



การเพาะเลี้ยงและศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.
The culture and the study of the bio-compound of *Sinularia* sp.

ณัฐกานต์ พิกุลทอง
Nattakan Pikulthong

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Technology and Environmental Management
Prince of Songkla University

2567

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



การเพาะเลี้ยงและศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

The culture and the study of the bio-compound of *Sinularia* sp.

ณัฐกานต์ พิกุลทอง

Nattakan Pikulthong

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Technology and Environmental Management

Prince of Songkla University

2567

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การเพาะเลี้ยงและศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากปะการังอ่อน
 นิ้วมือ *Sinularia* sp.
ผู้เขียน นางสาวณัฐกานต์ พิกุลทอง
สาขาวิชา เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก



Digitally signed : 2024.09.09 14:11:59 +07:00

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิภาวี ดำมี)

คณะกรรมการสอบ



Digitally signed : 2024.09.20 8:25:56 +07:00

.....งานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เตือนตา ร้าหมาน)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม



Digitally signed : 2024.09.09 15:17:05 +07:00

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัชรวิดี ลิ้มสกุล)



Digitally signed : 2024.09.09 14:12:01 +07:00

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิภาวี ดำมี)



Digitally signed : 2024.09.23 9:48:35 +07:00

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ชูดำ)



Digitally signed : 2024.09.09 15:17:07 +07:00

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัชรวิดี ลิ้มสกุล)



Digitally signed : 2024.09.30 10:09:21 +07:00

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศักย์ชิน บุญถวิล)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีและการจัดการ
สิ่งแวดล้อม



Digitally signed : 2024.09.30 17:59:31 +07:00

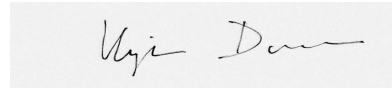
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กวินพัฒน์ สิริกานต์โสภณ)

รักษาการแทนคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(3)

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มี
ส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ



Digitally signed : 2024.09.09 14:12:03 +07:00

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิภาวี ดำมี)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ



Digitally signed : 2024.09.09 15:17:10 +07:00

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิชวดี ลิ้มสกุล)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ลงชื่อ

นางสาวณัฐกานต์ พิกุลทอง

(นางสาวณัฐกานต์ พิกุลทอง)

นักศึกษา

(4)

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อณัฐกานต์ พิกุลทอง.....

(นางสาวณัฐกานต์ พิกุลทอง)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	การเพาะเลี้ยงและศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากปะการัง อ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp.
ผู้เขียน	นางสาวณัฐกานต์ พิกุลทอง
สาขาวิชา	เทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม
ปีการศึกษา	2567

บทคัดย่อ

ปะการังอ่อนในสกุล *Sinularia* sp. พบแพร่กระจายในแนวปะการังทั่วโลก เป็นชนิดพันธุ์ที่สามารถผลิตสารเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีความหลากหลายและสามารถใช้เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการขยายพันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. โดยใช้วัสดุในการยึดติดปะการังที่ต่างกัน เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ชนิดนี้ โดยทำการเก็บแม่พันธุ์ปะการังจากอ่าวป่าตอง จังหวัดภูเก็ต ทดลองเปรียบเทียบวิธีการยึดติดปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. กับฐานคอนกรีต โดยใช้เคเบิลไทด์ กาว cyanoacrylate gel และยางรัด ในสภาพโรงเรือนเป็นเวลา 142 วัน พบว่าการใช้เคเบิลไทด์ยึดติดให้อัตราการรอดสูงสุด ($P>0.05$) รองลงมาคือ กาว และยางรัด มีค่าอัตราการรอดร้อยละ 90 80 และ 75 ตามลำดับ ความสูงและน้ำหนักของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ในวัสดุทั้ง 3 ไม่ต่างกัน ($P>0.05$) ในวันที่ 142 กาวมีความสูงรวม 5.22 ± 3.71 เซนติเมตร เคเบิลไทด์ 4.93 ± 2.95 เซนติเมตร และยางรัด 4.93 ± 2.62 เซนติเมตร ส่วนน้ำหนักของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. เคเบิลไทด์ มีค่าเฉลี่ยสูงสุด 65.50 ± 16.54 กรัม รองลงมาคือกาว และยางรัด มีน้ำหนักเฉลี่ย 63.68 ± 12.86 และ 57.75 ± 15.00 กรัม ตามลำดับ ชนิดของวัสดุยึดติดมีผลต่อจำนวนกิ่งของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. โดยในวัสดุเคเบิลไทด์และยางรัดมีจำนวนกิ่งมากกว่าการใช้กาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) มีค่า 5.00 ± 3.11 4.30 ± 3.03 และ 2.20 ± 1.78 เซนติเมตร ตามลำดับ ตลอดการศึกษาตลอดระยะเวลาที่ศึกษาปะการังมีการเติบโตต่อเนื่องไม่ปรากฏอาการของโรคหรือฟอกขาว สำหรับองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่สกัดด้วยเมทานอล ซึ่งเพาะเลี้ยงในโรงเรือนและเก็บจากธรรมชาติ นำมาแยกด้วยเทคนิค Column Chromatography พบสาร Hexanal, Hexadecanal, Hexadecanoic acid เฉพาะในปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือน มีฤทธิ์การต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ ลดคลอเรสเตอรอลในกระแสเลือด และยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ ส่วนสาร Batilol พบเฉพาะในปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เก็บจากธรรมชาติ ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพ

คำสำคัญ: ปะการังอ่อนนิ้วมือ, *Sinularia* sp., การเพาะเลี้ยง, วัสดุยึดติด

Thesis Title	The culture and the study of the bio-compound of <i>Sinularia</i> sp.
Author	Miss Nattakan Pikulthong
Major Program	Technology And Environmental Management
Academic Year	2024

ABSTRACT

Sinularia sp. is the soft coral species which found are coral reefs around the world. The natural products from *Sinularia* sp. exhibit great chemical diversity and have the potential for potent biological activity. This research aims to find out the method to culture the *Sinularia* sp. and compare the fastening materials. To study of the bio-compound of *Sinularia* sp. samples were collected from Patong Beach, Phuket Thailand. The survival rate and growth of the coral were studied under the aquaculture laboratory conditions for 142 days. Addition, the type of fastening materials, including tie cable, cyanoacrylate glue, and rubber band were compared. The tie cable showed the greatest survival rate ($P>0.05$) at 90% on day 142. While the survival rates for cyanoacrylate glue and rubber bands were 80% and 75% respectively. The height and weight of the coral in these fastening materials showed no significant difference ($P>0.05$) on days 142. The highest growth rate was in glue treatment (5.22 ± 3.71 centimeter), tie cable (4.93 ± 2.95 centimeter) and rubber band (4.93 ± 2.62 centimeter) The highest average weight was found in cable tie, (65.50 ± 16.54 gram), followed by glue and rubber band were 63.68 ± 12.86 gram and 57.75 ± 15.00 gram respectively. However, the number of branches in the rubber band and tie cable showed a greater number than in the cyanoacrylate glue significantly ($P<0.05$) were 5.00 ± 3.11 4.30 ± 3.03 and 2.20 ± 1.78 centimeter, respectively. No stress signs or bleaching were observed throughout the study. Natural products from *Sinularia* sp. were extracted with methanol, both from the aquaculture laboratory and natural collected, and separated by column chromatography. Hexanal, Hexadecanal and Hexadecanoic acid were found only in cultured *Sinularia* sp. in the aquaculture laboratory. These compounds have anti-inflammatory, anti-antioxidant, cholesterol- reduces and anti-cancer properties.

Batilol Which has antimicrobial activity, was found only in naturally occurring *Sinularia* sp.

Key words: Soft Coral, *Sinularia* sp., Aquaculture Laboratory, Fastening Materia

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้สำเร็จลุล่วงด้วยความกรุณาจากคณาจารย์และบุคคลที่เกี่ยวข้องหลายฝ่ายด้วยกัน ขอขอบคุณอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิภาวี คำมี อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัชรวิทย์ ลิ้มสกุล และขอขอบคุณ ดร. ทนงค์ศักดิ์ จันทร์เมธากุล ที่ให้คำปรึกษา ความรู้ด้านการดำเนินงานในการเพาะเลี้ยงปะการังอ่อน นีวมี *Sinularia* sp. และแนะนำแนวทางในการทำงานวิจัย รวมทั้งการตรวจสอบข้อมูลและความถูกต้อง

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เยาวภา สุขพรมมา คุณภัทรานิษฐ์ ชูบัวทอง และคุณชุตติกาญจน์ ตั้งขิม ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับความอนุเคราะห์ห้องปฏิบัติการเคมีและการสกัดสารเคมี ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ และให้คำปรึกษาในการสกัดสารออกฤทธิ์จากปะการังอ่อนจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย และสำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนการวิจัยและสนับสนุนทุนการศึกษาสำหรับการเรียนในครั้งนี้ ตลอดจนเจ้าหน้าที่บัณฑิตศึกษาสำหรับความช่วยเหลือ การติดต่อประสานงานในการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณ คุณสุศิริ สุขกลิ่น สำหรับคำแนะนำและช่วยเหลือการทำงานนอกพื้นที่ให้สำเร็จลุล่วง รวมถึงขอขอบคุณนักศึกษาช่วยงานทุกคนที่ช่วยเหลืองานวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอขอบคุณครอบครัว ที่สนับสนุน และช่วยเหลือในทุกด้านจนสำเร็จการศึกษา ตลอดจนบุคคลต่าง ๆ ที่ให้ความช่วยเหลืออีกมากมาย ขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

ณัฐกานต์ พิกุลทอง

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ	(5)
ABSTRACT	(7)
กิตติกรรมประกาศ.....	(9)
สารบัญ.....	(10)
รายการตาราง	(12)
รายการภาพประกอบ	(13)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/วิธีการวิจัย.....	4
2.1 ชีววิทยาของปะการัง.....	4
2.2 การเพาะเลี้ยงปะการัง	8
2.3 การเพาะเลี้ยงปะการังอ่อน	9
2.4 ปัจจัยในการเพาะเลี้ยงปะการัง	10
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย/วิธีการวิจัย	18
3.1 สถานที่ศึกษา.....	18
3.2 วิธีการดำเนินการทดลองการเพาะเลี้ยงปะการัง.....	22
3.3 การศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp.	25
3.4 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp.	29

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.5 การตรวจสอบคุณภาพน้ำ	31
3.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	35
บทที่ 4 ผลการศึกษา/ผลการวิจัย	36
4.1 การเพาะเลี้ยงปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp.	36
4.2 คุณภาพน้ำในโรงเพาะเลี้ยง.....	39
4.3 การสกัดสารเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากปะการัง.....	39
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย/อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	50
5.1 การเพาะเลี้ยงปะการัง	51
5.2 สารเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ	53
5.3 ข้อเสนอแนะ	55
5.4 ข้อจำกัดงานวิจัย.....	55
บรรณานุกรม.....	56
ภาคผนวก.....	59
ประวัติผู้เขียน	

รายการตาราง

ตาราง	หน้า
ตารางที่ 2.1 สรุปงานวิจัยการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากปะการังอ่อนนิ้วมือ.....	17
ตารางที่ 4.1 คุณภาพน้ำในโรงเพาะเลี้ยงปะการังตลอดระยะเวลาที่ศึกษา.....	39
ตารางที่ 4.2 ส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบเมทานอล (CH ₃ OH) ของปะการัง.....	40
อ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา.....	
ตารางที่ 4.3 ส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบเมทานอล (CH ₃ OH) ของปะการังอ่อน.....	41
นิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา ทั้ง 24 ส่วน.....	
ตารางที่ 4.4 ส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบเมทานอล (CH ₃ OH) ของปะการังอ่อน.....	46
นิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา.....	
ตารางที่ 4.5 ส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบเมทานอล (CH ₃ OH) ของปะการังอ่อน.....	47
นิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา ทั้ง 18 ส่วน.....	
ตารางที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์สารสกัดส่วนหัวต่ำของปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp.....	49
ที่เก็บตามธรรมชาติ ด้วย GC-MS.....	
ตารางที่ 4.7 ผลการวิเคราะห์สารสกัดส่วนหัวต่ำของปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp.....	49
ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือน ด้วย GC-MS.....	

รายการภาพประกอบ

รูป	หน้า
รูปที่ 2.1 ไดอะแกรมแสดงโครงสร้างปะการังแข็ง	5
รูปที่ 2.2 ไดอะแกรมแสดงโครงสร้างปะการังอ่อน Alcynaceae	6
รูปที่ 2.3 <i>Sinularia</i> sp., A: แสดงการยึดเกาะกับพื้นท้องน้ำ, B: ลักษณะของส่วน.....	6
ปลายของโคโลนี.....	
รูปที่ 3.1 แผนที่แสดงจุดเก็บแม่พันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. บริเวณหาดไตรตรัง.....	18
จังหวัด ภูเก็ต.....	
รูปที่ 3.2 A, B ลักษณะพื้นท้องทะเลบริเวณที่เก็บแม่พันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> ssp.	19
จากหาดไตรตรัง อ่าวป่าตอง จังหวัดภูเก็ต C, D แสดงปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp.....	
รูปที่ 3.3 แผนผังแสดงระบบหมุนเวียนน้ำโรงเพาะเลี้ยงปะการัง.....	20
รูปที่ 3.4 ลักษณะทั่วไปของโรงเพาะเลี้ยง.....	21
รูปที่ 3.5 A ฐานปูนที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 4 เซนติเมตร B ฐานปูนที่ถูก.....	22
แช่น้ำทะเล 1 เดือน.....	
รูปที่ 3.6 รูปถ่ายขณะย้ายปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp.	23
รูปที่ 3.7 การปรับสภาพปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp.	24
รูปที่ 3.8 แม่พันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ในบ่อเพาะเลี้ยง เมื่ออนุบาลครบ 15 วัน	24
รูปที่ 3.9 การตัดปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp.	25
รูปที่ 3.10 วัสดุที่ใช้ในการยึดติดปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp.....	26
รูปที่ 3.11 การเลี้ยงปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ในระบบน้ำหมุนเวียน.....	27
รูปที่ 3.12 การวัดการเจริญเติบโตของความสูงปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp.....	28
รูปที่ 3.13 แสดงการสกัดปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ด้วยเมทานอล (B).....	29
รูปที่ 3.14 A: การแยกสารด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา B: การรับสารที่.....	30
แยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา.....	
รูปที่ 3.15 วิธีการวิเคราะห์โครมาโทกราฟีแผ่นบาง (TLC).....	31
รูปที่ 4.1 อัตราการรอดของปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp.....	36
รูปที่ 4.2 เปรียบเทียบความสูงของปะการังอ่อน <i>Sinularia</i> sp.	37
รูปที่ 4.3 จำนวนกิ่งของปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp.....	38

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

รูป	หน้า
รูปที่ 4.4 A: การแยกสารด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา B: การรับสาร.....	40
คอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา.....	
รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะทางกายภาพ 24 ส่วนที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบเมทานอล	45
(CH ₃ OH) ของปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา.....	
รูปที่ 4.6 A: การแยกสารด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา B: การรับสารที่แยก.....	46
ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา.....	

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

หาดไทรตรังจังหวัดภูเก็ต พบว่ามีการกระจายตัวของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. เป็นจำนวนมาก มีลักษณะคล้ายนิ้วมือ สีน้ำตาล อาศัยในระดับน้ำลึก 3 เมตร โดยพบได้ทั้งบนพื้นทราย หินและหินปะการัง (Chanmethagul *et al.*, 2010) หาดไทรตรังยังเป็นสถานที่ท่องเที่ยวที่มีนักท่องเที่ยวเพิ่มขึ้นมากในแต่ละปี อีกทั้งการเดินเหยียบย่ำปะการัง การพัฒนาพื้นที่ชายฝั่ง การปล่อยน้ำเสียจากโรงแรม ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้ปะการังเสื่อมโทรมลงแต่ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ก็ยังสามารถมีชีวิตอยู่ได้ และทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ (Chanmethagul *et al.*, 2010)

ปะการังอ่อนสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่ยับยั้งแบคทีเรียได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานในต่างประเทศว่ามีการพบปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ผลิตสารจำพวก Bioactive Polyhydroxylated Steroids และ lobane diterpene ที่ผ่านการทดสอบคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Kropff, 2008) เช่น sesquiterpenes สามารถยับยั้งการอักเสบของเซลล์ได้ (Nilnaj *et al.*, 2019) Terpenoid สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิด *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* (Muliadin *et al.*, 2018) สารพวก Simulariolide และ Flexibilide ที่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *Bacillus* sp. และ *S. aureus* (Aceret *et al.*, 1998) นอกจากนี้ยังสามารถผลิตสารต้านการอักเสบได้ เช่น Sinulatamolol (You-Sheng cai *et al.*, 2020) ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ชนิดนี้ยังคงทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมและทนต่อการฟอกขาว ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (ทรรดิน ปณิธานะรักษ์ และคณะ, 2556) ที่ทำการศึกษาหลังการเกิดปรากฏการณ์ฟอกขาวพบว่าปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. สามารถทนต่อความเค็ม อุณหภูมิสูง และกลับมาฟื้นตัวได้เองในระยะเวลาสั้นๆ

ถึงแม้ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. จะสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ แต่ถ้าหากมีการเก็บปะการังตามธรรมชาติมาใช้อาจทำให้ส่งผลกระทบต่อแนวปะการังเสื่อมโทรมและเป็นการลดจำนวนประชากรของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ได้ ดังนั้นวิธีการขยายพันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ในภาวะโรงเรือนจึงมีความสำคัญหากในอนาคตต้องการที่จะนำปะการังมาใช้ประโยชน์ งานวิจัยฉบับนี้จึงทำการศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงและศึกษาชนิดและปริมาณ

ขององค์ประกอบทางเคมี เพื่อเปรียบเทียบชนิดและปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เลี้ยงในสภาวะโรงเรือนและสภาวะธรรมชาติ เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดที่ได้จากปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. สามารถนำข้อมูลที่ได้ประเมินความคุ้มค่าในการผลิตยาเพื่อลดต้นทุนในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาการขยายพันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. โดยใช้วัสดุในการยีสต์ติดปะการังที่ต่างกัน

1.2.2 เพื่อศึกษาชนิดองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เลี้ยงในสภาวะโรงเรือน

1.2.3 เพื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดระหว่างปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เลี้ยงในสภาวะโรงเรือนและสภาวะธรรมชาติ

1.3 ขอบเขตการวิจัย

ทำการเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ในสภาวะโรงเรือน ศึกษาวัสดุที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดและเปรียบเทียบระหว่างปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือนกับปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เก็บมาจากสภาพธรรมชาติ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 องค์ความรู้ในการเพาะเลี้ยงปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. เพื่อขยายผลในการพัฒนาเชิงพาณิชย์หรือการสกัดสารประกอบที่มีประโยชน์

1.4.2 ผลการเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดที่ได้จากปะการังอ่อน
นิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือนกับปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เก็บตาม
ธรรมชาติ เพื่อเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์ด้าน เภสัช เครื่องสำอาง เป็นต้น

บทที่ 2 เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/วิธีการวิจัย

2.1 ชีวิตวิทยาของปะการัง

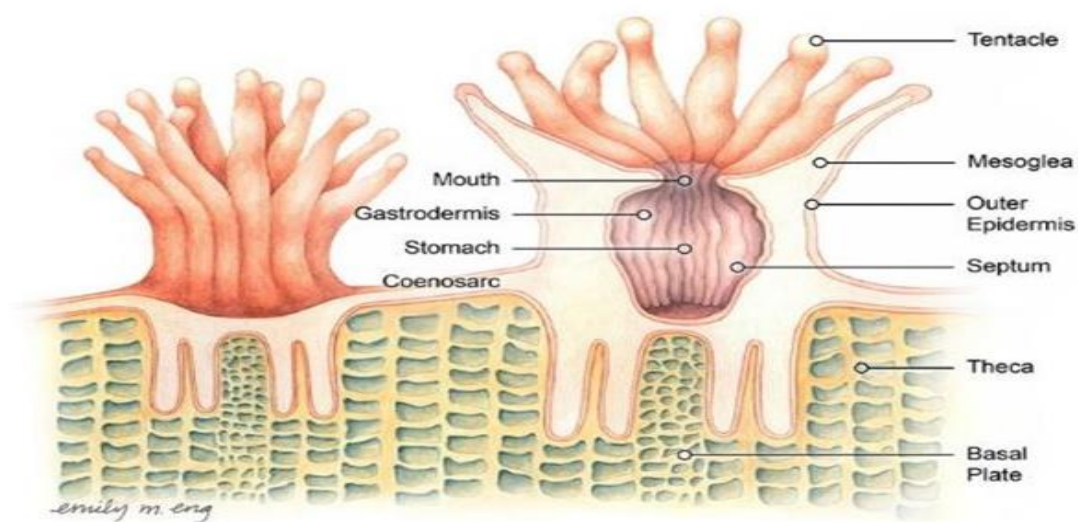
2.1.1 ลักษณะทั่วไปของปะการัง

ปะการัง (Coral) เป็นสัตว์จำพวกไม่มีกระดูกสันหลังไฟลัมไนดาเรีย (Phylum Cnidaria) คลาสแอนโทซัว(Class Anthozoa) ซับคลาสออโตคอร์เรลเลีย(sub-class Octocorallia) ประกอบด้วยปะการังอ่อน กัลปังหา และปากกาทะเลเป็นต้น โดยพบได้ทั้งในน้ำตื้นและน้ำลึก ทั้งในแถบอากาศหนาวและเขตร้อน มีขนาดแตกต่างกัน (เยาวลักษณ์, 2552) ปะการังอ่อนถูกจัดอยู่ในอันดับ อัลไซโอนาซี (Alcyonacea) แฟมิลี Alcyoniidae ซึ่งประกอบด้วยปะการัง 3 สกุล ได้แก่ *Sinularia*, *Lobophytum* และ *Sarcophytum* ปะการังอ่อนมีความคล้ายคลึงกับปะการังแข็ง ต่างกันที่ปะการังอ่อนมีเพียงโครงร่างหินปูนขนาดเล็กภายในเนื้อเยื่อที่เรียกว่าสเคลอไรท์ (sclerites) ซึ่งเป็นหินปูนขนาดเล็กแทรกอยู่เพื่อช่วยป้องกัน อันตรายให้กับโพลิป (polyp) และเพิ่มความแข็งแรงให้กับโคโลนี (colony) ด้วยสปิคูล (spicule) (Ellis and Sharron, 1999) (รูปที่ 2.2) ส่วนปะการังแข็งเป็นโครงร่างหินปูนขนาดใหญ่สร้างอยู่ใต้เนื้อเยื่อ โพลิปสามารถหดตัวกลับเข้ามาในโครงร่างหินปูนได้เมื่อไม่กินอาหาร (เยาวลักษณ์, 2552) ตัวปะการัง หรือ โพลิป มีรูปร่างเป็นทรงกระบอก ช่องเปิดตรงกลางเป็นปากของปะการังและมีหนวดล้อมรอบ ภายในหนวดมีเข็มพิษที่ใช้เป็นอาวุธ เรียก นีมาโทซิส (Nematocysts) เซลล์ที่สร้างเข็มพิษเรียกว่า ไนโดไซต์ (Cnidocyte) หนวด ใช้จับอาหาร พวกพลงก์ตอนสัตว์ ในขณะที่ปะการังแข็งสร้างเข็มพิษ (nematocyst) เพื่อป้องกันตนเองและล่าเหยื่อนั้น ปะการังอ่อน Alcyoniidae กลับสร้างสารเคมี ในกลุ่ม terpenoids ที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น (Ruppert *et al.*, 2004) โดยสารกลุ่ม terpenoids นี้บางชนิดมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคส่วนใหญ่

ปะการังอ่อนแต่ละชนิดจะมีรูปร่างและขนาดแตกต่างกันไป โดยปะการังอ่อนมีหนวด (tentacle) ที่ใช้ในการจับอาหารจำนวน 8 เส้น บริเวณปลายหนวดมีลักษณะคล้ายขน (Ellis and Sharron, 1999) ปะการังอ่อนประกอบด้วยเนื้อเยื่อชั้นนอกเรียกว่า อีพิเดอร์มิส (epidermis) และชั้นในเรียก แกสโตรเดอร์มิส (gastrodermis) ระหว่างชั้นนอกและชั้นใน มีชั้นตรงกลางอยู่ เรียกว่า ชั้นวุ้นหรือชั้นมิโซเกลีย (mesoglea) ภายในวุ้นมีเซลล์สเคลอโรบลาสต์ (scleroblast cell) ซึ่งทำหน้าที่ผลิตหินปูน (Fabricius and Alderslade, 2001) แสดงในรูปที่ 2.1

ปะการังทั้งกลุ่มปะการังอ่อนและปะการังแข็งอาศัยอยู่รวมกันกับสาหร่ายเซลล์เดียวที่เรียกว่า Zooxanthellae มีสีแตกต่างกันไปตามชนิดของ Zooxanthellae ทั้งนี้ Zooxanthellae จะอาศัยอยู่บนผิวหน้าและแทรกตามโครงสร้างหินของปะการัง ปะการังและสาหร่ายต่างฝ่ายต่างได้รับประโยชน์ซึ่งกันและกัน ปะการังให้ที่อยู่อาศัยซูแซนเทลลี ส่วนปะการังได้รับอาหารและก๊าซออกซิเจนจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของซูแซนเทลลีและใช้ในการเจริญเติบโตและปล่อยของเสียออกมาได้แก่ ไนโตรเจน และฟอสเฟต (สถาบันวิจัยชีววิทยาและประมงทะเลภูเก็ต, 2538; Mojetta, 1995; Veron, 2000) ซึ่งจะเป็นสารอาหารให้แก่ Zooxanthellae

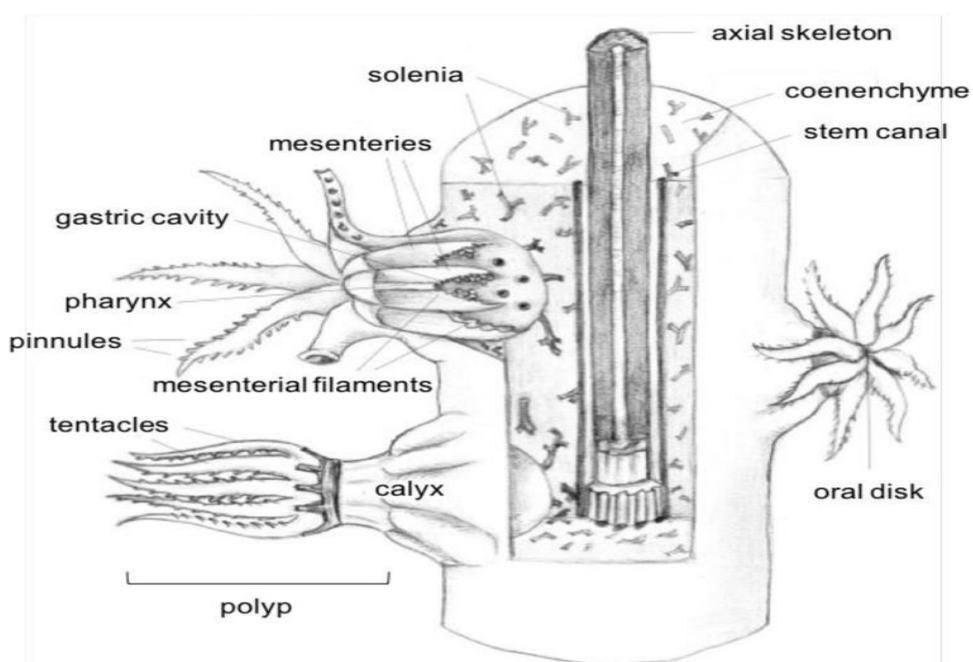
ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. มีลักษณะคล้ายนิ้วมือ หรือกิ่งก้าน แสดงในรูปที่ 2.3 สร้างโคโลนีแบบแตกกิ่งไปเรื่อย ๆ คล้ายสตรอเบอร์รี่ (Stolonate colony) มีขนาดเล็กอยู่ชิดติดกันสามารถพบปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ชนิดนี้บริเวณน้ำตื้น เกาะติดอยู่ตามหินโดยปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. จะมีสีเหลืองทอง และทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมแต่อย่างไรก็ตามปะการังต้องการปัจจัยที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต เช่น น้ำค่อนข้างใส ปริมาณตะกอนในน้ำต้องไม่มากเกินไป อุณหภูมิของน้ำอยู่ระหว่าง 18 – 30 องศาเซลเซียส (Swart, 2013) ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ชนิดนี้สามารถแย่งพื้นที่เพื่อยึดเกาะในแนวปะการังได้ดีกว่ากลุ่มปะการังแข็ง (Schleyer and celliers, 2003; Ruppert *et al.*, 2004) บริเวณใกล้ชายฝั่งจึงพบปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. กลุ่มนี้เป็นชนิดเด่น (Chanmethagul *et al.*, 2010)



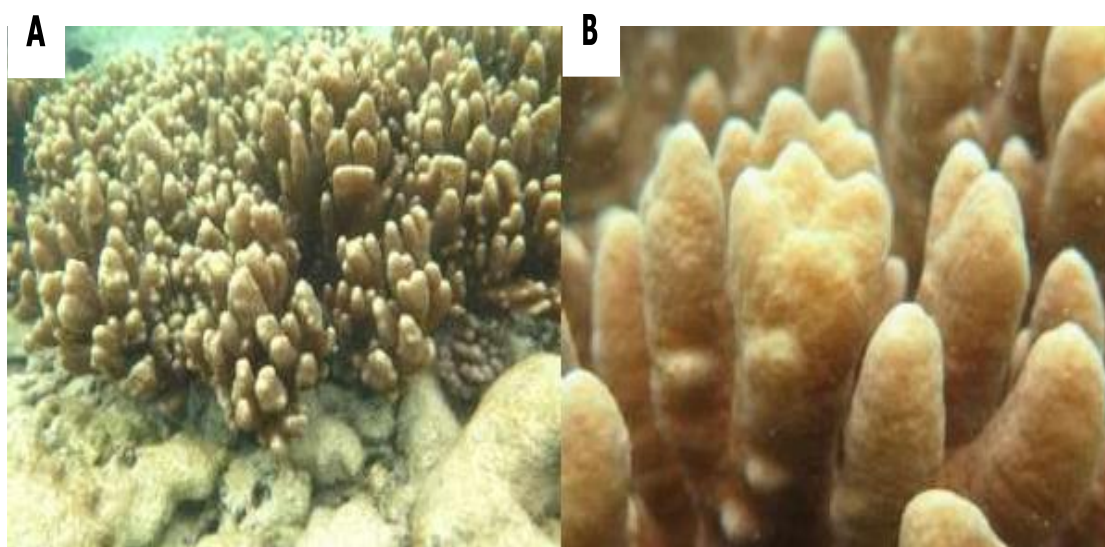
รูปที่ 2.1 ไดอะแกรมแสดงโครงสร้างปะการังแข็ง

ที่มา: [http://coral.org/wordpress/wp-content/uploads/2013/10/Emily-M.-](http://coral.org/wordpress/wp-content/uploads/2013/10/Emily-M.-Eng_coral_crosssection_label.jpg)

Eng_coral_crosssection_label.jpg



รูปที่ 2.2 ไดอะแกรมแสดงโครงสร้างของปะการังอ่อน Alcyonaceae (Menzel *et al.*, 2014; Bayer *et al.*, 1983)



รูปที่ 2.3 *Sinularia* sp., A: แสดงการยึดเกาะกับพื้นท้องน้ำ, B: ลักษณะของส่วนปลายของโคโลนี

2.1.2 การสืบพันธุ์ของปะการัง

2.1.2.1 การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

ในปะการังเกิดขึ้นได้หลายลักษณะ ที่พบได้ทั่วไปคือการแตกหักจากก้อนปะการังเดิม (fragmentation) ซึ่งอาจเกิดจากความรุนแรงของคลื่นตามธรรมชาติ หรือกิจกรรมของมนุษย์ ส่วนที่หักหรือชิ้นส่วนโคโลนีที่ถูกตัด หากอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมก็จะสามารถเจริญเติบโตเป็นโคโลนีใหม่ขึ้น (Antonius, 2000) ทั้งนี้ปะการังยังสามารถสร้างโพลีปพร้อมโครงสร้างหินปูนขึ้นมา และเมื่อโพลีปใหม่นี้เจริญเติบโตเต็มที่ก็จะหลุดออกมาจากโคโลนีแม่ (polyp expulsion) หรือในบางกรณีก็สภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสมหรือมีผู้ล่า เนื้อเยื่อของปะการังบางชนิดก็อาจหลุดออกมาจากโคโลนีแม่ (polyp bail-out) ซึ่งวิธีนี้มักเกิดกับโคโลนีเดิมที่ไม่แข็งแรงและไม่สามารถเติบโตต่อไปได้

2.1.2.2 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

ปะการังจะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์หรือสเปิร์ม (sperm) ออกมาทำการปฏิสนธิกับเซลล์เพศเมียหรือไข่ (egg) และเจริญพัฒนาเติบโตกลายเป็นตัวอ่อนในระยะว่ายน้ำ หรือเรียกว่า พลาเนูลา (planula larvae) จากนั้นตัวอ่อนที่มีพัฒนาการที่ดีจะลงเกาะในพื้นที่ที่เหมาะสมในการสร้างโคโลนีใหม่ (Antonius, 2000) การปฏิสนธิของปะการังส่วนใหญ่พบว่า ร้อยละ 75 ของปะการังจะปล่อยไข่ออกมาเพื่อทำการปฏิสนธิในมวลน้ำ (external fertilization) ซึ่งไข่จะผสมพันธุ์และพัฒนาเป็นตัวอ่อนก่อนที่จะลงเกาะในพื้นที่ที่เหมาะสม ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพื้นอริบถลอกที่มีน้ำหนักรวด มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายประการด้วยกัน เช่น ข้างขึ้นข้างแรม ความเค็ม อุณหภูมิของน้ำทะเล และการขึ้นลงของน้ำทะเล เป็นต้น โดยปะการังมักจะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ในช่วงที่น้ำทะเลมีอุณหภูมิเริ่มสูงขึ้นคือช่วงฤดูใบไม้ผลิถึงต้นฤดูร้อนหลังวันขึ้น 15 ค่ำ แต่ทั้งนี้แต่ละพื้นที่ในละติจูดที่ต่างกันของโลกก็อาจมีความสัมพันธ์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆ ที่แตกต่างกัน นอกจากนี้พฤติกรรมของการวางไข่ของปะการังอ่อนอาจเกิดขึ้นพร้อมกันกับการเกิดข้างขึ้นข้างแรมของพระจันทร์เต็มดวง (Alino and Coll, 1989)

ส่วนไข่ปะการังโดยส่วนใหญ่จะมีลักษณะเป็นวงรี กลม มีขนาดประมาณ 1-2 มิลลิเมตร สีส้ม แดง หรือเขียว แตกต่างกันในแต่ละชนิด โดยไข่ปะการังมีไขมันและน้ำเป็นส่วนประกอบหลัก จึงลอยอยู่บนผิวน้ำทะเล ทำให้แพร่กระจายออกไปพื้นที่ต่างๆ ที่ไหลออกไปได้ (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2550)

2.2 การเพาะเลี้ยงปะการัง

ปะการังเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความเปราะบางและไม่ทนต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม ทำให้หลายคนเชื่อว่าปะการังจะต้องอาศัยอยู่ในระบบนิเวศทางทะเลเท่านั้น แม้ว่าในปัจจุบันความต้องการปะการังจะเพิ่มสูงขึ้นและมีบทบาทสำคัญในการรักษาความหลากหลายทางชีวภาพและมีความสำคัญต่อระบบนิเวศทางทะเล แต่เราสามารถศึกษาการขยายพันธุ์และการเลี้ยงปะการังในสถานที่ที่ควบคุมได้ เช่น พิพิธภัณฑ์สัตว์น้ำ ห้องแล็บ หรือสถานที่วิจัยเกี่ยวกับสัตว์ทะเล และปะการังทั้งในประเทศและต่างประเทศ ข้อมูลในด้านนี้ยังคงอยู่ในวงแคบของผู้เชี่ยวชาญเฉพาะกลุ่ม และยังไม่ได้รับการเผยแพร่ออกไปในวงกว้าง บทความนี้จึงมีเป้าหมายในการรวบรวมความรู้โดยเน้นที่การใช้ระบบน้ำที่คล้ายคลึงกับน้ำทะเลธรรมชาติ ซึ่งในปัจจุบันมีการใช้ 4 ระบบหลักในการเลี้ยงปะการัง ซึ่งแต่ละระบบมีลักษณะเฉพาะและข้อดีที่แตกต่างกัน

1. Lee Chin Eng natural system ระบบธรรมชาติ คือระบบน้ำที่สร้างขึ้นเพื่อเลียนแบบระบบนิเวศทางธรรมชาติ ประกอบไปด้วย หิน ทราย สิ่งมีชีวิต เช่น สาหร่าย ฟองน้ำ หอย
2. Berlin system ระบบน้ำที่ใช้สำหรับเลี้ยงปะการังแข็ง หรือเป็นกลุ่มที่ยากจะเลี้ยงให้เจริญเติบโตเป็นอย่างดี ประกอบไปด้วย เครื่องปั้มน้ำขนาดเล็ก (Powerhead), บ่อดักไขมัน หรือโปรตีนสกินเมอร์ (Protein skimmer), และหลอดไฟเมทัลฮาไลด์ (Metal halide lighting) เป็นต้น
3. ระบบน้ำ Monaco system เป็นระบบที่มีความเรียบง่าย ไม่มีการใช้ตัวกรองหรือการเติมสารเคมีเข้าสู่ระบบน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงปะการัง แต่อาศัยกระบวนการชีวภาพที่เกิดขึ้นในระบบบำบัดน้ำ ระบบนี้จะมีการปูชั้นทรายที่หนาและการทำงานร่วมกันของสิ่งมีชีวิต เช่น แบคทีเรีย สาหร่ายพวงองุ่น สัตว์หน้าดิน เช่น หอย เป็นต้น
4. ระบบ Algal turf scrubber เป็นระบบที่ใช้สาหร่ายพันธุ์ที่มีขนาดเล็ก เช่น สาหร่ายพวงองุ่น ซึ่งสาหร่ายจะช่วยให้การดูดซึมสารอินทรีย์และอนินทรีย์รวมถึง ไนโตรเจน ไนเตรต แอมโมเนีย และฟอสเฟตในน้ำ Algal turf scrubber เป็นระบบที่นิยมในการเลี้ยงปลาทะเลเพราะนอกจากจะช่วยบำบัดน้ำ ยังช่วยในการเพิ่มออกซิเจนในน้ำและยังเป็นที่อยู่อาศัยของปลา (วรเทพ, 2020)

2.3 การเพาะเลี้ยงปะการังอ่อน

2.3.1 วิธีการเพาะเลี้ยงปะการังอ่อน

ในช่วงทศวรรษนี้การเพาะเลี้ยงปะการังเป็นที่สนใจของนักวิทยาศาสตร์และนักเพาะเลี้ยงทั่วโลกเพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะเทคนิค fragmentation ซึ่งเป็นการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เนื่องจากต้นทุนต่ำ อัตราการรอดสูง และขยายพันธุ์ได้ง่ายและรวดเร็ว (Rocha *et al.*, 2013) โดยวัตถุประสงค์ในการเพาะเลี้ยงปะการังนั้นมี 3 ประการคือ 1. เพื่อสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อรักษาโรค 2. เพื่อธุรกิจตู้ปลาสวยงาม 3. เพื่อการฟื้นฟูปะการัง (Rocha *et al.*, 2013) ปะการังมีสี่สัณที่ดึงดูดต่อนักท่องเที่ยวทั้งยังสามารถสร้างรายได้ และพัฒนาเป็นแหล่งท่องเที่ยวทางทะเล เนื่องจากปะการังมีสี่สัณสวยงามที่ดึงดูดต่อนักท่องเที่ยวได้ (Wheeler *et al.*, 1996)

การเพาะเลี้ยงปะการังอ่อนสามารถใช้เทคนิคจากการสืบพันธุ์ในกระบวนการทางธรรมชาติจากปะการังที่แตกหักออกเป็นโคลนใหม่ ดังนั้นจึงมีการนำวิธีธรรมชาติมาใช้โดยวิธีการแยกชิ้นส่วนโคลนแม่พันธุ์แล้วนำมาปลูกเป็นโคลนใหม่ (Ellis, 1999) โดยโคลนใหม่จะปรับสภาพให้เหมาะสมในถังทดลองที่บรรจุน้ำทะเลที่มีความเค็ม 30-34 พีเอสยู ประมาณ 2 สัปดาห์ (Varghese *et al.*, 2012) โดยวิธีการเพาะเลี้ยงปะการังได้ดัดแปลงมาจาก (Ellis, 1999) โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. เตรียมวัสดุยึดติดเทียมส่วนผสมของปูนซีเมนต์เป็นโครงสร้างหลักเพื่อให้วัสดุมีความแข็งแรงและมีน้ำหนักมากพอไม่ถูกกระแสน้ำพัดพา และออกแบบวัสดุเทียมที่เหมาะสมในการยึดติดกล้าของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. และวัสดุที่ใช้ติดปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. คือ กาว ยาง และเคเบิลไทด์ เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดในการยึดติดการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

2. ทำการรวบรวมพันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ในช่วงเวลาน้ำลงเก็บต่ำสุดจากบริเวณหาดทราย โดยทำการคัดเลือกพันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่มีความแข็งแรงไม่มีร่องรอยการฉีกขาด โพลียีนและโบทไปมา และมีขนาดโคลนที่ไม่ใหญ่เกินไป หลังจากนั้นนำใส่ถังพลาสติกที่บรรจุน้ำทะเลโดยหลีกเลี่ยงการวางซ้อนทับกันเพราะจะทำให้ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. เกิดความเครียด

3. นำปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. มาปรับสภาพในบ่อเพาะเลี้ยงระบบน้ำไหลผ่านตลอดจากนั้นตัดเป็นชิ้นที่มีความยาวขนาดประมาณ 1-3 เซนติเมตร หากทำการตัดขยายพันธุ์ได้ถูกต้องจะทำให้ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. สามารถสมานแผลและโคลนใหม่จะมีความ

คล้ายคลึงกับโคลนินเดม โดยเลือกใช้ไม้คปลายแหลมหรือมีดทั่วไป (Ellis, 1999) ในการตัดขยายพันธุ์ โคลนนี้ควรระมัดระวังเรื่องความสะอาดหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนจากแบคทีเรีย (Yacobootch *et al.*, 2003)

4. จากนั้นยึดติดปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. บนฐานคอนกรีตด้วยวัสดุยึดติดทั้ง 3 แบบ คือ กาว ยาง และเคเบิลไทด์

5. การเพาะเลี้ยงปะการังอ่อนนิ้วมือจะต้องควบคุมปัจจัยที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของปะการัง ได้แก่ ปริมาณสารอาหาร ไนโตรเจน ไนเตรต ฟอสเฟต แอมโมเนีย อุณหภูมิ ความเค็ม และค่าความเป็นกรด-ด่าง บันทึกค่าที่วัดได้ทุกวัน

หลังมีการปลูกติดปะการังจำเป็นต้องมีการดูแลเป็นระยะๆ เพื่อตรวจสอบอัตราการเจริญเติบโตและการรอดของปะการัง ซึ่งระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงโดยทั่วไปอยู่ที่ 6-18 เดือน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ขนาดเริ่มต้นของปะการัง การตัดเนื้อเยื่อ การขยายพันธุ์ ชนิดของปะการังที่นำมาใช้ ขนาดที่ต้องการเก็บเกี่ยว และปัจจัยสิ่งแวดล้อมอื่นๆ (Ellis, 1999)

2.4 ปัจจัยในการเพาะเลี้ยงปะการัง

2.4.1 แสง

แสงเป็นปัจจัยที่สำคัญ เนื่องจากปะการังทั่วไปพบอยู่ในบริเวณน้ำตื้น สาหร่ายซูแซนเทลลีที่อยู่ในเนื้อเยื่อ จำเป็นต้องอาศัยแสงในการสังเคราะห์ด้วยแสง ทั้งนี้การส่องผ่านของแสงจะลดลงตามความลึกของน้ำทะเลที่เพิ่มขึ้น ทำให้ปะการังในเขตอินโดแปซิฟิกส่วนใหญ่มีการกระจายอยู่ที่ความลึกไม่เกิน 30 เมตร แต่ปะการังบางประเภทสามารถอยู่ในที่น้ำลึกได้ เนื่องจากไม่มีสาหร่ายซูแซนเทลลีอยู่ในเนื้อเยื่อ ปะการังกลุ่มนี้จึงมีการเจริญเติบโตช้า (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2550)

2.4.2 อุณหภูมิ

โดยปกติปะการังสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ในที่ที่มีอุณหภูมิของน้ำทะเลอยู่ในช่วง 20-30 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิเหมาะสมที่สุดสำหรับการเกิดแนวปะการังอยู่ในช่วง 26-28 องศาเซลเซียส แต่หากมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของน้ำทะเลเพียง 1-2 องศาเซลเซียสติดต่อกันเป็นเวลานาน ปะการังจะขับสาหร่ายซูแซนเทลลีออกจากเนื้อเยื่อของมัน โดยที่สาหร่ายชนิดนี้มีส่วนช่วยให้ปะการังมีสีสันสวยงาม ดังนั้น เมื่อสาหร่ายถูกขับออกไป เราจะเห็นเนื้อเยื่อที่ใสของปะการังซึ่งกลายเป็นสีขาวจากโครงสร้างหินปูนที่อยู่ภายใน จึงทำให้เกิดการฟอกขาวหรือยับยั้ง

การสืบพันธุ์ของปะการังได้ (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2550)

2.4.3 ความเค็ม

ปะการังต้องการความเค็มของน้ำทะเลค่อนข้างคงที่โดยปกติอยู่ที่ประมาณ 30-36 พีเอสยู การไหลของน้ำจืดจากแผ่นดินลงสู่ทะเลเป็นปริมาณมากอาจก่อความเสียหายให้ต่อแนวปะการังได้ ดังนั้นแนวปะการังจึงมักเจริญเติบโตได้ดีในบริเวณที่ห่างไกลจากอิทธิพล และบริเวณที่ห่างจากปากแม่น้ำ ส่วนพื้นที่ที่มีน้ำจืดไหลลงมากๆ จะไม่พบแนวปะการัง (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2550)

2.4.4 ปริมาณตะกอนในน้ำ

ปริมาณตะกอนในน้ำ มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแนวปะการัง เนื่องจากความขุ่นที่เกิดจากตะกอน จะลดปริมาณของแสงที่ส่องถึงใต้ผิวน้ำทำให้สาหร่ายซูแซนเทลลีไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ อัตราการสะสมหินปูนจึงลดลง (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2550) นอกจากนี้ตะกอนอาจปกคลุมอยู่บนก้อนปะการัง ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว ปะการังสามารถสร้างเมือกออกมาจับตะกอนที่ชั้นผิวและกำจัดตะกอนออกไป ในกรณีที่ตะกอนทับถมมากเกินไปความสามารถของปะการังจะทำให้ปะการังเสื่อมโทรมลงและตายในที่สุด นอกจากนี้พื้นที่องทะเลที่ปกคลุมด้วยตะกอนจะทำให้ตัวอ่อนปะการังลงเกาะได้ยากขึ้น โดยสรุปแล้วแนวปะการังจะสามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำทะเลที่มีแสงแดดส่องถึง และมีตะกอนที่ไม่มากเกินไปซึ่งอาจทำให้ส่งผลต่อแนวปะการังได้ (สุพัตรา, 2528)

2.4.5 ความเป็นกรด-ด่าง

ความเป็นกรดของน้ำทะเลส่งผลกระทบต่อโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของปะการัง เนื่องจาก ความเป็นกรดจะไปลดความเข้มข้นของคาร์บอเนตไอออน ที่ปะการังจะนำมาใช้ในการสร้างโครงร่างแข็ง (Mollica *et al.*, 2018) ความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของปะการังของแต่ละภูมิภาคของโลกก็จะแตกต่างกัน โดยทั่วไปอยู่ระหว่าง 8.2 – 8.5 สำหรับใน ประเทศไทย ตามมาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลเพื่อการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ (ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2564)

2.4.6 ธาตุอาหารในน้ำ

ปะการังต้องการธาตุอาหารในน้ำทะเลในระดับที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามหากมีธาตุอาหารมากเกินไปทำให้เกิดความเป็นพิษต่อปะการังได้ หรือสภาพแวดล้อมอาจเปลี่ยนแปลง ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของสิ่งมีชีวิตอื่นตามมา เช่น สาหร่าย อาจส่งผลทำให้แนวปะการังเหล่านั้นเสื่อมสภาพและโทรมลง (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2550)

แอมโมเนีย (Ammonia) มาจากการขับถ่ายของสิ่งมีชีวิตในน้ำ อาหารที่ตกค้างระดับแอมโมเนียในน้ำที่เพิ่มขึ้น จะเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ ซึ่งพบว่าระดับความเข้มข้นของ

แอมโมเนียไม่ควรเกิน 1 mg N/L (กรมประมง, 2546)

ไนไตรท์ (Nitrite) ความเป็นพิษของไนไตรท์จะเพิ่มมากขึ้นในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำและอุณหภูมิสูง หากไนไตรท์สูงเกิน 1 mg N/L จะเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ เช่น ปลา ปะการัง และสิ่งมีชีวิตในน้ำ (เบญจมาศจันทะภา, 2556)

ไนเตรต (Nitrate) เกิดจากการเน่าเปื่อยของสิ่งมีชีวิต และน้ำเสียจากชุมชน โดยทั่วไปไนเตรตจะถูกนำไปใช้โดยแพลงก์ตอนพืช ความเป็นพิษของไนเตรตมีผลต่อสัตว์น้ำน้อยมาก นอกจากจะอยู่ในสภาวะที่ขาดออกซิเจนโดยแบคทีเรียกลุ่ม denitrifying bacteria จะรีดิวซ์ไนเตรตเป็นไนไตรท์ ทำให้เป็นพิษต่อสัตว์น้ำ (เบญจมาศจันทะภา, 2556)

ฟอสฟอรัส (Phosphate) อาจมาจากตะกอนดินก้นบ่อหรือนิทรียวัตถุที่กำลังเน่าสลาย หรือเป็นองค์ประกอบในร่างกายสิ่งมีชีวิต เศษซากพืชซากสัตว์ที่ตายทับถมในน้ำ อาจทำให้เกิดยูโทรฟิเคชันในแหล่งน้ำได้ (มันสิน และมันรัก, 2547)

2.4.7 พื้นที่ยึดเกาะ

ตัวอ่อนของปะการังส่วนใหญ่จะสร้างฐานหินปูนยึดติดกับพื้นที่ยึดเกาะก่อนที่จะเจริญเติบโตขยายขนาดโคลนต่อไป ดังนั้นพื้นที่ที่ปะการังสามารถลงเกาะควรเป็นพื้นที่แข็งแรงคงทน ได้แก่ ซากแนวปะการังเก่า ก้อนหินขนาดใหญ่ แท่งเหล็ก แท่งคอนกรีต อิฐบล็อก ฐานปูน เป็นต้น (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2550) ไม่ถูกกระแสน้ำพัดพาไปได้ง่าย รวมทั้งไม่มีสิ่งมีชีวิตที่จะมาแย่งพื้นที่กับปะการังขึ้นคลุมอยู่ก่อนแล้ว เช่น สาหร่ายขนาดใหญ่ เพรียงหิน ฟองน้ำ

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.5.1 การเพาะเลี้ยงปะการังอ่อน

ปะการังอ่อนมีความสำคัญและประโยชน์ทางการแพทย์เป็นอย่างมาก เนื่องจากปะการังอ่อนให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Goh *et al.*, 2009) สามารถนำไปใช้ผลิตยาและเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เสริมความงามต่างๆ ทำให้ความต้องการปะการังอ่อนเพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลให้มีการเก็บเกี่ยวปะการังอ่อนมากขึ้นตามมา

การศึกษาของ (เบญจวรรณ และคณะ, 2560) ทำการศึกษาการขยายพันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. และปะการังอ่อนทองหยิบ *Sarcophyton* sp. ภายใต้ระบบน้ำทะเลไหลผ่านตลอดโดยใช้วิธีการขยายพันธุ์ที่แตกต่างกันเพื่อทราบถึงการสร้างเนื้อเยื่อยึดติดกับวัสดุเทียมของ

กล้าปะการังโดยทำการอนุบาลเป็นเวลา 70 วัน โดยใช้วัสดุยึดปะการังทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่

1. ใช้ลวดพลาสติกพันรอบปะการัง
2. ใช้ฟองน้ำแบบหยายตัดแบบกากบาท
3. วางบนเปลือกหอย โดยไม่มีการยึด
4. ใช้กาบแบบแห้งเร็วติด
5. วางบนฟองน้ำและใช้ไม้เสียบผ่านเนื้อเยื่อปะการัง
6. วางบนใยบัวโดยไม่มีการยึด

การศึกษาพบว่ากล้าปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. และปะการังอ่อนทองหยิบ *Sarcophyton* sp. โดยใช้วิธีการเสียบติดกับวัสดุเทียมเป็นวิธีการที่เหมาะสม โดยมีอัตราการรอดสูงสุดร้อยละ 83.33 และ 90.00 ตามลำดับ หลังจากนั้นจึงนำผลการศึกษาวิธีการยึดติดกล้าปะการังที่ดีที่สุดมาทำการศึกษาใหม่ในระบบเลี้ยง 3 ระบบเป็นเวลา 6 เดือนพบว่าอัตราการเติบโตของกล้าปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ในระบบน้ำทะเลไหลผ่านตลอดมีอัตราการเติบโตสูงสุด (0.680 เซนติเมตรต่อเดือน) ในระบบน้ำทะเลหมุนเวียนแบบกึ่งปิด กล้าปะการังอ่อนทองหยิบ *Sarcophyton* sp. มีอัตราการรอดสุดท้ายสูงถึงร้อยละ 88.67 ขณะที่ในระบบน้ำทะเลไหลผ่านตลอดอัตราการรอดสุดท้ายอยู่ที่ร้อยละ 87.33 สำหรับการเติบโตของกล้าปะการังอ่อนทองหยิบ *Sarcophyton* sp. พบว่ามีอัตราการเติบโตสูงสุดในระบบน้ำนิ่งที่ 0.940 เซนติเมตรต่อเดือน และอัตราการรอดสุดท้ายในทั้งระบบน้ำนิ่งและระบบน้ำไหลผ่านตลอดคือร้อยละ 94.67

การศึกษาของ (Kritsanapuntu and Chaitanawisuti, 2019) ทำการเพาะเลี้ยงปะการังอ่อน 3 ชนิด ได้แก่ ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ปะการังอ่อน *Cladiella* sp. และปะการังอ่อนทองหยิบ *Sarcophyton* sp. โดยมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาวิธีที่เหมาะสมในการติด และเพื่อขยายพันธุ์และฟื้นฟูปะการังอ่อน โดยวิธีที่ใช้ยึดติดมี 5 วิธี คือ

1. การแทงลงในฟองน้ำ
2. การเสียบหรือบรรจุ
3. การติดด้วยสายเคเบิลไทล์
4. การใช้กาบ
5. การยึดติดโดยธรรมชาติ

ระยะเวลาในการทดลอง 70 วัน เพื่อดูการรอดวันสุดท้าย ซึ่งการศึกษารั้งนี้ทำการทดลองปลูกปะการังทั้งสาม 3 ชนิด ในระบบน้ำทะเลหมุนเวียนพบว่าเมื่อเริ่มปลูกปะการังตัวปะการังจะมีบาดแผลจากการตัด ดังนั้นปะการังจะมีเวลาการรักษาแผลและการรอดสุดท้ายที่ต่างกันตามวัสดุที่ใช้ยึดติดและผลการทดลองของวัสดุทั้ง 5 ชนิด ที่ใช้ติดปะการังอ่อนทั้ง 3 ชนิด พบว่าวิธีการแทงลงในฟองน้ำเล็กๆ ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ปะการังอ่อน *Cladiella* sp.

และปะการังอ่อนทองหยิบ *Sarcophyton* sp. สามารถยึดติดกับฐานได้เร็วกว่าวิธีอื่น ใช้เวลาในการรักษารอยแผลที่ถูกตัดได้ภายใน 7-12 วัน โดยมีค่าเฉลี่ย 8.2 ± 0.9 วัน, 6.1 ± 0.1 วัน และ 9.00 ± 0.8 วัน ตามลำดับ ผลการทดลองอัตราการรอดวันสุดท้ายของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ปะการังอ่อน *Cladiella* sp. และปะการังอ่อนทองหยิบ *Sarcophyton* sp. พบว่า

1. วิธีการแทงลงในฟองน้ำ มีค่าเฉลี่ยของการรอดอยู่ที่ $86.7 \pm 5.7\%$
2. วิธีการเสียบหรือบรรจุ มีค่าเฉลี่ยของการรอดอยู่ที่ $93.3 \pm 5.7\%$
3. วิธีการเจาะรู มีค่าเฉลี่ยของการรอดอยู่ที่ $53.3 \pm 5.7\%$ ตามลำดับ

สรุปผลจากการศึกษาได้ว่าการขยายพันธุ์เพื่อฟื้นฟูปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ปะการังอ่อน *Cladiella* sp. และปะการังอ่อนทองหยิบ *Sarcophyton* sp. วิธีการเสียบหรือบรรจุใช้ดีกว่าวิธีอื่นในปะการังอ่อนเนื่องจากมีอัตราการรอดวันสุดท้ายสูงสุด

การศึกษาของ (วิรัช และคณะ, 2558) ได้ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ปะการังดอกกะหล่ำ เพื่อให้ได้จำนวนมากในระยะเวลาสั้นๆ การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ในการหาขนาดและเทคนิคที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศด้วยวิธีการตัด ศึกษาอัตราการรอด การเจริญเติบโตของปะการังดอกกะหล่ำ แบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 2 แบบคือ ชุดการทดลองที่ขนาดต่างกัน 3 ขนาด คือ ขนาด 0.5 เซนติเมตร 1 เซนติเมตร และ 1.5 เซนติเมตร แต่ละชุดแบ่งการวาง 2 แบบคือ แนวนอน และแนวตั้ง มีระยะเวลาการทดลอง 120 วัน ผลการทดลองพบว่าขนาดของชิ้นส่วนมีผลต่ออัตราการรอดของปะการังดอกกะหล่ำ ($P < 0.05$) แต่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของปะการังดอกกะหล่ำ โดยปะการังมีอัตราการรอดต่ำที่สุด (59.01 ± 8.52) ที่ขนาด 0.5 เซนติเมตร การวางในแนวนอน แตกต่างกับการขยายพันธุ์ที่ขนาด 0.5 เซนติเมตร ซึ่งในแนวตั้ง ขนาด 1 เซนติเมตร ในแนวนอน 1 เซนติเมตร ในแนวตั้ง 1.5 เซนติเมตร ในแนวนอน 1.5 เซนติเมตร ในแนวตั้ง ตามลำดับ ที่มีอัตราการรอดเฉลี่ย ($\pm SE$) $92.68 \pm 4.38\%$ $92.81 \pm 4.30\%$ $97.74 \pm 3.20\%$ $94.96 \pm 4.62\%$ และ $99.17 \pm 0.48\%$ ตามลำดับ เมื่อสิ้นสุดการทดลองขนาดน้ำหนักของปะการังเพิ่มขึ้นเฉลี่ย ($\pm SE$) $0.28 \pm 0.07\%$ $0.27 \pm 0.05\%$ $0.41 \pm 0.09\%$ $0.40 \pm 0.10\%$ $0.52 \pm 0.11\%$ $0.55 \pm 0.14\%$ จากผลการทดลอง พบว่าขนาดที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการขยายพันธุ์ปะการังดอกกะหล่ำแบบไม่อาศัยเพศคือขนาด 1.5 เซนติเมตร

การศึกษาของ (นิลนาจ, 2561) ทำการขยายพันธุ์ปะการังอ่อนนิ้ว *Sinularia* sp. มื่อจากโรงเพาะเลี้ยงบริเวณหาดหินธรรมชาติและกองหินเทียมกลางทะเลบริเวณเกาะยายเท้า จังหวัดชลบุรี และทำการทดลองเป็นระยะเวลา 60 วัน โดยทำการศึกษาปะการังอ่อนดอกเห็ด และปะการังอ่อนนิ้วมือโดยออกแบบวัสดุเทียม 4 แบบ ได้แก่

1. วิธีการใช้ลวดผูกติดกับปะการังอ่อน
2. วิธีการใช้กาวแบบแห้งเร็ว

3. วิธีการเสียบปะการังลงในฟองน้ำ
4. วิธีการวางปะการังบนเปลือกหอย
5. วิธีการใช้ไม้จิ้มฟันเสียบผาเนื้อเยื่อปะการัง

ผลจากการศึกษา พบว่าอัตราการรอดสูงสุดของปะการังดอกเห็ด และปะการังอ่อน นีวมือที่ทำการทดลองเป็นเวลา 60 วัน ใช้วิธีแบบเสียบปะการังลงในฟองน้ำ รอดถึง 95.30% ข้อดีของวิธีนี้มีอัตราการรอดสูง วิธีการไม่ซับซ้อน วัสดุหาง่ายและราคาถูก

2.5.2 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากปะการังอ่อน

การศึกษาของ (Kropff, 2008) ในต่างประเทศมีการพบปะการังอ่อนนีวมือ *Sinularia* sp. มีการกระจายพันธุ์อย่างกว้างขวางในแอฟริกาตะวันออกไปจนถึงแปซิฟิกตะวันตก อาศัยอยู่ตามแนวปะการังหรือโขดหินในน้ำตื้นมีการรายงานว่าปะการังอ่อนนีวมือ *Sinularia* sp. มีสารสกัดออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารจำพวก sesquiterpenes Diterpenes, Norditerpenes, Polyhydroxylated Steroid และสารประกอบโพลีเอมีนที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบได้ จากการศึกษาพบว่าคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ Diterpenes ที่ผ่านการทดสอบแล้วสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวกซึ่งบ่งชี้ได้ว่าปะการังอ่อนนีวมือ *Sinularia* sp. เป็นแหล่งสำคัญในการผลิตยาเพื่อใช้ในการรักษาโรคชนิดใหม่

การศึกษาของ (You-Sheng cai *et al.*, 2020) ได้ศึกษาถึงสารเทอพินนอยด์ในปะการังอ่อนนีวมือ *Sinularia* sp. ออกฤทธิ์ต้านการอักเสบ ประเทศจีน ทำการศึกษาชนิดและโครงสร้างของสารในปะการังอ่อนนีวมือ *Sinularia* sp. โดยใช้เทคนิคการวัดการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (Single X-ray diffraction analysis), การวิเคราะห์สเปกโตรสโคปิก (Spectroscopic analysis) และการใช้วิธีทางเคมี (Chemical transformations) ผลการศึกษาพบว่าปะการังอ่อนนีวมือ *Sinularia* sp. ให้สารชนิดทูโมลิน (tumolin) ออกมา และมีการเรียกชื่อว่า Sinulatamolins ผลการศึกษาพบว่าสารออกฤทธิ์ต้านการอักเสบของสารทูโมลินที่สกัดได้จากปะการังอ่อนนีวมือ *Sinularia* sp. สามารถต้านการอักเสบได้ ค่าของผลการยับยั้ง (IC_{50}) มีค่าเท่ากับ 7.5, 2.6, 5.5 และ $3.6 \mu M$ ของสารประกอบ 1, 3, 4, และ 6 ตามลำดับ เทียบเท่ากับยาต้านการอักเสบ (Penicillin)

การศึกษาของ (Aceret *et al.*, 1998) พบว่า *Sinularia flexibilis* เป็นปะการังอ่อนที่พบแบคทีเรียและสาหร่ายปกคลุมบริเวณผิวและมีการสร้างสารพวก Simulariolide และ Flexibilide ที่สามารถต่อต้านสิ่งมีชีวิตอื่นที่มารุกรานซึ่งสามารถนำสารนี้มาทำเป็นสารปฏิชีวนะได้

โดยมีการสุมตัวอย่างปะการังและนำมาแช่แข็งเพื่อสกัดสารเคมีและแยกให้ได้ diterpenes และทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์โดยวิธี Disc assay method และใช้วิธี Tube dilution technique เป็นวิธีทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อได้ ผลการศึกษาจากทั้งสองวิธีพบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งเชื้อแกรมบวกได้ 2 สายพันธุ์คือ *Bacillus* sp. และ *S.aureus*

การศึกษาของ (Muliadin *et al.*, 2018) ศึกษาปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่มีศักยภาพในการเป็นแหล่งของสารประกอบเทอร์พีนอยด์และสเตียรอยด์มีฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย วิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อระบุสารสกัดในปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่ถูกสกัดแล้วแยกส่วนตามข้อของตัวทำละลาย จากนั้นทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ผลการทดลองพบว่าปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทนแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่รุนแรง สามารถยับยั้งการเติบโตของ *S.aureus* และ *E.coli* มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่ อะซิเตตและเอทานอลมีประสิทธิภาพที่ 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

การศึกษาของ (Nilhaj *et al.*, 2019) เนื่องจากปะการังมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสามารถต้านความเป็นพิษของเซลล์ ต้านการอักเสบ และต้านแบคทีเรีย ดังนั้นการศึกษาค้นคว้านี้ได้เก็บปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เกาะ Dongluo ตั้งอยู่ที่ประเทศจีน โดยเก็บปะการังที่มีความลึก 10 เมตร ศึกษาชนิดและโครงสร้างของสารในปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. โดยใช้เทคนิคการวัดการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (Single X-ray diffraction analysis), การวิเคราะห์สเปกโตรสโคปิก (Spectroscopic analysis) ผลการศึกษาพบว่าปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ให้สารชนิดเซควิเทอเพิน (sesquiterpenes) ออกมาและสามารถยับยั้งการกระตุ้น NF-KB ที่ถูกทดสอบโดยใช้ยีน HEK293 ซึ่งพบว่าสารประกอบ sesquiterpenes 1 และ 4 มีอัตราการยับยั้งถึง 41.3% และ 43.0% ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ

สรุปงานวิจัยการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากปะการังประกอบด้วยสาร Sinulariolide Flexibilide Diterpenes ซึ่งมาจากกิจกรรมทางชีวภาพจากปะการังที่เกิดขึ้นในบริเวณชายฝั่งต่างๆ ได้ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 สรุปงานวิจัยการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากปะการังอ่อน

Type Coral	Study Area	Natural Product	Reference
<i>Sinularia Flexibiis</i>	*	- Sinulariolide - Flexibilide - Diterpenes	Aceret <i>et. al.</i> , 1998
<i>Sarcophyton glaucm</i>	*	- Cembranaoid - Sarcophytol A	Khalesi <i>et.al.</i> , 2008
<i>Sinularia</i> sp.	ประเทศจีน	- Terpenoid	You-Sheng cai <i>et al.</i> , 2020
<i>Sinularia</i> sp.	*	- Terpenoid	Muliadin <i>et al.</i> , 2018
<i>Sinularia</i> sp.	เกาะ Dongluo ตั้งอยู่ที่จีน	- sesquiterpenes	Nilnaj <i>et al.</i> , 2019

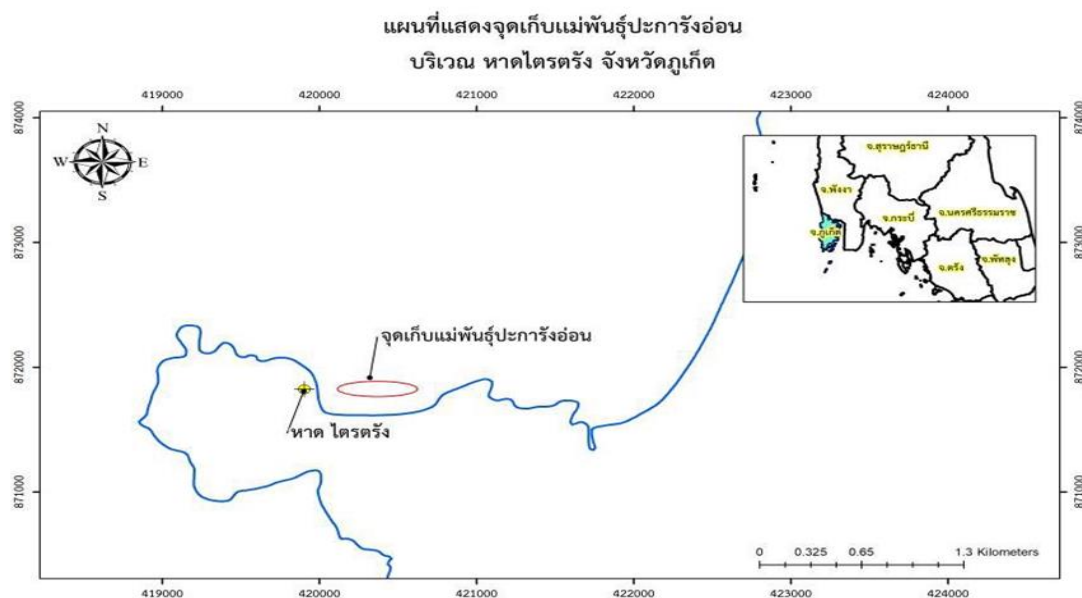
* ไม่ระบุพื้นที่ศึกษา

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย/วิธีการวิจัย

3.1 สถานที่ศึกษา

3.1.1 พื้นที่ศึกษา

การศึกษครั้งนี้ทำการเก็บแม่พันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. บริเวณหาดไตรตรัง จังหวัดภูเก็ต ที่พิกัด $7^{\circ}53'18''$ N $98^{\circ}16'24''$ E (รูปที่ 3.1) ซึ่งพบปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ชนิดนี้กระจายอยู่จำนวนมาก (รูปที่ 3.2) และดำเนินการเพาะเลี้ยงที่ศูนย์วิจัยการเพาะเลี้ยงและพัฒนาปะการัง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต พื้นที่สะพานหิน ตำบลตลาดใหญ่ อำเภอเมือง จังหวัดภูเก็ต



รูปที่ 3.1 แผนที่แสดงจุดเก็บแม่พันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. บริเวณหาดไตรตรัง จังหวัดภูเก็ต

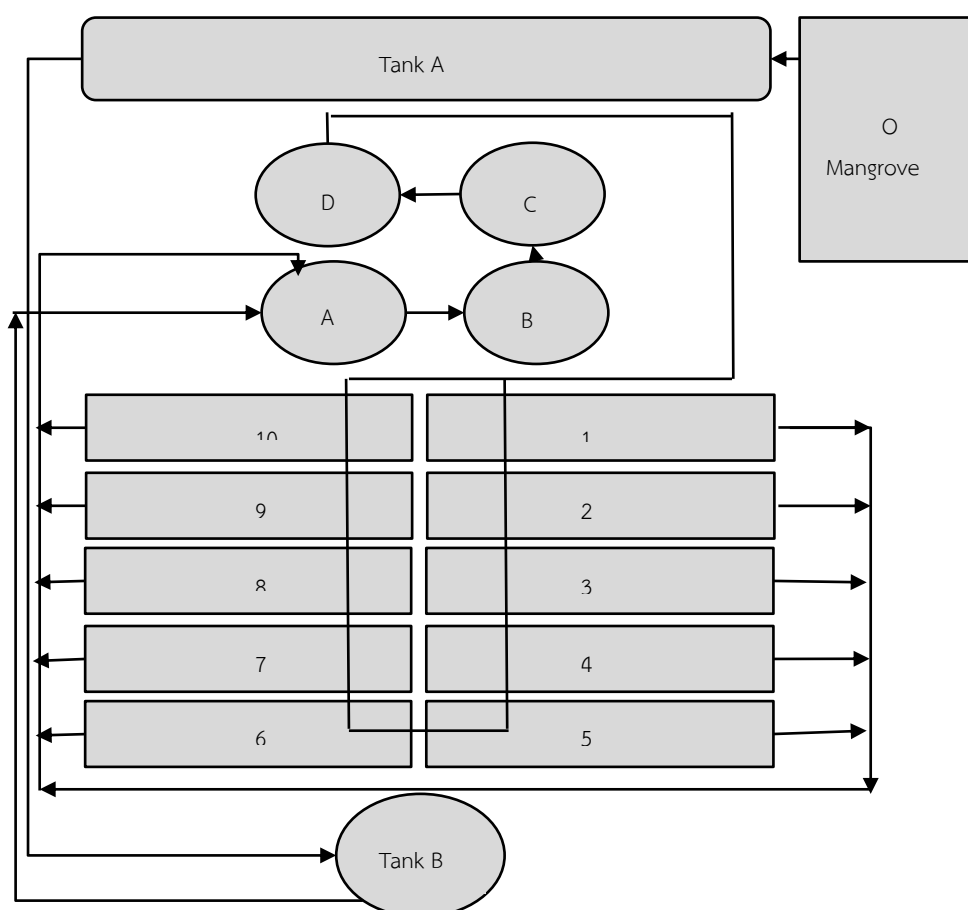
ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ชนิดนี้กระจายอยู่จำนวนมาก โดยลักษณะของพื้นที่องน้ำประกอบด้วยทราย หิน ปะการังน้ำตื้นหรือปะการังที่อยู่ในพื้นที่ช่วงน้ำลดและมักจะแตกหักสามารถพบสิ่งมีชีวิตบางชนิด รวมทั้งปลาสวยงาม (สำนักงานจังหวัดภูเก็ต กลุ่มงานยุทธศาสตร์และข้อมูลเพื่อการพัฒนาจังหวัด, 2559) แสดงในรูปที่ 3.2



รูปที่ 3.2 A,B ลักษณะพื้นที่องทะเลบริเวณที่เก็บแม่พันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* spp. จากหาดไตรตรัง อ่าวป่าตอง จังหวัดภูเก็ต C,D แสดงปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

3.1.2 แผนผังระบบน้ำหมุนเวียนโรงเพาะเลี้ยงปะการัง

ดำเนินการเพาะเลี้ยงที่ ศูนย์วิจัยการเพาะเลี้ยงและพัฒนาปะการัง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตภูเก็ต พื้นที่สะพานหิน ตำบลตลาดใหญ่ อำเภอเมือง จังหวัดภูเก็ต ได้สูบน้ำมาจากป่าชายเลนหลังศูนย์วิจัยการเพาะเลี้ยงและพัฒนาปะการังขึ้นมาบำบัดโดยการพักในบ่อ (Tank A) ให้ตกตะกอน จากนั้นจึงสูบน้ำส่วนใสเข้าบ่อพัก (Tank B) จากนั้นเข้าสู่บ่อกรองตะกอน ซึ่งใช้ทรายหยาบพองกรองสารอาหาร (บ่อ A) และกรองไขมันและโปรตีนด้วยเครื่อง scrubber (บ่อ B) น้ำที่ผ่านการกรองแล้วจะเข้าสู่บ่อฆ่าเชื้อด้วยแสง UV (บ่อ C) และปั้มน้ำไปยังบ่อเลี้ยงปะการัง (บ่อ D) ซึ่งบ่อเพาะเลี้ยงปะการัง มีทั้งหมด 10 บ่อ แต่ละบ่อมีปริมาตร 0.7 ลูกบาศก์เมตร โดยน้ำล้นจากบ่อปะการังจะหมุนเวียนเข้ากลับบ่อกรองตะกอนอีกครั้ง (บ่อ A) แสดงในรูปแบบที่ 3.3 แผนผังระบบหมุนเวียนน้ำโรงเพาะเลี้ยงปะการัง



รูปที่ 3.3 แผนผังแสดงระบบหมุนเวียนน้ำโรงเพาะเลี้ยงปะการัง

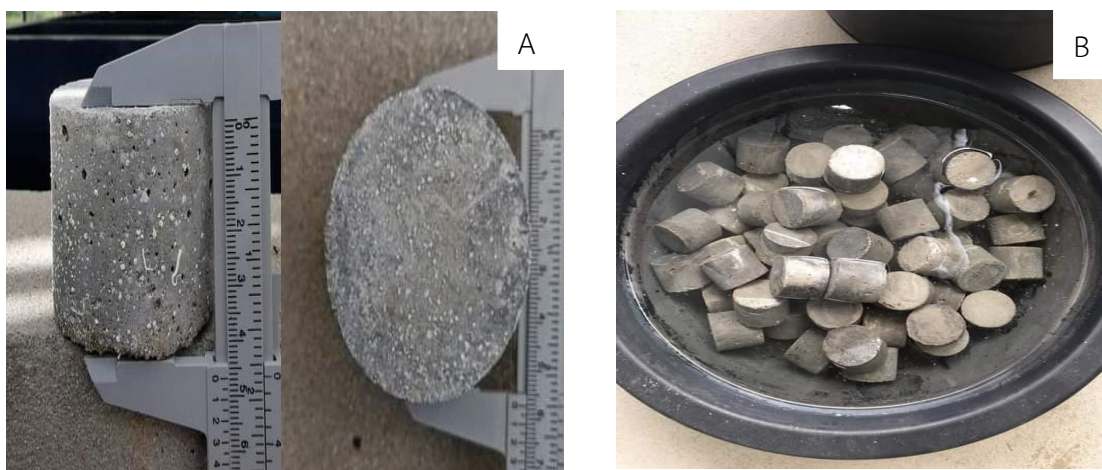


รูปที่ 3.4 ลักษณะทั่วไปของโรงเพาะเลี้ยง

3.2 วิธีการดำเนินการทดลองการเพาะเลี้ยงปะการัง

3.2.1 การเตรียมฐานปูนสำหรับเพาะเลี้ยงปะการัง

เตรียมก้อนปูนที่มีความแข็งแรง ฐานปูนมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 4 เซนติเมตร และมีน้ำหนักประมาณ 250 กรัม จากนั้นแช่น้ำทะเลไว้ประมาณ 1 เดือน เพื่อขจัดแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) ที่ทำให้น้ำเพาะเลี้ยงปะการังมีค่า pH สูง และไม่เหมาะกับการเพาะเลี้ยงปะการัง แสดงในรูปที่ 3.5



รูปที่ 3.5 A ฐานปูนที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 4 เซนติเมตร B ฐานปูนที่ถูกแช่น้ำทะเล 1 เดือน

3.2.2 การคัดเลือกพันธุ์ปะการังอ่อน

การคัดเลือกพันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. บริเวณหาดไตรตรัง จังหวัดภูเก็ต ควรคัดเลือกแม่พันธุ์ที่แข็งแรง มีสีน้ำตาลเข้มมีโพลียีนโบกไปมา ตัวปะการังไม่ฉีกขาด แสดงในรูปที่ 3.6 จากนั้นเก็บปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ใส่ถังพลาสติกที่บรรจุน้ำทะเลในระดับน้ำที่ท่วมตัวปะการัง และหลีกเลี่ยงการวางซ้อนทับกันของปะการัง เนื่องจากจะทำให้ปะการังชำรุดเกิดความเครียด และทำให้น้ำเยื่อปะการังได้รับความเสียหาย



รูปที่ 3.6 รูปถ่ายขณะขนย้ายปะการัง

3.2.3 การปรับสภาพปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

นำแม่พันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เก็บบริเวณหาดไตรตรัง จังหวัดภูเก็ต มาปรับสภาพในบ่อเพาะเลี้ยงที่ศูนย์วิจัยการเพาะเลี้ยงและพัฒนาปะการัง แสดงในรูปที่ 3.7 เป็นเวลาอย่างน้อย 14 วัน จนกว่าปะการังจะอยู่ในสภาพแข็งแรง มีโพลิปยื่นไป แสดงในรูปที่ 3.8 แม่พันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ในบ่อเพาะเลี้ยงเมื่ออนุบาลครบ 15 วัน ในระบบน้ำหมุนเวียน ซึ่งประกอบไปด้วยบ่อกรอง บ่อปรับสภาพน้ำ บ่อฆ่าเชื้อโรค บ่อปั้มน้ำ โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. บ่อกรอง ภายในบ่อประกอบไปด้วยแบคทีเรียซึ่งช่วยในการเปลี่ยนสารอินทรีย์ให้เป็นสารอนินทรีย์ และสาหร่ายพวงองุ่นที่ช่วยในการดั่งสารฟอสเฟต และไนเตรทไปใช้เพื่อทำให้คุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงเหมาะแก่การเลี้ยงปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.
2. บ่อปรับสภาพน้ำ ภายในบ่อประกอบไปด้วยเครื่องโปรตีนสกริมเมอร์ ที่ช่วยการกำจัดของเสียในน้ำ
3. บ่อฆ่าเชื้อโรค ภายในบ่อประกอบไปด้วยแสงจากหลอดไฟ UV
4. บ่อปั้มน้ำ ซึ่งเป็นบ่อสุดท้าย ประกอบไปด้วยเครื่องปั้มน้ำ ที่จะปั้มน้ำไปใช้ในบ่อเพาะเลี้ยง



รูปที่ 3.7 การปรับสภาพปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.



รูปที่ 3.8 แม่พันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ในบ่อเพาะเลี้ยง เมื่ออนุบาลครบ 15 วัน

3.2.4 การขยายพันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

เลือกตัดปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่ปรับสภาพแล้วให้มีขนาด 1-3 เซนติเมตร โดยใช้ใบมีดแหลมคมที่ทำความสะอาดด้วยโพวิโดน-ไอโอดีน 10 % w/v (Betadine) เพื่อป้องกันเชื้อโรค และช่วยให้ปะการังสมานแผลได้เร็ว แสดงในรูปที่ 3.9



รูปที่ 3.9 การตัดปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

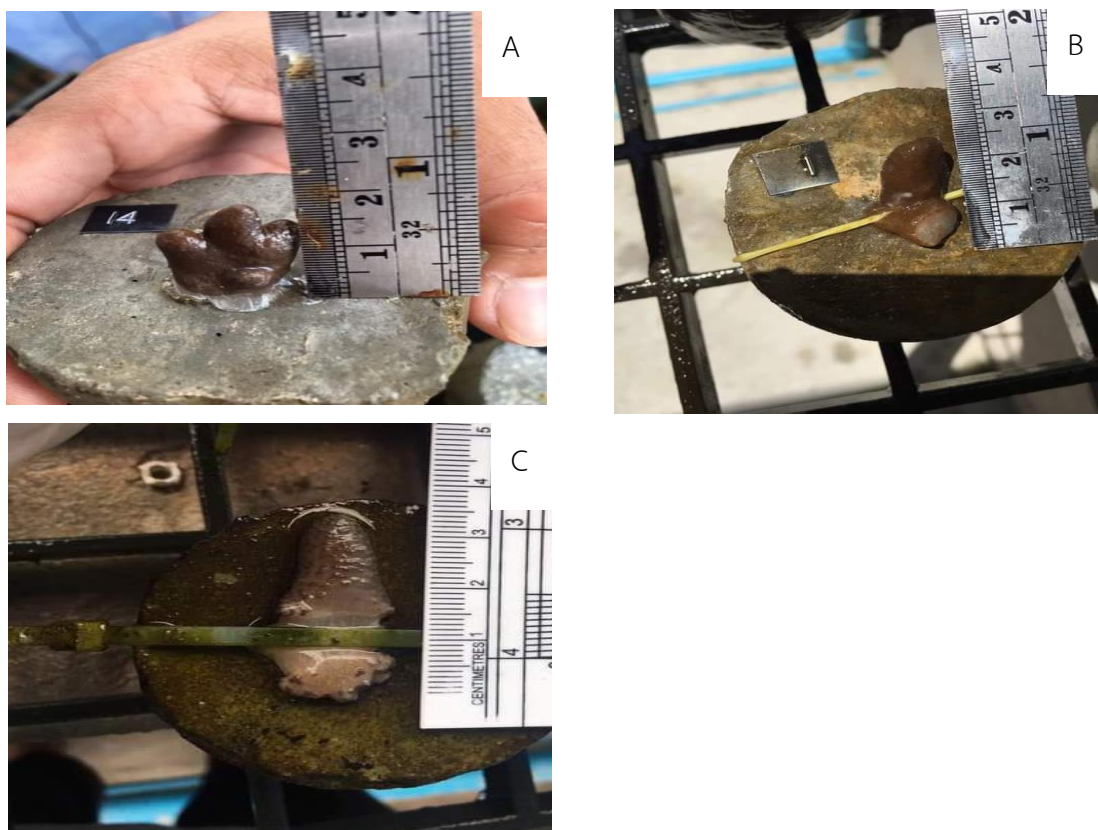
3.3 การศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

3.3.1 วัสดุที่ใช้ในการยึดติดปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

1. วิธีการหยดกาว cyanoacrylate gel โดยใช้กาว 2-3 หยด ลงบนฐานปูนและนำปะการังอ่อนติดกับฐานปูนจากนั้นรอให้แห้ง 5-10 นาทีแสดงในรูปที่ 3.10.A

2. วิธีการใช้ยาง ทำมาจากน้ำยางธรรมชาติ นำปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ด้านที่มีรอยแผลคว่ำลงติดกับฐานปูน จากนั้นรัดด้วยยางบริเวณปลายของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ของส่วนที่ถูกตัด เพื่อให้ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. สร้างเนื้อเยื่อใหม่ติดกับฐานปูนได้เร็วแสดงในรูปที่ 3.10.B

3. วิธีการใช้สายเคเบิลไทด์ โดยการนำปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ด้านที่มีแผลคว่ำลงบนฐานปูน แล้วรัดด้วยสายเคเบิลไทด์แบบหลวมๆ แสดงในรูปที่ 3.10.C จากนั้นนำไปวางบนตะแกรงแล้ววางในบ่อระบบน้ำหมุนเวียนแสดงในรูปที่ 3.11



รูปที่ 3.10 วัสดุที่ใช้ในการยึดติดปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

3.3.2 การเลี้ยงปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ในระบบน้ำหมุนเวียน

นำปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่ยึดกับวัสดุยึดติดแล้วเลี้ยงในระบบน้ำหมุนเวียน แสดงในรูปที่ 3.11 ซึ่งสูบน้ำมาจากป่าชายเลนหลังศูนย์วิจัยการเพาะเลี้ยงและพัฒนาปะการัง เพื่อให้คุณภาพน้ำมีความใกล้เคียงกับน้ำทะเลจริง และพักในบ่อคอนกรีตเพื่อให้ตะกอนนอนก้น การศึกษาการเพาะเลี้ยงปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ครั้งนี้ใช้บ่อคอนกรีตรูปทรงผืนผ้า กว้าง 165 เซนติเมตร ยาว 85 เมตร และลึก 65 เซนติเมตร ความลึกของระดับน้ำ 55 เซนติเมตร แต่ละบ่อทดลองเลี้ยงปะการังใช้แสงธรรมชาติ มีความเค็มประมาณ 28-30 พีเอสยู อุณหภูมิประมาณ 28-30 องศาเซลเซียส และควบคุมค่า pH ให้อยู่ที่ 8.00-8.40 บ่อทดลองแต่ละบ่อมีเครื่องช่วยทำคลื่นและหยวนมสาวเพื่อช่วยลดปริมาณสาหร่ายในบ่อไม่ให้มากเกินไป จากนั้นบันทึกจำนวนการรอดของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่ใช้วัสดุยึดติดต่างกัน เพื่อเลือกวิธีที่ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. เติลรอดมากที่สุดและขยายพันธุ์ต่อไปในบ่อที่ 2



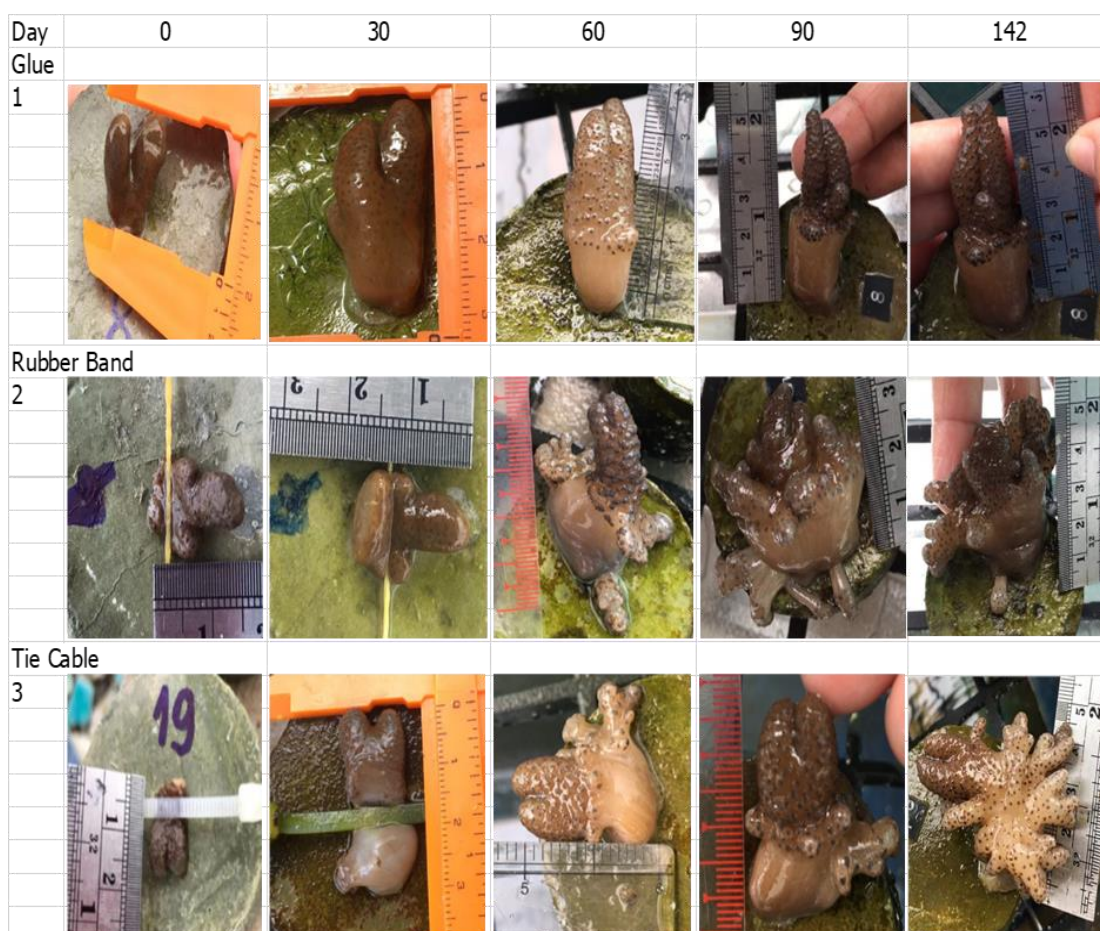
รูปที่ 3.11 การเลี้ยงปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ในระบบน้ำหมุนเวียน

3.3.3 อัตราการรอดของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

ศึกษาการรอดตายของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ทุกวัน ตลอดระยะเวลา 142 วัน เพื่อประเมินการรอดตายของวิธีการขยายพันธุ์ต่างๆที่ใช้วัสดุยึดติดต่างกัน ได้แก่ กาว ยาง และเคเบิลไทด์ โดยการนับจำนวนปะการังที่เหลือรอด และอาศัยการสังเกตปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่ไม่มีหนวดยื่น ไม่ตอบสนองต่อสิ่งเร้า มีสีซีด หรือเนื้อเยื่อของปะการังยุ่ย จะบันทึกว่าตาย

3.3.4 การเจริญเติบโตของความสูงปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

ศึกษาปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบน้ำหมุนเวียนตั้งแต่วันที่ 0 ตลอดระยะเวลาที่สิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 5 เดือน โดยการวัดความยาวของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ตั้งแต่เนื้อเยื่อที่ติดกับฐานจนถึงบริเวณปลายสุดของปะการังแสดงดังรูปที่ 3.12



รูปที่ 3.12 การวัดการเจริญเติบโตของความสูงปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

3.3.5 การเจริญเติบโตของน้ำหนักปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

วิธีการวัดน้ำหนักของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบน้ำหมุนเวียน โดยเริ่มวัดตั้งแต่วันที่ 0 ถึงระยะเวลาที่สิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 142 วัน เพื่อเปรียบเทียบน้ำหนักเปียกครั้งแรกของการทดลอง และวันสุดท้ายของการทดลอง โดยใช้เครื่องชั่งดิจิตอลแบบแขวนยี่ห้อ PORTABLE ELECTRONIC SCALE

3.4.2 วิธีการแยกสารด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา

(Column Chromatography: CC)

1. นำสารสกัดหยาบเมทานอล (CH_3OH) ของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดาแสดงดังรูปที่ 3.14 ซะด้วยตัวเคลื่อนที่

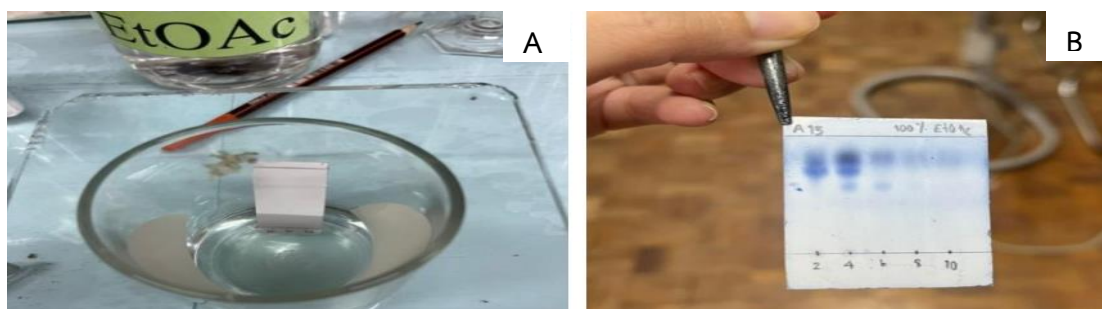


ที่ 3.14 A: การแยกสารด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา B: การรับสารที่แยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา

3.4.3 วิธีการวิเคราะห์โครมาโทกราฟีแผ่นบาง Thin-Layer Chromatography (TLC)

1. จุดสารด้วยหลอดรูเล็ก (capillary tube) ลงบนแผ่น TLC จุ่มลงในตัวทำละลาย (mobile phase) และรอจนกระทั่งตัวทำละลายเคลื่อนที่เกือบถึงขอบบนของแผ่น TLC แล้วยกออกมาไล่ความชื้นแสดงในรูปที่ 3.16 A

2. นำแผ่น TLC ไปส่อง UV เพื่อดูตำแหน่งของสารที่เคลื่อนที่และบันทึกผลแสดงในรูปที่ 3.16 B



รูปที่ 3.15 วิธีการวิเคราะห์โครมาโทกราฟีแผ่นบาง (TLC)

3.5 การตรวจสอบคุณภาพน้ำ

3.5.1 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้

1. เครื่องแก้ว
2. เครื่องชั่งแบบดิจิทัล 4 ตำแหน่ง
3. ตู้ดูดความชื้น
4. ปิ๊มสุญญากาศ
5. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42
6. กล่องพลาสติกสำหรับใส่แม่พิมพ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.
7. ฐานปูนมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 4 เซนติเมตร
8. วัสดุยึดติดปะการัง 3 ชนิด ได้แก่ กาวชนิด cyanoacrylate gel ยาง เคเบิลไทด์
9. pH meter รุ่น Multiprobe Thermo EUTECH PC700
10. เครื่องวัดความเค็ม รุ่น ATAGO MASTER-S/Mill Alpha
11. Test Kit สำหรับตรวจวัดคุณภาพน้ำ ได้แก่ ไนโตรเจน ไนเตรต ฟอสเฟต แอมโมเนีย
12. เครื่องชั่งน้ำหนักแบบแขวนรุ่น PORTABLE ELECTRONIC SCALE
13. Spectrophotometer
14. Column Chromatography
15. Thin-Layer Chromatography (TLC)

3.5.2 การเตรียมสารเคมี

3.5.2.1 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตตามวิธีของ (Boyd, 1979)

1. สารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ที่มีความเข้มข้น 5 N เตรียมได้โดยตวงกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) ปริมาตร 70 มิลลิลิตร เติมนลงในน้ำกลั่นจากนั้นจึงทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร

2. สารละลายโพแทสเซียมแอนติโมนิธาร์เทรต ($\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$) เตรียมได้โดยชั่งโพแทสเซียมแอนติโมนิธาร์เทรต ($\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$) หนัก 1.3715 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 400 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 50 มิลลิลิตร มีความเข้มข้น 2.743 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3. สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) เตรียมได้โดยชั่งแอมโมเนียมโมลิบเดต ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) หนัก 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร มีความเข้มข้น 40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

4. สารละลายกรดแอสคอร์บิก ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) ที่มีความเข้มข้น 0.01 M เตรียมได้โดยชั่งกรดแอสคอร์บิกหนัก 1.76 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร มีความเข้มข้น 17.6 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

5. สารละลายรวม เตรียมได้โดยผสมสารละลายในข้อ 1, 2 และ 3 ในสัดส่วนดังนี้ คือ (H_2SO_4) ที่มีความเข้มข้น 5 N ปริมาตร 50 มิลลิลิตร สารละลายโพแทสเซียมแอนติโมนิธาร์เทรต ($\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร สารละลายแอมโมเนียมโมลิบเดต ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และกรดแอสคอร์บิก ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ผสมกันจนเย็นลง อุณหภูมิเท่าห้องแล้วคนให้ส่วนผสมเข้ากัน

6. สารละลายเบ้องตันของฟอสเฟต เตรียมได้โดยชั่ง anhydrous KH_2PO_4 หนัก 0.2195 กรัม เติมนลงในน้ำกลั่นแล้วทำให้มีปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร

7. สารละลายฟอสเฟตมาตรฐาน เตรียมได้โดยนำสารละลายเบ้องตันของฟอสเฟตปริมาตร 50 มิลลิลิตร มาทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารละลายฟอสเฟตให้มีความเข้มข้นระดับต่าง ๆ เพื่อสร้างเส้นกราฟมาตรฐาน

3.5.2.2 การเตรียมสารละลายไนไตรท์ตามวิธีของ (Boyd, 1979)

1. Diazotizing reagent เตรียมได้โดยชั่งซัลฟานิลาไมด์ ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$) หนัก 5 กรัม และตวงกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) 50 มิลลิลิตร แล้วละลายลงในน้ำกลั่นปริมาตร 300 มิลลิลิตร คนจนสารละลายจากนั้นเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร

2. Coupling reagent เตรียมได้โดยชั่ง N-(1-naphthyl) Ethylenediamine Dihydro chloride หนัก 500 มิลลิกรัม ละลายในน้ำปริมาตร 500 มิลลิลิตรแล้วเก็บสารละลายที่เตรียมได้ในขวดทึบแสง สารละลายอยู่ได้ประมาณ 2 ถึง 4 สัปดาห์

3. สารละลายไนไตรต์มาตรฐานที่มีความเข้มข้น 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร เตรียมได้โดยชั่ง โซเดียมไนไตรต์ (NaNO_2) หนัก 0.4925 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร (จะได้ความเข้มข้นของ NO_2^- - N 100 มิลลิกรัม/ลิตร) จากนั้นจึงดูดสารละลาย 10.00 มิลลิลิตร ใส่ขวดปริมาตรแล้วทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร

3.5.2.3 การเตรียมสารละลายไนเตรทตามวิธีของ (Boyd, 1979)

1. Diazotizing reagent เตรียมได้โดยชั่งซัลฟานิลาไมด์ ($\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$) หนัก 5 กรัม และดวงกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) 50 มิลลิลิตร แล้วละลายลงในน้ำกลั่นปริมาตร 300 มิลลิลิตร คนจนสารละลาย จากนั้นเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 500 มิลลิลิตร

2. Coupling reagent เตรียมได้โดยชั่ง N-(1-naphthyl) Ethylenediamine Dihydro chloride หนัก 500 มิลลิกรัม ละลายในน้ำปริมาตร 500 มิลลิลิตร แล้วเก็บสารละลายที่เตรียมได้ในขวดทึบแสง สารละลายอยู่ได้ประมาณ 2 ถึง 4 สัปดาห์

3.5.2.4 การเตรียมสารละลายแอมโมเนียตามวิธีของ (Boyd, 1979)

1. ใช้น้ำกลั่นที่นำมาผ่านเครื่องกำจัดไอออนแล้ว ในการเตรียมสารละลายต่าง ๆ

2. สารละลายที่เป็นตัวออกซิไดส์ เตรียมได้โดยดวงไฮเตอร์ (NaOCl) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 40 มิลลิลิตร แล้วปรับค่าสภาพกรดหรือด่างให้อยู่ระหว่าง 6.5-7.0 โดยค่อย ๆ หยดกรดไฮดรอกลอร์ริก (HCl) ที่มีความเข้มข้น 1:1 (กรด:น้ำ) และตรวจสอบด้วย pH meter

3. สารละลายแมงกานีสซัลเฟต ($\text{MnSO}_4\text{H}_2\text{O}$) ที่มีความเข้มข้น 0.0003 M เตรียมโดยชั่งแมงกานีสซัลเฟต ($\text{MnSO}_4\text{H}_2\text{O}$) หนัก 50 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4. สารละลายฟีนอล เตรียมได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) หนัก 2.5 กรัม และฟีนอล ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$) หนัก 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

5. สารละลายเบื่องตันของแอมโมเนีย เตรียมได้โดยชั่งแอมโมเนียมคลอไรด์ (anhydrous NH_4Cl) ที่นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นหนัก 0.3819 กรัม ละลายลงในน้ำกลั่น ทำให้เจือจางจนได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปริมาตรหยดคลอโรฟอร์ม (CHCl_3) ลงไป 1 มิลลิลิตร แล้วเก็บสารละลายไว้ในตู้เย็น

6. สารละลายมาตรฐานของแอมโมเนีย เตรียมได้โดยดวงสารละลายข้อ 5 ปริมาตร

20 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร (สารละลายที่ได้จะมีความเข้มข้น 20 ไมโครกรัม N/ลิตร)

3.5.3 วิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

3.5.3.1 วิธีการวิเคราะห์ฟอสเฟตตามวิธีของ (Boyd, 1979)

1. ตวงตัวอย่างน้ำปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่แล้วเติมฟีนอล์ฟทาลีน ($C_{20}H_{14}O_4$) 0.05 มิลลิลิตร
2. เติมสารละลายรวมปริมาตร 8.0 มิลลิลิตร แล้วเขย่าน้ำตัวอย่าง 10 นาทีเป็นอย่างน้อย
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 880 นาโนเมตรคำนวณหาความเข้มข้นของฟอสฟอรัสจากสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

3.5.3.2 วิธีการวิเคราะห์ไนไตรต์ตามวิธีของ (Boyd, 1979)

1. กรองตัวอย่างน้ำด้วยกระดาษกรอง (Whatman No. 42)
2. ตวงน้ำตัวอย่างที่กรองแล้วปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ แล้วเติม Diazotizing reagent 1.0 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันทิ้งไว้ 2-7 นาที แล้วเติม Coupling reagent 1.0 มิลลิลิตร แล้วคนตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เพื่อรอให้เกิดสี
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร
4. คำนวณหาความเข้มข้นของไนไตรต์จากสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

3.5.3.3 วิธีการวิเคราะห์ไนเตรตตามวิธีของ (Boyd, 1979)

1. กรองตัวอย่างน้ำด้วยกระดาษกรอง (Whatman No. 42)
2. ตวงน้ำตัวอย่างที่กรองแล้วปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ จากนั้นเติม สังกะสี 25 มิลลิกรัม คนให้ละลายบนเครื่องกวนอย่างน้อย 10 นาที
3. เติม diazotizing reagent 1.0 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันทิ้งไว้ 2-7 นาที แล้วเติม Coupling reagent 1.0 มิลลิลิตร แล้วคนตั้งทิ้งไว้ 10 นาที เพื่อรอให้เกิดสี
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร
5. คำนวณหาความเข้มข้นของไนเตรตจากสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

3.5.3.4 วิธีการวิเคราะห์แอมโมเนียตามวิธีของ (Boyd, 1979)

1. ตวงตัวอย่างน้ำ 10 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ แล้วเติมสารละลายแมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4 \cdot H_2O$) 0.05 มิลลิลิตร กวนจนละลาย
2. เติมกรดไฮโปคลอรัส ($HClO$) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร พร้อมกับหยดสารละลาย ฟีนอลปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร แล้วคนสารละลาย 10 นาที

3. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร
4. คำนวณหาความเข้มข้นของแอมโมเนียจากสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

3.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

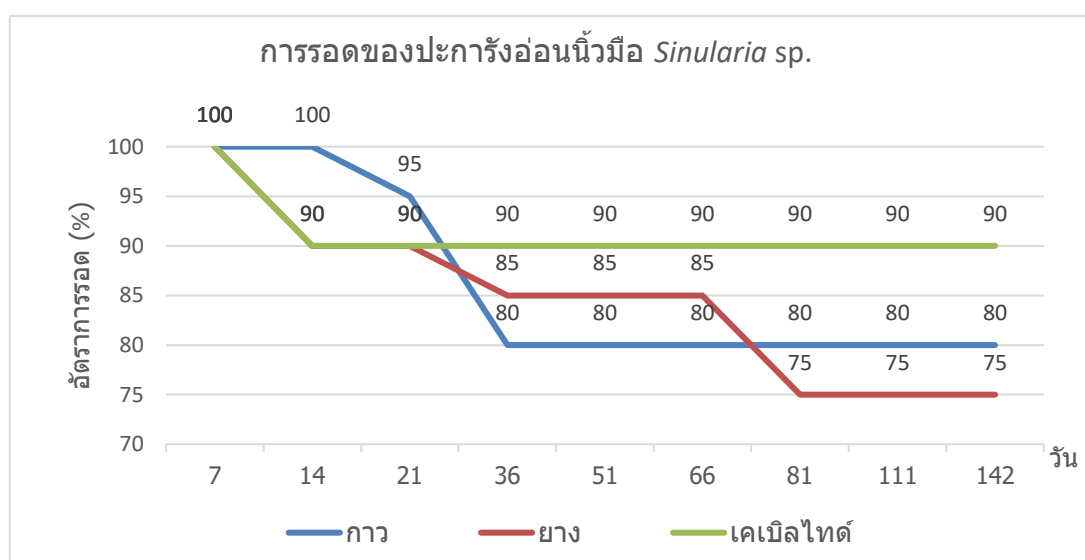
คำนวณหาความสูง น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการตาย จากนั้นวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ หาค่าเฉลี่ย ความแปรปรวนในแต่ละวัสดุ และเปรียบเทียบความแตกต่างอัตราการตาย ความสูง น้ำหนักและจำนวนกิ่ง ระหว่างวัสดุด้วยวิธี One way ANOVA ด้วยโปรแกรม SPSS IBM version

บทที่ 4 ผลการศึกษา/ผลการวิจัย

4.1 การเพาะเลี้ยงปะการังอ่อนน้ำมือ *Sinularia* sp.

4.1.1 อัตราการรอดของปะการังอ่อนน้ำมือ *Sinularia* sp.

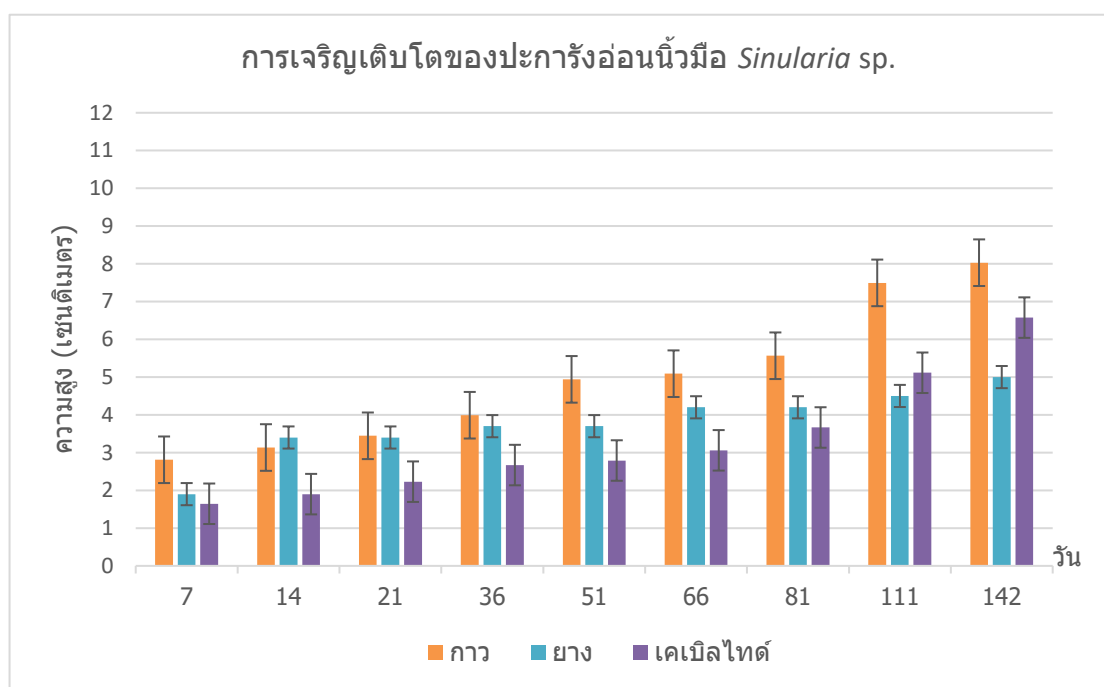
ผลการศึกษาวิธีการยัดติดปะการังอ่อนน้ำมือ *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยงในสภาวะโรงเรือนพบว่าอัตราการรอดของปะการังอ่อนน้ำมือ *Sinularia* sp. ที่ใช้วัสดุในการยัดติดทั้ง 3 ชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$, $t = 8.52$) โดยปะการังอ่อนน้ำมือ *Sinularia* sp. มีอัตราการตายสูงในช่วง 30 วันแรกของการขยายพันธุ์ จากนั้นเมื่อผ่านช่วง 30 วันไปแล้ว อัตราการตายจะเริ่มคงที่ในวันที่ 36 66 142 ตามลำดับ โดยอัตราการรอดชีวิตในวันที่ 142 สูงสุด คือ การใช้วัสดุยัดติดเคเบิลไทด์ 90% รองลงมาคือกาว 80% ส่วนอัตราการรอดชีวิตต่ำสุด คือ ยาง 75% ดังแสดงในรูปที่ 4.1 ผลการทดลองพบว่าวัสดุเคเบิลไทด์ ทำให้ปะการังอ่อนน้ำมือ *Sinularia* sp. พันธุ์ได้ดีที่สุด โดยคาดว่าปัจจัยที่ส่งผลต่อการตายมากที่สุดคือความบอบช้ำจากรอยตัด รอยรัดทำให้แน่นเข้าเนื้อเยื่อ และกาวที่มีสารเคมี เป็นวิธีที่สร้างบาดแผลมากกว่า



รูปที่ 4.1 อัตราการรอดของปะการังอ่อนน้ำมือ *Sinularia* sp.

4.1.2 ความสูงของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

ความสูงของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. หลังการขยายพันธุ์เริ่มแรกที่ในช่วงวันที่ 36-81 ปะการังนิ้วมือ *Sinularia* sp. มีการเจริญเติบโตเฉลี่ย 1 เซนติเมตร/สัปดาห์ หลังจากนั้นวันที่ 111 ปะการังนิ้วมือ *Sinularia* sp. มีการแตกกิ่งเพิ่มมากขึ้น ความสูงจึงเพิ่มขึ้น ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ทั้ง 3 ชนิด ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในวันที่ 142 ผลการทดลองพบว่าปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่ยึดติดด้วยกาวมีความสูงมากที่สุดมีค่า 8.03 ± 3.78 เซนติเมตร รองลงมาคือเคเบิลไทด์ 6.57 ± 2.99 เซนติเมตร และยาง มีค่า 5.00 ± 2.14 เซนติเมตร แสดงดังในรูปที่ 4.2



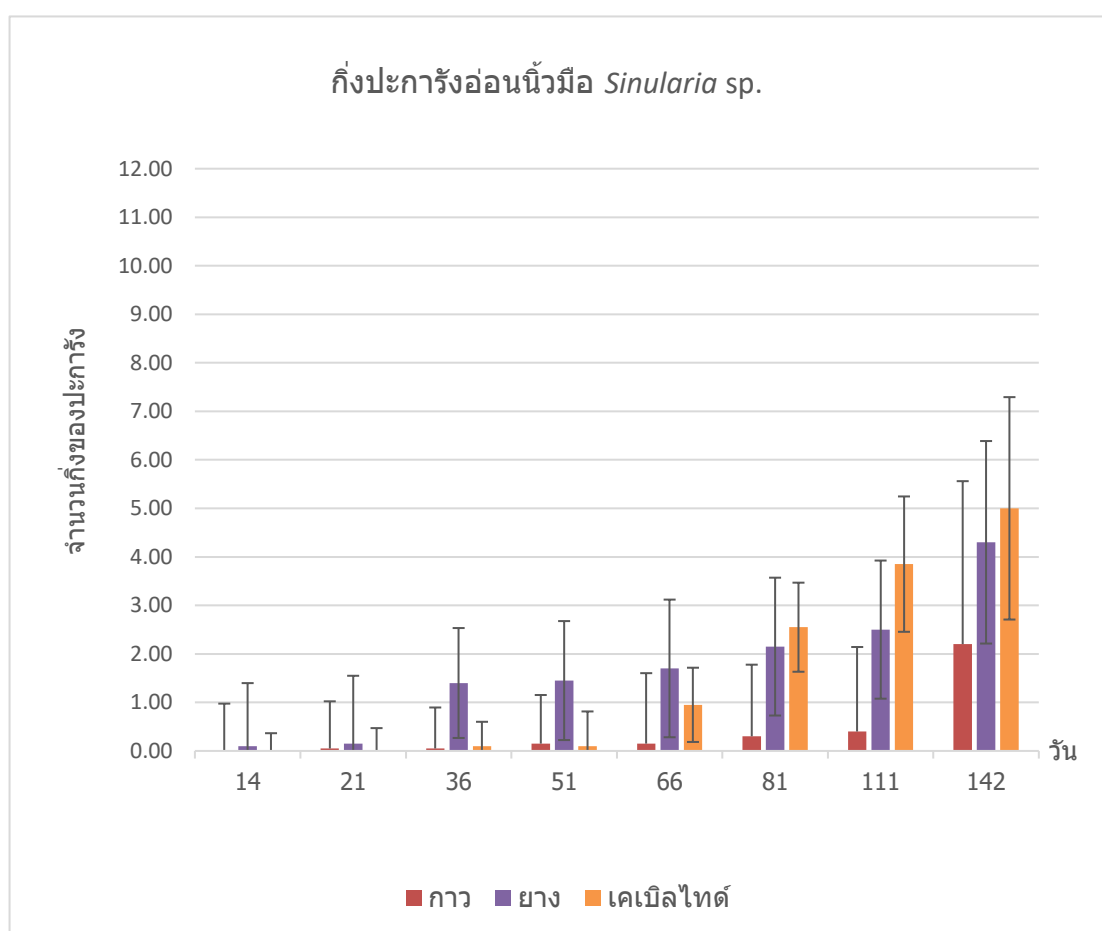
รูปที่ 4.2 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

4.1.3 น้ำหนักของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

ในวันที่ 142 น้ำหนักของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$, $F = 1.471$) โดยปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่ยึดติดด้วยเคเบิลไทด์มีค่าน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด 65.50 ± 16.54 กรัม รองลงมาคือกาวและยาง โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 63.68 ± 12.86 และ 57.75 ± 15.00 กรัม ตามลำดับ

4.1.4 จำนวนกิ่งปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. เป็นปะการังซึ่งมีลักษณะเป็นกิ่ง นอกจากมีการเจริญเติบโตความสูงในแนวตั้งแล้ว ยังมีการเพิ่มจำนวนกิ่งที่มีลักษณะเป็นทรงกลม ขนาดเล็ก สีน้ำตาล โดยปะการังเริ่มแตกกิ่งเพิ่มมากขึ้นในวันที่ 36 ของการทดลอง โดยคาดว่าจะการรัดแน่นเข้าเนื้อเยื่อปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ทำให้เกิดบาดแผล ปะการังจึงมีการซ่อมแซมและแตกกิ่งเพิ่มขึ้น ในวันที่ 142 จำนวนกิ่งของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่ใช้วัสดุยึดติดด้วยกาว ยาง และเคเบิลไทด์ มีค่า 2.20 ± 1.78 , 4.30 ± 3.03 และ 5.00 ± 3.11 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยเมื่อใช้วัสดุ ยางรัดและเคเบิลไทด์มีจำนวนกิ่งมากกว่าการใช้กาว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$, $F = 5.484$)



รูปที่ 4.3 จำนวนกิ่งของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

4.2 คุณภาพน้ำในโรงเพาะเลี้ยง

คุณภาพน้ำในโรงเพาะเลี้ยงปะการัง มีความเค็มอยู่ระหว่าง 27-33 พีเอสยู โดยมีการควบคุมความเค็มด้วยการเติมเกลือเมื่อความเค็มต่ำกว่า 27 พีเอสยู และเติมน้ำจืดเมื่อความเค็มสูงกว่า 33 พีเอสยู และความเป็นกรด-ด่าง มีค่า 7.8-8.4 ควบคุมความเป็นกรด-ด่างด้วยการเติมกรดไนตริกเข้มข้น อุณหภูมิน้ำมีค่า 27-29 องศาเซลเซียส สำหรับปริมาณสารอาหารนั้นมีค่าต่ำกว่า detection limit ตลอดระยะเวลาที่เพาะเลี้ยง ดังแสดงในตารางที่ 4.1

พารามิเตอร์ที่ตรวจวัด	ค่า
ความเค็ม	27-33 พีเอสยู
pH	7.8-8.4
อุณหภูมิน้ำ	27-29 องศาเซลเซียส
ไนโตรเจน-ไนโตรเจน	<0.05 มิลลิกรัม/ลิตร
ไนโตรเจน-ไนโตรเจน	<0.1 มิลลิกรัม/ลิตร
แอมโมเนีย-ไนโตรเจน	<0.1 มิลลิกรัม/ลิตร
ฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส	<0.1 มิลลิกรัม/ลิตร

ตารางที่ 4.1 คุณภาพน้ำในโรงเพาะเลี้ยงปะการังตลอดระยะเวลาที่ศึกษา

4.3 การสกัดสารเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากปะการัง

4.3.1 ผลการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยง

นำสารสกัดหยาบเมทานอล (CH_3OH) ของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาล หนัก 53.1 กรัม จากน้ำหนักเปียกปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. หนัก 5.00 กิโลกรัม มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา แสดงดังรูปที่ 4.4

ชะด้วย 10% EtOAc:Hexane แล้วเพิ่มซ้ำด้วยเมทานอล จนถึง 50% MeOH:EtOAc รายละเอียดดังตารางที่ 4.2



รูปที่ 4.4 A: การแยกสารด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา B: การรับสารที่แยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา

ตารางที่ 4.2 ส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบเมทานอล (CH_3OH) ของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา

หลอด	ระบบ	ปริมาตร
1-38	10% EtOAc:Hexane	2.5L
39-61	15% EtOAc:Hexane	1.5L
62-68	20% EtOAc:Hexane	500mL
69-82	40% EtOAc:Hexane	1L
83-103	60% EtOAc:Hexane	1.5L
104-109	80% EtOAc:Hexane	500mL
110-117	100% EtOAc	500mL
118-124	20% MeOH:EtOAc	500mL
125-132	50% MeOH:EtOAc	500mL

จากนั้นนำสารละลายแต่ละส่วนไปตรวจสอบบนโครมาโทกราฟีแผ่นบาง (TLC) สามารถรวมบางส่วนที่มีลักษณะทางโครมาโทกราฟีแบบธรรมดาที่เหมือนกันเข้าด้วยกันได้ทั้งหมด 24 ส่วน ดังตารางที่ 4.3 และมีลักษณะทางกายภาพแสดงดังรูปที่ 4.5 ซึ่งส่วนที่ B1-B3, B6, B9-B12 และ B14-B24 ไม่นำไปศึกษาต่อ เนื่องจากลักษณะของพีคที่ปรากฏใน Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) ไม่พบสารสำคัญเบื้องต้นจึงไม่ศึกษาสารดังกล่าวต่อ B7 และ B8 พบ spot สารสำคัญบนโครมาโทกราฟีแผ่นบาง (TLC) จึงนำมาแยกต่อด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา (CC) เพื่อให้สารสำคัญออกมา B4, B5 และ B13 ผลจากการตรวจสอบสารโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา พบว่าสารที่แยกออกมาได้จากการดู spot บนโครมาโทกราฟีแผ่นบาง (TLC) มีลักษณะสารแตกต่างกัน โดยสารที่ได้แต่ละตัวจะมี spot อยู่เพียง spot เดียว จึงนำส่งวิเคราะห์ Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) ต่อเพื่อดูโครงสร้างของสารว่าเป็นสารชนิดใด

ตารางที่ 4.3 ส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบเมทานอล (CH_3OH) ของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา 24 ส่วน

ส่วน	หลอด	น้ำหนัก (มก.)	ระบบ ตัวเคลื่อนที่	ลักษณะ ทางกายภาพ	หมายเหตุ
B1	1-2	1.4	7% EtOAc:Hexane	ของหนืดสีขาว	ไม่ศึกษาต่อ
B2	3-5	370.7	7% EtOAc:Hexane	ผลึกสีขาว	ไม่ศึกษาต่อ
B3	6	147.1	7% EtOAc:Hexane	ของแข็งสีขาว	ไม่ศึกษาต่อ
B4	7-9	233.4	7% EtOAc:Hexane	ของแข็งสีขาว	ส่งวิเคราะห์ GC MS

ตารางที่ 4.3 ส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบเมทานอล (CH₃OH) ของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา 24 ส่วน (ต่อ)

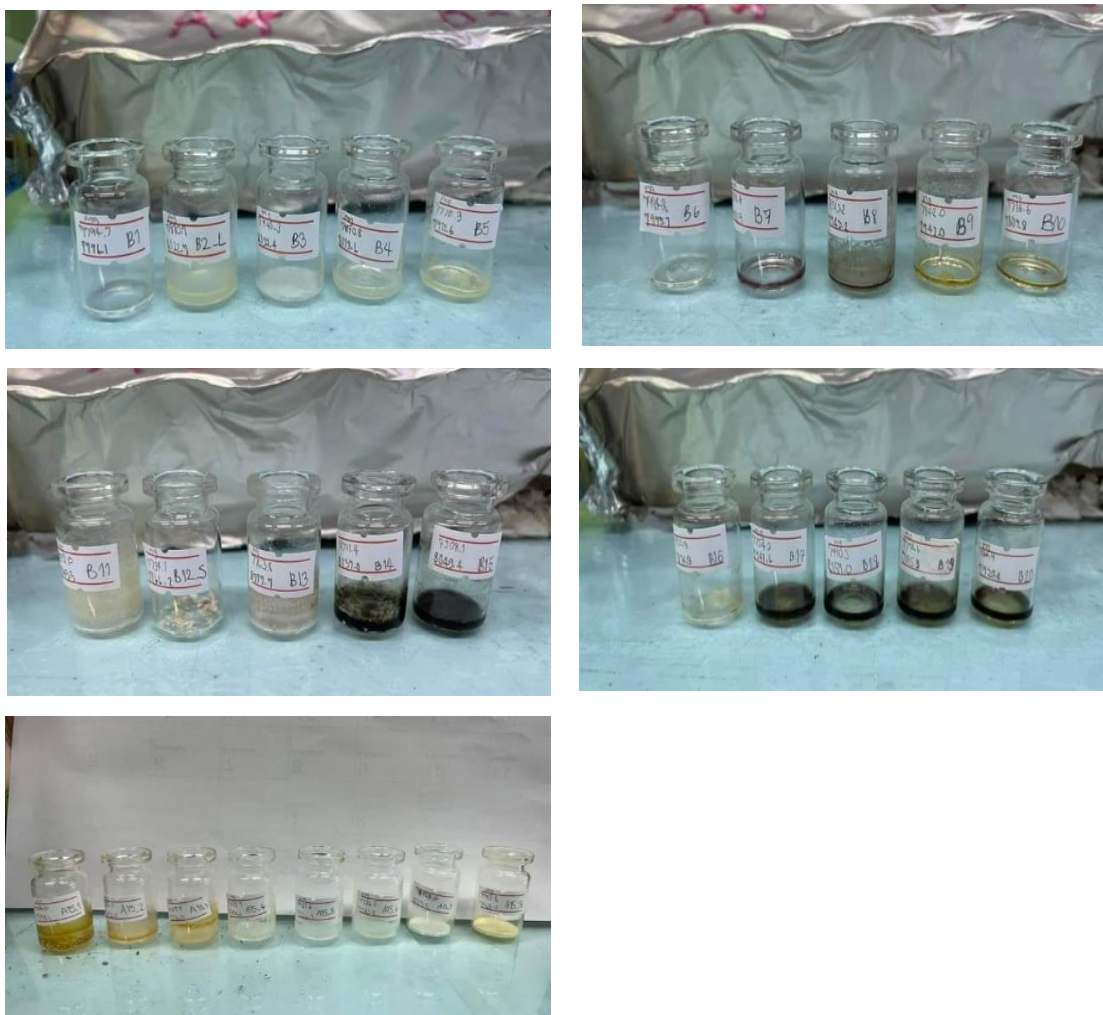
ส่วน	หลอด	น้ำหนัก (มก.)	ระบบ ตัวเคลื่อนที่	ลักษณะ ทางกายภาพ	หมายเหตุ
B5	10-13	134.7	7% EtOAc:Hexane	ของหนืดสี เหลือง	ส่งวิเคราะห์ GC MS
B6	14	9.9	7% EtOAc:Hexane	ของหนืดสี เหลือง	ไม่ศึกษาต่อ
B7	15-19	127.5	10% EtOAc:Hexane	ของหนืดสี ชมพูม่วง	แยกต่อด้วย CC
B8	20-24	93.0	10% EtOAc:Hexane	ของหนืดสีดำ	แยกต่อด้วย CC
B9	25-30	101.4	10% EtOAc:Hexane	ของหนืดสี เหลือง	ไม่ศึกษาต่อ
B10	31-35	96.1	10% EtOAc:Hexane	ของหนืดสี น้ำตาล	ไม่ศึกษาต่อ
B11	36-39	54.4	10% EtOAc:Hexane	ผลึกสีขาว	ไม่ศึกษาต่อ
B12	40-48	234.4	10% EtOAc: Hexane	ผลึกสีขาว	ไม่ศึกษาต่อ

ตารางที่ 4.3 ส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบเมทานอล (CH₃OH) ของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา 24 ส่วน (ต่อ)

ส่วน	หลอด	น้ำหนัก (มก.)	ระบบ ตัวเคลื่อนที่	ลักษณะ ทางกายภาพ	หมายเหตุ
B13	49	186.8	10% EtOAc:Hexane	ผลึกสีขาว	ส่งวิเคราะห์ GC MS
B14	50-54	70.9	20% MeOH: EtOAc	ผลึกสีดำ	ไม่ศึกษาต่อ
B14	50-54	70.9	20% MeOH: EtOAc	ผลึกสีดำ	ไม่ศึกษาต่อ
B15	55-62	119.6	20% MeOH:EtOAc	ของหนืดสีดำ	ไม่ศึกษาต่อ
B16	63	18.2	20% MeOH:EtOAc	ของหนืดสีเหลือง	ไม่ศึกษาต่อ
B17	64-70	169.6	20% MeOH:EtOAc	ของหนืดสีดำ	ไม่ศึกษาต่อ
B18	71-76	173.6	20% MeOH:EtOAc	ของหนืดสีดำ	ไม่ศึกษาต่อ
B19	77-80	161.8	20% MeOH:EtOAc	ของหนืดสีดำ	ไม่ศึกษาต่อ
B20	81-85	140.5	20% MeOH:EtOAc	ของหนืดสีดำ	ไม่ศึกษาต่อ

ตารางที่ 4.3 ส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบเมทานอล (CH_3OH) ของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา 24 ส่วน (ต่อ)

ส่วน	หลอด	น้ำหนัก (มก.)	ระบบ ตัวเคลื่อนที่	ลักษณะ ทางกายภาพ	หมายเหตุ
B21	86-90	207.8	20% MeOH:EtOAc	ของหนืดสีดำ	ไม่ศึกษาต่อ
B22	91-94	261.1	20% MeOH:EtOAc	ของหนืดสี น้ำตาลเหลือง	ไม่ศึกษาต่อ
B23	95-101	263.3	20% MeOH:EtOAc	ของหนืดสีแดง	ไม่ศึกษาต่อ
B24	102-132	463.3	20% MeOH:EtOAc	ของหนืดสีดำ	ไม่ศึกษาต่อ



รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะทางกายภาพ 24 ส่วนที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบเมทานอล (CH_3OH) ของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา

4.3.2 ผลการสกัดสารเคมีภัณฑ์ธรรมชาติจากปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เก็บตามธรรมชาติ

นำสารสกัดหยาบเมทานอล (CH_3OH) ของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่มีลักษณะทางกายภาพเป็นของหนืดสีน้ำตาลเข้ม หนัก 62.8 กรัม จากน้ำหนักเปียกปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. หนัก 5.00 กิโลกรัม มาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา แสดงดังรูปที่ 4.6 ซะด้วย 10% EtOAc:Hexane และเพิ่มช้าจนถึง 20% MeOH:EtOAc รายละเอียดแสดงในตารางที่ 4.4 และ 4.5



รูปที่ 4.6 A: การแยกสารด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา B: การรับสารที่แยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา

ตารางที่ 4.4 ส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบเมทานอล (CH_3OH) ของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา

หลอด	ระบบ	ปริมาตร
1-61	10% EtOAc:Hexane	3.5L
62-76	15% EtOAc:Hexane	1L
77-105	20% EtOAc:Hexane	2L
106-120	25% EtOAc:Hexane	1L
121-132	30% EtOAc:Hexane	800mL
133-158	40% EtOAc:Hexane	1.8L

ตารางที่ 4.4 ส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบเมทานอล (CH₃OH) ของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา (ต่อ)

หลอด	ระบบ	ปริมาตร
159-170	50% EtOAc:Hexane	800mL
171-181	70% EtOAc:Hexane	800mL
182-193	100% EtOAc	800mL
194-205	20% MeOH:EtOAc	800mL

จากนั้นนำสารละลายแต่ละส่วนไปตรวจสอบบนโครมาโทกราฟีแผ่นบาง สามารถรวมบางส่วนที่มีลักษณะทางโครมาโทกราฟีแบบธรรมดาที่เหมือนกันเข้าด้วยกันได้ ทั้งหมด 18 ส่วน ดังตารางที่ 4.5 C3, C5, C8-C18 ไม่นำไปศึกษาต่อ เนื่องจากลักษณะของพีคที่ปรากฏบน Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) ไม่พบสารสำคัญเบื้องต้น จึงไม่ศึกษาสารดังกล่าวต่อ C6-C7 พบ spot สารสำคัญบนโครมาโทกราฟีแผ่นบาง (TLC) จึงนำมาแยกด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา (CC) เพื่อให้สารสำคัญออกมา C1, C2, C4 มีลักษณะทางกายภาพเป็นของหนืด สีเหลือง จากการตรวจสอบบนคอลัมน์โครมาโทกราฟีแผ่นบาง (TLC) พบว่าสารที่แยกได้แต่ละส่วนมี Spot ขึ้นอยู่เพียง Spot เดียวจึงนำส่งวิเคราะห์ Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) เพื่อตรวจสอบโครงสร้างของสารว่าเป็นสารชนิดใด

ตารางที่ 4.5 ส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบเมทานอล (CH₃OH) ของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา 18 ส่วน

ส่วน	หลอด	น้ำหนัก (มก.)	ระบบ	ลักษณะทางกายภาพ	หมายเหตุ
C1	1-2	14.4	15% EtOAc:Hexane	ของหนืดสีขาวใส	ส่งวิเคราะห์ GC MS
C2	3-6	216.5	15% EtOAc:Hexane	ของหนืดสีเหลือง	ส่งวิเคราะห์ GC MS
C3	7	33.7	15% EtOAc:Hexane	ของหนืดสีเหลือง	ไม่ศึกษาต่อ

ตารางที่ 4.5 ส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากการแยกสารสกัดหยาบเมทานอล (CH₃OH) ของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา 18 ส่วน (ต่อ)

ส่วน	หลอด	น้ำหนัก (มก.)	ระบบ	ลักษณะทาง กายภาพ	หมายเหตุ
C4	8	22.3	15% EtOAc:Hexane	ของหนืดสีเหลือง	ส่งวิเคราะห์ GC MS
C5	9-12	49.3	15% EtOAc:Hexane	ของหนืดสีเหลือง	ไม่ศึกษาต่อ
C6	13-16	27.2	15% EtOAc:Hexane	ของหนืดสีใส	ข้อมูลTLC/NMR คล้ายกัน
C7	17-24	50.4	15% EtOAc:Hexane	ของหนืดสีน้ำตาล	ข้อมูล TLC/NMR คล้ายกัน
C8	25-28	20.1	15% EtOAc:Hexane	ของหนืดสีดำใส	ไม่ศึกษาต่อ
C9	29-33	28.2	15% EtOAc:Hexane	ตะกอนขาวขุ่น	ไม่ศึกษาต่อ
C10	34	10.7	30% EtOAc:Hexane	คราบของแข็ง	ไม่ศึกษาต่อ
C11	35-36	24.7	30% EtOAc:Hexane	ตะกอนขาวขุ่น	ไม่ศึกษาต่อ
C12	37-56	184.1	30%EtOAc:Hexane	ผลึกสีขาว	ไม่ศึกษาต่อ
C13	57-73	219.6	30%EtOAc:Hexane	ผลึกสีขาว	ไม่ศึกษาต่อ
C14	74-86	117.9	30% EtOAc:Hexane	ของหนืดสีดำ	ไม่ศึกษาต่อ
C15	87-101	218.3	30% EtOAc:Hexane	ของหนืดสีน้ำตาล	ไม่ศึกษาต่อ
C16	102-176	758.3	30% EtOAc:Hexane	ของหนืดสีน้ำตาล	ไม่ศึกษาต่อ
C17	177-200	683.8	30% EtOAc:Hexane	ของหนืดสีแดงส้ม	ไม่ศึกษาต่อ
C18	201-205	401.7	30% EtOAc:Hexane	ตะกอนสีส้มอิฐ	ไม่ศึกษาต่อ

จากการศึกษาโครงสร้างสารภายในปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ทั้งที่เก็บมาจากธรรมชาติและเพาะเลี้ยง โดยการสกัดด้วยสารละลายขั้วต่ำและขั้วสูงนั้น เมื่อนำส่วนสกัดจากสารละลายขั้วต่ำไปทดสอบเบื้องต้นด้วย Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

พบว่าปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่โตตามธรรมชาติและเพาะเลี้ยงประกอบไปด้วยสารหลักจำนวน 8 สาร และ 11 สาร แสดงดังตารางที่ 4.6 และ 4.7 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์สารสกัดส่วนหัวต่ำของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เก็บตามธรรมชาติ ด้วย GC-MS

ปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ที่เก็บตามธรรมชาติ		
	Compound name	Match factor
1	Dimethylsulfoxonium formylmethylide	95.7
2	2,4-Diisopropenyl-1-methyl-1-vinylcyclohexane	95.9
3	1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4dimethyl-7- (1-methyletheny)-, [1R-(1 α .,3 α . β .,4. α ,7. β)]-Azulene	95.8
4	Decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1 $\alpha\alpha$, 4 β , 4a β , 7 α , 7a β , 7b α)]- 1H-Cycloprop[e]azulen-4-ol	98.7
5	(1E,3E,7E,11E)-4-Isopropyl-1,7,11-trimethylcyclotetradeca-1,3,7,11-tetraene	96.1
6	Octadecanal	97
7	1-Hexadecanol	98.1
8	Batilol	96

ตารางที่ 4.7 ผลการวิเคราะห์สารสกัดส่วนหัวต่ำของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือนด้วย GC-MS

ปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือน		
	Compound name	Match factor
1	Hexanal	95.8
2	Dimethylsulfoxonium formylmethylide	96.9

ตารางที่ 4.7 ผลการวิเคราะห์สารสกัดส่วนหัวต่ำของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือนด้วย GC-MS (ต่อ)

ปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือน		
	Compound name	Match factor
3	1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4dimethyl-7- (1-methylethenyl)-,[1R-(1 α .,3a. β .,4. α ,7. β)]- Azulene	95.7
4	Hexadecanal	95.4
5	2,4-Diisopropenyl-1-methyl-1-vinylcyclohexane	95.9
6	Octadecanal	97.4
7	1-Hexadecanol	98.3
8	Decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a α , 4 β , 4a β , 7 α , 7a β , 7b α)]- 1H-Cycloprop[e]azulen-4-ol	98.3
9	(1E,3E,7E,11E)-4-Isopropyl-1,7,11-trimethylcyclotetradeca-1,3,7,11-tetraene	96.1
10	Tetradecanoic acid, hexadecyl ester	95.5
11	Hexadecanoic acid, hexadecyl ester	95.3

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย/อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 การเพาะเลี้ยงปะการัง

การขยายพันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. สามารถดำเนินการได้ในโรงเพาะเลี้ยง โดยจำเป็นต้องควบคุมปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆ ให้เหมาะสม สำหรับในการศึกษาครั้งนี้วัสดุยึดเกาะไม่มีผลต่ออัตราการเติบโตของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. แต่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิต โดยวัสดุยึดเกาะที่ทำให้ปะการังฟื้นตัวดีที่สุดและให้อัตรารอดสูงสุดคือการใช้เคเบิลไทด์ มีค่า 90% รองลงมาคือกาวและยางรัด มีค่า 80% และ 75% ตามลำดับ โดยคาดว่าปัจจัยที่ส่งผลต่อการตายของปะการังมากที่สุดคือความบอบช้ำจากรอยตัดจากโคโลนีแม่พันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. การใช้ยางรัดแน่นเข้าเนื้อเยื่อ กาวที่มีสารเคมีจะส่งผลต่อการตายของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. และเป็นวิธีที่สร้างบาดแผลมากกว่า ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. มีอัตราการตายสูงสุดในช่วง 30 วันแรกของการขยายพันธุ์ เมื่อบาดแผลจากการตัดหายดีแล้วหลัง 30 วันจึงไม่พบการตายเพิ่ม อัตราการตายจะเริ่มคงที่ในวันที่ 36 66 142 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตการศึกษาในครั้งนี้กับ (เบญจวรรณ, 2560) พบว่าการใช้กาวมีอัตราการรอดร้อยละ 20 ในวันที่ 70 ในขณะที่การทดลองครั้งนี้มีอัตราการรอดร้อยละ 80 ในวันที่ 66 ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการใช้กาวคนละยี่ห้อหรือการควบคุมคุณภาพน้ำ รวมทั้งแหล่งที่มาของน้ำแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่าภายหลังจากการตัดเพื่อขยายพันธุ์ ชิ้นส่วนปะการังมีการซ่อมแซมบริเวณรอบๆ บาดแผลและสร้างเนื้อเยื่อใหม่ซึ่งมีลักษณะเป็นทรงกลมขนาดเล็กและมีการเจริญเติบโตในแนวตั้งคล้ายกิ่ง จึงส่งผลทำให้ปะการังแตกกิ่งเพิ่มขึ้นในวันที่ 36 ของการทดลอง โดยวัสดุที่ใช้เคเบิลไทด์ยึดติดมีจำนวนกิ่งเพิ่มขึ้นมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกาวและยาง ในการทดลองครั้งนี้มีค่า 5.00 ± 3.11 , 4.30 ± 3.03 และ 2.20 ± 1.78 ตามลำดับ โดยคาดว่ารอยแผลจากการรัดของเคเบิลไทด์ทำให้เกิดการแตกกิ่งจากบริเวณรอยแผล ในขณะที่รอยแผลจากการรัดของยางเกิดกิ่งใหม่น้อยกว่า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเคเบิลไทด์เป็นพลาสติกในขณะที่ยางรัดทำมาจากน้ำยางธรรมชาติซึ่งอาจมีพิษหรือปลดปล่อยสารบางอย่างที่เป็นพิษต่อปะการังในขณะเดียวกันการเพิ่มกิ่งของปะการังทำให้ความสูงเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 1 เซนติเมตร/สัปดาห์ โดยปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่ยึดติดด้วยกาวมีการเจริญเติบโตดีที่สุด มีค่า 8.03 ± 3.78 รองลงมาคือเคเบิลไทด์และยางมีค่า 6.57 ± 2.99 , 5.00 ± 2.14

ตามลำดับ และส่งผลให้น้ำหนักของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. เพิ่มขึ้น โดยในการทดลองครั้งนี้วัสดุที่ใช้เคเบิลไทด์ยึดติดมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด เมื่อเทียบกับกาวและยาง มีค่า 65.50 ± 16.54 , 63.68 ± 12.86 และ 57.75 ± 15.00 กรัม ตามลำดับ

นอกจากวิธีเพาะเลี้ยงหรือวิธีการยึดติดแล้ว ปัจจัยทางสภาวะแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ ปริมาณตะกอน ความขุ่นและความแรงของคลื่น ก็เป็นปัจจัยสำคัญในการอยู่รอดและเติบโตของปะการัง (Kotb, 1996; Mohammed, 2003) โดยเฉพาะปัจจัยอุณหภูมิ ปะการังสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 24.2-35.5 ความเป็นกรด-ด่าง 8.35-8.45 และความเข้มแสงอยู่ที่ 26,000 lux (Ellis and Sharron, 1999) ทั้งนี้คุณภาพน้ำในบ่อเพาะเลี้ยงนั้นมีการควบคุมให้อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด โดยการอ้างอิงค่าคุณภาพน้ำที่เหมาะสม (optimum range) จากค่าที่วัดได้จากหาดไตรตรัง อ่าวป่าตอง ซึ่งเป็นบริเวณที่มีแม่พันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ชนิดนี้อาศัยอยู่ เมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลและชายฝั่งในประเทศไทย เป็นไปตามเกณฑ์ประเภทคุณภาพน้ำทะเลเพื่อการอนุรักษ์แหล่งปะการัง (คณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ, 2564)

ทั้งนี้ได้สรุปวิธีการขยายพันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ได้ดังนี้

1. เลือกโคลนแม่พันธุ์ที่สมบูรณ์ ไม่พบการฟอกขาว แผล หรือรอยฉีกขาด
2. ตัดขอบปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ส่วนปลายกิ่งของโคลนนี้ขนาดประมาณ 2-3 เซนติเมตร โดยใช้ใบมีดแหลมคม ที่ทำความสะอาดด้วยยาโพวิโดน-ไอโอดีน 10% w/v (Betadine®) เพื่อป้องกันเชื้อโรค และช่วยให้ปะการังสมานแผลได้เร็ว แม่พันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ภายหลังการตัดให้นำไปเลี้ยงต่อในบ่อเพาะ หลังจากนั้นประมาณ 2 เดือน แม่พันธุ์จะเจริญเติบโตขยายขนาดและพร้อมให้ชิ้นส่วนอีกครั้ง
3. จากนั้นวางชิ้นส่วนปะการังบนแท่นปูน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร โดยแท่นคอนกรีตนี้ต้องนำไปแช่น้ำทะเลเพื่อขจัดความเป็นพิษของปูนอย่างน้อย 1 เดือน
4. ใช้เคเบิลไทด์ เป็นตัวยึดชิ้นส่วนของปะการังกับแท่นคอนกรีต โดยต้องกะน้ำหนักในการรัดให้พอดี ถ้าแน่นเกินไปจะทำให้ปะการังตาย ถ้าหลวมเกินไปปะการังจะหลุดจากแท่น
5. เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 14 วัน การสร้าง stalk ของปะการังจะเสร็จสมบูรณ์ สามารถตัดเคเบิลไทด์ออกได้ ปะการังจะเติบโตและซ่อมแซมเนื้อเยื่อที่ถูกกัดได้
6. ความเค็มในบ่อเพาะเลี้ยงควรมีค่า 30-33 พีเอสยู ความเป็นกรด-ด่าง 7.8-8.4 อุณหภูมิ น้ำ 27-29 องศาเซลเซียส

5.2 สารเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

การศึกษครั้งนี้ได้เก็บแม่พันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. บริเวณหาดไทรตรง จังหวัดภูเก็ต ในที่ความลึกไม่เกิน 12 เมตร (Yan *et al.*, 2021) มีรายงานว่าปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ผลิตสารจำพวก Bioactive Polyhydroxylated Steroids และ lobane diterpene ที่ผ่านการทดสอบคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Kropff, 2008) เช่น Terpenoid สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิด *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* (Muliadin *et al.*, 2018) สารพวก Simulariolide และ Flexibilide ที่สามารถยับยั้งการเติบโตของ *Bacillus* sp. และ *S. aureus* (Aceret *et al.*, 1998) หลังจากนั้นนำแม่พันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ไปทดลองขยายพันธุ์โดยใช้วัสดุในการยึดติดที่ต่างกัน ศึกษาและเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เลี้ยงในภาวะโรงเรือนและภาวะธรรมชาติ

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเมทานอล (CH_3OH) ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือนและเก็บตามธรรมชาติ นำปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.หนัก 5.00 กิโลกรัม หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนกว่าปะการังจะแห้งแล้วแช่ลงในเมทานอล 2.5 ลิตร เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นกรองปะการังออกและทำซ้ำ 3 ครั้ง นำสารละลายที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารมีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาลเข้มหนัก 53.1 กรัม และ 62.8 กรัม ตามลำดับ หลังจากนั้นนำสารสกัดหยาบปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือนมาแยกด้วยเทคนิค Column Chromatography ซะด้วย 10% EtOAc:Hexane แล้วเพิ่มขั้วด้วยเมทานอลจนถึง 50% MeOH:EtOAc ได้สารออกมาทั้งหมด 24 ส่วน (รหัส B1-B24) B1-B3, B6, B9-B12 และ B14-B24 ไม่ศึกษาต่อ เนื่องจากไม่พบสารสำคัญ B7 และ B8 พบ spot สารสำคัญบนโครมาโทกราฟีแผ่นบาง (TLC) จึงนำมาแยกต่อด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา (CC) เพื่อให้สารสำคัญออกมา B4, B5 และ B13 สารแต่ละส่วนพบ Spot เพียง Spot เดียว จากการตรวจสอบบนโครมาโทกราฟีแผ่นบาง (TLC) จากนั้นตรวจวิเคราะห์ Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) พบว่าปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือน ประกอบไปด้วยสารหลัก จำนวน 11 สาร ส่วนปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่เก็บจากธรรมชาติ เมื่อนำมาแยกด้วยเทคนิค Column Chromatography แล้วชะด้วย 10%EtOAc:Hexane เพิ่มขั้วจนถึง 20%MeOH:EtOAc ได้สารออกมาทั้งหมด 18 ส่วน (รหัส C1-C18) C3, C5, C8-C18 ไม่ศึกษาต่อ เนื่องจากไม่พบสารสำคัญ C6-C7 พบ spot สารสำคัญบนโครมาโทกราฟีแผ่นบาง (TLC) จึงนำมาแยกต่อด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

แบบธรรมดา (CC) เพื่อให้สารสำคัญออกมา C1, C2, C4 พบสารสำคัญจากการตรวจสอบบน โครมาโทกราฟีแผ่นบาง (TLC) จากนั้นส่งตรวจวิเคราะห์ Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) ณ สำนักเครื่องมือวิทยาศาสตร์และการทดสอบ ชั้น 1 อาคารบริหาร วิชาการรวม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา พบว่าปะการังอ่อนนี้มี *Sinularia* sp. ที่เก็บจากธรรมชาติประกอบไปด้วยสารหลัก จำนวน 8 สาร มีสารที่พบต่างกัน คือ Batilol พบเฉพาะในปะการังอ่อนนี้มี *Sinularia* sp. ที่เก็บจากธรรมชาติ มีรายงานว่า สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลชีพได้ (antimicrobial activity) (Hassan *et al.*, 2016) และพบสาร Hexanal, Hexadecanal, Hexadecanoic acid เฉพาะในปะการังอ่อนนี้มี *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือน ซึ่งมีฤทธิ์การต้านการอักเสบและต้านอนุมูลอิสระ (Vasudevan *et al.*, 2012; Ponnammam *et al.*, 2012; Ruvanthikandan and Lilita, 2016) ลดคลอเรสเตอรอลในกระแสเลือด (Palazzo *et al.*, 2009) ยับยั้งเซลล์มะเร็ง (anticancer) และ ยับยั้งไวรัส (antiviral) (Ghaidaa *et al.*, 2016)

ปัจจัยที่ทำให้ปะการังอ่อนนี้มี *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือนและ ปะการังอ่อนนี้มี *Sinularia* sp. ที่เก็บตามธรรมชาติผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่างกันเนื่องจาก ในงานวิจัยครั้งนี้ได้ควบคุมปัจจัยที่สำคัญในการอยู่รอดและการเจริญเติบโตของปะการังอ่อนนี้มี *Sinularia* sp. มีความเค็มอยู่ระหว่าง 27-33 พีเอสยู ความเป็นกรด-ด่าง มีค่า 7.8-8.4 อุณหภูมิ ของน้ำมีค่า 27-29 องศาเซลเซียส มีการฆ่าเชื้อแบคทีเรียด้วยหลอด UV สำหรับปริมาณสารอาหาร นั้นมีค่าต่ำกว่า detection limit ตลอดระยะเวลาที่ศึกษา จึงทำให้ปะการังอ่อนนี้มี *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือน แข็งแรงกว่า มีสิ่งรบกวนจากธรรมชาติน้อยกว่า มีโอกาสเกิดปะการังฟอกขาว ได้น้อยกว่าปะการังที่โตตามธรรมชาติ เมื่อเปรียบเทียบคุณภาพน้ำบริเวณที่เก็บแม่พันธุ์ปะการังอ่อน นี้มี *Sinularia* sp. พบว่าแนวโน้มคุณภาพน้ำทะเลชายฝั่งปี 2561-2565 อยู่ในเกณฑ์ดีลดลง ทั้งนี้หากปริมาณสารเพิ่มขึ้นในบริเวณที่เก็บแม่พันธุ์ปะการังอ่อนนี้มี *Sinularia* sp. และอาจทำให้ คุณภาพของน้ำทะเลเสื่อมโทรมลง (การประเมินคุณภาพน้ำทะเลในพื้นที่ภาคใต้ตะวันตก โดยใช้ดัชนี คุณภาพน้ำทะเล, 2565) ส่งผลทำให้ปะการังเกิดความเครียด และผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ แตกต่างกัน ดังนั้นงานวิจัยขึ้นนี้พบว่าหากต้องการที่จะนำสารสกัดทางชีวภาพที่พบเฉพาะปะการัง อ่อนนี้มี *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือนไปใช้ประโยชน์ในอนาคต จึงจำเป็นต้องมีการศึกษา กลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากปะการังอ่อนนี้มี *Sinularia* sp. ที่เพาะเลี้ยงในโรงเรือนต่อไป

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1. ควรมีการศึกษาต่อในเรื่องการทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

5.4 ข้อจำกัดงานวิจัย

5.4.1. การวัดน้ำหนักของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ชนิดนี้ ค่าที่วัดได้มีความคลาดเคลื่อน เนื่องจากปะการังหดตัวเมื่อมีการยกขึ้นจากน้ำ การวิจัยในครั้งนี้จึงวัดเฉพาะน้ำหนักของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. เริ่มต้นและน้ำหนักวันสุดท้ายของการทดลอง

5.4.2. สภาพอากาศ เนื่องจากการเก็บแม่พันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. บางช่วงอยู่ในระหว่างช่วงฤดูฝน ทะเลมีคลื่นสูงซึ่งเป็นอุปสรรคในการทำงาน

5.4.3. การแพร่ระบาดของโรคโควิด-19 เป็นอุปสรรคในการปฏิบัติงานทั้งภาคสนามและการปฏิบัติงานในห้องแลป

บรรณานุกรม

- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. (2559). “องค์ความรู้ด้านปะการัง.”. (ออนไลน์) เข้าถึงได้ที่ https://km.dmcr.go.th/c_3/d_793. (วันที่ 20 มิถุนายน 2565).
- ทรศิน ปณิธานะรักษ์. (2556). ผลกระทบของปรากฏการณ์ปะการังฟอกขาวในปี 2553 ต่อชนิดและความหลากหลายทางพันธุกรรมของสาหร่ายซูแซนเทลลี (*Symbiodinium* spp.) ที่อาศัยอยู่ร่วมกับปะการังอ่อนสกุล *Sinularia* sp. สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา, สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลมหาวิทยาลัยบูรพา.
- นลินี ทองแถม. (2539). ผลของน้ำทิ้งชุมชนต่อระบบนิเวศปะการังบริเวณอ่าวป่าตอง จังหวัดภูเก็ต. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- นลินี ทองแถม. (2551). การรอดและการเจริญเติบโตของปะการังเขากวาง *Acropora Formosa* และ *A.grandis* ในแปลงอนุบาลปะการังและหลังการย้ายปลูก จังหวัดกระบี่. เอกสารฉบับที่ 3/2551 สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน. 2 หน้า.
- นลินี ทองแถม, ไพฑูล แพนชัยภูมิ และ สมหญิง พ่วง ประสาน. (2556). การฟื้นฟูปะการังในทะเลอันดามันของประเทศไทยเอกสารเผยแพร่ลำดับที่ 1 สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. 32 หน้า.
- เบญจวรรณ สีหะรัญ. (2559). เทคนิคการขยายพันธุ์ปะการังอ่อน *Sinularia* sp. และ *Sarcophyton* sp. ในสภาวะเพาะพัก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วิรัช เจริญดี และคณะ. (2558). การพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์ปะการังดอกกะหล่ำ *Pocillopora domicornis* (Linnaeus, 1758) ในระบบเลี้ยงเพื่อให้ได้จำนวนมากในระยะเวลานาน. สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สุพัตรา ปานรงค์. (2528). ผลกระทบของตะกอนดินจากเหมืองแร่ดีบุกที่ความเข้มข้นต่างๆต่อปะการังบางชนิด. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 24 สาขาสิ่งแวดล้อม ตึกเทียมคมกฤส คณะวนศาสตร์ ห้อง 402 ระหว่างวันที่ 27-29 มกราคม 2529. กรุงเทพฯ. 2529. ส่วนที่ 6: 20 หน้า (661 หน้า).

บรรณานุกรม (ต่อ)

- สำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (สำนักงาน กปร.). (2556). “องค์ความรู้การอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติท่องเที่ยวทะเล.” (ออนไลน์) เข้าถึง ได้
chromeextension://efaidnbmnmnibpcajpcglclefindmkaj/https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20161208142126_file.pdf (วันที่ 25 กันยายน 2565).
- Aceret, T.L., L. Brown, J. Miller, J.C. Coll and P.W. Sammarco. (1996). Cardiac and vascular responses of isolated rat tissues treated with diterpenes from *Sinularia flexibilis*. *Toxicon*, 34:1167-1171.
- Coll, J.C. and P.W. Sammarco, (1983). Terpenoid toxins of soft corals (Cnidaria, Octocorallia) : their nature. Toxicity and ecological significance. *Toxicon Suppl.*, 3:69-72.
- Ellish, S. and Sharron, L. (1999). The Culture of Soft Corals (Order Alcyonacea) For The Marine Aquarium Trade. Center for Tropical and Subtropical Aquaculture Publication No. 137. 77 pages.
- Khalesi, M.K., H.H. Beeftink and R.H. Wijffels. (2008). The soft coral *Sinularia flexibilis*: potential for drug development.
- Muliadin and Wendy Alexander Tanod. (2018). Soft Coral *Sinularia* sp. Extracts with Antibacterial Activity.
- Nilna Chaitanawisuti and Sirusa Kritsanapuntu. (2019). Asexual propagation of the soft corals *Sinularia* sp., *Cladiella* sp. and *Sarcophyton* sp. (Octocorallia: Alcyonacea) using different methods of attachment in a recirculating seawater system. Faculty of Science and Technological Industry, Prince of Songkla University, Suratthani Campus, Suratthani, Thailand.
- Rocha, R.J.M., Calado, R., Cartaxana, P., Furtado, J., and Serodio, J. (2013). Photobiology and growth of leather coral *Sarcophyton cf glaucum* fragments stocked under low light in a recirculated system. *Aquaculture*, 235-242 pages.

บรรณานุกรม (ต่อ)

- V. Lakshmi, R. Kumar (2009). “Metabolites from *Sinularia* species, Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters” (Online) Available on <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14786410802137135?scroll=top&needAccess=true>. (20 June 2022).
- You-Sheng cai, Wan-Xiang Cui, Wei Tang and Yue-Wei Guo, 2020. Uncommon terpenoids with anti-inflammatory activity from the Hainan soft coral *Sinularia tumulosa*. M.E. Thesis, Wuhan University, China.
- Zhao, M., Yin, J., Jiang, W., Ma, M., Lei, X., Xiang, Z., Yan, P. (2013). Cytotoxic and antibacterial cembranoids from a South China Sea soft coral, *Lobophytum* sp. *Marine Drugs*, 11(4), 1162-1172.

ภาคผนวก

การสำรวจภาคสนาม



ภาคผนวก ก ที่ 1 การเก็บแม่พันธุ์ปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ภาคสนาม

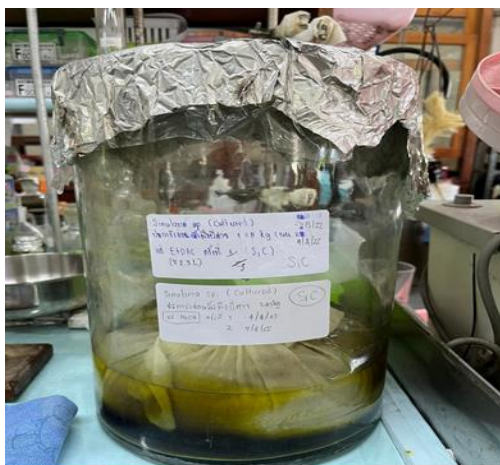


ภาคผนวก ก ที่ 2 ลักษณะทั่วไปของโรงเพาะเลี้ยง



7/09/64										8/09/64										9/09/64									
เช้าเวลา 08.30 น.					เย็นเวลา 8.40 น.					เช้าเวลา					เย็นเวลา 8.30					เช้าเวลา					เย็นเวลา 8.30				
ความเค็ม 32					ความเค็ม 32					ความเค็ม 32					ความเค็ม 31					ความเค็ม 31					ความเค็ม 31				
8.13	8.17	8.17	8.18	8.16	8.11	8.15	8.15	8.17	8.18	8.19	8.20	8.21	8.21	8.21	8.36	8.35	8.34	8.33	8.34	8.31	8.31	8.32	8.32	8.32	8.36	8.37	8.36	8.37	8.37
27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27
8.16	8.17	8.17	8.14	8.16	8.21	8.18	8.16	8.16	8.16	8.18	8.19	-	8.19	8.21	8.36	8.35	8.34	8.33	8.34	8.31	8.31	8.32	8.32	8.32	8.36	8.37	8.36	8.37	8.37
27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27
เย็นเวลา 16.20 น.					เย็นเวลา 16.30 น.					เย็นเวลา 16.30					เย็นเวลา 16.30					เย็นเวลา 16.30					เย็นเวลา 16.30				
ความเค็ม 33					ความเค็ม 31					ความเค็ม 31					ความเค็ม 31					ความเค็ม 31					ความเค็ม 31				
8.36	8.35	8.34	8.33	8.34	8.31	8.31	8.32	8.31	8.32	8.36	8.36	8.36	8.36	8.36	8.36	8.35	8.34	8.33	8.34	8.31	8.31	8.32	8.32	8.32	8.36	8.37	8.36	8.37	8.37
27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27
8.38	8.39	8.30	8.37	8.36	8.34	8.32	8.31	8.31	8.32	8.36	8.36	8.36	8.36	8.36	8.36	8.35	8.34	8.33	8.34	8.31	8.31	8.32	8.32	8.32	8.36	8.37	8.36	8.37	8.37
27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27

ภาคผนวก ก ที่ 3 การตรวจวัดคุณภาพน้ำสำหรับการเพาะเลี้ยงปะการัง



ภาคผนวก ก ที่ 4 การสกัดปะการังอ่อนน้ำมือ *Sinularia* sp. ด้วยเมทานอล (CH_3OH)



ภาคผนวก ก ที่ 5 การแยกสารสกัดจากปะการังอ่อนน้ำมือ *Sinularia* sp. ด้วยคอลัมน์โครมาโทกราฟีแบบธรรมดา

ภาคผนวก ข

ตารางข้อมูล

ตารางภาคผนวกที่ 1 อัตราการอยู่รอดของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

ชนิดของวัสดุยึดปะการัง	วันที่								
	7	14	21	36	51	66	81	111	142
กาว	100	100	95	80	80	80	80	80	80
ยาง	100	90	90	85	85	85	75	75	75
เคเบิลไทด์	100	90	90	90	90	90	90	90	90

ตารางภาคผนวกที่ 2.1 การเจริญเติบโตของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

การเจริญเติบโตของปะการังนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ที่ใช้กาวเป็นวัสดุยึดติด ระหว่างวันที่ 7-142									
โคลนี	7	14	21	36	51	66	81	111	142
1	3.30	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50
2	2.10	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20
3	5.40	5.40	5.50	5.50	5.60	5.60	5.60	5.60	5.60
4	2.60	2.60	2.70	2.70	2.70	2.70	3.70	6.00	9.20
5	2.00	2.10	2.80	4.40	5.20	5.20	5.40	4.50	4.50
6	2.40	2.90	3.10	3.80	4.30	4.70	4.90	5.40	5.40
7	2.20	2.60	2.90	5.10	5.20	6.00	6.00	9.50	9.70
8	2.90	3.30	3.90	3.90	5.80	5.80	5.90	7.80	9.00
9	2.70	3.40	3.50	3.50	3.50	3.50	3.50	4.40	4.40
10	2.30	3.30	3.50	4.70	7.00	7.10	9.00	10.70	10.70
11	2.00	2.60	3.10	5.30	5.80	5.90	6.10	13.50	15.90
12	4.20	4.50	4.60	3.60	5.50	5.80	6.00	12.30	12.60
13	1.50	1.70	2.50	2.50	3.40	4.50	5.50	5.60	5.60
14	1.70	1.90	3.20	4.20	6.80	7.00	7.20	7.50	7.50
15	3.70	4.00	4.50	5.80	7.40	7.60	8.00	13.00	13.40
16	2.50	2.80	3.10	3.10	3.10	3.10	3.10	3.10	3.10
17	3.40	3.40	3.50	4.10	5.60	5.90	6.80	10.00	12.20
18	2.90	3.30	3.40	3.50	5.20	5.40	5.40	7.80	8.40
19	2.20	2.40	2.60	3.50	5.60	4.70	5.70	7.10	7.10
20	4.20	4.80	4.80	4.90	5.40	5.60	7.80	10.40	10.60

ตารางภาคผนวกที่ 2.2 การเจริญเติบโตของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่ใช้อย่างเป็นวัสดุยึดติด

การเจริญเติบโตของปะการังนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ที่ใช้อย่างเป็นวัสดุยึดติด ระหว่างวันที่ 7-142									
โคลนี	7	14	21	36	51	66	81	111	142
1	1.80	3.30	3.30	3.30	3.50	3.50	3.50	6.00	6.00
2	1.90	3.00	4.50	5.20	7.00	7.10	7.10	8.30	8.50
3	1.90	3.40	3.40	3.70	3.70	4.20	4.20	4.50	5.00
4	1.10	2.00	4.10	4.30	4.70	3.80	3.80	5.70	6.00
5	3.50	5.80	4.00	4.40	6.10	6.50	6.50	6.50	6.50
6	3.00	5.80	5.80	5.80	5.80	5.80	5.80	5.80	5.80
7	1.40	1.70	2.50	2.70	4.50	4.60	4.60	6.50	6.80
8	4.60	5.30	5.30	5.40	6.20	6.20	6.20	9.00	9.30
9	1.20	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40	1.40	7.40	7.60
10	1.60	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20
11	1.60	1.60	4.60	6.00	6.10	6.10	6.10	8.60	8.80
12	2.10	3.10	3.10	3.10	3.20	5.00	5.10	8.30	8.60
13	2.50	3.00	4.20	4.60	5.20	5.20	5.30	7.10	7.60
14	1.60	1.80	2.20	2.40	4.60	4.80	4.80	8.80	9.00
15	2.40	2.00	2.60	3.20	3.90	4.10	4.10	9.00	9.00
16	4.80	2.70	2.90	5.10	4.90	5.10	5.10	6.30	6.60
17	1.90	1.90	3.90	4.30	4.80	5.40	5.40	11.40	11.70
18	3.90	3.60	3.60	3.60	3.60	3.60	3.60	5.20	5.70
19	5.30	4.60	4.60	4.60	6.00	6.20	6.20	6.50	6.50
20	1.00	1.20	2.00	3.10	3.40	3.60	3.60	9.50	10.50

ตารางภาคผนวกที่ 3.1 น้ำหนักของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

น้ำหนักของปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ที่ใช้กาบเป็นวัสดุยึดติด ระหว่างวันที่ 7-142									
โคโลนี	7	14	21	36	51	66	81	111	142
1	220	220	225	225	235	235	235	235	285
2	205	205	210	220	230	230	230	230	275
3	215	225	230	230	235	240	240	240	290
4	235	235	240	245	245	245	245	245	270
5	195	215	220	230	240	245	245	245	280
6	225	225	230	230	235	240	240	240	290
7	150	195	205	215	225	230	240	240	290
8	220	225	230	230	235	235	235	235	290
9	220	220	225	225	225	225	225	225	280
10	235	230	235	235	245	245	245	245	295
11	215	220	220	225	225	230	235	235	300
12	220	215	220	225	230	235	235	235	300
13	220	220	225	225	225	225	225	225	280
14	220	220	225	225	230	235	235	235	270
15	215	220	225	225	230	230	235	235	285
16	225	225	230	230	235	235	235	235	270
17	215	220	225	225	230	235	235	235	280
18	220	225	225	225	225	225	230	230	275
19	230	235	235	235	235	235	235	235	285
20	215	220	220	225	230	235	235	235	275

ตารางภาคผนวกที่ 3.2 น้ำหนักของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่ใช้ยางเป็นวัสดุยึดติด

น้ำหนักของปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ที่ใช้ยางเป็นวัสดุยึดติด ระหว่างวันที่ 7-142									
โคโลนี	7	14	21	36	51	66	81	111	142
1	220	220	225	230	235	235	235	235	300
2	220	220	230	230	230	230	230	230	260
3	220	225	225	225	225	225	230	235	280
4	220	225	225	225	225	225	225	230	270
5	225	225	230	235	240	240	245	245	280
6	215	215	220	225	225	225	225	230	280
7	230	235	240	240	245	245	245	250	300
8	215	220	225	235	235	235	235	235	260
9	245	245	245	245	245	245	245	245	270
10	220	220	220	220	225	225	225	230	270
11	225	230	235	240	245	245	245	245	300
12	205	205	215	225	225	225	230	230	260
13	195	195	200	210	225	225	230	235	250
14	250	260	260	260	265	265	265	265	300
15	220	220	220	220	225	225	230	230	280
16	220	220	220	220	225	225	230	235	270
17	205	210	215	220	225	225	230	235	300
18	245	250	250	250	250	250	250	250	300
19	225	230	230	230	235	235	235	235	290
20	215	220	220	230	235	235	235	240	270

ตารางภาคผนวกที่ 3.3 น้ำหนักของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp. ที่ใช้เคเบิลไทด์เป็นวัสดุยึดติด

น้ำหนักของปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ที่ใช้เคเบิลไทด์เป็นวัสดุยึดติด ระหว่างวันที่ 7-142									
โคโลนี	7	14	21	36	51	66	81	111	142
1	220	225	230	230	235	235	235	240	300
2	225	225	230	230	240	240	240	245	300
3	235	235	245	245	245	245	245	245	270
4	225	225	230	230	235	235	235	240	270
5	220	200	205	210	220	225	235	235	270
6	220	220	220	220	225	230	235	235	270
7	225	230	235	235	235	235	235	235	300
8	220	220	225	230	235	235	240	240	280
9	220	225	225	230	235	240	240	240	300
10	225	230	230	230	230	235	240	240	280
11	230	230	235	235	235	235	235	240	270
12	205	210	210	215	225	230	230	235	300
13	230	235	235	235	235	235	235	235	300
14	215	215	220	230	230	235	235	240	300
15	215	220	220	225	235	240	240	240	300
16	215	215	220	230	235	235	235	240	280
17	215	215	220	220	220	225	235	240	280
18	225	225	235	235	240	245	245	245	280
19	220	225	225	235	235	240	240	240	300
20	215	220	225	225	225	225	225	235	280

ตารางภาคผนวกที่ 4.2 จำนวนกิ่งของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

จำนวนกิ่งของปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ที่ใช้ยางเป็นวัสดุยึดติด ระหว่างวันที่ 7-142									
โคโลนี	7	14	21	36	51	66	81	111	142
1	2	2	2	3	3	3	3	2	5
2	2	2	2	3	3	3	5	2	7
3	2	2	2	3	3	3	2	2	7
4	3	3	3	4	4	6	6	8	10
5	3	3	3	2	2	2	2	3	2
6	3	3	3	6	6	6	6	6	6
7	1	1	1	4	6	6	2	1	9
8	3	3	3	3	3	3	3	3	4
9	1	1	1	2	2	2	3	1	2
10	1	1	1	1	1	1	2	7	7
11	2	2	2	2	2	2	3	3	4
12	3	3	3	2	2	2	2	3	4
13	1	3	3	5	5	5	7	2	3
14	1	1	2	1	1	1	6	7	8
15	3	3	3	1	1	1	2	8	8
16	2	2	2	2	2	3	3	4	5
17	2	2	2	4	7	7	2	8	9
18	2	2	2	6	5	5	6	7	9
19	3	3	3	3	3	4	4	4	4
20	1	1	1	5	5	5	9	10	13

ตารางภาคผนวกที่ 4.3 จำนวนกิ่งของปะการังอ่อนนิ้วมือ *Sinularia* sp.

จำนวนกิ่งของปะการังอ่อนนิ้วมือ <i>Sinularia</i> sp. ที่ใช้เคเบิลไทด์เป็นวัสดุยึดติด ระหว่างวันที่ 7-142									
โคโลนี	7	14	21	36	51	66	81	111	142
1	1	1	1	1	1	1	1	7	8
2	2	2	2	2	2	4	7	8	9
3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4	2	2	2	2	2	3	5	8	8
5	1	1	1	3	3	5	7	7	9
6	1	1	1	1	1	3	4	6	6
7	2	2	2	2	2	2	4	7	9
8	1	1	1	1	1	1	2	10	10
9	1	1	1	1	1	1	6	6	7
10	1	1	1	1	1	1	1	2	2
11	1	1	1	1	1	1	4	6	10
12	2	2	1	1	1	2	5	5	5
13	1	1	1	1	1	3	5	5	7
14	1	1	1	1	1	1	3	3	7
15	1	1	1	1	1	1	1	1	1
16	1	1	1	1	1	3	3	3	6
17	1	1	1	1	1	1	1	1	1
18	1	1	1	1	1	4	7	7	10
19	2	2	1	1	1	3	7	7	7
20	1	1	1	1	1	2	1	1	1

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวณัฐกานต์ พิกุลทอง
รหัสประจำตัวนักศึกษา 6330221005

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีและการ จัดการสิ่งแวดล้อม	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2563

ตำแหน่งและสถานที่ทำงาน

ครูสอนวิทยาศาสตร์ โรงเรียนขจรเกียรติ