สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาการเตรียมและฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของเซลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด

Studied on Preparation and Antibacterial Properties of Bacterial Cellulose – Mangosteen Peel Extract

T117330

นางสาว ปณิตตรา หุตะประพิน
นางสาว ยมณชนก บัณฑิตย์เสถียร
นางสาว รัชชา นันตา

สำหรับ
เลขทะเบียน 117330
วัน,เดือน,ปี 20 ก.ค. 2554

b 12310091
i

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

STUDIED ON PREPARATION AND ANTIBACTERAIL PROPERTIES OF BACTERIAL CELLULOSE-MANGOSTEEN PEEL EXTRACT

MISS PANITTRA HUTAPRAPIN

MISS SAMONCHANOK BUNDITSATHIEN

MISS RATCHA NANTA

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN BIOTECHNOLOGY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การศึกษาการเตรียมและฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของเซลลูโลสจากแบคทีเรียเพื่อใช้เป็นวัสดุปิดแผลร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด

ชื่อนักศึกษา นางสาว ปณิตตรา หุตะประพิน

นางสาว ยมณชนก บัณฑิตย์เสถียร

นางสาว รัชชา นันตา

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2553

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ	รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง	.....
กรรมการ	รศ.ดวงใจ โอชัยกุล	.....
กรรมการ	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล	.....

.....

(รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวโครงงานพิเศษ	การศึกษาการเตรียมและฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของเซลลูโลสจากแบคทีเรียเพื่อใช้เป็นวัสดุปิดแผลร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด
ชื่อนักศึกษา	นางสาว ปณิตตรา หุตะประพิน
	นางสาว ยมณชนก บัณฑิตย์เสถียร
	นางสาว รัชชา นันตา
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2553
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการสกัดสารจากเปลือกมังคุดด้วยด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 และการสกัดแบบต่อเนื่องด้วย ปิโตรเลียมอีเทอร์ เอทิลอะซีเตต และเอทานอล ตามลำดับ ได้ผลผลิตของสารสกัดจากเปลือกมังคุดร้อยละ 10.13 0.49 14.35 และ 4.42 ตามลำดับ โดยสารสกัดหยาบในชั้นของตัวทำละลายเอทิลอะซีเตตจะได้ผลผลิตของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในปริมาณมากที่สุด สารสกัดจากเปลือกมังคุดในตัวทำละลายทั้งสี่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *M. luteus*, *S. aureus* และ *S. epidermidis* โดยสารสกัดในชั้นตัวทำละลายเอทานอล(สกัดเย็น)มีฤทธิ์ในการยับยั้งดีที่สุดโดยมีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสเท่ากับ 14.67 12.33 และ 11.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือในชั้นของตัวทำละลายที่ทำการสกัดแบบต่อเนื่องของเอทานอล เอทิลอะซีเตต ปิโตรเลียมอีเทอร์ ตามลำดับ ความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ *M. luteus*, *S. aureus* และ *S. epidermidis* เท่ากับ 0.39 0.39 และ 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่นำมาใช้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ได้

การผลิตแผ่นเซลลูโลสและนำไปแช่ในสารสกัดจากเปลือกมังคุดในชั้นเอทานอล (สกัดเย็น) ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 24 ชั่วโมงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis* ได้โดยมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส 8.00 8.00 7.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิด *P. aeruginosa* และ *E. coli* ได้ และในการผลิตแผ่นเซลลูโลสโดยนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดในส่วนเอทานอล (สกัดเย็น) เติมลงในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวโดยมีค่าความเข้มข้นเท่ากับ 0.78 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์นั้นพบว่าไม่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title Studied on Preparation and Antibacterial Properties of Bacterial Cellulose-Mangosteen Peel Extract

Students Panittra Hutaprapin
Samonchanok Bunditsathien
Ratcha Nanta

Degree Bachelor of Science

Major Biotechnology

Academic Year 2010

Advisor Assoc.Prof. Duangjai Ochaikul

ABSTRACT

Studied on extraction of mangosteen peel (*Garcinia mangostana* Linn.) by maceration methods with ethanol 95% (cold extraction) and sovent sequential extraction methods with petrolium ether ethyl acetate and ethanol 95% showed that the yield of crude extract was 10.13 0.49 14.35 and 4.42 % per dry weight, respectively. Four crude extracts were more effective in inhibition growth of gram positive bacteria such as *M. luteus*, *S. aureus* and *S. epidermidis*. The crude extract with ethanol 95 (cold extraction) was the most effective in inhibition growth of them. In addition to four crude extracts were not effective in inhibition growth of gram negative bacteria such as *E. coli* and *P. aeruginosa*. Disc diffusion was used to determine Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the crude extract with ethanol 95 % (cold extraction). *M. luteus*, *S. aureus* and *S. epidermidis* were sensitive with MIC 0.39 0.39 and 0.39 mg/ml, respectively. Bacterial cellulose was immersed into 0.78 mg/ml of the crude extract with ethanol 95% (cold extraction) for 24 hours. The result showed that bacterial cellulose-Mangosteen peel extract was more effective in inhibitory growth of *M. luteus*, *S. aureus* and *S. epidermidis*. Inhibitory zone of crude extract was 8.00 8.00 and 7.67 mm. respectively. Mangosteen crude extract could not inhibit growth of *P. aeruginosa* and *E. coli*. Mangosteen crude extract 0.39 and 0.78 mg/ml were put into coconut culture medium for cellulose production. This result showed that bacterial cellulose- Mangosteen peel extract could not inhibit growth of microorganisms.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ซึ่งสำเร็จได้ด้วยการช่วยเหลือ และการสนับสนุนจากบุคคลผู้มีอุปการคุณหลายท่าน

ขอขอบพระคุณ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาเป็นอย่างยิ่งในการให้คำปรึกษาระหว่างการค้นคว้าวิจัยตลอดจนการตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความถูกต้องสมบูรณ์ที่สุด

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง ที่ให้เกียรติเป็นประธานกรรมการและกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษที่ช่วยในการตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ดร.สุทธิจิตร ศรีวัชรกุล ที่ให้เกียรติเป็นกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษ และช่วยให้คำปรึกษาระหว่างการค้นคว้าวิจัยตลอดจนการตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ช่วยให้คำชี้แนะในระหว่างการค้นคว้าวิจัยตลอดมา

ขอขอบคุณ พี่เอ้ พี่พลอย พี่ก๊ก พี่หนิง ที่ช่วยให้คำชี้แนะและให้คำปรึกษาระหว่างการค้นคว้าวิจัยตลอดมา

และขอขอบคุณครอบครัว เพื่อนๆ ที่ให้กำลังใจในการสนับสนุนโครงงานพิเศษนี้ในทุกๆด้าน และเป็นส่วนหนึ่งในความสำเร็จครั้งนี้ ขอขอบพระคุณ

นางสาว ปณิตตรา หุตะประพิน
นางสาว ยมณชนก บัณฑิตย์เสถียร
นางสาว รัชชา นันตา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง-จ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 แบคทีเรียเซลลูโลส	4
2.2 *A. xylinum*	6
2.3 การสังเคราะห์เซลลูโลส	7
2.4 มังคุด	9
2.5 การสกัดสารจากพืช	15
2.6 จุลินทรีย์	17
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	24
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	27
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	27
3.2 ขั้นตอนในการดำเนินงาน	28
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	33
4.1 ผลของการสกัดสารจากเปลือกมังคุดโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ	33
4.2 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุดโดยใช้วิธี Disc diffusion	35
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดโดยทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ (MIC)	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.4 การผลิตแผ่นฟิล์มจากแผ่นเซลลูโลสและนำมาใช้ร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด 44

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 52

เอกสารอ้างอิง 54

ภาคผนวก 58

ภาคผนวก ก. ข้อมูลการทดลอง 59

ภาคผนวก ข. อาหารเลี้ยงเชื้อ 62

ภาคผนวก ค. การคำนวณผลผลิตของสารสกัดจากเปลือกมังคุด 63

ภาคผนวก ง. การคำนวณปริมาณของยา 64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณและลักษณะที่แตกต่างกันของการสกัดเย็นเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ 34

ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยของขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสเมื่อใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี Disc Diffusion 41

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสเมื่อใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในชั้นของ เอทานอล (สกัดเย็น) เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี Disc Diffusion เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ 43

ตารางที่ 4.4 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยของขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสเมื่อใช้แผ่นเซลลูโลสที่มีสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในชั้นเอทานอล (สกัดเย็น) ที่มีความเข้มข้นต่างๆ นำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี Disc diffusion 51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 รูปเซลลูโลส 4
รูปที่ 2.2 แสดงหน่วยย่อยของเซลลูโลส 5
รูปที่ 2.3 การเชื่อมต่อกันของกลูโคสในโมเลกุลของเซลลูโลส 5
รูปที่ 2.4 ลักษณะรูปร่างของ *A. xylinum* ที่อยู่รวมกับเส้นใยเซลลูโลส 6
รูปที่ 2.5 ลักษณะของแผ่นเซลลูโลสที่เกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ 7
รูปที่ 2.6 การสังเคราะห์เซลลูโลสโดยเชื้อ *A. xylinum* 8
รูปที่ 2.7 ลักษณะทั่วไปของมังคุด 11
รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะของ *Escherichia coli* 18
รูปที่ 2.9 แสดงลักษณะของโคโลนีของ *E. coli* 19
รูปที่ 2.10 แสดงลักษณะของ *M. luteus* 20
รูปที่ 2.11 แสดงลักษณะของโคโลนีของ *M. luteus* 20
รูปที่ 2.12 แสดงลักษณะของ *P. aeruginosa* 21
รูปที่ 2.13 แสดงลักษณะของโคโลนีของ *P. aeruginosa* 21
รูปที่ 2.14 แสดงลักษณะของ *S. aureus* 22
รูปที่ 2.15 แสดงลักษณะของโคโลนีของ *S. aureus* 22
รูปที่ 2.16 แสดงลักษณะของ *S. epidermidis* 23
รูปที่ 2.17 แสดงลักษณะโคโลนีของ *S. epidermidis* 24
รูปที่ 4.1 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* 36
รูปที่ 4.2 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* 37
รูปที่ 4.3 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *M. luteus* 38
รูปที่ 4.4 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* 39
รูปที่ 4.5 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. epidermidis* 40
รูปที่4.6 แสดงลักษณะของการเตรียมแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดโดยการแช่แผ่นฟิล์มเซลลูโลสในสารสกัดเปลือกมังคุดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง 45
รูปที่4.7 แสดงลักษณะของการเตรียมแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดโดยการเติมสารสกัดเปลือกมังคุดลงในอาหารหมักเพื่อให้เชื้อผลิตแผ่นเซลลูโลส 45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.8 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด 46

รูปที่ 4.9 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นต่างๆ 47

รูปที่ 4.10 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *M. luteus* ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด 48

รูปที่ 4.11 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด 49

รูปที่ 4.12 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. epidermidis* ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุด 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

เซลลูโลสจากแบคทีเรีย (Bacterial cellulose) มีคุณสมบัติที่เด่น คือ เส้นใยมีขนาดเล็กเชื่อมกันเป็นร่างแหทำให้มีความเหนียวสูง และมีลักษณะโปร่งใส จึงได้นำเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาดัดแปลงใช้เป็นส่วนประกอบของเมมเบรนต่างๆ เช่น เป็นส่วนประกอบของกระดาษลำโพง และกระดาษที่มีความเหนียวสูง ทางการแพทย์ได้มีการนำมาพัฒนาใช้เป็นวัสดุตกแต่งบาดแผล นำมาใช้แทนผิวหนังที่โดนไฟไหม้ น้ำร้อนลวก (Czaja และคณะ, 2006) เนื่องจากมีความเหนียวแม้ในสภาพเปียก และไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง ไม่แนบติดกับบาดแผล รวมทั้งสามารถปรับเปลี่ยนรูปร่างได้ง่าย

แบคทีเรียเซลลูโลสเป็นวัสดุทางชีวภาพที่มีความสนใจกันมากในการนำมาเป็นวัสดุปิดแผล เนื่องจากมีคุณสมบัติที่เหมาะสมหลายอย่าง เช่น สามารถเข้ากันได้กับเซลล์ของสิ่งมีชีวิต (biocompatibility) สามารถยึดเกาะกับบาดแผลได้แนบสนิท และป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ไม่ให้เข้าสู่บาดแผล (Robello และคณะ, 1987.,Fontana และคณะ, 1990) กำจัดของเสียที่ออกมาจากแผล รักษาความชื้นป้องกันการสูญเสียน้ำ ช่วยให้ความอบอุ่นแก่บาดแผล ซึ่งทำให้บาดแผลหายเร็วขึ้น (Waring และ Parsons, 2001., Walker และคณะ, 2003)

มังคุด (Mangosteen) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia mangostana* Linn. วงศ์ Guttiferae มังคุดมีถิ่นกำเนิดที่อินโดนีเซีย ไทย พม่า มาเลเซีย (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2530) มักจะขึ้นได้ดีในบริเวณดินเหนียวปนทราย ในสภาพที่มีฝนตกชุกและมีความชื้นสูง (หลวงบุเรศบำรุงการ, 2518) เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงใหญ่ พื้นที่ปลูกที่สำคัญของประเทศไทยได้แก่ ภาคใต้ และภาคตะวันออก โดยทั่วไปมังคุดจะออกผลปีละครั้ง (กาญจนพิสุทธิ์ และคณะ, 2530)

ส่วนเปลือกมังคุดถูกใช้เป็นสมุนไพรรักษาโรคต่างๆ ได้หลายชนิด เช่น โรคท้องเสียเรื้อรัง ปิดแผลหนอง และน้ำกัดเท้า ในปัจจุบันมีการนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดไปใช้ทำยาภายนอกเพื่อรักษาสิวและแผลเรื้อรัง นอกจากนี้ได้มีการศึกษาฤทธิ์ในด้านต่างๆ ของเปลือกมังคุดมากมาย โดยเฉพาะฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียสาเหตุการเกิดหนอง พบว่า สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียอันเป็นสาเหตุของการเกิดหนอง คือ *Staphylococcus aureus* (Sutbhaha, และคณะ, 1997., ธราวิจิตรกุล, 2543., Surassmo และคณะ, 2004) และ *S. aureus* ที่ดื้อยา methicillin (MRSA) (Sutbhaha, และคณะ, 1997., Surassmo และคณะ, 2004., ศุภยางค์และหลิน, 2548., Dharmaratne และคณะ, 2005) Sutbhaha

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และคณะ (1997) พบว่าส่วนสกัดที่ 1 จากสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์จะให้ผลยับยั้งแบคทีเรียด้วยความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) และฆ่าแบคทีเรียด้วยความเข้มข้นต่ำสุด (MBC) ต่อ MRSA ได้ดีกว่า methicilin ถึง 20 เท่าและ 100 เท่าตามลำดับ แต่ให้ผลยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MIC และ MBC) ต่อ *S. aureus* เท่ากับ methicillin โดยสารสำคัญในการออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียสาเหตุการเกิดหนอง เป็นสารผสมของ mangostin และอนุพันธ์ โดยมีค่า MIC 7.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลตร (Mahabusarakam และคณะ, 1983) นอกจากนี้ mangostin จากมังคุดมีคุณสมบัติใช้ในการรักษาแผล แผลติดเชื้ออักเสบ และแผลในผู้ป่วยเบาหวาน (เชื้อประไพศิลป์, 2536)

เนื่องจากคุณสมบัติของเซลลูโลสจากแบคทีเรียสามารถนำมาใช้เป็นวัสดุตกแต่งแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก แต่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อที่ทำให้เกิดการอักเสบและเป็นหนอง ขณะที่สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีคุณสมบัติดังกล่าว โครงงานพิเศษจึงสนใจที่จะนำเปลือกมังคุดมาสกัดสารและนำสารที่ได้มาใช้ร่วมในการผลิตวัสดุปิดแผลจากเซลลูโลส เพื่อให้ได้แผ่นวัสดุปิดแผลจากวุ้นมะพร้าวหรือเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ช่วยรักษาบาดแผลได้ โดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อให้เกิดการอักเสบของแผล

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาวิธีการสกัดสารจากเปลือกมังคุดโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ
2. ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดแผลฝีหนองจากสารสกัดเปลือกมังคุดที่ได้
3. ศึกษาศักยภาพในการนำน้ำมะพร้าวแก่ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการผลิตกะทิมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย
4. ศึกษาการผลิตวัสดุปิดแผลจากเซลลูโลสร่วมกับการสารสกัดจากเปลือกมังคุดโดยวิธีการต่างๆ
5. ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดแผลฝีหนองจากวัสดุปิดแผลที่ได้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาวิธีการในการสกัดสารจากเปลือกมังคุดโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ นำสารที่สกัดได้มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดแผลฝีหนอง จากนั้นผลิตแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุดโดยวิธีการต่างๆ นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้ผลิตได้ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดแผลฝีหนอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

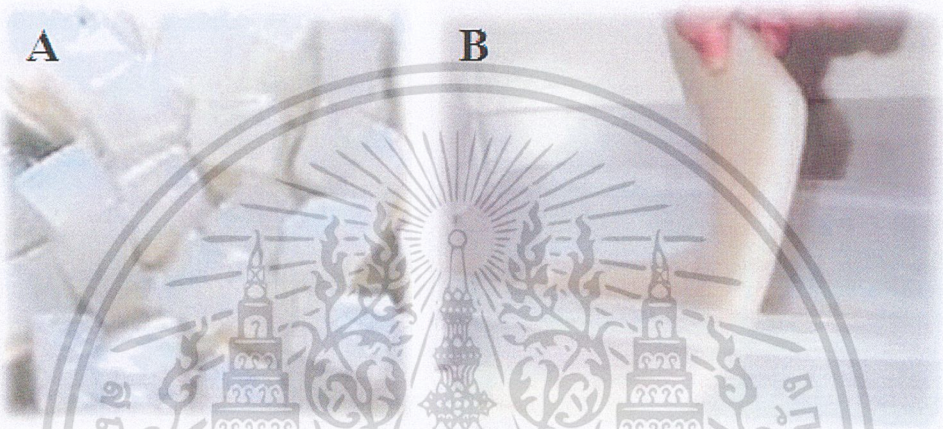
สามารถนำวุ้นมะพร้าวหรือเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเพิ่มขึ้น โดยนำมาใช้ร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุดเพื่อใช้เป็นวัสดุปิดแผล และเป็นการนำวัสดุเหลือใช้มาใช้ให้เกิดประโยชน์ไม่ว่าจะเป็นน้ำมะพร้าวแก่ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการผลิตกะทิ เพื่อนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ หรือเปลือกมังคุดซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร นอกจากจะได้ผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่แล้ว สามารถลดการนำเข้าวัสดุปิดแผลจากต่างประเทศซึ่งมีราคาแพง และยังเป็นการลดปัญหามลภาวะจากการทิ้งของเหลือทิ้งเหล่านี้สู่สิ่งแวดล้อมซึ่งก่อเกิดปัญหาโลกร้อนในปัจจุบันนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แบคทีเรียเซลลูโลส

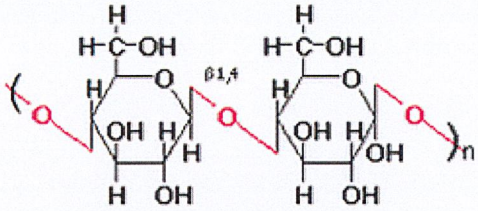


รูปที่ 2.1 ภาพ A คือลักษณะของวุ้นมะพร้าว ที่ใช้บริโภคทั่วไป
ภาพ B คือ ลักษณะของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากจุลินทรีย์
ที่มา : http://www.technoinhome.com/vspcite/front/board/show.php%3Ftbl%3Dtblwb03%26gid%3D22%26id%3D827%26PHPSESSID%3D9dfdbe4c11bbf534df25278656285934

แบคทีเรียเซลลูโลส หรือ วุ้นน้ำมะพร้าว วุ้นสวรรค์ หรือเห็ดรัสเซีย (รูปที่ 2.1 ภาพ A) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักน้ำมะพร้าวด้วยเชื้อแบคทีเรีย (รูปที่ 2.1 ภาพ B) ที่มีความสามารถในการสร้างกรดอะซิติกได้ โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในจีนัส Acetobacter เช่น Acetobacter aceti subsp. *xylinum* โดยแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ได้จากการสังเคราะห์ของ *A. xylinum* จะมีลักษณะดังนี้

- เป็นเซลลูโลสที่ไม่มีลิกนิน เพคติน และเฮมิเซลลูโลสเจือปน
- มีความเป็นไฮโดรฟิลิกสูงเนื่องจากการมีพื้นที่ผิวในโครงสร้างมากจึงสามารถอุ้มน้ำได้สูงถึง 60-700 เท่าของน้ำหนักแห้ง
- ทนต่อแรงดึงได้สูงกว่าไฟเบอร์สังเคราะห์ต่างๆ โดยมีค่ามอดูลัสของยังประมาณ 30,000 เมกะปาสคาล

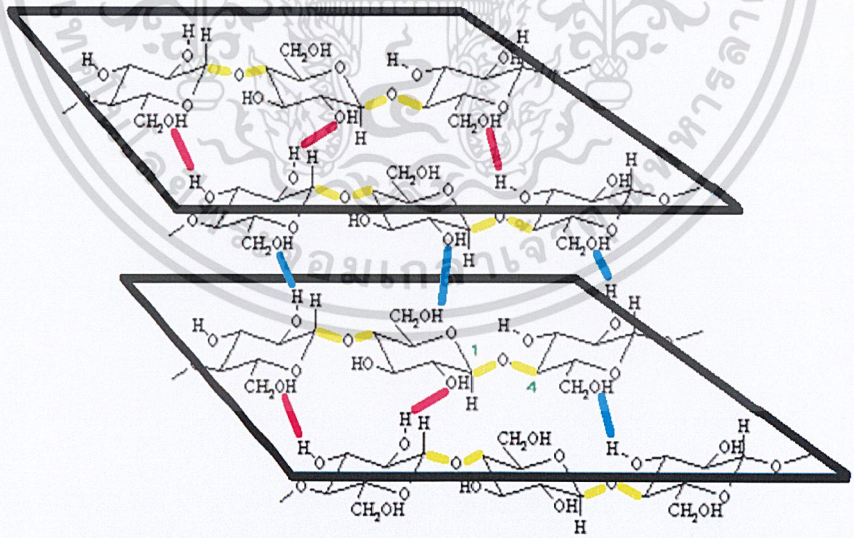
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 แสดงหน่วยย่อยของเซลลูโลส

ที่มา : http://www.rmutphysics.com/charud/scibook/bio1/Chapter2/Part4_1.html

สูตรทางเคมีของเซลลูโลสคือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ (รูปที่ 2.2) ซึ่งเป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลบีตากลูโคส (β-glucose) ที่ต่อเรียงกันเป็นสายโซ่ยาวโดยไม่มีการแตกกิ่ง โดยแต่ละโมเลกุลของน้ำตาลบีตากลูโคสจะเชื่อมกันด้วยพันธะ β-1,4 glycosidic โดยเส้นใยเหล่านี้จะมีหมู่ไฮดรอกซิลจำนวนมากเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจน ทำให้เส้นใยเซลลูโลสแต่ละสายมีความแข็งแรงมาก โดยการจัดเรียงตัวของโครงสร้างเส้นใยเซลลูโลสในระดับที่เป็น super molecular structure ในส่วนที่เป็น crystalline micelles จะมีการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 การเชื่อมต่อกันของกลูโคสในโมเลกุลของเซลลูโลส

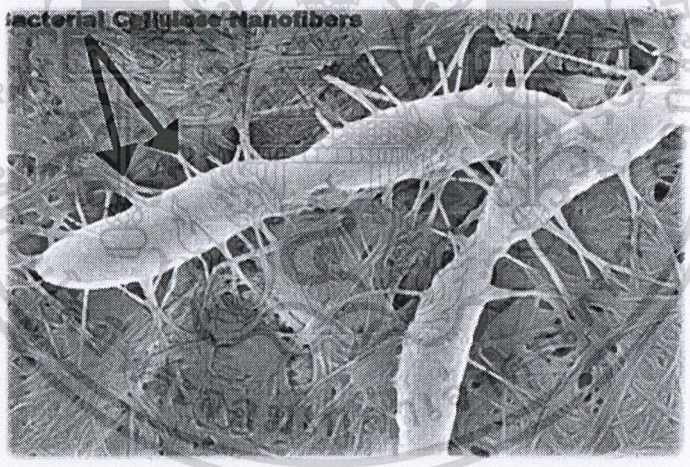
ที่มา : http://www3.ipst.ac.th/research/assets/web/mahidol/biomolecules(5)/chapter2_4.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียเซลลูโลสเป็นวัสดุทางชีวภาพที่มีการวิจัยมากในระดับหนึ่งเนื่องจากคุณสมบัติของแบคทีเรียเซลลูโลสมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นวัสดุปิดแผลหลายประการ เช่น ไม่เกิดปฏิกิริยาการต่อต้านในสิ่งมีชีวิต (biocompatibility) สามารถยึดเกาะกับบาดแผลได้แนบสนิท และป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ไม่ให้เข้าสู่บาดแผล (Robello และคณะ, 1987 ; Fontana และคณะ, 1990) สามารถกำจัดของเสียของบาดแผล ป้องกันการสูญเสียน้ำของบาดแผล นอกจากนี้ยังช่วยให้ความอบอุ่นของบาดแผลซึ่งเอื้อต่อการฟื้นตัวของบาดแผลได้เป็นอย่างดี (Waring และ Parsons, 2001 ; Walker และคณะ, 2003)

2.2 *Acetobacter xylinum*

ค.ศ. 1861 ชาวฟิลิปปินส์นำเชื้อแบคทีเรียมาหมักในน้ำมะพร้าว ทิ้งเอาไว้จนเกิดเป็นแผ่นวุ้นขึ้น โดยจะเรียกแผ่นวุ้นที่ได้จากการหมักน้ำมะพร้าวว่า nata de coco และต่อมาได้มีการหมักในน้ำสับปะรด โดยจะเรียกแผ่นวุ้นที่ได้จากการหมักน้ำสับปะรดว่า nata de pina (Sanchez. 1990) ซึ่ง พบว่าแบคทีเรียที่ใช้หมักนั้นเป็นเชื้อ *Acetobacter xylinum*



รูปที่ 2.4 ลักษณะรูปร่างของ *A. xylinum* ที่อยู่รวมกับเส้นใยเซลลูโลส
ที่มา: http://www.vtnews.vt.edu/articles/2008/11/2008-693.html

A. xylinum เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างรีไปจนถึงรูปแท่งตรงหรือโค้งเล็กน้อย มีขนาด 0.6-0.8x1.0-1.4 ไมโครเมตร การจัดเรียงเป็นแบบเซลล์เดี่ยวหรืออยู่เป็นคู่ หรือเรียงต่อเป็นสาย พบได้ทั้งเซลล์ที่เคลื่อนที่ไม่ได้และเซลล์ที่เคลื่อนที่ได้โดยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบเซลล์ (peritrichous) ระยะแรกของการเจริญส่วนใหญ่ติดสีแกรมลบ แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะมีลักษณะเป็น gram variable ส่วนมากไม่สร้างรงควัตถุแต่บางสายพันธ์สามารถสร้างรงควัตถุสีน้ำตาลได้ (Haigler และคณะ, 1988) ไม่สร้างเอนโดสปอร์และต้องการอากาศในการเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(obligate aerobic) มีอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญอยู่ในช่วง 25-30 องศาเซลเซียส และมีค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 5.4-6.3 (Bergey และคณะ, 1994)

A. xylinum พบได้ทั่วไปบนผิวของผักและผลไม้ เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวจะพบว่ามีการสร้างแผ่นฟิล์มเซลลูโลสบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อและพบว่าเซลล์ *A. xylinum* จะอยู่ในแผ่นเซลลูโลสดังรูปที่ 2.4 เพื่อเป็นการป้องกันตัวเซลล์จากสภาพแวดล้อมภายนอกที่ไม่เหมาะสม เช่น ความร้อน ความเย็น และแสง UV (Williams และคณะ, 1989) ลักษณะการผลิตเซลลูโลสโดยแบคทีเรีย *A. xylinum* เป็นแบบ Non-growth Associated (Ishikawa และคณะ, 1995) คือในระหว่างการเจริญเติบโตแบคทีเรียจะมีการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นจำนวนมากและมีการผลิตเซลลูโลสออกมาในปริมาณน้อย และจะมีการผลิตเซลลูโลสสูงสุดเมื่อเซลล์มีการเจริญเติบโตเพียงเล็กน้อย โดยเส้นใยเซลลูโลสเหล่านี้จะอยู่บริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ

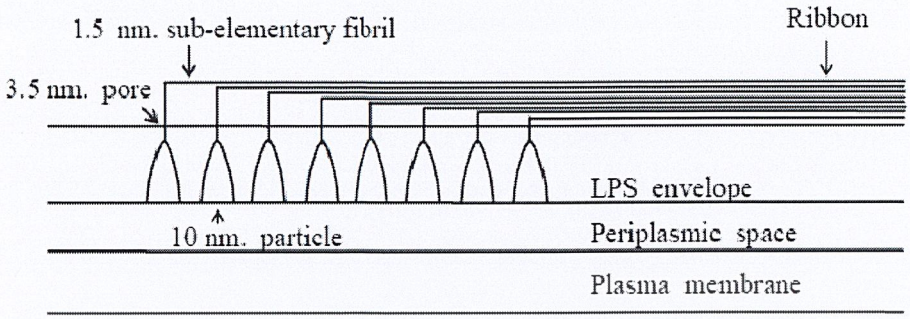
รูปที่ 2.5 ลักษณะของแผ่นเซลลูโลสที่เกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ
ที่มา : http://www.vtnews.vt.edu/articles/2008/11/2008-693.html

2.3. การสังเคราะห์เซลลูโลส

ในขบวนการสังเคราะห์เส้นใยเซลลูโลสเริ่มจากน้ำตาลกลูโคสจะถูกเมตาบอไลซ์ผ่านทาง pentose phosphate pathway โดย cellulose pathway จะแยกออกที่ (G6P) และมี UDP-glucose เป็น precursor ซึ่งในการสังเคราะห์ UDP-glucose จะประกอบด้วย 2 ขั้นตอน โดย UDP-glucose จะถูกพอลิเมอร์ไรซ์ไปเป็นเซลลูโลส และเซลลูโลสจะถูกปล่อยสู่อาหารเลี้ยงเชื้อ โดยจะมีลักษณะเป็นเส้นใยที่บริเวณผิวหน้าของอาหาร

การสังเคราะห์เซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* ซึ่งเกิดขึ้นระหว่างภายนอกเมมเบรนและพลาสมาเมมเบรนของเซลล์ดังรูปที่ 2.6 โดยแบคทีเรียจะสร้างสารประกอบเซลลูโลสแล้วปล่อยออกมาทางช่องเปิดที่เรียงอยู่เป็นแถวบนผนังเซลล์เรียกว่า ไฟบริล (fibril) และเชื่อมต่อกับสารเซลลูโลสอื่นๆจะได้เส้นใยขนาดเล็กมีลักษณะคล้ายริบบิ้น (ribbon) เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.1 ไมโครเมตร (Jonas และคณะ, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.6 การสังเคราะห์เซลลูโลสโดยเชื้อ *A. xylinum*

ที่มา : http://kb.psu.ac.th/psukb/bitstream/2553/2040/8/272522_ch1.pdf

ในการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* นั้นได้ทำการเปรียบเทียบการเลี้ยงเชื้อในสภาพนิ่ง และสภาพที่มีการเขย่าพบว่าการเลี้ยงเชื้อสภาพนิ่งจะทำให้เส้นใยเจริญและจับตัวกันแน่น ทำให้สภาพอาหารเลี้ยงเชื้อมีความหนืดสูงกว่าการเลี้ยงแบบเขย่า

ในการผลิตวุ้นมะพร้าวพบว่าน้ำมะพร้าวที่ใช้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นจะต้องเป็นน้ำมะพร้าวแก่ที่สดและใหม่ มีไขมันน้อยในปริมาณร้อยละ 10-20 (โดยปริมาตร) มีการปรับสภาวะความเป็นกรดด่าง 4-5 มีการเติมน้ำตาล โดยใส่ในปริมาณร้อยละ 5-8 และสารประกอบไนโตรเจนใส่ในปริมาณร้อยละ 0.5-0.6 น้ำหนักต่อปริมาตร เพื่อเร่งให้เชื้อผลิตแผ่นวุ้นมะพร้าวได้หนาในระยะเวลาสั้นๆ

แบคทีเรียเซลลูโลส มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบร้อยละ 95-97 ของของแข็งทั้งหมด โดยเซลลูโลสที่ผลิตได้จากแบคทีเรียเซลลูโลสนั้นจะมีโครงสร้างแบบเดียวกันกับเซลลูโลสในพืช แต่เส้นใยจะมีขนาดเล็กละเอียดกว่า ไม่มีลิกนิน เพคติน และมีเฮมิเซลลูโลสเจือปน (Hestrin and Schramm, 1954) ทำให้สามารถแยกเซลลูโลสบริสุทธิ์ออกจากวุ้นมะพร้าวได้ง่าย หากทำการย่อยเซลลูโลสด้วยกรดจะพบว่ามีน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 81.9 แต่หากย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสจะพบว่ามีน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 95.9 (Savidge and colvin, 1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4. มังคุด

มังคุด (Mangosteen) ค้นพบครั้งแรกโดย Linnaeus ในปี ค.ศ. 1753 บริเวณหมู่เกาะมาเลเซีย (Morton, 1987) ชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Garcinia mangostana* นักวิทยาศาสตร์ได้ทำการแบ่งลำดับสายพันธุ์ของมังคุดไว้ดังนี้

Kingdom Plantae

Division Magnoliophyta

Class Magnoliopsida

Order Malpighiales

Family Clusiaceae

Subfamily *Garcinia*

Species *G. mangostana*

2.4.1 ลักษณะประจำพันธุ์ทางพฤกษาศาสตร์ของมังคุด

2.4.1.1 ราก มังคุดเป็นไม้ยืนต้น ซึ่งมีระบบรากเป็นรากแก้ว เกิดจากเมล็ด จะหยั่งลึกลงไปในดินเป็นแนวดิ่ง ต่อจากลำต้น รากแก้วจะชอนไชไปในดินได้ลึก จะงอและขดได้ง่าย เมื่อเลี้ยงไว้ในวัสดุเพาะชำเป็นเวลานาน โดยไม่ได้ย้ายปลูกลงดิน แต่เมื่อตัดส่วนที่ขดงอออกจะมีรากใหม่เกิดขึ้นมาแทนที่ได้ โดยแตกออกเป็นหลายราก แล้วเจริญคู่กันไปกับรากเดิมดูเหมือนกับรากแก้ว จะมีบ้างเพียง 1-2 รากที่เป็นรากเล็ก และสั้นคล้ายรากฝอย มังคุด นับว่ามีการพัฒนาของระบบราก ที่จะเจริญแผ่ไปในทางแนวราบในพื้นดินได้น้อยกว่าไม้ผลอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตามมังคุดมีความสามารถพิเศษที่จะสร้างรากแขนงให้เจริญออกจากโคนต้น ชิดกับพื้นดินได้ ในต้นที่ปลูกจนโตและเริ่มเป็นพุ่มแล้ว รากแขนงที่เกิดใหม่นี้สามารถมองเห็นได้ชัดเจน เป็นรากที่ค่อนข้างอวบ สีขาวอมเหลือง จะเจริญแผ่ออกจากโคน-ต้น และค่อยๆ แทงลึกลงไปในดิน เพื่อช่วยยึดลำต้นให้แข็งแรงไม่โค่นล้ม ทั้งยังช่วยหาอาหาร เพิ่มเติม เพื่อให้เกิดความสมดุลกับส่วนทรงพุ่มที่เจริญขึ้น

2.4.1.2 ต้น มังคุดเป็นไม้ยืนต้น ต้นโตเต็มที่จะสูงประมาณ 10 - 25 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางต้น 25 - 30 เซนติเมตร เปลือกสีดำ มียางเหนียวข้นสีเหลืองอมเขียว ทรงพุ่มแบบ Pyramidal crown หรือ conical shape ต้นเรียบทรงต้นงามเป็นระเบียบ กิ่งใบหนา ทำมุมฉากกับลำต้น ดังรูปที่ 2.7

2.4.1.3 ใบ ใบมังคุดเป็นใบเดี่ยว (Simple leaf) เกิดแบบตรงข้ามกันเป็นคู่ๆ หรือแบบ ternate ก้านใบสั้น ใบเป็นแบบ Ovate-elliptic-oblong ฐานใบเป็นแบบ acute, obtuse หรือ rounded ปลายใบแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

obtuse และ acuminate ขอบใบเรียบ ใบหนา ด้านหลังใบสีเขียวเข้ม หรือเขียวแกม-เหลือง และเป็นมัน ส่วนใต้ใบเป็นสีเขียวแกมเหลืองไม่เป็นมัน ผิวใบเรียบ ยาว 12-23 เซนติเมตร กว้าง 4.5 - 10 เซนติเมตร เส้นใบแบบ pinnate เส้นกลางใบเห็นชัดเจน กลมนูนทางด้านหลังใบ และเป็นสันทางด้านใต้ใบ เส้นใบออกจากเส้นกลางใบแล้วค่อยๆ ลู่เข้าหาขอบใบ มีประมาณ 35 - 50 คู่ ก้านใบสั้น มองเห็นเป็นชั้นๆ ยาวประมาณ 1.5 - 2 เซนติเมตร มีตาข้าง (axillary bud) อยู่ที่โคนก้านใบทุกใบ ส่วนตายอด (terminal bud) อยู่ที่โคนก้านใบคู่สุดท้าย

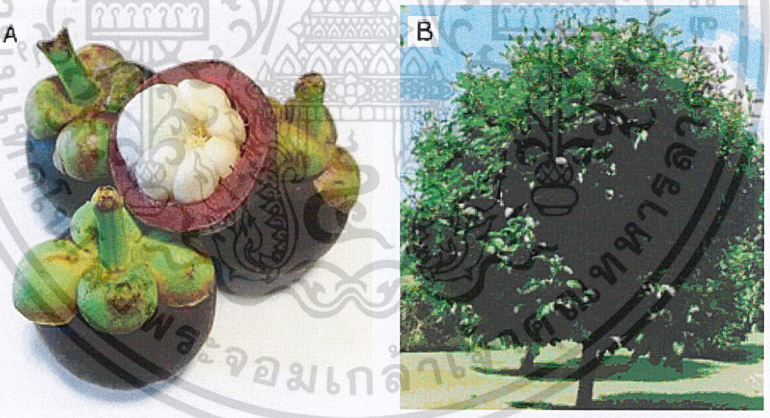
2.4.1.4 ดอก เป็น unisexual-dioecious หรือ polygamous อย่างไรก็ตาม Baker (1911) ได้ รายงานว่า พบดอกตัวเมีย (female flower) เฉพาะในเกาะชวา ประเทศอินโดนีเซีย เท่านั้น ดอกตัวผู้ (male flower) เกิดที่ปลายกิ่งเป็นกลุ่มดอก มีประมาณ 3-9 ดอก ก้านดอกค่อนข้างยาว กลีบเลี้ยง (sepal) เป็นรูปถ้วย และมีขนาดกว้าง มี 4 อัน กลีบดอกมี 4 กลีบ อวบ, หนา แบบ ovate ด้านในสีแดงแกมเหลือง ด้านนอกสีค่อนข้างเขียว และมีประสีแดง เกสรตัวผู้มีมากมายอยู่บนกลีบดอก ด้านล่างติดกับส่วนโคนของรังไข่ (rudimentary ovary) ก้านเกสรตัวผู้สั้น อับละอองเกสรแบบ Ovoid - oblong และ โค้งกลับ ส่วน rudimentary ovary หนา ลักษณะ obconial และยาวกว่าอับละอองเกสรเล็กน้อย ดอก- ตัวเมีย (female flower) หรือ ดอกสมบูรณ์เพศ(hermaphrodite flower) มักเกิดที่ปลายกิ่ง ลักษณะของกลีบเลี้ยง และกลีบดอกคล้ายคลึงกับดอกตัวผู้ เกิดเป็นดอกเดี่ยว (Solitary) มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 - 6.2 เซนติเมตร ก้านดอกสั้น หนา เป็นรูปเหลี่ยม มีความยาว 1.8 - 2 เซนติเมตร หนา 0.7 - 0.9 เซนติเมตร กลีบเลี้ยง (sepal) มี 4 กลีบ ซ้อนกัน 2 ชั้น (biserite) ชั้นใน 1 คู่ หุ้มปิดไว้ และถูกหุ้มด้วยชั้นนอกอีก 1 คู่ ซึ่งมีความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร สีเขียวแกมเหลือง เป็นรูปเกือบครึ่งวงกลม มน ชั้นในมีขนาดเล็กกว่า และมีขอบกลีบ สีแดง กลีบดอก (petal) มี 4 กลีบ รูป obovate มีขนาดกว้างมาก กลมมน อวบหนา สีเขียวแกมเหลือง ขอบกลีบสีแดง หรือเกือบจะเป็นสีแดงตลอดทั้งกลีบ ขนาดประมาณ 2.5 – 3 เซนติเมตร เกสรตัวผู้เป็นหมัน (staminode) อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม อาจมีมากหรือน้อยกว่า 1-3 อัน อาจยึดติดหรือไม่ยึดกับส่วนโคนของรังไข่ ยาว 0.5 - 0.6 เซนติเมตร อับละอองเกสรมีขนาดเล็ก และเป็นหมัน รังไข่ ไม่มีก้าน (sessile) แอ่งเกสรตัวเมีย (stigma) แบ่งเป็นแฉกประมาณ 4-8 แฉก เท่ากับจำนวนช่องในรังไข่

2.4.1.5 ผล เป็นแบบ berry เส้นผ่าศูนย์กลางผลประมาณ 3.5 - 7 เซนติเมตร หรือมากกว่า เมื่อสุกจะมีสีม่วงเข้มหรือม่วงแกมน้ำตาล เปลือกหนาประมาณ 0.8-1 เซนติเมตร มีรสฝาดและมียาง สีเหลือง ดังรูปที่ 2.7 ผลจัดเป็นแบบ aril fruit เนื้อเกิดจาก integument ภายในผลแบ่งเป็น 4-8 ช่อง แต่ละช่องมีเมล็ดภายในหุ้มด้วยเนื้อสีขาวใสอ่อนนุ่มคล้ายวุ้น มีเส้น Vain สีชมพูติดอยู่ เนื้อมีสีน้ำตาลประมาณร้อยละ 10 ประกอบด้วย Sacharose, dextrose และ levulose มีกรดและสารอื่นๆ ประกอบ ทำให้มีกลิ่น และรสน่ารับประทาน การเรียงตัวของกลีบคล้ายกับการเรียงตัวของกลีบส้ม ในแต่ละผลจะมีเมล็ดที่เจริญสมบูรณ์ 1-3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมล็ดเท่านั้น ที่เหลือมักลีบไป ค่าเฉลี่ยเมล็ดที่สมบูรณ์ของมังคุดประมาณ 1.6 เมล็ด สำหรับผลมีน้ำหนัก 54.5-79.5 กรัม หรือมากกว่า ผลหนึ่งๆ มีเนื้อประมาณร้อยละ 25-30 มังคุดต้นหนึ่งๆ จะออกผลอย่างน้อย 100 ผล และมากกว่า 500-600 ผล ในประเทศศรีลังกา มังคุดสุกปีละ 2 ครั้ง ครั้งแรกเดือนมกราคม ครั้งหลังในเดือนกรกฎาคม - สิงหาคม ในตรินิแดด ให้ผลในราวเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม

2.4.1.6 เมล็ด รูปร่างคล้ายเปลือกหอย มี 2 ฝา เปลือกหุ้มเมล็ดสีน้ำตาลบางใส ผิวเมล็ดขรุขระ มีร่องเริ่มจาก Hilum มาจนสุดเมล็ด แตกได้ง่าย มีอายุการเก็บสั้น และความแข็งแรงของเมล็ดที่ Hume การกระจายของมังคุดไปยังถิ่นต่างๆ ถูกจำกัด เนื่องจาก อายุของเมล็ดสั้นมาก เมล็ดที่อยู่ในผลจะมีอายุได้ 3-5 สัปดาห์ แต่ถ้าอยู่นอกผลโดยไม่เก็บไว้ในที่ชื้นจะมีอายุได้เพียง 2-3 วัน เท่านั้น ที่จริงแล้วเมล็ดมังคุดไม่ใช่เมล็ดที่แท้จริง เป็นเพียงส่วนที่เจริญมาจากเนื้อเยื่อเพศเมีย (female tissue) เท่านั้น ดังนั้นจึงไม่มีทั้ง embryo และ cotyledous เชื่อกันว่ามังคุดมีพันธุ์เดียว แต่อาจมีการผันแปรบ้าง เช่นพันธุ์ที่ให้ผลสุกช้ากว่าทั่วไป ซึ่งเป็นรายงานจากพม่า และอีกพันธุ์หนึ่งมีกรด มากกว่าปกติ ซึ่งเป็นรายงานของชวา แต่การผันแปรเช่นนี้มีน้อยมาก ทั้งนี้เพราะเมล็ดที่ใช้ในการขยายพันธุ์นั้นเป็นส่วนที่เจริญ โดยไม่มีการผสมและเป็น polyembryony ต้นกล้าที่ได้ ซึ่งไม่ได้มาจาก Zygote แต่เป็น nucellar seedling ซึ่งตรงตามพันธุ์ของต้นแม่ ในประเทศไทย



รูปที่ 2.7 ลักษณะทั่วไปของมังคุด

A : ผลของมังคุด

B : ลำต้นของมังคุด

โดยมากมักพบว่ามีการปลูกมังคุดมากทางภาคตะวันออกและภาคใต้ของไทย จากการศึกษาของ Williams และคณะ (1995) พบว่าเปลือกของมังคุดมีสารประกอบต่างๆ หลายชนิดได้แก่ แทนนิน (tannins) สารในกลุ่ม แซนโทน (xanthones) เช่น การ์ซิโนน (garcinone) การ์ทานิน (gartanin) แมงโกสติน (mangostin) เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของมังคุดเป็นไปอย่างกว้างขวาง ส่วนใหญ่จะสกัดแยกสารจากเปลือกมังคุด เนื่องจากเปลือกมังคุดมีองค์ประกอบทางเคมีที่หลากหลาย และเป็นแหล่งสำคัญของสารเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยสารกลุ่มแซนโทน สามารถยับยั้งเอนไซม์ ไซโคลออกซีจีเนส (cyclooxygenase, COX) ซึ่งทำหน้าที่สร้าง พรอสตาแกรนดิน (prostaglandin) ซึ่งจะพบสูงเมื่อมีอาการอักเสบ (Nakatani และคณะ, 2002) เป็นต้น

นอกจากนี้สารสกัดจากเปลือกมังคุดยังมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย และเชื้อราได้หลายชนิด เช่นแบคทีเรียอันเป็นสาเหตุของท้องเสียได้แก่ *shigella dysenteriae*, *Shigella flexnesi*, *Shigella sonnei*, *Shigella boydii*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Vibrio cholerae* (Shankaranarayan และคณะ, 1979) แบคทีเรียสาเหตุของการเกิดหนอง ได้แก่ *Staphylococcus aureus* เป็นต้น และสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีสรรพคุณในการรักษาโรคผิวหนังที่เกิดจากเชื้อรา เช่น เชื้อกลาก ฮ่องกงฟุต (พะยอม, 2521) นอกจากนี้สารจากเปลือกมังคุดยังเป็นสารที่มีความปลอดภัยสูง (พิเชษฐ์, 2531)โดยพบว่า mangostin มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Anti-bacterial) ลดการอักเสบ (Anti-inflammatory) และ ต่อต้านมะเร็ง (Anti-cancer activities) นักวิจัยได้รายงานสารประกอบแซนโทนว่ามีโครงสร้างใกล้เคียงกับ Mitoxantrone ซึ่งเป็นยารักษาโรคมะเร็ง (ศุภธีรสกุล, 2007)

Limpisathian และคณะ (2008) พบว่าสารที่มีปริมาณมากและมีฤทธิ์ทางชีวภาพดีที่มีการศึกษาได้แก่ α-mangostin สารแอลฟา-แมงโกสติน (α-mangostin) มีคุณสมบัติการเป็นสารแอนตี้ออกซิแดนซ์ (antioxidant) ซึ่งมีผลต่อระบบการป้องกันการทำลายเนื้อเยื่อ (tissue defense system) และปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน(Lipid oxidation) (Sampath, 2007) และมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* อันเป็นสาเหตุของการเกิดฝีหนอง (Mahabusarakum และคณะ, 1983) ส่วน แกมมา-แมงโกสติน (γ-mangostin) และ เบต้า-แมงโกสติน (β-mangostin) พบว่ามีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* ทั้งสายพันธุ์ปกติและสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา เมทิซิลินซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะที่ใช้ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เกิดหนองบนผิวหนัง นอกจากนี้ยังพบฤทธิ์ในการต้านการอักเสบและรักษาแผลอักเสบ และยังมีผลการวิจัยทางการแพทย์รายงานว่า สารในกลุ่ม แอลฟา-แมงโกสติน เบต้า-แมงโกสติน และการ์ซิโนน-บี มีฤทธิ์ในการยับยั้งต่อเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis*

Dilokkunanant และคณะ (2549) พบว่าการสกัดเปลือกมังคุดสดและแห้งด้วยตัวทำละลายเอทานอลเพียงชนิดเดียวโดยวิธีการสกัดเย็นและสกัดร้อน พบว่าปริมาณสารสกัดจากการสกัดสารจากเปลือกมังคุดสดและแห้งด้วยเอทานอลโดยวิธีการสกัดร้อนจะได้ปริมาณสารสกัดหยาบสูงกว่าการสกัดด้วยวิธีการสกัดเย็นและการสกัดสารจากเปลือกมังคุดแห้งจะได้ปริมาณสารสกัดสูงกว่าการสกัดสารจากเปลือกมังคุดสด สารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ได้มีลักษณะเป็นสารเหนียวสีน้ำตาล-น้ำตาลเข้มโดยสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดสดจะมีสีเข้มกว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดแห้ง

ดิลกคุณานันท์ และคณะ (2549) พบว่าจากการศึกษาการสกัดสารจากเปลือกมังคุด พบว่า การสกัดเย็นและสกัดร้อนเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลายเอทานอลเพียงชนิดเดียวจะได้ปริมาณสารสกัดสูงกว่าการสกัดสารจากเปลือกมังคุดแบบต่อเนื่อง และในการสกัดเปลือกมังคุดสดและเปลือกมังคุดแห้งแบบต่อเนื่องพบว่าการสกัดสารด้วยตัวทำละลายอะซิโตนจะให้ปริมาณสารสกัดสูงที่สุดรองลงมาคือ การสกัดด้วยเมทานอล และการสกัดด้วยเฮกเซนให้ปริมาณสารสกัดน้อยที่สุด จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดสดโดยวิธีการสกัดเย็นด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด สารสกัดจากเปลือกมังคุดแห้งโดยวิธีการสกัดเย็นด้วยอะซิโตนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* ได้ดีที่สุด สารสกัดจากเปลือกมังคุดสดโดยวิธีการสกัดร้อนด้วยเอทานอลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. acnes* ได้ดีที่สุด สารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยสารสกัดเย็นจากเปลือกมังคุดแห้งด้วยอะซิโตนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *T. mentagrophytes* ได้ดีที่สุด ในการทดสอบพบว่าสารสกัดเย็นจากเปลือกมังคุดสดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus, S. epidermidis, P. acnes* และ *T . mentagrophytes* ได้ดีสารสกัดจากเปลือกมังคุดไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* และจากการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากเปลือกมังคุดสดโดยวิธีการสกัดเย็นด้วยเอทานอลในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus P. acnes. S. epidermidis* และ *T. mentagrophytes* คือ 128 μg/ml, 256 μg/ml, 4096 μg/ml และ 8192 μg/ml ตามลำดับ

จากการศึกษาของพจนานุกิจ และคณะ (2553) พบว่าการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Propionibacterium acnes* และเชื้อ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 3 ชนิดได้แก่ สารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก หลังจากสกัดพืชทั้ง 3 แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ที่สกัดได้ ด้วยเทคนิค HPLCพบว่าสามารถสกัดสารแซนโทน (Xanthones) จากเปลือกมังคุดได้ 1.1929 mg/g ของเปลือกมังคุด สารเคอร์คูมิน (Curcumin) จากขมิ้นชันได้ 0.8753 mg/g ของขมิ้นชัน และสารเอเชียติโคไซด์ (Asiaticoside) กับสารกรดเอเชียติค (Asiatic acid) จากใบบัวบกได้ 0.0142 และ 0.096 mg/g ของใบบัวบก ตามลำดับ จากการทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุดขมิ้นชันและใบบัวบก พบว่าบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone)ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีค่ามากกว่าสารสกัดจากขมิ้นชันและใบบัวบกที่ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากัน และการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก สำหรับเชื้อ *Propionibacterium acnes* มีค่าเท่ากับ 12.5, 25 และ 200 mg/ml ตามลำดับและเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Staphylococcus aureus มีค่าเท่ากับ 6.25, 12.5 และ 200 mg/ml ตามลำดับ และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด ขมิ้นชันและใบบัวบก สำหรับเชื้อ*Propionibacterium acnes* มีค่าเท่ากับ 25, 50 และ 200 mg/ml ตามลำดับ และเชื้อ *Staphylococcus aureus* มีค่าเท่ากับ 12.5, 25 และ 200 mg/ml ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งเชื้อของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ชนิดพบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดใช้ความเข้มข้นน้อยที่สุด (25 mg/ml) ในการยับยั้ง เชื้อทั้ง 2 ชนิด

ผดุงการ และคณะ (2552) พบว่าการสกัด α-mangostin จากเปลือกมังคุดในชั้น ethanol โดยใช้วิธี column chromatography ซึ่งพบว่าสามารถสกัดสาร α-mangostin เท่ากับ 77.86 % w/w ของปริมาณสารสกัดจากเปลือกมังคุด จากนั้นจึงนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดไปทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด ประกอบด้วย *S. epidermidis*, *S. aureus* และ *P. acnes* พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ โดยมีค่า MIC ต่อเชื้อทั้ง 3 ชนิดเท่ากับ 1.95, 3.9 และ 3.9 μg/ml ตามลาดับ เมื่อนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดมาพัฒนาเป็นสูตรตำรับแผ่นแปะเพื่อต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้ pectin, agar, sodium alginate และ ethyl cellulose เป็นส่วนประกอบ พบว่า แผ่นแปะที่ประกอบด้วย pectin, sodium alginate และ agar มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยพบว่า clear zone ของแผ่นแปะขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.6 mm ต่อเชื้อ *P. acnes, S. epidermidis, S. aureus* เท่ากับ 1.227±0.031 cm, 1.145±0.101 และ 0.953±0.135 cm ตามลำดับ

ศรีสุวรรณ และคณะ (2006) พบว่า พบว่าการสกัดเปลือกมังคุดด้วย ethanol แล้วนำมาแยกโดยใช้ column chromatography โดยใช้ mobile phase ที่ประกอบด้วย petroleum ether และ ethyl acetate อัตราส่วน 7:3 และใช้ silica gel เป็น stationary phase ให้สารสกัดที่มีปริมาณสารสำคัญ α-mangostin ในปริมาณสูง วิเคราะห์หาปริมาณ α-mangostin ได้ 74.43 ± 8.33 % w/w และ 71.55 ± 0.79 % w/w และได้ทำการเตรียมแผ่นฟิล์มต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเปลือกมังคุดโดยผสมเพคตินร้อยละ 0.4 (น้ำหนักโดยปริมาตร) และไคโตซานร้อยละ 1.0 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ในสารละลายกรดแลคติกร้อยละ 0.5 และสารละลายของสารสกัดเปลือกมังคุดโดยใช้ propylene glycol เป็นตัวทำละลาย ศึกษาผลต้านเชื้อแบคทีเรียของแผ่นฟิล์มที่เตรียมได้โดยใช้ Agar diffusion method เตรียมแผ่นฟิล์มที่นำมาทดสอบด้วยกัน 3 ความเข้มข้นคือ 200 μg/ml, 1000 μg/ml และ 2000 μg/ml พบว่าแผ่นฟิล์มทั้ง 3 ความเข้มข้นมีผลต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยปรากฏ Inhibition zone เท่ากับ 6.38 ± 0.03 mm, 6.77 ± 0.14 mm และ 7.47 ± 0.15 mm ตามลำดับ โดยฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกมังคุดเพิ่มขึ้น

2.5. การสกัดสารจากพืช (พิมพร, 2547)

พืชแต่ละชนิดหรือแต่ละส่วนนั้นมีองค์ประกอบเป็นสารสำคัญหลายชนิดรวมกันอยู่ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 สารในกลุ่มไขมัน (Lipids)

สารในกลุ่มไขมันหมายถึง น้ำมันระเหยยาก (fixed oils) ไขมัน (fats) และไขแข็ง (wax) โดยสารในกลุ่มนี้จะเป็นเอสเทอร์ของกรดสเตรียริก (stearic acid) กรดปาล์มมิติก (palmitic acid) กรดโอเลอิก (oleic acid) กรดไลโนเลอิก (linoleic acid) กรดไมริสติก (myristic acid) และกรดปาล์มมิโตเลอิก (palmitoleic acid) อยู่รวมกับ trihydric alcohol จึงถูกเรียกว่า ไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) ส่วนไขแข็งมักเป็น monohydric alcohol ของ acetyl myristyl และ stearyl alcohol โดยในพืชนั้นพบว่าไขมันมักอยู่รวมกับโปรตีน และส่วนมากจะเป็นอาหารสำรองสะสมในเมล็ดสปอร์และเนื้อในของผล

2.5.2 สารประกอบฟีนอล (Phenols)

สารประกอบฟีนอลเป็นสารประกอบพวกอะโรมาติก (aromatic) ต่อกับกลุ่มไฮดรอกซิล (hydroxyl) เมื่อละลายในน้ำจะแสดงคุณสมบัติเป็นกรดอ่อนๆ มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อโรคและลดการอักเสบ สารประกอบฟีนอลจะพบมากในพืชโดยอยู่รวมกับน้ำตาลในรูปไกลโคไซด์ (glycosides) เรียกว่า phenolic glycosides ยกตัวอย่างกรดฟีนอลิกที่พบในพืชเช่น caffeic acid เป็นต้น

2.5.3 สารกลุ่มแทนนิน (Tannins)

สารในกลุ่มแทนนินมีโครงสร้างเป็นสารเชิงซ้อนในรูป polyphenols สามารถละลายได้ในน้ำ สารละลายด่างเจือจาง แอลกอฮอลล์ และอะซิโตน สารกลุ่มแทนนินจะมีรสขม ฝาด พบในส่วนต่างๆของพืช เช่น ผล เปลือก ลำต้น ใบ เป็นต้น โดยสารแทนนินสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มดังนี้

2.5.3.1 True tannin ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มย่อยคือ

ก. Hydrolysable หรือ pyrogallol tannins เกิดจากสารประกอบ polyhydric เช่น gallic acid หรือ ellagic acid จับกันเป็นโมเลกุลใหญ่โดยสารในกลุ่มนี้จะมีสีเหลือง-น้ำตาล มีรสฝาด พบมากในส่วนใบ ฝัก และส่วนที่ปูดออกมาจากปกติ

ข. Condensed หรือ catechol tannins เป็น polymer ของสารประกอบฟีนอลิก โดยสารกลุ่มนี้จะไม่ถูกย่อยสลาย แต่เมื่อถูกกรดหรือเอนไซม์มักจะสลายให้สารที่มีสีแดงซึ่งไม่ละลายในน้ำเรียกว่า pholbaphene มักพบได้ในส่วนเปลือกต้นและแก่นไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.4 สารกลุ่ม Pseudo tannin

สารกลุ่ม Pseudo tannin เป็นสารที่มีสมบัติบางอย่างคล้ายกับ True tannin ได้แก่ gallic acid, catechin, ellagic acid เป็นต้น

2.5.5 สารกลุ่มแอลคาลอยด์ (Alkaloids)

สารในกลุ่มแอลคาลอยด์เป็น basic nitrogeneous compounds ที่พบในพืชมีดอกโดยส่วนใหญ่จะพบในผล ลำต้น เปลือก ราก ใบ และเมล็ด มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในอีเทอร์ และตัวทำละลายชนิดไม่มีขั้ว โดยพืชแต่ละชนิดจะสร้างและสะสมสารแอลคาลอยด์แต่ละชนิดในปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาวะต่างๆ ตัวอย่างสารในกลุ่มแอลคาลอยด์เช่น indole เป็นต้น

2.5.6 สารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)

สารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตมีองค์ประกอบของคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน ที่พืชสามารถผลิตขึ้นได้ด้วยการสังเคราะห์แสงและจัดเก็บไว้เป็นอาหาร โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มคือ

2.5.6.1 True sugar ได้แก่ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเช่น pentose, xylose, fructose เป็นต้น และน้ำตาลโมเลกุลคู่เช่น maltose, lactose, cellobiose เป็นต้น

2.5.6.2 Polysaccharides ได้แก่ starch, dextrin, cellulose เป็นต้น

2.5.6.3 Derived carbohydrate ได้แก่ hemicelluloses, pectin, gums เป็นต้น

2.5.7 สารกลุ่มไกลโคไซด์ (Glycosides)

สารกลุ่มไกลโคไซด์เป็นสารที่มีโครงสร้างซับซ้อน เมื่อถูกย่อยสลายด้วยสารเคมีหรือเอนไซม์จะได้โครงสร้างส่วนที่เป็นน้ำตาลเรียกว่า glycone และส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลเรียกว่า aglycone โดยสารไกลโคไซด์ที่มีอยู่ในพืชจะทำหน้าที่สะสมน้ำตาล ควบคุมและกำจัดสารพิษอีกทั้งยังช่วยป้องกันอันตรายที่จะเกิดต่อพืชด้วย

2.5.8 สารกลุ่มเรซิน (Resins and resin combinations)

สารกลุ่มเรซิน เป็นของแข็งใสหรือโปร่งแสง เปราะ มีองค์ประกอบทางเคมีที่ซับซ้อน ที่พืชหลั่งออกมาเมื่อเป็นโรค โดยจะมีสมบัติเป็นยาพบรวมอยู่กับน้ำมันหอมระเหย เรียกว่าโอลีโอเรซิน (Oleoresins) มีสถานะเป็นของเหลวหรือกึ่งแข็งกึ่งเหลว และหากอยู่รวมกับ gums จะเรียกว่า กัมเรซิน (gum-resins) และหากอยู่รวมกับไกลโคไซด์เรียกว่า ไกลโคเรซิน (glycoresins)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.5.9 สารกลุ่มน้ำมันหอมระเหย (Volatile oils หรือ Essential oils)

สารกลุ่มน้ำมันหอมระเหยเป็นสารอินทรีย์ที่มีองค์ประกอบสลับซับซ้อน มีลักษณะเป็นของเหลวใสไม่มีสีหรือมีสีอ่อนๆ มีกลิ่นเฉพาะตัว ระเหยง่ายที่อุณหภูมิปกติ โดยมากมักพบบริเวณโครงสร้างที่เป็นต่อมของพืชเช่น grandular hairs, lysigenous เป็นต้น หรือบางครั้งอาจพบได้ในกลีบดอก กลีบเลี้ยง ลำต้น ใบ ผล เมล็ด และเปลือก ซึ่งจะประกอบด้วยสาระสำคัญ 2 กลุ่มคือพบ

2.5.9.1 Terpenes สารกลุ่มนี้พบในน้ำมันหอมระเหยโดยจัดเป็นพวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ได้แก่ monoterpenes เช่น citral, geraniol, menthol เป็นต้น

2.5.9.2 Phenylpropanoids ได้แก่ eugenol และ anethole

2.6 จุลินทรีย์ (นงลักษณ์, 2545)

ร่างกายคนเราเป็นที่อยู่อาศัยและเป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์หลากหลายชนิด โดยจุลินทรีย์อาจอยู่ได้ที่ผิวหนัง โพรงจมูก เยื่อเมือกในช่องปาก ทางเดินอาหาร หรือทางเดินหายใจ โดยความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียและโฮสต์มีทั้งแบบ **ภาวะเกื้อกูล (commensal)** หมายถึงฝ่ายโฮสต์ได้ประโยชน์เพียงฝ่ายเดียว **ภาวะพึ่งพา (mutualism) หรือเชื้อประจำถิ่น (normal flora)** คือทั้งจุลินทรีย์และโฮสต์ได้ประโยชน์ทั้ง 2 ฝ่าย แต่ในบางครั้งเชื้อประจำถิ่นอาจฉวยโอกาสทำให้เกิดโรคได้เมื่อภูมิคุ้มกันของโฮสต์ต่ำลงและ **ภาวะปรสิต (parasitism)** เป็นภาวะที่จุลินทรีย์เข้ามาอาศัยในร่างกายโฮสต์และได้ประโยชน์จากโฮสต์ฝ่ายเดียว และยังทำลายโฮสต์จนทำให้เกิดโรคขึ้น โดยเราจะเรียกจุลินทรีย์เหล่านี้ว่า เชื้อก่อโรค (pathogens)

ดังนั้นจึงอาจแบ่งจุลินทรีย์ออกเป็น 3 ประเภทคือ

1.พวกก่อโรค (strict pathogens)

2.พวกไม่ก่อโรค (non pathogens)

3.พวกฉวยโอกาส (opportunistic pathogens)

พวกก่อโรคจะเป็นเชื้อที่เกี่ยวข้องหรือเป็นสาเหตุของโรค เช่น *Mycobacterium tuberculosis* เป็นสาเหตุของโรควัณโรค ส่วนเชื้อที่ปกติเป็นเชื้อประจำถิ่นในร่างกายแต่บางครั้งก็ฉวยโอกาสทำให้เกิดโรคได้เช่น *Escherichia coli* ซึ่งเป็นเชื้อประจำถิ่นอยู่ภายในลำไส้ของคนปกติ แต่ก็เป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะและท้องร่วงได้ นอกจากนี้เชื้อบางชนิดยังฉวยโอกาสก่อโรคในคนที่มีภูมิคุ้มกันร่างกายต่ำ เช่น *Xanthomonas maltophilia* เป็นต้น โดยปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมีดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

117330

1. ปัจจัยจากเชื้อจุลินทรีย์ได้แก่ ความรุนแรงของเชื้อ การบุกรุกของเชื้อ จำนวนเชื้อโรค เป็นต้น

2. ปัจจัยทางสรีระวิทยาของโฮสต์ ได้แก่ การบาดเจ็บ การอักเสบ เป็นต้น

3. ปัจจัยจากเซลล์โฮสต์ ได้แก่ กระบวนการฟาโกไซโทซิส (phagocytosis) โดยแมโครฟาจ (macrophage) พอลิมอร์โฟนิวเคลียร์ลิวโคไซต์ (polymorphonuclear leucocyte) และลิมโฟไซต์ (lymphocyte)

4. ภูมิคุ้มกันแบบฮิวเมอรัล (Humoral immunity) ได้แก่ แอนติบอดี (antibody) คอมพลีเมนต์ (complement) อินเตอร์เฟียรอน (interferon)

5. ปัจจัยทางสังคมและเศรษฐกิจ ได้แก่ ที่อยู่อาศัย สุขอนามัย อาชีพและสภาพแวดล้อม

6. ปัจจัยอื่นๆ ได้แก่ โภชนาการ อายุ เชื้อชาติ เป็นต้น

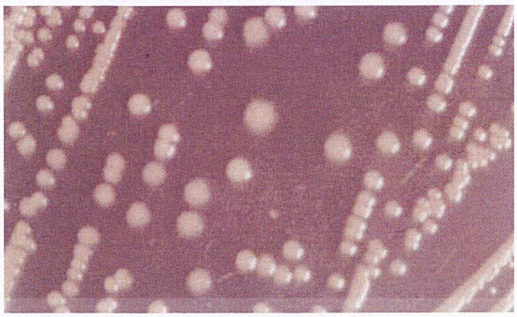
2.6.1 *Escherichia coli*

รูปที่ 2.8 แสดงลักษณะของ *Escherichia coli*

Escherichia coli หรือ *E. coli* เป็นเซลล์รูปท่อน ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ อาจเคลื่อนที่หรือไม่เคลื่อนที่ บางสายพันธุ์ที่แยกได้จากนอกลำไส้สามารถสร้างแคปซูลได้

ลักษณะของโคโลนี : โคโลนีเรียบ ไม่มีสี หรือมีสีใสๆ ดังรูปที่ 2.8 แต่หากเลี้ยงในอาหารที่แสดงความแตกต่าง (differential media) เช่นในอาหาร Mac Conkey agar จะได้โคโลนีที่มีสีแดงชมพู ขนาดใหญ่ ดังรูปที่ 2.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.9 แสดงลักษณะของโคโลนีของ *Escherichia coli*

ที่มา : http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_1_001c.asp?info_id=1079

ปัจจัยในการทำให้เกิดโรค

การที่ *E. coli* สามารถก่อให้เกิดโรคได้นั้นเนื่องจากมี virulence factors หลายชนิดที่ไม่พบใน *E. coli* ที่เป็นเชื้อประจำถิ่น (normal flora) โดยอย่างน้อยที่สุดจะต้องมีปัจจัยอย่างใดอย่างหนึ่งดังนี้

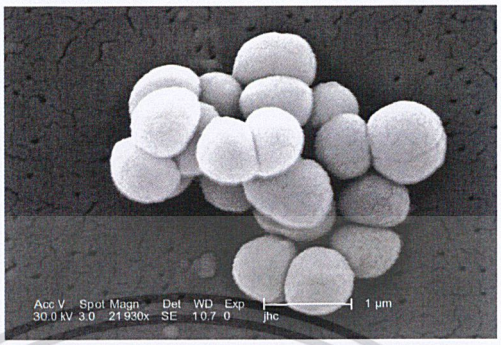
1. มีความสามารถในการเกาะติดกับเซลล์บางชนิดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม
2. มีความสามารถบุกรุกและเข้าไปเจริญในเซลล์ของเยื่อบุผิวลำไส้
3. มีความสามารถในการสร้าง enterotoxin ซึ่งจะทำให้ร่างกายสูญเสียน้ำและของเหลวต่างๆ จึงเกิดอาการท้องร่วง และมีการสร้าง cytotoxin ที่จะไปขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน ซึ่งทำให้เกิดการตกเลือดที่ลำไส้ (hemorrhagic colitis)
4. มีความสามารถในการสร้างแคปซูลทำให้ไม่ถูกเม็ดเลือดขาวจับกิน

โดย *E. coli* สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรค อาจทำให้เกิดโรคดังนี้คือ

- ท้องร่วง (gastroenteritis)
- ทางเดินปัสสาวะอักเสบ (urinary tract infections)
- โลหิตเป็นพิษ (septicemia)
- เยื่อหุ้มสมองอักเสบ (neonatal meningitis)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 *Micrococcus luteus* (วิลาวัณย์, 2539)



รูปที่ 2.10 แสดงลักษณะของ *Micrococcus luteus*

ที่มา : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Micrococcus_luteus 9761.jpeg

Micrococcus luteus หรือ *M. luteus* มีรูปร่างกลม ขนาดเล็ก เรียงตัวกันเป็นกลุ่มๆ ดังรูปที่ 2.10 ติดสีแกรมบวก

ลักษณะของโคโลนี : โคโลนีจะนูน มีสีเหลืองซึ่งสามารถแพร่ลงไปในอาหารได้ ดังรูปที่ 2.11

รูปที่ 2.11 แสดงลักษณะของโคโลนีของ *Micrococcus luteus*

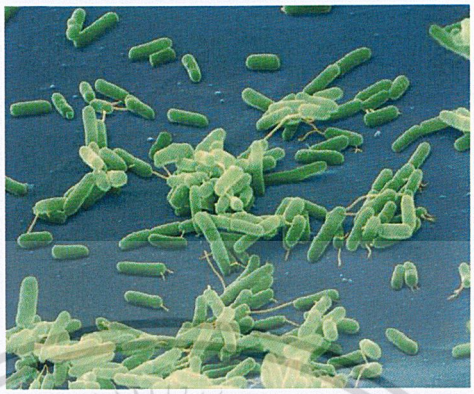
ที่มา : http://carlojoseph14.blog.com/2010/02/07/the-microbiology-experience/

ปัจจัยในการทำให้เกิดโรค

M. luteus เป็น normal flora เชื้อมักอยู่ที่รักแร้ ศีรษะ จมูก แขน และขา และยังเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหารหลายประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์ประเภทเนื้อ ไก่ ปลา หอย รวมทั้งไส้กรอกและหมูแฮม

2.6.3 *Pseudomonas aeruginosa*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

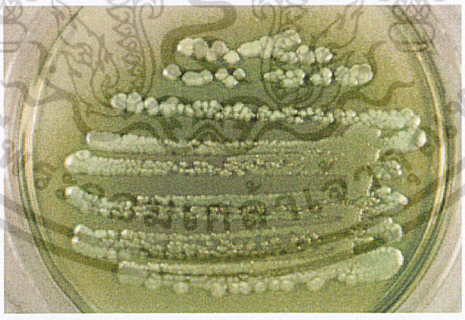


รูปที่ 2.12 แสดงลักษณะของ *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา : http://blog.sciencemusings.com/2005_10_01_archive.html

*Pseudomonas aeruginosa*หรือ *P.aeruginosa* มีลักษณะเป็นรูปท่อนหรือโค้งเล็กน้อย ดังรูปที่ 2.12 เคลื่อนที่ได้ ติดสีแกรมลบ

ลักษณะของโคโลนี : สามารถสร้างรงควัตถุซึ่งมีอยู่ 2 ชนิด คือ รงควัตถุไพโอไซยานิน (pyocyanin) มีสีเขียวอมฟ้า และ ไพโอเวอดิน (pyoverdin) มีสีเขียวอมเหลืองและเรืองแสง (fluorescens) เมื่อส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเลต



รูปที่ 2.13 แสดงลักษณะของโคโลนีของ *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา : http://textbookofbacteriology.net/themicrobialworld/Pseudomonas.html

ปัจจัยในการทำให้เกิดโรค

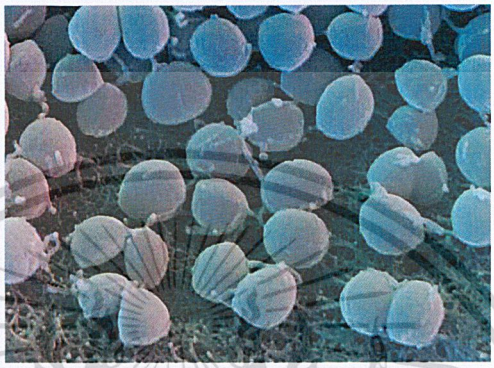
P. aeruginosa เป็นเชื้อที่ฉวยโอกาสทำให้เกิดโรคในคนที่มีสุขภาพร่างกายอ่อนแอหรือมีภูมิ คุ้มกันต่ำ หรือเข้าทางบาดแผลต่างๆเช่น ผิวหนังถลอก เป็นต้น โดย *P. aeruginosa* สามารถก่อให้เกิดโรคได้ดังนี้

- การติดเชื้อในกระแสเลือด (bacteremia) และเยื่อบุหัวใจอักเสบ (endocarp-ditis)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- การติดเชื้อที่ปอด (pulmony infections)
- การติดเชื้อที่อวัยวะอื่นเช่น ทางเดินอาหาร ทางเดินปัสสาวะ เป็นต้น

2.6.4 *Staphylococcus aureus*



รูปที่ 2.14 แสดงลักษณะของ *Staphylococcus aureus*

ที่มา : http://blog.sciencemusings.com/2005_10_01_archive.html

Staphylococcus aureus หรือ *S. aureus* มีรูปร่างทรงกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น อาจพบเป็นเซลล์เดี่ยวๆ เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ (โดยมากมักไม่เกิน 4 เซลล์) อยู่ปะปนกันเสมอ ดังรูปที่ 2.14 ย้อมติดสีแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ และไม่เคลื่อนที่ บางสายพันธุ์มีการสร้างแคปซูล

ลักษณะของโคโลนี : โคโลนีกลม ขอบเรียบ นูน มีสีครีม เหลือง ส้ม ดังรูปที่ 2.15

รูปที่ 2.15 แสดงลักษณะของโคโลนีของ *Staphylococcus aureus*

ที่มา http://lipas.uwasa.fi/~TAU/memos/AUTOaivo/slides.php?Mode=Printer

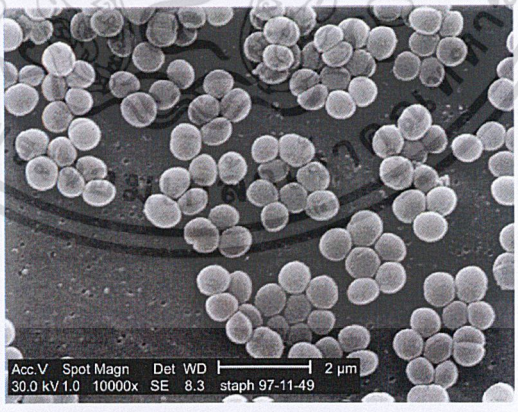
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัยในการทำให้เกิดโรค

S. aureus โดยมากมักปนเปื้อนอยู่ในอาหารต่างๆเช่น เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ครีมต่างๆ รวมถึงผลิตภัณฑ์ประเภทสลัดและนม ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมหรือเก็บไว้เป็นเวลานานก่อนรับประทาน โดย *S. aureus* นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค minor skin infection เช่น สิว หนอง และเชื้อ *S. aureus* สามารถ infect ได้ในเนื้อเยื่อต่างๆ เมื่อเกิดบาดแผลต่างๆ เช่น ผิวหนังหรือเยื่อบุเกิดการฉีกขาด เป็นต้น ซึ่งจะชักนำให้เกิดฝี การติดเชื้อ *S. aureus* สามารถแพร่กระจายผ่านทางหนอง จากแผลหนอง จากแผลที่ติดเชื้อ จากการสัมผัสจากผิวหนังสู่ผิวหนัง (skin-to-skin contact) ของผู้ติดเชื้อ และจากวัตถุต่างๆ ที่ถูกใช้โดยผู้ที่ติดเชื้อ เช่นผ้าเช็ดตัว เสื้อผ้า เป็นต้น โดยสามารถก่อให้เกิดโรคได้ดังนี้

- การติดเชื้อที่ผิวหนัง
- ไขกระดูกอักเสบ (osteomyelitis) และโพรงข้อต่อมีหนอง (pyoarthrosis)
- การติดเชื้อในกระแสเลือดและเยื่อบุหัวใจอักเสบ (bactere-mia and endocarditis)
- อาหารเป็นพิษ (food poisoning)
- ลำไส้อักเสบ (enterocolitis)
- ช็อก (toxic shock, TSS)

2.6.5 *Staphylococcus epidermidis*



รูปที่ 2.16 แสดงลักษณะของ *Staphylococcus epidermidis*

ที่มา : http://www.lysocare.com/web/enzymetechnology.html?showall=1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Staphylococcus epidermidis หรือ *S. epidermidis* มีรูปร่างกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น อาจพบเป็นเซลล์เดี่ยวๆ เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ (โดยมากมักไม่เกิน 4 เซลล์) อยู่ปะปนกันเสมอ ดังรูปที่ 2.16 ย้อมติดสีแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ และไม่เคลื่อนที่ บางสายพันธุ์สร้างแคปซูล

ลักษณะของโคโลนี : โคโลนีกลม ขอบเรียบ นูน มีสีขาวครีม ดังรูปที่ 2.17

รูปที่ 2.17 แสดงลักษณะโคโลนีของ *Staphylococcus epidermidis*

ที่มา : http://student.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanua/lab3/cnase.html

ปัจจัยในการทำให้เกิดโรค

S. epidermidis เป็นเชื้อที่มีความจำเพาะกับโฮสต์ซึ่งก็คือคน โดยจะเป็น normal flora เชื้อมักอยู่ที่รักแร้ ศีรษะ จมูก แขน และขา โดยการติดเชื้อชนิดนี้มักเกิดในโรงพยาบาล ซึ่งเกิดจากการปนเปื้อนจากบริเวณผิวหนังหรือนาโซฟาริงซ์ของคนไข้ โดยเชื้อนี้มีความรุนแรงต่ำ แต่หากระบบภูมิคุ้มกันของ โฮสต์บกพร่องก็อาจทำให้เกิดการติดเชื้อรุนแรง โดยมากมักเกิดการติดเชื้อกับสิ่งที่แปลกปลอมภายในร่างกายเช่น ลิ้นหัวใจเทียม ข้อต่อเทียม เป็นต้น

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Shih และคณะ (2009) ทำการผสมเซลลูโลสและไคโตซานใน *N*-methylmorpholine-*N*-oxide (NMMO) และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 70 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร จากนั้นนำไปเข้าเครื่องบีบอัดเพื่อขึ้นรูปแผ่นฟิล์มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 นาที จะได้แผ่นฟิล์มสีส้มโปร่งแสง หลังจากล้างด้วยน้ำปราศจากไอออนและผ่านการทำแห้งนั้นจะได้ฟิล์มสีค่อนข้างเหลืองโปร่งแสง ในการตรวจสอบโดยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่าเมื่อปริมาณของไคโตซานในส่วนผสมเพิ่มขึ้นร้อยละ 3 โครงสร้างพื้นผิวจะเรียบ แต่เมื่อเพิ่มปริมาณไคโตซานเป็นร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก พบว่าแผ่นฟิล์มที่ได้มีลักษณะผิวไม่เรียบ เนื่องจากเกิดการแยกตัวของสาร นอกจากนี้ยัง

เอกสารนี้ถูกสงวนลิขสิทธิ์ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีการทดสอบค่าการต้านทานของแรงดึง การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย โดยพบว่าการเพิ่มปริมาณไคโตซานในแผ่นฟิล์มมีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ส่วนการทดสอบเคลียร์โซนจากแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีส่วนผสมของไคโตซานจากการทดสอบครั้งนี้พบว่าแผ่นฟิล์มดังกล่าวนั้นมีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรีย

Phisalaphong และคณะ (2008) ได้ทำการศึกษาโครงสร้างและคุณสมบัติของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส ที่ผลิตจากเชื้อ *Acetobacter xylinum* ซึ่งมีการปรับปรุงโดยการเติมไคโตซาน 0.75 % โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ แผ่นฟิล์มแบคทีเรียเซลลูโลสที่ผสมไคโตซาน จะมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน และมีโครงสร้างเส้นใยที่หนาแน่นขึ้น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กลง และมีพื้นที่ผิวหน้ามากขึ้นเมื่อ เทียบกับแผ่นฟิล์มแบคทีเรียเซลลูโลสที่ไม่มีการเติมไคโตซานลงไป ขนาดของรูพรุนของแผ่นฟิล์มแบคทีเรียเซลลูโลสจะมีขนาด 224 อังสตรอม แผ่นฟิล์มแบคทีเรียเซลลูโลสไคโตซาน-มวลโมเลกุล 30000 จะมีขนาดของรูพรุน 151 อังสตรอม และแผ่นฟิล์มแบคทีเรียเซลลูโลสไคโตซาน-มวลโมเลกุล 80000 จะมีขนาดของรูพรุน 132 อังสตรอม เมื่อนำมาวิเคราะห์โครงสร้างโดยใช้เครื่อง FTIR spectra จะแสดงให้เห็นถึงปฏิกิริยาภายในโมเลกุลระหว่างแบคทีเรียเซลลูโลสและไคโตซาน สำหรับคุณสมบัติเชิงกลแผ่นฟิล์มจะมีความแข็งแรงขึ้น และความสามารถในการดูดซับน้ำของแผ่นฟิล์มจะมีการดูดซับน้ำสูงขึ้นเป็น 1.4-1.6 และ 1.3-1.4 เท่า ตามลำดับ อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ เป็นการใช้ไคโตซานที่มีมวลโมเลกุลที่ต่ำเกินไป และความเข้มข้นต่ำ จึงไม่ส่งผลต่อคุณสมบัติบางประการของแผ่นฟิล์ม เช่น อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ ค่าดรรชนีของความเป็นผลึก และคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์

รุ่งศิลป์ (2010) ทำการเพาะเลี้ยง *Acetobacter xylinum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อปลายข้าว ทำให้ได้เซลลูโลสที่มีคุณสมบัติเหนียวกว่าและใสกว่าเลี้ยงด้วยน้ำสับปะรด ซึ่งเซลลูโลสชีวภาพนี้สามารถเป็นวัสดุใช้งานได้หลากหลาย เช่น ทำสำลี แผ่นปิดแผล ทั้งนี้แผ่นเซลลูโลสปิดแผลช่วยให้แผลสามารถเยียวยาตัวเองได้ดีและทำให้หายเร็วขึ้น เนื่องจากแผ่นเซลลูโลสช่วยให้ผิวหนังชุ่มชื้นอย่างเหมาะสม ซึ่งทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวตายช้าลง ส่งผลให้เซลล์แข็งแรง สามารถต่อสู้ทำลายเชื้อโรคและเนื้อตายได้ดีขึ้น ขณะเดียวกันความชุ่มชื้นสูงยังส่งผลให้เซลล์ที่เกิดใหม่สามารถเคลื่อนตัวได้ดี อาทิ เซลล์หลอดเลือดใหม่ๆ เซลล์ผิว และเซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ส่วนความเย็นช่วยลดอาการปวดของบาดแผลได้

Saibuatong และคณะ (2010) ได้พัฒนาไบโอโพลีเมอร์ชนิดใหม่ที่ประกอบด้วยแผ่นฟิล์มเซลลูโลสและเจลว่านหางจระเข้ โดยทำการเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* ที่มีความสามารถในการสร้างเส้นใยเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมเจลว่านหางจระเข้ในสภาวะนิ่ง จากนั้นทำการวิเคราะห์ปฏิสัมพันธ์ที่เกิดขึ้นระหว่างเส้นใยเซลลูโลสและเจลว่านหางจระเข้ด้วยวิธี Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FTIR) เมื่อเติมเจลว่านหางจระเข้ที่มีปริมาณร้อยละ 30 ปริมาตรต่อปริมาตรในอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อพบว่าเจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลว่านหางจระเข้มีผลทำให้แผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ได้ มีความแข็งแรงเชิงกล ช่วยให้เกิดผลึก มีความสามารถในการดูดซับน้ำ และความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำที่ดีขึ้น นอกจากนี้ค่าเฉลี่ยของปริมาณรูพรุนบนแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีการเติมเจลว่านหางจระเข้ทั้งแบบที่เป็นแผ่นฟิล์มเซลลูโลสแบบแห้งและแบบเปียกจะมีปริมาณลดลง 1 ส่วนใน 5 ส่วน และมีขนาดของรูพรุนที่เล็กลงเมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นฟิล์มเซลลูโลสปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

ใช้เชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976

และเชื้อ *Escherichia coli, Micrococcus luteus, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* จุลินทรีย์เหล่านี้ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.1.2 วัตถุดิบ

น้ำมะพร้าวแก่ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากการผลิตน้ำกะทิ

เปลือกมังคุด

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

อาหารสูตรน้ำมะพร้าว

HS Medium (Hestrin and Schramm, HS)

MHA (Mueller hinton agar)

MHB (Mueller hinton broth)

3.1.4. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

เอทานอลร้อยละ 95

ปิโตรเลียมอีเทอร์

เอทิลอะซีเตต

โซเดียมไฮดรอกไซด์

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์

บีกเกอร์ขนาด 250, 500, 1000 มิลลิลิตร

ขวดรูปชมพู่ขนาด 250, 500 มิลลิลิตร

ปิเปตขนาด 1, 5, 10 มิลลิลิตร

หลอดทดลอง

ลูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ช้อนตักสาร

แท่งแก้วคนสาร

ผ้าขาวบาง

ขวดโหล

กระบอกตวงขนาด 500 มิลลิลิตร

จานเพาะเชื้อ

จุกยาง

ตะเกียงแอลกอฮอล์

ขวดสีชา

ตู้อบลมร้อน รุ่น D06063 Memmert

เครื่องชั่งน้ำหนัก รุ่น METTLEK PG 803

ตู้ดูดไอสารเคมี

ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow) รุ่น LAB SERVICE V6

ตู้บ่มเชื้อ รุ่น Memmert Gmblt+co.KG

หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ รุ่น TOMY ES-315

3.2 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

การดำเนินงานแบ่งเป็นขั้นตอน ดังนี้

3.2.1 การเตรียมสารสกัดเปลือกมังคุด

ในการเตรียมสารสกัดจากเปลือกมังคุดทำได้ 2 วิธี ดังนี้

I. สกัดโดยใช้เอทานอลร้อยละ 95

โดยนำเปลือกมังคุดล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ และนำไปอบแห้ง ด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน นำไปบดให้ละเอียด ชั่งน้ำหนักให้ได้ 1 กิโลกรัม ห่อด้วยผ้าขาว 2 ชั้น จากนั้นทำการสกัดสารจากเปลือกมังคุดแห้งด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 2 ลิตร โดยแช่เปลือกมังคุดในเอทานอลเป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดกรองเอากากมังคุดออก นำสารสกัดที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบเปลือกมังคุด นำมาชั่งน้ำหนัก คำนวณร้อยละของสารสกัดที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

II. สกัดโดยใช้วิธี Solvent sequential extraction

โดยนำเปลือกมังคุดล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ และนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน นำไปบดให้ละเอียดและชั่งน้ำหนักให้ได้ 1 กิโลกรัม ห่อด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น จากนั้นทำการสกัดสารจากเปลือกมังคุดแบบต่อเนื่องด้วยตัวทำลาย 3 ชนิด ดังนี้ แช่ในในปิโตรเลียมอีเทอร์ ปริมาณ 2 ลิตร เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นกรองสารที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนสำหรับเปลือกมังคุดที่เหลือนำไปแช่ในเอทิลอะซิเตต ปริมาตร 2 ลิตร เป็นเวลา 7 วัน กรองเอาเปลือกมังคุดออก นำส่วนที่กรองได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนเปลือกมังคุดที่เหลือนำไปแช่ในเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 2 ลิตร เป็นเวลา 7 วัน กรองเอาเปลือกมังคุดออก นำส่วนที่กรองได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน จะได้สารสกัดหยาบ (crude extract) 3 ส่วนดังนี้

สารสกัดหยาบในส่วนปิโตรเลียมอีเทอร์

สารสกัดหยาบในส่วนเอทิลอะซิเตต

สารสกัดหยาบในส่วนเอทานอล

นำสารสกัดหยาบที่ได้ชั่งน้ำหนัก และคำนวณร้อยละของสารสกัดที่ได้

3.2.2 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุดโดยวิธี Disc diffusion

3.2.2.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบมี 5 ชนิด โดยมี *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ และเชื้อ *Micrococcus luteus* , *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก นำโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ที่เจริญบนอาหาร Nutrient agar (NA) หนึ่งโคโลนีใส่ในหลอดสารละลายโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.85 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร นำสารแขวนลอยเซลล์มาปรับเทียบความขุ่นของ McFarland standard No. 5 จะได้สารแขวนลอยเซลล์ที่มีความหนาแน่นประมาณ 1.5×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นเจือจางต่อด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 0.85 ให้มีสารแขวนลอยเซลล์ที่มีความหนาแน่น 1.0×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

3.2.2.2 วิธีการเตรียมสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบ

ละลายสารสกัดจากเปลือกมังคุด โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 เจือจางให้สารสกัดมีความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจากนั้นนำสารสกัด 20 ไมโครลิตร หยดลงแผ่นดิสก์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร สำหรับแผ่นดิสก์ชุดควบคุมจะใช้เอทานอลร้อยละ 95 หยดลงแผ่นดิสก์แทนสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.3 วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

เตรียมอาหารแข็ง MHA ในจานเพาะเชื้อ ใช้ไม้พันสำลี ชุบสารแขวนลอยของเชื้อแต่ละชนิดที่ได้จากข้อ 3.2.2.1 มาป้ายที่อาหารแข็ง MHA วางแผ่นดิสก์ที่หยดสารสกัด และแผ่นดิสก์ชุดควบคุมลงบนอาหารที่ป้ายเชื้อซึ่งมีแผ่นดิสก์ที่ใช้เป็น negative control คือเอทานอลร้อยละ 95 และใช้ยาปฏิชีวนะ Doxycycline เป็น positive control สำหรับแบคทีเรียแกรมบวก และใช้ Amoxicillin เป็น positive control สำหรับแบคทีเรียแกรมลบ นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับ *E. coli, P. aeruginosa, S. aureus, S. epidermidis* สำหรับ *M. luteus* บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การทดสอบจะทำ 3 ซ้ำ (Murry et al. 1999) จากนั้นวัดบริเวณวงใสที่เกิดขึ้นรอบแผ่นดิสก์ คัดเลือกสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่นำมาทดสอบได้ดีที่สุด เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาต่อไป

3.2.3 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่นำมาทดสอบ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) โดยวิธี Disc diffusion

นำสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่นำมาทดสอบซึ่งทำให้เกิดบริเวณวงใสสูงสุดมาหาค่า MIC โดยวิธี Disc diffusion ทำได้โดยนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดในส่วนของตัวทำละลายที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีละลายในเอทานอลร้อยละ 95 โดยเตรียมความเข้มข้นของสารสกัด ดังนี้ 200 100 50 25 12.50 6.25 3.13 1.56 0.78 0.39 และ 0.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเตรียมอาหารแข็ง MHA ในจานเพาะเชื้อ ใช้ไม้พันสำลีชุบเซลล์แขวนลอยที่เตรียมไว้ในหัวข้อ 3.2.2.1 ทาให้ทั่วผิวหน้าของอาหารแข็ง MHA วางแผ่นดิสก์ที่หยดสารสกัดและแผ่นดิสก์ชุดควบคุมลงบนอาหารที่ป้ายเชื้อ มีแผ่นดิสก์ที่ใช้เป็น negative control คือ เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และใช้แผ่นดิสก์ที่เป็น positive control คือยาปฏิชีวนะ Doxycycline และ Amoxicillin สำหรับแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ตามลำดับ วางลงบนผิวหน้าอาหารแข็ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ยกเว้น *M. luteus* นำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นวัดบริเวณวงใสที่เกิดขึ้นรอบแผ่นดิสก์ ทำการทดลองเชื้อละ 3 ซ้ำ จะได้ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทดสอบได้ บันทึกเป็นค่า MIC

3.2.4 การหมักเซลลูโลสจากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976

3.2.4.1 การเตรียมหัวเชื้อ

นำเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ที่เก็บในรูปเชื้อแช่แข็ง มาเลี้ยงในอาหารสูตร HS broth ซึ่งมีส่วนประกอบ ดังนี้ กลูโคส ยีสต์สกัด เปปโตน โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต และกรดซิตริก บ่มที่อุณหภูมิ 30 องสาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน จะเกิดแผ่นเซลลูโลสบางๆ ขึ้นที่ผิวหน้าอาหาร ใช้ลูปแตะสารแขวนลอยเชื้อมาขีดบนผิวหน้าอาหารแข็ง HS medium เพื่อให้ได้เชื้อเป็นโคโลนีเดี่ยว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน แล้วนำโคโลนีเดี่ยวที่เกิดขึ้นมาขีดบนผิวหน้าของอาหารแข็ง HS medium อีกครั้ง เป็นการเพิ่มปริมาณเชื้อ จากนั้นจึงนำมาเลี้ยงในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้ น้ำมะพร้าวแก่ 1000 มิลลิลิตร แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 น้ำหนักต่อปริมาตร น้ำตาลซูโครส (น้ำตาลทราย) ร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตร และกรดอะซิติกเข้มข้น ร้อยละ 1 ปริมาตรต่อปริมาตร บรรจุในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร มีปริมาตรอาหาร 75 มิลลิลิตร ใส่เชื้อ 3-4 ลูปต่อฟลาสก์ บ่มในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะได้หัวเชื้อสำหรับผลิตเซลลูโลส

3.2.4.2 การหมักเซลลูโลส โดยใช้อาหารสูตรน้ำมะพร้าวในสภาวะนิ่ง

นำหัวเชื้อที่ได้จากข้อ 3.2.4.1 ปริมาตร 7.5 มิลลิลิตร (ร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ) ลงในอาหารหมักซึ่งเป็นอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเช่นเดียวกันกับอาหารที่ใช้เตรียมหัวเชื้อข้างต้น โดยใช้ปริมาตรอาหาร 75 มิลลิลิตร บรรจุในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มในสภาวะนิ่ง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน (ความหนาของแผ่นเซลลูโลสประมาณ 6-7 มิลลิเมตร)

3.2.4.3 การทำเซลลูโลสให้บริสุทธิ์

นำแผ่นเซลลูโลสมาล้างด้วยน้ำสะอาดหลายครั้ง จากนั้นแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อกำจัดจุลินทรีย์ที่เกาะติดที่แผ่นเซลลูโลส จากนั้นล้างด้วยน้ำที่ปราศจากไอออนโดยล้างจนกระทั่งน้ำสุดท้ายมีพีเอชเป็นกลาง (Saibuatong และคณะ, 2010) นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาใช้ในการศึกษาต่อไป

3.2.5 การเตรียมแผ่นฟิล์มเซลลูโลส ร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุด

การเตรียมแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด แบ่งเป็น 2 วิธี ดังนี้

3.2.5.1 วิธีที่1 : แช่แผ่นฟิล์มเซลลูโลสในสารสกัดเปลือกมังคุด

โดยเตรียมสารสกัดจากเปลือกมังคุดให้มีความเข้มข้นเท่ากับค่า MIC ที่ได้จากหัวข้อ 3.2.3 จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากหัวข้อ 3.2.4.3 มาเข้าเครื่องอัดรีดน้ำ จะได้แผ่นที่มีความหนาประมาณ 1.0-1.5 มิลลิเมตร นำไปฆ่าเชื้อที่หม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสแช่ในสารสกัด จากเปลือกมังคุดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง และแช่ในเอทานอลร้อยละ 95 เป็นชุดควบคุม นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาทำแห้งโดยเข้าเครื่อง deep freezer อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเข้าเครื่อง freeze drier เพื่อให้แผ่นฟิล์มแห้ง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะได้แผ่นฟิล์มเซลลูโลสในลักษณะแผ่นแห้ง

3.2.5.2 วิธีที่2 : เติมสารสกัดเปลือกมังคุดลงในอาหารหมักเพื่อให้เชื้อผลิตแผ่นเซลลูโลส

โดยเติมสารสกัดจากเปลือกมังคุดลงในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ให้มีความเข้มข้นของสารสกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อ เท่ากับค่าความเข้มข้นของค่า MIC ที่ได้จากการทดลองในหัวข้อ 3.2.3 เตรียมอาหารปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

75 มิลลิลิตร บรรจุในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมหัวเชื้อร้อยละ 10 โดยปริมาตร หมักในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5-7 วัน (ได้แผ่นเซลลูโลสที่มีความหนาประมาณ 6-7 มิลลิเมตร) นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักมาล้างด้วยน้ำสะอาดหลายครั้ง จากนั้นแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 1 น้ำหนักต่อปริมาตรที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ล้างด้วยน้ำที่ปราศจากไอออน ล้างจนน้ำสุดท้ายมีพีเอชเป็นกลาง นำแผ่นเซลลูโลสมาเข้าเครื่องอัดรีดน้ำ จะได้แผ่นที่มีความหนาประมาณ 1.0-1.5 มิลลิเมตร นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาทำแห้งโดยเข้าเครื่อง deep freezer อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเข้าเครื่อง freeze drier เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะได้แผ่นฟิล์มแบคทีเรียเซลลูโลสในลักษณะแผ่นแห้ง

3.2.6 ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุดโดยวิธี Disc diffusion

โดยนำแผ่นฟิล์มที่ได้จากหัวข้อ 3.2.5 ซึ่งมี 2 ลักษณะ คือ แผ่นฟิล์มที่แช่ในสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่ผ่านการทำแห้งและแผ่นฟิล์มแห้งที่มีสารสกัดจากเปลือกมังคุดอยู่ภายในแผ่นฟิล์ม นำแผ่นฟิล์มเหล่านี้มาตัดให้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จากนั้นนำมาทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่นำมาทดสอบทั้ง 5 ชนิด โดยมีแผ่นเซลลูโลสแห้งที่ไม่มีสารสกัดเป็นชุดควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1. ผลของการสกัดสารจากเปลือกมังคุดโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ

จากการสกัดสารจากเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆพบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆจะให้ลักษณะของสารสกัดหยาบและปริมาณของสารสกัดหยาบที่แตกต่างกัน โดยพบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดเย็นด้วย เอทานอลร้อยละ 95 มีน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้ 101.28 กรัม คิดเป็นผลผลิตของสารสกัดร้อยละ 10.13 มีลักษณะหนืด สีน้ำตาลเข้มแกมเหลือง สำหรับสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดโดยการสกัดแบบต่อเนื่อง (Sequential extraction method) พบว่าสารสกัดในส่วนปิโตรเลียมอีเทอร์มีน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้ 4.89 กรัม คิดเป็นผลผลิตของสารสกัดร้อยละ 0.49 มีลักษณะหนืด สีน้ำตาลแกมเหลือง สารสกัดในส่วนเอทิลอะซีเตตมีน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้สูงสุดคือ 143.52 กรัม คิดเป็นผลผลิตของสารสกัดร้อยละ 14.35 มีลักษณะหนืด สีน้ำตาลเข้มปนดำ สำหรับสารสกัดในส่วนเอทานอลร้อยละ 95 มีน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้ 44.15 กรัม คิดเป็นผลผลิตของสารสกัดร้อยละ 4.42 มีลักษณะหนืด สีน้ำตาลเข้มแกมแดงแสดงในตารางที่ 4.1 จากการทดลองจะพบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนของเอทิลอะซีเตตจะได้ปริมาณของสารสกัดหยาบสูงสุดซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของนุชจรินทร์ และคณะ (2551) ที่ได้ศึกษา การเตรียมและคุณสมบัติของวัสดุปิดแผลจากวุ้นมะพร้าวร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด พบว่า จากการสกัดเปลือกมังคุดแห้งด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอล โดยใช้วิธีสกัดเย็นแบบต่อเนื่อง พบว่าการใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซีเตตจะได้ปริมาณของสารสกัดหยาบสูงสุด รองลงมาคือการสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเฮกเซน ตามลำดับ โดยการใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซีเตต เมทานอล และเฮกเซน จะได้ปริมาณของสารสกัดหยาบร้อยละ 14.23 10.55 และ 0.14 ตามลำดับ และจากการทดลองของอุดมลักษณ์และคณะ (2549) ศึกษาการสกัดและการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดพบว่า จากการสกัดเปลือกมังคุดแห้งด้วยตัวทำละลายเฮกเซน อะซิโตน และเมทานอล โดยวิธีการสกัดเย็นแบบต่อเนื่องพบว่าการใช้ตัวทำละลายอะซิโตนจะได้ปริมาณของสารสกัด หยาบสูงสุดรองลงมาคือการสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลและเฮกเซน ตามลำดับ โดยการใช้ตัวทำละลาย อะซิโตน เมทานอลและเฮกเซน จะได้ปริมาณของสารสกัดหยาบร้อยละ 17.53 12.65 และ 0.57 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณและลักษณะที่แตกต่างกันของการสกัดสารจากเปลือกมังคุดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ

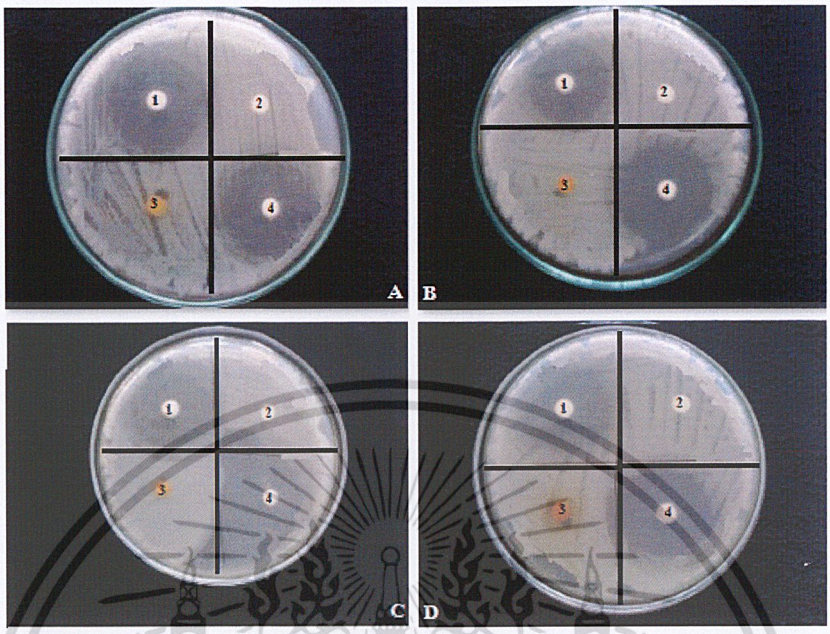
วิธีการสกัด	ชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์	น้ำหนักสารสกัดหยาบ(กรัม)	ผลผลิตของสารสกัดหยาบ (ร้อยละ)	ลักษณะของสารสกัดหยาบ
สกัดเย็น	เอทานอลร้อยละ 95	101.28	10.13	สีน้ำตาลเข้มแกมเหลือง และมีความหนืด
สกัดเย็นแบบต่อเนื่อง	ปิโตรเลียมอีเทอร์	4.89	0.49	สีน้ำตาลแกมเหลือง และมีความหนืด
	เอทิลอะซีเตต	143.52	14.35	สีน้ำตาลเข้มปนดำ และมีความหนืด
	เอทานอลร้อยละ 95	44.15	4.42	สีน้ำตาลเข้มแกมแดง และมีความหนืด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2. การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกมังคุดโดยใช้วิธี Disc diffusion

จากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งหมด 5 ชนิดดังนี้ *E. coli*, *M. luteus*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis* โดยใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีเอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆจะมีประสิทธิภาพในการ ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ และพบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดในชั้นของเอทานอล(สกัดเย็น) มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์มากที่สุด โดยวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของเชื้อ *M. luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis* ได้ 14.67 12.33 และ 11.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดที่สกัดโดยการสกัดแบบต่อเนื่องในชั้นของเอทานอลร้อยละ 95 โดยวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของเชื้อ *M. luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis* ได้ 13.33 11.67 และ 11.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดหยาบในชั้นเอทิลอะซีเตต โดยวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของเชื้อ *M. luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis* ได้ 11.33 10.33 และ 9.67 มิลลิเมตร ตามลำดับและสุดท้ายคือสารสกัดหยาบในชั้นปิโตรเลียมอีเทอร์โดยวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของเชื้อ *M. luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis* ได้ 10.33 10.33 และ 8.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.2 สำหรับแบคทีเรียแกรมลบที่นำมาทดสอบคือ *E. coli* และ *P. aeruginosa* พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อเหล่านี้ได้ และจากการที่สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าแกรมลบอาจเป็นเพราะในเปลือกมังคุดนั้นมี สารแอลฟา-แมงโกสติน (α-mangostin) ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* อันเป็นสาเหตุของการเกิดฝีหนอง ส่วน แกมมา-แมงโกสติน(γ-mangostin) และเบต้า-แมงโกสติน (β-mangostin) พบว่ามีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อ *S. aureus* ทั้งสายพันธุ์ปกติและสายพันธุ์ที่ดื้อต่อยา (Mahabusarakum และคณะ, 1983) ซึ่งยังมีรายงานอีกว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดสดโดยวิธีการสกัดเย็นด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด (ดิลกคุณานันท์ และคณะ , 2549) ในการทดลองขั้นต่อไปจึงนำสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในชั้นเอทานอลร้อยละ 95 (สกัดเย็น) ไปหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยวิธี disc diffusion

A : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 (สกัดเย็น)

B : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์

C : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายเอทิลอะซีเตต

D : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 (สกัดเย็นแบบต่อเนื่อง)

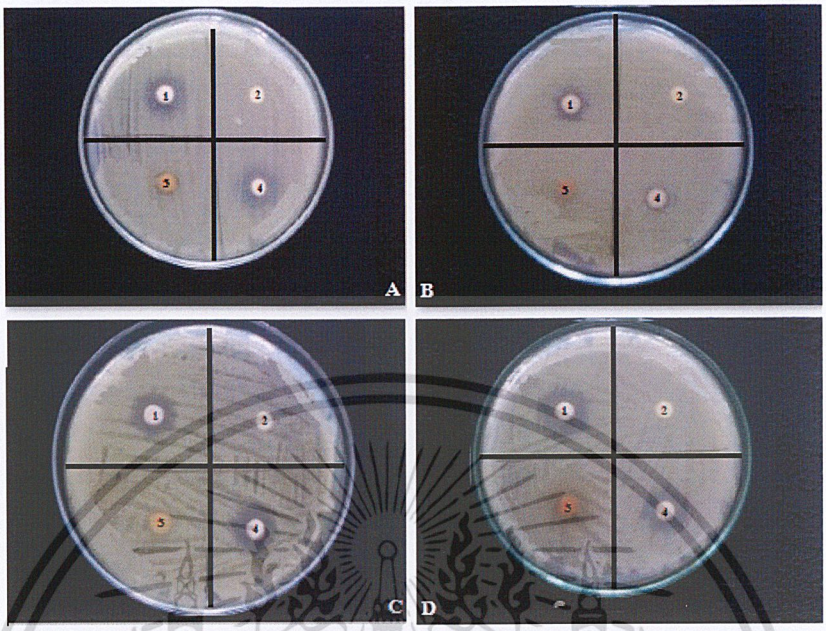
1 : Amoxicillin ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม

2 : เอทานอลร้อยละ 95

3 : สารสกัดจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4 : Amoxicillin ความเข้มข้น 161.30 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยวิธี disc diffusion

A : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 (สกัดเย็น)

B : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์

C : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายเอทิลอะซีเตต

D : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 (สกัดเย็นแบบต่อเนื่อง)

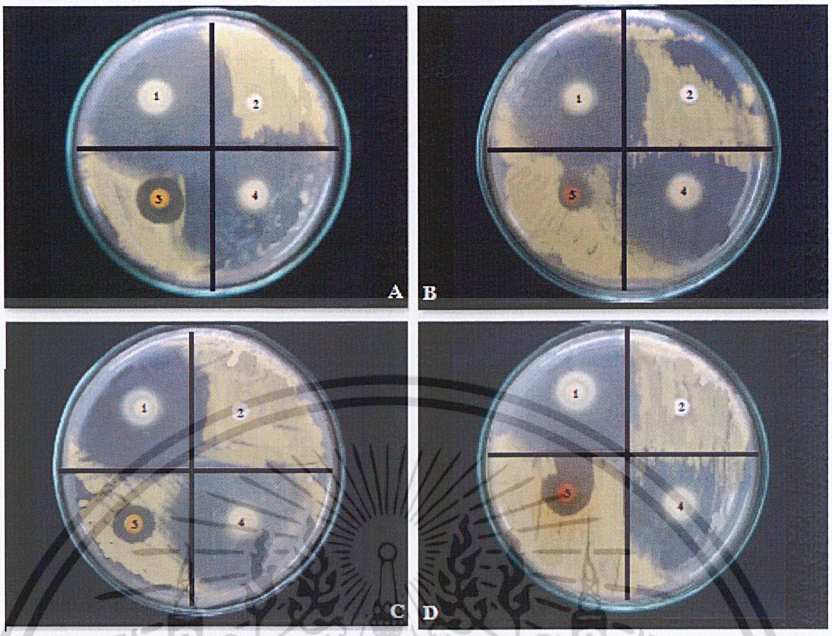
1 : Amoxicillin ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม

2 : เอทานอลร้อยละ 95

3 : สารสกัดจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4 : Amoxicillin ความเข้มข้น 161.30 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *M. luteus* ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยวิธี disc diffusion

A : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 (สกัดเย็น)

B : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์

C : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายเอทิลอะซีเตต

D : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 (สกัดเย็นแบบต่อเนื่อง)

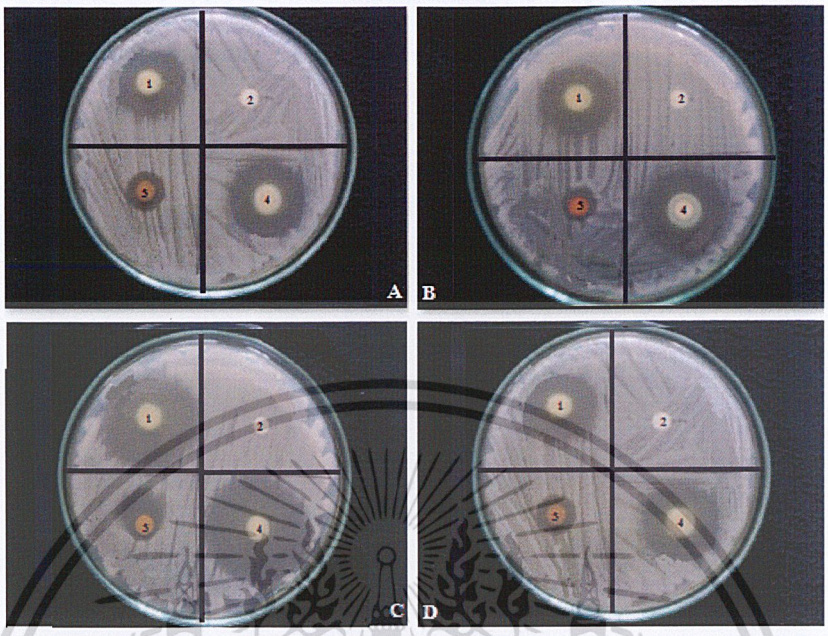
1 : Doxycycline ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม

2 : เอทานอลร้อยละ 95

3 : สารสกัดจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4 : Doxycycline ความเข้มข้น 62.50 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยวิธี disc diffusion

A : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 (สกัดเย็น)

B : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์

C : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายเอทิลอะซีเตต

D : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 (สกัดเย็นแบบต่อเนื่อง)

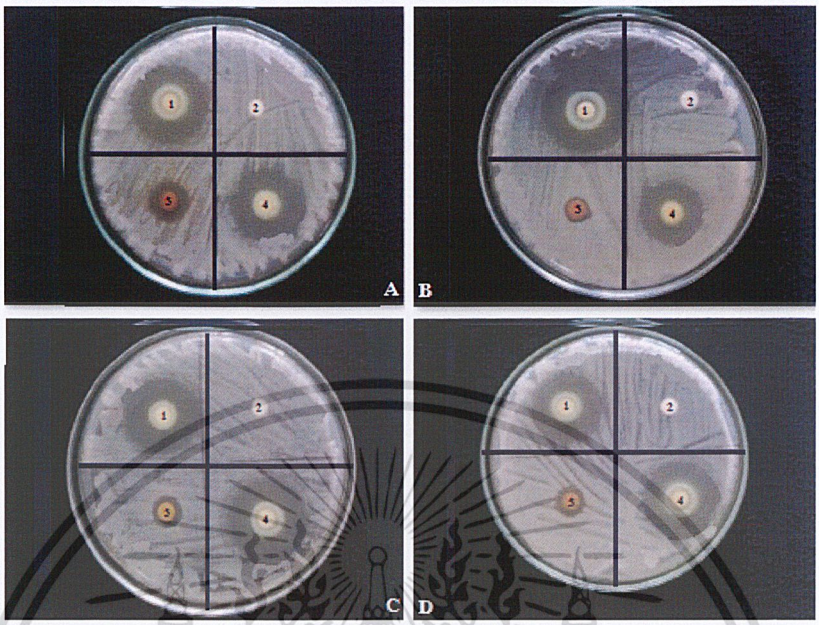
1 : Doxycycline ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม

2 : เอทานอลร้อยละ 95

3 : สารสกัดจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4 : Doxycycline ความเข้มข้น 62.50 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. epidermidis* ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยวิธี disc diffusion

A : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 (สกัดเย็น)

B : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์

C : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายเอทิลอะซีเตต

D : สารสกัดหยาบเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 (สกัดเย็นแบบต่อเนื่อง)

1 : Doxycycline ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม

2 : เอทานอลร้อยละ 95

3 : สารสกัดจากเปลือกมังคุดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4 : Doxycycline ความเข้มข้น 62.50 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าเฉลี่ยของขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสเมื่อใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี Disc Diffusion

วิธีการสกัด	ชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์	ชนิดของจุลินทรีย์				
		แบคทีเรียแกรมลบ		แบคทีเรียแกรมบวก		
		E. coli	*P. aeruginosa*	*M. luteus*	*S. aureus*	*S. epidermidis*
		เฉลี่ย±SD (มิลลิเมตร)	เฉลี่ย±SD (มิลลิเมตร)	เฉลี่ย±SD (มิลลิเมตร)	เฉลี่ย±SD (มิลลิเมตร)	เฉลี่ย±SD (มิลลิเมตร)
การสกัดเย็น	เอทานอลร้อยละ 95	6.00±0.00	6.00±0.00	14.67±1.15	12.33±0.57	11.33±0.57
การสกัดเย็นแบบต่อเนื่อง	ปิโตรเลียมอีเทอร์	6.00±0.00	6.00±0.00	10.33±0.57	10.33±0.57	8.33±0.57
	เอทิลอะซีเตต	6.00±0.00	6.00±0.00	11.33±0.57	10.33±0.57	9.67±0.57
	เอทานอลร้อยละ 95	6.00±0.00	6.00±0.00	13.33±2.30	11.67±0.57	11.67±0.57
เอทานอลร้อยละ 95		6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00
Amoxicillin		28.33±1.15	15.00±1.15	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00
Doxycycline		6.00±0.00	6.00±0.00	36.67±1.15	30.33±1.00	25.00±1.00

หมายเหตุ Amoxicillin เป็น positive control สำหรับแบคทีเรียแกรมลบ

Doxycycline เป็น positive control สำหรับแบคทีเรียแกรมบวก

แผ่น disc มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.00 มิลลิเมตร

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุดโดยทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ (MIC)

จากการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดเมื่อใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในชั้นของเอทานอล (สกัดเย็น)โดยใช้ตัวทำละลายคือเอทานอลร้อยละ 95 จากการนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี Disc Diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในชั้นของเอทานอล (สกัดเย็น) โดยใช้ตัวทำละลายคือ เอทานอลร้อยละ 95 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิด *M. luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis* โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 0.39 0.39 และ 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ และไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *P. auruginosa* และ *E. coli* ได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.3 การที่สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในชั้นเอทานอล (สกัดเย็น) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เหล่านี้ได้ อาจเนื่องจากความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ต่ำเกินไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ยของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสเมื่อใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในชั้นของ เอทานอล (สกัดเย็น) เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี Disc Diffusion เพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

ค่าความเข้มข้น (มิลลิกรัม: มิลลิลิตร)	ชนิดของจุลินทรีย์				
	แบคทีเรียแกรมลบ		แบคทีเรียแกรมบวก		
	E. coli	*P. aeruginosa*	*M. luteus*	*S. aureus*	*S. epidermidis*
	เฉลี่ย±SD (มิลลิเมตร)	เฉลี่ย±SD (มิลลิเมตร)	เฉลี่ย±SD (มิลลิเมตร)	เฉลี่ย±SD (มิลลิเมตร)	เฉลี่ย±SD (มิลลิเมตร)
200	6.00±0.00	6.00±0.00	11.67±0.57	10.67±0.57	11.00±0.00
100	6.00±0.00	6.00±0.00	11.33±0.57	10.67±0.57	11.00±0.00
50	6.00±0.00	6.00±0.00	10.67±0.57	10.67±0.57	11.00±0.00
25	6.00±0.00	6.00±0.00	9.67±0.57	12.00±0.00	10.67±0.57
12.5	6.00±0.00	6.00±0.00	9.67±0.57	10.67±0.57	10.67±0.57
6.25	6.00±0.00	6.00±0.00	9.67±0.57	9.67±0.57	10.67±0.57
3.13	6.00±0.00	6.00±0.00	9.33±0.57	8.67±0.57	10.67±0.57
1.56	6.00±0.00	6.00±0.00	9.00±0.00	9.00±0.00	9.00±0.00
0.78	6.00±0.00	6.00±0.00	9.00±0.00	7.00±0.00	9.00±0.00
0.39	6.00±0.00	6.00±0.00	8.00±0.00	7.00±0.00	8.00±0.00
0.19	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00

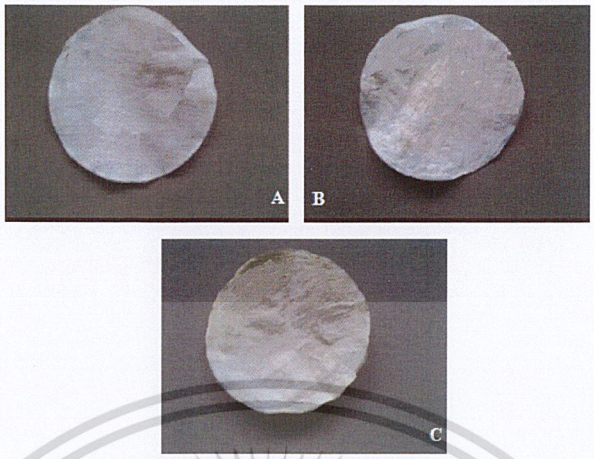
หมายเหตุ แผ่น disc มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.00 มิลลิเมตร

4.4 การผลิตแผ่นฟิล์มจากแผ่นเซลลูโลสและนำมาใช้ร่วมกับสารสกัดจากเปลือกมังคุด

จากการเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5-7 วันจะได้แผ่นเซลลูโลสที่มีความหนา 6-7 มิลลิเมตร และเมื่อนำแผ่นเซลลูโลสแช่ในสารสกัดจากเปลือกมังคุดในชั้นเอทานอล (สกัดเย็น) ที่มีค่าความเข้มข้นเท่ากับ 0.78 และ 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบทั้ง 5 ชนิดโดยวิธี Disc Diffusion พบว่า แผ่นฟิล์มจากแผ่นเซลลูโลสที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุด 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis* แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิด *P. aeruginosa* และ *E. coli* ได้ ส่วนแผ่นฟิล์มจากแผ่นเซลลูโลสที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุด 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นค่า MIC ที่หาได้จากการทดลองที่ 4.3 นั้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.4 ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากแผ่นเซลลูโลสมีความสามารถในการดูดซับสารสกัดไว้ได้สูง ทำให้ไม่สามารถปลดปล่อยสารสกัดออกมาได้ดีเท่าแผ่นดิสก์ จึงทำให้ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่ได้มีค่าน้อยกว่าเมื่อนำมาทดสอบกับแผ่นดิสก์

สำหรับการผลิตแผ่นเซลลูโลสโดยนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดในส่วนเอทานอล (สกัดเย็น) เติมลงในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว โดยเตรียมให้มีค่าความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.78 และ 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นหมักแผ่นเซลลูโลสในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5-7 วัน จะได้แผ่นเซลลูโลสที่มีความหนา 6-7 มิลลิเมตร นำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบทั้ง 5 ชนิดโดยวิธี Disc Diffusion พบว่าแผ่นฟิล์มจากแผ่นเซลลูโลสที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุด 0.78 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรนั้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.4 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารสกัดจากเปลือกมังคุดละลายน้ำได้เพียงเล็กน้อย ซึ่งสังเกตุได้จากมีตะกอนของสารสกัดตกค้างอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อหมักเซลลูโลสแผ่นเซลลูโลสที่ได้จึงมีสารสกัดจากเปลือกมังคุดในแผ่นบ้างเล็กน้อย และเมื่อนำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาทำแห้งและนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จึงไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดโดยการแช่แผ่นฟิล์มเซลลูโลสในสารสกัดเปลือกมังคุดเป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่มีความเข้มข้นต่างๆ

A ; สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่มีความเข้มข้น 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

B : สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่มีความเข้มข้น 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

C : สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่มีความเข้มข้น 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

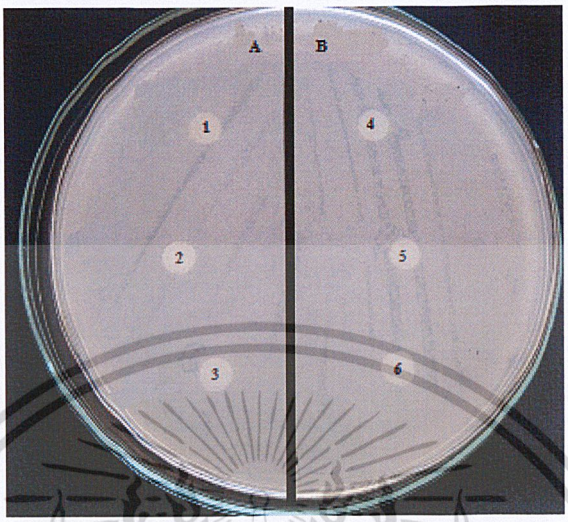
รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดโดยการเติมสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นต่างๆลงในอาหารหมักเพื่อให้เชื้อผลิตแผ่นเซลลูโลส

A ; สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่มีความเข้มข้น 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

B : สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่มีความเข้มข้น 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

C : สารสกัดจากเปลือกมังคุดที่มีความเข้มข้น 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดโดย

A : วิธีที่ 1 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นต่างๆ โดยการแช่เซลลูโลสในสารสกัดเปลือกมังคุดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

B : วิธีที่ 2 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นต่างๆลงในอาหารหมักเพื่อให้เชื้อผลิตแผ่นเซลลูโลส

1 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

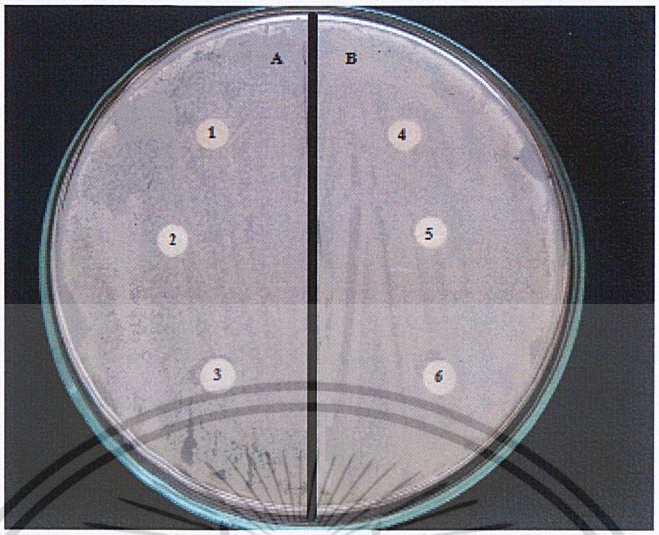
3 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

6 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดโดย

A : วิธีที่ 1 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นต่างๆ โดยการแช่เซลลูโลสในสารสกัดเปลือกมังคุดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

B : วิธีที่ 2 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นต่างๆลงในอาหารหมักเพื่อให้เชื้อผลิตแผ่นเซลลูโลส

1 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

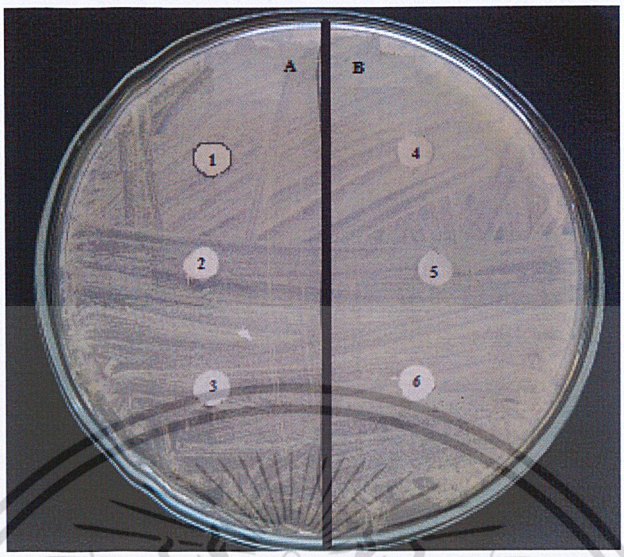
3 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

6 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *M. luteus* ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดโดย

A : วิธีที่ 1 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นต่างๆ โดยการแช่เซลลูโลสในสารสกัดเปลือกมังคุดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

B : วิธีที่ 2 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นต่างๆลงในอาหารหมักเพื่อให้เชื้อผลิตแผ่นเซลลูโลส

1 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

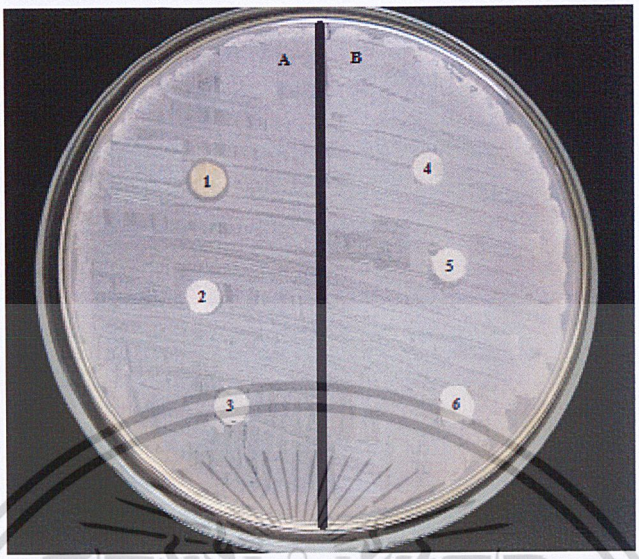
3 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

6 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดโดย

A : วิธีที่ 1 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นต่างๆ โดยการแช่เซลลูโลสในสารสกัดเปลือกมังคุดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

B : วิธีที่ 2 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นต่างๆลงในอาหารหมักเพื่อให้เชื้อผลิตแผ่นเซลลูโลส

1 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

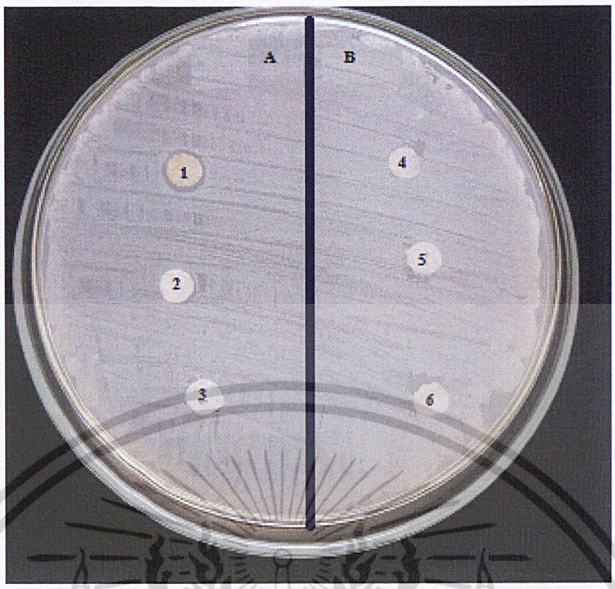
3 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

6 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. epidermidis* ของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่มีสารสกัดเปลือกมังคุดโดย

A : วิธีที่ 1 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นต่างๆ โดยการแช่เซลลูโลสในสารสกัดเปลือกมังคุดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

B : วิธีที่ 2 แผ่นฟิล์มเซลลูโลสร่วมกับสารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้นต่างๆลงในอาหารหมักเพื่อให้เชื้อผลิตแผ่นเซลลูโลส

1 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

6 : สารสกัดเปลือกมังคุดความเข้มข้น 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าเฉลี่ยของขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสเมื่อใช้แผ่นเซลลูโลสที่มีสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในชั้นเอทานอล (สกัดเย็น) ที่มีความเข้มข้นต่างๆ นำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี Disc diffusion

วิธีการ	ค่าความเข้มข้น (มิลลิกรัม : มิลลิลิตร)	ชนิดของจุลินทรีย์				
		แบคทีเรียแกรมลบ		แบคทีเรียแกรมบวก		
		E. coli	*P. aeruginosa*	*M. luteus*	*S. aureus*	*S. epidermidis*
		เฉลี่ย±SD (มิลลิเมตร)	เฉลี่ย±SD (มิลลิเมตร)	เฉลี่ย±SD (มิลลิเมตร)	เฉลี่ย±SD (มิลลิเมตร)	เฉลี่ย±SD (มิลลิเมตร)
แช่แผ่นฟิล์มเซลลูโลสในสารสกัดจากเปลือกมังคุดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง	0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00
	0.39	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00
	0.78	6.00±0.00	6.00±0.00	8.00±0.00	8.00±0.00	7.67±0.57
เติมสารสกัดจากเปลือกมังคุดลงในอาหารหมัก	0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00
	0.39	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00
	0.78	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00	6.00±0.00

หมายเหตุ แผ่น disc มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.00 มิลลิเมตร

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลผลิตของสารสกัดจากเปลือกมังคุดด้วยวิธีการสกัดเย็นด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 และการสกัดแบบต่อเนื่อง (Sequential extraction method) ด้วย ปิโตรเลียมอีเทอร์ เอทิลอะซีเตต และเอทานอล ตามลำดับ ได้ผลผลิตของสารสกัดจากเปลือกมังคุดร้อยละ 10.13 0.49 14.35 และ 4.42 ตามลำดับ โดยสารสกัดหยาบในชั้นของตัวทำละลายเอทิลอะซีเตตจะได้ผลผลิตของสารสกัดจากเปลือกมังคุดในปริมาณมากที่สุด

นำสารสกัดจากเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายแต่ละส่วนมาทดสอบฤทธิ์ในยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc diffusion พบว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดในชั้นของตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 4 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ โดยในชั้นของตัวทำละลายของเอทานอล (สกัดเย็น) มีฤทธิ์ในการยับยั้งดีที่สุดโดยวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของเชื้อ *M. luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis* ได้ 14.67 12.33 และ 11.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือในชั้นของตัวทำละลายที่ทำการสกัดแบบต่อเนื่องของเอทานอล เอทิลอะซีเตต ปิโตรเลียมอีเทอร์ ตามลำดับ จากการนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดในชั้นเอทานอล (สกัดเย็น) ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ดีที่สุดมาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของ *M. luteus*, *S. aureus* และ *S. epidermidis* เท่ากับ 0.39 0.39 และ 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่นำมาใช้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ได้

จากการผลิตแผ่นเซลลูโลสและนำไปแช่ในสารสกัดจากเปลือกมังคุดในชั้นเอทานอล (สกัดเย็น) ที่มีค่าความเข้มข้นเท่ากับ 0.78 และ 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี Disc Diffusion พบว่า แผ่นฟิล์มจากแผ่นเซลลูโลสที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุด 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. luteus*, *S. aureus*, *S. epidermidis* ได้โดยมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส 8.00 8.00 7.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิด *P. aeruginosa* และ *E. coli* ได้ ส่วนแผ่นฟิล์มจากแผ่นเซลลูโลสที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุด 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นค่า MIC ที่หาได้นั้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้และในการผลิตแผ่นเซลลูโลสโดยนำสารสกัดจากเปลือกมังคุดในส่วนเอทานอล (สกัดเย็น) เติมลงในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว โดยมีค่าความเข้มข้นเท่ากับ 0.78 0.39 มิลลิกรัมต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตรและนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี Disc Diffusion พบว่าแผ่นฟิล์มจากแผ่นเซลลูโลสที่มีความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุด 0.78 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรนั้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้

ข้อเสนอแนะ

ในการผลิตแผ่นฟิล์มเซลลูโลส ควรใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในชั้นเอทานอล (สกัดเย็น) ให้สูงกว่านี้ (มากกว่า 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เพื่อให้แผ่นฟิล์มที่ได้มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดี ขณะเดียวกันต้องทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในชั้นเอทานอล (สกัดเย็น) เพื่อจะได้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่จะนำเอาสารสกัดหยาบส่วนนี้ไปประยุกต์ใช้ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ฐาปนา สุวรรณมาโจ. 2549. การพัฒนาเมมเบรนที่มีโครงสร้างระดับนาโนจากแบคทีเรียเซลลูโลสที่ผ่านการรีเจนเนอเรท. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ฐิติมา ศรีสุวรรณ ชัชวรรณ ธีญะวุฒิ ฉัตรชัย วัฒนาภิรมย์สกุล และชมจรรย์ อำนวยกิจ. 2549. แผ่นฟิล์มต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเปลือกมังคุด. โครงงานพิเศษ. ภาควิชาเภสัชเวท และเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ธุรวัตร ผดุงการ. ธนภร อำนวยกิจ และฉัตรชัย วัฒนาภิรมย์สกุล. 2552 . แผ่นแปะต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเปลือกมังคุด. โครงงานพิเศษ. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2545. แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. พิมพ์ครั้งที่ 2 : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นุศวดี พจนานุกิจ และสมใจ ขจรชีพพันธ์งาม. 2553. การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อเกิดสิวของสารสกัดจากพืชสมุนไพร. ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผกากรอง ขวัญข้าว. 2548 . http://www.abhaiherb.com/main/newsletter/newsletter30.pdf

พะยอม ตันติวัฒน์. 2521. สมุนไพร . พิมพ์ครั้งที่ 2 : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. 2547. เครื่องสำอางธรรมชาติ ผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนัง. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์

พิเชษฐ์ วิริยจิตรา. 2531. สารสกัดจากเปลือกมังคุด สุดยอด ปลอดอันตราย : มติชนรายวัน, 4-5

ศิริวงร์ วงค์ตาลเงิน อานนท์ ขันปัญญา สกุณณี บวรสมบัติ และสิทธิสิน บวรสมบัติ. 2548 .การผลิตวุ้นเซลลูโลสและน้ำส้มสายชูจากน้ำมะเกี๋ยง. วิทยานิพนธ์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตรมหาวิทยาลัยแม่โจ้

สนั่น ศุภธีรสกุล. 2547. pcog.pharmacy.psu.ac.th/thi/Article/2547/06-47/มังคุด.rtf

สมบัติ รุ่งศิลป์. 2010 . http://www.dailyworldtoday.com/columblank.php?colum_id=33534

อุดมลักษณ์ สุขอัตตะ อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์ ประภัสสร รักถาวร สิริพร ศิริวรรณ และพจมาน พิศเพียงจันทร์ . 2549. การสกัดและการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมังคุด. โครงงานพิเศษ. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Bergey, D.H., Holt, J.G., Krieg, N.R and Sneath, P.H.A . 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th ed., (Breed RS, Murray EGD and Smith NR, eds) Williams and Wikims, Baltimore

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Colvin, M. R ., Dennis, J. Grab and Irukulla, R. 1972. The intracellular pathway of newly formed rat liver catalase. Journal of Biochemistry. 152(2), 496-501

Craja, W., Krystynowicz, A., and Bielecki, S. 2006 . Microbial cellulose the natural power to heal wounds. Biomaterials. 27, 145-151

Davis, R H., DioDonato, J. J., Hartman, G. M., and Hass, R. C. 1994. Anti-inflammatory and wound healing activity of a growth substance in aloe vera. Journal of the American Podiatric Medical Association. 84(87), 77-81

Dilokkunanant, U., Rugthaworn, P., Siriwan, S., Pitipiangchan, P. 2549 . Extraction and Antimicrobial Activity of Mangosteen Extract. Journal of Carbohydrate Polymers , 529-536

Haigler, C.H. and Chanzy, H. 1988. Electron diffraction analysis of the altered cellulose synthesized by *Acetobacter xylinum* in the presence of fluorescent brightening agents and direct dyes. Journal of Ultrastructure and Molecular Structure Research. 98, 299-311

Hestrin, S. 1947. Synthesis of cellulose by resting cells of *Acetobacter xylinum*. Nature. Journal of Bacteriology. (159) : 64-65

Hestrin, S., and Schramm, M. 1954. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. Biochem. 58, 345-352

Ishikawa, A., Matsuoka, M., Tsuchida, T., and Yoshinaga, F. 1995. Increase in cellulose production by sulfaguanidine-resistant mutants derived from *Acetobacter xylinum* subsp. *sucrofermentans*. Biosci. Biotech. Biochem., 59, 2259-2262

Keigo, N., Masanori, A., Tsutomu, A., Kenji O., Susumu, S., Norimichi, N and Yasushi, O. 2002. Inhibitions of Histamine Release and Prostaglandin E2 Synthesis by Mangosteen, a Thai Medicinal Plant. Department of Pharmaceutical Molecular Biology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University;Department of Cellular Signaling, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University. 25(9), 1137-1141

Klemm, D., Schumann, D., Udhardt, U., and Marsch, S. 2001. Bacterial synthesized cellulose-artificial blood vessels for microsurgery. Progress in Polymer Science. 26, 1561-1603

Limpisathian , P . 2008 . http://researchers.in.th/blog/mangosteen/822

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mahabusarakum, W., Phongpaichit, S., Jansakul, C., Wiriyachitra, P. 1983 . Screening of antibacterial activity of chemicals from *Garcinia mangostana*. Songklanakarin. Journal of Science and Technology. 5, 337-339

Morton, J. 1987 . Mangosteen : *Garcinia mangostana L.* In F. Julia (Ed.). Fruits of warm climates. Mangosteen, 301–304

Saibuatong , O ., Phisalaphong, M. 2010. Novo aloe vera-bacterail cellulose composite film from biosynthesis. Journal of Carbohydrate Polymers. 79, 455-460

Phisalaphong, M ., Jatupaiboon, N. 2008 . Biosynthesis and characterization of bacteria cellulose–chitosan film. Journal of Carbohydrate Polymers. 74, 482–488

Reynolds, T., and Dweck, A. C. 1999. Aloe vera leaf gel : A review update. Journal of Ethnopharmacology. 68(1-3), 3-37

Saibuatong Ong-ard and Phisalapong, M. 2010 . Novo aloe vera-bacterial cellulose composite film from biosynthesis. Carbohydrate Polymer. 79, 455-460

Savidge, G.F., Colombo, M., Carnelli, V., Gazengel, C., Mannucci , P. M., and Schimpf , K. 2001 Transmission of non-A,non-B hepatitis by heat-treated factor VII concentrate. Journal of Biochemistry. 326(8445), 1-4

Shankaranarayan , D., Gopalakrishnan, C., Kameswaran, L. 1979. Pharmacological profile of mangostin and its derivatives. Arch Int Pharmacodyn Ther. 239(2), 257-69

Shih, Chao-Ming., Shieh, Yeong-Tarng and Twu, Yawo-Kuo. 2009. Preparation and characterization of cellulose/chitosan blend films. Journal of Carbohydrate. (78), 169-174

Svensson, A., Nicklasson, E., Harrah, T., Panilaitis, B., Kaplan, D. L., Brittberg, M. 2005. Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage. Biomaterials. 26, 419-431

Wan, Y. Z., Huang, Y., Yuan, C.D., Raman, S., Zhu, Y., and Jiang, H. J. 2007 . Biomimetic synthesis of hydroxyapatite/bacterial cellulose nanocomposites for biomedical applications. Materials science and Engineering. 27(4), 855-864

Williams , P., Ongsakul , M., Proudfoot , J. 1995. Mangostin inhibits the oxidative modification of human low density lipoprotein. Free Radic Res. 23, 175-84

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[Online].Available : http://www.google.co.th/url?sa=t&source=web&ct=res&cd
=2&ved=0CBgQFjAB&url=http%3A%2F%2Fwww.med.cmu.ac.th%2Fdept%2Fbiochem%2Fwebdept%2FFi
les_Staff%2FFaculty%2520websites%2F~wannarat%2FCarbo.doc&rct=j&q=linear+homopolysaccharide+%
E0%B8%84%E0%B8%B7%E0%B8%AD&ei=cmUDTKjoN4u8rAf8oJX4Dg&usg=AFQjCNGz1JHlfTbO_4
Pq7QUeJVgiXcAErw

[Online].Available : http://kb.psu.ac.th/psukb/bitstream/2553/2040/8/272522_ch1.pdf

[Online].Available : http://www.pantown.com/board.php?id=33721&area=3&name=board32&topic
=19&action=view

[Online].Available : http://202.129.59.198/rdi/html/carbohydrate.html

[Online].Available : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Flagella.png

[Online].Available : http://www3.ipst.ac.th/research/assets/web/mahidol

[Online].Available : mahidol/biomolecules(5)/chapter2_4.html

[Online].Available : http://kucon.lib.ku.ac.th/Fulltext/KC4405071.pdf

[Online].Available : http://www.scisoc.or.th/stt/34/sec_g/paper/STT34_G_G0009.pdf

[Online].Available : http://202.44.43.230/prachyanun/2009/ngrc14/full/2/a0055.pdf

[Online].Available : http://www.vtnews.vt.edu/articles/2008/11/2008-693.html

[Online].Available : http://kb.psu.ac.th/psukb/bitstream/2553/3056/8/279166_ch1.pdf

[Online].Available : http://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B9%81%E0%B8%97%E0%B8%99%
E0%B8%99%E0%B8%B4%E0%B8%99

[Online].Available : http://www.abhaiherb.com/main/newsletter/newsletter30.pdf

[Online].Available : http://www.chrc.ob.tc/history_mgst.html

[Online].Available : http://th.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli

[Online].Available : http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_1_001c.asp?info_id=1079

[Online].Available : http://textbookofbacteriology.net/themicrobialworld/Pseudomonas.html

[Online].Available : http://www.technoinhome.com/vspcite/front/board/show.php?tbl=tblwb03&gi
d=22&id=802&PHPSESSID=880ef16afce4cdc01f85b4176bc81af6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

ข้อมูลการทดลอง

ตารางที่ ก-1 แสดงขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสเมื่อใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี Disc Diffusion

วิธีการสกัด	ชนิดของตัวทำละลายอินทรีย์	ชนิดของจุลินทรีย์														
		แบคทีเรียแกรมลบ						แบคทีเรียแกรมบวก								
		E. coli			*P. aeruginosa*			*M. luteus*			*S. aureus*			*S. epidermidis*		
		ซ้ำที่			ซ้ำที่			ซ้ำที่			ซ้ำที่			ซ้ำที่		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
การสกัดเย็น	เอทานอล	6	6	6	6	6	6	14	14	16	12	12	13	11	11	12
การสกัดเย็นแบบต่อเนื่อง	ปิโตรเลียมอีเทอร์	6	6	6	6	6	6	10	10	11	11	10	10	8	8	9
	เอทิลอะซีเตต	6	6	6	6	6	6	11	12	11	10	10	11	9	10	10
	เอทานอล	6	6	6	6	6	6	12	12	16	11	12	12	11	13	11
เอทานอล		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Amoxicillin		27	29	29	14	15	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Doxycycline		-	-	-	-	-	-	36	36	38	29	31	31	24	25	26

หมายเหตุ Amoxicillin เป็น positive control สำหรับแบคทีเรียแกรมลบ

Doxycycline เป็น positive control สำหรับแบคทีเรียแกรมบวก

แผ่น disc มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.00 มิลลิเมตร

ตารางที่ ก-2 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดเมื่อใช้สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในชั้นของเอทานอล (สกัดเย็น) เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์โดยวิธี Disc Diffusion

ค่าความเข้มข้น (มิลลิกรัม: มิลลิลิตร)	ชนิดของจุลินทรีย์														
	แบคทีเรียแกรมลบ						แบคทีเรียแกรมบวก								
	E. coli			*P. aeruginosa*			*M. luteus*			*S. aureus*			*S. epidermidis*		
	ซ้ำที่			ซ้ำที่			ซ้ำที่			ซ้ำที่			ซ้ำที่		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
200	6	6	6	6	6	6	12	12	11	11	11	10	11	11	11
100	6	6	6	6	6	6	11	11	12	11	11	10	11	11	11
50	6	6	6	6	6	6	10	11	11	11	11	10	11	11	11
25	6	6	6	6	6	6	10	10	9	12	12	12	11	11	10
12.5	6	6	6	6	6	6	10	9	10	11	11	10	11	11	10
6.25	6	6	6	6	6	6	10	10	9	10	10	9	10	11	11
3.13	6	6	6	6	6	6	9	9	10	9	9	8	10	11	11
1.56	6	6	6	6	6	6	9	9	9	9	9	9	9	9	9
0.78	6	6	6	6	6	6	9	9	9	7	7	7	9	9	9
0.39	6	6	6	6	6	6	8	8	8	7	7	7	8	8	8
0.19	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

หมายเหตุ แผ่น disc มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.00 มิลลิเมตร

ตารางที่ ก-3 แสดงขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสเมื่อใช้แผ่นเซลลูโลสที่มีสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดในชั้นเอทานอล ความเข้มข้นต่างๆ นำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์

วิธีการ	ค่าความเข้มข้น (มิลลิกรัม : มิลลิลิตร)	ชนิดของจุลินทรีย์														
		แบคทีเรียแกรมลบ						แบคทีเรียแกรมบวก								
		E. coli			*P. aeruginosa*			*M. luteus*			*S. aureus*			*S. epidermidis*		
		ซ้ำที่			ซ้ำที่			ซ้ำที่			ซ้ำที่			ซ้ำที่		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
แช่แผ่นฟิล์มเซลลูโลสในสารสกัดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง	0.00	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	0.39	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	0.78	6	6	6	6	6	6	8	8	8	8	8	8	8	7	8
เติมสารสกัดลงในอาหารหมัก	0.00	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	0.39	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	0.78	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

หมายเหตุ แผ่น disc มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.00 มิลลิเมตร

ภาคผนวก ข.

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรน้ำมะพร้าว

น้ำมะพร้าวแก่

น้ำตาลทราย	ร้อยละ 5
แอมโมเนียมซัลเฟต	ร้อยละ 0.1
กรดอะซิติกเข้มข้น	ร้อยละ 1

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ HS Agar

กลูโคส	ร้อยละ 2
ยีสต์สกัด	ร้อยละ 10
เปปโตน	ร้อยละ 0.5
โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	ร้อยละ 0.27
กรดซิตริก	ร้อยละ 0.12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

การคำนวณผลผลิตของสารสกัดจากเปลือกมังคุด

การคำนวณผลผลิตของสารสกัดจากเปลือกมังคุด

ปริมาณของแข็ง 1,000 กรัม คิดเป็นสารสกัดหยาบร้อยละ 100

ปริมาณของแข็ง A กรัม คิดเป็นสารสกัดหยาบร้อยละ $\frac{Ax100}{1,000}$

สกัดเย็น

เอทานอลร้อยละ 95 = $\frac{101.28 \times 100}{1,000}$ = 10.13

ได้ผลผลิตของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดร้อยละ 10.13

สกัดแบบต่อเนื่อง

ปิโตรเลียมอีเทอร์ = $\frac{4.89 \times 100}{1,000}$ = 0.49

ได้ผลผลิตของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดร้อยละ 0.49

เอทิลอะซีเตต = $\frac{143.52 \times 100}{1,000}$ = 14.35

ได้ผลผลิตของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดร้อยละ 14.35

เอทานอลร้อยละ 95 = $\frac{44.15 \times 100}{1,000}$ = 4.42

ได้ผลผลิตของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดร้อยละ 4.42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

การคำนวณปริมาณของยา

การคำนวณผลผลิตของยา

Doxycycline

ยาน้ำหนัก 320 มิลลิกรัม มีปริมาณของยา 100 มิลลิกรัม

ยาน้ำหนัก 200 มิลลิกรัม มีปริมาณของยา $\frac{200 \times 100}{320}$ = 62.50 มิลลิกรัม

Amoxicillin

ยาน้ำหนัก 620 มิลลิกรัม มีปริมาณของยา 500 มิลลิกรัม

ยาน้ำหนัก 200 มิลลิกรัม มีปริมาณของยา $\frac{200 \times 500}{620}$ = 161.30 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้