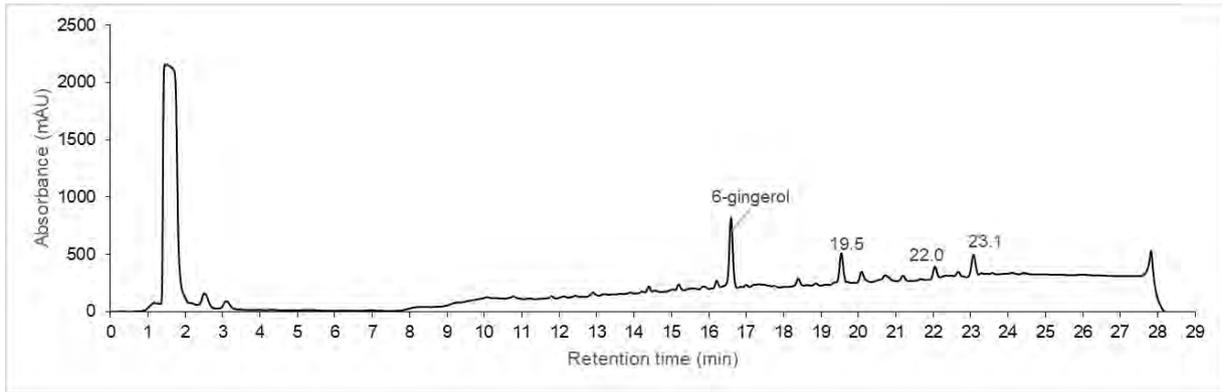
รูปที่ A85 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 1 วัน



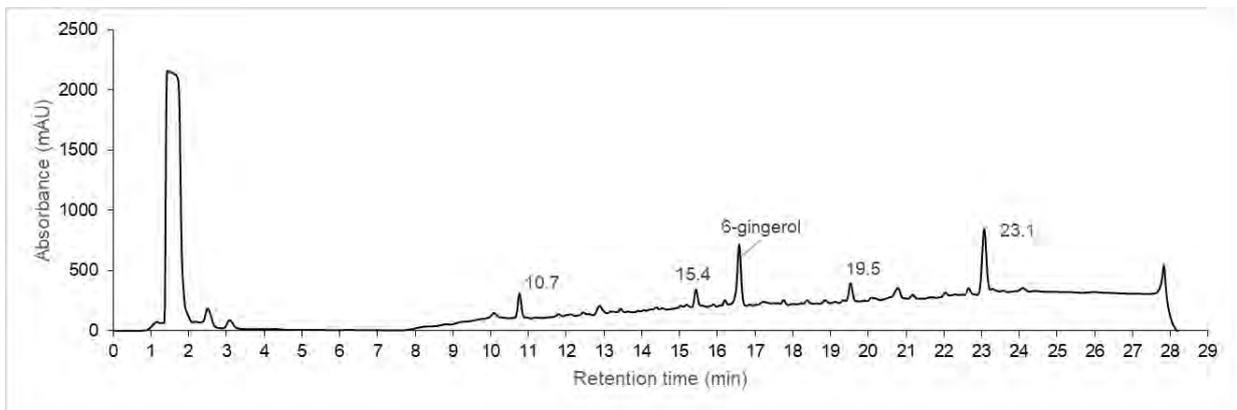
รูปที่ A86 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 1 วัน



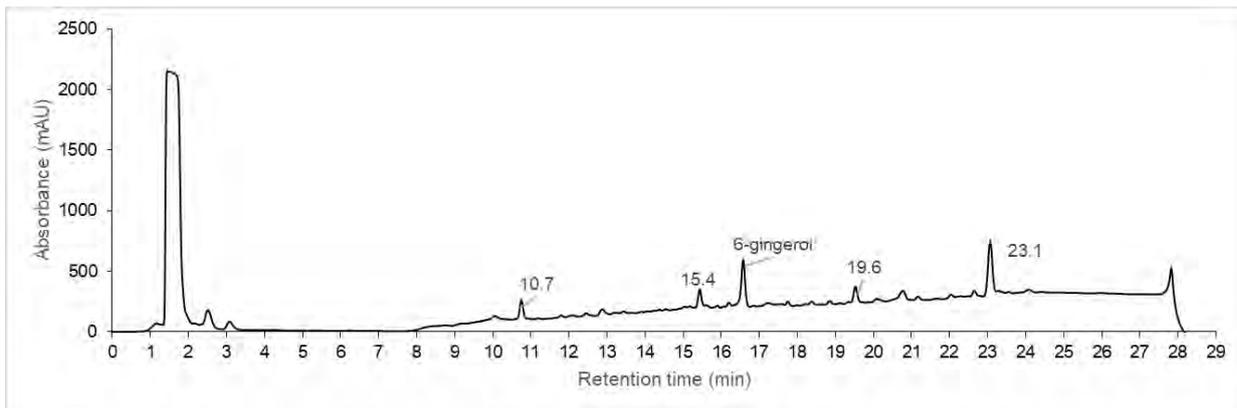
รูปที่ A87 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 2 วัน



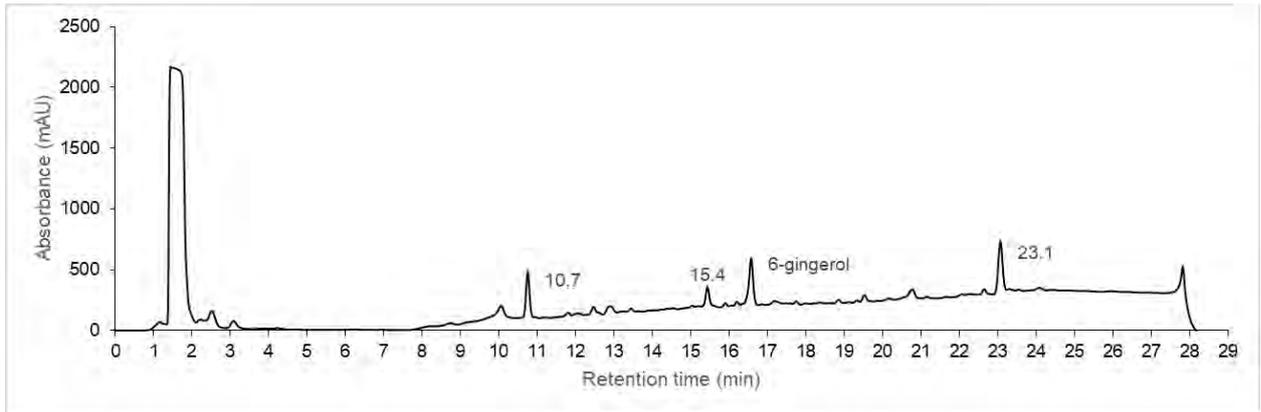
รูปที่ A88 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 2 วัน



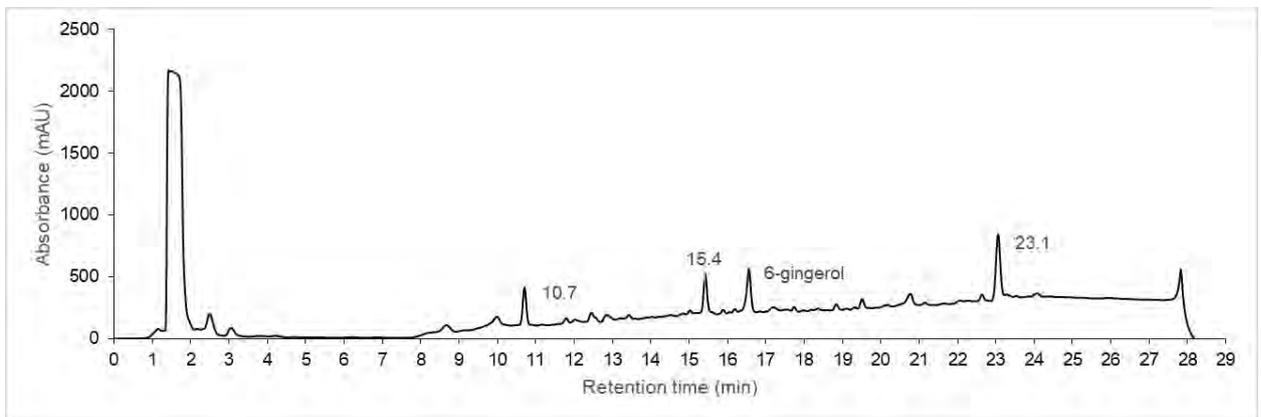
รูปที่ A89 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 3 วัน



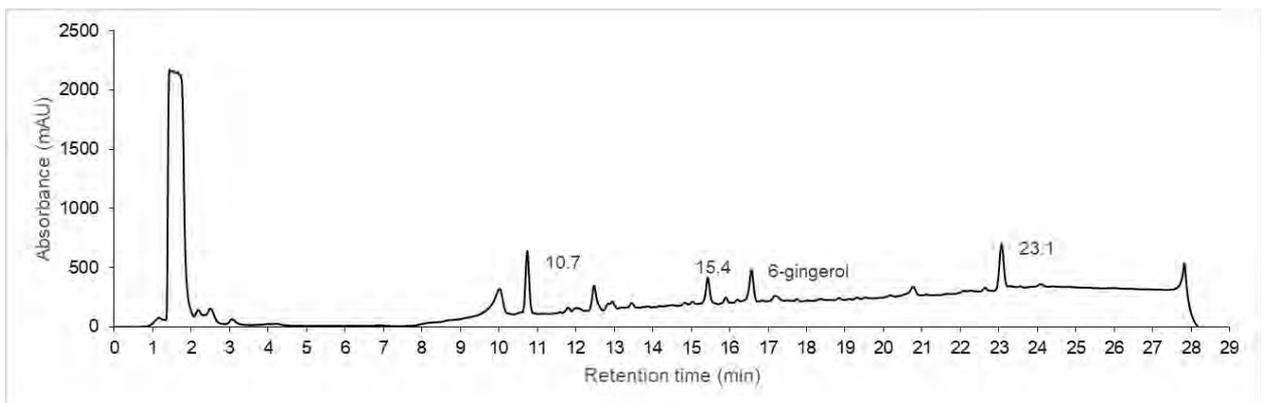
รูปที่ A90 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 3 วัน



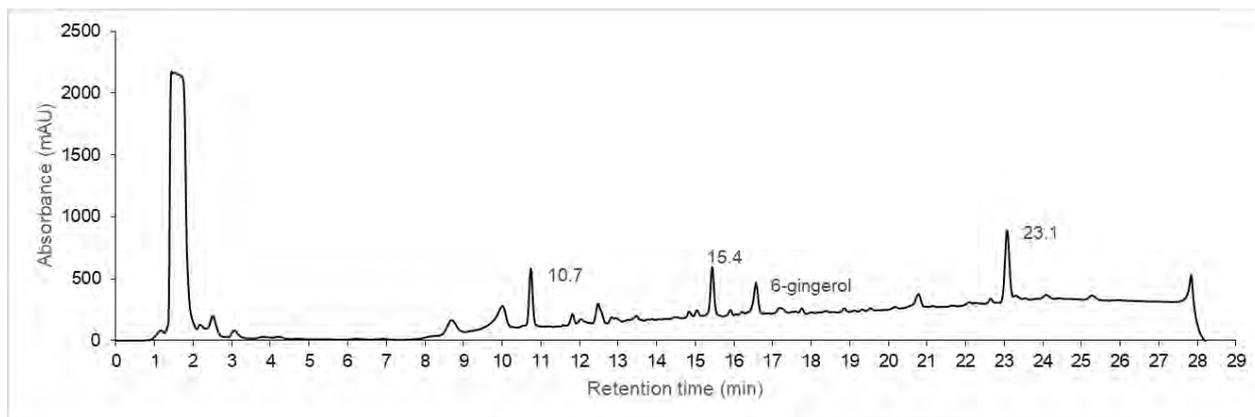
รูปที่ A91 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 4 วัน



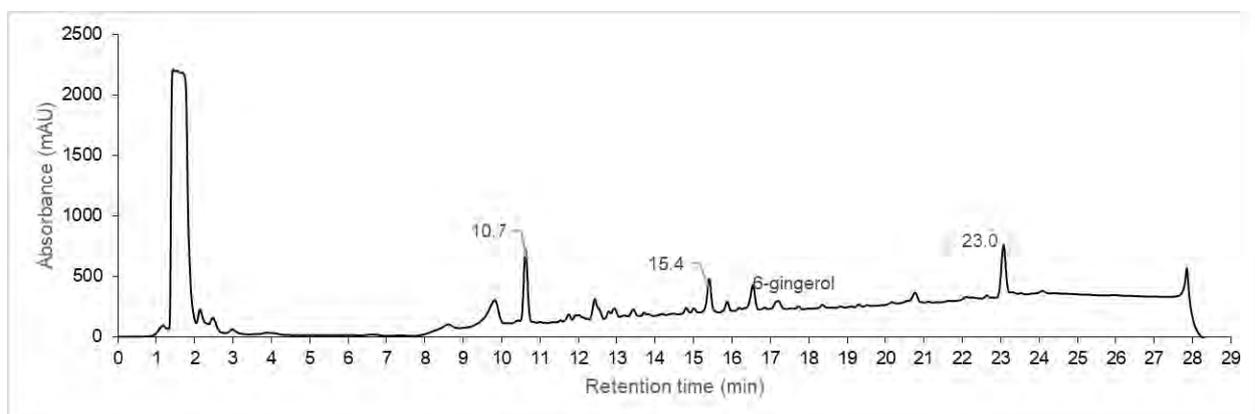
รูปที่ A92 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 4 วัน



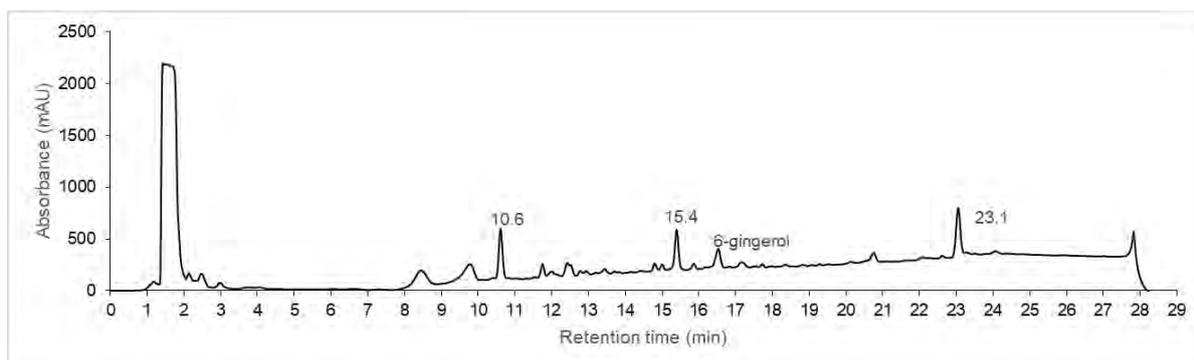
รูปที่ A93 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 5 วัน



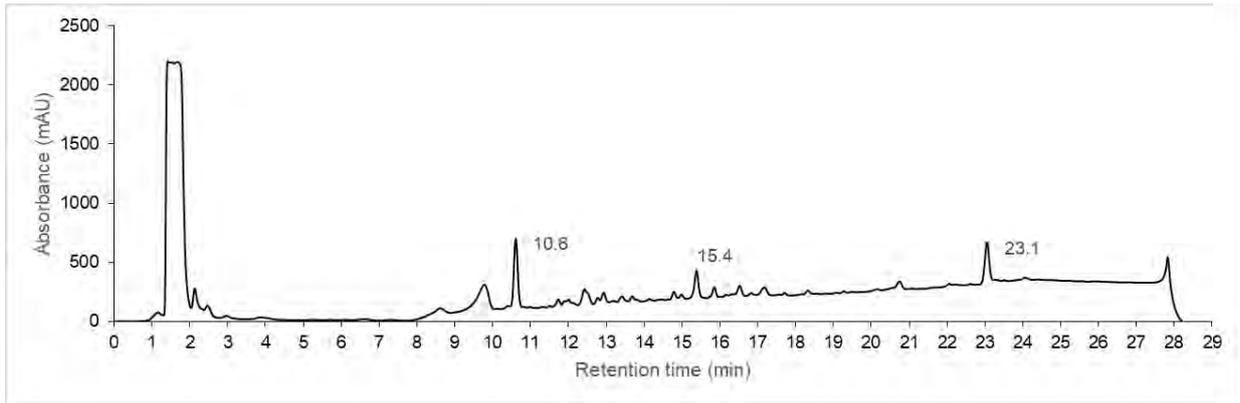
**รูปที่ A94** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 5 วัน



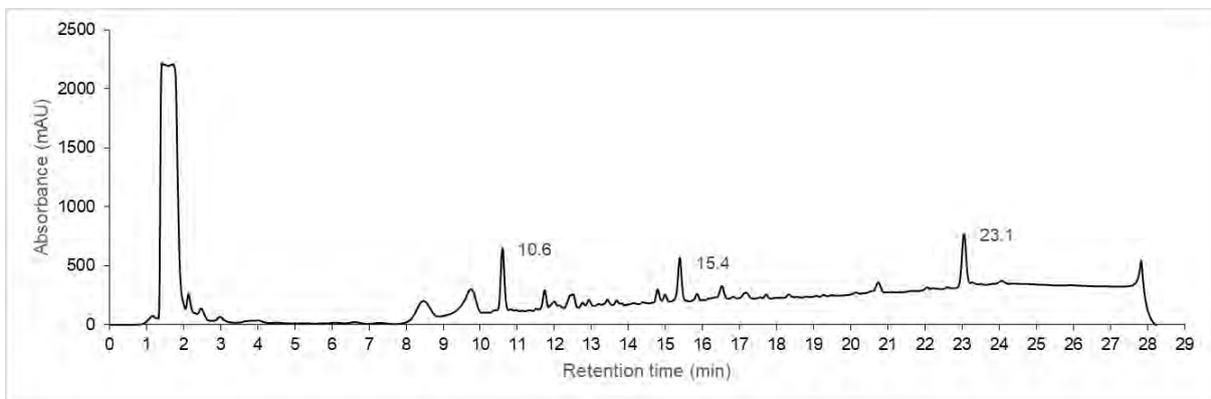
**รูปที่ A95** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 6 วัน



**รูปที่ A96** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 6 วัน

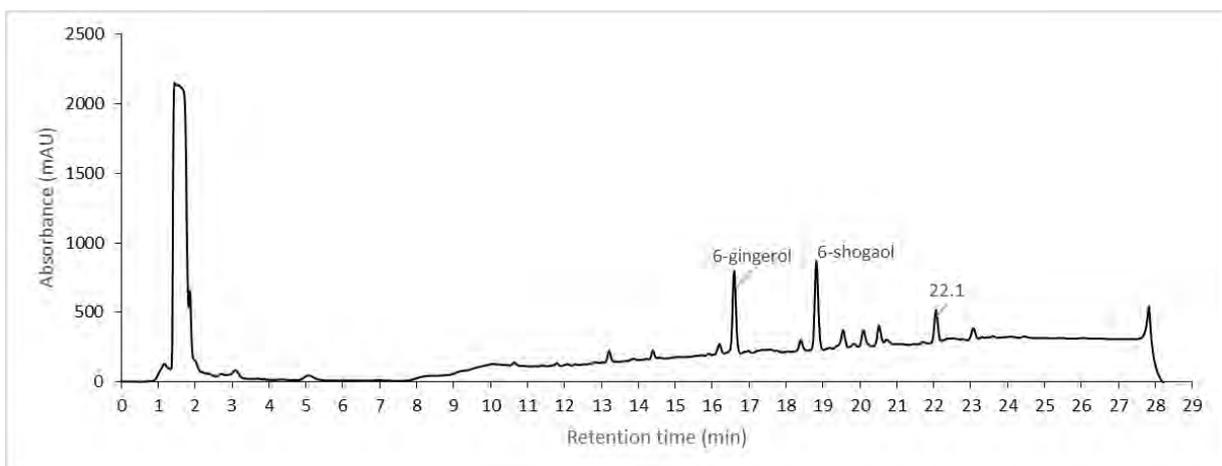


รูปที่ A97 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังป่มรา 7 วัน

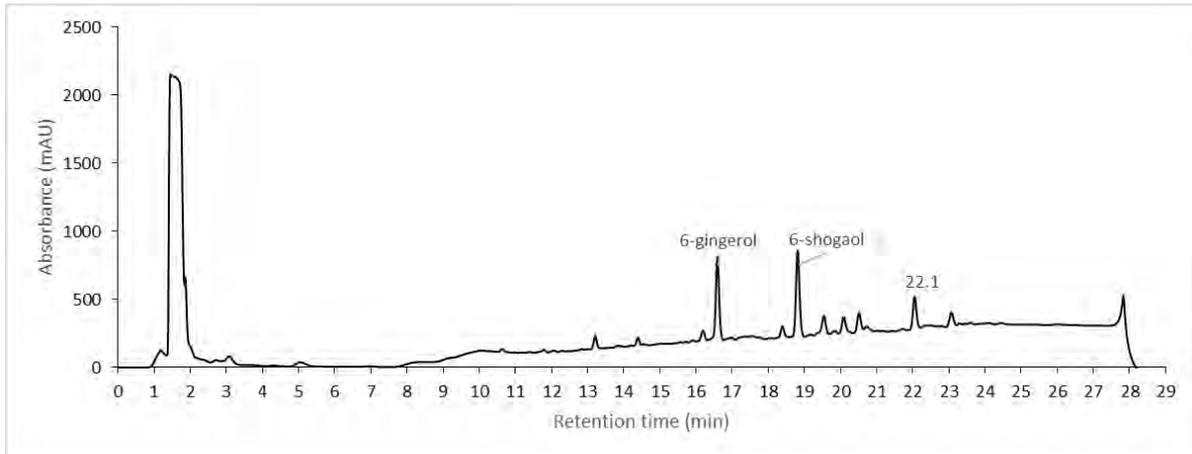


รูปที่ A98 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังป่มรา 7 วัน

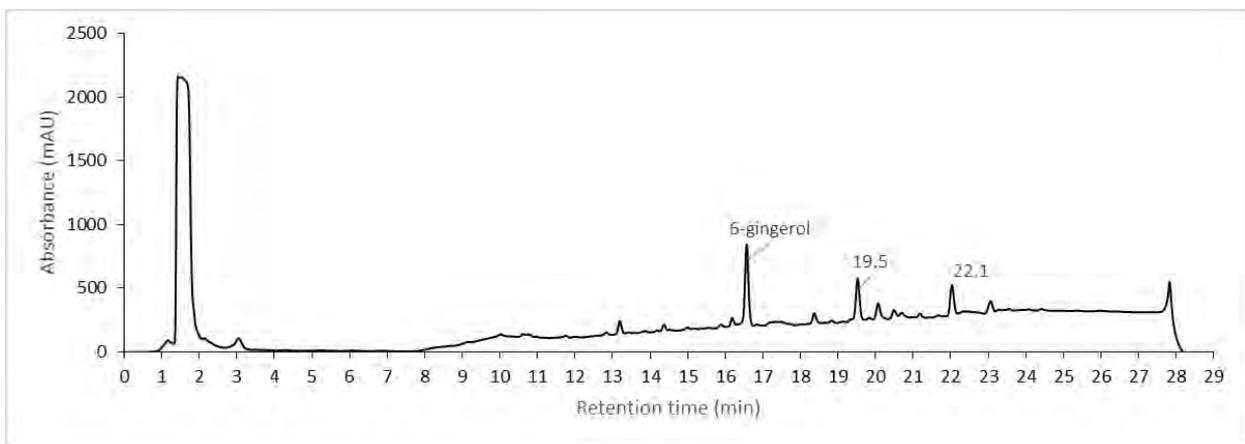
#### สายพันธุ์ GS14



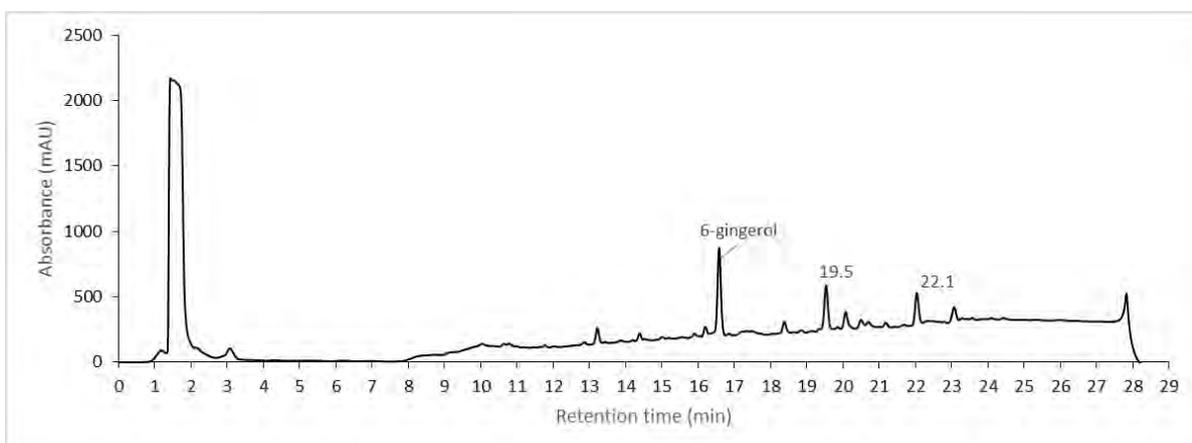
รูปที่ A99 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังป่มรา 1 วัน



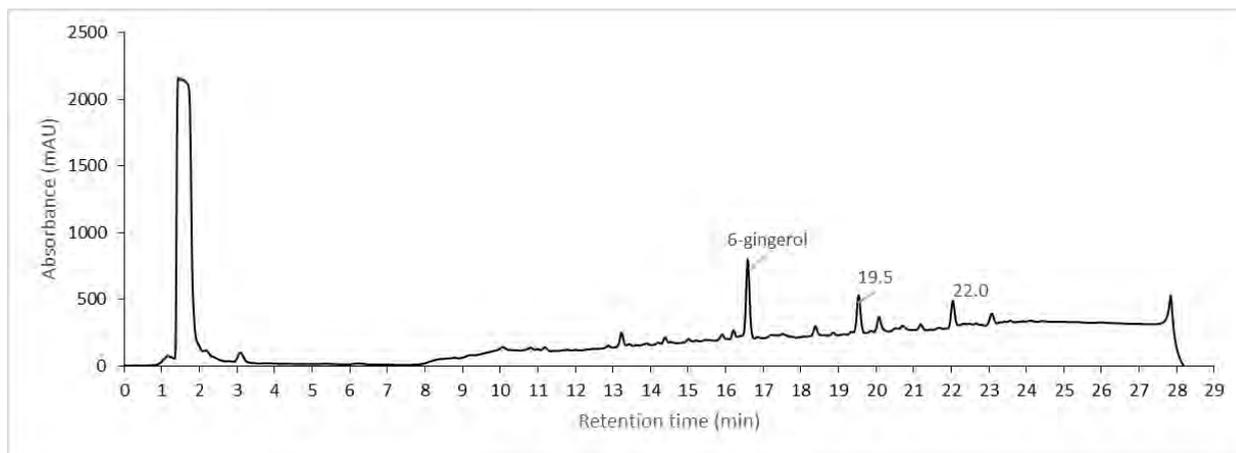
รูปที่ A100 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 1 วัน



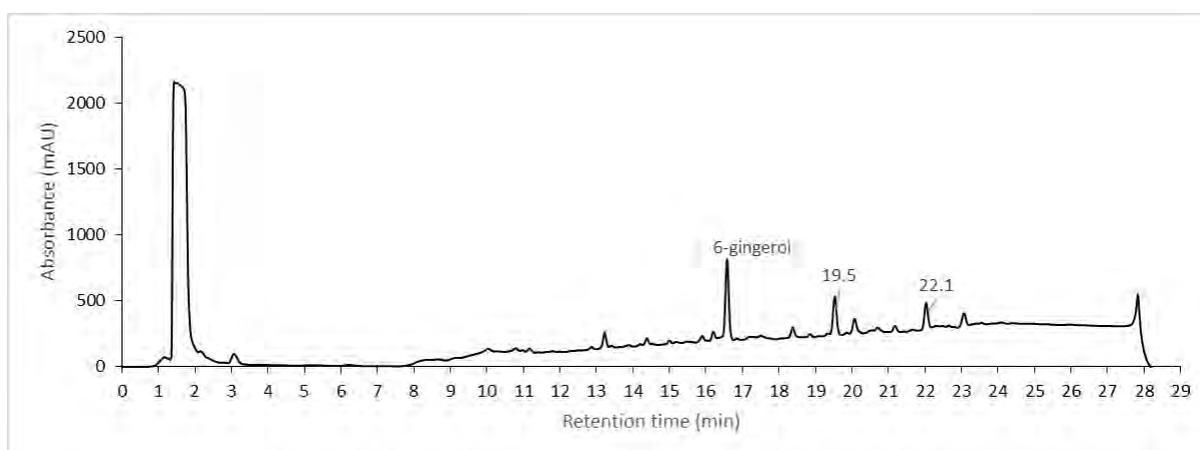
รูปที่ A101 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 2 วัน



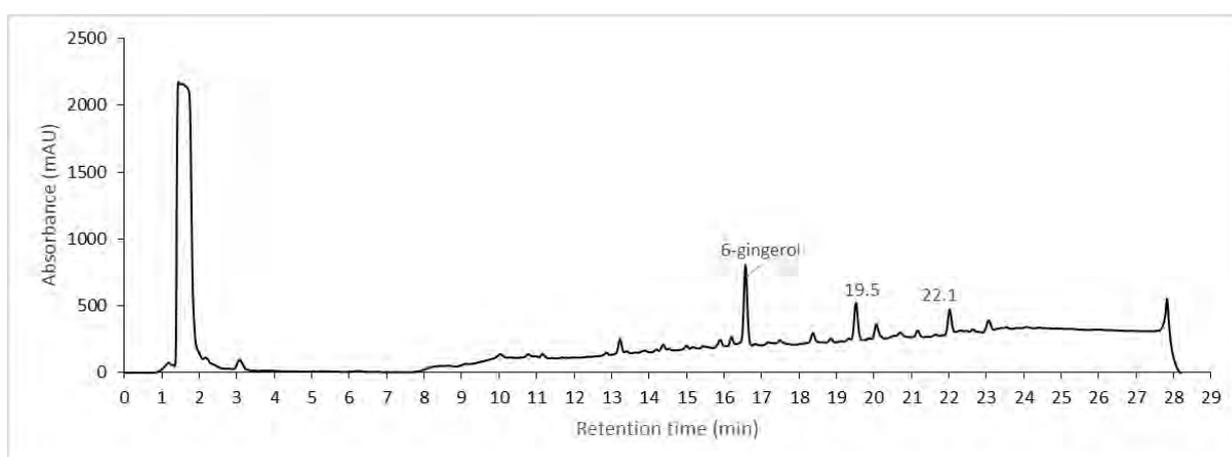
รูปที่ A102 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 2 วัน



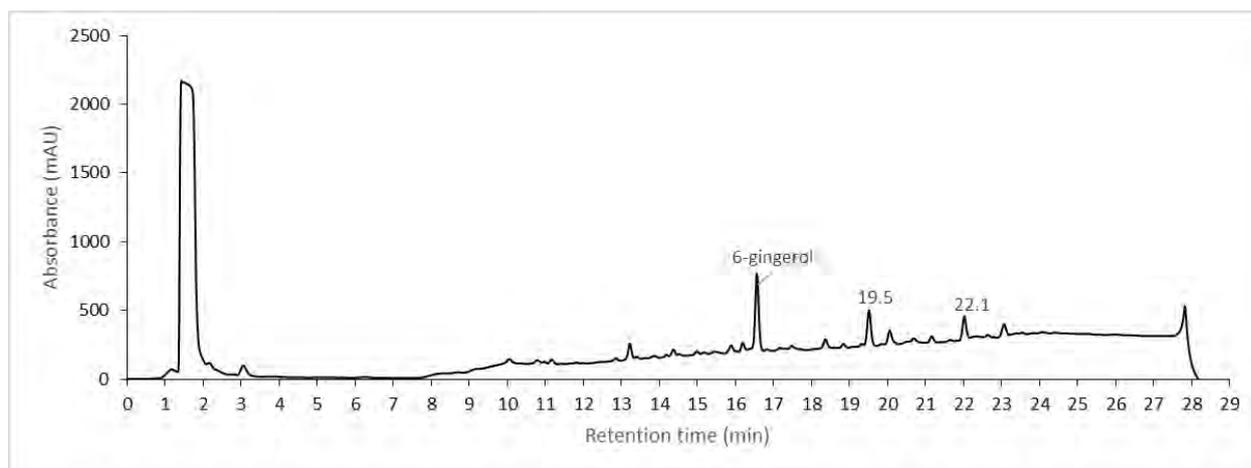
รูปที่ A103 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 3 วัน



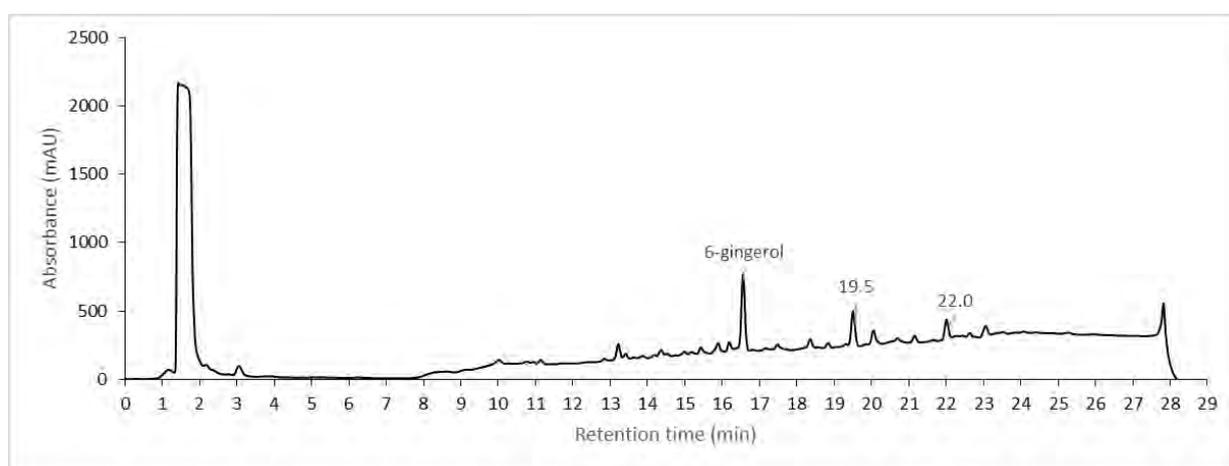
รูปที่ A104 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 3 วัน



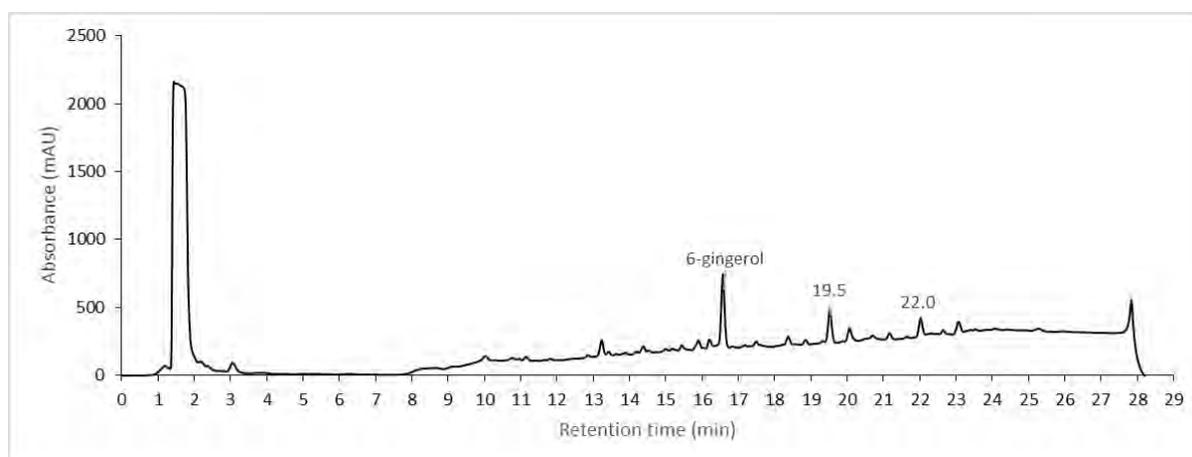
รูปที่ A105 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 4 วัน



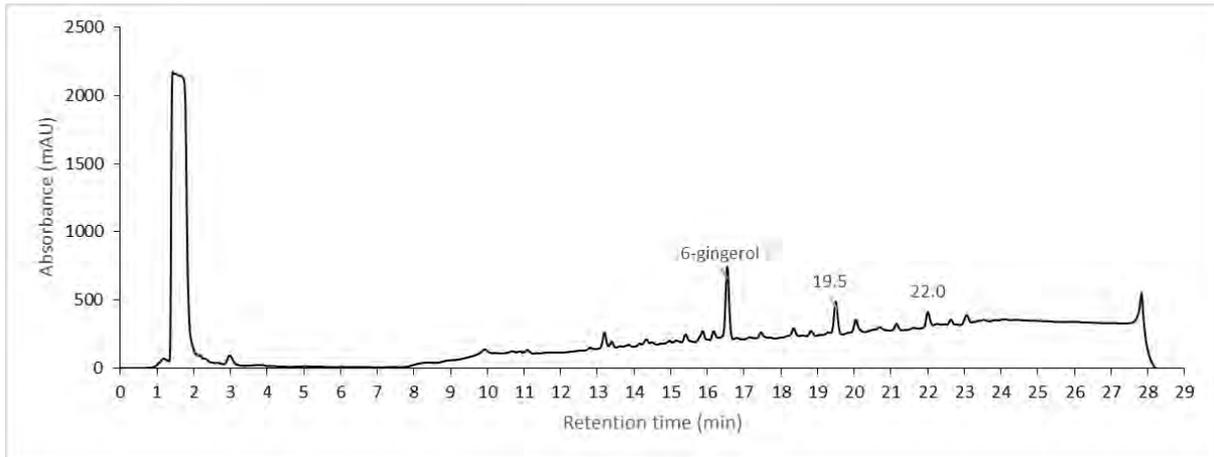
**รูปที่ A106** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 4 วัน



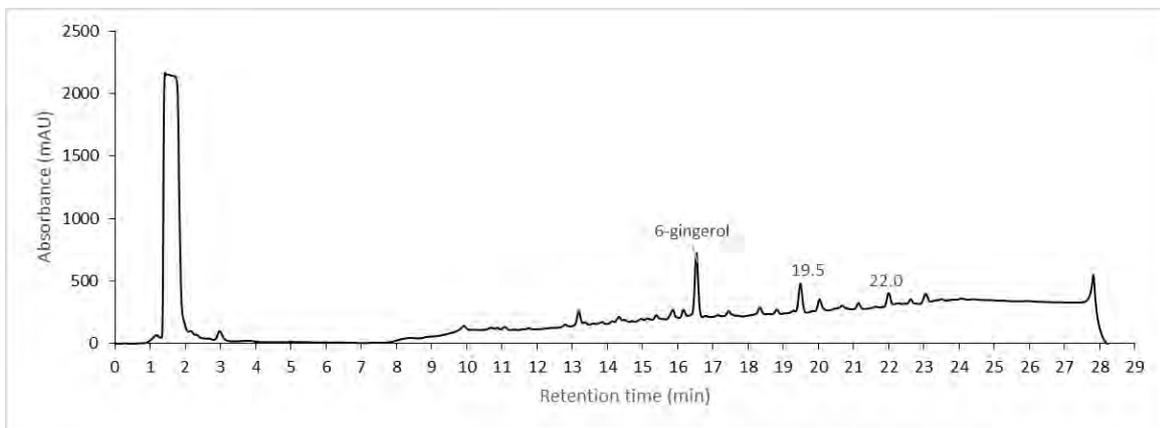
**รูปที่ A107** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 5 วัน



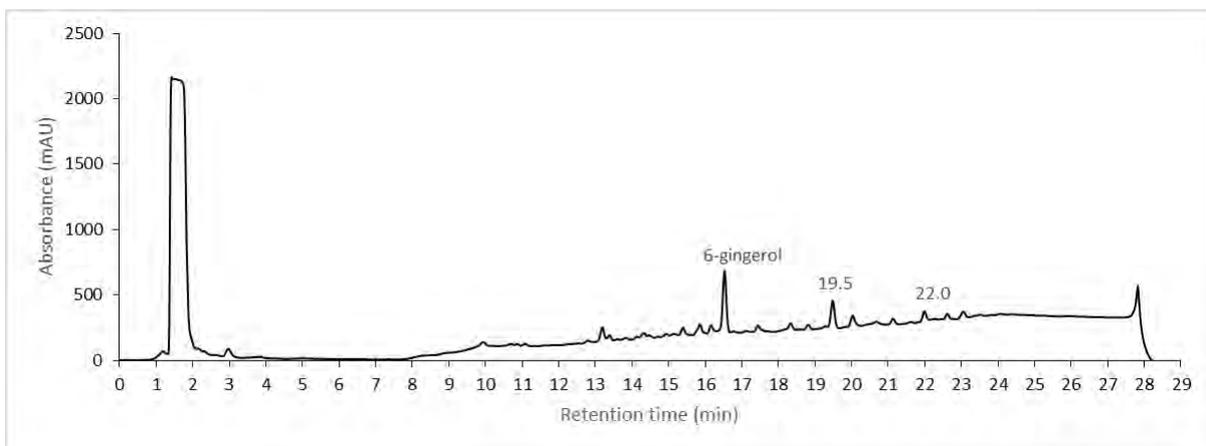
**รูปที่ A108** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 5 วัน



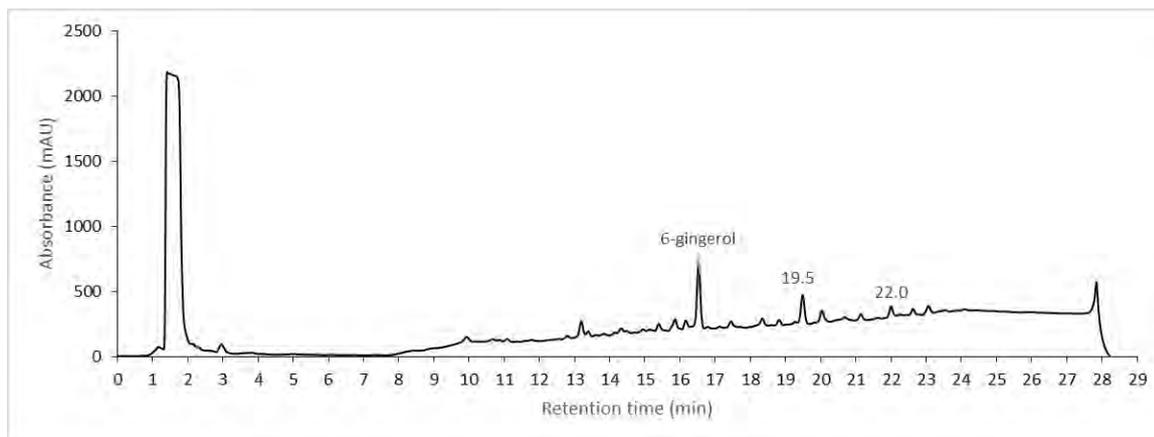
รูปที่ A109 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 6 วัน



รูปที่ A110 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 6 วัน

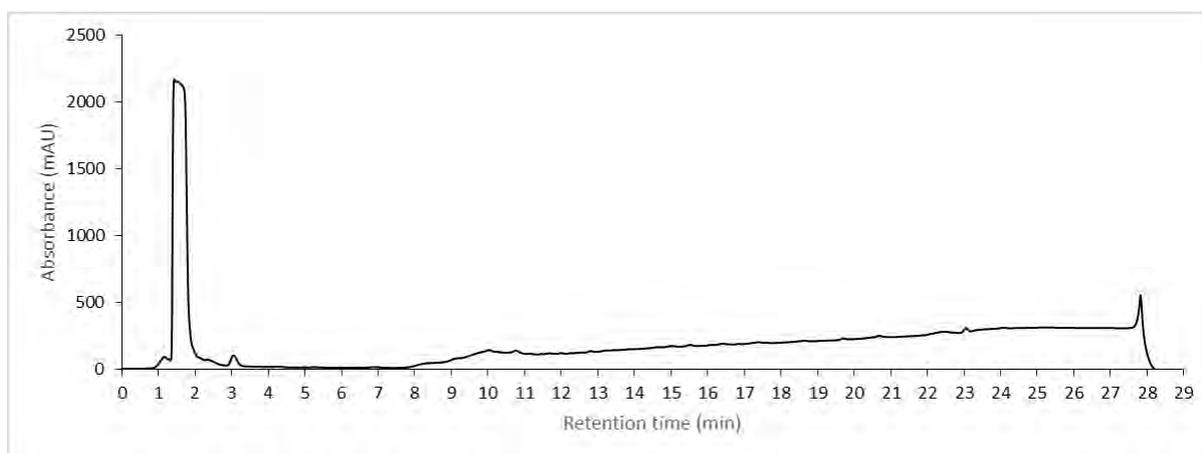


รูปที่ A111 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน

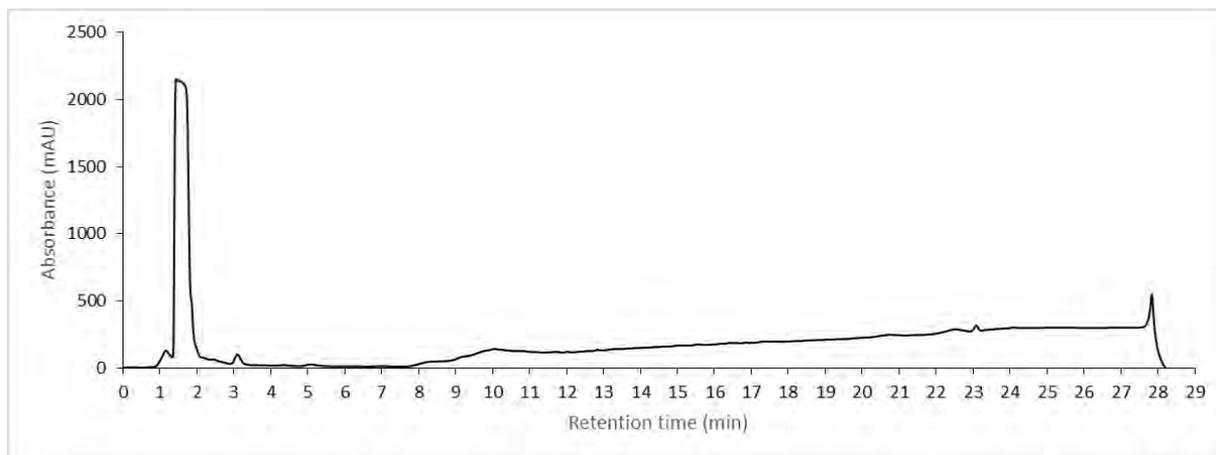


รูปที่ A112 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากการเปลี่ยนรูปทางชีวภาพของสารสกัดจากกากขิงด้วยราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังบ่มรา 7 วัน

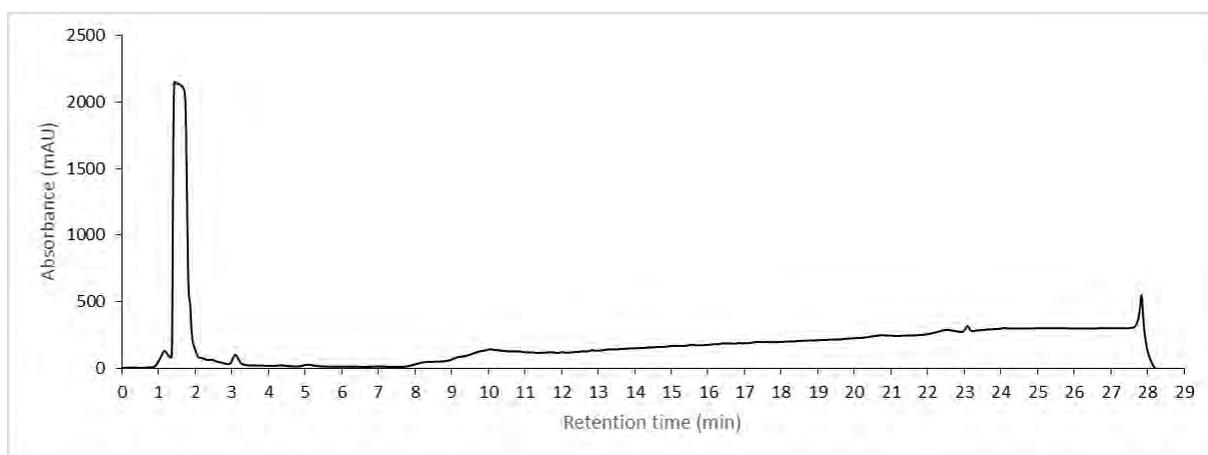
ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิง (fungi control) ของราสายพันธุ์ GS1



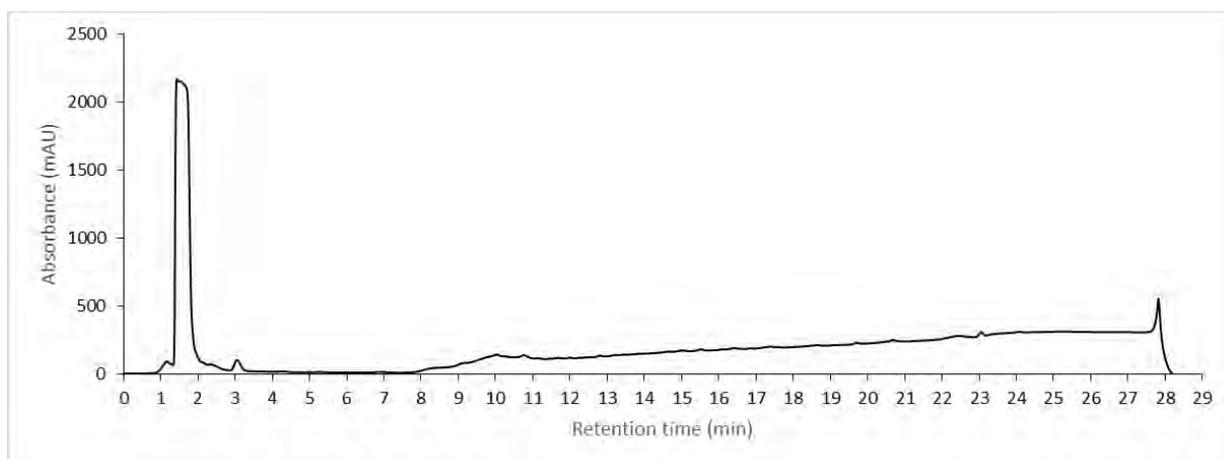
รูปที่ A113 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 1 วัน



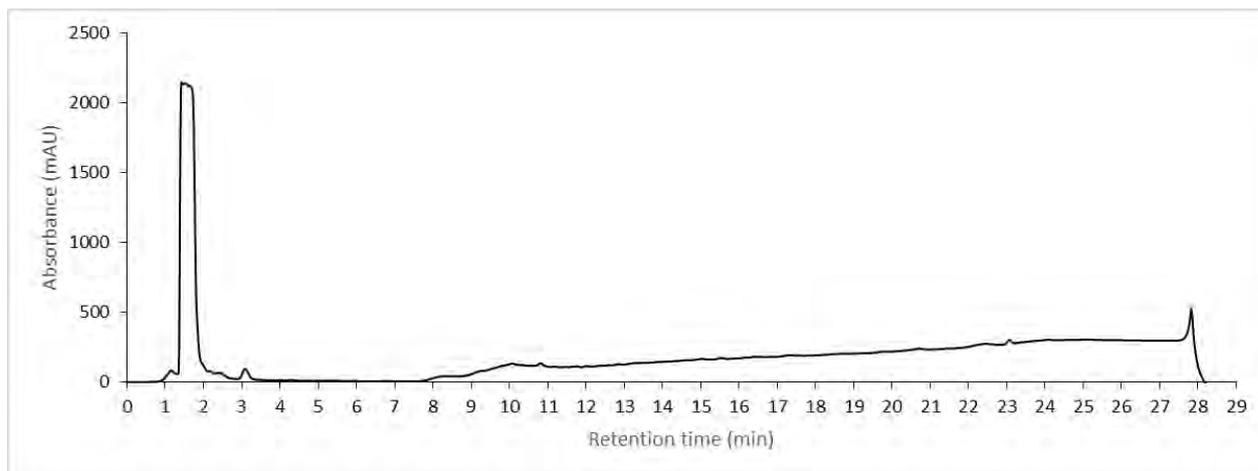
รูปที่ A114 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS1  
ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 1 วัน



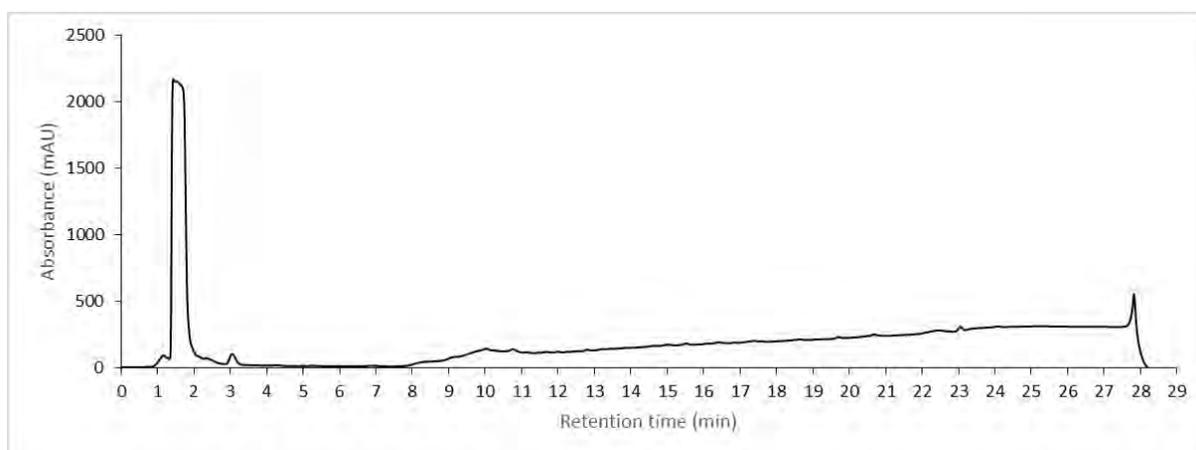
รูปที่ A115 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS1  
ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 2 วัน



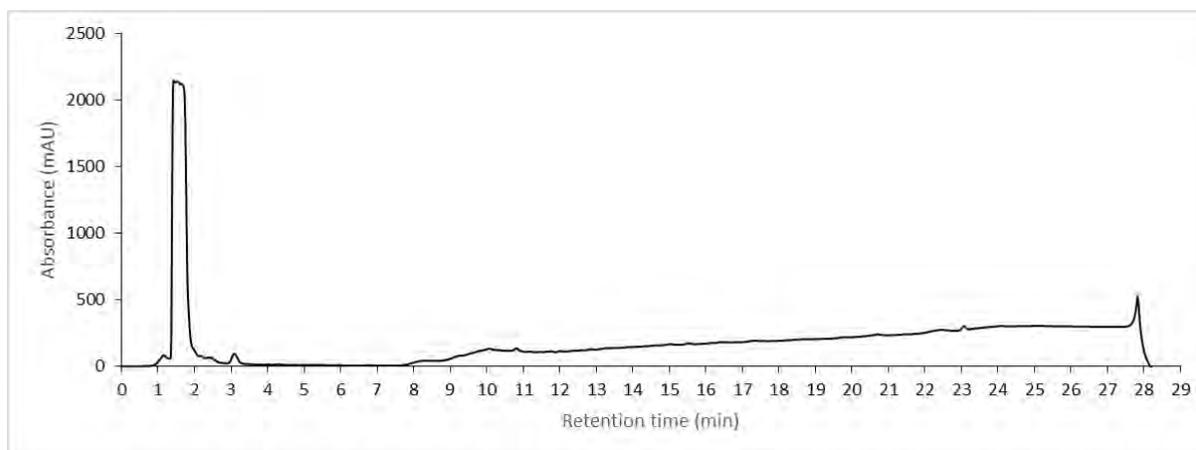
รูปที่ A116 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS1  
ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 2 วัน



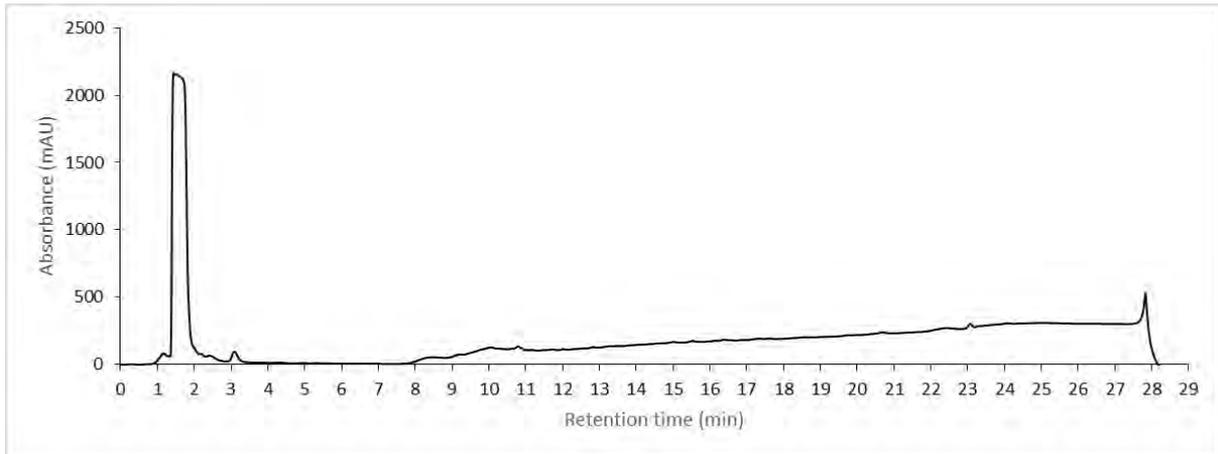
รูปที่ A117 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน



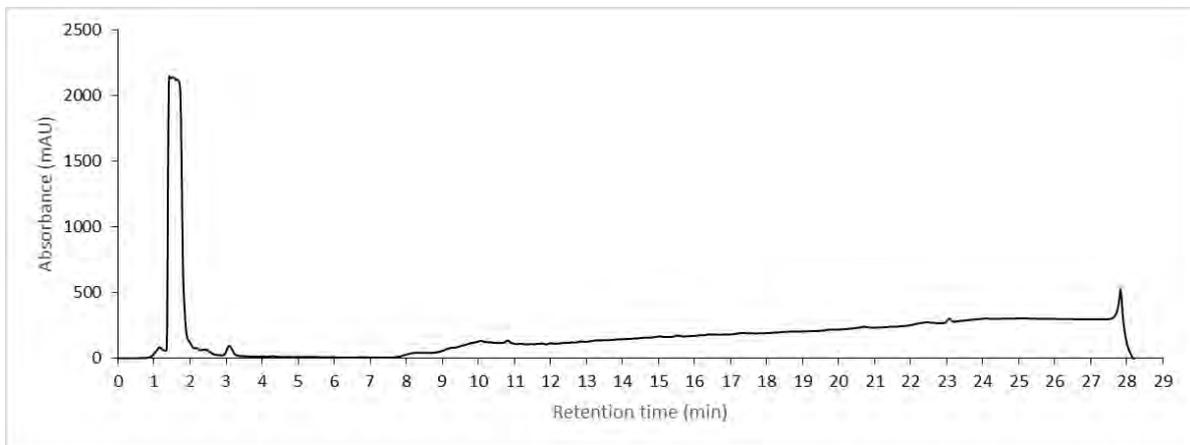
รูปที่ A118 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน



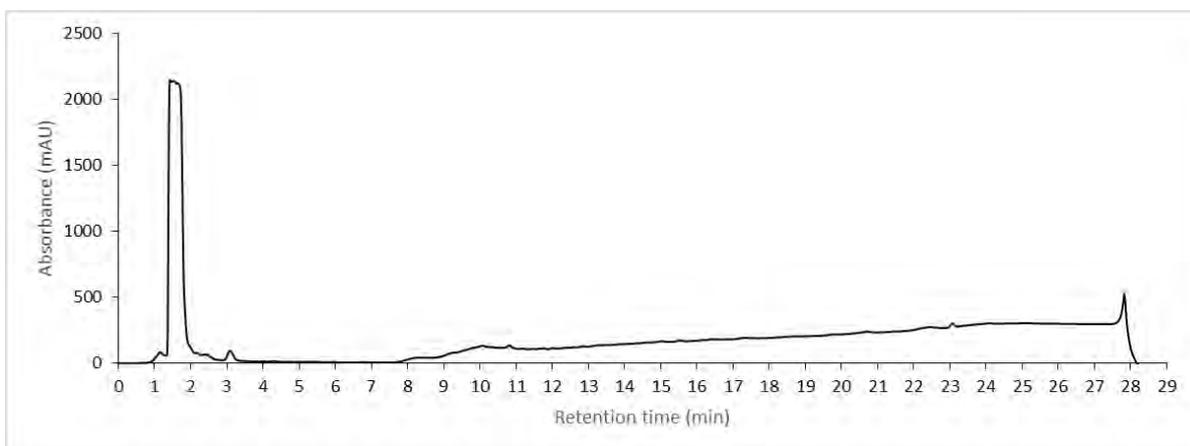
รูปที่ A119 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 4 วัน



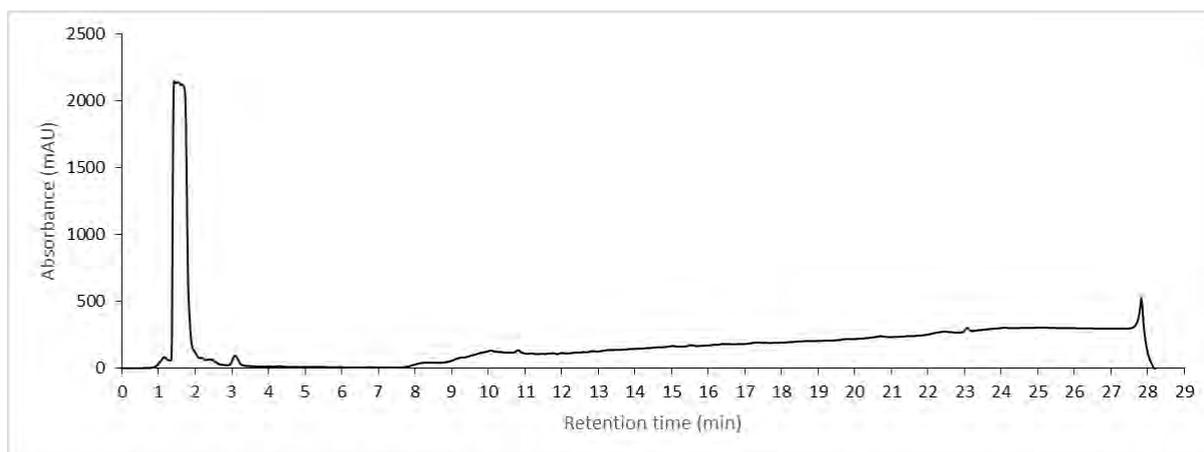
รูปที่ A120 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 4 วัน



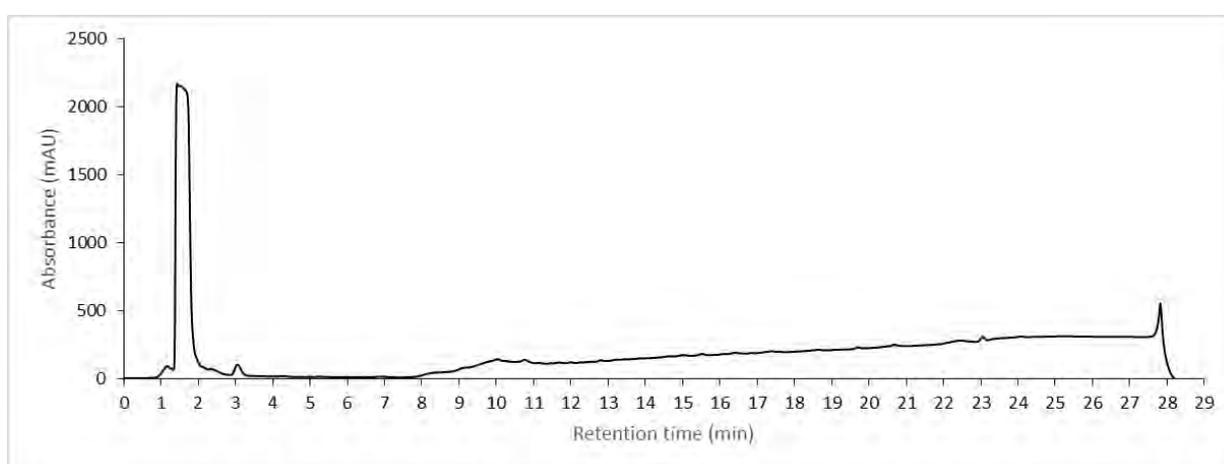
รูปที่ A121 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 5 วัน



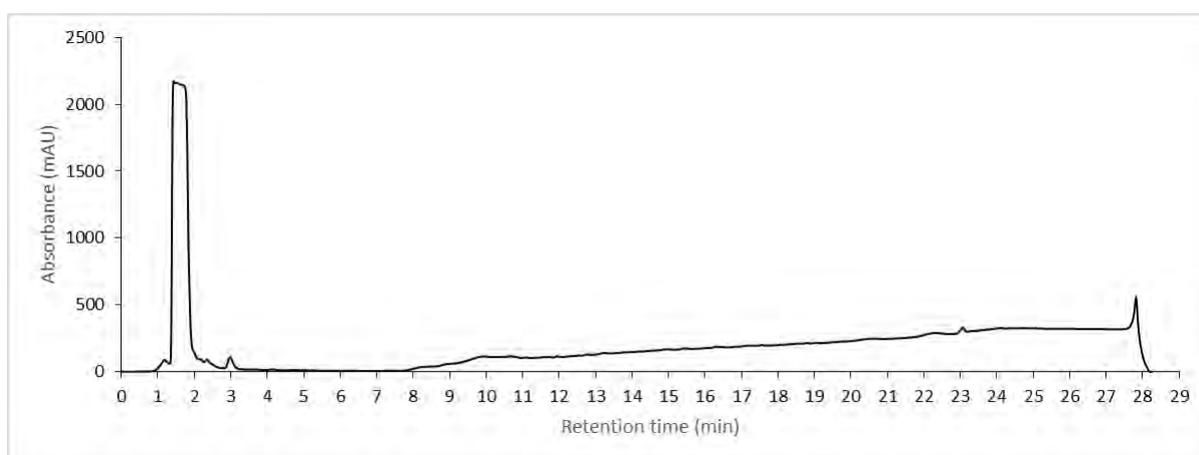
รูปที่ A122 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 5 วัน



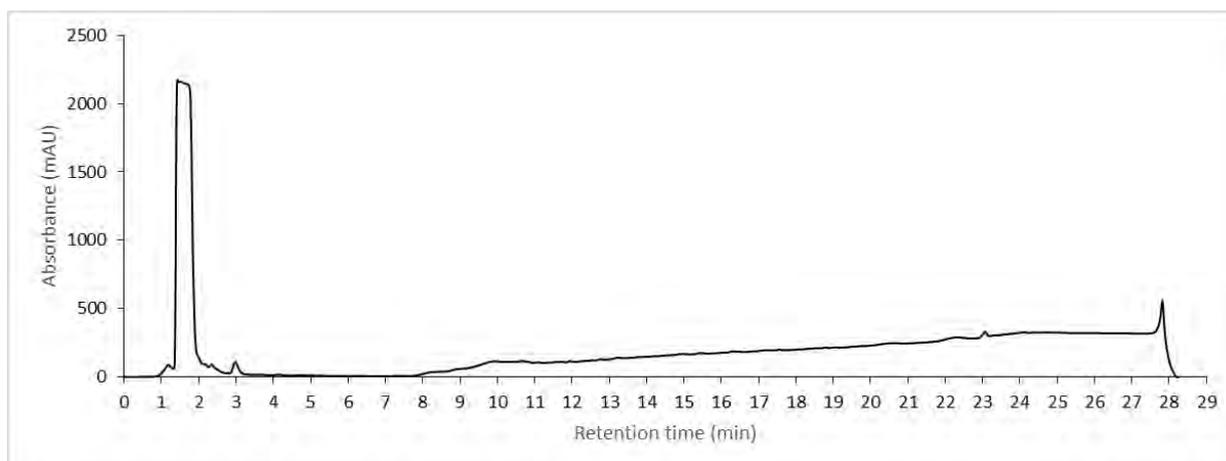
รูปที่ A123 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 6 วัน



รูปที่ A124 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 6 วัน

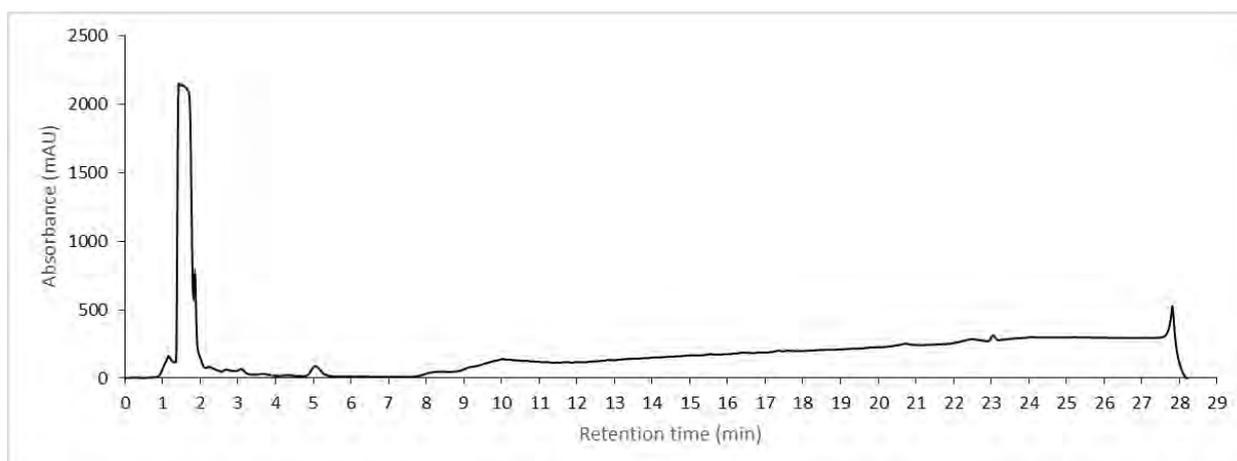


รูปที่ A125 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS1 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 7 วัน

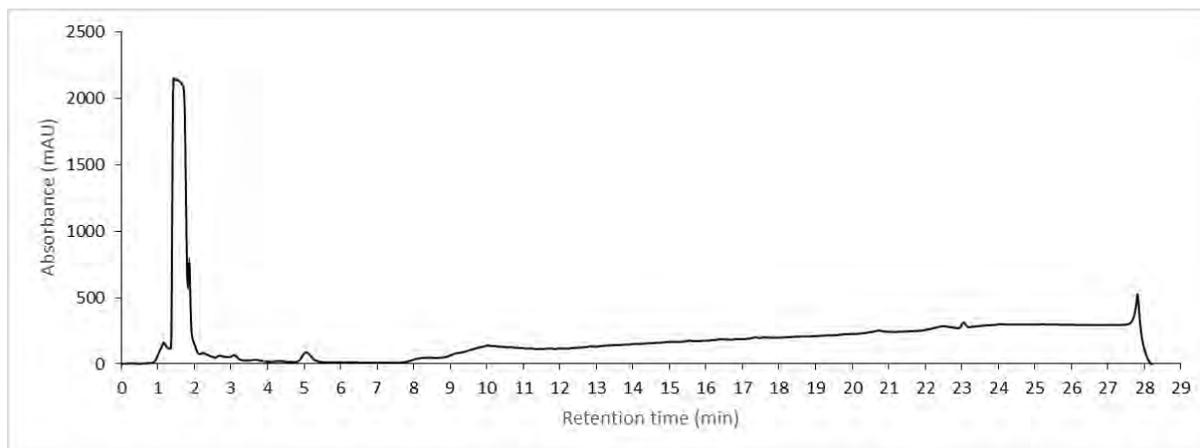


รูปที่ A126 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS1  
 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 7 วัน

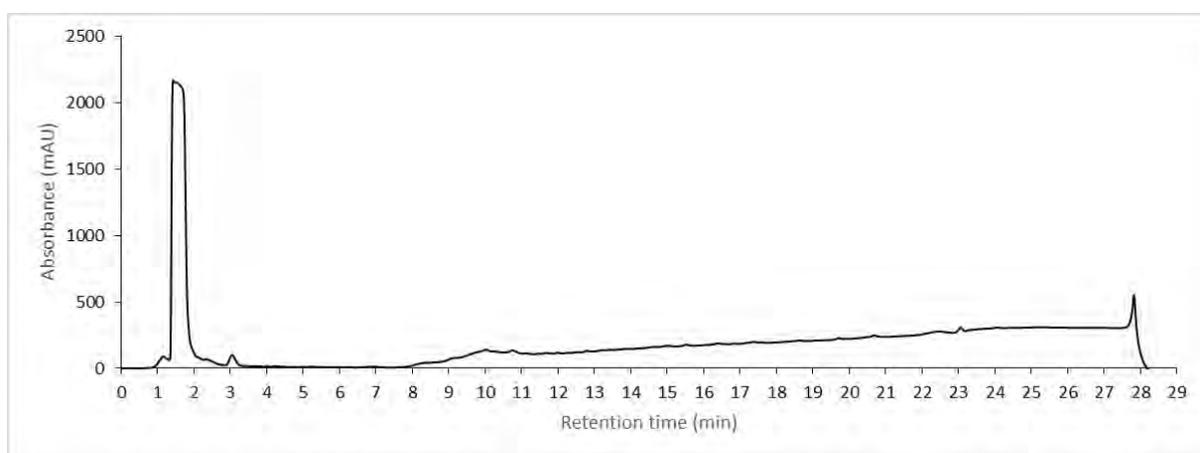
ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิง (fungi control) ของราสายพันธุ์ GS3



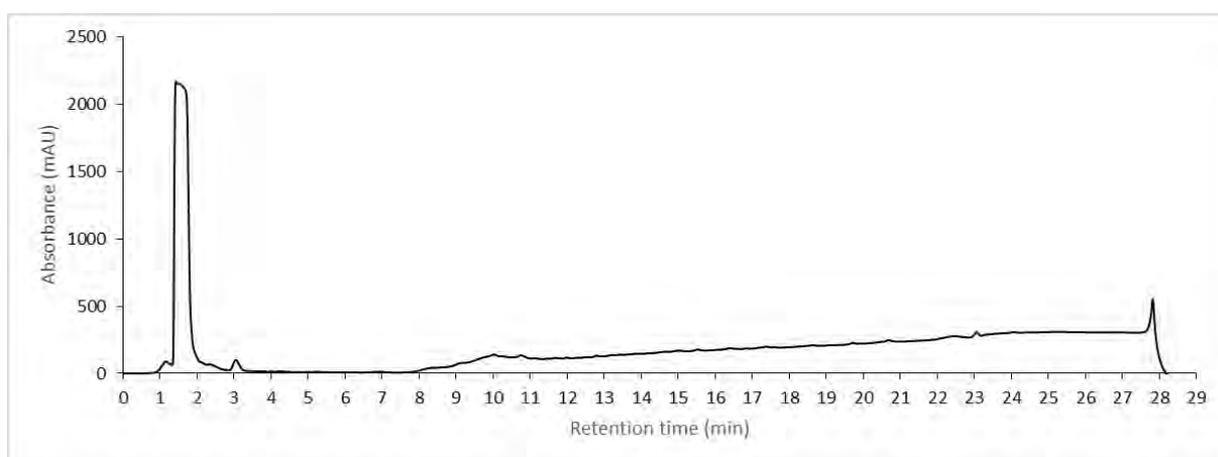
รูปที่ A127 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS3  
 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 1 วัน



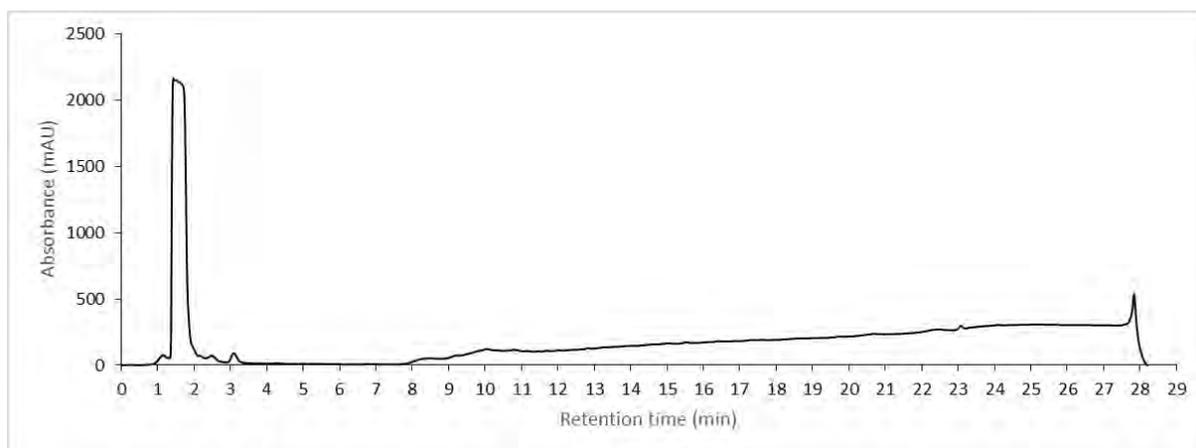
**รูปที่ A128** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS3  
ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 1 วัน



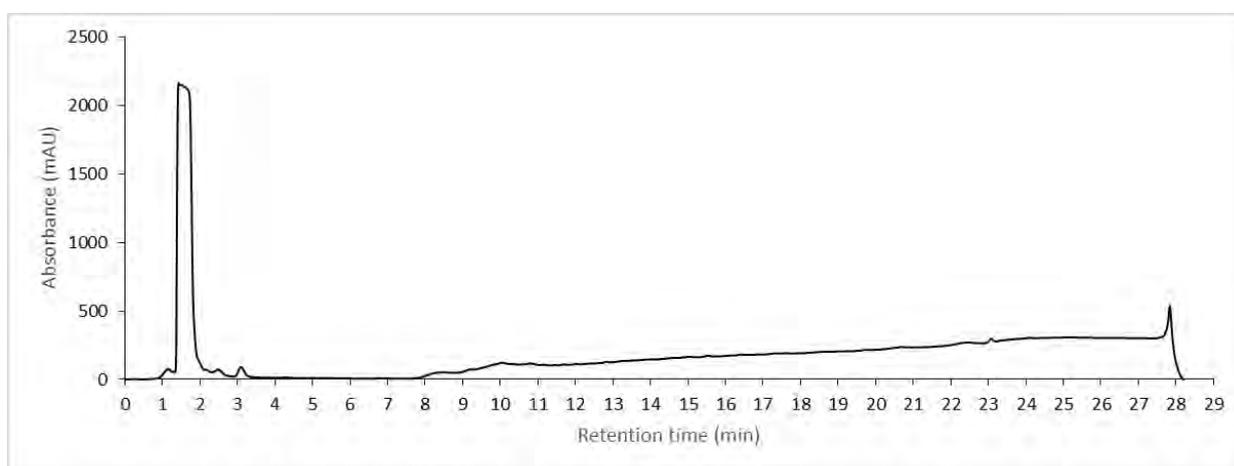
**รูปที่ A129** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS3  
ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 2 วัน



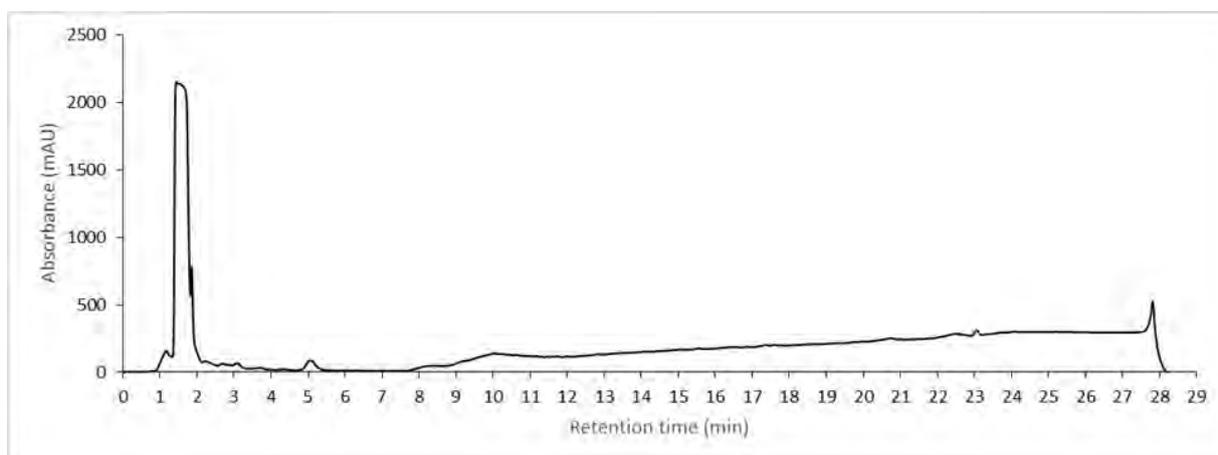
**รูปที่ A130** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS3  
ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 2 วัน



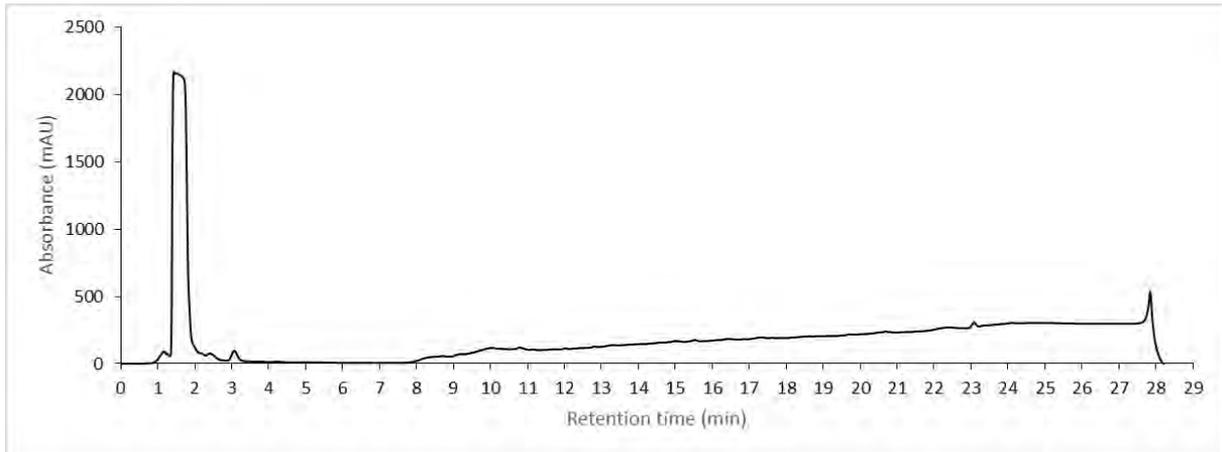
**รูปที่ A131** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS3  
ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน



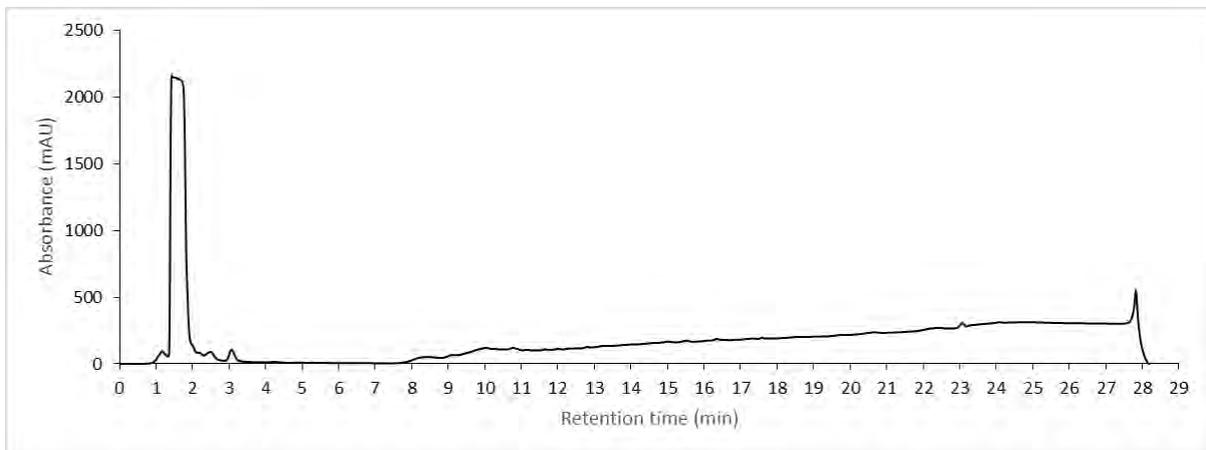
**รูปที่ A132** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS3  
ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน



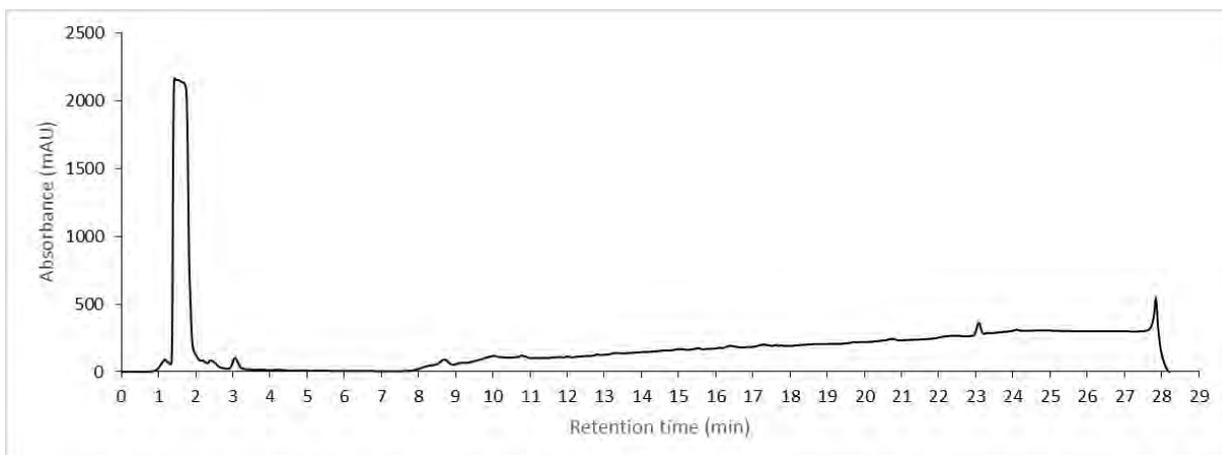
**รูปที่ A133** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS3  
ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 4 วัน



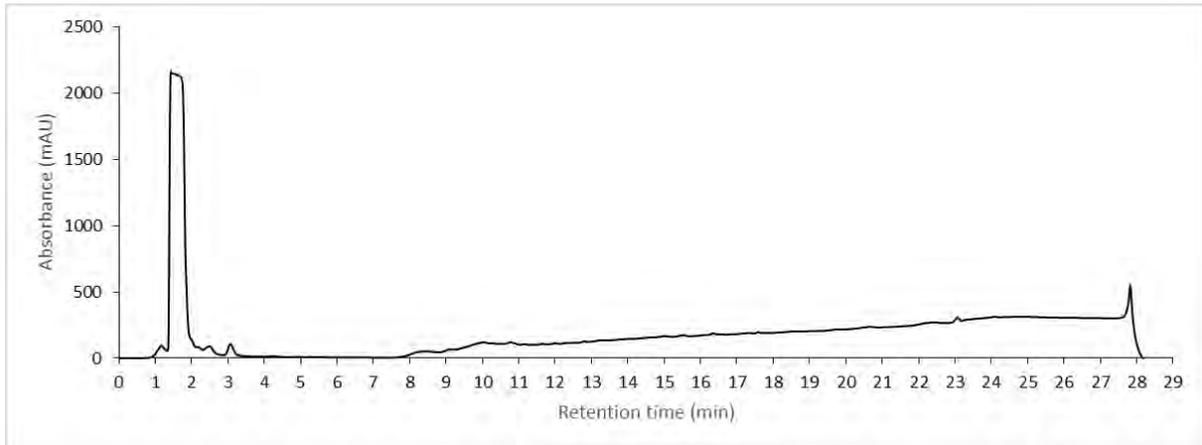
รูปที่ A134 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 4 วัน



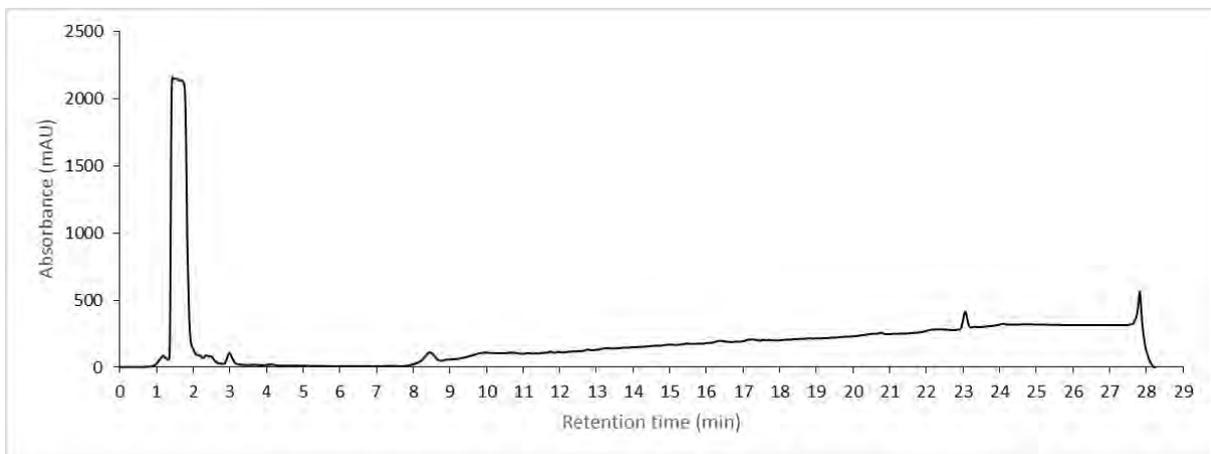
รูปที่ A135 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 5 วัน



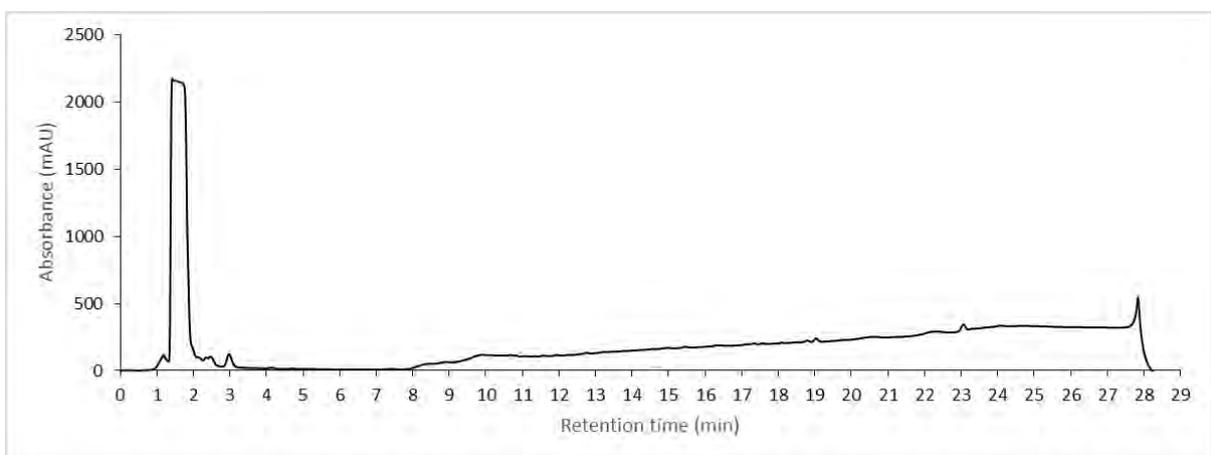
รูปที่ A136 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 5 วัน



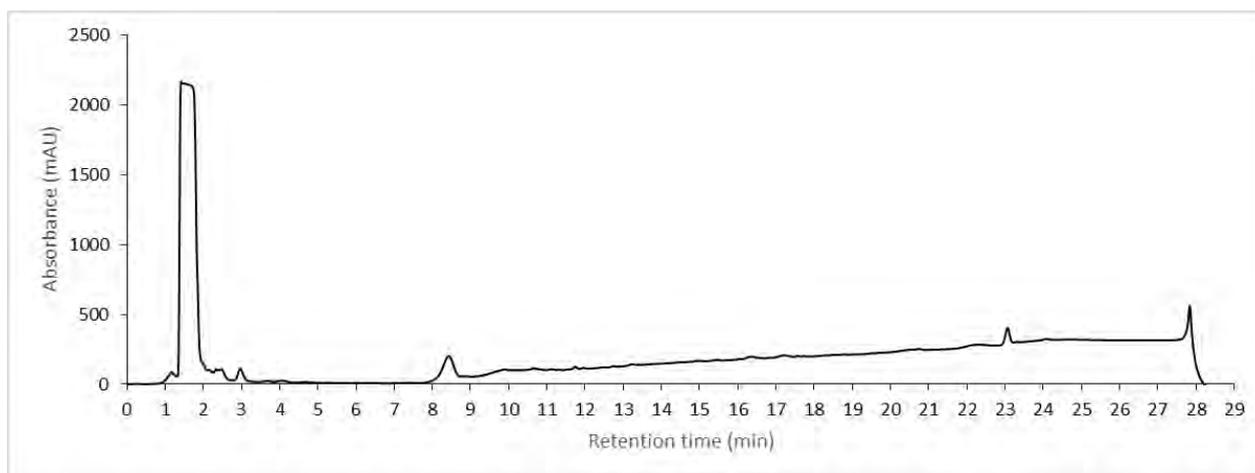
**รูปที่ A137** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 6 วัน



**รูปที่ A138** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 6 วัน

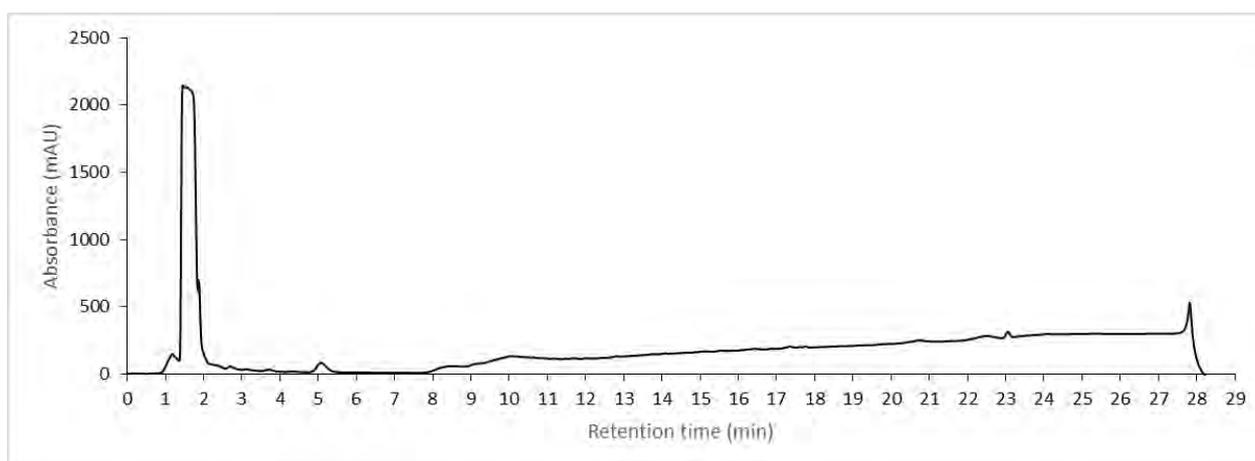


**รูปที่ A139** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS3 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 7 วัน

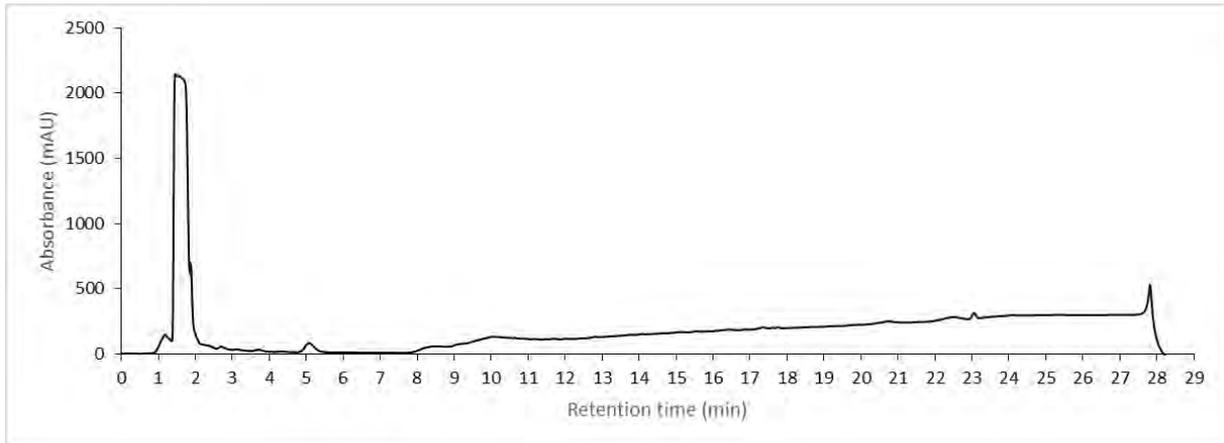


รูปที่ A140 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS3  
 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 7 วัน

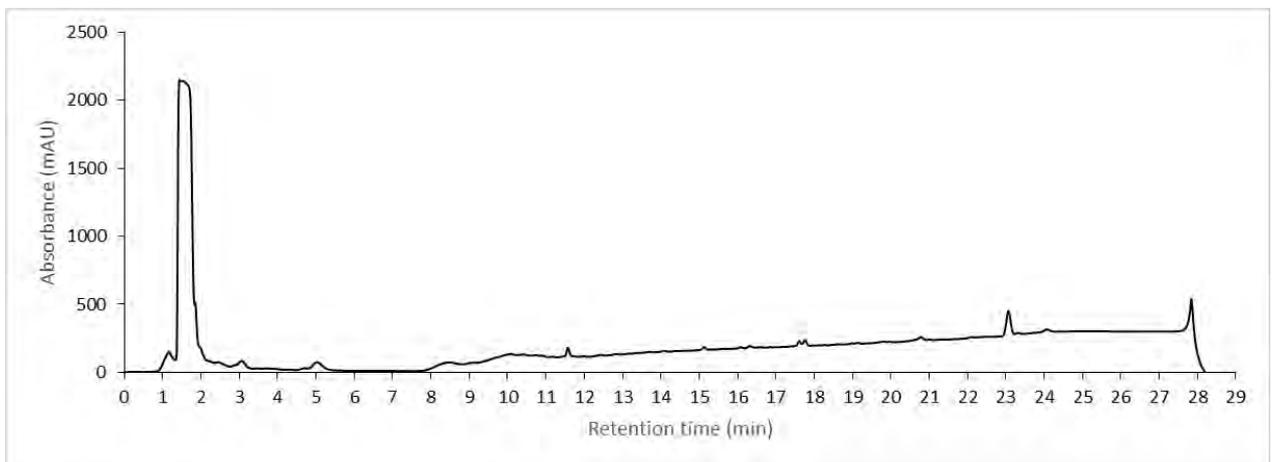
ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิง (fungi control) ของราสายพันธุ์ GS6



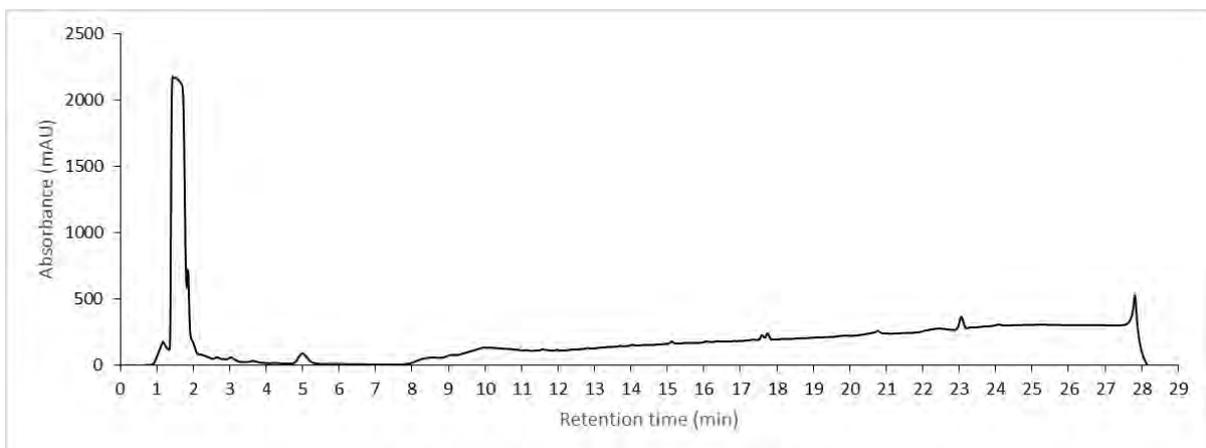
รูปที่ A141 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS6  
 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 1 วัน



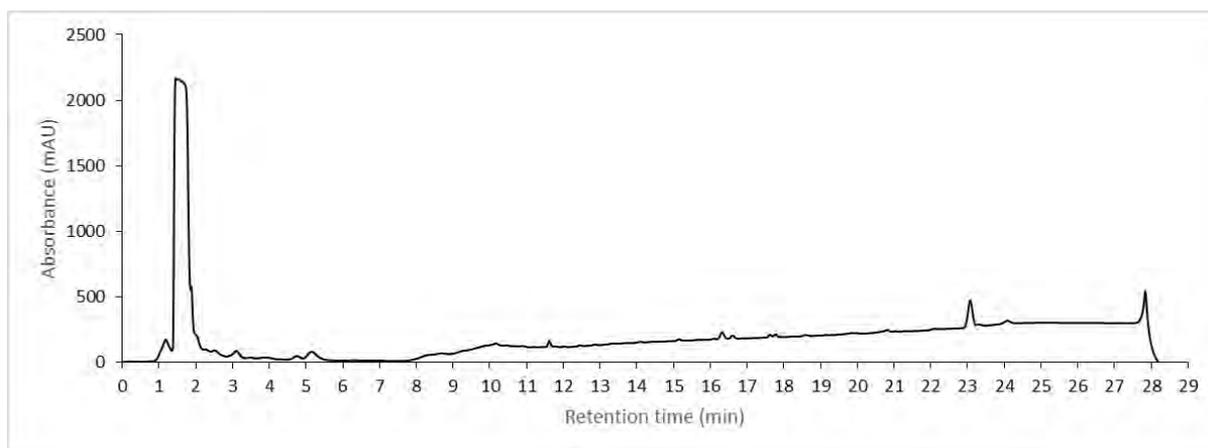
**รูปที่ A142** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS6  
ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 1 วัน



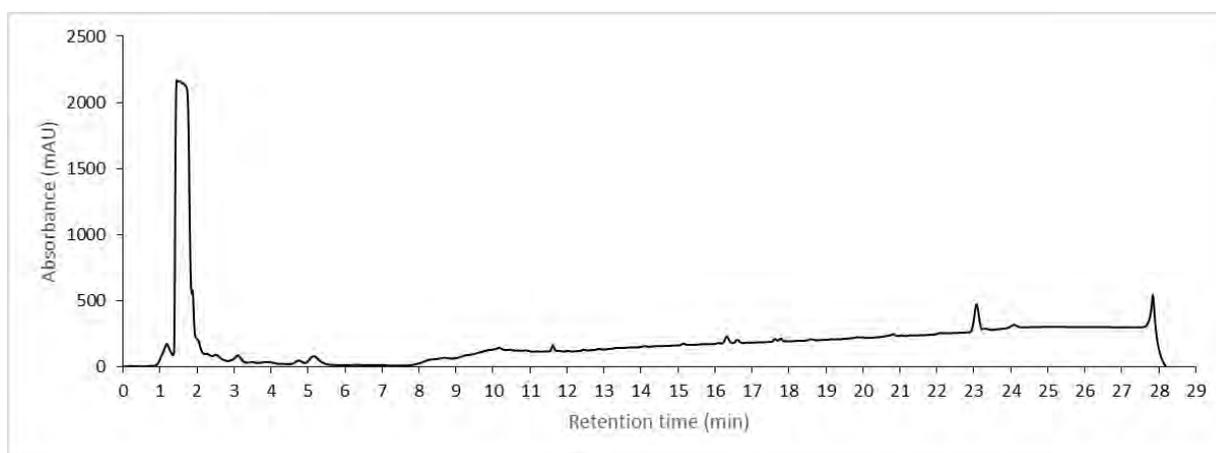
**รูปที่ A143** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS6  
ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 2 วัน



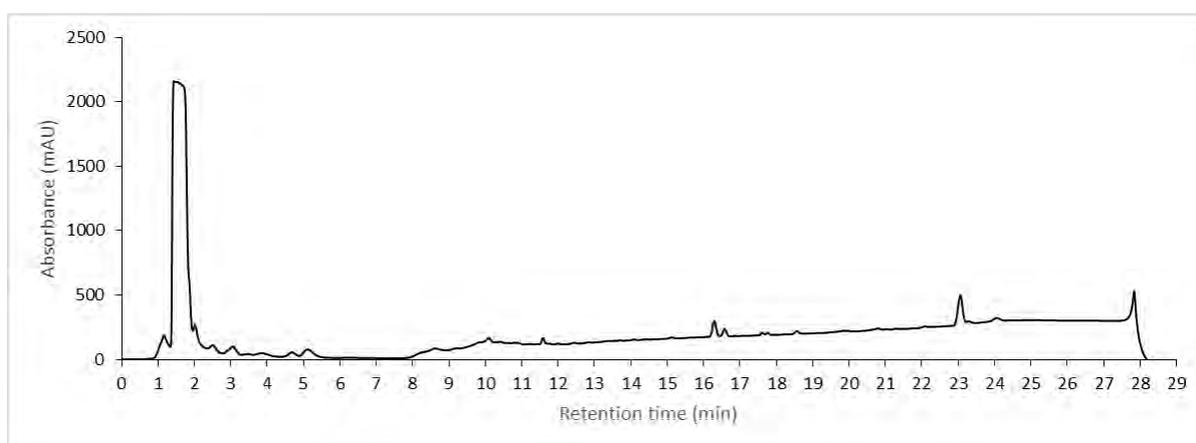
**รูปที่ A144** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS6  
ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 2 วัน



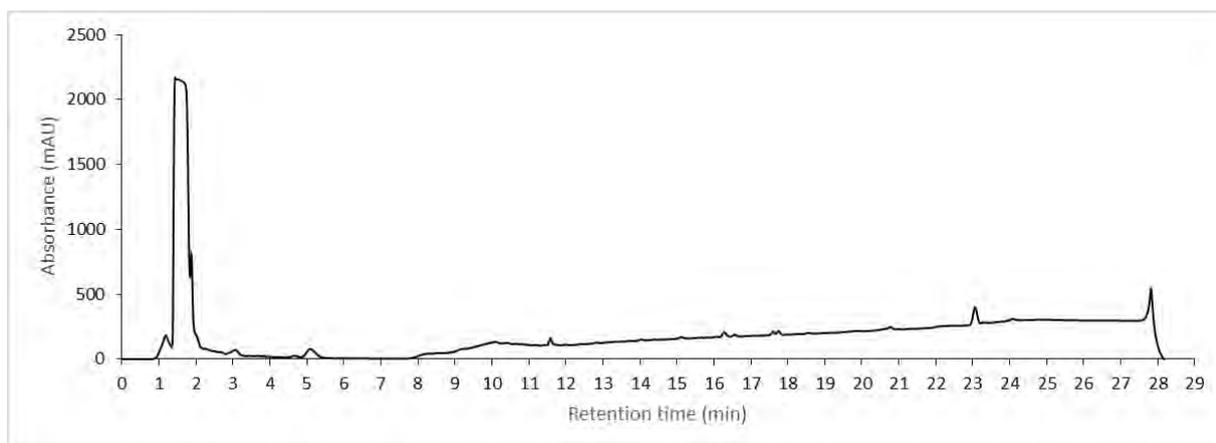
**รูปที่ A145** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS6  
ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน



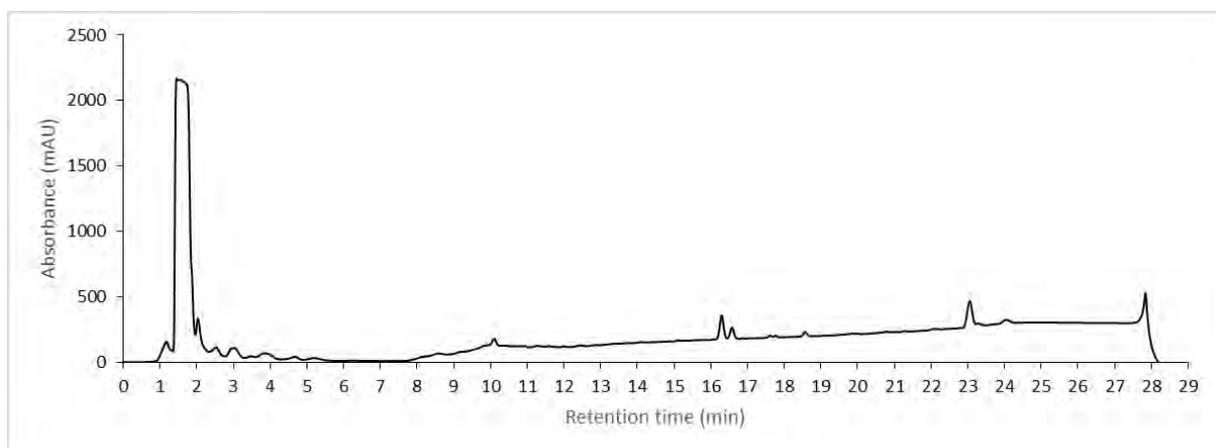
**รูปที่ A146** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS6  
ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน



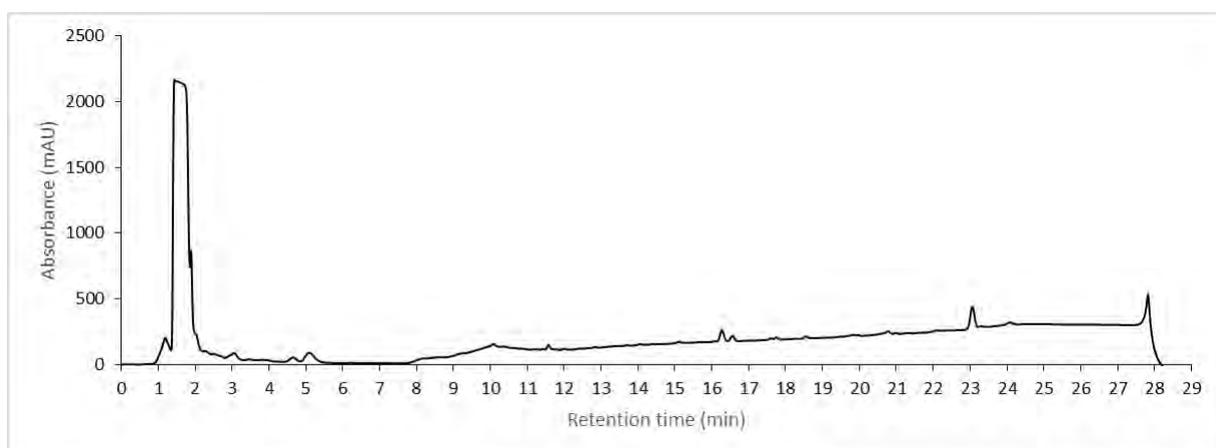
**รูปที่ A147** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS6  
ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 4 วัน



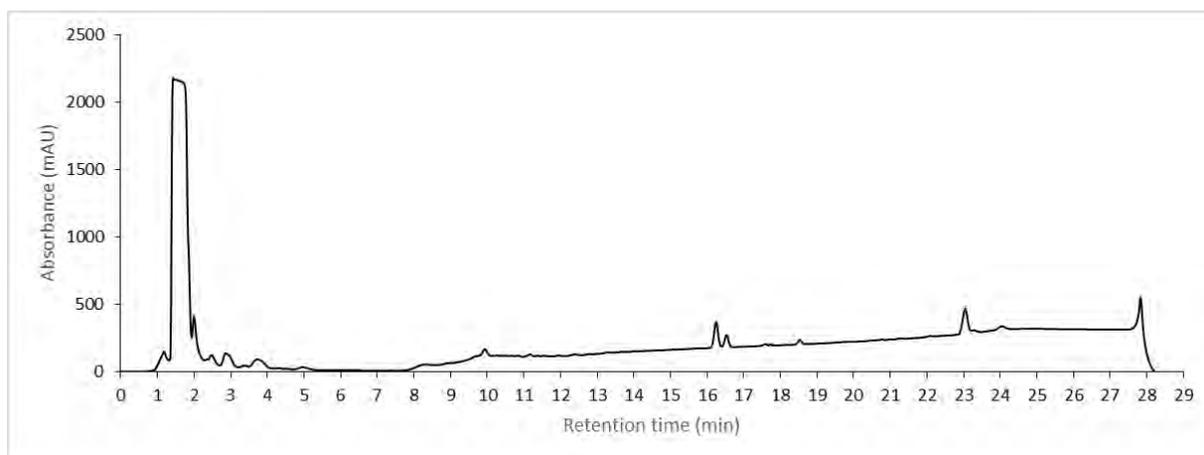
รูปที่ A148 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 4 วัน



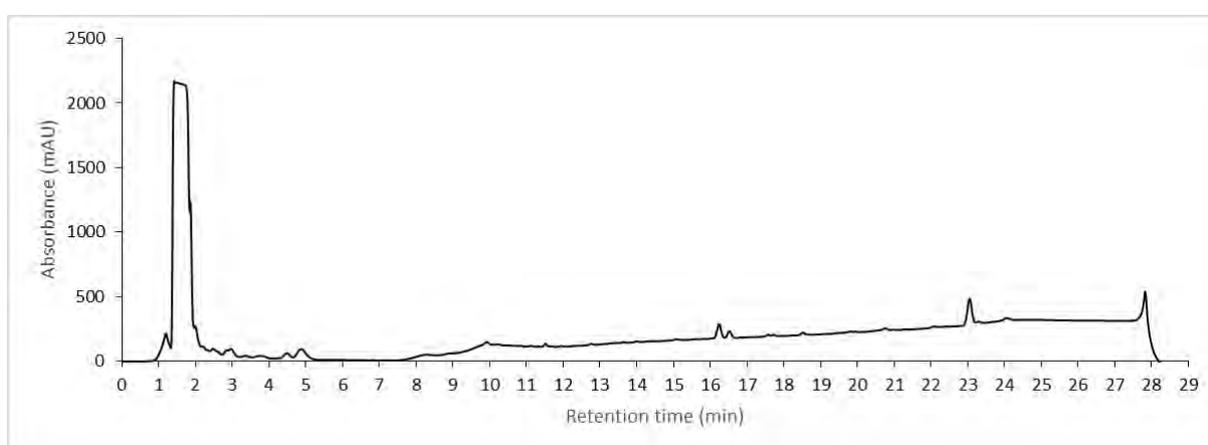
รูปที่ A149 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 5 วัน



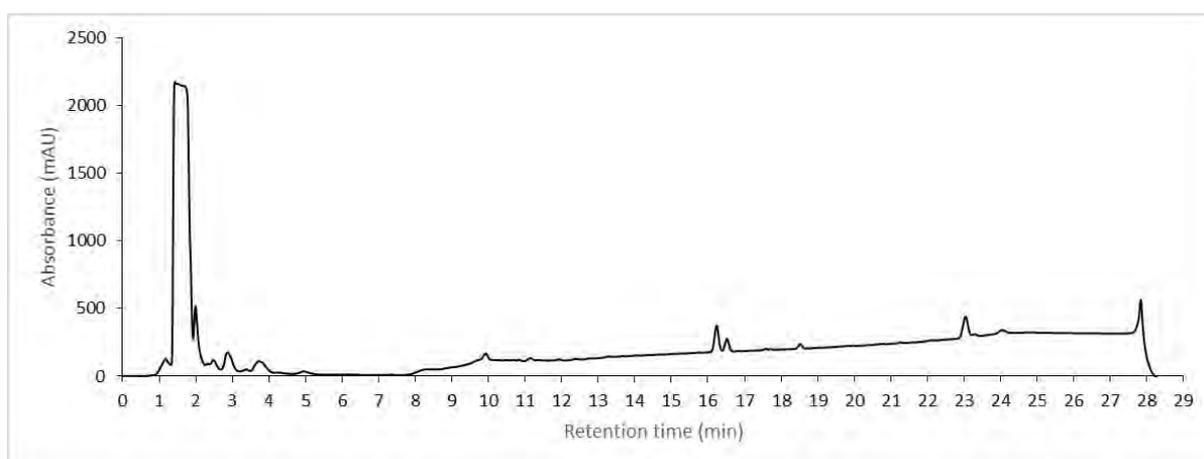
รูปที่ A150 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 5 วัน



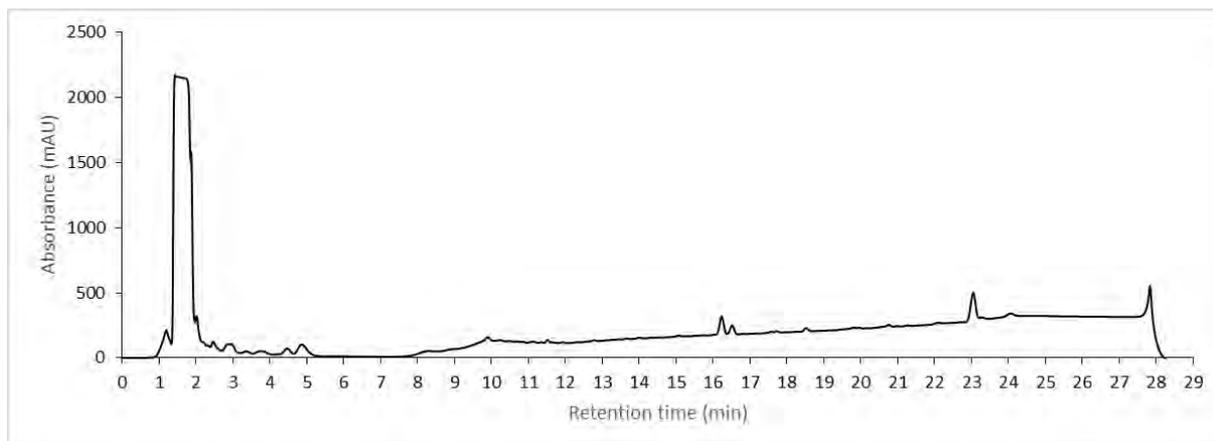
รูปที่ A151 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 6 วัน



รูปที่ A152 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 6 วัน

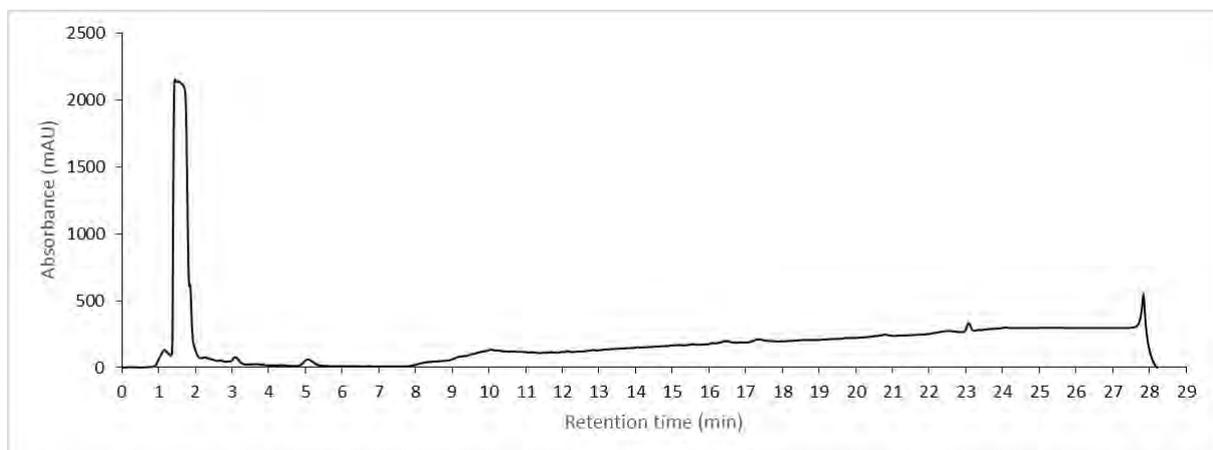


รูปที่ A153 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 7 วัน

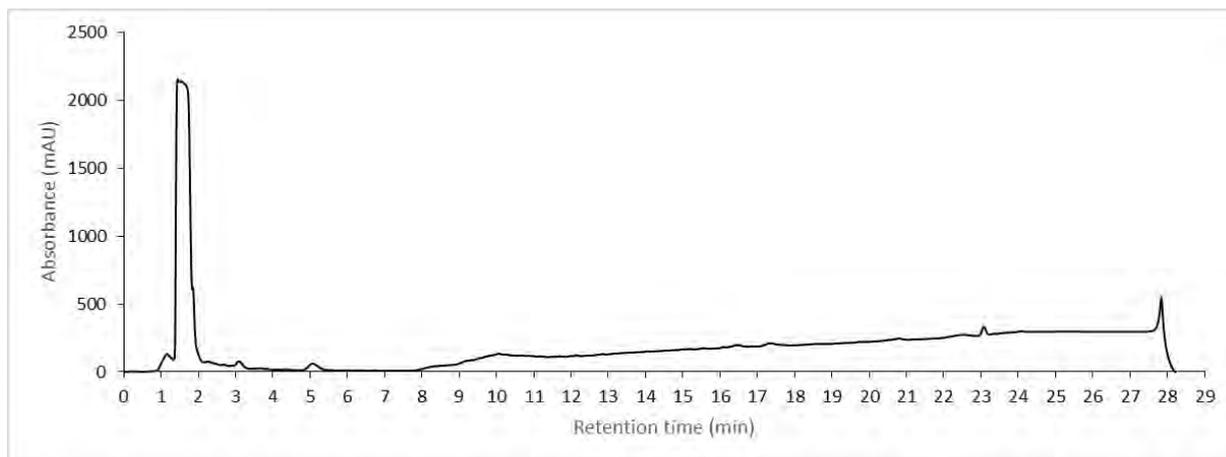


รูปที่ A154 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS6 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 7 วัน

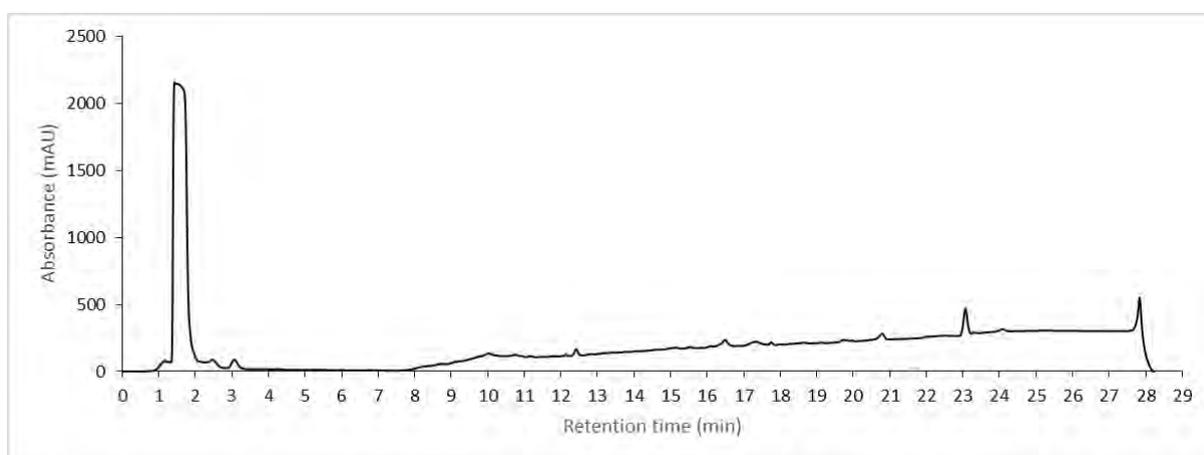
ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิง (fungi control) ของราสายพันธุ์ GS7



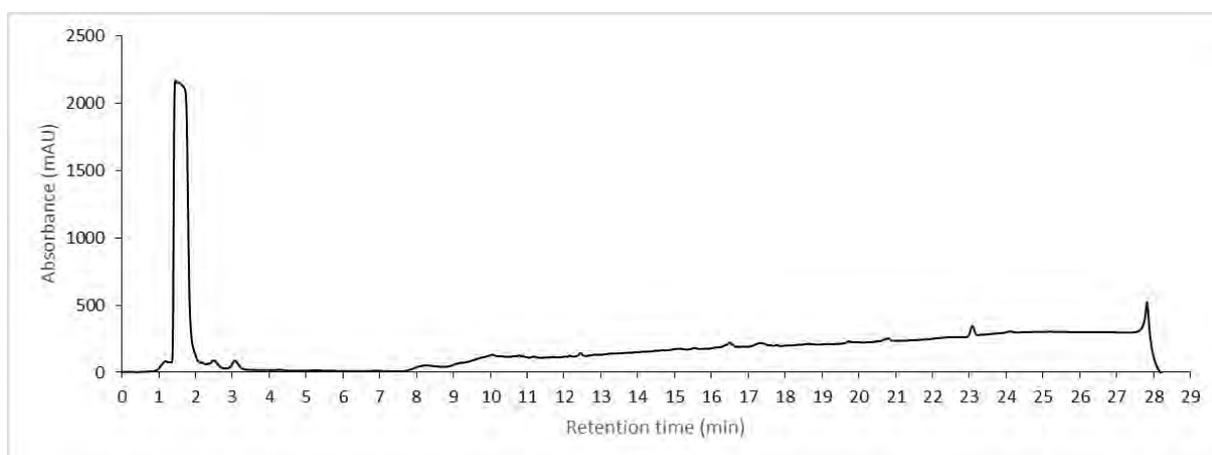
รูปที่ A155 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 1 วัน



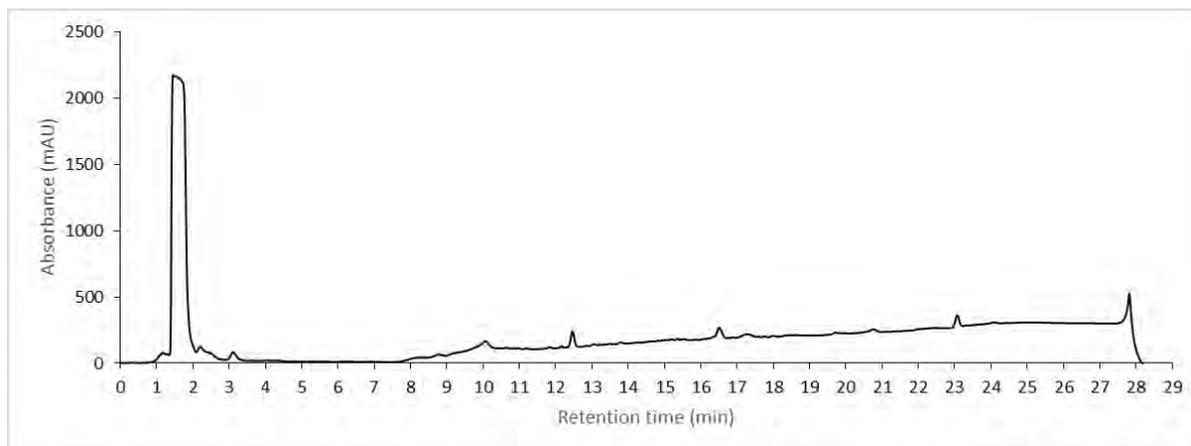
รูปที่ A156 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS7  
ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 1 วัน



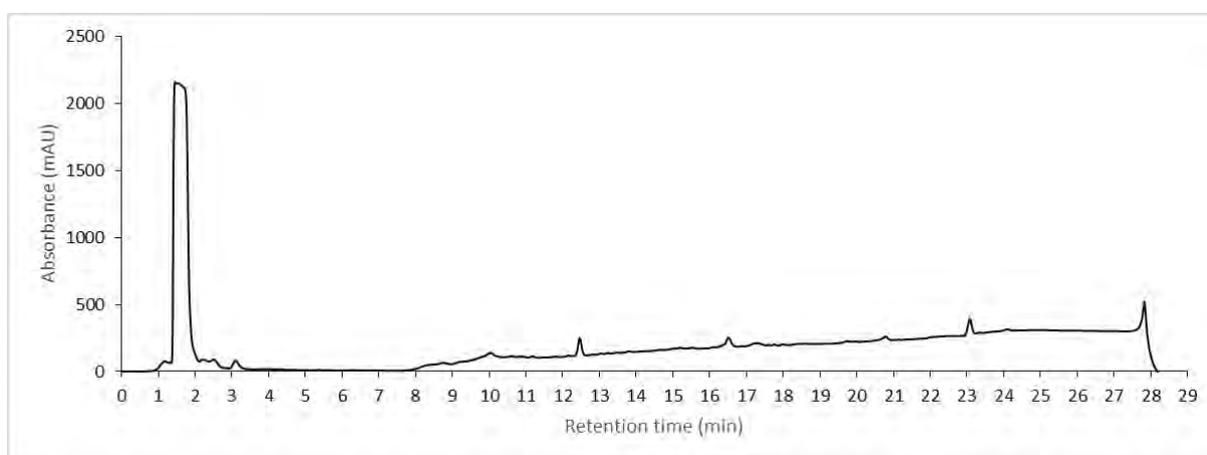
รูปที่ A157 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS7  
ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 2 วัน



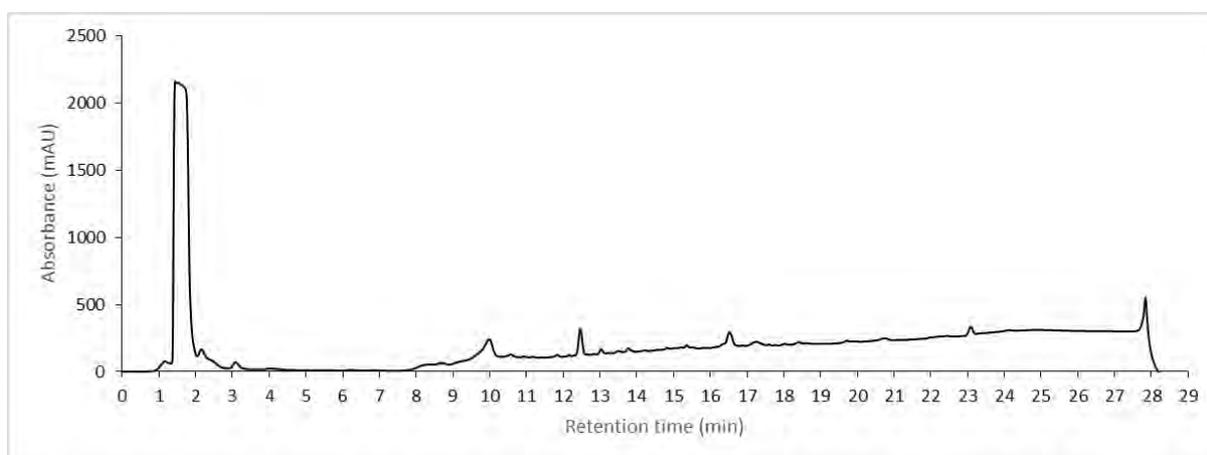
รูปที่ A158 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS7  
ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 2 วัน



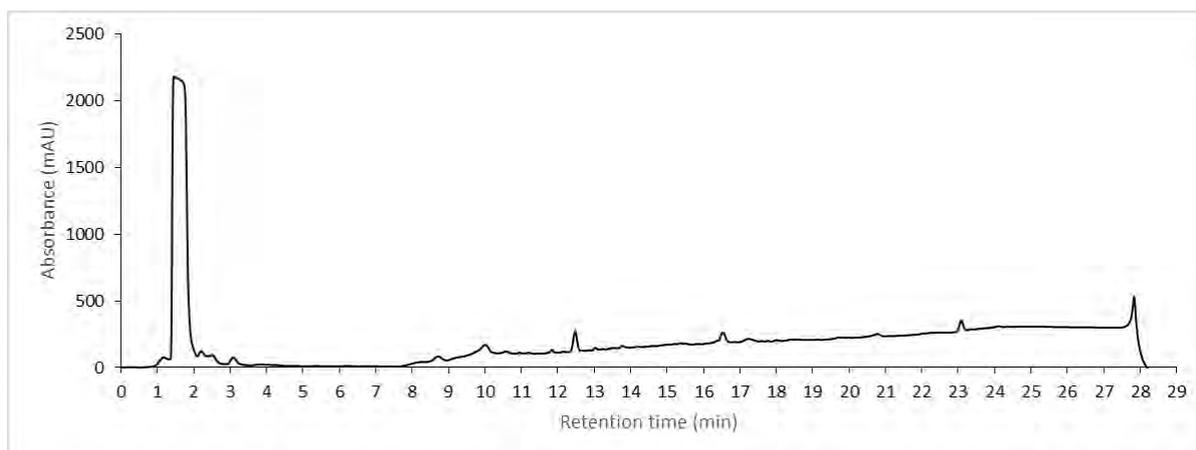
**รูปที่ A159** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน



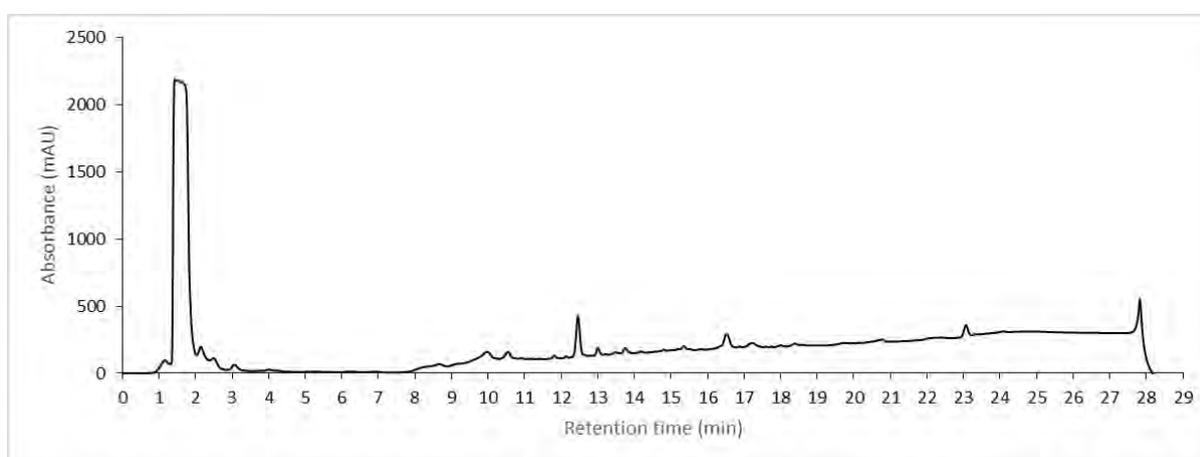
**รูปที่ A160** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน



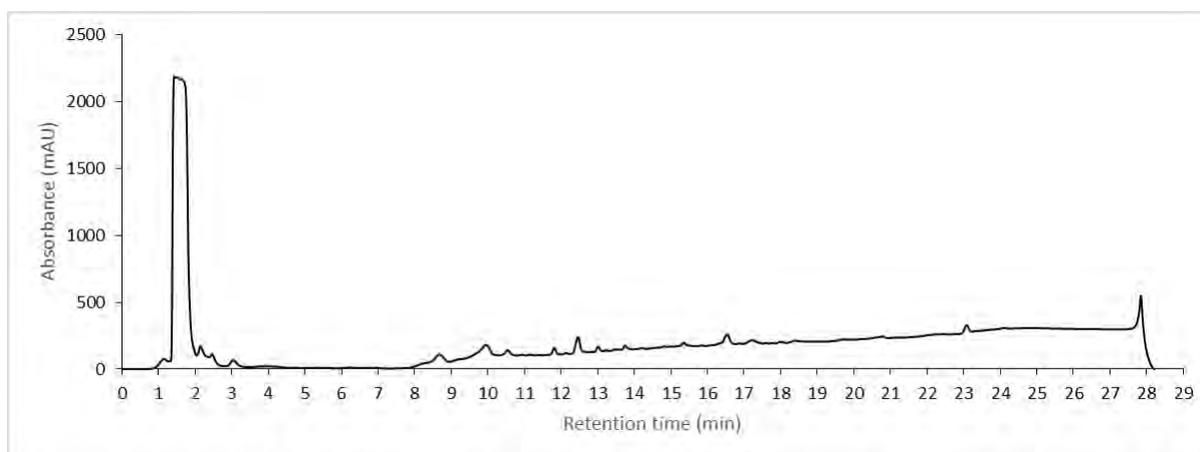
**รูปที่ A161** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 4 วัน



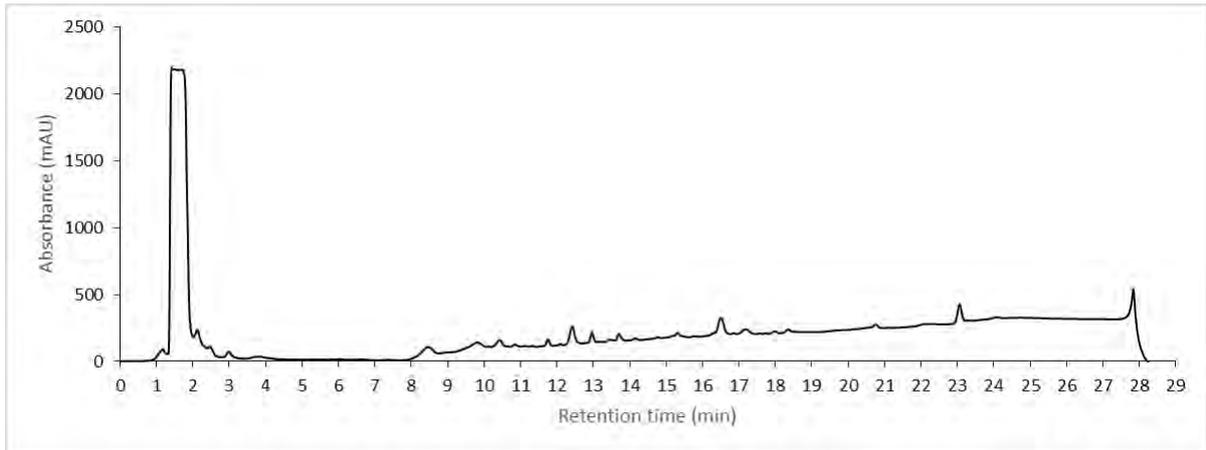
รูปที่ A162 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 4 วัน



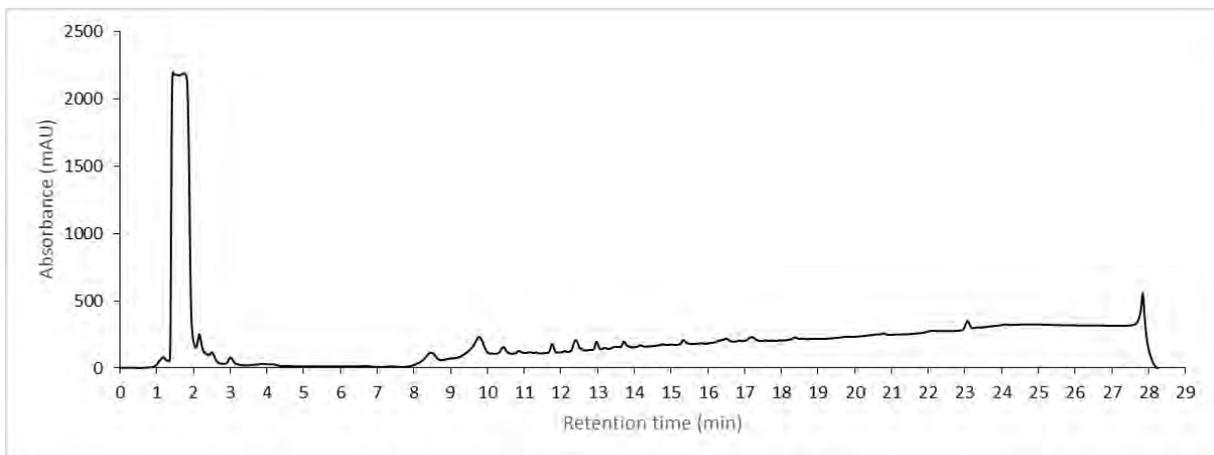
รูปที่ A163 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 5 วัน



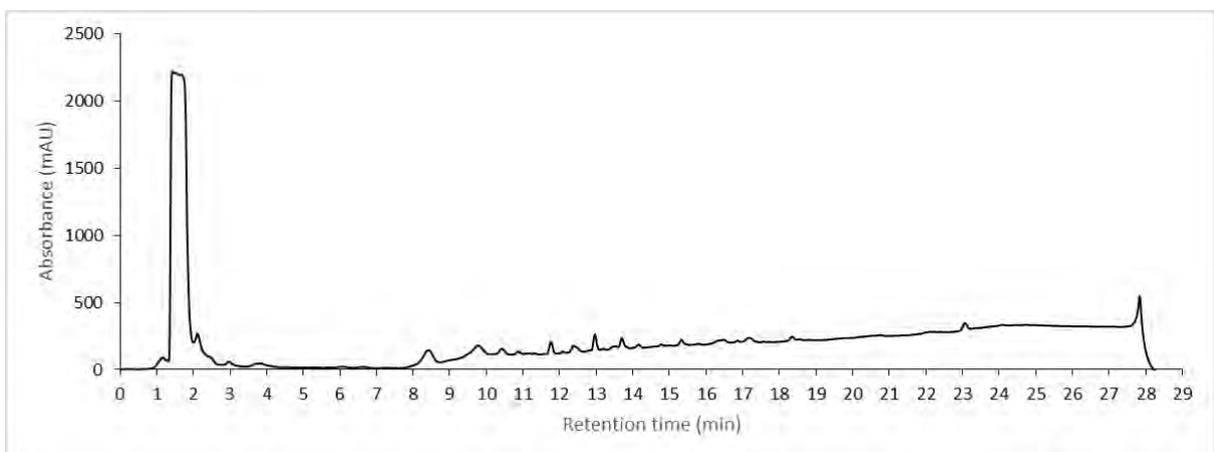
รูปที่ A164 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS7 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 5 วัน



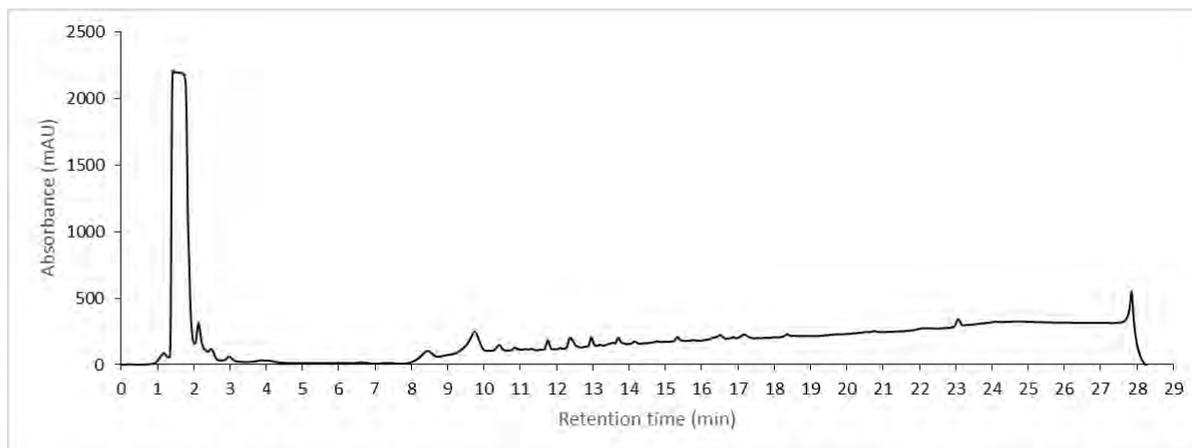
รูปที่ A165 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS7  
ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 6 วัน



รูปที่ A166 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS7  
ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 6 วัน

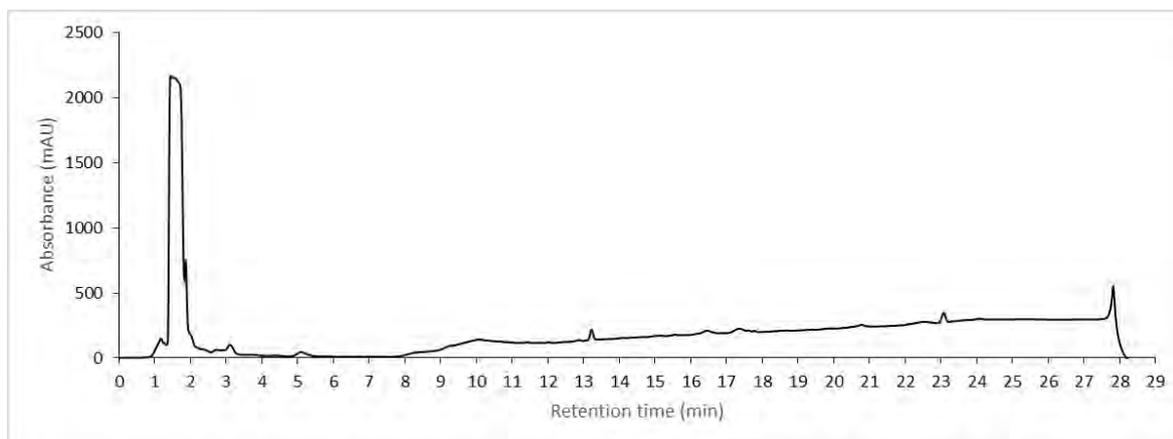


รูปที่ A167 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของรสาายพันธุ์ GS7  
ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 7 วัน

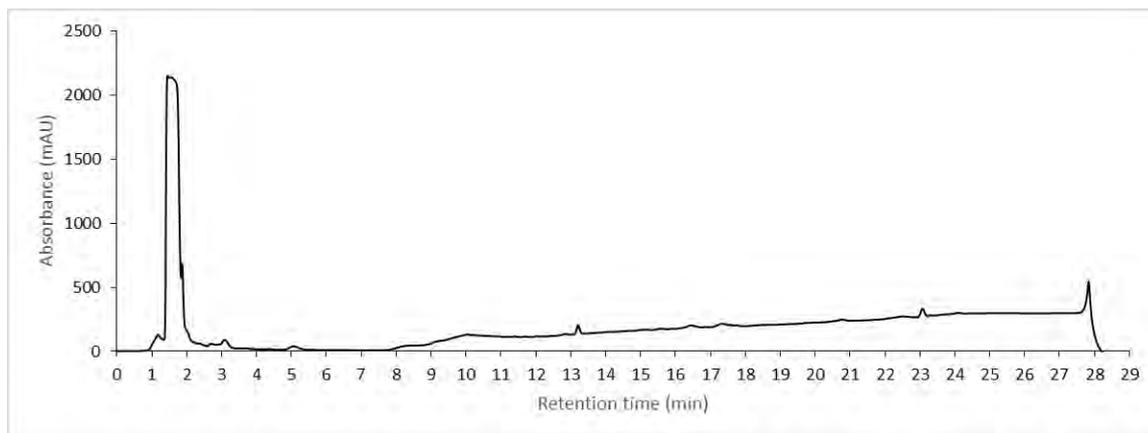


**รูปที่ A168** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS7  
 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 7 วัน

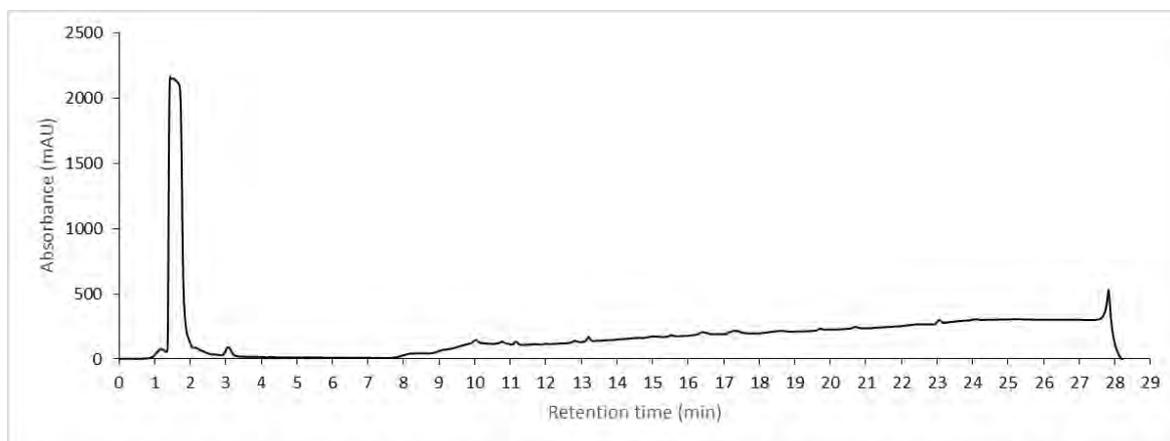
**ชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิง (fungi control) ของราสายพันธุ์ GS14**



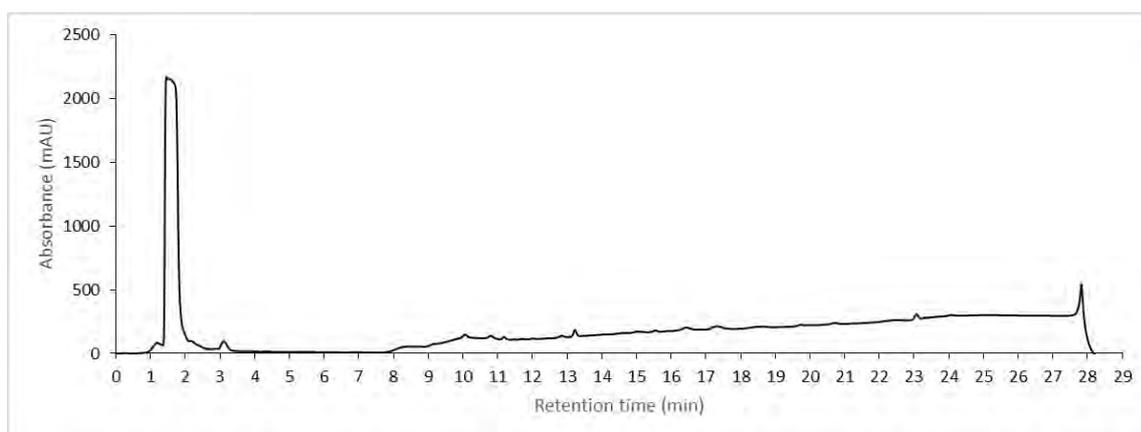
**รูปที่ A169** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์  
 GS14 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 1 วัน



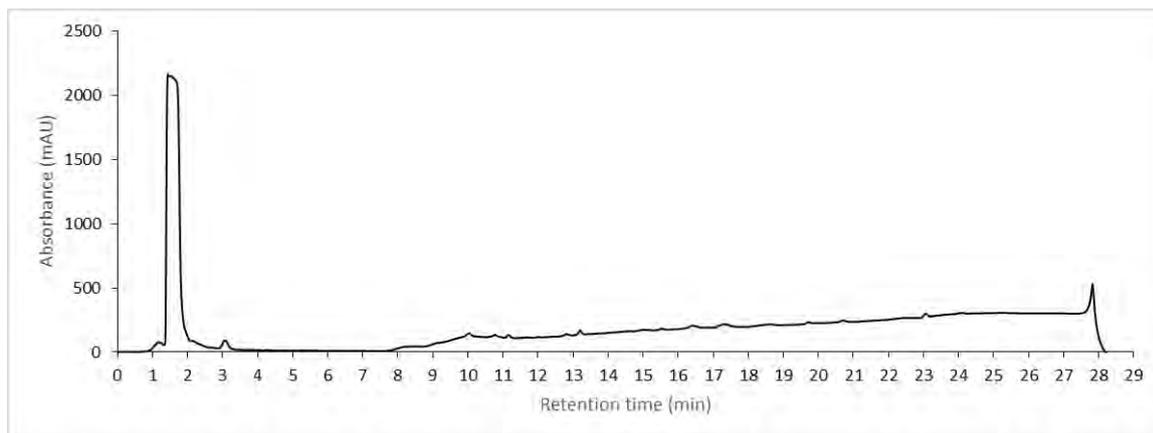
รูปที่ A170 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 1 วัน



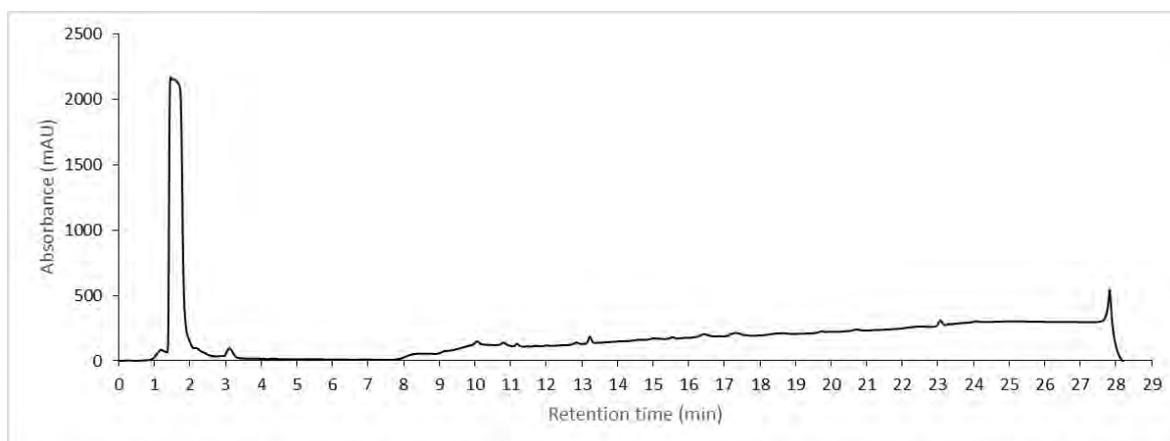
รูปที่ A171 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 2 วัน



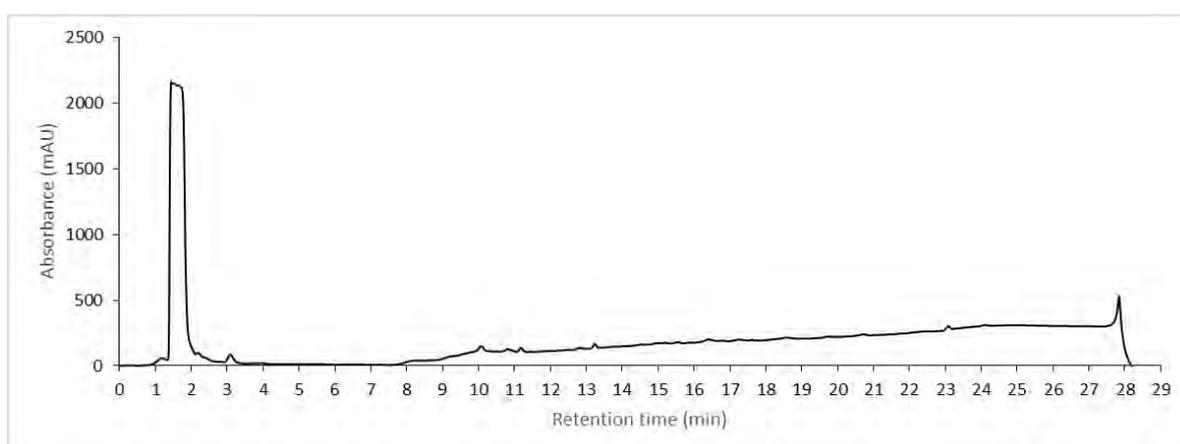
รูปที่ A172 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 2 วัน



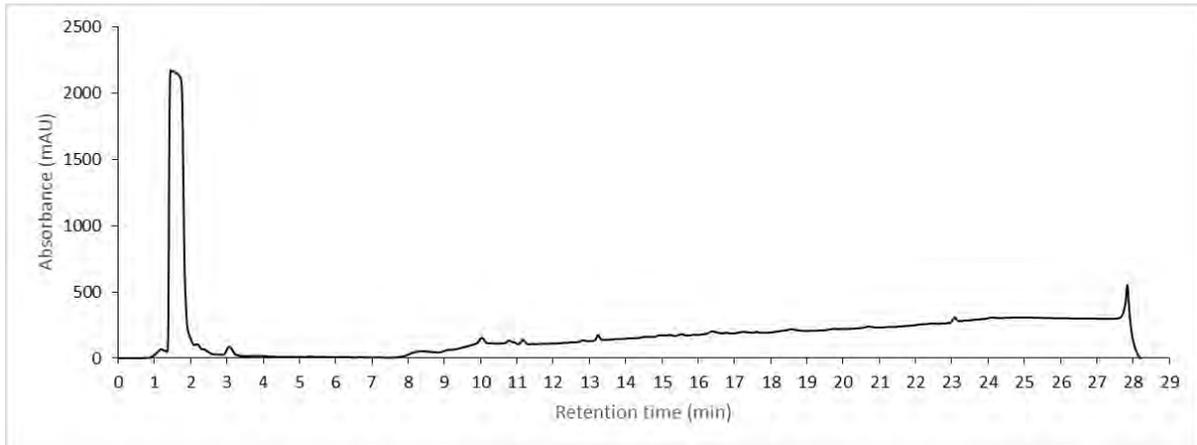
**รูปที่ A173** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน



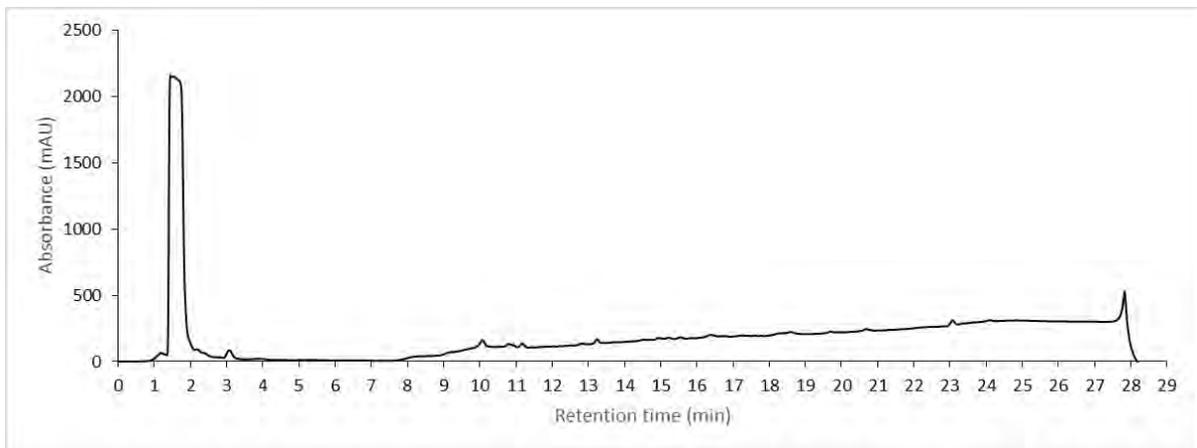
**รูปที่ A174** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 3 วัน



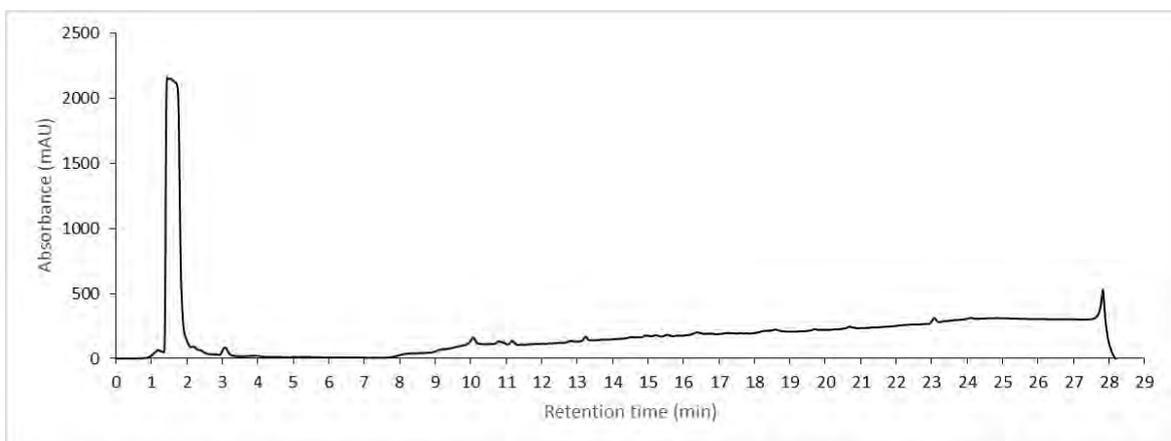
**รูปที่ A175** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 4 วัน



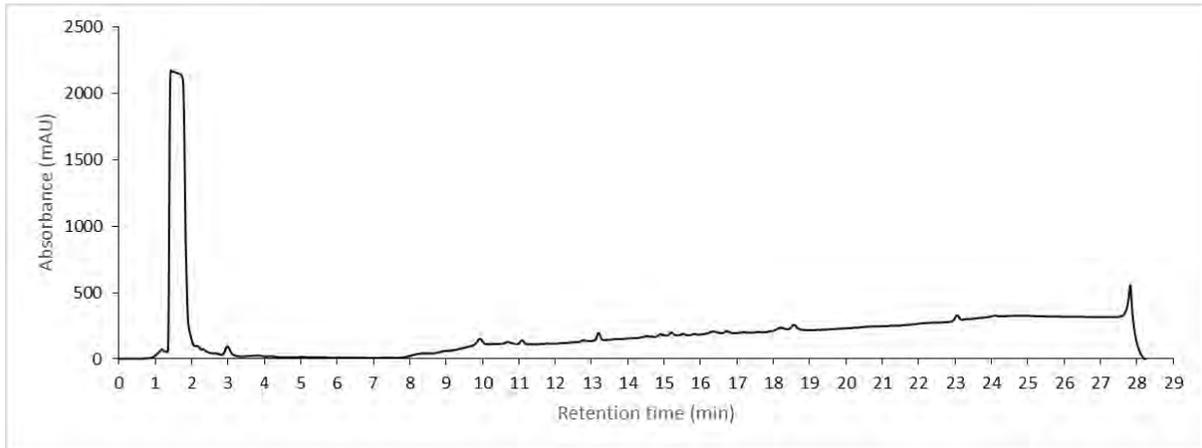
**รูปที่ A176** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 4 วัน



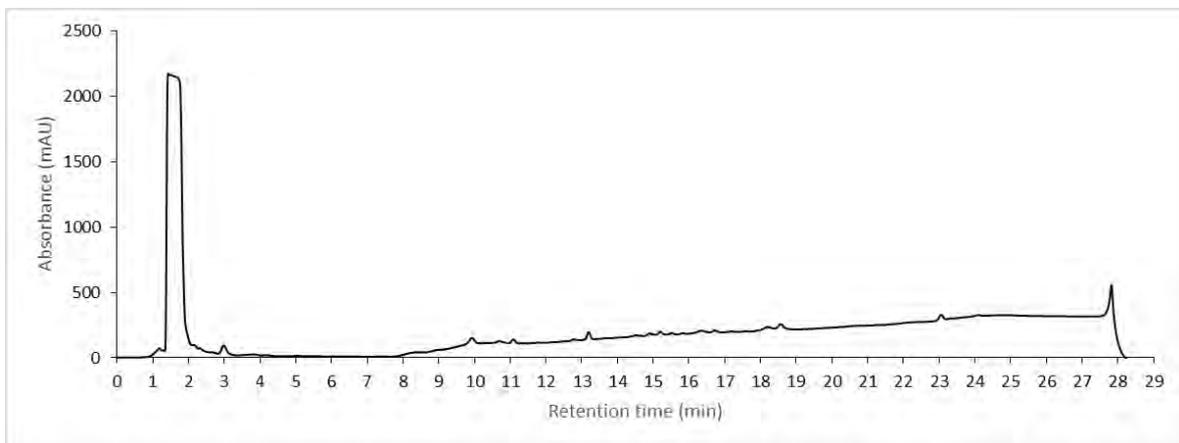
**รูปที่ A177** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 5 วัน



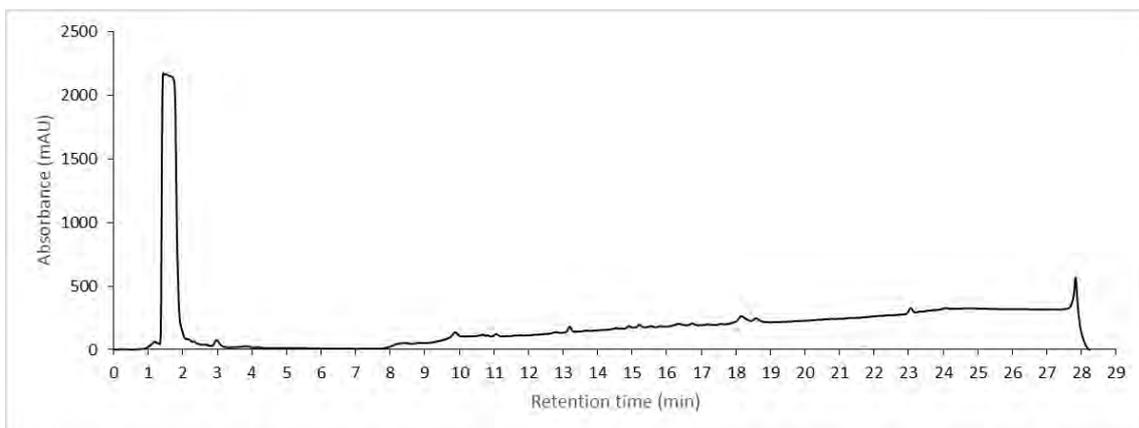
**รูปที่ A178** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 5 วัน



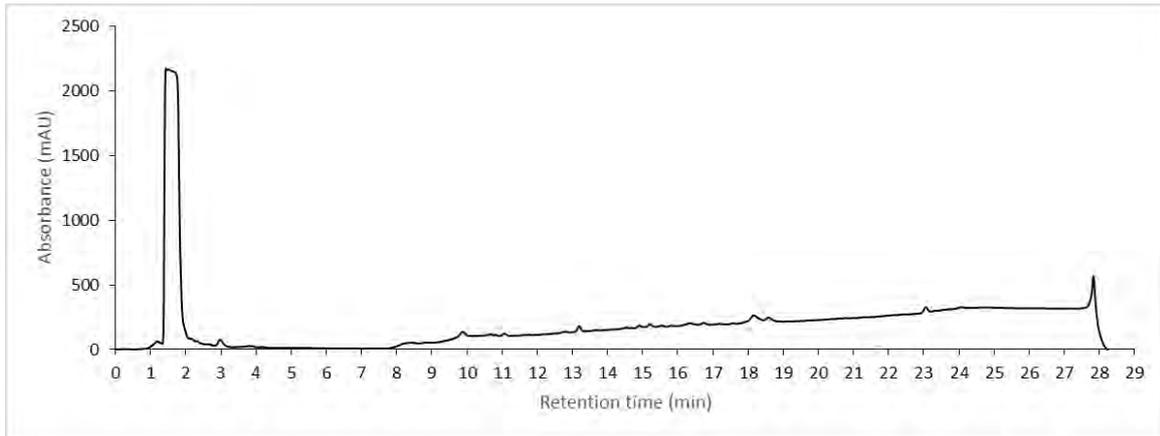
**รูปที่ A179** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 6 วัน



**รูปที่ A180** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 6 วัน

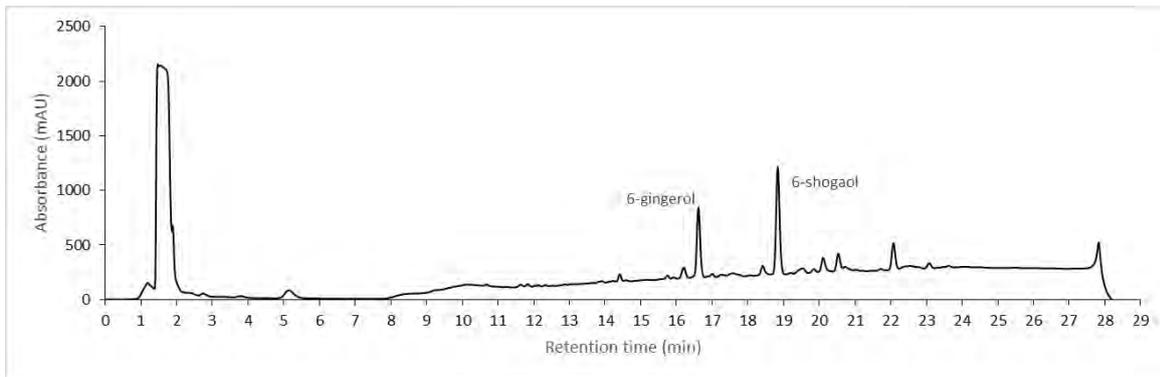


**รูปที่ A181** โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากกากขิงของราสายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 7 วัน

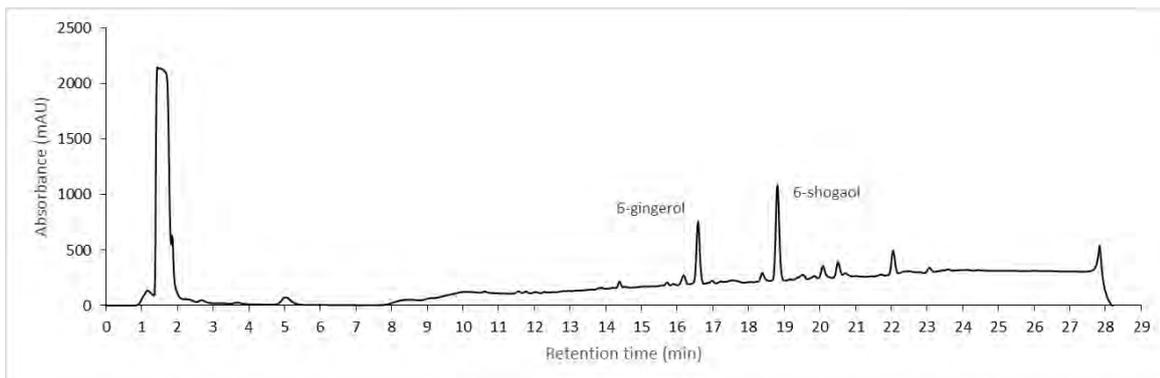


รูปที่ A182 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดจากากขิงของรสาายพันธุ์ GS14 ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm ซึ่งเป็นตัวอย่างที่เก็บหลังการบ่ม 7 วัน

ชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ไม่ได้บ่ม (standard)



รูปที่ A183 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ไม่ได้บ่ม ซ้ำที่ 1 ที่ 220 nm



รูปที่ A184 โครมาโทแกรม HPLC ของตัวอย่างจากชุดควบคุมที่ไม่ใส่รา ไม่ได้บ่ม ซ้ำที่ 2 ที่ 220 nm

## ประวัติผู้วิจัย

นายภัทรนนท์ วงศ์กาศ เกิดเมื่อวันที่ 16 เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ.2541 ที่จังหวัดแพร่ สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมปลายจากโรงเรียนสองพิทยาคม จังหวัดแพร่ เมื่อปีการศึกษา 2558 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2559 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ บ้านเลขที่ 140/1 ตำบลบ้านกลาง อำเภอสอง จังหวัดแพร่ รหัสไปรษณีย์ 54120 อีเมล wongkart@gmail.com