การศึกษาการสกัดสารจากยอและฤทธิ์ทางชีวภาพ

A STUDY ON CRUDE EXTRACT AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF *Morinda citrifolia* L.

ภัทราพร จุ้ยชุม
สิริรัตน์ เกศแก้วรณฤทธิ์
สุภชา ภัทรเสรีกุล

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A STUDY ON CRUDE EXTRACT AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF *Morinda citrifolia* L.

PHATTRAPORN JUICHUM
SIRIRAT KATEKAEWRONNARIT
SUPACHA PATTARASEREEKUL

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาการสกัดสารจากยอและฤทธิ์ทางชีวภาพ A Study on Extraction and Biological Activity of *Morinda citrifolia* L.
ชื่อนักศึกษา	นางสาวภัทราพร จุ้ยชุม รหัสนักศึกษา 56051045 นางสาวสิริรัตน์ เกศแก้วรณฤทธิ์ รหัสนักศึกษา 56051087 นางสาวสุภชา ภัทรเสรีกุล รหัสนักศึกษา 56051093
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดวงใจ โอชัยกุล ประธานกรรมการ	
ผศ.ลินจง สุขลำภู กรรมการ	
ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาการสกัดสารจากยอและฤทธิ์ทางชีวภาพ
ชื่อนักศึกษา	นางสาวภัทราพร จุ้ยชุม รหัสนักศึกษา 56051045
	นางสาวสิริรัตน์ เกศแก้วรณฤทธิ์ รหัสนักศึกษา 56051087
	นางสาวสุภชา ภัทรเสรีกุล รหัสนักศึกษา 56051093
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

บทคัดย่อ

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากส่วนใบ ผล และกิ่งของต้นยอ (*Morinda citrifolia* L.) ที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Scavenging Assay พบว่าสารสกัดจากใบมีฤทธิ์สูงที่สุด โดยค่า EC_{50} ของสารสกัดจากใบ ผล และกิ่งมีค่าเท่ากับ 8.63 11.91 และ 16.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการวิเคราะห์หาสารพฤกษเคมีบางชนิด พบว่าสารสกัดจากใบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงที่สุด โดยมีค่าเทียบเท่ากับ 8506.53 mg GAE/100 g dw และ 7.81 mg cyanidin-3-glucoside/l crude extract รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากผลและกิ่งตามลำดับ เมื่อนำมาทดสอบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่าสารสกัดจากผลมีปริมาณสูงที่สุดเทียบเท่ากับ 507.13 mg QE/g extract รองลงมาคือสารสกัดจากกิ่งและใบตามลำดับ และเมื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด พบว่าสารสกัดจากกิ่งมีปริมาณสูงที่สุดเทียบเท่ากับ 149.44 mg TAE/g extract รองลงมาคือใบและกิ่งตามลำดับ นอกจากนี้ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียโดยวิธี agar well diffusion กับแบคทีเรียก่อโรค 6 สายพันธุ์ คือ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228, *Bacillus cereus* TISTR 687, *Salmonella typhimurium* TISTR 292, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 และ *Escherichia coli* TISTR 780 จากผลการทดสอบพบว่า สารสกัดหยาบจากผลสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทุกสายพันธุ์ (6 สายพันธุ์) ส่วนสารสกัดหยาบจากกิ่งสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ 3 สายพันธุ์ คือ *S. epidermidis*, *B. cereus* และ *S. typhimurium* โดยที่สารสกัดหยาบจากใบไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้งหมดได้

คำสำคัญ : ต้นยอ, ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, สารพฤกษเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	A study on extraction and biological activity of *Morinda citrifolia* L.
Students	Miss Phattraporn Juichum Student ID 56051045
	Miss Sirirat Katekaewronnarit Student ID 56051087
	Miss Supacha Pattarasereekul Student ID 56051093
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2016
Advisor	Dr. Suttijit Sriwatcharakul

Abstract

According to bioactivity test of leaves, fruits and branches ethanolic crude extract of *Morinda citrifolia*. DPPH scavenging activity test showed that leaves extracts had the lowest EC_{50} value at 8.63 mg/ml and EC_{50} of fruits and branches extract were 11.91 and 16.78 mg/ml, respectively. The result of evaluation of phytochemicals revealed that leaves extract had the highest total phenolic and total anthocyanin compounds by 8506.53 mg GAE/100 g dw and 7.81 mg cyanidin-3-glucoside/l extract, respectively. And the next one was the extract from fruits and branches. Then the highest of total flavonoid compounds was found in fruits extract 507.13 mg QE/g extract follow by branches and leaves extract. The last one was the highest total tannin compounds contained in branches at 149.44 mg TAE/g extract and the next one was leaves and fruits extracts. In addition to test antibacterial activity by using agar well diffusion with 6 bacterial species; *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228, *Bacillus cereus* TISTR 687, *Salmonella typhimurium* TISTR 292, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 and *Escherichia coli* TISTR 780. From the experiments showed that crude fruits extract inhibited all of bacterial species and branches crude extract inhibited 3 bacterial species, while leaves extract could inhibit none of bacterial species.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Keywords : *Morinda citrifolia*, Antibacterial, Antioxidant, Phytochemicals

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต ในวิชาโครงงานพิเศษ คณะวิทยาศาสตร์สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งผู้จัดทำโครงงานพิเศษนี้ขอกราบขอบพระคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือให้โครงงานพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดีดังต่อไปนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาของคณะผู้จัดทำ ที่กรุณาให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือ ให้คำชี้แนะ และปรับปรุงแก้ไขงานด้วยความกรุณาและเอาใจใส่อย่างดียิ่ง ตลอดจนให้ความรู้และประสบการณ์ต่างๆ แก่คณะผู้จัดทำ

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล และ ผศ.ลินจง สุขลำภู ที่เสียสละเวลามาเป็นประธานและกรรมการสำหรับการสอบครั้งนี้รวมทั้งให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์และตรวจสอบข้อผิดพลาด ชี้แนะแนวทางในการแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการและเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยาทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการเพื่อทำการทดลองต่างๆ รวมทั้งความสะดวกในการเบิกเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัยครั้งนี้

และขอกราบขอบคุณมารดา บิดา รวมถึงเพื่อนๆ ทุกคน ที่คอยให้กำลังใจและคอยให้ความสนับสนุนช่วยเหลือมาโดยตลอด

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษเล่มนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจหรือผู้ที่ต้องการค้นคว้าและศึกษางานวิจัยทางด้านนี้ไม่มากก็น้อย หากมีข้อผิดพลาดประการใดคณะผู้จัดทำขออภัย ณ โอกาสนี้ด้วย

นางสาวภัทราพร จุ้ยชุม
นางสาวสิริรัตน์ เกศแก้วรณฤทธิ์
นางสาวสุภชา ภัทรเสรีกุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญรูป ..... ญ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ 2
1.3 ขอบเขต 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 ยอ (*Morinda citrifolia* L.) 3
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 4
2.1.2 การกระจายพันธุ์ 4
2.1.3 สรรพคุณทางยา 4
2.1.4 คุณค่าทางโภชนาการ 4
2.2 การสกัดสาระสำคัญจากพืชสมุนไพร 5
2.2.1 ตัวทำละลาย 5
2.2.2 การสกัดด้วยตัวทำละลาย 5
2.2.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้น 7
2.3 อนุมูลอิสระ 9
2.3.1 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ 10
2.3.2 อนุมูลอิสระกับกระบวนการเกิดโรค 11
2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ 12
2.4.1 สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ 13
2.4.2 สารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดจากยอ 20
2.5 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 24
2.5.1 DPPH scavenging capacity assay 24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.5.2 การตรวจหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 25
2.6 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง 25
2.6.1 เชื้อ *Salmonella typhimurium* 25
2.6.2 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* 27
2.6.3 เชื้อ *Staphylococcus aureus* 29
2.6.4 เชื้อ *Staphylococcus epidermidis* 33
2.6.5 เชื้อ *Escherichia coli* 34
2.6.6 เชื้อ *Bacillus cereus* 36
2.7 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ 37
2.7.1 Dilution Susceptibility Test 39
2.7.2 Agar Diffusion Test 40
2.8 ยาต้านจุลชีพ 42
2.8.1 การจำแนกประเภทของยาต้านจุลชีพ 42
2.8.2 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารต้านจุลินทรีย์ 44
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 47
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง 49
3.1 เชื้อจุลินทรีย์ 49
3.2 พืชที่ใช้ในการทดลอง 49
3.3 สารเคมีและอุปกรณ์ 49
3.3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 49
3.3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง 50
3.4 วิธีการทดลอง 51
3.4.1 การเตรียมสารสกัดจากต้นยอด้วยตัวทำละลายเอทานอล และการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ 51
3.4.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากต้นยอ 52
3.4.3 การศึกษาความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดจากต้นยอ 53
3.4.4 การศึกษาปริมาณสารพฤกษเคมีของสารสกัดจากต้นยอ 54
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปราย 57
4.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากต้นยอ 57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากต้นยอ..... 57
4.2.1 *Staphylococcus aureus* TISTR 1466..... 58
4.2.2 *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228..... 60
4.2.3 *Bacillus cereus* TISTR 687..... 62
4.2.4 *Salmonella typhimurium* TISTR 292..... 65
4.2.5 *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781..... 67
4.2.6 *Escherichia coli* TISTR 780..... 69
4.3 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากต้นยอ..... 71
4.4 การศึกษาสารพฤกษเคมีของสารสกัดจากต้นยอ..... 73
4.4.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด..... 73
4.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากต้นยอ..... 74
4.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากต้นยอ..... 75
4.4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากต้นยอ..... 76
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 78
5.1 สรุปผลการทดลอง..... 78
5.2 ข้อเสนอแนะ..... 79
เอกสารอ้างอิง..... 80
ภาคผนวก..... 84
ภาคผนวก ก..... 85
ภาคผนวก ข..... 87
ภาคผนวก ค..... 88
ภาคผนวก ง..... 106

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4.1 ลักษณะและปริมาณของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นยอ 57

4.2 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 58

4.3 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 60

4.4 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687 62

4.5 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 65

4.6 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 67

4.7 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780 69

4.8 แสดงค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระ (%DPPH reduction) ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ผล และกิ่งของต้นยอที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร 72

4.9 แสดงค่าการดักจับอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด (EC_{50}) ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ กิ่งและผลของต้นยอ 73

4.10 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นยอ 74

4.11 แสดงค่าสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ผล และกิ่งของต้นยอที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร 75

4.12 แสดงค่าสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ผล และกิ่งของต้นยอที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร 75

4.13 แสดงค่าสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ผล และกิ่งของต้นยอ 76

ค 1.1 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 88

ค 1.2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ค 1.3 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687 89

ค 1.4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 89

ค 1.5 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 90

ค 1.6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780 90

ค 2.1 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 91

ค 2.2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 91

ค 2.3 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687 92

ค 2.4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 92

ค 2.5 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 93

ค 2.6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780 93

ค 3.1 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 94

ค 3.2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 94

ค 3.3 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687 95

ค 3.4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ค 3.5 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 96
ค 3.6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780 96
ค 4.1 เชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 97
ค 4.2 เชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687 97
ค 4.3 เชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 97
ค 4.4 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 98
ค 5.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของสารสกัด 98
ค 5.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของหลุมควบคุม 98
ค 5.3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของวิตามินอี 99
ค 5.4 ค่าร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของวิตามิน อี 99
ค 5.5 ค่าร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดส่วน ใบ ผลและกิ่งของต้นยอ ที่ความเข้มข้นต่างๆ 99
ค 6.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 100
ค 6.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรของกรดแกลลิก 100
ค 7.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 101
ค 7.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของเคอร์ซีทิน 101
ค 8.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 103
ค 8.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรของเคอร์ซีทิน 103
ค 9.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ pH 1 และ pH 4.5 105
ค 9.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ pH 1 และ pH 4.5 105

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ หน้า

2.1 ต้นยอ 3

2.2 การทำละลายของน้ำ 6

2.3 เครื่องระเหยสุญญากาศ 8

2.4 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก 14

2.5 โครงสร้างของสารแอนโทไซยานิน 15

2.6 โครงสร้างของสารเคอร์คูมิน 16

2.7 โครงสร้างของกรดแกลลิก 19

2.8 โครงสร้างของกรดเอลลาจิก 19

2.9 โครงสร้างของฟลาโวนอยด์ 20

2.10 โครงสร้างของแทนนิน 23

2.11 ลักษณะของเชื้อ *Salmonella typhimurium* 25

2.12 ลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* 27

2.13 ลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus* 29

2.14 ลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* 33

2.15 ลักษณะของเชื้อ *Escheriachia coli* 34

2.16 ลักษณะของเชื้อ *Bacillus cereus* 36

3.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหาร 53

4.1 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 59

4.2 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 61

4.3 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Bacillus cereus* TISTR 687 64

4.4 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 66

4.5 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 68

4.6 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* TISTR 780 70

4.7 กราฟแสดงค่าเปรียบเทียบร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระกับความเข้มข้น
ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นยอที่ความเข้มข้นต่างๆ 72

ค 1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก 100

ค 2 กราฟมาตรฐานของเคอร์ซีทิน 102

ค 3 กราฟมาตรฐานของกรดแทนนิก 104

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

หลังจากวิกฤตเศรษฐกิจของประเทศที่เกิดขึ้นทำให้เกิดปัญหาการว่างงาน ทำให้ประชาชนได้รับความเดือดร้อนจากการตกงานต้องหาทางพึ่งพาตนเอง จึงมีผู้ที่หันมาประกอบอาชีพทำผลิตภัณฑ์แปรรูปจากผลิตผลทางการเกษตรที่มีอยู่มากมายในประเทศ เช่น ผัก ผลไม้ ธัญพืช รวมทั้งสมุนไพร ซึ่งกำลังเป็นที่พึ่งพาของผู้บริโภค ที่ได้เล็งเห็นประโยชน์และคุณค่าทางยาที่ให้ผลดีต่อร่างกาย เพื่อป้องกันและรักษาสุขภาพให้ห่างไกลจากโรคภัยไข้เจ็บที่เกิดขึ้น อันเป็นผลจากมลพิษสิ่งแวดล้อม สารปนเปื้อนทางเคมีในผลิตภัณฑ์อาหารจากการบริโภคโดยรู้เท่าไม่ถึงการณ์ สมุนไพรที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก ได้แก่ ยอบ้านหรือลูกยอเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่คนไทยในบางภาคมีการนำมาบริโภคได้หลายรูปแบบมาตั้งแต่สมัยโบราณ (ชิดชม และคณะ, 2549)

ยอ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Morinda citrifolia* L. อยู่ในวงศ์ Rubiaceae ลักษณะของยอเป็นไม้ยืนต้น มีลำต้นสูงประมาณ 2-6 เมตร ใบกว้างรูปไข่ ดอกมีลักษณะคล้ายท่อเล็กๆ เป็นกลุ่มรวมอยู่บนก้านดอกรวม ก้านใบมีลักษณะเหมือนวงแหวนรอบก้านและกลีบดอกสีค่อนข้างเขียวอมขาว ผลของยอ(ยาว 3-10 เซนติเมตร, กว้าง 3-6 เซนติเมตร) เป็นรูปไข่สีเขียวถึงเหลืองมีเปลือกบาง ผิวภายนอกนูนขรุขระมีตาเล็กๆ สีน้ำตาลแดง เมื่อผลสุกจะมีสีเหลืองถึงขาวใส ผลสุกจะมีกลิ่นของกรดบิวทิริคแรง มีเนื้อนิ่ม ฉ่ำน้ำ มีเมล็ดจำนวนมาก มีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมสีน้ำตาลแดงแต่ละกลุ่มมีสี่เมล็ดรวมกัน (ขนาดประมาณ 3.5 มิลลิเมตร) ในประเทศไทยคนไทยทั่วทุกภาครู้จักและบริโภคยอเป็นอาหารมานานทั้งในส่วนของใบและผล ในตำราแพทย์แผนไทยยอมีสรรพคุณทางยาโดยผลยอใช้เป็นกระสายยา แก้อาเจียน ขับเลือดสตรี บำรุงธาตุ ช่วยเจริญอาหาร ส่วนใบใช้แก้ท้องร่วง แก้ไข้ แก้คลื่นไส้อาเจียน

ผลการศึกษาสารประกอบทางเคมี (phytochemical compounds) ในยอพบว่ามีสารประกอบทางเคมีแตกต่างกันไปตามแต่ละส่วนของยอ ที่ระบุได้ประมาณ 160 ชนิดและมี major macronutrient จำพวก phenolic compounds, organic acids และ alkaloids สารประกอบในกลุ่ม phenolic compounds และที่สำคัญคือ anthraquinones (damnacanthal, morindone, morindin, etc.) และ aucubin, asperuloside และ scopoletin สาร organic acid หลักได้แก่ caproic และ caprylic acid และมีการรายงานเบื้องต้นว่าพบ alkaloid ในรูป xeronine ผลยอประกอบด้วยน้ำ 90% ส่วนประกอบหลักที่เหลือจะเป็น soluble solids, dietary fibers และโปรตีน มีกรดอะมิโนหลักคือ aspartic acid, glutamic acid และ isoleucine ในส่วนของแร่ธาตุจากรายงานมีแร่ธาตุในปริมาณ 8.4 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้ง และมีแร่ธาตุหลักคือ โพแทสเซียม, ซัลเฟอร์, แคลเซียมและฟอสฟอรัส ส่วนแร่ธาตุที่ร่างกายต้องการในปริมาณน้อยที่พบในน้ำลูกยอ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซีลีเนียม วิตามินในผลยอที่พบมาก ได้แก่ ascorbic acid (24-158 mg/100 g ของน้ำหนักแห้ง) และ Provitamin A จากรายงานของนักวิจัยไทย (ปราณี, 2548) ถึงผลการวิเคราะห์ทางเคมีในน้ำสกัดผลยอ พบว่ามีวิตามินซีและวิตามินบีรวมในปริมาณสูง มีสารกลุ่มต้านอนุมูลอิสระ สารกลุ่มแอนทราควิโนน ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน และสโคโพเลทิน

จากที่กล่าวมาในข้างต้นจะเห็นได้ว่ายอมีคุณประโยชน์มากมาย ดังนั้นการทำโครงงานพิเศษในครั้งนี้จึงมีความสนใจที่จะศึกษาต้นยอ โดยเลือกใช้ส่วนต่างๆ ดังนี้ ใบ ผล และกิ่ง และนำมาทำการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ เพื่อสามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาขั้นตอนการสกัดสารจากยอ
2. เพื่อศึกษาคุณสมบัติการต้านเชื้อก่อโรคของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ผลและกิ่งต้นยอ
3. เพื่อศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ผลและกิ่งต้นยอ
4. เพื่อศึกษาสารพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ผลและกิ่งต้นยอ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. สกัดสารที่ได้จากส่วนใบ ผล และกิ่งต้นยอ
2. นำสารสกัดที่ได้มาทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงทำการหาปริมาณสารพฤกษเคมี ได้แก่ ประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สารประกอบแทนนินทั้งหมด และสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมด
3. นำสารสกัดที่ได้มาทดสอบคุณสมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ และศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimum Inhibition Concentration : MIC) โดยวิธี Agar well diffusion

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อให้ทราบถึงความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์แต่ละชนิดของสารสกัดจากยอ
2. สามารถนำข้อมูลเบื้องต้นไปศึกษาเพิ่มเติมและพัฒนาเพื่อนำไปใช้เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ
3. สามารถนำข้อมูลเบื้องต้นไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเกี่ยวกับการดูแลสุขภาพ
4. เพื่อยกระดับมาตรฐานยอไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ยอ (*Morinda citrifolia* L.)



รูปที่ 2.1 ต้นยอ
ที่มา : https://medthai.com (สืบค้นวันที่ 11/1/2560)

ชื่อสามัญ : Indian Mulberry
ชื่ออื่น : ยอบ้าน (ภาคกลาง) มะตาเสือ (ภาคเหนือ) ยอ แยใหญ่ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน)
ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Morinda citrifolia* L

Kingdom Plantae
Division Angiosperms
Class Eudicots
Subclass Asterids
Order Gentianales
Family Rubiaceae
Genus Morinda
Species *Morinda citrifolia*

ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/%E0%B8%A2%E0%B8%AD (สืบค้นวันที่ 11/1/2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นไม้ยืนต้น สูง 2-6 เมตร ขนาดกลาง ออกผลตลอดปี

ลำต้น : เปลือกต้นสีน้ำตาล แตกเป็นสะเก็ดแล้วหลุดออก กิ่งอ่อนเป็นสี่เหลี่ยม

ใบ : เป็นใบเดี่ยว ออกตรงข้าม รูปรี กว้าง 8-15 เซนติเมตร ยาว 10-20 เซนติเมตร ขอบใบเรียบ แผ่นใบเรียบ สีเขียวเข้มเป็นมัน

ดอก : ออกเป็นช่อกลมตามซอกใบ ดอกสีขาว กลีบดอกโคนเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยกเป็น 5 แฉก มีกลิ่นหอม

ผล : เป็นผลรวม ผิวขรุขระเป็นตุ่ม ผลสุกมีกลิ่นเหม็นเอียน

เมล็ด : เมล็ดสีน้ำตาลมีหลายเมล็ด เปลือกหุ้มแข็ง

2.1.2 การกระจายพันธุ์

สามารถพบได้ทุกภาคของประเทศไทย สามารถกระจายพันธุ์ได้โดยการใช้เมล็ดเป็นวิธีที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ต้นที่แข็งแรง โดยนำเมล็ดที่แก่มาตากแดดให้แห้ง จากนั้นก็เพาะในขุยมะพร้าวผสมกับทราย ฝังเมล็ดลงไป 0.3 – 0.5 มิลลิเมตร ประมาณ 1 เดือนก็จะเริ่มงอก

2.1.3 สรรพคุณทางยา

ยอจัดเป็นสมุนไพรที่มีคุณค่า เมื่อ 40 -50 ปีก่อนทุกบ้านจะหมกยอไว้ในไหเกลือด้วยความที่ยอเป็นยาสารพัดประโยชน์ เป็นยาที่มีฤทธิ์ร้อน ซึ่งสามารถแก้อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ครั่นเนื้อครั่นตัวจะเป็นหวัด คลื่นไส้ อาเจียน ปวดหัวมึนหัว เป็นลมใจสั่นใจหวิว ปวดข้อ ปวดเข่า แก้เมื่อยเนื้อเมื่อยตัว ไม่มีเรี่ยวแรง แก้ไอ ลดความดัน แก้อาการอาหารไม่ย่อย

ใบ - มีวิตามินเอ 40,000 กว่ายูนิตสากลต่อ 100 กรัม มีคุณสมบัติในการบำรุงสายตา หัวใจ คั้นน้ำทาแก้โรคเก๊าท์ ปวดตามข้อเล็กๆ ของนิ้วมือ นิ้วเท้า หรือคั้นน้ำสระผมฆ่าเหา แก้กระษัย ใช้ใบปรุงเป็นอาหาร แก้ท้องร่วง

ราก - ใช้เป็นยาระบาย แก้กระษัย ใช้สกัดสีออกมา เป็นสีย้อมผ้าได้ โดยผสมส่วนของเกลือต่างๆ สามารถเปลี่ยนเป็นสีต่างๆ ได้ตามต้องการ ซึ่งสีเดิมของรากจะมีสีเหลือง หรือเหลืองปนแดง หากผสมตามส่วนด้วยเกลือ อาจจะได้สีแดง ชมพู น้ำตาลอ่อน สีม่วงแดง หรือสีดำ เป็นต้น

ผล - รสเผ็ดปร่า จิ้มน้ำผึ้งรับประทาน มีคุณสมบัติเป็นยาขับลม เจริญอาหาร ขับลมในลำไส้ กระเพาะอาหาร แก้เหงือกเปื่อยเป็นขุมบวม ขับเลือดลม ขับโลหิตประจำเดือน ต้มน้ำรับประทานกับรากผักชีแก้อาการอาเจียนของหญิงมีครรภ์ หมกไฟหรือต้มกินกับน้ำบำรุงธาตุ แก้เสียงแหบแห้ง แก้ร้อนในอก

ดอก - รสเฝื่อน ผสมยารักษาวัณโรค (กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก, 2558)

2.1.4 คุณค่าทางโภชนาการ

ยอมีคุณค่าทางโภชนาการสูงมากใน 100 มิลลิกรัม มีวิตามินซี 76 มิลลิกรัม มากว่ามะนาวถึงสองเท่า แคลเซียม 350 มิลลิกรัม มากกว่านมสามเท่า นอกจากนั้นยังมีวิตามินเอ เหล็กและฟอสฟอรัสในปริมาณสูง ผลยอมีวิตามินซีสูงใกล้เคียงกับมะขามป้อมคือ 208 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 100 กรัม ช่วยบำรุงน้ำนม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยอ 100 กรัม ให้พลังงานต่อร่างกาย 73 กิโลแคลอรี ประกอบด้วยน้ำ 77.3 กรัม คาร์โบไฮเดรต10.5 กรัม โปรตีน 5.0 กรัม ไขมัน 2.2 กรัม ใยอาหาร 4 กรัม แคลเซียม 469 มิลลิกรัม เหล็ก 1.4 มิลลิกรัม วิตามินเอ 43333 IU วิตามินบีหนึ่ง 0.30 มิลลิกรัม วิตามินบีสอง 0.14 มิลลิกรัม ไนอาซีน 7.2 มิลลิกรัม (สุภาภรณ์, 2554)

2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร (ปัทมา, 2546)

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive Compounds) คือสารจากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคน สัตว์ และพืช สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีต้องเป็นสารที่มีผลจำเพาะเจาะจง เช่น มีฤทธิ์จำเพาะต่อเซลล์ของมะเร็งเต้านม มีฤทธิ์จำเพาะต่อเชื้อวัณโรค เป็นต้น และสารนั้นจะต้องไม่มีผลทางลบต่อร่างกาย หรือมีผลข้างเคียงน้อยมาก เพราะเมื่อสารนั้นถูกนำมาแปรรูปให้เป็นส่วนประกอบของยา ย่อมไม่ต้องการให้ยามีผลกับส่วนที่ดีของร่างกาย ยกเว้น เชื้อโรค หรือส่วนเกิน (มะเร็ง) ที่เราต้องการขจัดเท่านั้น สารใดก็ตามถ้ามีผลข้างเคียงที่ไม่ต้องการ เราก็จะจัดสารนั้นให้อยู่ในพวกสารพิษ (toxic substance)

2.2.1 ตัวทำละลาย

เป็นของเหลวที่สามารถละลายตัวถูกละลายที่เป็นของแข็ง ของเหลว หรือก๊าซได้เป็นสารละลาย ตัวทำละลายที่คุ้นเคยมากที่สุดและใช้ในชีวิตประจำวันคือน้ำ สำหรับคำจำกัดความที่อ้างถึงตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) จะหมายถึงตัวทำละลายอีกชนิดที่เป็นสารประกอบอินทรีย์ (organic compound) และมีคาร์บอนอะตอมอยู่ด้วย โดยปกติตัวทำละลายจะมีจุดเดือดต่ำและระเหยง่ายหรือสามารถกำจัดโดยการกลั่นได้ โดยทั่วไปแล้วตัวทำละลายไม่ควรทำปฏิกิริยากับตัวถูกละลาย คือ มันจะต้องมีคุณสมบัติเฉื่อยทางเคมี ตัวทำละลายสามารถใช้สกัด (extract) สารประกอบที่ละลายในมันจากของผสมได้ตัวอย่างที่คุ้นเคยได้แก่ การต้มกาแฟหรือชาด้วยน้ำร้อน ปกติตัวทำละลายจะเป็นของเหลวใสไม่มีสีและส่วนใหญ่จะมีกลิ่นเฉพาะตัว ความเข้มข้นของสารละลายคือจำนวนสารประกอบที่ละลายในตัวทำละลายในปริมาตรที่กำหนดการละลาย (solubility) คือจำนวนสูงสุดของสารประกอบที่ละลายได้ในตัวทำละลายตามปริมาตรที่กำหนดที่อุณหภูมิเฉพาะ

2.2.2 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีการแยกสารที่ใช้มากในชีวิตประจำวัน เป็นการแยกสารที่ต้องการออกจากส่วนต่างๆของพืชหรือจากของผสม ต้องเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารที่ต้องการ ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดได้แก่ น้ำ เบนซิน อีเทอร์ โทลูอีน และเฮกเซน การสกัดด้วยตัวทำละลายเพื่อให้สารนั้นมีความบริสุทธิ์ (Zhu และ Cheng, 2011)

2.2.2.1 น้ำ (Water)

น้ำบริสุทธิ์ ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และไม่มีรส น้ำ 1 โมเลกุล (H_2O) ประกอบด้วยไฮโดรเจน 2 อะตอมและออกซิเจน 1 อะตอมเชื่อมต่อกันด้วยพันธะโควาเลนท์ (Covalent bonds)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งใช้อิเล็กตรอนร่วมกัน โดยที่อะตอมทั้งสามตัวเรียงกันทำมุม 105 องศา โดยมีออกซิเจนเป็นขั้วลบ และไฮโดรเจนเป็นขั้วบวกโมเลกุลแต่ละโมเลกุลของน้ำเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen-bonds) เมื่อเทียบกับสารประกอบชนิดอื่นแล้วน้ำเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด เมื่อโมเลกุลของน้ำอยู่รวมตัวกันยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะไฮโดรเจนโดยมีแรงที่ชื่อว่า “อีเล็กโตรสแตติก” (Electrostatic forces) นอกจากโมเลกุลของน้ำจะเชื่อมต่อกันเองแล้ว โมเลกุลของน้ำยังสามารถยึดเหนี่ยวกับโมเลกุลอื่นได้ด้วย โมเลกุลของสารประกอบบางชนิดยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะไอออนิก (Ionic bonds) โดยมีแรงอีเล็กโตรสแตติกระหว่างประจุบวกและประจุลบของอะตอมแต่ละตัว แรงอีเล็กโตรสแตติกของโมเลกุลเหล่านี้จะลดลงเหลือเพียง 1/80 เมื่อถูกรบกวนจากแรงอีเล็กโตรสแตติกของน้ำ ซึ่งน้ำเป็นตัวทำละลายที่ดีเนื่องจากแรงอีเล็กโตรสแตกติกของโมเลกุลน้ำจะมีพลังมากกว่าแรงอีเล็กโตรสแตกติกของโมเลกุลอื่นเสมอ ตัวอย่างเช่น เกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) มีโมเลกุลของโซเดียม (Na+) เป็นประจุบวกยึดติดกับโมเลกุลของคลอรีน (Cl-) ซึ่งเป็นประจุลบ เมื่อใส่ผลึกเกลือลงในน้ำ แรงอีเล็กโตรสแตติกระหว่างโมเลกุลของโซเดียมคลอไรด์จะถูกลดลง 80 เท่า ทำให้ขั้วบวกของโมเลกุลน้ำ (ไฮโดรเจน) ดึงดูด Cl- ไว้และขั้วลบของโมเลกุลน้ำ (ออกซิเจน) ดึงดูด Na+ ไว้ (ชุดการเรียนโลกและวิทยาศาสตร์, 2560)



รูปที่ 2.2 การทำละลายของน้ำ

ที่มา : http://portal.edu.chula.ac.th (สืบค้นวันที่ 3/2/2560)

แต่การใช้น้ำอย่างเดียวในการสกัดสมุนไพรมีข้อเสียหลายประการ คือ สามารถละลายองค์ประกอบที่ไม่ต้องการออกมาได้มากเช่นเดียวกับสารสำคัญที่ต้องการ สารเฉื่อยที่ออกมากับน้ำ เช่น น้ำตาลและแป้ง สารเหล่านี้เป็นอาหารที่ดีแก่จุลินทรีย์จึงทำให้เกิดการบูดเสียของสารสกัด ดังนั้นจึงไม่นิยมใช้น้ำเดี่ยวๆเป็นน้ำยาสกัดแต่จะใช้ร่วมกับตัวทำละลายอื่นๆ

2.2.2.2 เมทานอล (methanol)

มีสูตรโครงสร้างแบบย่อ CH_3OH เป็นของเหลวใส ระเหยง่าย เป็นพิษ นิยมใช้เป็นตัวทำละลายและใช้เป็นเชื้อเพลิงในธรรมชาติ เมทานอลเป็นผลิตภัณฑ์จากการสลายสารอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบไม่ใช้ออกซิเจนของแบคทีเรียหลายชนิดซึ่งเมทานอลจะระเหยออกสู่อากาศภายนอกแล้วสลายตัวได้คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ

2.2.2.3 เอทธิลอะซิเตท (ethyl acetate)

สูตรทางเคมีคือ $CH_3CH_2COOCH_3$ เป็นสารประกอบอินทรีย์ เป็นเอสเตอร์ของเอทานอลและกรดอะซิตริก เป็นของเหลว ไม่มีสี มีกลิ่นหวาน พิษต่ำ รับประทานไม่ได้ ใช้เป็นตัวทำละลายและเจือจางในงานอุตสาหกรรม ใช้ในการกลั่นแยก รวมทั้งใช้ในเครื่องสำอางเพราะมันมีกลิ่นหอม เช่น น้ำยาขัดเล็บ นอกจากนี้ยังใช้ในขนม น้ำหอมและผลไม้เพราะมันระเหยในอัตราที่รวดเร็ว เหลือเพียงกลิ่นหอมอยู่

2.2.2.4 เฮกเซน (hexane)

สูตรทางเคมีคือ C_6H_{14} เป็นสารประกอบอัลเคนโซ่ตรงที่มีจำนวนคาร์บอน 6 อะตอม เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่พบบ่อยในห้องปฏิบัติการและในอุตสาหกรรม เป็นของเหลวใส ไม่มีสี จุดเดือดต่ำ

2.2.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

สารสกัดที่ได้จะมีปริมาณมากและเจือจาง ไม่สามารถนำไปแยกองค์ประกอบได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงต้องผ่านการทำให้สารสกัดนั้นเข้มข้นก่อน ซึ่งวิธีการทำสารสกัดให้เข้มข้นมีดังนี้

2.2.3.1 การระเหย (evaporation)

การระเหย หมายถึง การที่โมเลกุลของของเหลวบริเวณผิวหน้าหลุดออกไปเป็นแก๊ส เนื่องจากการเคลื่อนที่และเกิดการชนกันของโมเลกุล มีแลกเปลี่ยนพลังงานซึ่งกันและกัน ทำให้แต่ละโมเลกุลของของเหลวมีพลังงานจลน์แตกต่างไปจากพลังงานจลน์เฉลี่ย โมเลกุลที่มีพลังงานจลน์สูงก็จะเอาชนะแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลและจะหลุดออกไปจากผิวหน้าของของเหลวและกลายเป็นแก๊ส

2.2.3.2 การทำให้แห้ง (Dehydration)

เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดจนแห้ง ได้สารสกัดออกมาในสภาพแข็งหรือกึ่งแข็งกึ่งเหลว มีหลายวิธี อาทิเช่น การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dehydration หรือlyophilization) หมายถึง การทำแห้ง (dehydration) ด้วยการแช่เยือกแข็ง (freezing) ทำให้น้ำเปลี่ยนสถานะเป็นผลึกน้ำแข็งก่อนแล้วจึงลดความดันเพื่อให้ผลึกน้ำแข็งระเหิด (sublimation) เป็นไอ ด้วยการลดความดันให้ต่ำกว่าบรรยากาศปกติ ขณะควบคุมให้อุณหภูมิต่ำ (ที่อุณหภูมิเท่ากับหรือต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส น้ำแข็งจะมีการระเหิดที่ความดันเท่ากับ 4.7 มิลลิเมตรปรอทหรือต่ำกว่า) และการใช้ความร้อน

2.2.3.3 อัลตราฟิวเตรชัน (Ultra filtration)

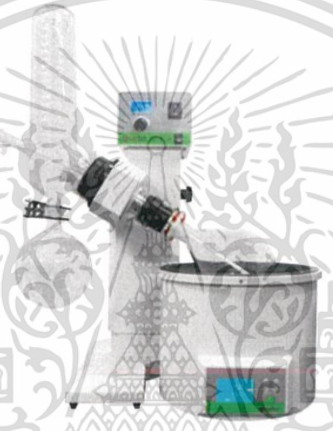
อัลตราฟิวเตรชัน คือเป็นการทำให้สารสกัดที่อยู่ในรูปของเหลวเข้มข้นขึ้นโดยการกรองโดยใช้เยื่อบาง (membrane filtration) และใช้แรงดันให้ของเหลวเคลื่อนที่ผ่านเยื่อบาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่มีขนาดของรูเปิด (pore size) ระหว่าง 1 นาโนเมตรถึง 100 นาโนเมตร ใช้สำหรับกรองอนุภาคที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 300 - 500,000 ดาลตัน

2.2.3.4 การกลั่นในสภาวะสุญญากาศ (vacuumdistillation)

สารบางชนิดที่อยู่ในของเหลวผสม หากให้ความร้อนจนมีอุณหภูมิสูงจะสลายตัวหรือทำปฏิกิริยา ในกรณีเช่นนี้จะใช้การกลั่น vacuum distillation กล่าวคือทำการกลั่นของเหลวผสมภายใต้สภาวะลดความดันจะทำให้สารนั้นระเหยและเดือดที่อุณหภูมิต่ำได้ โดยทั่วไปเมื่อลดความดันจะทำให้เกิดผลต่างอุณหภูมิสูงกว่าเมื่อเพิ่มความดันเทียบกับความดันที่เปลี่ยนไปเท่ากัน ซึ่งวิธีนี้จัดเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เครื่องมือที่ใช้เรียกว่า rotary evaporator



รูปที่ 2.3 เครื่องระเหยสุญญากาศ

ที่มา : http://www.labtechus.com/?optionid=1036 (สืบค้นวันที่ 3/2/2560)

เป็นเครื่องที่ใช้ระเหยสารตัวทำละลายออกจากสารละลายตัวอย่าง เพื่อให้ปริมาณสารละลายตัวอย่างที่ต้องการนั้นเข้มข้นขึ้นด้วยการให้ความร้อนจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิและระบบสุญญากาศ เพื่อลดจุดเดือดของสารตัวทำละลายตัวอย่างให้ต่ำลง สามารถปรับอัตราเร็วรอบของการหมุนตั้งแต่ 20 ถึง 180 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการระเหยสารตัวอย่างที่เป็นของเหลวโดยการกลั่นเพื่อแยกตัวทำละลายที่ผสมอยู่ มีอ่างให้ความร้อนที่สามารถใช้ได้กับน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบอิเล็กทรอนิคส์ ใช้พลังงานไม่น้อยกว่า 1,300 วัตต์ โดยควบคุมอุณหภูมิได้ตั้งแต่ 20 องศาเซลเซียสถึง 95 องศาเซลเซียสหรือ ตัวอ่างด้านในทำด้วยสแตนเลส ออกแบบให้สามารถใช้กับขวดกลั่นได้หลายขนาดตั้งแต่ 50 มิลลิลิตรถึง 4 ลิตรหรือมากกว่า อ่างให้ความร้อนสามารถรับกำลังไฟฟ้าจากเครื่องโดยระบบสัมผัสเพื่อเพิ่มความสะดวกในการเคลื่อนย้ายและเปลี่ยนถ่ายสารตัวกลางให้ความร้อนโดยไม่ต้องดึงสายไฟออก อ่างให้ความร้อนมีระบบป้องกันอุณหภูมิสูงเกิน (over temperature protection) สามารถปรับระดับเลื่อนขึ้นลงของขวดใส่สารแบบ manual พร้อมระบบ quick action jack โดยการเลื่อนขึ้นลงของที่จับ (handle) เพื่อความสะดวกในการใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถปรับมุมของฟลาสก์ที่จุ่มลงในอ่างให้ความร้อนเพื่อความเหมาะสมกับฟลาสก์ขนาดต่างๆ สามารถใส่หรือถอดฟลาสก์ใส่สารตัวอย่างเข้ากับเครื่อง โดยการหมุนตัวจับยึด (clip) ได้สะดวกโดยไม่ต้องถอดตัวจับยึดออกจากเครื่อง สารละลายที่ถูกควบแน่นบริเวณคอนเดนเซอร์จะอยู่ในภาชนะรองรับโดยสารละลายดังกล่าวสามารถนำกลับมาใช้ให้ได้

2.3 อนุมูลอิสระ (free Radical) (โอภาและคณะ, 2549)

อนุมูลหรืออนุมูลอิสระคือ อะตอม โมเลกุลหรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง คำจำกัดความนี้หมายรวมถึงอะตอมของไฮโดรเจนและอิออนของโลหะทรานซิชันส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังรวมถึงโมเลกุลของออกซิเจนซึ่งนับว่าเป็นอนุมูลเพราะมีอิเล็กตรอนจำนวน 2 อิเล็กตรอน แต่ละอิเล็กตรอนจะแยกกันอยู่เป็นอิเล็กตรอนเดี่ยวในแต่ละออร์บิทัล ทั้งนี้การสปินหรือการหมุนรอบตัวของอิเล็กตรอนทั้งสองจะสปินแบบคู่ขนานในทิศทางเดียวกัน อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสภาวะเป็นกลางทางฟ้าและอนุมูลในสภาวะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีทั้งประจุบวกและประจุลบ สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูลหรืออนุมูลอิสระ คืออิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลซึ่งจะแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล $A^{\cdot}$ อนุมูล $A^{-\cdot}$ อนุมูล $A^{+\cdot}$ โดยเฉพาะอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะไวต่อการเกิดปฏิกิริยามากกว่าอนุมูลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เนื่องจากอิเล็กตรอนเดี่ยวจะไม่เสถียรและพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวอื่น ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงมีคุณสมบัติเฉพาะ คือมีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยาสามารถคงอยู่ในสภาพอนุมูลได้นาน อนุมูลอิสระที่มีความเสถียรมีจำนวนน้อยชนิดมาก ตัวอย่างของอนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ อนุมูลซุปเปอร์ออกไซค์แอนอิออน ($O_2^{-\cdot}$) อนุมูลไฮดรอกซี ($^{\cdot}OH$) อนุมูลอัลคอกซี ($RO^{\cdot}$) และอนุมูลเปอร์ไฮดรอกซี ($HO_2^{\cdot}$) อนุมูลอิสระเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาสูงมาก และขณะที่ไนตริกออกไซด์ (NO) หรืออนุมูลไนตริกออกไซด์ ($^{\cdot}NO$) อนุมูลวิตามินอีและอนุมูลวิตามินซีเป็นอนุมูลอิสระที่มีความไวสูงรองลงมา การเกิดอนุมูลอิสระมีได้หลายกลไกที่แตกต่างกันดังนี้

ก.การแตกของพันธะโควาเลนท์แบบโอโมไลซิส

$$A{:}B \longrightarrow A^{\cdot} \; B^{\cdot}$$

ข.การเพิ่มอิเล็กตรอน 1 ตัวให้แก่อะตอมที่เป็นกลาง (ทางไฟฟ้า)

$$A + e^{-} \longrightarrow A^{-\cdot}$$

ค.การสูญเสียอิเล็กตรอน 1 ตัวให้แก่อะตอมที่เป็นกลาง (ทางไฟฟ้า)

$$A \longrightarrow A^{+\cdot}$$

อนุมูลอิสระ (free redical) คืออะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่อยู่ในออร์บิทอลวงนอกสุด (out orbital) เนื่องจากการมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยว (unpaired electron) อยู่ในวงโคจรของโมเลกุลทำให้ไม่มีความเสถียรและมีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก โดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้ตัวมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เสถียร โดยโมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดมาใหม่นี้จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ต่อกันไปเรื่อยๆโดยที่อนุมูลอิสระก็มีสมบัติเหมือนสารทั่วๆไปคือมีความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่น สามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิความเป็นกรดด่าง (pH) และความชื้น เป็นต้น ส่งผลทำให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่างๆของเซลล์ภายในร่างกาย เช่น การทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ (DNA) การเปลี่ยนสภาพโปรตีนและไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์หรือการสร้างพันธะโควาเลนท์ (covalent bond) กับโปรตีนหรือเอนไซม์บางชนิดทำให้การทำงานผิดปกติ โดยกลไกการเกิดอนุมูลอิสระมีดังนี้ (รัชนี, 2548)

1. ขั้นเริ่มต้น (initiation) ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระของกรดไขมันไม่อิ่มตัวจากการทำปฏิกิริยาระหว่างกรดไขมันไม่อิ่มตัวกับออกซิเจน โดยมีตัวเร่งปฏิกิริยาคือความร้อน แสงรังสี อิออนของโลหะหรือฮีม (haem)

$$RH + \text{initiator} \xrightarrow{T} R + H$$

2. ขั้นต่อเนื่อง (propagation) ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนการเกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระของกรดไขมันที่ได้จากขั้นเริ่มต้นกับออกซิเจน ได้เป็นอนุมูลเปอร์รอกซี (peroxy radical) ซึ่งจะทำปฏิกิริยาต่อกับกรดไขมันไม่อิ่มตัวเกิดเป็นสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และอนุมูลอิสระของกรดไขมันที่สามารถเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อเนื่องได้อีก

$$R^{\cdot} + O^2 \longrightarrow ROO^{\cdot}$$

3. ขั้นสุดท้าย (termination) ขั้นตอนนี้เป็นขั้นการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่จากการทำปฏิกิริยากันเองระหว่างอนุมูลอิสระทำให้เกิดสารที่มีความคงตัวจึงไม่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้น

$$ROO^{\cdot} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\cdot}$$

2.3.1 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ (Sources of free radical)

อนุมูลอิสระในร่างกายของมนุษย์แบ่งออกเป็น 2 แบบคือ

1. อนุมูลอิสระที่เกิดในร่างกายของเราเองเป็นผลจากในร่างกายของเรามีกระบวนการเผาผลาญอาหารหรือที่เรียกเป็นทางการว่ากระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) เกิดขึ้นตลอดเวลา ซึ่งเป็นผลจากปฏิกิริยาเคมีและกิจกรรมของเซลล์ในร่างกายที่ต้องดำเนินการตามปกติ ตัวอย่างเช่น ในกระบวนการหายใจจะเกิดออกซิเจนที่มีประจุลบซึ่งก็คืออนุมูลอิสระ สารตัวนี้สามารถรวมตัวกับไขมัน LDL (Low Density Lipoproteins) ได้ดีและยังสามารถรวมตัวกับสารบางชนิดในร่างกายก่อให้เกิดสารพิษที่ทำลายเนื้อเยื่อ หรืออาจไปเปลี่ยนแปลงข้อมูลทางพันธุกรรมในดีเอ็นเอทำให้เซลล์ปกติเปลี่ยนสภาพไปเป็นเซลล์มะเร็ง เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อนุมูลอิสระที่มาจากนอกร่างกาย ซึ่งเกิดได้หลายปัจจัยด้วยกัน คือจากการได้รับเชื้อโรค เช่น การติดเชื้อไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรีย โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (Autoimmune Diseases) เช่น ข้ออักเสบ รูมาตอยด์ จากรังสี เช่น รังสีอัลตราไวโอเลต รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา จากมลภาวะ เช่น ควันบุหรี่ แก๊สจากท่อไอเสียรถยนต์ เช่น ไนตรัสออกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ เขม่าจากเครื่องยนต์ ฝุ่น จากกระบวนการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่มีอุณหภูมิสูงๆกลับมาใช้อีก ทำให้เกิดอาหารประเภทเกรียม ไหม้หรือเกิดจากการ ปิ้ง หรือ ย่าง จากสารบางชนิด เช่น โดโซรูบิซิน (Doxorubicin)เพนนิซิลามิน (Penicillamine) พาราเซทามอล (Paracetamol) เป็นต้น สามารถแบ่งชนิดของอนุมูลอิสระที่มีบทบาทสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตเป็น 4 กลุ่มดังนี้

2.1 Reactive oxygen species (ROS) หมายถึง สารก่อปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยอะตอมออกซิเจนที่เป็นสารอนุมูลอิสระ เช่น superoxide anion radical ($O_2\cdot$), hydroxyl radical ($HO\cdot$) และที่ไม่ใช่อนุมูลแต่มีคุณสมบัติในการออกซิไดซ์หรือถูกเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระได้ง่าย เช่น hydrogenperoxide (H_2O_2), hypochlorous acid (HOCl) และ ozone (O_3) เป็นต้น

2.2 Reactive nitrogen species (RNS) หมายถึง สารที่ทำการก่อปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยอะตอมไนโตรเจน เช่น nitric oxide radical ($NO\cdot$) และ nitrogen dioxide radical ($NO_2\cdot$) เป็นต้น

2.3 Reactive chlorine species (RCS) หมายถึง สารก่อปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยอะตอมคลอรีน เช่น hypochlorous acid (HOCl) และ nitryl chlorine (NO_2Cl) เป็นต้น

2.4 Reactive bromine species (RBS) หมายถึง สารที่ทำการก่อปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยอะตอมโบรมีน เช่น hypobromous (HOBr) และ bromine gas (Br_2) เป็นต้น (กัมปนาท, 2553)

2.3.2 อนุมูลอิสระกับกระบวนการเกิดโรค

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการเผาผลาญในร่างกายและหลุดออกมาทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันก่อให้เกิดความเสียหาย และมีผลกระทบต่อกระบวนการที่นำไปสู่การแสดงออกทางคลินิก ผลกระทบโดยตรงได้แก่การเกิดเปอร์ออกซิเดชันที่เซลล์เมมเบรนและองค์ประกอบอื่นๆของเซลล์และเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่โปรตีนและดีเอนเอ โดยปกติแล้วร่างกายจะมีการป้องกันโดยของเหลวภายในร่างกายที่มีส่วนประกอบเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ที่มีโลหะจับอยู่ได้แก่ เอนไซม์ และโปรตีน เอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (SOD) เอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (GPX) และเอนไซม์คาตาเลส (CAT) ที่อยู่ภายในเซลล์จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์อันเป็นอนุมูลเริ่มต้นและอนุมูลเปอร์ออกไซด์ ก่อนที่อนุมูลทั้งสองนี้จะทำปฏิกิริยาต่อโดยมีโลหะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำให้เกิดอนุมูลหรือสารที่มีฤทธิ์รุนแรงขึ้นกว่าเดิม อย่างไรก็ตามยังมีอนุมูลหรือสารที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฤทธิ์รุนแรงจากปฏิกิริยาลูกโซ่เปอร์ออกซิเดชันที่เริ่มต้นโดยอนุมูลอิสระที่รอดพ้นจากการถูกทำลายโดยเอนไซม์ข้างต้น ซึ่งอนุมูลหรือสารที่มีฤทธิ์รุนแรงที่รอดพ้นจากการกำจัดโดยเอนไซม์ในขั้นแรกจะถูกกำจัดต่อโดยสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่หยุดลง โดยสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ได้แก่ วิตามินซีที่ละลายน้ำ วิตามินอีที่ละลายในไขมันและยูบิควิโนน เป็นต้น

ความไม่สมดุลของการเกิดอนุมูลอิสระทำให้มีอนุมูลมากเกินสมดุล และเกิดภาวะที่เซลล์และร่างกายถูกออกซิไดซ์ (oxidative stress) ภาวะดังกล่าวมีบทบาทในการเกิดโรคต่างๆ มากกว่า 100 โรค เช่นภาวะผนังเส้นเลือดแดงหนาและมีความยืดหยุ่นน้อยลงเนื่องจากการสะสมของไขมันที่ทำให้ผนังหลอดเลือดตีบตันและเกิดภาวะขาดเลือดชั่วคราวที่สมองและหัวใจ โรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมของประสาทส่วนกลาง โรคภูมิแพ้และโรคมะเร็ง นอกจากนี้การมีปริมาณอนุมูลอิสระที่ไม่สมดุลยังสัมพันธ์กับลักษณะของโรคหรืออาการผิดปกติอื่นๆ ดังนี้ โรคอัลไซเมอร์ โรคพาร์กินสัน อาการสมอง และไขสันหลังอับเสบเนื่องจากโรคภูมิแพ้ โรคเนื้องอกเรื้อรัง ดาวน์ซินโดรม โรคตับอักเสบ โรคข้ออักเสบ การติดเชื้อเอชไอวี โรคแทรกซ้อนอันเนื่องมาจากเป็นโรคเบาหวาน โรคต้อกระจก แผลเปื่อย ซึ่งอนุมูลอิสระนี้เป็นสาเหตุในการเกิดโรคที่เกี่ยวกับปอดหลายโรค เช่น โรคปอดที่เกิดจากการสูดใยหิน ไนโตรเจนไดออกไซด์ โอโซน ยากำจัดวัชพืช คาร์บอนเตตระคลอไรด์ หรือยารักษาโรคมะเร็ง นอกจากนี้ยังรวมถึงการมีออกซิเจนมากเกินไปในระบบร่างกายเซลล์ที่มีหน้าที่คุ้มกันและกำจัดเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมมีความเกี่ยวข้องในการเกิดอนุมูลอิสระ เช่น ในกระบวนการอับเสบ และภาวะที่ร่างกายถูกออกซิไดซ์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินไปไม่สมดุลจะทำให้โอกาสเกิดโรคสูงขึ้น เช่น โรคที่เกิดจากปอดติดเชื้อไวรัสและไข้หวัดใหญ่

Oxidative stress คือ ภาวะความไม่สมดุลของการเกิดอนุมูลอิสระ และกระบวนการป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระโดยสารต้านออกซิเดชัน ภาวะดังกล่าวเป็นผลจากการเกิดอนุมูลอิสระและสารเกี่ยวข้องที่เป็นผลิตผลของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น หรือความบกพร่องของกระบวนการป้องกันอันตรายจากการเกิดออกซิเดชันเนื่องจากปริมาณเอนไซม์ที่ทำหน้าต้านการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวลดลง หรือการทำงานที่ผิดปกติ หรือมีระดับสารออกซิเดชันที่ลดลง ซึ่งสาเหตุดังกล่าวอาจพบร่วมกันได้ ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระอันมีความไวต่อชีวโมเลกุลซึ่งเป็นองค์ประกอบของเซลล์ ได้แก่ ไขมัน โปรตีน น้ำตาล และกรดนิวคลิอิก ทำให้เซลล์ถูกทำลายและเกิดผลิตผลของอนุมูลอิสระซึ่งสามารถตรวจวัดระดับได้ทางคลินิก (โกสินทร์, 2557)

2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) หรืออาจเรียกว่า สารกำจัดอนุมูลอิสระ คือสารที่สามารถยับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ (free radical) เช่น การเกิดออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation) ซึ่งเป็นโมเลกุลของสารที่สามารถจับกับตัวรับและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลสารอื่นๆได้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวเนื่องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ ปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังกล่าวสามารถให้ผลิตภัณฑ์เป็นสารอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งสารอนุมูลอิสระเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และทำลายเซลล์ของร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้ายุติปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ด้วยการเข้าจับกับสารอนุมูลอิสระและยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยถูกออกซิไดซ์ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงถือเป็นตัวรีดิวซ์ อาทิ ไธออล กรดแอสคอร์บิก และโพลีฟีนอล

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งตามกลไกการยับยั้งได้เป็น 3 ชนิด คือ

1. Preventive antioxidant ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ
2. Scavenging antioxidant ทำลายหรือยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น
3. Chain breaking antioxidant ทำให้ลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระสิ้นสุดลง

2.4.1 สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ (Natural Antioxidants)

ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับทั่วไปในวงการแพทย์ว่า พยาธิสภาพ พยาธิวิทยา รวมถึงพยาธิสรีรวิทยาของการเกิดโรคหลายชนิด เช่น โรคในระบบหัวใจและหลอดเลือดหรือโรคมะเร็ง ซึ่งมีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กับการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกาย ดังนั้น การทำลายหรือควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระดังกล่าวจะช่วยในการป้องกันหรือรักษาโรคต่างๆที่เกิดขึ้น จากการศึกษาทางระบาดวิทยาจำนวนมากยืนยันถึงการลดอัตราเสี่ยงและเพิ่มอัตราการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง โรคเกี่ยวกับหลอดเลือดและหัวใจ รวมถึงโรคอื่นๆที่มีความสัมพันธ์กับอนุมูลอิสระ จากการบริโภคผักผลไม้ ซึ่งผลดังกล่าวมาจากมีความเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารประเภทวิตามินซี เบต้า – แคโรทีน (β – carotene) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) รวมถึงสารกลุ่มโพลีฟีนอลิก (polyphenolics) เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ฟีนิลโปรพานอยด์ (phenylpropanoids) เป็นต้น โดยในปัจจุบันพบว่าสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ

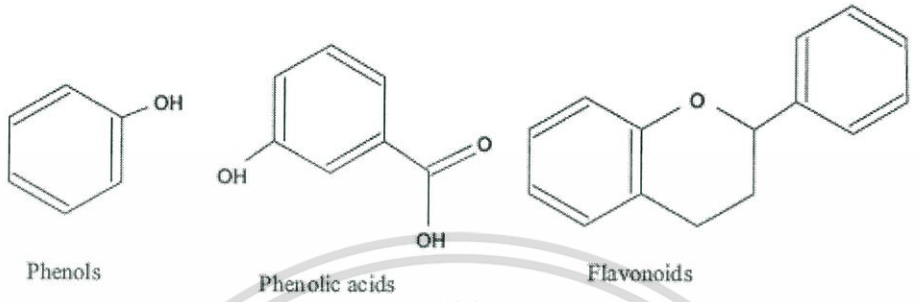
2.4.1.1 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compond)

สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอก และพบได้มากในธรรมชาติอันได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลตและไวน์แดง เป็นต้น ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกกว่า 8,000 ชนิด ในธรรมชาตินับจากโมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนิลโปรพานอยด์และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึงโครงสร้างโพลีเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานินและแทนนิน เป็นต้น แม้ว่าปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกันแต่พบว่าปริมาณโดยเฉลี่ยที่คนได้รับต่อวันจะอยู่ในช่วงตั้งแต่ 20 มิลลิกรัม – 1 กรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าปริมาณวิตามินอีที่ได้รับต่อวัน สารโพลีฟินอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้และมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด รวมไปถึงการเป็นสารต้านการก่อมะเร็งและสามารถลดความดันโลหิตจากฤทธิ์ขยายหลอดเลือดเหล่านี้เป็นต้น ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูล (โอภาและคณะ, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล

สารประกอบฟีนอล มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซิน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่ สารประกอบฟีนอลพื้นฐาน คือ สารฟีนอล (phenol) ในโมเลกุลประกอบด้วย วงแหวนเบนซิน 1 วงและหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอล

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compound (สืบค้นวันที่ 3/2/2560)

สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignin) กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ

สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoid)

สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) และพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนแอลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น

สารประกอบฟีนอล พบอยู่ในส่วนของช่องว่างภายในเซลล์ (cell vacuole) ในส่วนต่างๆ ของพืชเป็นสารที่ถูกสร้างขึ้น เพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด

1. ถั่วเมล็ดแห้ง ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง
2. เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าว และ งา
3. ผลไม้ ได้แก่ องุ่น ส้ม กระท้อน
4. เครื่องเทศ เช่น พริกไทย พริก ขิง กระเทียม หอมแดง หอมหัวใหญ่
5. พืชเครื่องดื่ม ได้แก่ ชา โกโก้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. พืชหัว ได้แก่ มันเทศ

ตัวอย่างของสารประกอบฟีนอลที่พบตามธรรมชาติในพืช

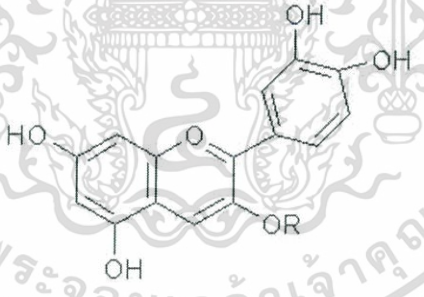
1. จินเจอรอล (gingerol) พบใน ขิง
2. ยูจินอล (eugenol) ใน กานพลู ตะไคร้ ใบกระเพรา
3. แคปไซซิน (capsaicin) ในพริก
4. เคอคิวมิน (Curcumin) ในขมิ้น
5. แคทีชิน (catechin) ในชา (พิมพ์เพ็ญ, 2559)

2.4.1.2 สารแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานิน เป็นรงควัตถุหรือสารสี (pigment) ที่ให้สีแดง ม่วงและน้ำเงิน ใช้เป็นสารให้สี (coloring agent) ธรรมชาติในอาหาร สารสกัดแอนโทไซยานิน มีสมบัติเป็นโภชนะเภสัช (nutraceutical) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ ช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและเส้นเลือดอุดตันในสมองด้วยการยับยั้งไม่ให้เลือดจับตัวเป็นก้อน ชะลอความเสื่อมของดวงตา ช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) อีโคไล (*Escherichia coli*) ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงและอาหารเป็นพิษด้วย

โมเลกุลของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานิน (anthocyanins) เป็นสารประกอบที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) กลุ่มพอลิฟีนอล (polyphenol)



รูปที่ 2.5 โครงสร้างของสารแอนโทไซยานิน

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1103/anthocyanin (สืบค้นวันที่ 3/2/2560)

โครงสร้างของแอนโทไซยานิน ประกอบด้วยสารประกอบ 2 หรือ 3 ชนิด ได้แก่

แอนโทไซยานิดิน หรืออะไกลโคน (Aglycone) มีโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วยคาร์บอนเชื่อมต่อกันในรูป C-6-C-3-C-6 เชื่อมต่อกัน ซึ่งแอนโธไซยานิดินที่พบมากในปัจจุบันจะมีอยู่ 6 ชนิด คือ เพลาโกนิดินไซยานิดิน เดลฟินิดิน พีโอนิดิน เพทุนิดินและมอลวิดิน

น้ำตาล ซึ่งจะเกิดพันธะกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 หรือตำแหน่งที่ 3 และ 5 โดยน้ำตาลที่เกิดพันธะได้ เช่น กลูโคส กาแลกโตส รูติโนส แรมโนส เป็นต้น

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

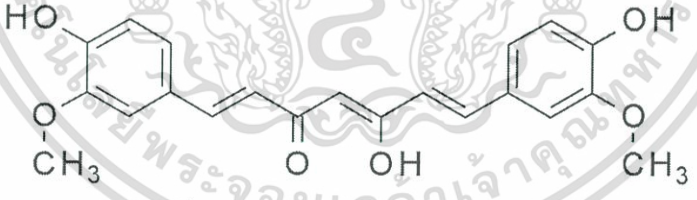
โครงสร้างที่เป็นกรด ซึ่งส่วนนี้อาจมีหรือไม่มีก็ได้ แอนโทไซยานินที่มีกรดเป็นองค์ประกอบเรียกว่า นอนอะซิเลตเทต แอนโทไซยานิน ถ้าไม่มีกรดเป็นองค์ประกอบเรียกว่า อะซิเลตเทต แอนโทไซยานิน โดยกรดจะเกิดเอสเทอริฟิเคชันกับน้ำตาล กรดที่เกิดพันธะเอสเทอร์กับน้ำตาล เช่น กรดคูมาริกกรดเฟอร์รูริก กรดคาร์เฟอิก เป็นต้น

แอนโทไซยานิน เป็นสารสีที่พบได้ทั่วไปในดอกไม้ ผลไม้บางชนิด ใบหรือลำต้นของพืชบางชนิดที่มีสีตั้งแต่สีแดงถึงน้ำเงินเข้ม ในสภาพที่เป็นกรดมีค่า pH ต่ำกว่า 3 (เป็นกรดสูง) จะทำให้แอนโทไซยานินมีสีแดง ในสภาพที่ค่อนข้างเป็นกลางหรือมีค่า pH ประมาณ 7-8 แอนโทไซยานินจะมีสีม่วง และเมื่อสภาพเป็นเบสหรือมีค่า pH มากกว่า 11 (เป็นเบสสูง) แอนโทไซยานินจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน

อาหารที่เป็นแหล่งสำคัญของแอนโทไซยานิน ได้แก่ ผลไม้ เช่น องุ่น ทับทิมและผลไม้ในกลุ่มเบอร์รี่ เช่น สตรอเบอรี่ (strawberry) ผลหม่อน (mulberry) บลูเบอรี่ (blueberry) แครนเบอรี่ (cranberry) เชอรี่ (cherry) ราสเบอรี่ (raspberry) เป็นต้น ผัก เช่น กะหล่ำปลีสีม่วง (red cabbage) และเรดิชสีแดง (red radish) เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าวก่ำหรือข้าวสีนิล ข้าวโพดสีม่วง พืชหัว ได้แก่ มันเทศสีม่วง ดอกไม้ เช่น กระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชัน เป็นต้น

2.4.1.3 เคอร์คูมิน (curcumin)

เป็นสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ (curcuminoid) พบในพืชวงศ์ขิง เช่น ว่านนางคำ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มโพลีฟีนอล มีสีเหลือง โครงสร้างของสารมีทั้งรูปอีนอลและรูปคีโตรูปอีนอลคงตัวในสภาวะของแข็งและของเหลว



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของสารเคอร์คูมิน

ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki (สืบค้นวันที่ 3/2/2560)

เคอร์คูมิน (curcumin) เป็น**สารสำคัญอยู่ในขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.)** ในเหง้าขมิ้นชันมีสารสำคัญในการออกฤทธิ์ 2 กลุ่ม คือกลุ่มน้ำมันหอมระเหย (volatilc oil) และกลุ่มสารสีเหลืองส้มที่เรียกว่า เคอร์คูมินอยด์ (curcuminoids) สารทั้งสองกลุ่มจะออกฤทธิ์เสริมกันในการรักษาอาการแน่นจุกเสียด สารกลุ่มเคอร์มินอยด์ ประกอบด้วยสารหลัก 3 ตัว คือ curcumin, demethoxycurcumin และ bisdemethoxy curcumin ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่พบในเหง้าขมิ้นชันแตกต่างกันในแต่ละแหล่งปลูก (วัตถุดิบขมิ้นชันที่ดีควรมีเคอร์คูมินอยด์ไม่น้อยกว่าร้อยละ 5) ได้มีการศึกษาวิจัยฤทธิ์ของเคอร์คูมินอยด์อย่างกว้างขวางในต่างประเทศพบว่ามีคุณสมบัติเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารต้านอนุมูลอิสระที่ดี นอกจากนี้ในการวิจัยในสัตว์ทดลองพบว่ามีฤทธิ์ต้านการอักเสบ มีฤทธิ์บำรุงและรักษาตับ ช่วยป้องกันมะเร็ง การรักษาผู้ป่วยโรคหัวใจ เบาหวาน ข้ออักเสบ ธาลัสซีเมีย ลดระดับคอเลสเตอรอลและป้องกันสมองเสื่อม (พันธิตร์, 2545)

คอร์คูมินอยด์ลดการสร้างอนุมูลอิสระของไขมันและลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญในคน ปริมาณเคอร์คูมินอยด์ที่ใช้ประมาณ 500 มิลลิกรัมต่อวันหรือเทียบเท่าขมิ้นแห้งที่ได้มาตรฐานประมาณ 10 กรัม

เคอร์คูมินอยด์ป้องกันโรคสมองเสื่อมโดยลดจำนวนกลุ่มของสารซึ่งเป็นสาเหตุของโรคสมองเสื่อมได้ในสัตว์ทดลอง นอกจากนี้เคอร์คูมินอยด์ยังช่วยลดการอักเสบของเนื้อเยื่อสมองที่เป็นโรคเกี่ยวกับสมองเสื่อมและลดการเสียหาย เนื่องจากการเกิดอนุมูลอิสระของเซลล์ในสมอง

เคอร์คูมินอยด์ยับยั้งการสร้างเอนไซม์ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งบางชนิดและโรคอักเสบอย่างเรื้อรังในสัตว์ทดลอง จากการศึกษามะเร็งเต้านมในคน เคอร์คูมินอยด์สามารถลดการเติบโตของมะเร็งเต้านมที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสารเคมีที่เป็นสาเหตุการเกิดของมะเร็งเต้านมได้ ในสัตว์ทดลองพบว่าเคอร์คูมินและอนุพันธ์ของเคอร์คูมินสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกริยาเคมีที่ก่อให้เกิดมะเร็งที่ลำไส้และผิวหนัง

เคอร์คูมินอยด์ป้องกันสารเคมี ยาฆ่าแมลงที่มีคุณสมบัติคล้ายเอสโตรเจนรวมทั้งดีดีทีและไดอ๊อกซินไม่ให้เข้าสู่เซลล์และป้องกันเซลล์ไม่ให้เป็นมะเร็ง

ได้มีการทดลองทางคลินิกพบว่าการให้เคอร์คูมินอยด์ขนาด 1200 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลา 5-6 สัปดาห์ มีฤทธิ์ในการลดการอักเสบ โดยเคอร์คูมินอยด์ไปยับยั้งการสร้างเอนไซม์ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารที่ก่อให้เกิดการอักเสบ เคอร์คูมินอยด์จึงสามารถนำมาใช้ต้านการอักเสบได้ เหมาะกับคนที่มีปัญหาเรื่องปวดข้อแต่ทานยาแผนปัจจุบันไม่ได้เพราะมีผลข้างเคียงมากมายโดยเฉพาะผลต่อกระเพาะอาหาร สารสกัดขมิ้นชันมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคผิวหนังโดยเฉพาะเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคกลาก ขมิ้นชันยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดหนอง สารสำคัญในการออกฤทธิ์ คือ เคอร์คูมิน น้ำมันหอมระเหยและ p-tolylmethylcarbinol

การศึกษาวิจัยในต่างประเทศพบว่าสารเคอร์คูมินอยด์ในขมิ้นชันมีฤทธิ์ที่เป็นประโยชน์มากมาย โดยเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ลดการอักเสบ ลดคอเลสเตอรอลในเลือด ป้องกันตับจากสารพิษและป้องกันการเกิดมะเร็ง เป็นต้น แต่ต้องรับประทานในปริมาณมากเพื่อที่จะได้รับผลดังกล่าว สำหรับประเทศไทย โดยสถาบันวิจัยและพัฒนาองค์การเภสัชกรรมจึงได้พัฒนาวิธีสกัดเคอร์คูมินอยด์จากขมิ้นชันผลิตเป็นแคปซูลโดยควบคุมให้แต่ละแคปซูลมีสารเคอร์คูมินอยด์ 250 มิลลิกรัม เพื่อให้ได้รับเคอร์คูมินอยด์ในปริมาณที่สม่ำเสมอและลดกลิ่นของขมิ้นชัน เนื่องจากได้สกัดเอาสารหอมระเหยออกไป สารสกัดขมิ้นชันขององค์การเภสัชกรรมได้ผ่านการทดสอบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและผ่านการทดลองจากสถาบันวิจัยสมุนไพรกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เพื่อให้สามารถนำขมิ้นชันมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด (สถาบันวิจัยและพัฒนาองค์การเภสัชกรรม, 2554)

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.4 สารเคอร์ซีทิน

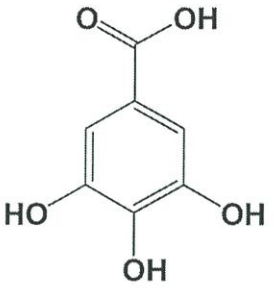
เป็นฟลาโวนอลไกลโคไซด์ที่พบอยู่ในพืชมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน เป็นสวรพฤกษเคมีหรือไฟโตนิวเทรียนท์ (Phytochemical หรือ Phytonutrients) ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบเฉพาะในพืช สารกลุ่มนี้อาจเป็นสารที่ทำให้พืชผักชนิดนั้นๆ มีสีกลิ่นหรือรสชาติที่เป็นลักษณะเฉพาะตัวที่พบมากที่สุดในผักและผลไม้หลายชนิดมีฤทธิ์ต่อต้านหรือป้องกันโรคได้หลายประเภท เคอร์ซิทินเป็นสารพฤกษเคมีที่อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์มีมากในหัวหอม หอมแดงและพืชตระกูลถั่ว

เคอร์ซิทินให้ฤทธิ์ในการป้องกันการอักเสบ ป้องกันแบคทีเรียและไวรัส ช่วยป้องกันอาการแพ้ ปกป้องหลอดเลือด ป้องกันมะเร็ง ชะลอความชรา ป้องกันโรคที่มาพร้อมกับความเสื่อมต่างๆ รวมทั้งโรคทางระบบประสาทที่เกิดจากความเสื่อม (neurodegenerative diseases) ผลงานวิจัยของกลุ่มวิจัยการแพทย์ทางเลือกแบบบูรณาการ มหาวิทยาลัยขอนแก่นพบว่าเคอร์ซิทินสามารถป้องกันโรคสมองเสื่อม พาร์คินสัน นอกจากนั้นยังมีรายงานว่าเคอร์ซิทินยังมีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างคอลลาเจนทำให้แผลหายเร็ว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา เคอร์ซิทินยังสามารถปกป้องผิวหนังจากแสงอัลตร้าไวโอเล็ต ลดการทำลายเซลล์ที่ทำหน้าที่สร้างอินซูลินในตับอ่อนของหนูที่ถูกเหนี่ยวนำภาวะเบาหวาน ลดอัตราการเกิดต้อกระจกในภาวะเบาหวาน ยิ่งไปกว่านั้นเรายังพบว่าเคอร์ซิทินมีฤทธิ์ลดความบกพร่องการทำงานของเส้นประสาทที่พบในภาวะเบาหวาน (diabetic neuropathy) ตลอดจนบรรเทาอาการปวดทางระบบประสาท (Neuropathic pain) (จินตนาภรณ์, 2554)

2.4.1.5 กรดแกลลิก (Gallic acid)

กรดแกลลิกพบในธรรมชาติเป็นองค์ประกอบของแทนนินในใบชา มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน อนุพันธ์เอสเทอร์ของกรดแกลลิก คือ โพรพิลแกลเลตใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันในอาหาร กรดแกลลิกเป็นกรดอินทรีย์ ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระช่วยป้องกันเซลล์จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction) ช่วยป้องกันเซลล์จากความเครียดเมื่ออายุมากขึ้น ซึ่งช่วยลดโรคหัวใจและโรคมะเร็งในผู้สูงอายุ โดยสามารถพบได้ในอาหาร เช่น บลูเบอร์รี่ แอปเปิ้ล ใบชา วอลนัท โดยผลไม้ตระกูลเบอร์รี่นั้นจัดว่ามีปริมาณกรดแกลลิกมากโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผลราสเบอร์รี่สีแดง และพบว่าในพืชที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมจะมีปริมาณกรดแกลลิกสูงขึ้น โดยการดัดแปลงพันธุกรรมจะช่วยป้องกันไม่ให้เกิดเชื้อราในผักอย่างเช่น วอลนัท ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดแกลลิกในวอลนัท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



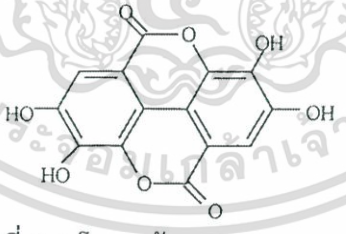
Gallic acid

รูปที่ 2.7 โครงสร้างของกรดแกลลิก

ที่มา : http://pubs.rsc.org (สืบค้นวันที่ 3/2/2560)

2.4.1.6 กรดเอลลาจิก

เป็นสารประกอบประเภทโพลิฟีนอล (polyphenol) โดยในผลไม้จะไม่พบกรดเอลลาจิกได้โดยตรงแต่จะพบสารที่เรียกว่า เอลลาจิแทนนิน (ellagitannins) ซึ่งจะถูกย่อยแปลงไปเป็นกรดเอลลาจิกในระบบย่อยอาหาร กรดเอลลาจิกสามารถต้านฤทธิ์ของสารก่อมะเร็งได้และเป็นสารยับยั้งมะเร็งที่ทำให้เซลล์ตายแบบอะพอพโทซีส (apoptosis) โดยพบว่าปริมาณกรดเอลลาจิกที่มีความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีกรดเอลลาจิกที่มีความเข้มข้น 12.5 ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งในช่องปากได้ ส่วนกรดเอลลาจิกที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะสามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์มะเร็งลำไส้ HT-29 และ HCT116 ตายแบบอะพอพโทซีส นอกจากนั้นกรดเอลลาจิกสามารถเปลี่ยนแปลงเซลล์มะเร็งที่ดื้อต่อยาเคมีบำบัดและต่อการรักษาด้วยการฉายรังสี โดยทำให้เซลล์ดังกล่าวไวต่อการถูกทำลายด้วยเคมีและรังสีรักษา



รูปที่ 2.8 โครงสร้างของกรดเอลลาจิก

ที่มา : http://myprotein.com (สืบค้นวันที่ 3/2/2560)

กรดเอลลาจิกสามารถพบได้ในปริมาณมากในพืชตระกูลเบอร์รี่เช่น แบล็คเบอร์รี่ ราสเบอร์รี่ สตรอเบอร์รี่ ผลทับทิม บลูเบอร์รี่ รวมไปถึงผลไม้ชนิดอื่นด้วยเช่น วอลนัท องุ่น แอบเปิ้ล แพร์ กีวี ลูกพีช ลูกพลัม จากการศึกษาของวารสารองค์ประกอบอาหารและการวิเคราะห์ ปี 2532 พบว่าในเนื้อสตรอเบอร์รี่จะพบปริมาณกรดแอลลาจิกสูงถึงร้อยละ 95 ส่วนในเมล็ดของผลราสเบอร์รี่นั้นจะสามารถพบปริมาณกรดเอลลาจิกถึงร้อยละ 88 ในผลไม้ที่ถูกทำแห้งแล้วแช่แข็ง พบว่ามี

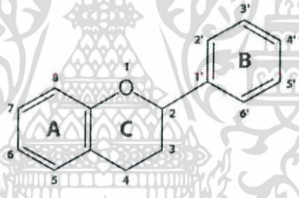
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณกรดแอลลาจิกที่มีความเข้มข้นมากขึ้นกว่าเดิม ทำให้อุตสาหกรรมผลิตอาหารเสริมมีการนำสารสกัดจากเมล็ดหรือใบของราสเบอร์รี่หรือทับทิมมาทำเป็นอาหารเสริม

2.4.2 สารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดจากยอ

2.4.2.1 ฟลาโวนอยด์ (flavonoid)

เป็นสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) ประเภทโพลิฟีนอล (polyphenol) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนแอโรมาติก (aromatic ring) ที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) รวมอยู่ในโมเลกุล ตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป สามารถละลายในน้ำได้ ส่วนใหญ่มักพบอยู่รวมกับน้ำตาล ในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) สารประกอบฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ฟลาโวโนน ฟลาโวนไอโซฟลาโวน ฟลาโวโนคาเทชินและแอนโธไซยานิน สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์จัดเป็น nutraceutical มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยทำหน้าที่ในการหน่วงเหนี่ยวหรือเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) จึงช่วยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระได้ สารฟลาโวนอยด์เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายและสามารถใช้ในการรักษาโรคทางเดินอาหารได้ (Chen และคณะ, 2016)



รูปที่ 2.9 โครงสร้างของฟลาโวนอยด์

ที่มา : http://www.smj.ejnal.com (สืบค้นวันที่ 3/2/2560)

ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นกลุ่มของสารประกอบที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrones) ซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็กและมีโครงสร้างประกอบด้วยการจัดเรียงตัวของคาร์บอน 15 ตัว (C_6 - C_3 – C_6) โครงสร้างเป็นวงแหวน 3 วง ได้แก่ วงแหวนเบนซีน (benzene ring) 2 วง (A and B) เชื่อมต่ออยู่กับวงแหวนไพแรน (heterocyclic pyran ring) ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้างโดยสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชันซึ่งแทนที่ในโครงสร้างพื้นฐาน ได้เป็น 7 กลุ่ม ได้แก่

1. ฟลาโวนอล (flavonols) เช่น เคอร์ซิทิน (quercetin), แคมป์เฟอรอล (kaempferol), ไมริซิติน (myricetin)
2. ฟลาโวน (flavones) เช่น ลูติโอลิน (luteolin), อาพิจินิน (apigenin), ไครซิน (chrysin)
3. ฟลาวาโนน (flavanones) เช่น เฮสเพอริติน (hesperetin), นารินจินิน (naringenin), อีริโอดิคทิออล (eriodictyol)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ฟลาวานอล (flavanols) เช่น แคทิ ชิน (catechin), แกลโลแคทิชิน (gallocatechin), อีพิแคทิชิน (epicatechin), อีพิแกลโลแคทิชิน (epigallocatechin), อีพิแคทิชิน-3-แกลเลต (epicatechin-3-gallate), อิพิแกลโลแคทิชิน-3-แกลเลต (epigallocatechin-3-gallate)

5. ฟลาวาโนนอล (flavanonols) เช่น แทกซิโฟลิน (taxifolin)

6. ไอโซฟลาโวน (isoflavones) ตัวอย่างเช่น เดดซีน (daidzein), จีนิสตีน (genistein), ไกลซิตีน (glycitein), ฟอร์โมโนเนติน (formononetin)

7. แอนโธไซยานิดิน (anthocyanidins) ตัวอย่างเช่น ไซยานิดิน (cyanidin), เดลฟินิดิน (delphinidin), มาลวิดิน (malvidin), พีลาร์โกนิดิน (pelargonidin), พีโอนิดิน (peonidin), พีทูนิดิน (petunidin)

งานวิจัยจำนวนมากแสดงให้เห็นว่าฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง เช่น ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ต้านการเกิดมะเร็ง (anticancer) ยับยั้งการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง (antiproliferation) ต้านการอักเสบ (antiinflammation)ต้านโรคเบาหวาน (antidiabetes) ลดระดับของคลอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือด (cholesterol and triglyceride lowering effects) ต้านจุลชีพ (antimicrobial) ฤทธิ์ปรับการทำงานระบบภูมิคุ้มกัน (immunomodulation) เป็นต้น

ฤทธิ์ต้านมะเร็งนั้นฟลาโวนอยด์ไม่เพียงมีแต่การยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งเท่านั้น แต่ยังมีการชักนำการเจริญเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (differentiation) รวมถึงการยับยั้งการพัฒนาและความรุนแรงของโรคมะเร็ง เช่น การแพร่กระจาย (metastasis) การสร้างหลอดเลือดใหม่ (angiogenesis) การอักเสบที่เกี่ยวกับโรคมะเร็ง (cancer-related inflammation) และการดื้อยาแบบหลายขนานของเซลล์มะเร็ง (multidrug resistance) นอกจากนี้ฟลาโวนอยด์ยังสามารถออกฤทธิ์ต้านมะเร็งในสัตว์ทดลองได้เป็นอย่างดีด้วย โดยจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งนี้เกิดจากการชักนำการตายของเซลล์แบบอะพอพโตซิส (apoptotic induction) การหยุดวงวัฏจักรของเซลล์ (cell cycle arrest) และการยับยั้งการแสดงออกของยีนที่ควบคุมโดยทรานสคริปชันแฟคเตอร์นิวเคลียร์แฟคเตอร์ แคปปา บี (nuclear factor kappa B หรือ NFkB) จะเห็นได้ว่าฟลาโวนอยด์นับเป็นโมเลกุลจากธรรมชาติที่มีคุณสมบัติเป็นโมเลกุลต้านมะเร็งที่มีศักยภาพสูงที่จะพัฒนาเป็นยารักษามะเร็งได้ บทความนี้จะอธิบายถึงการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์โดยจะมุ่งเน้นถึงกลไกระดับโมเลกุลในการชักนำการตายแบบอะพอพโตซิส การหยุดวงวัฏจักรของเซลล์ การยับยั้งการแสดงออกของยีนที่ควบคุมโดย NFkB และการเอาชนะการดื้อยาแบบหลายขนานของเซลล์มะเร็ง (วิภพ, 2556)

2.4.2.2 เบต้าแคโรทีน (β-carotene)

เป็นรังสีวัตถุสีแดงส้มเข้มที่พบมากในพืชและผลไม้ เป็นสารประกอบอินทรีย์และในทางเคมีจัดเป็นไฮโดรคาร์บอนหรือให้เจาะจงคือ เทอร์พีนอยด์ (ไอโซพรีนอยด์) ซึ่งสะท้อนว่ามาจากหน่วยไอโซพรีน เบต้าแคโรทีนชีวสังเคราะห์จากเจรานิลเจรานิลไพโรฟอสเฟต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้ง

(geranylgeranyl pyrophosphate) บีตา-แคโรทีนอยู่ในกลุ่มแคโรทีน ซึ่งเป็นเตตระเทอร์พีน ซึ่งสังเคราะห์ทางชีวเคมีจากแปดหน่วยไอโซพรีนและมี 40 คาร์บอน บีตา - แคโรทีนแตกต่างจากแคโรทีนชนิดอื่น คือ มีวงแหวนบีตาที่ทั้งสองปลายของโมเลกุล การซึมบีตา - แคโรทีนเพิ่มขึ้นหากรับประทานกับไขมันเพราะแคโรทีนละลายในไขมัน

เบต้าแคโรทีนนั้นมีประโยชน์ต่อร่างกายและผิวพรรณอย่างมาก คือ ช่วยให้มองเห็นในที่มืดได้ดี ลดความเสื่อมของเซลล์ของลูกตา ลดความเสี่ยงต่อการเป็นต้อกระจก ช่วยป้องกันผิวที่อาจเกิดจากอันตรายของรังสีอัลตราไวโอเลตที่มากับแสงแดดได้ จึงทำให้ผิวพรรณมีสุขภาพดี ไม่มีริ้วรอยแก่ก่อนวัย แลดูสดใสอยู่เสมอ นอกจากนี้ยังช่วยรักษาสภาพปกติของเซลล์เยื่อบุตาขาว กระจก ตา ช่องปาก ทางเดินอาหาร ทางเดินหายใจ รวมถึงทางเดินปัสสาวะให้เป็นปกติ และยังช่วยให้ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายทำงานได้ดีอีกด้วย บำรุงสุขภาพของดวงตา เบต้าแคโรทีนเมื่อโดนย่อยสลายที่ตับแล้วจะได้วิตามินเอ ซึ่งร่างกายนำไปใช้สร้างสารโรดอปซินในดวงตาส่วนเรตินา ทำให้ตามีความสามารถในการมองเห็นในตอนกลางคืนได้ และยังลดความเสื่อมของเซลล์ของลูกตา ลดความเสี่ยงต่อการเป็นต้อกระจก

เบต้าแคโรทีนจะมีประโยชน์ต่อร่างกายและผิดพรรณของคนเราแล้ว มันยังสามารถทำอนตรายกับตัวเราได้เช่นกัน เนื่องจากเบต้าแคโรทีนเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Anti-Oxidant) ที่เมื่อร่างกายได้รับมากกว่าความต้องการจะหันไปทำหน้าที่ในทางตรงกันข้าม โดยกลายตัวเป็น “Pro-Oxidant” ซึ่งเป็นสารที่ส่งเสริม “การเกิด” อนุมูลอิสระ ดังนั้นการบริโภคเบต้าแคโรทีนที่มากเกินไป อาจเป็นการเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็ง โดยเฉพาะการรับประทานเบต้าแคโรทีนในรูปแบบของผลิตภัณฑ์อาหารเสริม ขณะที่การรับประทานอาหารแบบธรรมชาติทั่วไป เช่น มะละกอสุก ฟักทอง ตำลึง โอกาสที่ร่างกายจะได้รับสารนี้มากเกินไปจะเป็นไปได้ยากเพราะเราจะอิ่มก่อนได้รับปริมาณมากเกินไป

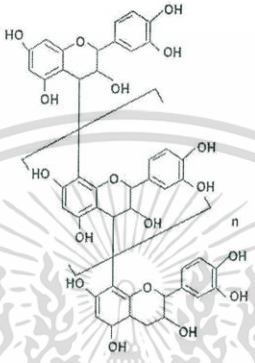
เบต้าแคโรทีน พบมากในผักและผลไม้ที่มีสีส้ม เหลืองหรือแดง เพราะเบต้าแคโรทีน คือ ตัวการทำให้พืชผักและผลไม้มีสีสันดังกล่าว เช่น แครอท ฟักทอง หน่อไม้ฝรั่ง ข้าวโพดอ่อน แตงโม แคนตาลูป มะละกอสุกและผักที่มีสีเขียว เช่น ยอ บรอคโคลี มะระ ผักบุ้ง ต้นหอม ผักคะน้า ผักตำลึง

2.4.2.3 แทนนิน (Tannin)

กรดแทนนิกมีโครงสร้างซับซ้อนโดยประกอบด้วยกรดเอลลาจิก 9 โมเลกุล และน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล หลังจากที่กัดพืชหรือผลไม้ที่มีกรดแทนนิกแล้วจะทาให้เกิดความรู้สึกฝาดที่ปากและขม กรดแทนนิกสามารถพบได้ทั้งในใบของพืชหลายชนิด ผลไม้ดิบ เมล็ดผลไม้ หรือแม้กระทั่งเปลือกของผลไม้ โดยกรดแทนนิกมีประโยชน์หลายอย่าง เช่น มีฤทธิ์ในการตกตะกอนโปรตีน ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและเชื้อรา ใช้เป็นยาแก้ท้องร่วง แก้บิด สมานแผล โดยกรดแทนนินสามารถพบได้ในพืชและผลไม้ภาคเหนือ เช่น องุ่น ใบชา ลูกพลับ โดยองุ่นเป็นผลไม้ที่มีความเข้มข้นของกรดแทนนิกสูงซึ่งมีความสาคัญต่อการทาไวน์ นอกจากนี้ใบชาที่มีปริมาณกรดแทนนินสูง

เอกสารนี้สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นั้นจะมีประโยชน์ในการช่วยลดการผลิตกรดไนตริกออกไซด์ (nitric oxide) ซึ่งการผลิตกรดดังกล่าวมากเกินไป จะสามารถทาให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อได้ นอกจากนี้กรดแทนนิกยังพบมากในผลไม้ชนิดอื่นๆ เช่น มะนาว มะนาวเหลือง ส้ม แคนตาลูป ฝรั่ง แตงโม ลูกแพร์ สับปะรด โดยเมื่อผลไม้เหล่านี้สุกระดับของกรดแทนนิกก็จะลดลงแต่ปริมาณน้าตาลฟรักโตสจะเพิ่มขึ้น อีกทั้งการปลอกเปลือกผลไม้ออกจะเป็นการลดปริมาณกรดแทนนิกลงไปอีกด้วย หรือผลไม้ที่มาจากพืชยืนต้นต่างๆ เช่น แอปเปิ้ล ท้อ องุ่น พลับ เป็นต้นและยังอาจพบได้ในธัญพืชต่างๆด้วย (จุฑามาศ, 2560)



รูปที่ 2.10 โครงสร้างของแทนนิน

ที่มา : http://www.agro.cmu.ac.th (สืบค้นวันที่ 3/2/2560)

2.4.2.4 อัลคาลอยด์ (Alkaloid)

อัลคาลอยด์เป็นสารอินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นด่างและมีไนโตรเจน (nitrogen) เป็นส่วนประกอบ มีรสขม ไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ดีในตัวทำลายอินทรีย์ (organic solvent) เป็นสารที่พบมากในพืชสมุนไพรแต่ปริมาณสารจะต่างกันไปตามฤดูกาล สารประเภทนี้จะมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในหลายระบบ ตัวอย่างเช่น reserpine ในรากระย่อม สรรพคุณลดความดันเลือด สาร Quinine ในเปลือกต้นชิงโคนา (cinchona) มีสรรพคุณรักษาโรคมาเลเรียและสาร morphine ในยางของผลฝิ่นมีสรรพคุณระงับอาการปวด เป็นต้น

แบ่งอัลคาลอยด์ตามโครงสร้างทางเคมี ได้ดังนี้

1. อัลคาลอยด์ที่มีไนโตรเจนอยู่นอกวง (non-heterocyclic alkaloids)

2. อัลคาลอยด์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนของวง (heterocyclic alkaloids) ซึ่งแบ่งเป็นกลุ่มย่อย ๆ ได้เป็นกลุ่มไพโรล (pyrrole) ไพโรลิดีน (pyrrolidine) ไพริดีน (pyridine) พิเพอริดีน (piperidine) ไพโรโลซิดีน (pyrrolozidine) โทรเพน (tropane) ควิโนลีน (quinoline) ไอโซควิโนลีน (isoquinoline) อะพรอฟีน (aporphine) นอร์ลูพิเนน (nor-lupinane) อินโดล (indole) อิมิดาโซล (imidazole) พิวรีน (purine) และสเตอรอยด์ (steroid)

หน้าที่ของอัลคาลอยด์ในพืชยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด สันนิษฐานว่าอาจเป็นแหล่งสะสมไนโตรเจนเพื่อสร้างโปรตีน ควบคุมการเจริญเติบโตหรือการงอกของเมล็ดพืชบางชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ช่วยป้องกันพืชจากแมลง หรืออาจเป็นสารที่ได้จากการทำลายพิษที่เกิดขึ้นในกระบวนการเมทาบอลิซึมของพืช อัลคาลอยด์ส่วนใหญ่มักมีรสขมและมีพิษ อย่างไรก็ตามมีพืชมากกว่า 80% ที่ไม่สร้างและไม่สะสมอัลคาลอยด์ ซึ่งเป็นไปได้ว่าสารอัลคาลอยด์เป็นสารที่ไม่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของพืชทุกชนิด (ประไพรัตน์ , 2555)

2.5 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

2.5.1 2,2 - diphenyl-1-picrylhydrazylradical scavenging capacity assay (DPPH)

เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ซึ่งใช้ reagent คือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์ ให้ความถูกต้องและแม่นยำสูง

หลักการ

DPPH เป็น stable radical ในตัวทำละลายเมทานอล (methanol) สารละลายนี้มีสีม่วง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 515-517 นาโนเมตร โดย $DPPH^{\cdot}$ จะเกิดปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือกับ radical species ($R^{\cdot}$) ได้ดังสมการที่ 1 และ 2

$$DPPH^{\cdot} + AH \longrightarrow DPPH\text{-}H + A^{\cdot} \quad \text{---------- (1)}$$

$$DPPH^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow DPPH\text{-}R \quad \text{---------- (2)}$$

เมื่อ $DPPH^{\cdot}$ ทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สีของสารละลายสีม่วงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง โดยเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้เป็นมาตรฐานคือ BHT ถ้าตัวอย่างมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูง ความเข้มของสารละลายสีม่วงจะลดลง (พรรณี , 2550)

การศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ในสารตัวอย่างนิยมรายงานเป็นค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ซึ่งหมายถึงปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH• ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับค่าการดูดกลืนแสง แล้วหาค่า EC_{50} จากกราฟแสดงค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ แล้วใช้ค่า EC_{50} ในการเปรียบเทียบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระระหว่างตัวอย่างที่ทดสอบกับสารมาตรฐาน BHT คำนวณ % Radical Scavenging (เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ)

$$\% \text{ Radical Scavenging} = [(AB - AA) / AB] \times 100$$

เมื่อ AA = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารตัวอย่างผสมกับ DPPH

AB = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH

ข้อดีของวิธีนี้คือ ง่ายต่อการใช้เครื่องมือ จึงนิยมเป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของธรรมชาติ ยกเว้นกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ที่มีการดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกัน

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

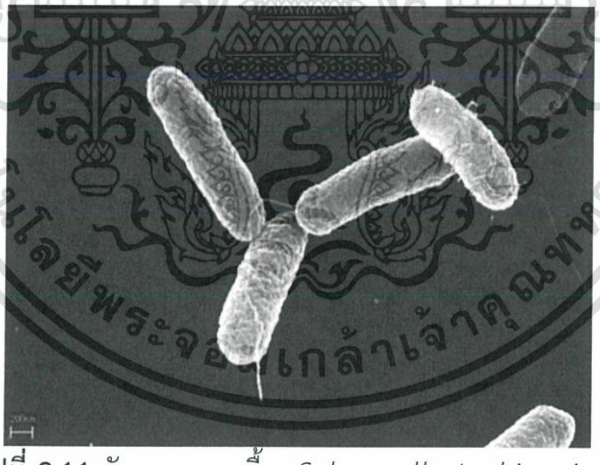
ข้อเสียของวิธี DPPH radical scavenging assay อนุมูล DPPH˙ มีความคงตัว ไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในร่างกาย จึงไม่สามารถใช้วิธีนี้จัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้ นอกจากนี้สารรีดิวซ์สามารถทำให้สารสี DPPH˙ จางลงและไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือดได้ (บุหรัน, 2556)

2.5.2 การตรวจหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด(total phenolic compound)

การตรวจหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัด โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu (Singleton และ Rossi, 1965) โดยนำสารสกัดที่ละลายด้วยเอทานอล จำนวน 50 ไมโครลิตรผสมกับ Folin reagent จำนวน 250 ไมโครลิตรและสารละลาย 20% sodium carbonate จำนวน 250 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นจนครบ 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปวัดหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ gallic acid และค่าการดูดกลืนแสงในหน่วย gallic acid equivalents (GAE) มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

2.6 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง (นงลักษณ์, 2547)

2.6.1 *Salmonella typhimurium*



รูปที่ 2.11 ลักษณะของเชื้อ *Salmonella typhimurium*

ที่มา : http:// www.britannica.com (สืบค้นวันที่ 3/2/2560)

ลักษณะของเชื้อ

เป็นแบคทีเรียลักษณะรูปท่อน เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลารอบเซลล์ เชื้อนี้จะเติบโตได้ดีในที่มีหรือไม่มีออกซิเจน อุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 37 องศาเซลเซียส ช่วง pH 4.1-9.0 ค่า Aw (ปริมาณน้ำอิสระในอาหารที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเติบโต) ประมาณ 0.93-0.95 หมักน้ำตาลกลูโคสและแมนโนสได้กรดและได้แก๊สเล็กน้อยแต่ไม่สามารถหมักน้ำตาลแล็กโทสและซูโครสได้ สามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา เชื้อส่วนใหญ่ไม่ต้องการวิตามินหรือกรดอะมิโนยกเว้นเชื้อบางชนิดที่ต้องการทริปโทเฟน

อันตรายของเชื้อ : กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ

สาเหตุ : เชื้อ *S. typhimurium* เชื้อมีระยะฟักตัว 4-48 ชั่วโมง

อาการ : ในระยะแรกจะคลื่นไส้ อาเจียน เจ็บปวดบริเวณท้อง หรือท้องร่วง อุณหภูมิร่างกายสูงถึง 38-39 องศาเซลเซียสและจะพบเม็ดเลือดขาวปะปนมากับอุจจาระด้วย อาการผู้ป่วยจะกลับเข้าสู่ภาวะปกติภายใน 5 วัน ไม่ว่าจะได้รับการรักษาหรือไม่ก็ตาม

โรคอาหารเป็นพิษ

โดยทั่วไปอาการของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อซัลโมเนลลาจะเกิดขึ้นหลังจากบริโภคอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลาเข้าไปประมาณ 12-24 ชั่วโมง เชื้อซัลโมเนลลาที่เข้าสู่ร่างกายจะจับเกาะเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้และรุกเข้าเซลล์เพื่อเริ่มต้นเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนอยู่ภายในกระเปาะที่เซลล์ผนังลำไส้ ซึ่งกระบวนการนี้จะช่วยให้เชื้อซัลโมเนลลารอดจากการ Phagocytosis ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้อาเจียน ปวดท้องและถ่ายเหลว หลังจากที่หายป่วยแล้วประมาณร้อยละ 5 ของผู้ที่หายป่วยจะยังคงมีเชื้อซัลโมเนลลาอยู่ในร่างกายและเป็นพาหะต่อไป ความรุนแรงของอาการป่วยแตกต่างไปตามชนิดและปริมาณเชื้อซัลโมเนลลาที่บริโภคและความต้านทานของผู้บริโภค สำหรับผู้ป่วยในกลุ่มที่เรียกว่า YOPI ได้แก่ ผู้ป่วยที่เป็นเด็กเล็ก (Young) ผู้ป่วยที่สูงอายุ (Old) ผู้ป่วยที่ตั้งครรภ์ (Pregnant) และผู้ป่วยที่มีความบกพร่องทางภูมิคุ้มกัน (Immune deficient) จะมีอาการป่วยรุนแรงจนอาจเสียชีวิตได้ (ศุภชัย, 2006)

อาการของโรคอาหารเป็นพิษจากเชื้อซัลโมเนลลาแบ่งออกได้ เป็น 2 แบบ คือ

1. อาการแบบ Intestinal salmonellosis หรือGastroenteritis causing Salmonella spp. มีระยะฟักตัวของ โรคประมาณ 4-48 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการไข้สูง 38-39 องศาเซลเซียส หนาวสั่น คลื่นไส้ อาเจียน เจ็บปวดบริเวณท้อง ท้องเสียไม่มีเลือดปน ถ้าเชื้อซัลโมเนลลาผ่านเข้าสู่กระแสเลือดและแพร่กระจายไปตามอวัยวะต่างๆ ของมนุษย์หรือสัตว์ที่ด้อยภูมิคุ้มกัน (Immunocompromised host) จะทำให้เกิดการอักเสบขึ้นที่สมอง หัวใจ ปอด ตับ ม้าม ไต กระดูก และทางเดินปัสสาวะ พบผู้ป่วยประมาณร้อยละ 2 ที่เสียชีวิตจากอาการขาดน้ำ (dehydrate) ติดเชื้อในกระแสเลือดไตวายและช็อค

2. อาการแบบ Enteric fever (Typhoid fever และParatyphoid fever) มีระยะฟักตัวของโรคประมาณ 3-35 วัน แต่โดยทั่วไปประมาณ 7-14 วัน ที่ต้องใช้ระยะฟักตัวนานก่อนจะก่อโรคเนื่องจากเชื้อซัลโมเนลลาใช้เวลานานกว่าจะไปเพิ่มจำนวนที่ตับ ระยะเวลาป่วยค่อนข้างนานหลายสัปดาห์ผู้ป่วยจะมีอาการไข้สูง 39-40 องศาเซลเซียสและนานต่อเนื่อง หนาวสั่น ปวดท้อง ปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน เบื่ออาหาร อ่อนเพลีย ท้องเสีย อาจมีเลือดปนมูกและมีกลิ่นเหม็นมากในผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาจนถึงสัปดาห์ที่ 2-3 จะเกิดจุดสีแดงขนาดประมาณ 2-5 มิลลิเมตร ตามผิวหนัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

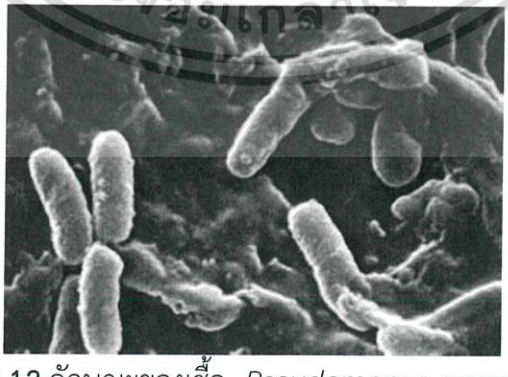
เนื่องจากเชื้อได้แพร่กระจายไปอยู่ตามเส้นเลือดฝอยจำนวนมาก และอาจจะมีอาการสมองเลอะเลือน ปวดคออย่างรุนแรง ชีพจรเต้นเร็ว

โรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อซัลโมเนลลาเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขในมนุษย์ที่พบได้เกือบทุกแห่งทั่วโลกและมีแนวโน้มที่จะมีอุบัติการณ์เพิ่มมากขึ้น จากการศึกษาทางระบาดวิทยาในประเทศเนเธอร์แลนด์ พบว่ามีอุบัติการณ์เฉลี่ยของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อซัลโมเนลลา 450 รายต่อประชากรแสนคนและเสียชีวิต 0.4 รายต่อประชากรแสนคน โดยร้อยละ 15 ของอัตราอุบัติการณ์มีสาเหตุจากการบริโภคเนื้อสุกร (Berends และคณะ, 1998) ในประเทศสหรัฐอเมริกาสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษมาจากเชื้อซัลโมเนลลาร้อยละ 6-9 ซึ่งสัมพันธ์กับการบริโภคเนื้อและผลิตภัณฑ์จากสุกร (Frenzen และคณะ, 1999) ในช่วงระหว่าง พ.ศ. 2506 ถึง พ.ศ. 2508 ประเทศสหรัฐอเมริกามี การระบาดของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจากเชื้อซัลโมเนลลาจำนวน 61 ครั้งโดยพบว่าร้อยละ 8 มีสาเหตุจากการบริโภคเนื้อโคและเนื้อสุกร (Steele และ Galton, 1967)

การติดต่อ

การติดต่อเริ่มจากเชื้อซัลโมเนลลาในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ที่ป่วยหรือเป็นพาหะถูกขับออกมากับอุจจาระหรือมูลสัตว์จากนั้นมนุษย์และสัตว์ที่ปกติจะติดเชื้อด้วยการสัมผัสหรือกินอุจจาระหรือมูลสัตว์ที่มีเชื้อซัลโมเนลลาปะปนอยู่หรือสัมผัสกับอุปกรณ์เลี้ยงสัตว์ที่ปนเปื้อนเชื้อซัลโมเนลลา จากนั้นแพร่กระจายสู่วงจรห่วงโซ่อาหารแล้วกลับสู่ลำไส้ของมนุษย์และสัตว์อีกวนเวียนเป็นวัฏจักร นอกจากนี้เชื้อซัลโมเนลลายังสามารถติดต่อด้วยการสัมผัสกันโดยตรงระหว่างสัตว์และติดต่อทางอากาศได้อีกด้วย (Clemmer และคณะ, 1960, Darlow และคณะ, 1961) การติดเชื้อซัลโมเนลลาทางอากาศจะเริ่มต้นที่ทางเดินหายใจส่วนบน จากนั้นปอดกับต่อมทอนซิลจะเป็นแหล่งแพร่กระจายเชื้อไปยังลำไส้และต่อมน้ำเหลืองบริเวณลำไส้ภายใน 2-4 ชั่วโมงหลังจากการได้รับเชื้อ (Gray และ Fedorka-Cray, 1995)

2.6.2 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*



รูปที่ 2.12 ลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา : http://www.internetdict.com (สืบค้นวันที่ 3/2/2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัณฐานวิทยาและโครงสร้าง

P. aeruginosa มีลักษณะเป็นรูปท่อนหรือโค้งเล็กน้อย เคลื่อนที่ด้วยโพลาร์แฟลกเจลลามี ขนาด 0.5 – 1.0 x 1.5 – 5.0 ไมโครเมตร ติดสีแกรมลบ ผนังเซลล์ประกอบด้วยลิโพพอลิแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide, LPS) ที่มีโครงสร้างคล้ายของแบคทีเรียในตระกูลเอนเทอโรแบคทีริเอซี (Enterobacteriaceae) แต่มีสารเคมีบางหมู่ที่ต่างกัน ในส่วนของพอลิแซ็กคาไรด์ไซด์ซึ่งเชน (polysaccharide side chain) ที่ยื่นออกจากเมมเบรนชั้นนอกนั้น (LPS) เชื่อว่าเกี่ยวข้องกับความจำเพาะทางซีโรโลยีและความไว (susceptible) ต่อแบคทีริโอซินหรือไพโอซิน (bacteriocin หรือ pyocin) และแบคทีริโอเฟจ *P. aeruginosa* ยังมีชั้นเมือก (slime layer) ที่ประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์และมีพิไลอยู่ที่ผิวเซลล์ด้วย

เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งเป็นเชื้อฉวยโอกาส ทำให้เกิดการติดเชื้อได้ทั้งระบบทางเดินหายใจ ทางเดินปัสสาวะและระบบไหลเวียนโลหิต พบอัตราการดื้อยาอยู่ในระดับ 10 – 12 เปอร์เซ็นต์ (มานิต, 2560)

Pseudomonas aeruginosa สามารถติดเชื้อได้หลายระบบในร่างกายเนื่องจากมีหลายปัจจัยในการก่อให้เกิด เช่น ความสามารถในการเกาะยึดติดกับเยื่อบุผิว ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ สร้างโปรตีนที่มาทำลายเนื้อเยื่อและมี protective outer coat

Pseudomonas aeruginosa ทำให้เกิดการติดเชื้อได้ในหลายส่วนของร่างกาย

หัวใจและกระแสเลือด *Pseudomonas aeruginosa* เป็นสาเหตุอันดับ 4 ในการก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในกระแสเลือดการติดเชื้อในกระแสเลือดจะเกิดกับผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดและผู้ที่ติดเชื้อในบริเวณอื่นของร่างกาย *Pseudomonas aeruginosa* จะมีการติดเชื้อที่ลิ้นหัวใจในผู้ติดยาที่ฉีดยาเข้าเส้นเลือดดำหรือผู้ที่ใช้ลิ้นหัวใจเทียม

กระดูกและข้อต่อ การติดเชื้อในส่วนนี้อาจเกิดจากการบาดเจ็บหรือมีการแพร่กระจายของเชื้อมาจากเนื้อเยื่ออื่นหรือการติดเชื้อในกระแสเลือด ซึ่งผู้ป่วยโรคเบาหวาน ผู้ติดยาที่ฉีดยาเข้าเส้นเลือดดำหรือติดเชื้อในกระแสเลือดจะมีความเสี่ยงในการติดเชื้อที่กระดูกและข้อต่อ

ระบบประสาทส่วนกลาง *Pseudomonas aeruginosa* จะทำให้เกิดโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ซึ่งอาจเกิดจากการที่สมองได้รับบาดเจ็บจากการผ่าตัด จากการแพร่กระจายจากส่วนของของร่างกายหรือจากการติดเชื้อในกระแสเลือด

ตาและหู *Pseudomonas aeruginosa* จะก่อให้เกิดการติดเชื้อที่หูส่วนนอกที่เรียกว่า“swimmer’s ear” ซึ่งสามารถหายได้เอง แบคทีเรียจะก่อให้เกิดอาการที่รุนแรงในผู้สูงอายุ ซึ่งนำไปสู่ปัญหาด้านการได้ยิน ใบหน้าเป็นอัมพาตหรือเสียชีวิต ส่วนการติดเชื้อที่ตามักเกิดจากการได้รับบาดเจ็บซึ่งจะทำให้เกิดรอยแผลเป็นที่กระจกตาซึ่งจะทำให้ตาบอดในที่สุด ปัจจัยที่มีผลในการทำให้เกิดความเสี่ยงในการติดเชื้อที่ตารวมถึงการใส่ซอฟท์คอนแทคเลนส์ การใช้ยาตาที่มี corticosteroid มีอาการโคม่า ถูกไฟไหม้รุนแรงหรือรักษาตัวอยู่ในห้อง ICU

ทางเดินปัสสาวะ ติดได้จากการใช้เครื่องทางการแพทย์หรือการผ่าตัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปอด ปัจจัยที่มีผลในการทำให้เกิดความเสี่ยงในการติดเชื้อที่ปอดได้แก่เป็นโรคปอดเรื้อรัง ภูมิคุ้มกันต่ำ ใช้ยาปฏิชีวนะและผู้ป่วยหัวใจล้มเหลว

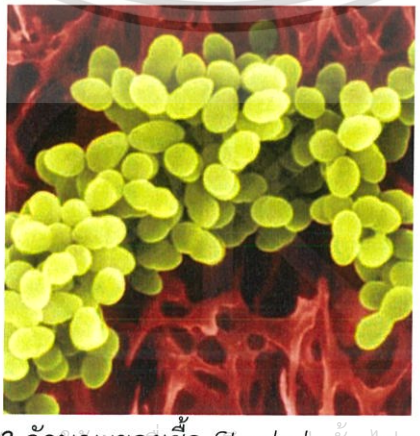
ผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน คนสุขภาพดีก็สามารถติดเชื้อได้จากการอาบน้ำหรือเล่นน้ำในสระว่ายน้ำ hot tubs ที่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่ ซึ่งโรคติดเชื้อ *Pseudomonas* ที่ผิวหนังนี้มักจะเกิดการสับสนกับโรคอีสุกอีใสและจะเกิดอาการรุนแรงได้กับผู้ที่เชื้อในกระแสเลือดร่วมด้วย *Pseudomonas aeruginosa* เป็นสาเหตุอันดับสองในการก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในบาดแผลไฟไหม้ในผู้ป่วยที่พักรักษาตัวที่โรงพยาบาล

เนื่องจาก *Pseudomonas aeruginosa* ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ดังนั้นในการรักษาจึงนิยมให้ยาปฏิชีวนะสองตัวร่วมกัน โรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* มักจะทำการรักษาโดยการให้ยาร่วมกัน เช่น ยา ceftazidine, ciprofloxacinimipenem, gentamicin, tobramycin, ticarcillin-clavulonate หรือ piperacillin-tazobactam ให้โดยฉีดเข้าเส้นเลือดดำหรือรับประทาน เป็นเวลา 2-6 สัปดาห์ซึ่งถ้าเป็นการรักษาตาควรจะต้องใช้ยาหยอดตาหรือใช้การผ่าตัด ซึ่งบางครั้งจำเป็นที่จะต้องตัดเนื้อเยื่อส่วนที่ติดเชื้อและถูกทำลายออกไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่สมองอักเสบ, ติดเชื้อที่ตา, กระดูกและข้อต่อ, หู, หัวใจหรือบาดแผล

2.6.3 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในอาหาร แบคทีเรียชนิดนี้ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) มีรูปร่างเป็นทรงกลม (coccus) อยู่รวมกันเป็นพวงคล้ายพวงองุ่นไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming bacteria ดู bacterial spore ด้วย) ไม่เคลื่อนไหว ส่วนใหญ่ไม่มีแคปซูล ให้ผลบวกในการทดสอบ catalase และในภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะสลายน้ำตาลกลูโคสให้กรดอินทรีย์ จัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobe คือเจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ แต่เจริญได้ดีกว่าในสภาวะที่มีอากาศ

Staphylococcus aureus มีการสร้างสารพิษ (toxin) ชนิด เอนทีโรทอกซิน (enterotoxin) สารพิษที่สร้างมีสมบัติพิเศษ คือ ทนความร้อน



รูปที่ 2.13 ลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ที่มา: http://www.foodnetworksolution.com (สืบค้นวันที่ 3/2/2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของ *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 6-46 องศาเซลเซียสโดยมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30-37 องศาเซลเซียส สร้างสารพิษได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 10 องศาเซลเซียส เจริญได้อยู่ในช่วงค่า pH 4.0-10.0 โดยมีช่วงที่เหมาะสมคือ 7.0-7.5 วอเตอร์แอคทิวิตี (water activity, a_w) ต่ำสุดที่ *Staphylococcus aureus* สามารถเจริญได้ คือ 0.85 แต่ถ้าค่า a_w ต่ำกว่า 0.94 จะเจริญได้อย่างช้าๆ สามารถทนเกลือสูงถึง 15-18% และทนต่อการฉายรังสี (food irradiation)

การทำให้เกิดโรคเนื่องจาก *S. aureus*

1.การติดเชื้อที่ผิวหนัง

การติดเชื้อ *Staphylococcus* ทำให้เกิดฝีอาจเกิดที่ส่วนใดของร่างกายก็ได้ส่วนใหญ่เกิดที่ผิวหนังซึ่งเริ่มต้นจากการติดเชื้อที่ต่อมน้ำมันบริเวณที่เกิดฝีจะเกิดการอักเสบ มีการสะสมเม็ดเลือดขาว เกิดการตายของเนื้อเยื่อ เมื่อฝีเจริญเต็มที่บริเวณเนื้อเยื่อที่ตายจะเต็มไปด้วยเม็ดเลือดขาวที่ตายแล้ว รวมทั้งแบคทีเรียที่เม็ดเลือดขาวไปกินและมีไฟบรินมาล้อมรอบ ซึ่งภายในบริเวณฝีนี้จะไม่มีเลือดมาเลี้ยง

ฝีและฝีฝักบัว (furuncles and carbuncles)

การติดเชื้อมักเกิดที่ผิวหนัง โดยเกิดที่ผิวหนังชั้นนอกทำให้เกิดการอักเสบ เช่น รูขุมขนอักเสบ เชื้อจะแพร่กระจายเข้าเนื้อเยื่อใต้หนังทำให้เกิดหนองกลายเป็นฝี (boil, furncle) ส่วนฝีฝักบัว (carbuncle) คล้ายกับฝี แต่จะมีจำนวนมากกว่าและแพร่กระจายลึกลงในเนื้อเยื่อเส้นใย (fibrous tissue) ฝีฝักบัวมักเกิดที่คอหรือหลังส่วนบนซึ่งมีผิวหนังหนากว่ารูขุมขนอักเสบมักไม่ค่อยเจ็บ แต่เมื่อการติดเชื้อแพร่กระจายลึกลงในเนื้อเยื่อใต้ผิวหนังจะเกิดการอักเสบ และฝีจะอ่อนนุ่มฝีส่วนใหญ่จะหายเองได้ใน 3–5 วัน โดยหนองจะไหลออกมาความเจ็บปวดลดลงและหายไปเองแต่ก็อาจติดเชื้อซ้ำในบริเวณใกล้ๆอีก

โรคผิวหนังเป็นตุ่มพุพอง (impetigo)

เด็กทารกแรกเกิดมักเกิดการติดเชื้อ *Staphylococcus* เป็นตุ่มหนองหรือตุ่มพุพอง นอกจากนี้ยังพบในเด็กเล็ก ซึ่งมักเกิดรอบจมูกโดยเกิดเป็นตุ่มหนองแข็งห่อหุ้มอยู่บนผิวหนัง เมื่อสิ่งห่อหุ้มหลุดลอกออกจะเหลือแต่ผิวหนังที่เยิ้มแดง โรคนี้ติดต่อได้ง่าย เช่น ตามสถานรับเลี้ยงเด็กและในโรงเรียน

โรคผิวหนังหลุดลอก (scalded skin syndrome) หรือโรคริตเตอร์ (Ritter'disease)

เป็นโรคผิวหนังที่เกิดจากเอกซ์โฟลิเอทีฟทอกซิน ซึ่งผิวหนังชั้นหนังกำพร้าจะแยกออกและหลุดลอกออก กลายเป็นผิวหนังที่มีขอบม้วนและเห็นผิวหนังข้างใต้เป็นมันเยิ้ม จะมีอาการเจ็บปวดมาก ผิวหนังร้อนแดงและมีเลือดคั่ง พื้นที่ผิวหนังส่วนใหญ่มีการลอกออกเป็นเกล็ดหรือเป็นสะเก็ด โรคนี้มักพบในเด็กแรกเกิดและเด็กอายุต่ำกว่า 4 ปี ในผู้ใหญ่ไม่ค่อยเกิดยกเว้นผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันถูกกดไว้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. โรคปอดบวม (*Staphylococcal pneumonia*)

เป็นโรคที่สำคัญมากเพราะมีอัตราการตายสูง (50%) อาจเกิดขึ้นทันทีทันใดหรือติดเชื้อภายหลังจากเป็นโรคอื่นมาก่อน เช่น เมื่อป่วยเป็นไข้หวัดใหญ่ เด็กอายุต่ำกว่า 1 ปีมีความไวต่อโรคนี้มาก การติดเชื้อมักเกิดในคนไข้ที่ระบบการป้องกันร่างกายบกพร่อง เด็กที่เป็นหัด คนที่เป็นไข้หวัดใหญ่ คนไข้ในโรงพยาบาลที่รักษาด้วยยาปฏิชีวนะและสเตอรอยด์ คนที่กำลังรักษามะเร็งหรือได้รับยากดภูมิคุ้มกัน การติดเชื้อจะมีการตายของเนื้อเยื่อพร้อมกับเกิดฝีจำนวนมากโดยเกิดเป็นหย่อมๆ

3. ไขกระดูกอักเสบ (osteomyelitis) และโพรงข้อต่อมีหนอง (pyoar – throsis)

ไขกระดูกอักเสบ (osteomyelitis)

S. aureus เป็นสาเหตุสำคัญของไขกระดูกอักเสบ โรคนี้มักเกิดในเด็กชายอายุต่ำกว่า 12 ปี ส่วนใหญ่จะเกิดตามหลังเมื่อมีการกระจายของเชื้อเข้ากระแสเลือดเมื่อเกิดบาดแผลหรือฝี เชื้อจะอาศัยอยู่ที่ไดอะไฟซิส (diaphysis) ของกระดูกยาว (long bones) ซึ่งอาจเป็นเพราะการหมุนเวียนเลือดเข้ามาในบริเวณนี้ เมื่อการติดเชื้อเกิดมากขึ้นจะมีการสะสมหนองและมากขึ้นจนโผล่ขึ้นมาที่ผิวของกระดูกเกิดเป็นหนองใต้เยื่อหุ้มกระดูก อาการของการเกิดไขกระดูกอักเสบจะมีไข้หนาวสั่นเจ็บปวดที่กระดูก มีการหดเกร็งของกล้ามเนื้อรอบๆ บริเวณนั้น เมื่อเกิดการติดเชื้อใกล้กับข้อต่อจะมีโรคแทรกเกิดขึ้นคือโพรงข้อต่อมีหนอง

โพรงข้อต่อมีหนอง (pyoarthrosis)

ประมาณ 50% ของผู้ป่วยที่เป็นโรคข้ออักเสบจากแบคทีเรียเกิดจากเชื้อ *S. aureus* โรคโพรงข้อต่อมีหนองอาจเกิดหลังจากการทำศัลยกรรมกระดูกร่วมกับการเกิดไขกระดูกอักเสบหรือเกิดการติดเชื้อที่ผิวหนังเฉพาะแห่ง หรือเกิดการติดเชื้อในข้อต่อระหว่างการฉีดสารบางชนิดเข้าไปในข้อต่อ โดยเฉพาะในคนไข้ที่เป็นโรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ที่ได้รับสารคอร์ติโคสเตอรอยด์ การติดเชื้อ *Staphylococcus* ในข้อต่อจะทำลายกระดูกอ่อนในข้อต่อและมีผลทำให้เกิดความพิการของข้อต่ออย่างถาวรตลอดไป

4. การติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือดและเยื่อบุหัวใจอักเสบ (bacteremia and endocarditis)

การติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือดอาจเกิดขึ้นเนื่องจากการติดเชื้อเฉพาะที่ เช่นที่ผิวหนังทางเดินหายใจหรือทางเดินระบบสืบพันธุ์และปัสสาวะและมักพบในคนไข้ที่เป็นโรคเบาหวาน โรคหัวใจและหลอดเลือด ความผิดปกติของเม็ดเลือดขาวแกรนโลไซต์ (granulocyte) และภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง นอกจากนี้สิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่กระแสเลือดเช่นการสวนหัวใจก็เป็นสาเหตุให้เชื้อเข้าหลอดเลือดจนเกิดภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด

อาการที่เกิดจากการติดเชื้อในกระแสเลือด มีไข้ หนาวสั่น มีภาวะเกิดเป็นพิษ (systemic toxicity) และเกิดโรคแทรกคือเยื่อบุหัวใจอักเสบ เกิดการทำลายลิ้นหัวใจอย่างเฉียบพลัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และร้ายแรงจนถึงตายได้ภายใน 2–3 วัน นอกจากจะรักษาด้วยยาปฏิชีวนะได้ทัน เยื่อบุหัวใจอักเสบ เนื่องจาก *S. aureus* มีอัตราการตายสูงมากตั้งแต่ 40- 80% ขึ้นอยู่กับอายุคนไข้และขึ้นอยู่กับความต้านทานของเชื้อต่อยาเพนิซิลสินด้วย

5. อาหารเป็นพิษ (food poisoning)

สาเหตุเกิดจากการกินอาหารที่มีทอกซินของเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์ที่สร้างเอนเทอโรทอกซินอาหารนั้นมักถูกปนเปื้อนโดยผู้ประกอบอาหารที่มีเชื้ออยู่ในมือและอาหารนั้นมักเก็บไว้ในตู้เย็นที่ไม่เย็นพอ จึงทำให้เชื้อเจริญเติบโตและสร้างทอกซินได้ อาหารที่มักมีเชื้อปะปนได้แก่อาหารพวกคัสตาร์ดหรือขนมปังที่มีครีม อาหารพวกแฮม เนื้อที่ผ่านกรรมวิธีการปรุงแล้ว ไอศกรีม เนยแข็ง (cottage cheese) และสลัดไก่ อาหารที่มีเอนเทอโรทอกซินปะปนมักมีกลิ่น รส และสภาพของอาหารเป็นปกติ ปริมาณทอกซินที่มากพอจะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษจะสร้างขึ้นภายใน 4–6 ชม. ที่ 30 องศาเซลเซียส

อาการของโรคจะเกิดภายใน 2–6 ชม.หลังจากกินอาหารเข้าไป โดยมีอาการเป็นตะคริวรุนแรง ปวดท้อง อาเจียน คลื่นเหียน ท้องร่วง อาจมีอาการเหงื่อแตกและปวดศีรษะแต่มักไม่มีไข้อาการของโรคจะหายได้เร็วภายใน 6–8 ชม.

6. ลำไส้อักเสบ (enterocolitis)

ลำไส้อักเสบเป็นอาการที่รุนแรง มักพบในคนไข้ในโรงพยาบาลที่เชื้อประจำถิ่นในลำไส้ถูกยับยั้งการเจริญด้วยยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้างทำให้เชื้อ *S. aureus* (ที่สร้างเอนเทอโรทอกซิน) ที่ดื้อยา เจริญมากเกินไป อย่างไรก็ตามโรคนี้ส่วนใหญ่มักเกิดจาก *Clostridium difficile* ที่สร้างทอกซิน

7. ช็อก (toxic shock syndrome,tss)

S. aureus สายพันธุ์ที่สร้างทอกซิน (toxic shock syndrome toxin - 1) ทำให้เกิดโรคช็อก TSS ซึ่งมักเกิดในหญิงสาวที่ใช้ผ้าอนามัยแบบสอด แต่บุคคลอื่นๆ รวมทั้งเด็กและผู้ชายที่เป็นฝีหรือผู้ติดเชื้อ *Staphylococcus* ก็อาจเป็นโรค TSS ได้ อาการของโรคมีไข้ ความดันต่ำ ท้องร่วง เยื่อบุตาอักเสบ ปวดกล้ามเนื้อ และเกิดผื่นแดง หลังจากนี้มีการลอกของผิวหนังออกเป็นแผ่นหรือสะเก็ด

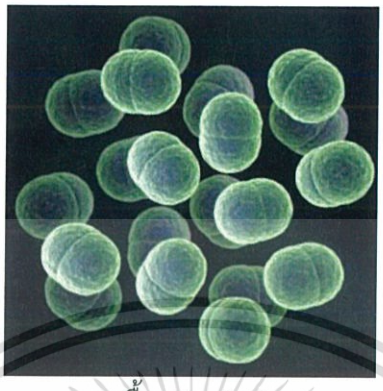
การป้องกัน

การติดเชื้อสแตฟฟิโลค็อกคัสจะไม่สามารถควบคุมได้อย่างสมบูรณ์ เพราะยังมีคนที่เป็นพาหะของโรคอยู่ทั่วไปทั้งในบ้านหรือในโรงพยาบาล การแพร่กระจายของเชื้อจะลดลงถ้าทุกคนมีสุขอนามัยที่ดีพอและทิ้งหรือทำลายสิ่งของที่ปนเปื้อนด้วยเชื้อในโรงพยาบาลทุกคนมิสิทธิ์ได้รับเชื้อที่รุนแรงเช่นเดียวกับคนที่อ่อนแอ บุคคลที่มีเชื้อนี้อยู่ควรแยกตัวห่างจากเด็กแรกเกิดและจากคนที่อ่อนแอ ควรหลีกเลี่ยงการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างพร่ำเพรื่อเพื่อป้องกันการแพร่ของเชื้อที่ดื้อยา ควรระมัดระวังการติดเชื้อในระหว่างการผ่าตัดและเครื่องมือผ่าตัดควรให้ปลอดเชื้อมากที่สุด ในเด็กแรก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง และนำไปใช้ในการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดควรระวังเรื่องการตัดสายสะดือและบุคลากรในโรงพยาบาลควรมีการตรวจหาผู้เป็นพาหะของเชื้อด้วย

2.6.4 เชื้อ *Staphylococcus epidermidis*



รูปที่ 2.14 ลักษณะของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis*
ที่มา : http://blog.microbiologics.com (สืบค้นวันที่ 3/2/2560)

เชื้อนี้สร้างโคโลนีสีขาวบนอาหารผสมเลือด ซึ่งเป็นลักษณะที่แตกต่างจาก *S. aureus* นอกจากนี้สมบัติทางชีวเคมียังแตกต่างจากเชื้อสปีชีส์อื่น

เชื้อชนิดนี้มีความจำเพาะกับโฮสต์คือคน คนทุกคนจะมีเชื้อชนิดนี้เป็นเชื้อประจำถิ่นในร่างกาย เชื้อมักอยู่ที่รักแร้ ศีรษะ จมูก แขน และขา การติดเชื้อนี้มักเกิดในโรงพยาบาล ซึ่งเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจากบริเวณผิวหนังหรือนาโซฟาริงซ์ของคนไข้ หรือบุคลากรในโรงพยาบาลในบริเวณที่รับการผ่าตัด *S. epidermidis* มักดื้อต่อยาหลายชนิด เช่น เมธิซิลลิน และเพนิซิลลินจี

ซึ่งการทำให้เกิดโรค ปกติเชื้อ *S. epidermidis* พบทั่วไปในอากาศและสิ่งแวดล้อม และมีความรุนแรงต่ำ แต่ถ้าระบบป้องกันตัวของร่างกายโฮสต์บกพร่อง ก็อาจทำให้เกิดการติดเชื้อรุนแรง มักเกิดการติดเชื้อกับสิ่งที่แปลกปลอมในร่างกาย เช่น ลิ้นหัวใจเทียม ข้อต่อเทียม หลอดเลือดที่นำมาต่อ หลอดส่วนหัวใจ เป็นต้น เมื่อเชื้อไปเกาะติดกับผิวอวัยวะเทียมเหล่านั้นจะเป็นจุดเริ่มต้นของการทำให้เกิดโรค *S. epidermidis* บางสายพันธุ์สร้างสารไกลโคแคลิกซ์ (glycocalyx) ที่เหนียวออกมานอกเซลล์ ซึ่งนอกจากช่วยให้มันเกาะติดกับผิวที่เรียบของพลาสติกหรือโลหะได้แล้ว ยังทำให้เชื้อมีความรุนแรงในการเกิดโรค โดยป้องกันเชื้อจากยาปฏิชีวนะและระบบป้องกันตัวตามธรรมชาติของโฮสต์ *S. epidermidis* ยังทำให้เกิดการติดเชื้อในท่อปัสสาวะในคนไข้ในโรงพยาบาล

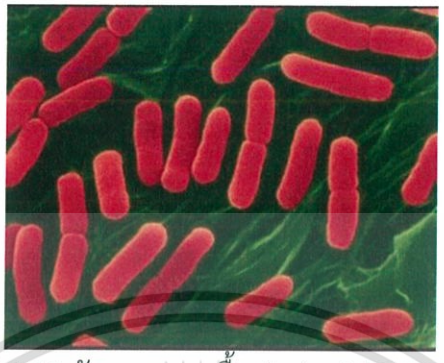
การรักษา

S. epidermidis สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคมักดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิดรวมทั้งเมธิซิลลิน การรักษาทำได้ยาก เพราะเชื้อชอบอยู่ตามเครื่องมือหรืออวัยวะเทียม ทำให้สามารถแยกตัวออกจากระบบหมุนเวียนเลือดและหลบจากยาปฏิชีวนะได้ *S. epidermidis* ดื้อยามากกว่า *S. aureus* ประมาณ 60% ของเชื้อ *S. epidermidis* สายพันธุ์ต่างๆ ดื้อต่อยาแพนนิซิลลิน การดื้อยาปฏิชีวนะไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพียงแต่ทำให้ยุ่งยากในการรักษา แต่ยังทำให้เกิดการสะสมยีนที่ดื้อยาสำหรับเชื้อที่รุนแรงด้วย การเลือกใช้ยาปฏิชีวนะรักษา จึงต้องขึ้นอยู่กับบันทึกการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อเหล่านั้นด้วย

2.6.5 เชื้อ *Escherichia coli*



รูปที่ 2.15 ลักษณะของเชื้อ *Escherichia coli*

ที่มา : https://sites.google.com (สืบค้นวันที่ 3/2/2560)

ลักษณะของเชื้อ *E. coli*

E. coli เป็นเซลล์รูปท่อน แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ อาจเคลื่อนที่ได้หรือไม่เคลื่อนที่ บางสายพันธุ์ที่แยกได้จากนอกลำไส้สร้างแคปซูลได้ ให้โคโลนีเรียบ ไม่มสี มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2–3 มิลลิเมตรในเวลา 18 ชม. แต่ถ้าเลี้ยงในอาหารที่แสดงความแตกต่าง (differential media) เช่น MacConkey agar โคโลนีมีสีแดงชมพู ขนาดใหญ่ เนื่องจากเฟอร์เมนต์แล็กโทสหรือเลี้ยงในอาหาร Eosin methylene blue agar (EMB) และ Endo agar โคโลนีมีสีมันวาวคล้ายโลหะ มีบางสายพันธุ์ที่เฟอร์เมนต์แล็กโทสได้ช้า ถ้าเลี้ยงบนอาหารผสมเลือดบางสายพันธุ์เกิดการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบบีตาฮีโมไลซิส เชื้อนี้เจริญได้ในอุณหภูมิช่วงกว้าง (15 – 45 องศาเซลเซียส) บางสายพันธุ์ทนความร้อน 60 องศาเซลเซียส 15 นาที หรือ 55 องศาเซลเซียส 60

นาที

สมบัติทางชีวะเคมีที่สำคัญคือการทดสอบ IMVIC ได้ผล ++ - - คือสามารถใช้ทริปโทเฟนให้อินโดลและให้ผลบวกกับเมทิลเรดแต่ไม่สร้างอะซิติลเมทิลคาร์บินัล (acetyl methl carbinol) และไม่ใช้ซิเตรตเป็นแหล่งคาร์บอน นอกจากนี้ยังมีไลซีนดีคาร์บอกซิเลส (lysine decarboxylase) และสามารถใช้อะซีเตต (acetate) เป็นแหล่งคาร์บอนได้ ปฏิกิริยาทางชีวเคมีของ *Escherichia* สปีชีส์ต่างๆ

ปัจจัยในการทำให้เกิดโรค

การที่ *E. coli* ทำให้เกิดโรคได้เนื่องจากมีไวรูเลนซ์แฟกเตอร์ (virulence factors) หลายชนิดที่ไม่พบใน *E. coli* ที่เป็นเชื้อประจำถิ่นอย่างน้อยที่สุดจะต้องมีปัจจัยอย่างใดอย่างหนึ่งคือ

1. มีความสามารถที่จะเกาะติดกับเซลล์บางชนิดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม
2. ความสามารถที่จะบุกรุกและเข้าไปเจริญในเซลล์ของเยื่อบุผิวลำไส้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ความสามารถในการสร้างเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ที่ทำให้ร่างกายสูญเสียน้ำและของเหลว จึงเกิดอาการท้องร่วง การสร้างไซโททอกซิน (cytotoxin) ที่ไปขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน จึงทำให้เกิดการตกเลือดที่ลำไส้ (hemorrhagic colitis)

4. การมีแคปซูลที่ป้องกันไม่ให้ถูกเม็ดเลือดขาวจับกิน

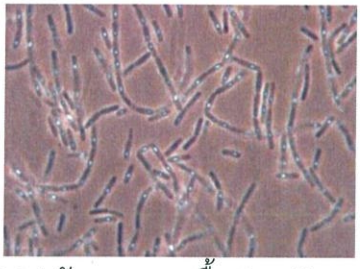
Escherichia coli หรือ *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น (Normal flora) ที่พบได้ในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น โดยปกติจะไม่ทำอันตรายหรือก่อโรคร้ายแรง เมื่ออยู่ในลำไส้จะช่วยย่อยอาหารที่เรารับประทานเข้าไป แต่หากเชื้อ *E. coli* ลุกล้ำเข้าสู่ระบบต่างๆของร่างกายก็จะทำให้เกิดโรคติดเชื้อรุนแรง เช่น โรคติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ และการติดเชื้อในกระแสเลือด เป็นต้น และมีเชื้อ *E. coli* บางสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงได้ โดยการปนเปื้อนของเชื้อ ในอาหารหรือน้ำดื่ม ทั้งนี้เชื้อ *E. coli* ที่สามารถก่อโรคอุจจาระร่วง (Diarrheagenic *E. coli*) จะมีกลไกการก่อโรคและสามารถสร้างสารพิษได้แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ เช่น เชื้อ Enterotoxigenic *E. coli* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ enterotoxin ทำให้เกิดอาการท้องร่วงแบบเฉียบพลัน ถ่ายเหลวเป็นน้ำ หรือเชื้อ Enterohaemorrhagic *E. coli* ที่สร้างสารพิษ Shiga ทำให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง ถ่ายเป็นมูกเลือด ก่อให้เกิดกลุ่มอาการเม็ดเลือดแดงแตกและไตวายเฉียบพลัน

การติดต่อ

โดยปกติแล้วเชื้อ *E. coli* จะอาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและยังอาศัยอยู่ในสัตว์ เช่น สุกร โค กระบือ เป็นต้น ดังนั้น เชื้อจะถูกขับผ่านออกมากับอุจจาระสัตว์ได้ถ้าสัตว์ถ่ายอุจจาระลงดินหรือแหล่งน้ำ ซึ่งใช้เป็นแหล่งเพาะปลูกหรืออุปโภค บริโภค เชื้อที่ปนเปื้อนไปกับผลผลิตและน้ำดื่มจะเข้าสู่ร่างกายคนโดยการรับประทาน นอกจากนี้เชื้อยังสามารถติดต่อจากผู้ป่วย สู่คนอื่นได้โดยตรง (person to person contact) อาการมีได้ตั้งแต่ไม่แสดงอาการจนถึงอาการรุนแรง บางรายถ่ายเหลวเป็นน้ำ บางรายอาจมีอาการคลื่นไส้อาเจียน มีไข้ต่ำร่วมด้วยและอาจรุนแรงถึงขั้นมีอาการปวดบิด ถ่ายเป็นมูกเลือดและมีอาการแทรกซ้อน คือ เกิดกลุ่มอาการเม็ดเลือดแดง แตกและไตวาย ทั้งนี้อาการรุนแรงต่างๆ ขึ้นอยู่กับสภาพร่างกายของแต่ละคนที่ได้รับเชื้อ ปัจจัยในการก่อโรคและปริมาณของ เชื้อที่ได้รับเข้าสู่ร่างกาย การป้องกันการติดเชื้อ ล้างมือให้สะอาดทุกครั้งหลังเข้าห้องน้ำ หลังสัมผัสสัตว์ก่อนรับประทานอาหารและก่อนปรุงอาหาร ถ่ายอุจจาระลงในห้องส้วมที่ถูกสุขลักษณะ ไม่ทิ้งอุจจาระหรือสิ่งปฏิกูลลงในแหล่งน้ำ และที่สำคัญดื่มน้ำและรับประทานอาหารที่สะอาดปรุงสุกใหม่ๆ การเฝ้าระวังการดื้อยาของเชื้อ *E. coli* ในห้องปฏิบัติการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขจากข้อมูลย้อนหลัง 7 ปี (พ.ศ. 2550 – 2556) ได้มีการพบเชื้อ *E. coli* ที่สามารถก่อโรคอุจจาระร่วงทั้งหมดคิดเป็นร้อยละ 10.1 ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้าน จุลชีพ 10 ชนิดนั่นก็คือAmpicillin, Amoxicillin, Cefotaxime, Ceftazidime, Cefuroxime, Cephalothin, Co- trimoxazole, Gentamicin, Norfloxacin และสุดท้ายคือ Tetracycline (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2557)

เอกสารนี้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น โดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.6 เชื้อ *Bacillus cereus*



รูปที่ 2.16 ลักษณะของเชื้อ *Bacillus cereus*

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com (สืบค้นวันที่ 3/2/2560)

Bacillus cereus คือแบคทีเรีย (bacteria) ในกลุ่ม Bacillus ซึ่งเป็นชนิดที่ทำให้เกิดโรค (pathogen) ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) ขนาด 0.3-2.2 x 1.2-7.0 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ สร้างสปอร์ (spore forming bacteria) เป็นแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (aerobic bacteria) เจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนและจะสร้างสารพิษ (toxin) เมื่ออยู่ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนน้อย เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง ในร่างกายมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 28-37 องศาเซลเซียส ไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียสและสูงกว่า 55 องศาเซลเซียส สำหรับค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อชนิดนี้อยู่ระหว่าง 6–7 พบทั่วไปในธรรมชาติในดินและน้ำ เชื้อสร้างสปอร์ซึ่งทนความแห้งแล้งได้ดี สปอร์จึงพบได้ทั่วไปในฝุ่น ควันและปะปนมากับอาหารแห้ง เช่น น้ำตาล วัตถุเจือปนอาหาร เครื่องเทศ และพบบ่อยในอาหารกลุ่มแป้ง เมล็ดธัญชาติ (cereal grain) เช่น ข้าวหุงสุก เส้นก๋วยเตี๋ยว พาสต้า อาหารกึ่งสำเร็จรูป เช่น ข้าวกึ่งสำเร็จรูป เนยแข็ง (cheese) ผักสลัด อาหารที่มีเนื้อสัตว์ เป็นส่วนประกอบ ซอส ซุป อาหารแห้ง เครื่องเทศ (spice) การบริการอาหาร (food service) ที่ต้องเตรียมอาหารจำนวนมากล่วงหน้าเป็นเวลานานเช่น โรงเรียน ร้านอาหาร ภัตตาคาร

โรคและอาการของโรค

โรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) เกิดจาก *Bacillus cereus* ทำให้เกิดอาการ 2 ลักษณะอาการอาเจียน (Emetic syndrome) เกิดจากที่ร่างกายได้รับสารพิษ (intoxication) ที่แบคทีเรียสร้างขึ้นในอาหารก่อนที่จะบริโภคเข้าไป สารพิษนี้ทนต่ออุณหภูมิสูงและทนต่อความเป็นกรดในกระเพาะอาหารได้ดี ผู้ป่วยจะเกิดอาการคลื่นไส้และอาเจียน ภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไปประมาณ 5 ชั่วโมง โดยทั่วไปอาการเป็นอยู่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง โรคอาหารเป็นพิษลักษณะนี้มักเรียกว่า Chinese restaurant syndrome เนื่องจากมักจะพบในผู้ป่วยรับประทานอาหารจีน ซึ่งมักเป็นข้าวผัดที่ทำจากข้าวสุกที่หุงค้างไว้นาน ทำให้แบคทีเรียเจริญเติบโตและสารพิษทนต่อความร้อน ก่อนนำมาปรุงหรือทำให้ร้อนใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาการถ่ายเหลว (Diarrhea syndrome) เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีเซลล์ของแบคทีเรียและเพิ่มจำนวนในลำไส้ของมนุษย์ ใช้เวลาฟักตัวประมาณ 8-16 ชั่วโมง มีสารพิษเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ที่ไม่ทนต่อความร้อน ทำให้เกิดอาการการปวดท้อง เป็นตะคริวที่ท้องและถ่ายอุจจาระเหลวโดยทั่วไปอาการเป็นอยู่ไม่เกิน 14 ชั่วโมง ปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (infective dose) 100-100,000 เซลล์ต่อกรัม

การป้องกัน

1. หุงต้ม ผัด อาหาร ให้ร้อนจัด อุ่นให้เดือด และเก็บอาหารที่ทำให้สุกแล้วที่อุณหภูมิต่ำ หลีกเลี่ยงการเก็บอาหารช่วงอุณหภูมิที่เป็นอันตราย คือ 4-55 องศาเซลเซียส
2. ควบคุมให้พนักงาน หรือบุคคล ที่สัมผัสกับอาหาร มีสุขอนามัยที่ดี (personal hygiene)
3. ป้องกันการเกิดปนเปื้อนข้าม (cross contamination) โดยเฉพาะอาหารที่ปรุงสุก อาหารพร้อมรับประทาน กับอาหารดิบ
4. ผลิตอาหารให้ถูกสุขลักษณะ ตามหลัก GMP (Good Manufacturing Practice)

2.7 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ (ประสาทพร และคณะ, 2551)

ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพ คือความสามารถในการยับยั้งการเจริญ (microbiostatic) หรือความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลชีพ (microbicidal)

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของสมุนไพร คือการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพที่มีอยู่ในสมุนไพร

การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) ประเทศสหรัฐอเมริกาได้กำหนดวิธีการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพเป็นวิธีมาตรฐานไว้ โดยมีขั้นตอนที่ชัดเจนตามชนิดของเชื้อ (รวมถึงเชื้อดื้อยาที่เป็นปัญหา) อาหารเลี้ยงเชื้อ ความหนาของอาหารเลี้ยงเชื้อ การเตรียมเชื้อในการทดสอบอุณหภูมิ เวลา และสภาวะในการบ่มเพาะเชื้อ ตลอดจนการอ่านและแปรผล ดังนั้นห้องปฏิบัติการต้องปฏิบัติตามแบบแผนอย่างถูกต้องทุกขั้นตอน จึงจะทำให้ผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพเชื่อถือได้และทำให้การอ่านและแปรผลถูกต้อง

MIC (minimal inhibitory concentration) เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ หน่วยที่ใช้โดยทั่วไป คือ ไมโครกรัม (μg) ต่อมิลลิลิตร(ml) หรือหน่วยสากล (IU, international unit) ต่อมิลลิลิตร ค่า MIC นี้สามารถนำมาใช้เป็นค่าเปรียบเทียบเพื่อดูความไวของเชื้อหนึ่งๆ ต่อยาต้านจุลชีพหลายๆ ชนิดหรือความไวของเชื้อหลายๆ ชนิดต่อยาหนึ่งๆ และรวมทั้งเพื่อประเมินค่าอื่นที่เกี่ยวข้องกับยาหรือแปรผลของยาต่อเชื้อในการทดสอบเพื่อหาค่า MIC ยา ควรได้รับการเจือจางให้มีความเข้มข้นลดลงทุก 2 เท่า ไปเรื่อยๆ (2-fold serial dilution)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

MLC (minimal lethal concentration) เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถฆ่าทำลายเชื้อ (หรือมีเชื้อเจริญไม่เกินกำหนด) หากเชื้อทดสอบเป็นแบคทีเรีย อาจใช้คำที่จำเพาะเจาะจงกว่า คือ MBC (minimal bactericidal concentration) แต่ถ้าเป็นราอาจใช้คำว่า MFC (minimal fungicidal concentration) ยาต้านจุลชีพที่มีวิถีการออกฤทธิ์เป็นชนิดฆ่าทำลาย (microbicidal) จะมีค่า MIC และ MLC เหมือนหรือ ใกล้เคียงกัน (ไม่เกินหนึ่งหรือสองความเข้มข้น; MLC/MIC ≤ 4) ยกเว้นแบคทีเรียบางชนิดที่ถูก

วิธีทดสอบความไวของเชื้อต่อยามีหลายวิธี หากเชื้อทดสอบเป็นแบคทีเรียและรา สามารถทำได้ทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (broth medium) และอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (agar medium) โดยมีวิธีหลักอยู่สองรูปแบบ คือ dilution susceptibility test และ agar diffusion test

การเลือกรูปแบบวิธีการทดสอบ ขึ้นกับปัจจัยหลายอย่างที่สำคัญ คือ

1. ลักษณะของงาน เช่น เป็นงานวิจัย งานตรวจสอบในห้องปฏิบัติการที่ทำเป็นประจำหรือนานๆ ทำครั้ง งานที่ต้องรู้ค่า MBC ดังตัวอย่าง งานตรวจสอบในห้องปฏิบัติการที่นานๆ ทำครั้ง และแต่ละครั้งมีจำนวนเชื้อที่ทดสอบน้อย จะนิยมใช้ agar diffusion test (เพื่อตัดปัญหาต้องเตรียมและเก็บสารละลายของตัวยาที่ต้องใช้ใน dilution test) ขณะที่งานที่ต้องการรู้ค่า MBC ของตัวยาจะนิยมใช้ broth dilution test
2. ชนิดของเชื้อทดสอบ เช่น เชื้อที่เจริญช้าหรือเลือกเฟ้นการใช้อาหารมาก (fastidious dilution test) จะนิยมใช้ broth dilution test ขณะที่เชื้อซึ่งต้องเจริญบนเลือดหรือไม่ต้องการออกซิเจน (anaerobe) มักใช้ agar diffusion test หรือเชื้อที่มีอัตราการเจริญไม่คงที่ควรเลือก dilution test
3. จำนวนเชื้อทดสอบ เช่น มีจำนวนเชื้อทดสอบมากและต้องการหาค่า MIC จะนิยมทำ agar dilution test
4. ชนิดของยาทดสอบ เช่น ตัวยาแพร่กระจาย (diffuse) ใน agar medium ไม่ดี จะนิยมหาค่า MIC ด้วยวิธี dilution test เป็นต้น
5. จำนวนยาทดสอบ เช่น มีตัวยาจำนวนมากแต่มีเชื้อจำนวนน้อย จะนิยมใช้ agar diffusion test

เมื่อเลือกรูปแบบวิธีการทดสอบได้แล้ว อาจต้องพิจารณาปัจจัยต่างๆ ที่อาจมีผลต่อการทดสอบ อาทิ ชนิดของ medium สำหรับ medium ที่ดีนั้นควรยอมให้เชื้อทุกชนิดเจริญได้ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรด-ด่าง (pH) มากขณะที่มีเชื้อเจริญ ไม่มีสารรบกวนการออกฤทธิ์ของยา มีส่วนผสมที่ปรากฏใน broth และ agar medium เหมือนกัน (ยกเว้นสารช่วยให้แข็ง) และควรทดสอบก่อนว่าเชื้อชนิดที่ต้องการทดสอบสามารถเจริญได้ (Alderman และ Smith, 2001) อาหารเลี้ยงเชื้อที่นิยมใช้ได้แก่ Mueller Hinton (MH) broth (agar)) ถ้าทดสอบพวกที่เจริญยากจะนิยมใช้ brain heart infusion broth (agar) หรือ trypticase soy broth (agar) ในการทดสอบเชื้อรา medium ที่ใช้มีหลายชนิดขึ้นกับชนิดของราและชนิดของยาที่ทดสอบ กล่าวคือถ้าเป็นราชั้นสูงจะใช้ Sabouraud dextrose broth (agar), tryptic soy broth (agar), potato dextrose agar แต่ถ้าเป็นราชั้นต่ำจะใช้ glucose yeast extract broth (agar) เป็นต้น

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้เพื่อการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.1 Dilution Susceptibility Test หรือการทดสอบ MIC

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี dilution test จะเป็นการทดสอบในเชิงปริมาณ เพราะสามารถทราบค่าความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรที่ทำลายเชื้อได้ นิยมใช้ทดสอบเชื้อที่เจริญได้ช้า ใช้ทดสอบยืนยันผลวิธี diffusion ที่ให้ความไวปานกลางหรือดื้อยา เพื่อว่าจะสามารถใช้สารสกัดสมุนไพรนั้นในจำนวนสูงๆได้และใช้ทดสอบความไวของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้อากาศในการดำรงชีพ (anaerobe) หลักการโดยทั่วไปของวิธีทดสอบแบบ broth และ agar dilution susceptibility test จะคล้ายคลึงกัน คือจะเจือจางสารสกัดสมุนไพรใน medium ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นจึงใส่เชื้อลงในหรือบน medium ที่มีสมุนไพรภายหลังการบ่มเพาะให้ดูค่า MIC ทั้งนี้โดยสังเกตความขุ่นหรือใสของ broth และมีหรือไม่มีเชื้อเจริญขึ้นบน agar

2.7.1.1 Broth dilution test

เป็นการทดสอบหาความไวของเชื้อต่อสมุนไพรที่ละเอียดวิธีหนึ่ง การทดสอบนี้จะทำให้ทราบทั้ง MIC และ MBC ของสมุนไพรนั้นๆ กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบ หลักการ โดยทั่วไปของวิธีนี้คือเลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวซึ่งมีสารสกัดสมุนไพรในปริมาณต่างๆกันผสมอยู่และสังเกตการณ์เจริญเติบโตของเชื้อ

วิธีการทำ broth dilution test

วิธีการนี้ก็ยังสามารถแบ่งเป็น macrodilution (หรือ tube) test และ microdilution dilution test Broth Macrodilution test จะทำในหลอดทดลอง โดยทำการเจือจางสารสกัดสมุนไพร stock solution ด้วยตัวเจือจาง หรือด้วย broth ในลักษณะลดลงทุก 2 เท่า (2-fold serial dilution) ไปเรื่อยๆ ปริมาตรสุดท้ายที่อยู่ในหลอดเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตร และต้องมีหลอดควบคุมที่ไม่มีสารสกัดสมุนไพรด้วย เตรียมเชื้อที่ทดสอบให้ได้ขนาด โดยอาจใช้วิธีเทียบความขุ่นกับ McFarland เบอร์ 0.5 หรืออาจใช้การวัดความขุ่นด้วย spectrophotometer แล้วเจือจางลงเพื่อให้ได้ขนาดเชื้อที่เหมาะสม

Broth Microdilution test ทำใน microtiter plate 96-well โดยเจือจาง stock solution ด้วย broth แบบ 2-fold serial dilution มีหลุมควบคุมเป็น broth ที่ไม่มีสารสกัดสมุนไพร ในแต่ละหลุมจะมีปริมาตรเท่ากับ 50 ไมโครลิตร จากนั้นใส่เชื้อที่ปรับขนาดแล้ว (ใช้เชื้อประมาณ 10^5 CFUต่อมิลลิลิตร) 50 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมแล้วปิดฝาก่อนนำไปบ่มเพาะ อ่านค่า MIC โดยดูความขุ่นด้วยตาเปล่าหรืออาจใช้สารบางอย่างที่สามารถบ่งชี้การเจริญของเชื้อได้เพื่อให้อ่านค่าได้ง่ายขึ้น ดังเช่นงานการวิจัยของ Eloff (1998) ที่ได้ทดลองโดยใช้สาร tetrazolium dye หลาย ชนิดได้แก่ tetrazolium red, thiazolyl blue และ *p*-Iodonitrotetrazolium violet (INT) เป็นสารบ่งชี้การเจริญของแบคทีเรีย (biologically active organisms) โดยหากเชื้อมีการเจริญจะสามารถเปลี่ยนสารที่ไม่มีสีเป็นสารสีได้ ซึ่งพบว่า *p*-Iodonitrotetrazolium violet ให้ผลการวัดการเจริญได้ของเชื้อที่ดีที่สุด ซึ่งวิธีการนี้สามารถทำได้รวดเร็ว แม่นยำ และเหมาะนำมาใช้ศึกษาสมุนไพรเนื่องจากสามารถลดการรบกวนการอ่านผลเนื่องจากสีและความขุ่นของสมุนไพรบางชนิดได้หากดูความขุ่นด้วยตาเปล่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดสอบ microbicidal activity

การทดสอบ MLC จะทำต่อเนื่องจากการหาค่า MIC ซึ่งนิยมทำจาก broth dilution test โดยการ subculture เชื้อจาก broth ที่ไม่มีเชื้อขึ้นตั้งแต่ช่วงค่า MIC ขึ้นไป streak บน agar plate เพื่อให้เปรียบเทียบได้ชัดขึ้น ควรเพาะจากหลอด control ที่ไม่มีสมุนไพรด้วย จากนั้นนำ plate ไปบ่มแล้วดูการเจริญของเชื้อเพื่ออ่าน MLC (MBC หรือ MFC) โดยที่ความเข้มข้นดังกล่าวจะต้องไม่มีเชื้อขึ้นหรือเกือบไม่มีเชื้อขึ้น (ร้อยละ 99.9 ของเชื้อถูกฆ่า)

2.7.1.2 Agar dilution test

เป็นการทดสอบความไวของเชื้อแบบปริมาณวิเคราะห์โดยมีหลักการทดสอบคล้ายคลึงกับ Broth dilution method ต่างกันเพียงชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่านั้น กล่าวคือทำการ ทดสอบโดยการเจือจางสารทดสอบในอาหารวุ้นและถ่ายเชื้อลงบนผิวของอาหารวุ้น ข้อดีของวิธีนี้คือ สามารถทำการทดสอบเชื้อหลายชนิดบนอาหารเลี้ยงเชื้อจานเดียวกันได้ วิธีนี้สามารถหาค่า MIC ได้แต่ไม่สามารถหาค่า MLC ได้ ค่าความเข้มข้นของสารที่น้อยที่สุดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อเป็นค่า MIC

วิธีการทำ agar dilution test

นำ stock solution มาเจือจางด้วยน้ำหรือตัวเจือจางที่เหมาะสมจนได้ความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบ แล้วจึงใส่ใน agar medium ซึ่งหลอมไว้ (45 - 50 องศาเซลเซียส) การเตรียมขนาดเชื้อด้วยวิธีการเดียวกับที่ทำใน broth dilution test แต่เจือจางขนาดเชื้อลงให้ได้ขนาดเชื้อซึ่งเมื่อแตะลงบน agar แล้วให้ได้เชื้อประมาณ 1×10^4 ตัวต่อจุด เมื่อแตะเชื้อลงบน agar ทดสอบแล้ว ต้องทิ้งให้ซึมหมดก่อนคว่ำ plate นำไปบ่มที่ 35-37 องศาเซลเซียสนาน 16-20 ชั่วโมง (เชื้อที่เจริญช้าอาจให้นานมากกว่า 48 ชั่วโมง) แล้วอ่านค่า MIC ที่ความเข้มข้นที่จะต้องไม่มีเชื้อขึ้นเลย

2.7.2 Agar diffusion Test

วิธีที่ใช้แพร่หลายมากที่สุด คือ Disc diffusion method (Kirby-Bauer) เนื่องจากสะดวก ประหยัดและใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่นๆ วิธีนี้เป็นการทดสอบในเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลได้ว่าเชื้อมีความไวต่อการทดสอบหรือไม่ แต่ไม่อาจทราบค่า MIC หรือ MLC ได้ ซึ่งไม่เหมาะในการทดสอบเชื้อที่เจริญช้าและเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้อากาศในการดำรงชีพ หลักการทั่วไปคือ การทำให้สารสกัดสมุนไพรที่มีในแผ่นกระดาษกรอง (paper disc) ที่เตรียมไว้ก่อนซึมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้กระจายเชื้อ (spread) ในจำนวนที่เหมาะสม แล้วนำไปเพาะเลี้ยงให้เชื้อเจริญเติบโต อ่านผลการทดสอบโดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibition zone ซึ่งจะเห็นเป็นวงใสไม่มีโคโลนีเชื้อรอบๆ แผ่น disc ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแปรตามขนาดของ inhibition zone วิธีการนี้โดยทั่วไปมักทำการทดสอบสมุนไพรเพียงความเข้มข้นเดียวและใช้เป็นการตรวจกรองฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในเบื้องต้น นอกจากขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใสที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวของเชื้อที่ทดสอบแล้ว ยังอาจขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ขนาดโมเลกุลของสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดสมุนไพร ความสามารถในการละลายหรือซึมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อของสมุนไพร อัตราการเจริญของเชื้อ ภาวะความเป็นกรด-ด่าง และส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ ตลอดจนระยะเวลาในการเพาะเชื้อ สำหรับแหล่งรองรับสมุนไพร (drug reservoir) ที่ใช้มักใช้เป็นกระดาษซับวงกลม (filter paper dish) หรืออาจเรียกว่า dish sensitivity test หรืออาจเป็นหลุมที่เจาะลงในเนื้อ agar

วิธีการทำ Agar Diffusion Test (disc diffusion test และ hole–plate diffusion)

เตรียมเชื้อเพื่อใช้ในการทดสอบโดยเพิ่มจำนวนเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว วัดความขุ่นของเชื้อเพื่อให้ได้จำนวนเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมกับการทดสอบแล้ว spread เชื้อบน Mueller-Hinton agar ให้ทั่ว จุ่มกระดาษกรองปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ในสารละลายสกัดสมุนไพร และวางลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ควรทำกลุ่มควบคุม คือ กระดาษกรองปลอดเชื้อที่จุ่มในตัวทำละลายสมุนไพรด้วย หรืออาจใช้วิธีการเจาะหลุม (hole – plate diffusion) (เส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร) แล้วหยดสารละลายสมุนไพรลงไปประมาณ 40 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มเพาะเชื้อนาน 24 ชั่วโมง แล้ววัดเส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibition zone โดยเทียบกับ กลุ่มควบคุม บวกที่ใช้ disc ยาปฏิชีวนะที่ทราบปริมาณยาที่แน่นอน

การแปรผลของวิธีนี้จะสามารถบอกได้เพียงว่าสมุนไพรที่ความเข้มข้นนั้นๆ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้มากหรือน้อยตามขนาดของบริเวณใสเท่านั้นและอาจใช้การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่เกิดจากยาปฏิชีวนะมาตรฐานก็ได้

ข้อสังเกต

1. สมุนไพรที่ละลายเพื่อใช้ในการทดสอบ ต้องทำให้ปลอดเชื้อ โดยการกรองผ่าน filter membrane ขนาด 0.2 หรือ 0.45 ไมโครเมตร
2. สมุนไพรที่เป็นน้ำมัน จะทำให้การอ่านผลยาก
3. ก่อนนำ agar มาใช้ในการทดสอบ ควรนำ plate ไปทำให้แห้ง ไม่มีหยดน้ำหรือไอน้ำ โดยอาจนำไปวางในตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30–37 องศาเซลเซียส หรือในตู้ laminar flow ไม่เกิน 30 นาที ตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อโดยนำไปใส่ตู้บ่มเชื้อ
4. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่จะนำมาใช้ ควรมาจาก 1 โคโลนี มา streak ให้เจริญบน Mueller–Hinton agar เมื่อเชื้อเจริญแล้วนำมาเตรียมเชื้อให้ได้จำนวน 1–2×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตรใน NSS ปลอดเชื้อ แล้วใช้ก้านสำลีปลอดเชื้อจุ่มเชื้อขึ้นมา swab ให้ทั่ว agar และตั้งทิ้งไว้ไม่ให้ชื้น (ประมาณ 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง)
5. Standard incubation times โดยทั่วไปแบ่งออกเป็น 2 ช่วงเวลา ได้แก่ 24–28 เซนติเมตร และ 44 – 48 เซนติเมตร (ขึ้นอยู่กับความสามารถในการเจริญของเชื้อ)
6. การทดสอบด้วยวิธี hole–plate diffusion (Brantner และคณะ, 1994). อาจได้ฤทธิ์ที่สูง กว่า (larger activity) วิธี disc diffusion (Lennette, 1985; Essawi และ Srour, 2000) ทั้งนี้ เนื่องจากมีปริมาณของสารที่ทดสอบมาก

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 ยาต้านจุลชีพ

ในยุคที่ต้องพึ่งพายาเมื่อเกิดการเจ็บป่วย จะเห็นว่ายาต้านจุลชีพเป็นยากลุ่มหนึ่งที่มีความสำคัญมากในการรักษาโรคติดเชื้อ ซึ่งจัดเป็นปัญหาด้านสาธารณสุขสำหรับประเทศไทยโดยเฉพาะโรคติดเชื้อที่รู้จักกันดี อย่างเช่น โรคติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ โรคติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์ เป็นต้น กรณีที่ประชาชนทั่วไปมีความรู้เกี่ยวกับสาธารณสุขขั้นมูลฐานจะเป็นปัจจัยสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อที่ดีและถูกต้อง เพราะการป้องกันย่อมดีกว่าการแก้ไข แต่ถ้าเกิดการติดเชื้อแล้ว การที่จะรักษาให้ได้ผลคงต้องศึกษาเพื่อให้รู้จักโรคให้ดี และที่สำคัญคงต้องรู้จักเลือกและใช้ยาต้านจุลชีพได้อย่างถูกต้อง เพราะการเลือกและใช้ยาต้านจุลชีพได้อย่างถูกต้อง นอกจากจะทำให้หายจากโรคติดเชื้อแล้ว ยังทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายในการรักษาอีกด้วย ก่อนที่จะมาทำความรู้จักกับความหมายของยาต้านจุลชีพนั้น อยากจะให้รู้จักความหมายของ “ยาปฏิชีวนะ” ด้วย ซึ่งยาปฏิชีวนะ (antibiotics) หมายถึง สารที่สร้างขึ้นและแยกได้จากเชื้อจุลชีพชนิดหนึ่ง และออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายเชื้อจุลชีพอีกกลุ่มหนึ่ง ส่วนยาต้านจุลชีพ (antimicrobial agents) หมายถึงกลุ่มของสารหรือยาที่แยกได้จากเชื้อจุลชีพหรือกึ่งสังเคราะห์เหมือนสารที่แยกได้จากเชื้อจุลชีพและที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีโดยตรงมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายเชื้อจุลชีพดังนั้น ยาต้านจุลชีพจึงมีความหมายรวมถึงยาปฏิชีวนะด้วย อาจกล่าวได้ว่า ยาต้านจุลชีพเป็นที่ใช้สำหรับทำลายหรือยับยั้งการเจริญการเติบโตของเชื้อจุลชีพที่ทำให้เกิดการติดเชื้อหรืออักเสบในร่างกายคนเรา ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา เชื้อโปรโตซัว (เช่น มาลาเรีย บิดอะมีบา) และเชื้อริกเกตเซีย (เช่น ไทฟัส) แต่จะไม่ได้ผลต่อเชื้อไวรัส (เช่น ไข้หวัด ไข้หวัดใหญ่ หัด อีสุกอีใส คางทูม)

2.8.1 การจำแนกประเภทของยาต้านจุลชีพ

ยาต้านจุลชีพ จำแนกเป็นประเภทต่าง ๆ ได้หลายแบบ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับหลักเกณฑ์ในการจำแนก

2.8.1.1 จำแนกตามสูตรโครงสร้างทางเคมี

1. เบต้า-แลคแทม แอนตี้ไบโอติค (- lactam antibiotics)
   - -เพนิซิลลิน (penicillins)
   - -เซฟาโลสปอริน (cephalosporins)
2. แมคโครลีด (macrolides) เช่น อีริโทรมัยซิน
3. ลินโคซาไมด์ (lincosamides) เช่น ลินโคมัยซิน
4. อะมิโนกลัยโคไซด์ (aminoglycosides) เช่น เจนตามิซิน
5. เตตร้าซัยคลิน (tetracyclines) เช่น เตตร้าซัยคลิน
6. โพลี่เปปไทด์ (polypeptides) เช่น แวนโคมัยซิน
7. ซัลโฟนาไมด์ (sulfonamides) เช่น ซัลฟาไดอะซีน
8. ฟลูออโรควิโนโลน (fluoroquinolones) เช่น เอ็นโรฟลอกซาซิน
9. กลุ่มอื่นๆ เช่น คลอแรมเฟนิคอล ไนโตรฟูแรนโตอิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.1.2 จำแนกตามขอบเขตการออกฤทธิ์

1. Broad spectrum ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ต่อแบคมีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เช่น แอมพิซิลลิน (ampicillins) หรือออกฤทธิ์ทั้งต่อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนด้วย ได้แก่ คลอแรมเฟนิคอล (cloramphenicol) นอกจากนี้ยังอาจครอบคลุมทั้งโปรโตซัว และริกเกตเซีย ได้แก่ เตตร้าซัยคลิน (tetracyclines) คลอแรมเฟนิคอล (choramphenicol) เมโทรนิดาโซล (methronidazole)

2. Medium spectrum ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบบางชนิดเท่านั้น ได้แก่ ซัลโฟนาไมด์ (sulfonamides)

3. Narrow spectrum ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียบางชนิด มีฤทธิ์ส่วนใหญ่ต่อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ คล็อกซาซิลลิน (cloxacillin) หรือมีฤทธิ์ส่วนใหญ่ต่อแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ อะมิโนกลัยโคไซด์ (aminoglycosids)

2.8.1.3 จำแนกตามฤทธิ์ต่อจุลชีพ

1. Bactericidal หมายถึง ยาต้านจุลชีพมีฤทธิ์ฆ่าหรือทำลายเชื้อจุลชีพโดยทั่วไปมักมีกลไกการออกฤทธิ์ต่อผนังเซลล์และต่อเซลล์เมมเบรนของแบคทีเรีย

2. Bacteriostatic หมายถึง ยาต้านจุลชีพมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ มักมีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีน ดังนั้น จึงต้องการระบบภูมิคุ้มกันเซลล์เม็ดเลือดขาวเพื่อเก็บกินเชื้อจุลชีพ ถ้าเพิ่มขนาดยามากขึ้นยาต้านจุลชีพเหล่านี้อาจออกฤทธิ์ฆ่าหรือทำลายเชื้อจุลชีพ

2.8.1.4 จำแนกตามกลไกการออกฤทธิ์

1. ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ เช่น เพนิซิลลิน เซฟาโลสปอริน แวนโคมัยซิน

2. ออกฤทธิ์ต่อเซลล์เมมเบรน เช่น โพลี่มิกซิน-บี คีโตโคนาโซล แอมโพเทอริซิน –บี

3. ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีน เช่น คลอแรมเฟนิคอล เตตร้าซัยคลิน อีริโทรมัยซิน อะมิโนกลัยโคไซด์

4. ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างกรดนิวคลิอิค เช่น ไรแฟมปิซิน ควิโนโลน เมโทรนิดาโซล

5. รบกวนการสังเคราะห์เมตาบอไลต์ที่จำเป็นในการดำรงชีพของเชื้อจุลชีพ เช่น ซัลโฟนาไมด์ ไอโซไนอะซิด

ยาต้านจุลชีพที่ดีควรออกฤทธิ์ต่อเชื้อจุลชีพเท่านั้น ไม่ควรมีผลต่อเซลล์ของร่างกายผู้ป่วย ยาต้านจุลชีพที่มีการออกฤทธิ์อย่างเลือกเฟ้น (selective) ต่อเฉพาะเชื้อ ได้แก่ กลุ่มที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ เช่น ยาปฏิชีวนะกลุ่มเบต้า-แลคแทม ยากลุ่มนี้จึงใช้ได้ค่อนข้างปลอดภัย ส่วนยาต้านจุลชีพที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีน โดยจับกับไรโบโซมซึ่งเป้าหมายที่มีทั้งใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์ของแบคทีเรียและเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่พบว่าไรโบโซมแตกต่างกัน กล่าวคือไรโบโซมของแบคทีเรียเป็น 70s ส่วนไรโบโซมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเป็น 80s ยกเว้นในไมโตคอนเดรีย ในเซลล์ไขกระดูกเป็น 70s ดังนั้นยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์โดยจับกับไรโบโซม จึงพบว่าค่อนข้างปลอดภัย แต่บางชนิดอาจเกิดอาการข้างเคียงถึงขั้นเป็นพิษได้ เช่น คลอแรมเฟนิคอล จึงต้องใช้อย่างระมัดระวัง

2.8.2 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารต้านจุลินทรีย์

สารต้านจุลชีพมีชนิดต่างๆ มากมายทั้งที่ผลิตจากจุลินทรีย์ จากการสังเคราะห์และสารกึ่งสังเคราะห์ สารต้านจุลชีพจึงมีชนิดที่มีขอบข่ายการออกฤทธิ์ต่างๆนานา กล่าวคือ มีชนิดออกฤทธิ์ขอบข่ายกว้างและขอบข่ายแคบ ชนิดออกฤทธิ์เฉพาะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (Bacteriostatic effect) เช่น Chloramphenicol, Tetracycline และฆ่าทำลายแบคทีเรีย (Bactericidal effect) เช่น Penicillin, Colistin, Streptomycin

กระบวนการที่จุลินทรีย์ถูกยับยั้งหรือทำลายได้ เนื่องจากปัจจัยต่างๆนั้นมีสาเหตุมาจากการทำลายที่ส่วนต่างๆของเซลล์ของจุลินทรีย์

สารต้านจุลชีพมีการแบ่งได้หลายแบบที่สำคัญคือการแบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์ ซึ่งแบ่งได้เป็น

2.8.2.1 ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ แบคทีเรียมีผนังเซลล์เป็นส่วนนอกสุดของเซลล์เป็นชั้นที่แข็งแรงคงทนเพื่อทำหน้าที่ป้องกันสิ่งที่อยู่ภายในเซลล์ ยาที่มีกลไกยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ส่วนใหญ่เป็นพวกที่ยับยั้งการสังเคราะห์ Peptidoglycan ของแบคทีเรีย ยาในกลุ่มนี้ เช่น

1. Beta-lactam antibiotics สารต้านจุลชีพกลุ่ม Beta-lactams มีการใช้กันมากในโรงพยาบาล ซึ่งมีการพัฒนาอย่างหลากหลาย คือ

1.1 Penicillin จัดเป็นสารที่มี Beta-lactamsm ring เป็นโครงสร้างพื้นฐาน ออกฤทธิ์โดยห้ามการสร้างผนังเซลล์ โดยจับกับ Penicillin-binding-protein ชนิด 1-3 ทำให้ไม่เกิด Transpeptidation จึงไม่มีการสร้าง Peptidoglycan ทำให้มี autolysis ทำให้เซลล์แตก แบ่งได้เป็นกลุ่มต่างๆคือ

1.1.1 Natural penicillins ได้แก่ Penicillin G, Penicillin V ซึ่งยากลุ่มนี้ไม่ทนต่อ Penicillinase แต่จะมีประสิทธิภาพสูงต่อเชื้อแกรมบวกและ Spirochete

1.1.2 Penicillinase resistant penicillin เช่น Methicillin, Oxacillin ใช้ในแบคทีเรียแกรมบวกที่สร้าง Penicillinase

1.1.3 Aminopenicillin ไม่ทนต่อ Penicillinase ได้แก่ Ampicillin และ Amoxicillin ยากลุ่มนี้มีฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบบางชนิด

1.1.4 Extended spectrum penicillins ใช้ได้ผลกับ gram negative โดยรวมถึง *Pseudomonas aeruginosa* เช่น Piperacillin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 Cepalosporins เป็นยาในกลุ่ม Beta-lactam ที่ออกฤทธิ์ไปยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ชนิด PBP1-3 ยากลุ่มนี้ทนต่อเอ็นไซม์ Penicillinase ใช้ได้ดีในแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ยาในกลุ่มนี้แบ่งออกเป็น 4 Generations ตามความกว้างในการออกฤทธิ์กับแกรมบวกและแกรมลบและความทนต่อเอนไซม์ Beta-lactamases

1.2.1 Frist generation cephalosporins ตัวอย่างเช่น Cephalothin, Cefazolin สามารถใช้ได้กับแบคทีเรียแกรมบวกทรงกลมและแกรมลบบางชนิด เช่น *Klebsiella* spp., *E. coli* และ *P. mirabilis* แต่ไม่ทนต่อเอนไซม์ Cephalosporinase

1.2.2 Second generation cephalosporins ดังเช่น Cefuroxime ซึ่งจะมีประสิทธิภาพดีกว่า Frist generation cephalosporins คือ ทนต่อเอนไซม์ Cephalosporinase ทำให้มีการออกฤทธิ์กับเชื้อแกรมลบเพิ่มขึ้น ส่วน Cefoxitinซึ่งเป็นยาในรุ่น 2 ซึ่งทนต่อ Extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) เพราะเป็นยากลุ่ม Cephamycins

1.2.3 Third generation cephalosporins เช่น Cefpodoxime, Ceftriazone มีประสิทธิภาพดีใช้ได้กับแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก

1.2.4 Fourth generation cephalosporins เช่น Cefepime มีฤทธิ์ครอบคลุมแบคทีเรียแกรมลบกว้างกว่าและทนต่อเอนไซม์ Cephalosporinase ได้ดี

1.3 Monobactams เช่น Azteronam เป็นยาในกลุ่ม Beta-lactams ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแกรมลบทรงแท่งที่ PBP3 ทำให้เซลล์ยืดยาวและตายในที่สุด โดยยากลุ่มนี้ทนต่อการทำลายด้วย Beta-lactamasesการดื้อยา Aztreonam อาจพบในเชื้อ *Klebsiella oxytoca* ที่สามารถสร้าง K1 beta-lactamases ไปทำลายยาได้

1.4 Carbapenems เช่น Imipenem และ Meropenem เป็นสารที่มี Beta lactam ring ที่ออกฤทธิ์กว้างโดยยานี้สามารถซึมผ่านผนังเซลล์ส่วนนอกของแบคทีเรียแกรมลบได้ดีและทนต่อเอ็นไซม์ Beta-lactamases รวมทั้ง ESBLs

นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาสารยับยั้งเอ็นไซม์ Beta-lactamases ที่เรียกว่า Beta-lactamases inhibitor เช่น clavulanic acid, sulbactam ซึ่งมีคุณสมบัติคือเป็นสารที่ทนต่อฤทธิ์ของเอนไซม์ Beta-lactamases โดยจะใช้ร่วมกับยาในกลุ่ม Beta lactams เนื่องจากสารนี้มีโครงสร้างคล้ายยาในกลุ่ม Beta-lactams สารนี้จึงไปจับกับเอ็นไซม์ Beta-lactamases ทำให้ยา Beta-lactams ออกฤทธิ์ได้

2. Glycopeptide เป็นสารพวก Complex glycopeptide ที่มีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้น โดยจะไปรวมจับกับ Acyl-D-alanyl-D-alanine อย่างถาวร ทำให้ไม่สามารถสร้างผนังเซลล์ขึ้นใหม่ เช่น Vancomycin, Teicoplanin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.2.2 รบกวนการทำหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์

หน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ทั่วไป คือเป็น Osmotic barrier คือช่วยป้องกันไม่ให้สารต่างๆเข้าหรือออกจากเซลล์ง่ายเกินไป นอกจากนี้มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับระบบขนส่งเพื่อเลือกการนำส่งสารเข้าหรือออกจากเซลล์ ยาที่รบกวนการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ คือยากลุ่ม Tryrocidins (เช่น Tryrocidin A), กลุ่ม Gramicidins (เช่น Gramicindins), กลุ่ม Polymyxin (เช่น Polymyxin) Polymyxins เป็นสารพวก Decapeptides ยาไปจับตรงส่วนนอกของเมมเบรนและปลายอีกข้างจะแทรกเข้าไปในชั้นเมมเบรนทำให้สารต่างๆรั่วออกจากเซลล์จึงฆ่าเชื้อได้

2.8.2.3 ยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิค

1. Quinolones หรือ Fluroquinolones ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ DNA gyrase และ Topoisomerase II ทำให้ไม่เกิด DNA replication แบคทีเรียจึงตาย เช่น Ciprofloxacin

2. Rifampin สามารถจับ subunit ของ RNA polymerase จึงฆ่าเชื้อได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เช่น Rifampicin

2.8.2.4 ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน

1. Chloramphenicol เป็นยาที่มีผลต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ โดยจะไปจับที่ L-16 บน 50s ribosome ทำให้ไม่มีการสร้าง Peptide bond จึงยับยั้งการเจริญของเชื้อ

2. Tetracycline โดยจับที่ S4 และ S8 ของ 30s Subunit ของไรโบโซมทำให้ไม่มีการสร้างโปรตีนจึงยับยั้งการเจริญของเชื้อ

3. Aminoglycosides เช่น Gentamicin และ Amikacin ออกฤทธิ์ ที่ 30s บนไรโบโซม ทำให้ไม่สังเคราะห์โปรตีน แบคทีเรียจึงถูกฆ่าโดยขณะนี้ Amikacin เป็นยาที่ออกฤทธิ์กว้างสุดในยากลุ่มนี้

4. Macrolides เช่น Erythromycin มีโครงสร้างเป็นวงขนาดใหญ่ที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อโดยไปจับกับ L-15 ของ 23s RNA บน 50s Subunit ของไรโบโซมทำให้ไม่มีการสร้างโปรตีนแต่เป็นการยับยั้งไม่ถาวร

5. Lincosamindes เช่น Lincomycin และ Clindamycin ไปจับที่ 50s ribosome ทำให้ไม่มีการสร้าง Peptide bond จึงยับยั้งการเจริญของเชื้อ

6. Fusidic acid ไปยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบบางตัวโดยยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน

2.8.2.5 รบกวนเมตาบอลิซึม

ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์แบบนี้ส่วนใหญ่ มีลักษณะโครงสร้างคล้ายสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิสม จึงแย่งจับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องได้ และการยับยั้งของยาลักษณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นี้พบว่าสามารถฟื้นกลับสู่สภาพเดิมเมื่อปริมาณยาลดลงหรือยาหมดฤทธิ์หรือมี Substrate ที่เอนไซม์ไปแย่งกันจับมากกว่าปกติ

1. Sulfonamides โดยยาแย่งจับ Dihydrofolic acid synthetase ทำให้แบคทีเรียไม่มี Folic acid ที่ต้องนำไปใช้สร้าง DNA

2. Trimethoprim (TMP) เป็นตัวที่สามารถยับยั้ง Dihydrofolic acid synthetase เช่นเดียวกับ sulfonamide และสามารถยับยั้งการเปลี่ยน Dihydrofolic acid เป็น Tetrahydrofolic acid ซึ่ง Sulfamethoxazole/Trimethoprim เมื่อใช้ร่วมกันจะสามารถฆ่าแบคทีเรียได้

3. Para-aminosalicylic acid (PAS) ใช้รักษาวัณโรค

4. Dapsone ใช้รักษาโรคเรื้อน

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Vennila และ Brindha (2014) ได้ทำการศึกษาสารสกัดจากผลยอโดยใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 เป็นตัวทำละลายและนำมาทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี disc diffusion ซึ่งจากการทดลองพบว่าสารสกัดจากผลยอสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ โดยใช้เชื้อทดสอบ ได้แก่ *Bacillus subtilis* , *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Klebsiella pneumoniaee* โดยพบว่าสารสกัดจากผลยอที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Klebsiella pneumoniaee* ได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรียตัวอื่นๆ โดยเกิดบริเวณยับยั้ง 12 มิลลิเมตร รองมาเป็นเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas aeruginosa* เกิดบริเวณยับยั้งการเจริญ 11 มิลลิเมตร ต่อมาเป็นเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Escherichia coli* ที่เกิดบริเวณยับยั้งการเจริญ 10 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นเชื้อที่มีบริเวณยับยั้งการเจริญน้อยที่สุด ใช้ยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin เป็นยามาตรฐาน ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้สูงสุดที่ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยความเข้มข้นของสารสกัดจากผลยอต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Klebsiella pneumoniaee*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* ได้อยู่ที่ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Escherichia coli* อยู่ที่ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ทัศนีย์และคณะ (2548) ได้ทำการทดลองเพื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากผลยอตามสรรพคุณในการใช้สมุนไพรยอ สารจากผลยอถูกสกัดด้วยเมทานอลและละลายในไดเมทิลซัลฟอกไซด์และน้ำกลั่น นำสารสกัดมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียรวม 41 สายพันธุ์ แบ่งเป็นชนิดรูปกลมติดสีแกรมบวก 9 สายพันธุ์และรูปแท่งทั้งชนิดติดสีแกรมบวก 4 สายพันธุ์ และแกรมลบ 28 สายพันธุ์ มีทั้งชนิดที่ก่อโรคและเชื้อประจำถิ่นโดยเฉพาะอย่างยิ่งในระบบทางเดินอาหาร ด้วยวิธี disc diffusion และ broth dilutionโดยการควบคุมคุณภาพตามเกณฑ์มาตรฐานของ NCCLS ผลการศึกษาพบว่าในการทดสอบด้วย disc diffusion สารสกัดยอที่ความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัม มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และเชื้อแบคทีเรียรูปแท่งแกรมลบที่เป็นเชื้อก่อโรคในทางเดินอาหารหลายชนิด เช่น *Aeromonas hydrophila, Escherichia coli, Shigella boydii, Shigella dysenteriae* และ *Shigella sonnei* รวมถึงฤทธิ์ต้านเชื้อประจำถิ่นในทางเดินอาหารเป็นส่วนใหญ่ เช่น *Citrobacter freundii, Enterobacter agglomerans* และ *Escherichia coli* ด้วยขอบเขตการยับยั้งประมาณ 7-13 มิลลิเมตร ซึ่งจัดว่าต่ำมากเมื่อเปรียบเทียบกันกับยาต้านเชื้อแบคทีเรีย เช่น amikacin,ampicillin, cephalothin และ chloramphenicol ขนาดยา 5-30 ไมโคกรัมต่อแผ่น ซึ่งให้ขอบเขตการยับยั้งการเจริญของเชื้อประมาณ 18-35 มิลลิเมตร และไม่พบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียในการทดสอบด้วยวิธี broth dilution โดยขนาดความเข้มข้นของสารสกัดยอที่ใช้สูงสุดเป็น 255 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารสกัดจากยอมีศักยภาพในการใช้เป็นยาต้านเชื้อแบคทีเรียต่ำ และการบริโภคสารสกัดผลยอไม่น่าจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อประจำถิ่นในทางเดินอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์จากห้องปฏิบัติการชีววิทยา สาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228, *Bacillus cereus* TISTR 687, *Salmonella typhimurium* TISTR 292, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 และ *Escherichia coli* TISTR 780

3.2 พืชที่ใช้ในการทดสอบ

ใบ ผลเกือบสุก และกิ่งอ่อนของต้นยอจากสวนผักและสมุนไพร ตำบลประสาทสิทธิ์ อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี เก็บในเดือน สิงหาคม พุทธศักราช 2559

3.3 สารเคมีและอุปกรณ์

3.3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1.1 เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 (Ethanol 95%)

3.3.1.2 เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.5 (Ethanol 99.5%)

3.3.1.3 เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 (Ethanol 70%)

3.3.1.4 เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 (Methanol 70%)

3.3.1.5 กรดแกลลิก (Gallic acid)

3.3.1.6 Folin-ciocalteu reagent

3.3.1.6 โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)

3.3.1.8 โซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$)

3.3.1.9 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

3.3.1.10 เคอร์ซีทิน (Quercetin)

3.3.1.11 กรดแทนนิค (Tannic acid)

3.3.1.12 อะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$)

3.3.1.13 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

3.3.1.14 α–Tocopheral (Vitamin E)

3.3.1.15 ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.1.16 ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน

3.3.1.17 อาหารเลี้ยงเชื้อ NA

3.3.1.18 Muller Hinton Agar

3.3.1.19 McFarland No. 0.5

3.3.1.20 KCl buffer pH 1.0

3.3.1.21 CH_3COONa buffer pH 4.5

3.3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.3.2.1 เครื่องปั่น (Blender) Retsch รุ่น sk100

3.3.2.2 เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) Heidolph รุ่น hel-VAP

3.3.2.3 เครื่องแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส Panasonic รุ่น SP-PC697

3.3.2.4 ตู้ปลอดเชื้อชนิดเป่าลม (Laminar air flow hood) Tel star Bio ii Advance class II carbinet certified according EN-12469-2000

3.3.2.5 เครื่องผสม (Vortex mixer) VORTEX-2 GENIE รุ่น No. G560E U.S.

3.3.2.6 เครื่องไมโครไตเตอร์เพลท รีดเดอร์ Labsystem รุ่น iEMS Reader MF

3.3.2.7 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectophotometer) UNICO รุ่น UV-2800A

3.3.2.8 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ TOMY รุ่น hihgt pressure STREAM STERILIZET ES-315

3.3.2.9 ตู้บ่มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส (Incubator) BINDER รุ่น DO6061

3.3.2.10 ตู้อบลมร้อน 180 องศาเซลเซียส (Hot air oven) Memmert

3.3.2.11 เครื่องชั่งทศนิยมสองตำแหน่ง PG5002

3.3.2.12 เครื่องชั่งทศนิยมสี่ตำแหน่ง Sartorius รุ่น TE2145

3.3.2.13 กล้องจุลทรรศน์แบบประกอบ (Compound microscope)

3.3.2.14 ชุดกรองสุญญากาศ

3.3.2.15 ผ้าขาวบาง

3.3.2.16 ช้อนตักสาร

3.3.2.17 Pipetteboy

3.3.2.18 กระดาษกรอง Whatman No. 1

3.3.2.19 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ

3.3.2.20 ลูกยาง

3.3.2.21 Cock-borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิลิตร

3.3.2.22 ขวด Duran ขนาด 1,000 มิลลิลิตร

3.3.2.23 ขวดสีชาที่ใช้ใส่สารที่สกัดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2.24 แท่งแก้ว

3.3.2.25 โหลพลาสติก

3.3.2.26 หลอดทดลองขนาดต่างๆ

3.3.2.27 ปิเปตแก้วขนาดต่างๆ

3.3.2.28 ทิปขนาดต่างๆ

3.3.2.29 ไมโครปิเปตขนาดต่างๆ Eppendorf รุ่น RAININ Pipet-Lite XLS

3.3.2.30 พาราฟิล์ม

3.3.2.31 หลอดปั่นแยกสาร (Microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

3.3.2.32 ขวดแก้วใส่สาร (Vial)

3.3.2.33 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol burner)

3.3.2.34 ไมโครเพลทชนิด 96 หลุม (96 well-plate)

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมสารสกัดจากต้นยอด้วยตัวทำละลายเอทานอลและการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

3.4.1.1 การเตรียมสารสกัดจากต้นยอด้วยตัวทำละลายเอทานอล

นำส่วนต่างๆของต้นยอ ได้แก่ ใบ ผล และกิ่ง มาล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ และนำไปอบให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำแต่ละส่วนไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นอาหารหรือเครื่องบดไม้ จากนั้นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำมาทดลอง แล้วนำส่วนต่างๆ มาสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยอัตราส่วนของผงตัวอย่างที่บดละเอียด 200 กรัมต่อปริมาณเอทานอล 1,800 มิลลิลิตร ในภาชนะปิดสนิทและหมักไว้ในที่มืดเป็นเวลา 7 วัน และทำการหมักต่อจนกระทั่งสีของตัวอย่างจาง จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 แล้วนำสารละลายของสารสกัดที่กรองได้ไประเหยเอาเอทานอลออกโดยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความดัน 90 ปอนด์ต่อตารางนิ้วและความเร็วรอบ 114 รอบต่อนาที จนได้สารสกัดที่เข้มข้นหรือสารสกัดหยาบ (Crude extract) ของใบ ผล และกิ่งของต้นยอ เก็บไว้ในขวดสีชาและวางทิ้งไว้จนกระทั่งเอทานอลระเหยไปจนหมด แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.4.1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบ

ทำการถ่ายเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Bacillus cereus* TISTR 687, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228, *Salmonella typhimurium* TISTR 292, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 และ *Escherichia coli* TISTR 780 ลงในหลอดอาหาร NA และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่น แล้วจึงนำไปทำให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer) ปรับความขุ่นของเซลล์โดยการเติมน้ำกลั่นให้เท่ากันทุกหลอดด้วย McFarland Standard เบอร์ 0.5 ซึ่งมีความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร

3.4.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากต้นยอ

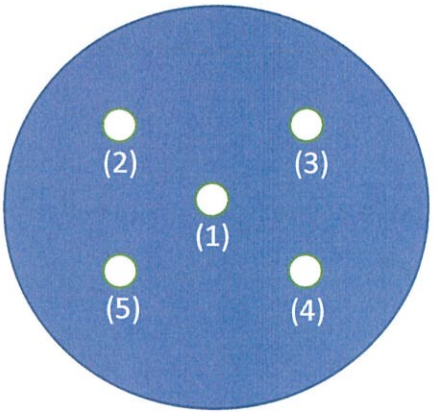
3.4.2.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหาร (Agar Well Diffusion)

ทำการทดสอบด้วยวิธีของ Rauha และคณะ (2000) ดังนี้ ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นโดยถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ซึ่งมีความเข้มข้นเซลล์ประมาณ 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร โดยปิเปตสารแขวนลอยของจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์มาปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Agar (MHA) จากนั้นเกลี่ยด้วยไม้พันสำลีปราศจากเชื้อให้ทั่วผิวหน้า รอให้ผิวหน้าอาหารแห้งแล้วเจาะหลุมด้วยที่เจาะ (cork-borer) เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จำนวน 5 หลุมต่อเพลท โดยให้มีระยะห่างเท่ากัน เตรียมสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของต้นยอความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และใช้ไมโครปิเปตทำการปิเปตสารสกัดปริมาตร 20 ไมโครลิตรลงในหลุม ส่วนละ 1 หลุมต่อเพลทของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ ปิเปตยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (gentamycin) ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน (cyprofloxacin) ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในหลุมปริมาตร 20 ไมโครลิตร 1 หลุมต่อเพลทของเชื้อแต่ละสายพันธุ์เพื่อใช้เป็นการควบคุมเชิงบวก positive control (+) และปิเปตสารละลายเอทานอลร้อยละ 95 ลงในหลุมปริมาตร 20 ไมโครลิตร 1 หลุมต่อเพลทของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ เพื่อใช้เป็นการควบคุมเชิงลบ negative control (-) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงโดยจะทำการทดสอบสารสกัดกับเชื้อจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์ทั้งหมด 3 ซ้ำ ตรวจผลกิจกรรมการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (Inhibition zone) ในหน่อยมิลลิเมตร ด้วยเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์

3.4.2.2 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากยอที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลนทรีย์ (minimal inhibitory concentration, MIC)

เมื่อได้เชื้อที่ผ่านการทดสอบเบื้องต้นแล้วว่ามีความไวต่อสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นยอที่ทดสอบ จึงนำไปทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อย่างละเอียด คือ หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยขั้นตอนจะคล้ายกับการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นด้วยวิธีการเจือจางให้ความเข้มข้นลดลงสองเท่า (two-fold serial dilution) โดยเตรียมสารสกัดหยาบความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลิลิตร สำหรับใช้ในการทดสอบ ถ้าหากผลการทดสอบเกิดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้งจึงทำการทดสอบโดยลดความเข้มข้นเป็น 12.5 6.25 3.125 1.5612 0.7813 และ 0.3906 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ค่า MIC มีค่าเท่ากับความเข้มข้นของสารสกัดน้อยที่สุดที่ทำให้เกิดโซนยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหาร (Agar well diffusion)

หมายเหตุ (1) : ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน หรือยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน
(2) : สารสกัดหยาบจากยอที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
(3) : สารสกัดหยาบจากยอที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
(4) : สารสกัดหยาบจากยอที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
(5) : เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

3.4.3 การศึกษาความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดจากต้นยอ

3.4.3.1 การศึกษาความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity)

หาความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระของต้นยอโดยใช้ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ตามวิธีการของ Brand-Williams และคณะ (1995) โดยนำสารสกัดมาละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ร้อยละ 99.5 แล้วปรับความเข้มข้นของสารสกัดส่วนต่างๆของต้นยอโดยเจือจางให้ได้ความเข้มข้นดังนี้ 10, 5, 2.5, 1.25 และ 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารสกัดแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 10 ไมโครลิตร และเติม DPPH ปริมาตร 190 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (96-well microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 517 ไมโครเมตร โดยแบลงก์ที่ใช้คือ เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.5 แทนสารสกัด สารมาตรฐานที่ใช้ในการทดลองคือ α–Tocopheral (Vitamin E) ความเข้มข้น 500 ไมโครโมลาร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณค่าร้อยละความารถการดักจับอนุมูลอิสระโดยสมการดังนี้

$$\% \text{ scavenging} = [(A \text{ control} - A \text{ sample}) / A \text{ control}] \times 100$$

A control = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

A sample = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (EC_{50}) จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (% scavenging) กับความเข้มข้นของสารสกัด

3.4.4 การศึกษาปริมาณสารพฤกษเคมีของสารสกัดจากต้นยอ

3.4.4.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

วิเคราะห์โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu โดยทำการทดลองตามวิธีของ Singleton และคณะ (1999) สร้างกราฟมาตรฐานจากสารละลายกรดแกลลิกโดยใช้ไมโครเพลทขนาด 96 หลุม ปิเปตสารละลายกรดแกลลิก (Gallic acid) ที่มีความเข้มข้นได้แก่ 1 0.1 0.01 0.001 และ 0.0001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยปิเปตสารละลายกรดแกลลิกปริมาตร 20 ไมโครลิตร เติมลงในหลุมที่มีโฟลิน-ซีโอเคาทู (Folin-Ciocalteu reagent) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารละลายเข้ากันและทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที และนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (96-well microplate reader) บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้และวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดส่วนต่างๆของต้นยอ โดยเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และทำการทดลองเช่นเดียวกับสารละลายกรดแกลลิก โดยทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ แบลงก์ที่ใช้คือ เอทานอล 20 ไมโครลิตร ผสมกับโฟลิน-ซีโอเคาทู 100 ไมโครลิตร และโซเดียมคาร์บอเนต 80 ไมโครลิตร คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานระหว่างกรดแกลลิกความเข้มข้นในระดับต่างๆเป็นแกน X และค่าการดูดกลืนแสงเป็นแกน Y จากนั้นหาสมการเส้นตรงและคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง (mg GAE/100 g dry weight)

3.4.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากต้นยอ

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากต้นยอจะวิเคราะห์ตามวิธีของ Kathirvel และ Sujatha (2012) โดยปิเปตสารสกัดจากยอแต่ละส่วนที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตรและสารละลายโซเดียมไนไตรต์ ($NaNO_2$, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตรลงไป ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตรและน้ำกลั่นปริมาตร 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของเคอร์ซีทินจากนั้นรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของเคอร์ซีทินต่อกรัมของสารสกัด (mg quercetin equivalents (QE)/g extract)

ในการทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของเคอร์ซีทิน(Sigma – Aldrich, Switzerland) ที่ระดับความเข้มข้น 10 ถึง 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (1,000 750 500 250 100 50 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตรฐานเคอร์ซีทินที่ความเข้มข้นต่างๆ แทนสารสกัดจากยอ ส่วนแบลงก์ (blank) ใช้เมทานอลความเข้มข้น ร้อยละ 30 แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีทินที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเคอร์ซีทินกับค่าการดูดกลืนเคอร์ซีทินจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่มีในตัวอย่างที่วิเคราะห์

3.4.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากต้นยอ

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากยอจะวิเคราะห์ตามวิธี Folin – Denis (Kathirvel และ Sujatha, 2012) ทำได้โดยปิเปตสารสกัดจากยอแต่ละส่วนความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 7.5 มิลลิลิตรจากนั้นเติมสารละลายโฟลิน – เดนิช (Folin – Denis reagent,Fluka,Switzerland) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรพร้อมทั้งผสมให้เข้ากัน จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายให้ได้ 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น แล้วผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นั้นมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบแทนนินจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานกรดแทนนิก รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด (mg of tannic acid equivalent (TAE)/g of extract)

ในการทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิก (Sigma – Aldrich,China) ความเข้มข้น 1,000 750 500 250 100 50 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบแทนนินด้วยวิธีการเช่นเดียวกับวิธีการข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก ที่ความเข้มข้นต่างๆ แทนสารสกัดจากต้นยอ ส่วนแบลงก์ (blank) เป็นเมทานอลความเข้มข้น ร้อยละ 30 แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรของสารละลายมาตรฐาน กรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำค่าการดูดกลืน

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือจำหน่าย ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

แสงที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแทนนิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแทนนิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดที่มีในตัวอย่างที่วิเคราะห์

3.4.4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากต้นยอ

การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากต้นยอใช้วิธี pH differential ดัดแปลงจากวิธีของ Wrolstad (1976) โดยนำสารละลายของต้นยอ (สารสกัด 40 มิลลิกรัม ละลายน้ำ 1000 ไมโครลิตร) ปริมาตร 30 ไมโครลิตร มาเจือจางด้วย

- สารละลาย KCl buffer pH 1.0 ปริมาตร 270 ไมโครลิตร
- สารละลาย CH_3COONa pH 4.5 ปริมาตร 270 ไมโครลิตร

ผสมด้วยเครื่อง Vortex® ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นไปวัดแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (96-well microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร และ 700 นาโนเมตร แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตรของสารละลาย

วิธีการคำนวณ

$$\text{Absorbance} = (A_{510}-A_{700})_{pH\ 1.0} - (A_{510}-A_{700})_{pH4.5}$$

$$\text{ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมด} = A \times Mw \times DF \times 10^3$$

หมายเหตุ A คือค่าการดูดกลืนแสง

Mw คือมวลโมเลกุลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ (cyanidin-3-glucoside) = 449.2 กรัมต่อโมล

DF คือค่า dilution factor

ε คือ molar extinction coefficient = 26900 ลิตรต่อโมลต่อเซนติเมตร

1 คือความกว้างของคิวเวตต์ = 1 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปราย

4.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากต้นยอ

สารสกัดหยาบที่ใช้ในการทดลองได้จากการนำส่วนต่างๆของต้นยอ ได้แก่ ใบ ผล และกิ่ง อบให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนและอบให้เป็นผงละเอียด แล้วจึงนำมาสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำน้ำหมักที่ได้จากการกรองไประเหยแยกตัวทำละลายเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นยอ

ตารางที่ 4.1 ลักษณะและปริมาณของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นยอ

สารสกัดหยาบของต้นยอ	ลักษณะของสารสกัดหยาบ	น้ำหนักสารสกัด (กรัมต่อน้ำหนักแห้ง 200 กรัม)	ร้อยละผลได้
ใบ	สีเขียวเข้มหนืด	40.22	20.11
ผล	สีน้ำตาลข้นหนืด มีน้ำมันเล็กน้อย	30.60	15.30
กิ่ง	สีน้ำตาลข้นหนืด	10.00	5.00

4.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากต้นยอ

จากการทดลองศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นยอ 3 ส่วน ได้แก่ ใบ ผล และกิ่ง ซึ่งจะทำการทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion และทำการวัดบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อบริเวณรอบๆหลุมที่มีการหยอดสารทดสอบลงไป โดยใช้สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นยอที่ความเข้มข้น 200 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 6 สายพันธุ์ซึ่งแบ่งเป็น 2 กลุ่ม โดยแบคทีเรียกลุ่มแรกคือแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 และ *Bacillus cereus* TISTR 687 ส่วนกลุ่มที่สองคือแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Salmonella typhimurium* TISTR 292, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 และ *Escherichia coli* TISTR 780 โดยการทดสอบจะนำมาเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) คือยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (Gentamicin) ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน (Cyprofloxacin) ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) คือ เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ซึ่งเป็นตัวทำละลายในการสกัดสารจากส่วนต่างๆของต้นยอ และเมื่อได้เชื้อที่ผ่านการทดสอบเบื้องต้นแล้วว่ามีความไวต่อสาร

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นยอ จึงนำไปทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อย่างละเอียด คือ หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการเจือจางให้ความเข้มข้นลดลงสองเท่า (two-fold serial dilution) โดยเตรียมสารสกัดหยาบความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับใช้ในการทดสอบ ถ้าหากผลการทดสอบเกิดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งจึงทำการทดสอบโดยลดความเข้มข้นเป็น 12.5 6.25 3.125 1.5612 0.7813 และ 0.3906 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ค่า MIC มีค่าเท่ากับความเข้มข้นของสารสกัดน้อยที่สุดที่ทำให้เกิดบริเวณยับยั้ง โดยจากการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ แสดงผลการทดสอบได้ดังนี้

4.2.1 *Staphylococcus aureus* TISTR 1466

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* TISTR 1466

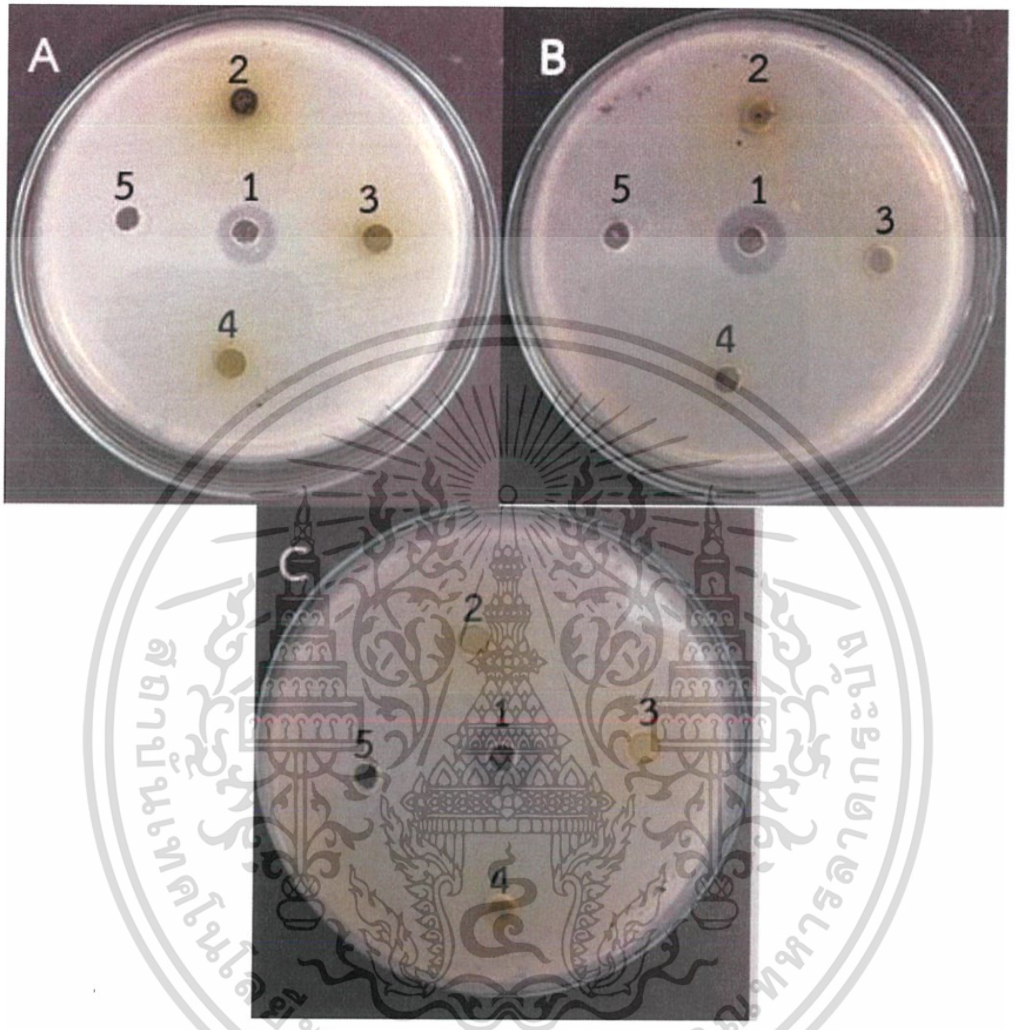
ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)		
	ใบ	ผล	กิ่ง
200	$6.00^{b}\pm0.00$	$7.50^{b}\pm0.00$	$6.00^{b}\pm0.00$
100	$6.00^{b}\pm0.00$	$7.50^{b}\pm0.00$	$6.00^{b}\pm0.00$
50	$6.00^{b}\pm0.00$	$6.00^{c}\pm0.00$	$6.00^{b}\pm0.00$
Gentamicin 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$15.00^{a}\pm0.00$	$15.00^{a}\pm0.00$	$15.00^{a}\pm0.00$
Ethanol	$6.00^{b}\pm0.00$	$6.00^{c}\pm0.00$	$6.00^{b}\pm0.00$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p\leq0.05$)

จากตารางที่ 4.2 พบว่า สารสกัดหยาบจากใบและกิ่งในทุกๆความเข้มข้นที่ทำการทดสอบไม่สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ (ดังรูปที่ 4.1) แต่สารสกัดหยาบจากผลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 200 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเท่ากับ 7.50 และ 7.50 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ 200 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) แต่เมื่อเทียบตัวควบคุมเชิงบวกคือยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

200 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยจากผลการทดลองพบว่าความความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผลของต้นยอต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้อยู่ที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 4.1 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* TISTR 1466 ของสารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอ

หมายเหตุ A : สารสกัดหยาบจากใบ

B : สารสกัดหยาบจากผล

C : สารสกัดหยาบจากกิ่ง

หมายเลข 1 : ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 2 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 3 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 4 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 5 : เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* ATCC 1228

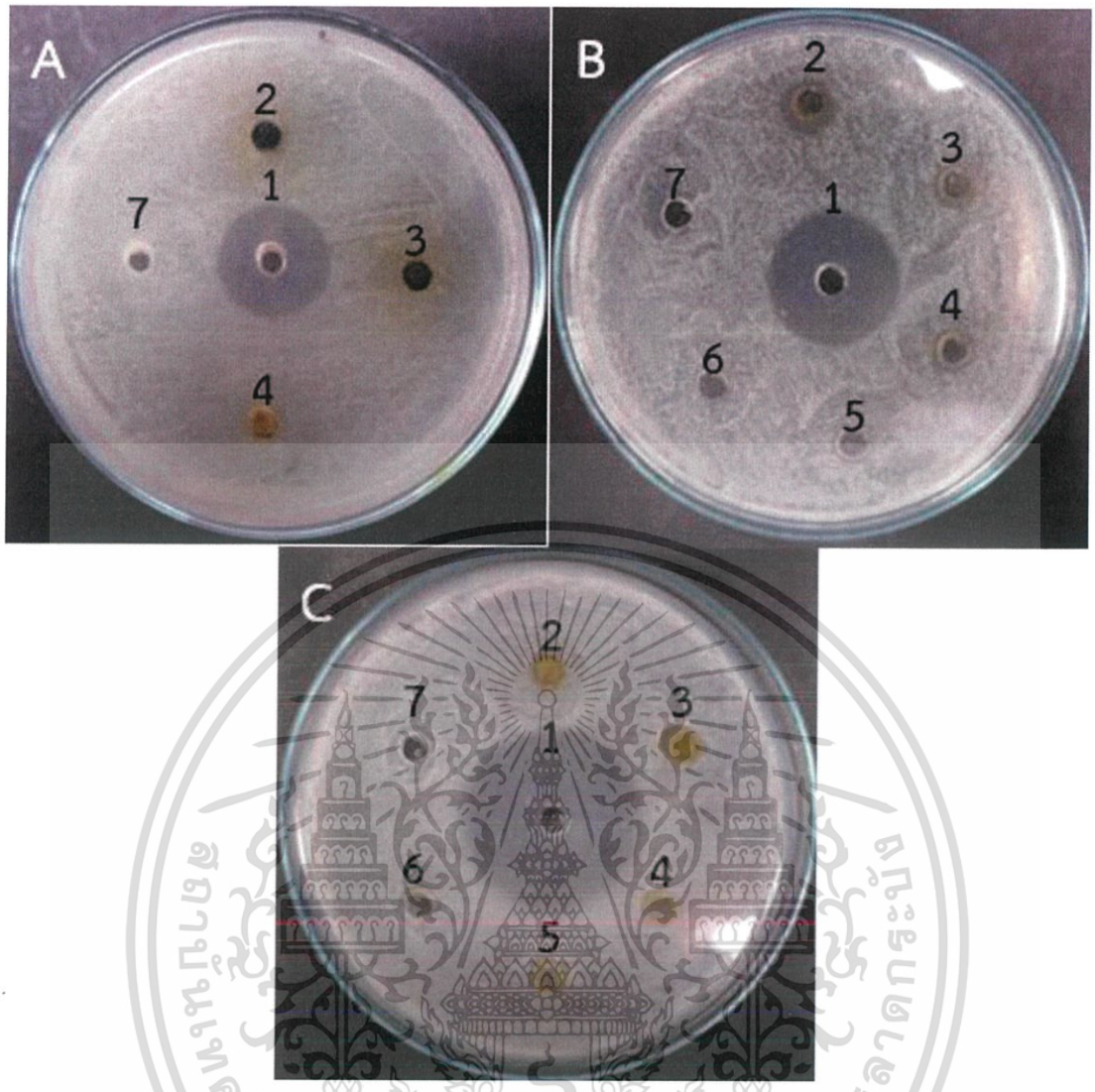
ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)		
	ใบ	ผล	กิ่ง
200	$6.00^{b}\pm0.00$	$11.50^{b}\pm0.50$	$8.17^{b}\pm0.14$
100	$6.00^{b}\pm0.00$	$8.33^{c}\pm0.58$	$8.00^{b}\pm0.00$
50	$6.00^{b}\pm0.00$	$7.58^{d}\pm0.14$	$7.25^{c}\pm0.25$
25	-	$7.00^{e}\pm0.00$	$7.00^{c}\pm0.00$
12.5	-	$6.00^{f}\pm0.00$	$6.17^{d}\pm0.29$
Ciprofloxacin 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$30.00^{a}\pm0.00$	$30.00^{a}\pm0.00$	$30.00^{a}\pm0.00$
Ethanol	$6.00^{b}\pm0.00$	$6.00^{f}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p\leq0.05$)

- ไม่ได้ทำการทดสอบ

จากตารางที่ 4.3 พบว่า สารสกัดหยาบจากใบในทุกๆความเข้มข้นที่ทำการทดสอบไม่สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* ได้ (ดังรูปที่ 4.2) ส่วนสารสกัดหยาบจากผลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 200 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเท่ากับ 11.50 8.33 และ 7.58 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นจึงทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผลลงทีละครึ่งเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* ได้ โดยลดความเข้มข้นลงมาที่ 25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดหยาบต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเท่ากับ 7.00 มิลลิเมตร และสารสกัดหยาบจากผลที่ความเข้มข้น 200 100 50 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) และเมื่อเทียบตัวควบคุมเชิงบวกคือยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซินที่ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับสารสกัดหยาบทุกๆความเข้มข้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. epidermidis* ATCC 1228 ของสารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอ

หมายเหตุ A : สารสกัดหยาบจากใบ C : สารสกัดหยาบจากกิ่ง
B : สารสกัดหยาบจากผล

หมายเลข 1 : ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซินความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
หมายเลข 2 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
หมายเลข 3 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
หมายเลข 4 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
หมายเลข 5 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
หมายเลข 6 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
หมายเลข 7 : เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนสารสกัดหยาบจากกิ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* ได้ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 200 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเท่ากับ 8.17 8.00 และ 7.25 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นจึงทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากกิ่งลงทีละครึ่งเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ โดยลดความเข้มข้นลงมาที่ 25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเท่ากับ 7.00 และ 6.17 มิลลิเมตร โดยความเข้มข้นของสารสกัดหยาบต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้คือ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการทดลองที่ได้พบว่าสารสกัดหยาบทุกความเข้มข้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นสารสกัดหยาบจากกิ่งที่ความเข้มข้น 200 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากกิ่งที่ความเข้มข้น 50 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบจากกิ่งที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรกับตัวควบคุมเชิงลบคือเอทานอลร้อยละ 95 แต่เมื่อเทียบตัวควบคุมเชิงบวกคือยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซินที่ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับสารสกัดหยาบจากกิ่งทุกๆ ความเข้มข้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.2.3 *Bacillus cereus* TISTR 687

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* TISTR 687

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)		
	ใบ	ผล	กิ่ง
200	$6.00^{b} \pm 0.00$	$15.50^{b} \pm 0.50$	$9.75^{b} \pm 0.25$
100	$6.00^{b} \pm 0.00$	$11.50^{c} \pm 0.50$	$7.92^{c} \pm 0.38$
50	$6.00^{b} \pm 0.00$	$8.08^{d} \pm 0.14$	$7.17^{d} \pm 0.14$
25	-	$7.17^{e} \pm 0.29$	$6.83^{d} \pm 0.29$
12.5	-	$6.00^{f} \pm 0.00$	$6.00^{e} \pm 0.00$
Gentamicin 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$30.00^{a} \pm 0.00$	$30.00^{a} \pm 0.00$	$30.00^{a} \pm 0.00$
Ethanol	$6.00^{b} \pm 0.00$	$6.00^{f} \pm 0.00$	$6.00^{e} \pm 0.00$

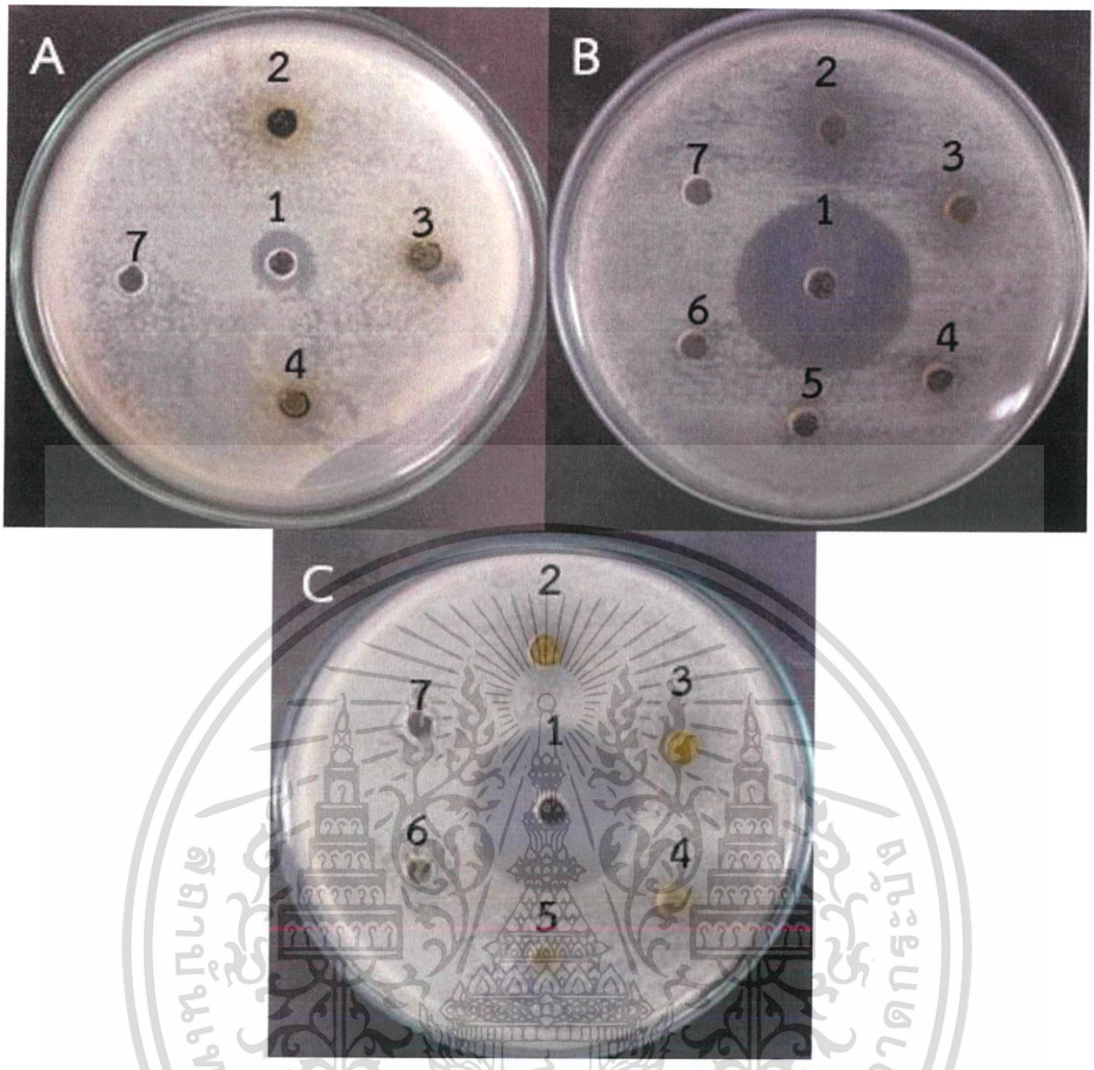
หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

- ไม่ได้ทำการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.4 พบว่า สารสกัดหยาบจากใบในทุกๆความเข้มข้นที่ทำการทดสอบไม่สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ได้ (ดังรูปที่ 4.3) ส่วนสารสกัดหยาบจากผลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 200 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเท่ากับ 15.50 11.50 และ 8.08 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นจึงทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผลลงทีละครึ่งเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ได้ โดยลดความเข้มข้นลงมาที่ 25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดหยาบต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเท่ากับ 7.17 มิลลิเมตร จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากผลที่ความเข้มข้น 200 100 50 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อเทียบตัวควบคุมเชิงบวกคือยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับสารสกัดหยาบจากผลทุกๆความเข้มข้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ส่วนสารสกัดหยาบจากกิ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ได้ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 200 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเท่ากับ 9.75 7.92 และ 7.17 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นจึงทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากกิ่งลงทีละครึ่งเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ โดยลดความเข้มข้นลงมาที่ 25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดหยาบต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ได้คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเท่ากับ 6.83 มิลลิเมตร จากผลการทดลองพบว่าทุกๆความเข้มข้นของสารสกัดจากกิ่ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นความเข้มข้นที่ 50 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลิลิตร และเมื่อเทียบตัวควบคุมเชิงบวกคือยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับสารสกัดหยาบทุกๆความเข้มข้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งผลการทดลองที่ได้ไม่มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Dandge และคณะ (2016) ซึ่งได้นำสารสกัดจากใบยอที่สกัดด้วยน้ำ อะซีโตน เอทานอล มาทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* และ *Proteus vulgaris* ทำการทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Nutrient Agar จากผลการทดลองพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* ได้ จากผลการทดลองที่แตกต่างกันนี้ เนื่องจากตัวทำละลาย อาหารเลี้ยงเชื้อ และแหล่งของพืชตัวอย่างที่ใช้ต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* TISTR 687 ของสารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอ

หมายเหตุ A : สารสกัดหยาบจากใบ

B : สารสกัดหยาบจากผล

C : สารสกัดหยาบจากกิ่ง

หมายเลข 1 : ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 2 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 3 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 4 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 5 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 6 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 7 : เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 *Salmonella typhimurium* TISTR 292

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* TISTR 292

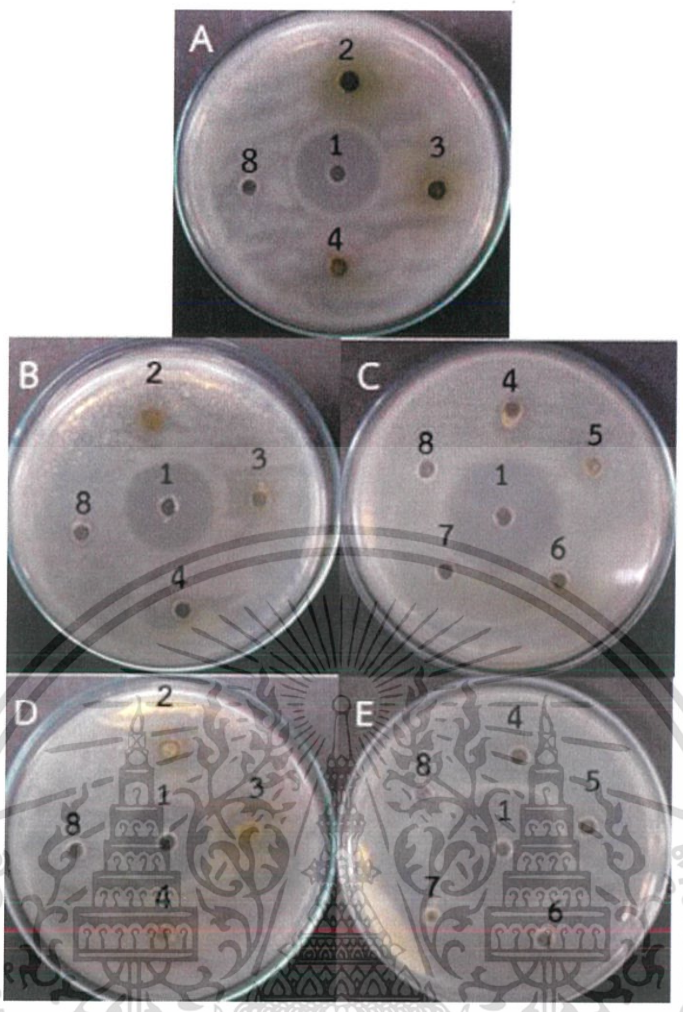
ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)		
	ใบ	ผล	กิ่ง
200	$6.00^{b}\pm0.00$	$14.50^{b}\pm0.50$	$15.33^{b}\pm0.58$
100	$6.00^{b}\pm0.00$	$12.75^{c}\pm0.25$	$12.83^{c}\pm0.76$
50	$6.00^{b}\pm0.00$	$9.00^{d}\pm0.00$	$8.67^{d}\pm0.58$
25	-	$7.00^{e}\pm0.00$	$7.33^{e}\pm0.58$
12.5	-	$6.00^{f}\pm0.00$	$6.00^{f}\pm0.00$
6.25	-	$6.00^{f}\pm0.00$	$6.00^{f}\pm0.00$
Ciprofloxacin 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$25.00^{a}\pm0.00$	$25.00^{a}\pm0.00$	$25.00^{a}\pm0.00$
Ethanol	$6.00^{b}\pm0.00$	$6.00^{f}\pm0.00$	$6.00^{f}\pm0.00$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p\leq0.05$)

- ไม่ได้ทำการทดสอบ

จากตารางที่ 4.5 พบว่า สารสกัดหยาบจากใบในทุกๆความเข้มข้นที่ทำการทดสอบไม่สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* ได้ (ดังรูปที่ 4.4) ส่วนสารสกัดหยาบจากผลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 200 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเท่ากับ 14.50 12.50 และ 9.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นจึงทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผลลงทีละครึ่งเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* ได้ โดยลดความเข้มข้นลงมาที่ 25 12.5 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดหยาบต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเท่ากับ 7.00 มิลลิเมตร จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากผลทุกๆความเข้มข้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) และเมื่อเทียบตัวควบคุมเชิงบวกคือยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซินที่ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับสารสกัดหยาบทุกๆความเข้มข้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) ส่วนสารสกัดหยาบจากกิ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* ได้ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 200 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *S. typhimurium* ของสารสกัดจากใบ ผล และกิ่งต้นยอ

หมายเหตุ A : สารสกัดหยาบจากใบ C : สารสกัดหยาบจากผล E : สารสกัดหยาบจากกิ่ง

B : สารสกัดหยาบจากผล D : สารสกัดหยาบจากกิ่ง

หมายเลข 1 : ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซินความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 2 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 3 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 4 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 5 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 6 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 7 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 8 : เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเท่ากับ 15.33 12.83 และ 8.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นจึงทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากกิ่งลงทีละครึ่งเพื่อหา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ โดยลดความเข้มข้นลงมาที่ 25 12.5 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดหยาบต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* ได้คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเท่ากับ 7.33 มิลลิเมตร จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากกิ่งทุกๆความเข้มข้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อเทียบตัวควบคุมเชิงบวกคือยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซินที่ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับสารสกัดหยาบทุกๆความเข้มข้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากผลการทดลองที่ได้ไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Letnani และคณะ (2014) ซึ่งได้ทำการนำสารสกัดจากใบยอที่สกัดโดยนำใบยอที่ตากแห้งมาต้มกับน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที มาทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. tyhpimurium* ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ผลที่ได้แตกต่างจากการทดลองเนื่องจาก ตัวทำละลาย วิธีการสกัด และแหล่งของพืชตัวอย่างที่นำมาใช้แตกต่างกัน

4.2.5 *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781

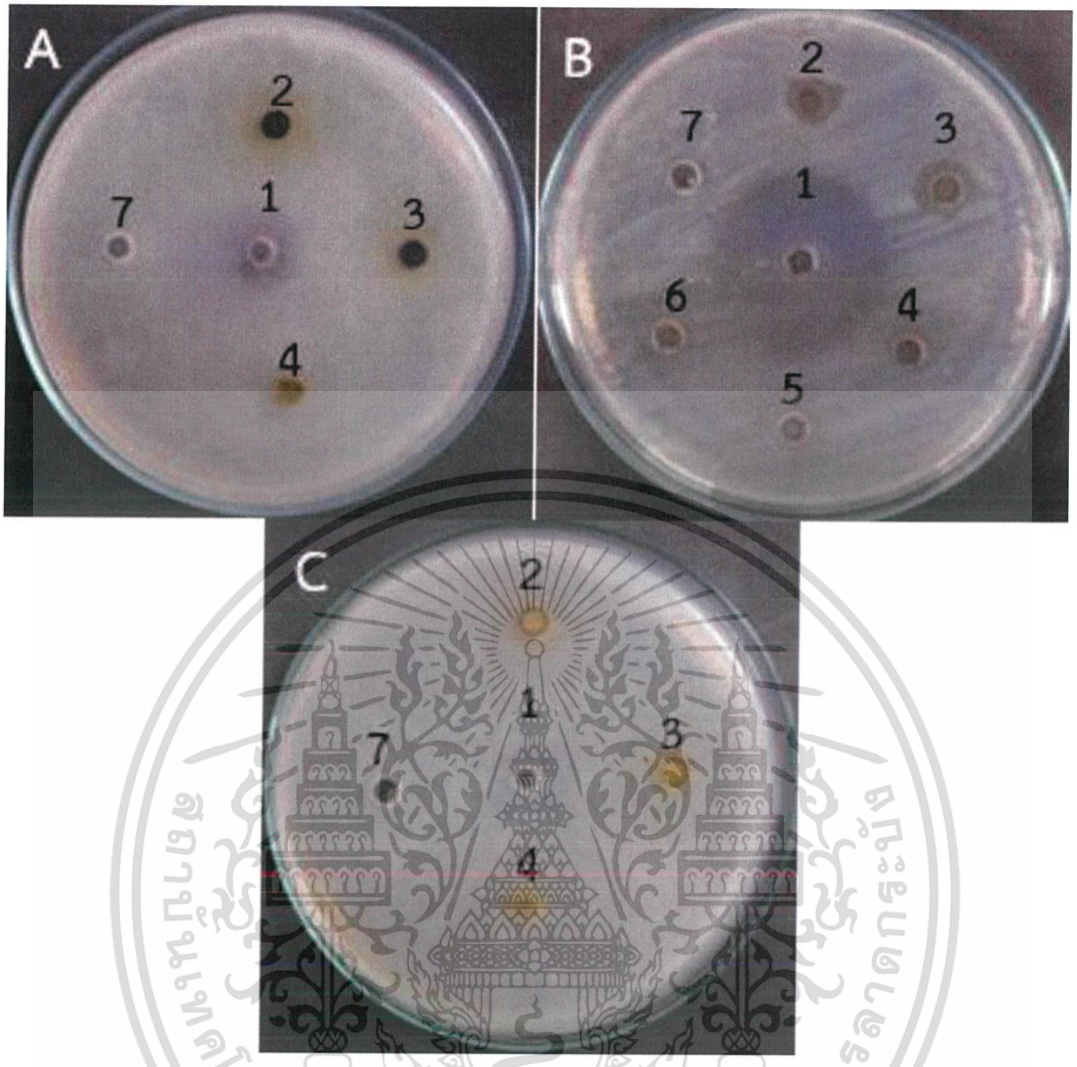
ตารางที่ 4.6 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* TISTR 781

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)		
	ใบ	ผล	กิ่ง
200	$6.00^{b} \pm 0.00$	$10.00^{b} \pm 0.87$	$6.00^{b} \pm 0.00$
100	$6.00^{b} \pm 0.00$	$9.75^{b} \pm 0.66$	$6.00^{b} \pm 0.00$
50	$6.00^{b} \pm 0.00$	$7.33^{c} \pm 0.29$	$6.00^{b} \pm 0.00$
25	-	$6.50^{d} \pm 0.00$	-
12.5	-	$6.00^{d} \pm 0.00$	-
Ciprofloxacin 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$32.00^{a} \pm 0.00$	$32.00^{a} \pm 0.00$	$32.00^{a} \pm 0.00$
Ethanol	$6.00^{b} \pm 0.00$	$6.00^{d} \pm 0.00$	$6.00^{b} \pm 0.00$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

- ไม่ได้ทำการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* TISTR 781 ของสารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอ

หมายเหตุ A : สารสกัดหยาบจากใบ C : สารสกัดหยาบจากกิ่ง

B : สารสกัดหยาบจากผล

หมายเลข 1 : ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซินความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 2 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 3 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 4 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 5 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 6 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 7 : เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.6 พบว่า สารสกัดหยาบจากใบและกิ่งในทุกๆความเข้มข้นที่ทำการทดสอบไม่สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ (ดังรูปที่ 4.5) แต่สารสกัดหยาบจากผลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 200 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเท่ากับ 10.00 9.75 และ 7.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นจึงทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผลลงทีละครึ่งเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ โดยลดความเข้มข้นลงมาที่ 25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดหยาบต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ได้คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเท่ากับ 6.50 มิลลิเมตร จากผลการทดลองพบว่าทุกๆความเข้มข้นของสารสกัดจากผลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นความเข้มข้นที่ 200 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อเทียบตัวควบคุมเชิงบวกคือยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซินที่ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับสารสกัดหยาบทุกๆความเข้มข้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และความเข้มข้นที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับตัวควบคุมเชิงลบคือเอทานอลร้อยละ 95

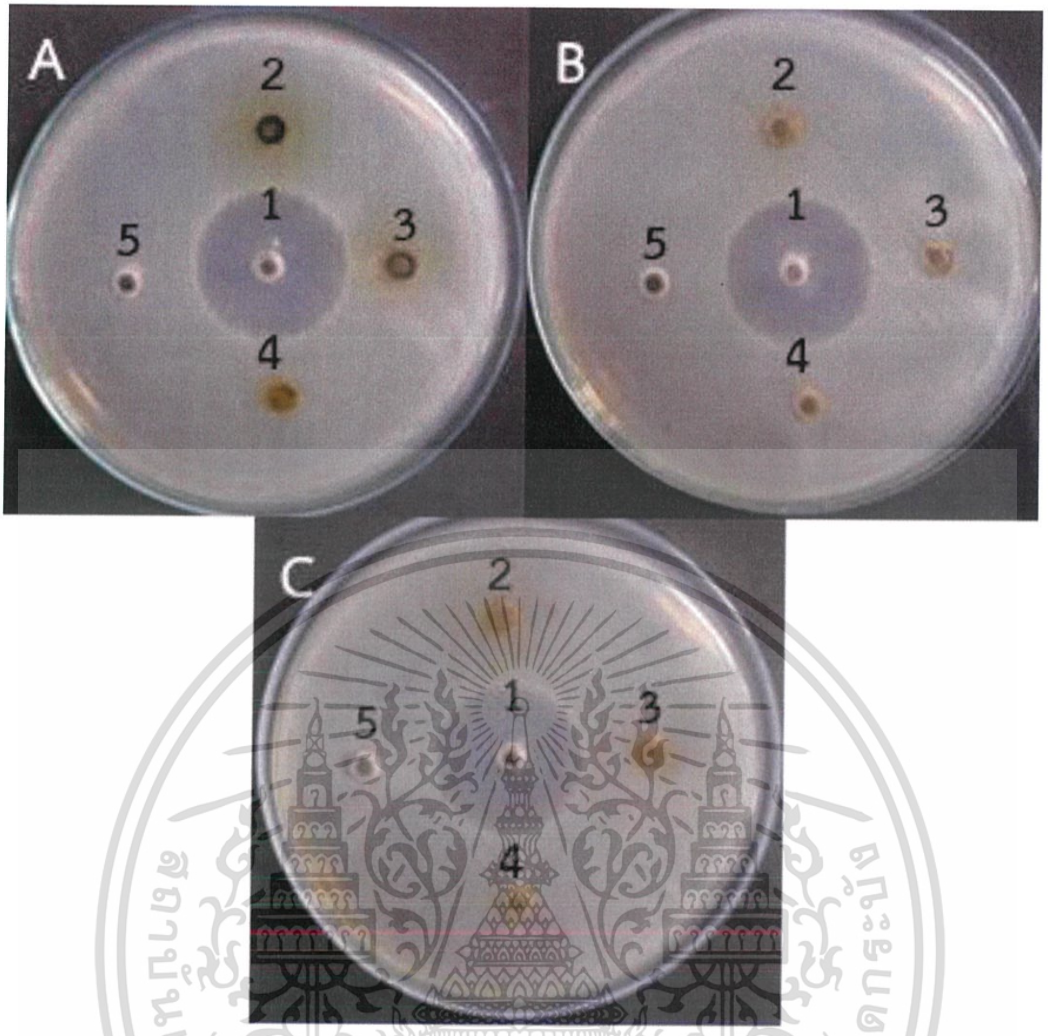
4.2.6 *Escherichia coli* TISTR 780

ตารางที่ 4.7 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* TISTR 780

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)		
	ใบ	ผล	กิ่ง
200	$6.00^{b} \pm 0.00$	$7.17^{b} \pm 0.14$	$6.00^{b} \pm 0.00$
100	$6.00^{b} \pm 0.00$	$6.83^{c} \pm 0.29$	$6.00^{b} \pm 0.00$
50	$6.00^{b} \pm 0.00$	$6.00^{d} \pm 0.00$	$6.00^{b} \pm 0.00$
Ciprofloxacin 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$28.00^{a} \pm 0.00$	$28.00^{a} \pm 0.00$	$28.00^{a} \pm 0.00$
Ethanol	$6.00^{b} \pm 0.00$	$6.00^{d} \pm 0.00$	$6.00^{b} \pm 0.00$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *E. coli* TISTR 780 ของสารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอ

หมายเหตุ A : สารสกัดหยาบจากใบ C : สารสกัดหยาบจากกิ่ง

B : สารสกัดหยาบจากผล

หมายเลข 1 : ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซินความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 2 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 3 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 4 : สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 5 : เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.7 พบว่า สารสกัดหยาบจากใบและกิ่งในทุกๆความเข้มข้นที่ทำการทดสอบไม่สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ (ดังรูปที่ 4.6) แต่สารสกัดหยาบจากผลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 200 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเท่ากับ 7.17 และ 6.83 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามลำดับ ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ 200 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อเทียบตัวควบคุมเชิงบวกคือยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซินที่ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 200 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยจากผลการทดลองพบว่าความความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผลของต้นยอต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้อยู่ที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

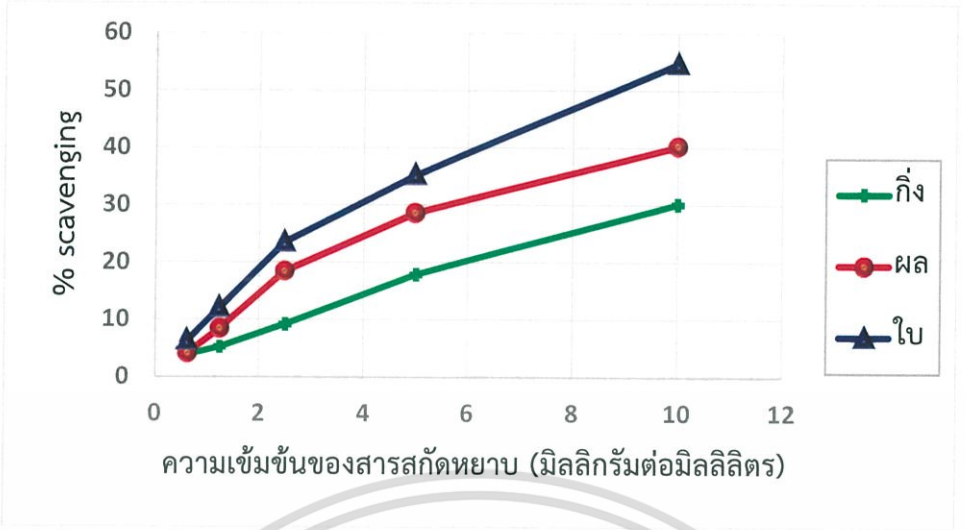
จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบจากผลสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ดีที่สุดและมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบตามลำดับ ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cushnie และ Lamb (2005) ที่ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารประกอบฟลาโวนอยด์ พบว่าสารประกอบฟลาโวนอยด์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้โดยที่ quercitin มีฤทธิ์ในการยับยั้ง DNA gyrase ของเชื้อจุลินทรีย์ ส่วน sophoraflavone G และ epigallocatechin gallate มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ และ licochalcones ชนิด A และ C มีฤทธิ์ยับยั้ง energy metabolism ของจุลินทรีย์ ส่วนสารสกัดหยาบจากใบไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 6 สายพันธุ์ ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sibi และคณะ (2012) ที่นำสารสกัดจากใบ ลำต้น และรากของต้นยอที่สกัดด้วยเมทานอลมาทำการทดสอบการยับยั้งการจริญของจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc diffusion พบว่าสารสกัดจากใบสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus, S. epidermidis, P. aeruginosa* และ *E. coli* ได้ ซึ่งงานวิจัยไม่มีความสอดคล้องกับผลการทดสอบ อาจเป็นเพราะฤดูในการเกี่ยวพืช หรือแหล่งที่ทำการเพาะปลูกพืชมีความแตกต่างกัน ดังนั้นจึงทำให้ผลการทดลองที่ได้มีความแตกต่างกัน

4.3 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากต้นยอ

ศึกษาความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity)

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ทั้ง 3 ส่วนของต้นยอได้แก่ ใบ ผล และกิ่งที่ทำการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 จากนั้นนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการดักจับอนุมูลอิสระของดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging assay) ซึ่งเป็นการวัดความสามารถในการทำปฏิกิริยาการฟอกสีของสารละลาย DPPH โดยแสดงผลเป็นค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลง ซึ่งเปลี่ยนแปลงจากสีม่วงและจะถูกฟอกสีให้กลายเป็นสีเหลืองโดยทำการเจือจางสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของต้นยอด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.5 ให้มีระดับความเข้มข้นเป็น 0.625 1.25 2.5 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH ที่ละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.5 ในที่มืด เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวกเป็น **α**-Tocopherol ได้ผลตามตารางที่ 4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นยอที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระ (%DPPH reduction) ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ผล และกิ่งของต้นยอที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (mg/ml)	ร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระ		
	ใบ	ผล	กิ่ง
0.625	6.33^{e}±0.25	4.11^{e}±0.18	3.84^{e}±0.65
1.25	12.02^{d}±0.53	8.42^{d}±0.24	5.18^{d}±0.07
2.5	23.53^{c}±0.87	18.47^{c}±0.14	9.17^{c}±0.56
5	35.15^{b}±1.45	28.59^{b}±0.66	17.83^{b}±0.70
10	54.61^{a}±2.04	40.17^{a}±0.56	30.09^{a}±1.06
α-Tocopherol	83.55		

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.8 แสดงค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระ (%DPPH reduction) ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ผล และกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้น 0.625 1.25 2.5 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยที่ในทุกระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบของต้นยอมีค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระมากที่สุด รองลงมาคือผลและกิ่ง ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อนำมาคำนวณค่า EC_{50} ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ กิ่งและผลของต้นยอมีค่าดังตารางที่ 4.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 แสดงค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ลดอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด (EC_{50}) ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ กิ่งและผลของต้นยอ

สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นยอ	EC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ใบ	8.63
ผล	11.91
กิ่ง	16.78

เมื่อพิจารณาค่า EC_{50} จากตารางที่ 4.9 พบว่าสารสกัดหยาบจากใบมีค่า EC_{50} น้อยที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 8.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากผลและกิ่ง โดยมีค่าเท่ากับ 11.91 และ 16.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ แสดงว่าสารสกัดหยาบจากส่วนใบมีประสิทธิภาพในการดักจับอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับสารสกัดหยาบจากส่วนผลและกิ่งของต้นยอ เนื่องจากใช้ปริมาณสารสกัดหยาบส่วนใบ 8.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดความเข้มข้นของ DPPH เริ่มต้นให้ลดลงร้อยละ 50 ในขณะที่สารสกัดหยาบส่วนผลและกิ่งต้องใช้ปริมาณสารสกัดที่มากกว่า และเมื่อเปรียบเทียบค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระ (%DPPH reduction) กับค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ลดอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด (EC_{50}) พบว่าผลการทดลองที่ได้มีความสัมพันธ์กัน เพราะสารสกัดหยาบส่วนใบมีค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระมากที่สุดและใช้ความเข้มข้นของสารลดอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด (EC_{50}) น้อยที่สุด

ผลจากการศึกษาความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity) พบว่าค่าร้อยละของความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนใบ ผล และกิ่งมีค่าที่ต่างกันอย่างชัดเจน ซึ่งจากงานวิจัยของ Zin และคณะ (2002) ที่ได้ทำการวิเคราะห์ความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric thiocyanate method และ Thiobarbituric acid test ในใบ ผล และรากของต้นยอที่ทำการสกัดด้วยเมทานอล จากผลการทดลองในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า ความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนใบ ผล และรากของต้นยอไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ อาจเป็นเพราะฤดูการเก็บเกี่ยวพืช แหล่งของพืชที่นำมาใช้ทดลอง ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารจากพืช และวิธีการทดสอบความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน

4.4 การศึกษาสารพฤกษเคมีของสารสกัดจากต้นยอ

4.4.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

จากการทดลองวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นยอ 3 ส่วน ได้แก่ ใบ ผล และกิ่ง ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบด้วย Folin-Ciocalteu's reagent วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรและนำมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก พบว่าสารสกัดหยาบจากใบของต้นยอมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดเทียบเท่ากับ 8506.53 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากผล และกิ่ง ตามลำดับ ซึ่งแสดงดังตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นยอ

สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นยอ	Total phenolic content	
	มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด	มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ100 กรัมน้ำหนักแห้ง
ใบ	423.00^{a}±36.37	8506.53^{a}±731.46
ผล	413.33^{a}±30.02	6324.00^{b}±459.34
กิ่ง	288.67^{b}±22.37	1443.33^{c}±111.84

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

ผลจากการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และผลจากการศึกษาความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity) ในสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ผล และกิ่งของต้นยอ พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Duduku และคณะ (2013) ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ตามวิธี Folin-Ciocalteu โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน และทำการทดสอบความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity) ในผลยอที่ปราศจากเมล็ดและแกน จากผลการทดลองในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในตัวอย่างพืชมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ

4.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากต้นยอ

จากการทดลองวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นยอ 3 ส่วน ได้แก่ ใบ ผล และกิ่ง ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการวิเคราะห์ตามวิธี Kathirvel และ Sujatha (2012) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรและนำมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเคอร์ซีทิน พบว่าสารสกัดหยาบที่มีปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดคือสารสกัดหยาบจากผลมีค่าเทียบเท่ากับ 507.13 มิลลิกรัมของเคอร์ซีทินต่อกรัมของสารสกัดหยาบ รองลงมาคือ กิ่ง และใบ ซึ่งจะมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมีค่าเทียบเท่ากับ 383.80 และ 129.80 มิลลิกรัมของเคอร์ซีทินต่อกรัมของสารสกัดหยาบตามลำดับ ซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 แสดงค่าสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ผล และกิ่งของต้นยอที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นยอ	Total flavonoid content (มิลลิกรัมของเคอร์ซีทินต่อกรัมของสารสกัด)
ใบ	$129.80^{c}\pm14.73$
ผล	$507.13^{a}\pm17.62$
กิ่ง	$383.80^{b}\pm38.97$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p\leq0.05$)

จากตารางที่ 4.11 แสดงให้เห็นว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นยอได้แก่ ใบ ผล และกิ่ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) ซึ่งมีความสอดคล้องกับในงานวิจัยของ Manach และคณะ (1996) พบว่าความเข้มข้นของฟลาโวนอยด์จะมีความแตกต่างกันไปตามส่วนต่างๆของพืช

4.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากต้นยอ

ตารางที่ 4.12 แสดงค่าสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ผล และกิ่งของต้นยอที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นยอ	Total tannin content (มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด)
ใบ	$227.22^{b}\pm13.88$
ผล	$190.56^{c}\pm1.93$
กิ่ง	$249.44^{a}\pm1.93$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p\leq0.05$)

จากการทดลองวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากส่วนต่างๆ ของต้นยอ 3 ส่วน ได้แก่ ใบ ผล และกิ่ง ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Denis วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรและนำมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแทนนิก พบว่าสารสกัดหยาบจากต้นยอที่มีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดมากที่สุดคือสารสกัดหยาบจากกิ่งมีค่าเทียบเท่ากับ 249.44 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดหยาบ รองลงมาคือ ใบ และผล ซึ่งมีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดมีค่าเทียบเท่ากับ 227.22 และ 190.56 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดหยาบตามลำดับ ซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 4.12

จากตารางที่ 4.12 แสดงให้เห็นว่าปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นยอได้แก่ กิ่ง ใบ และผล มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับสองงานวิจัย ซึ่งงานวิจัยแรกเป็นงานวิจัยของ Dandge และคณะ (2016) ได้ทำการสกัดใบยอด้วยเอทานอล พบว่าในส่วนของใบยอนั้นมีสารพฤกษเคมี ได้แก่ tannins, coumarin, alkaloids และ amino acid ซึ่งตรงตามผลการทดลองในการพบสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบจากใบของยอ ส่วนงานวิจัยที่สองเป็นงานวิจัยของ Vennila และ Vrindha (2014) ได้ทำการสกัดผลยอด้วยเอทานอล พบว่าในส่วนของผลยอมีสารพฤกษเคมี ได้แก่ caybohydrates proteins, oils และ fats, steroids, thiols, alkaloids, flavonoid, phenols, saponins, glycosides และ tannins ซึ่งตรงตามผลการทดลองในการพบสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบจากผลของยอ

4.4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากต้นยอ

ตารางที่ 4.13 แสดงค่าสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ผล และกิ่งของต้นยอ

สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นยอ	Total anthocyanin content (มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตรของสารสกัด)
ใบ	$7.81^{a} \pm 0.77$
ผล	$3.91^{b} \pm 0.17$
กิ่ง	$0.66^{c} \pm 0.17$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นยอ 3 ส่วน ได้แก่ ใบ ผล และกิ่ง ที่ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี pH differential โดยนำสารละลายของสารสกัดหยาบมาเจือจางด้วย KCl buffer pH 1.0 และ CH_3COONa pH 4.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตรและนำมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมด พบว่าสารสกัดหยาบจากต้นยอที่มีปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมดมากที่สุดคือสารสกัดหยาบจากใบมีค่าเทียบเท่ากับ 7.81 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตรของสารสกัด รองลงมาคือ ผล และกิ่ง ซึ่งมีปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 3.91 และ 0.66 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตรของสารสกัดตามลำดับ ซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 4.13

จากตารางที่ 4.13 แสดงค่าสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ผล และกิ่งของต้นยอ แสดงให้เห็นว่าปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นยอได้แก่ กิ่ง ใบ และผล มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และจากการหาเอกสารอ้างอิงผลการทดลองยังไม่พบเอกสารที่เกี่ยวข้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการสกัดผงตัวอย่างจากทั้ง 3 ส่วนของต้นยอ คือ ใบ กิ่ง และผล 200 กรัม โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่าผงตัวอย่างจากส่วนใบ ผล และกิ่งของต้นยอได้สารสกัดหยาบปริมาณสุทธิเท่ากับ 40.22 30.60 และ 10 กรัม ตามลำดับ ซึ่งส่วนใบของต้นยอนั้นได้สารสกัดหยาบมากที่สุด

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่ง ของต้นยอ มาทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ 6 สายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกคือ *Staphylococcus*, *Staphylococcus epidermidis* และ *Bacillus cereus* แกรมลบคือ *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Escherichia coli* ด้วยวิธี Agar well diffusion จากการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบจากใบไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ได้ ส่วนสารสกัดหยาบจากผลสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 6 สายพันธุ์ โดยความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากผลของยอต่ำสุดที่ยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* , *B. cereus* และ *S. typhimurium* ได้คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนความเข้มข้นสารสกัดต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ *P. aeruginosa* ได้คือ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสารสกัดต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ได้คือ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดหยาบจากกิ่งของต้นยอมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 3 สายพันธุ์ คือเชื้อ *S. epidermidis* , *B. cereus* และ *S. typhimurium* ซึ่งความเข้มข้นต่ำสุดที่ยังสามารถยับยั้งการเจริญได้คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการนำสารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอมาทำการศึกษาการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity) โดยทำการเจือจางสารสกัดหยาบส่วนต่างๆให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.625 1.25 2.5 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อหาค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระและหาค่า EC_{50} จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ผล และกิ่งของต้นยอมีค่า EC_{50} เท่ากับ 8.63 11.91 และ 16.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งจากข้อมูลที่ได้พบว่า สารสกัดทุกส่วนมีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระได้ โดยเฉพาะสารสกัดจากใบสามารถออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด รองลงมาคือผลและกิ่ง ตามลำดับ และค่าความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ ซึ่งความเข้มข้นที่ของสารสกัดหยาบส่วนใบ ผล และกิ่งที่มีค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระมากที่สุดที่ความเข้มข้นสูงที่สุดคือ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการนำสารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอ มาทำการวิเคราะห์หาสารพฤกษเคมีบางชนิด โดยเมื่อนำมาวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compound) พบว่าสารสกัดหยาบจากใบของต้นยอมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดเทียบเท่ากับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8506.53 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากผลและกิ่ง

และเมื่อนำสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นยอ 3 ส่วน ได้แก่ ใบ ผล และกิ่ง ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่าสารสกัดหยาบจากผลมีสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดเทียบเท่ากับ 507.13 มิลลิกรัมของเคอร์ซีทินต่อกรัมสารสกัด รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากกิ่งและใบ

จากการนำสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นยอ 3 ส่วน ได้แก่ ใบ ผล และกิ่ง ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด พบว่าสารสกัดหยาบจากกิ่งมีสารประกอบแทนนินทั้งหมดมากที่สุดเทียบเท่ากับ 249.44 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมสารสกัด รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากใบและผล

จากการนำสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นยอ 3 ส่วน ได้แก่ ใบ ผล และกิ่ง ที่ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมด พบว่าสารสกัดหยาบจากใบมีสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมดมากที่สุดเทียบเท่ากับ 7.81 มิลลิกรัม cyanidin-3-glucoside ต่อลิตรสารละลาย รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากผลและกิ่ง

จากข้อมูลผลการทดสอบทางชีวภาพข้างต้นของสารสกัดจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดหยาบทั้งสามส่วนมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สารประกอบแทนนินทั้งหมด และสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมด ซึ่งเป็นสารพฤกษเคมีที่มีความสำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระ และมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียอีกด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการสกัดสารสกัดหยาบจากพืช โดยมากแล้วมักใช้ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดค่อนข้างจำเพาะเจาะจงเพื่อให้ได้ปริมาณของสารที่ต้องการนำมาทดสอบในปริมาณมากและเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการใช้งาน ดังนั้นในการสกัดสารสำคัญจากพืชควรใช้ตัวทำละลายในการสกัดที่มีความจำเพาะต่อสารนั้นๆ และใช้ตัวทำละลายหลายๆตัวควบคู่กันไปเพื่อเปรียบเทียบผล อีกทั้งในการนำสารสกัดจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอ มาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น การทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ศึกษาความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ รวมไปถึงศึกษาสารพฤกษเคมีที่อยู่ในสารสกัด ควรศึกษาถึงอายุ สถานที่เพาะปลูก สภาพอากาศด้วย เนื่องจากต้นยอมักพบว่าเพียงแค่สถานที่เพาะปลูกแตกต่างกัน สารสำคัญในต้นยอที่สกัดได้มักมีชนิดและปริมาณที่แตกต่างกัน สารบางชนิดอาจมีอยู่เฉพาะบางส่วนของพืช หรืออาจมีแค่บางประเทศในการเพาะปลูก เมื่อนำมาศึกษาอาจเกิดความแตกต่างของผลการทดลอง ดังนั้นในการนำต้นยอไปศึกษาในครั้งต่อไปควรพิจารณาถึงปัจจัยดังกล่าวควบคู่ไปด้วยเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในการนำไปใช้ในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณะสุข. 2558. **ประมวลสรรพคุณสมุนไพรไทย.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.

กัมปนาท สุขนิตย์. 2553. **กิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณสารต้านออกซิเดชันบางชนิดในเมล็ดถั่วเหลือง (Glycine max L.) ที่กำลังงอก.** มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

โกสินทร์ วิระษร, กุลธิดา กล้ารอด, ประณิธิ หงส์ประภาส และพัชรี บุญศิริ. 2557. "ภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุลและสารต้านออกซิเดชั่นกับโรคมะเร็ง". *ศรีนครินทร์เวชสาร* . 29(2) : 1-3.

จินตนาภรณ์ วัฒนธร. 2554. "เคอร์ซิติน สารพฤกษเคมีอเนกประสงค์". *วารสารไอซีเอเอม.* 3(1) : 24-25.

จุฑามาศ จิโนบัว, ไฉน ตาคำแสน, ตะวัน ณ ลำพูน, ปิยวัฒน์ ศรีวิรัช, วรรณศิริ สมควร และนพพล เล็กสวัสดิ์. 2560. **กรดแกลลิค กรดเอลลาจิก กรดแทนนิก ในพืชและผลไม้เศรษฐกิจของภาคเหนือ.** สาขาวิชาวิศวกรรมกระบวนการอาหาร สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ชิดชม ฮิรางะ, นันทนา แจ้งสุวรรณ, ปราณี ชวลิตธำรง, วีณา จิรัจฉริยากูล และมณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด. 2551. "การยกระดับมาตรฐานยอไทยและผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ". สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

ทัศนีย์ ปัญจานนท์, กันทิมา ชูแสง และธีรกุล อาภรณ์สุวรรณ. 2548. "ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากผลยอ." *วารสารสมุนไพร .12(1)* : 19-29.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2547. **แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค.** พิมพ์ครั้งที่3. กรุงเทพฯ : noble Print.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556. "อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Free radicals, Antioxidants and Antioxidant Activity Determination." *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี* . 21(3) : 7 -12.

ประไพรัตน์ สีพลไกร . 2555 . "สารอินโดลอัลคาลอยด์และฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นพญาสัตบรรณ." *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.* 14(1) : 54-64.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร, พิทัย กาญบุตร และสาธร พรตระกูลพิพัฒน์. 2551. “การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ.” 91-99. ในการประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มข. ครั้งที่ 9. คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ปราณี ชวลิตธำรง. 2551. “การยกระดับมาตรฐานยอไทยและผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ”. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

ปัทมา พิทยขจรวุฒิ. 2546. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณค่าจากทรัพยากรชีวภาพของไทย. @ll BIOTECH . 1(5) : 42-44.

พรรณี เด่นรุ่งเรือง. 2550. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเปลือกต้นวงศ์อบเชย (Lauraceae) Antioxidative Activity from Some Stem Barks of Lauraceae Plant. สำนักวิจัยการจัดการป่าไม้และผลิตผลป่าไม้, กรมป่าไม้.

พันธิตร์ มะลิสุวรรณ. 2545. **สมุนไพรเพื่อสุขภาพ**. เล่มที่16. กรุงเทพ : ยูทิไลซ์ จำกัด

มานิต ธีระตันติกานนท์. 2560. "วิกฤตเชื้อแบคทีเรียดื้อยาพุ่งสูง หมอหวั่นอนาคตหมดทางรักษา". ระบบข่าวประชาสัมพันธ์ โรงพยาบาลราชวิถี. 1-3.

วิภพ สุทธนะ. 2556. “ฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์: กลไกการออกฤทธิ์”. *Srinagarind medical journal* . 28(4) :1-2.

รัชนี ไสยประจง. 2548. **ความสามารถในการต่อต้านจุลินทรีย์และสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด**. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารและการจัดการธุรกิจอาหาร

ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ. 2549. ความปลอดภัยของอาหาร Food Safety. กรุงเทพมหานคร: Sister Print & Media Group. 122-146.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข. 2557. *Escherichia coli*. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ : 1-3.

สถาบันวิจัยและพัฒนาองค์การเภสัชกรรม. 2554. “**สารสกัดขมิ้นชัน (Curcuminoids)**”. วิจัยและพัฒนาเพื่อสุขภาพคนไทย. (3). 49-51

สุภาภรณ์ ปิติพร. 2554. สมุนไพร ยากำลัง. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : ปรมัตถ์การพิมพ์

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุญยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. 2549. **สารต้านอนุมูลอิสระ**. กรุงเทพฯ : พี.เอส.พริ้นท์.

Alderman, D. J. and Smith, P. 2001. “Development of draft protocols of standard reference methods for antimicrobial agent susceptibility testing of bacteria associated with fish diseases”. *Aquaculture*. 196(3-4): 211-243.

Berends, B.R., Van Knapen, F., Mossel, D.A.A., Burt, S.A. and Snijders, J.M.A. 1998. “Salmonella spp. on pork at cutting plants and at the retail level and the influence of particular risk factors.” *Int. J. Food Microbiol*. 44: 207-217.

Brantner, A., Pfeiffer, K., Brantner, H. 1994. “Applicability of diffusion methods

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

required by the pharmacopoeias for testing antibacterial activity of natural compounds." *Pharmazie*. 49(7): 512–516.

Chen Xiu-Min , Tait Andrew R. , Kitts David D. 2016. "Flavonoid composition of orange peel and its association with antioxidant and anti-inflammatory activities". *Food Chemistry* . 218: 15–21.

Clemmer, D.I., Hickey, J.L.S., Bridges, J.F., Schliessmann, D.J. and Shaffer, M.F. 1960. Bacteriologic studies of experimental airborne salmonellosis in chick. J. Infect. Dis. 106: 197-201.

Darlow, H.M., Bale, W.R. and Carter, G.B. 1961. Infection of mice by respiratory route with Salmonella typhimurium. J. Hyg. 59: 303-308.

Duduku Krishhnaiah, Awang Bono, Rosalam Sabatly and S.M. Anisuzzaman. 2013. "Antioxidant activity and total phenolic content of an isolated *Morinda citrifolia* L. methanolic extract from Poly-ethersulphone (PES) membrane separator". *Journal of King Suad University - Engineering Sciences*. 27, 63-67.

Essawi, T. and Srour, M. 2000. "Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity." *J. of Ethnopharmacology*. 70: 343–349.

Frenzen, P.D., Buzby, J.C. and Roberts, T. 1999. An updated estimate of the economic costs of human illness due to foodborne salmonella in the United State. Proceeding of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella in Pork. Washington, DC. 215-218.

G. Sibi, Parul Chatly, Sayak Adhikari and K. R. Ravikumar. 2012. "Phytoconstituents and Their Influence on Antimicrobial Properties of Morinda citrifolia L." *Research Journal of Medical Plant.* ISSN 1819-3455.

Gray, J.T. and Fedorka-Cray, P.J. 1995. **Survival and infectivity of Salmonella choleraesuis in swine feces**. Proceeding of the 76th Annual Meeting of the Conference of Research Workers in Animal Diseases. Chicago. 94.

Jayasinge UL., Jayasooriya CP., Bandara BM., Ekanayake SP., Merlini L. and Assante G. 2002. "Antimicrobial activity of some Sri Lanka Rubiaceae and Meliaceae." *Fitoterapia*. ; 73(5):424-7.

Lennette, E.H. 1985. **Manual of Clinical Microbiology**, 4th eds. American Association for Microbiology, Washington, DC, pp. 978–987.

Mañach C., Regerat F., Taxier O., 1996. *Nutrition Research*. 16, 517-544.

Mohtar M., Shaari K., Ali Nam., Ali AM. 1998. "Antimicrobial activity of selected

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Malaysian plants against micro-organisms related to skin infection." J Tropical Forest Products. ;4;(2) : 199-206.

Padma B. Dandge, Amitkumar B. Karajaki, Prashant K. Bhagwat and Komal K. Bhise. 2012. "Phytochemical Profiling and Antimicrobial Potential of *Santalum album* L., *Morinda citrifolia* L. and *Mucuna pruriens* L." *Research Journal of Life Sciences, Bioinformatics, Phamaceutical and Chemical Sciences*. ISSN 2454-6348.

Steele, J.H. and Galton, M.M. 1967. "Epidemiology of foodborne salmonellosis." *Health Laboratory Science*. 4: 207-212.

T.P. Tim Cushnie and Andrew J. Lamb. 2005. "Antimicrobial activity of flavonoids." *International journal of Antimicrobial Agents. 26* : 343-356

Vennila Srinivasahan and Brindha Durairaj. 2014. "Antimicrobial activities of hydroethanolic extract of *Morinda citrifolia* fruit." *International journal of current microbiology and applied sciences"*. 3(9) : 26-33.

Vennila Srinivasahan and Brindha Durairaj.2014."Antioxidant and Free radical scavenging effect of *Morinda citrifolia* fruit extract." *International journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences"*. ISSN 0975-1491. Vol 6, Issue 4, 2014.

Y. Retnani, T.M. Wardiny Dan and Taryati. 2014. "Morinda citrifolia L. Leaf Extract as Antibacterial Salmonella typhimurium to Increase Productivity of Quail (Coturnix coturnix japonica)". *Pakistan Journal of Biological Sciences*. ISBN 1028-8880.

Z. Mohd Zin, A. Abdul-Hamid and A. Osman. 2002. "Antioxidative activity of extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, fruit and leaf". *Food Chemistry*. 227-231.

Zhu Zhaowu and Cheng Chu Yong. 2011. "Solvent extraction technology for the separation and purification of niobium and tantalum." Hydrometallurgy . 107 (1–2) : 1-12.

ชุดการเรียนโลกและวิทยาศาสตร์. 2560. **คุณสมบัติของน้ำ**. (ออนไลน์). แหล่งที่มา : http://portal.edu.chula.ac.th

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. สารประกอบฟีนอล. (ออนไลน์). แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

1. Agar diffusion method

วิธี agar diffusion เป็นวิธีทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชวิธีหนึ่งที่ได้รับความนิยมเนื่องจากสามารถที่จะเติมสารสกัดของพืชได้ในปริมาณและความเข้มข้นที่ต้องการ โดยอาศัยหลักการเจาะวุ้นให้เป็นหลุมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรและหยดสารสกัดลงในหลุม เพื่อให้สารสกัดแพร่ผ่านวุ้นไปรอบๆหลุมโดยความเข้มข้นของสารสกัดจะแปรผันตามระยะห่างระหว่างหลุมกับสารที่แพร่ออกไปทำให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้น โดยหากสารมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จะทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่รอบๆหลุม ไม่สามารถที่จะเจริญได้จึงสังเกตเห็นเป็นโซนใสรอบหลุมโดยความกว้างของโซนใสขึ้นอยู่กับฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดดังกล่าว หากสารสกัดความเข้มข้นเล็กน้อยก็สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ก็จะเห็นโซนใสที่กว้าง

วิธีการ Agar diffusion method

1. เขี่ยเชื้อจากอาหารแข็ง NA (Nutrient Agar) ลงในอาหารเหลว NB (Nutrient Broth) 5 มิลลิลิตร บ่มไว้ในอุณหภูมิที่เชื้อเจริญเติบโตเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. เจือจางสารละลายของเชื้อโดยใช้น้ำเกลือร้อยละ 0.85 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อปรับความขุ่นให้ได้เท่ากับ 0.5 McFarland
3. ปิเปตเชื้อ 0.5 มิลลิลิตรทำการ Swab สารละลายของเชื้อลงบนอาหาร MHA
4. เจาะผิวหน้าวุ้นให้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรจำนวน 6 หลุม
5. เติมเอทานอลร้อยละ 95 และเติมยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินและไซโปรฟลอกซาซินอย่างละ 20 ไมโครลิตรลงในหลุมทดสอบ
6. บ่มไว้ในอุณหภูมิที่เชื้อเจริญเติบโตเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจผลการทดลองโดยวัดความกว้างบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (มิลลิเมตร)

2. การเตรียม McFarland standard No.5.0

1. เตรียมสารละลายแบเรียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1
2. เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้นร้อยละ 1
3. นำสารละลายแบเรียมคลอไรด์ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรผสมกับกรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 9.95 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การเตรียมสารละลายวิตามินอี (α – tocopherol)

เตรียมสารละลายวิตามินอีหรือ α – tocopherol ความเข้มข้น 500 ไมโครโมลาร์ โดยทำการชั่งวิตามินอี 0.2153 กรัม จากนั้นนำมาละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

4. การเตรียมสารละลาย DPPH ใน Absolute Ethanol

การเตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 0.0039 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

หมายเหตุ 1. ควรเตรียมทันทีก่อนใช้

2. คำนวณความเข้มข้นของ DPPH (น้ำหนักโมเลกุลของ DPPH = 394.33)

น้ำหนักสาร (g) = 1×10 mole/L × 394.33 g/mole

= 0.039 g/L

ถ้าต้องการเตรียม DPPH ให้มีความเข้มข้น 1×10 M จำนวน 100 mL

จะต้องชั่ง DPPH = (0.039 g ×100 m) /1000 mL

= 0.039 g/L

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

สูตรอาหาร

1. Mueller Hinton Agar (MHA)

เป็นอาหารสำเร็จรูปปริมาณที่ใช้ 38 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

Beefinfusion	300	กรัม
Casamino Acid	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar	17	กรัม

2. Nutrient Agar (NA)

เป็นอาหารสำเร็จรูปปริมาตรที่ใช้ 13 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

Beefextract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
แล้วจึงเติม Agar	15	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

1. ข้อมูลที่ได้จากการทดลองเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางภาคผนวก ค ที่ 1.1 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
s. aureus	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	7.50	7.75	7.25	7.50
	กิ่ง	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนตร้ามัยซิน 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	15.00	15.00	15.00	15.00

ตารางภาคผนวก ค ที่ 1.2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
S. epidermidis	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	11.00	12.00	11.50	11.50
	กิ่ง	8.25	8.00	8.25	8.17
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	30.00	30.00	30.00	30.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 1.3 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
B. cereus	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	15.00	16.00	15.50	15.50
	กิ่ง	10.00	9.50	9.75	9.75
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนตร้ามัยซิน	30.00	30.00	30.00	30.00

ตารางภาคผนวก ค ที่ 1.4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 292

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
S. typhimurium	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	15.00	14.00	14.50	14.50
	กิ่ง	16.00	15.00	15.00	15.33
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน	25.00	25.00	25.00	25.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 1.5 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
P. aeruginosa	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	9.00	10.50	10.50	10.00
	กิ่ง	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน	32.00	32.00	32.00	32.00

ตารางภาคผนวก ค ที่ 1.6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
E. coli	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	7.25	7.25	7.00	7.17
	กิ่ง	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน	28.00	28.00	28.00	28.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ข้อมูลที่ได้จากการทดลองเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางภาคผนวก ค ที่ 2.1 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
s. aureus	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	7.50	7.50	7.50	7.50
	กิ่ง	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนตร้ามัยซิน 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	15.00	15.00	15.00	15.00

ตารางภาคผนวก ค ที่ 2.2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
S. epidermidis	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	8.00	9.00	8.00	8.33
	กิ่ง	8.00	8.00	8.00	8.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	30.00	30.00	30.00	30.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 2.3 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
B. cereus	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	12.00	11.00	11.50	11.50
	กิ่ง	7.50	8.0	8.25	7.95
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนตร้ามัยซิน	30.00	30.00	30.00	30.00

ตารางภาคผนวก ค ที่ 2.4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 292

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
S. typhimurium	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	12.50	12.75	13.00	12.75
	กิ่ง	12.00	13.00	13.50	12.75
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน	25.00	25.00	25.00	25.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 2.5 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
P. aeruginosa	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	10.00	9.00	10.25	9.75
	กิ่ง	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน	32.00	32.00	32.00	32.00

ตารางภาคผนวก ค ที่ 2.6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
E. coli	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	7.00	6.50	7.00	6.83
	กิ่ง	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน	28.00	28.00	28.00	28.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ข้อมูลที่ได้จากการทดลองเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางภาคผนวก ค ที่ 3.1 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
s. aureus	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	6.00	6.00	6.00	6.00
	กิ่ง	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนตร้ามัยซิน 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	15.00	15.00	15.00	15.00

ตารางภาคผนวก ค ที่ 3.2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
S. epidermidis	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	7.50	7.75	7.50	7.58
	กิ่ง	7.00	7.50	7.25	7.25
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	30.00	30.00	30.00	30.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 3.3 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
B. cereus	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	8.25	8.00	8.00	8.08
	กิ่ง	7.00	7.25	7.25	7.17
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนตร้ามัยซิน	30.00	30.00	30.00	30.00

ตารางภาคผนวก ค ที่ 3.4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 292

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
S. typhimurium	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	9.00	9.00	9.00	9.00
	กิ่ง	9.00	8.00	9.00	8.67
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน	25.00	25.00	25.00	25.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 3.5 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
P. aeruginosa	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	7.00	7.50	7.50	7.33
	กิ่ง	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน	32.00	32.00	32.00	32.00

ตารางภาคผนวก ค ที่ 3.6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
E. coli	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ผล	6.00	6.00	6.00	6.00
	กิ่ง	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน	28.00	28.00	28.00	28.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ข้อมูลที่ได้จากการทดลองเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอ

ตารางภาคผนวก ค ที่ 4.1 เชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228

ส่วน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
ผล	25	7.00	7.00	7.00	7.00
	12.5	6.00	6.00	6.00	6.00
กิ่ง	25	7.00	7.00	7.00	7.00
	12.5	6.00	6.50	6.00	6.17

ตารางภาคผนวก ค ที่ 4.2 เชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687

ส่วน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
ผล	25	7.00	7.50	7.00	7.17
	12.5	6.00	6.00	6.00	6.00
กิ่ง	25	7.00	6.50	7.00	6.83
	12.5	6.00	6.00	6.00	6.00

ตารางภาคผนวก ค ที่ 4.3 เชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 292

ส่วน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
ผล	25	7.00	7.00	7.00	7.00
	12.5	6.00	6.00	6.00	6.00
	6.25	6.00	6.00	6.00	6.00
กิ่ง	25	7.00	8.00	7.00	7.33
	12.5	6.00	6.00	6.00	6.00
	6.25	6.00	6.00	6.00	6.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 4.4 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781

ส่วน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
ผล	25	6.50	6.50	6.50	6.50
	12.5	6.00	6.00	6.00	6.00

5. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อศึกษาความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity)

ตารางภาคผนวก ค ที่ 5.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัดหยาบ	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				
	10	5	2.5	1.25	0.625
ใบ	0.401	0.544	0.653	0.737	0.492
	0.380	0.56	0.639	0.742	0.789
	0.367	0.536	0.642	0.746	0.788
ผล	0.499	0.607	0.688	0.770	0.808
	0.508	0.603	0.688	0.774	0.807
	0.506	0.596	0.686	0.772	0.810
กิ่ง	0.579	0.695	0.771	0.800	0.808
	0.594	0.697	0.762	0.799	0.817
	0.595	0.688	0.764	0.799	0.807

ตารางภาคผนวก ค ที่ 5.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของหลุมควบคุม

ค่าดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม						
0.836	0.858	0.849	0.868	0.806	0.849	0.837

ค่าเฉลี่ยหลุมควบคุม = 0.843

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 5.3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของวิตามินอี

วิตามินอี	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร		
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3
วิตามินอี	0.144	0.138	0.134

ตารางภาคผนวก ค ที่ 5.4 ค่าร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของวิตามิน อี

วิตามินอี	ร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	เฉลี่ย
วิตามินอี	82.92	83.63	84.10	83.55

% scavenging = [(A control – A sample) / A control] X 100

ตารางภาคผนวก ค ที่ 5.5 ค่าร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดส่วน ใบ ผลและกิ่งของต้นยอ ที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัดหยาบ	ร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ				
	10	5	2.5	1.25	0.625
ใบ	52.432	35.469	22.539	12.517	6.050
	54.923	33.571	24.199	11.981	6.406
	56.465	36.418	23.843	11.507	6.524
ผล	40.807	27.995	18.387	8.660	4.152
	39.739	28.470	18.387	8.185	4.270
	39.976	29.300	18.624	8.422	3.915
กิ่ง	31.317	17.556	8.541	5.100	4.152
	29.537	17.319	9.609	5.219	3.084
	29.419	18.624	9.371	5.219	4.27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

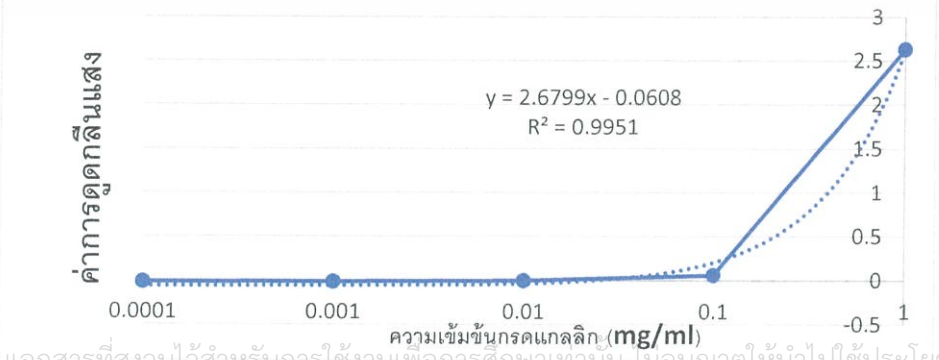
6. ข้อมูลผลการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอ

ตารางภาคผนวก ค ที่ 6.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร			
	1	2	3	เฉลี่ย
ใบ	0.0412	0.0582	0.0582	0.0525
ผล	0.0452	0.0452	0.0592	0.0499
กิ่ง	0.0232	0.0152	0.0112	0.0165

ตารางภาคผนวก ค ที่ 6.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรของกรดแกลลิก

ความเข้มข้น (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร					
	1	2	3	4	5	เฉลี่ย
1	2.6302	2.7332	2.5212	2.7982	2.4832	2.6332
0.1	0.0272	0.0612	0.0862	0.0702	0.0682	0.0626
0.01	0.0072	-0.0038	0.0032	-0.0018	0.0052	0.0020
0.001	-0.0168	-0.0168	-0.0058	-0.0078	0.0032	-0.0088
0.0001	-0.0138	-0.0118	-0.0148	-0.0188	-0.0168	-0.0152



รูปภาคผนวก ค ที่ 1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ข้อมูลผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากต้นยอ

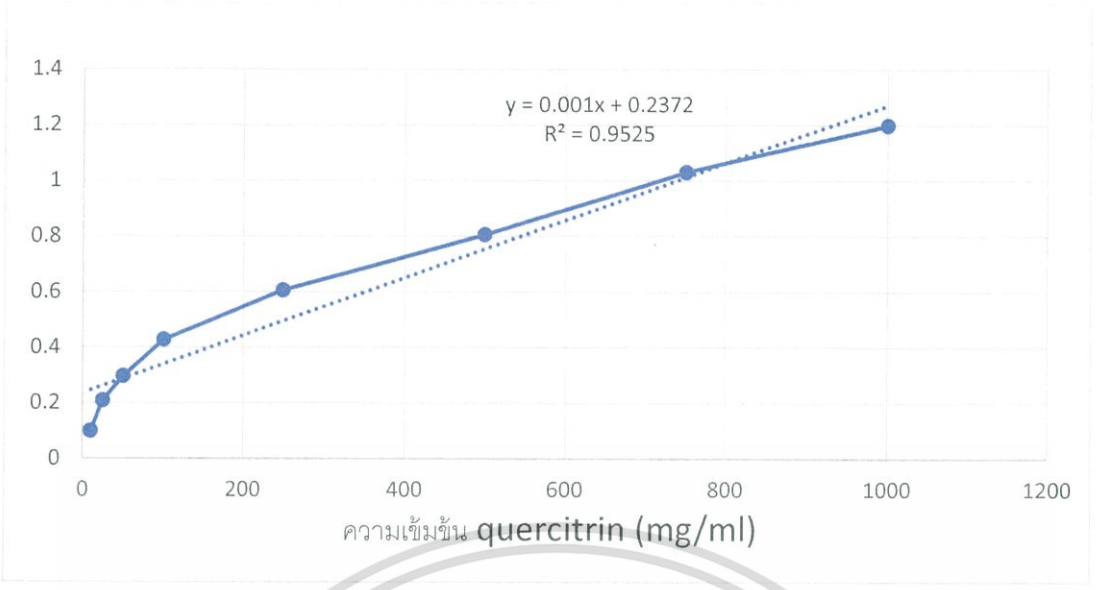
ตารางภาคผนวก ค ที่ 7.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร			
	1	2	3	เฉลี่ย
ใบ	0.364	0.354	0.383	0.367
ผล	0.742	0.728	0.763	0.744
กิ่ง	0.643	0.644	0.576	0.621

ตารางภาคผนวก ค ที่ 7.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของเคอร์ซีทิน

ความเข้มข้น (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร			
	1	2	3	เฉลี่ย
1000	1.199	1.199	1.199	1.199
750	1.030	1.031	1.029	1.030
500	0.805	0.801	0.809	0.805
250	0.606	0.607	0.605	0.606
100	0.426	0.429	0.429	0.428
50	0.295	0.299	0.297	0.297
25	0.208	0.209	0.210	0.209
10	0.106	0.097	0.097	0.100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก ค ที่ 2 กราฟมาตรฐานของเคอร์ซีทิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ข้อมูลผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากต้นยอ

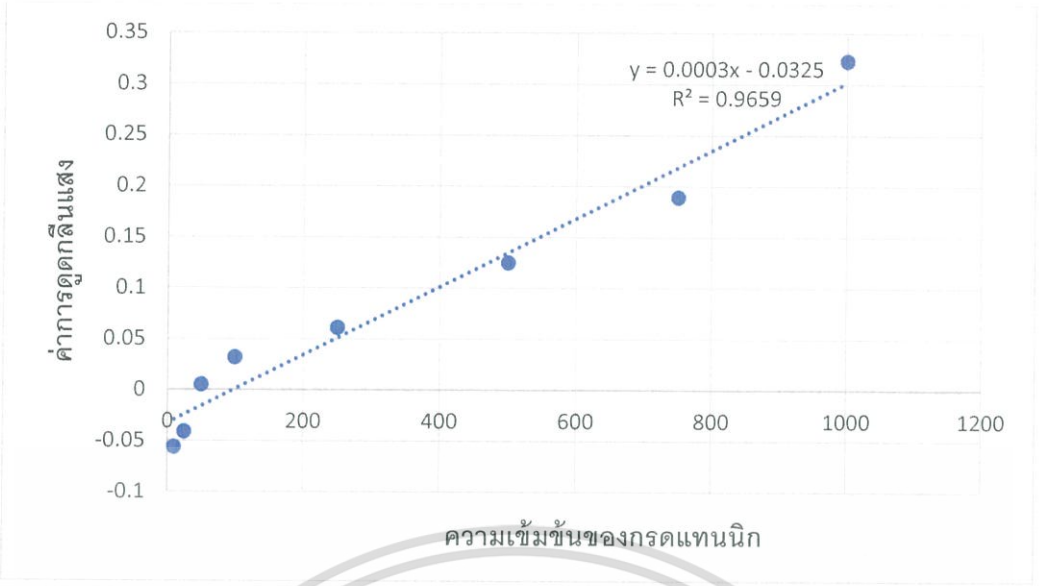
ตารางภาคผนวก ค ที่ 8.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร			
	1	2	3	เฉลี่ย
ใบ	0.031	0.039	0.037	0.036
ผล	0.025	0.025	0.024	0.025
กิ่ง	0.043	0.042	0.042	0.042

ตารางภาคผนวก ค ที่ 8.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรของเคอร์ซีทิน

ความเข้มข้น (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร			
	1	2	3	เฉลี่ย
1000	0.324	0.326	0.319	0.323
750	0.185	0.191	0.191	0.189
500	0.126	0.124	0.124	0.125
250	0.061	0.060	0.061	0.061
100	0.032	0.032	0.031	0.032
50	0.004	0.006	0.005	0.005
25	-0.036	-0.044	-0.044	-0.041
10	-0.058	-0.056	-0.055	-0.056

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก ค ที่ 3 กราฟมาตรฐานของกรดแทนนิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. ข้อมูลผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากต้นยอ

ตารางภาคผนวก ค ที่ 9.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ pH 1 และ pH 4.5

สารสกัดหยาบ	pH	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร			
		1	2	3	เฉลี่ย
ใบ	1	2.725	2.782	2.725	2.744
	4.5	2.784	2.843	2.784	2.804
ผล	1	1.141	1.141	1.208	1.163
	4.5	1.383	1.383	1.376	1.381
กิ่ง	1	0.696	0.638	0.638	0.657
	4.5	0.847	0.948	0.948	0.914

ตารางภาคผนวก ค ที่ 9.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ pH 1 และ pH 4.5

สารสกัดหยาบ	pH	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร			
		1	2	3	เฉลี่ย
ใบ	1	3.500	3.500	3.500	3.500
	4.5	3.118	3.040	3.118	3.092
ผล	1	1.379	1.379	1.476	1.411
	4.5	1.381	1.381	1.422	1.395
กิ่ง	1	1.005	0.991	0.991	0.996
	4.5	1.128	1.255	1.255	1.213

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการคำนวณค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 24.0 แบบ One-Way ANOVA ตามวิธีของ Duncan

1. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 ของสารสกัดหยาบจากส่วนของใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้นต่างกัน

1.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนใบของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466

Descriptives

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Gentamicin 20 µg/ml	3	15.0000	.00000	.00000	15.0000	15.0000	15.00	15.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	15	7.8000	3.72635	.96214	5.7364	9.8636	6.00	15.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	194.400	4	48.600	.	.
Within Groups	.000	10	.000		
Total	194.400	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50	3	6.0000	
100	3	6.0000	
200	3	6.0000	
ethanol	3	6.0000	
gentamicin	3		15.0000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนผลของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466

Descriptives

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	7.5000	.25000	.14434	6.8790	8.1210	7.25	7.75
100	3	7.5000	.00000	.00000	7.5000	7.5000	7.50	7.50
50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Gentamicin 20 µg/ml	3	15.0000	.00000	.00000	15.0000	15.0000	15.00	15.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	15	8.4000	3.48697	.90033	6.4690	10.3310	6.00	15.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	170.100	4	42.525	3402.000	.000
Within Groups	.125	10	.013		
Total	170.225	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
50	3	6.0000		
100	3	6.0000		
200	3		7.5000	
ethanol	3		7.5000	
gentamicin	3			15.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนกิ่งของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466

Descriptives

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Gentamicin 20 µg/ml	3	15.0000	.00000	.00000	15.0000	15.0000	15.00	15.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	15	7.8000	3.72635	.96214	5.7364	9.8636	6.00	15.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	194.400	4	48.600	.	.
Within Groups	.000	10	.000		
Total	194.400	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50	3	6.0000	
100	3	6.0000	
200	3	6.0000	
ethanol	3	6.0000	
gentamicin	3		15.0000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 ของสารสกัดหยาบจากส่วนของใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้นต่างกัน

2.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนใบของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228

Descriptives

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Ciprofloxacin 5 µg/ml	3	30.0000	.00000	.00000	30.0000	30.0000	30.00	30.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	15	10.8000	9.93694	2.56571	5.2971	16.3029	6.00	30.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1382.400	4	345.600	.	.
Within Groups	.000	10	.000		
Total	1382.400	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50	3	6.0000	
100	3	6.0000	
200	3	6.0000	
ethanol	3	6.0000	
Ciprofloxacin	3		30.0000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนผลของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228

Descriptives

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	11.5000	.50000	.28868	10.2579	12.7421	11.00	12.00
100	3	8.3333	.57735	.33333	6.8991	9.7676	8.00	9.00
50	3	7.5833	.14434	.08333	7.2248	7.9419	7.50	7.75
25	3	7.0000	.00000	.00000	7.0000	7.0000	7.00	7.00
12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Ciprofloxacin 5 µg/ml	3	30.0000	.00000	.00000	30.0000	30.0000	30.00	30.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	21	10.9167	8.18281	1.78563	7.1919	14.6414	6.00	30.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1337.958	6	222.993	2583.644	.000
Within Groups	1.208	14	.086		
Total	1339.167	20			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
12.5	3	6.0000					
ethanol	3	6.0000					
25	3		7.0000				
50	3			7.5833			
100	3				8.3333		
200	3					11.5000	
ciprofloxacin	3						30.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนกิ่งของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228

Descriptives

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	8.1667	.14434	.08333	7.8081	8.5252	8.00	8.25
100	3	8.0000	.00000	.00000	8.0000	8.0000	8.00	8.00
50	3	7.2500	.25000	.14434	6.6290	7.8710	7.00	7.50
25	3	7.0000	.00000	.00000	7.0000	7.0000	7.00	7.00
12.5	3	6.1667	.28868	.16667	5.4496	6.8838	6.00	6.50
Ciprofloxacin 5 µg/ml	3	30.0000	.00000	.00000	30.0000	30.0000	30.00	30.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	21	10.3690	8.25023	1.80035	6.6136	14.1245	6.00	30.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1360.994	6	226.832	9526.958	.000
Within Groups	.333	14	.024		
Total	1361.327	20			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ethanol	3	6.0000			
12.5	3	6.1667			
25	3		7.0000		
50	3		7.2500		
100	3			8.0000	
200	3			8.1667	
ciprofloxacin	3				30.0000
Sig.		.207	.067	.207	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687 ของสารสกัดหยาบจากส่วนของใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้นต่างกัน

3.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนใบของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687

Descriptives

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Gentamicin 20 µg/ml	3	30.0000	.00000	.00000	30.0000	30.0000	30.00	30.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	15	10.8000	9.93694	2.56571	5.2971	16.3029	6.00	30.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1382.400	4	345.600	.	.
Within Groups	.000	10	.000		
Total	1382.400	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50	3	6.0000	
100	3	6.0000	
200	3	6.0000	
ethanol	3	6.0000	
Gentamicin	3		30.0000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนผลของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687

Descriptives

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	15.5000	.50000	.28868	14.2579	16.7421	15.00	16.00
100	3	11.5000	.50000	.28868	10.2579	12.7421	11.00	12.00
50	3	8.0833	.14434	.08333	7.7248	8.4419	8.00	8.25
25	3	7.1667	.28868	.16667	6.4496	7.8838	7.00	7.50
12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Gentamicin 20 µg/ml	3	30.0000	.00000	.00000	30.0000	30.0000	30.00	30.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	21	12.0357	8.19386	1.78805	8.3059	15.7655	6.00	30.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1341.577	6	223.596	2590.632	.000
Within Groups	1.208	14	.086		
Total	1342.786	20			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
12.5	3	6.0000					
ethanol	3	6.0000					
25	3		7.1667				
50	3			8.0833			
100	3				11.5000		
200	3					15.5000	
Gentamicin	3						30.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนกิ่งของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687

Descriptives

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	9.7500	.25000	.14434	9.1290	10.3710	9.50	10.00
100	3	7.9167	.38188	.22048	6.9680	8.8653	7.50	8.25
50	3	7.1667	.14434	.08333	6.8081	7.5252	7.00	7.25
25	3	6.8333	.28868	.16667	6.1162	7.5504	6.50	7.00
12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Gentamicin 20 µg/ml	3	30.0000	.00000	.00000	30.0000	30.0000	30.00	30.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	21	10.5238	8.24087	1.79830	6.7726	14.2750	6.00	30.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1357.613	6	226.269	5068.422	.000
Within Groups	.625	14	.045		
Total	1358.238	20			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
12.5	3	6.0000				
ethanol	3	6.0000				
25	3		6.8333			
50	3		7.1667			
100	3			7.9167		
200	3				9.7500	
Gentamicin	3					30.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 ของสารสกัดหยาบจากส่วนของใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้นต่างกัน

4.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนใบของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 292

Descriptives

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Mini mum	Maxi mum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Ciprofloxacin 5 µg/ml	3	25.0000	.00000	.00000	25.0000	25.0000	25.00	25.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	15	9.8000	7.86675	2.03119	5.4435	14.1565	6.00	25.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	866.400	4	216.600	.	.
Within Groups	.000	10	.000		
Total	866.400	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50	3	6.0000	
100	3	6.0000	
200	3	6.0000	
ethanol	3	6.0000	
Ciprofloxacin	3		25.0000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนผลของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 292

Descriptives

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	14.5000	.50000	.28868	13.2579	15.7421	14.00	15.00
100	3	12.7500	.25000	.14434	12.1290	13.3710	12.50	13.00
50	3	9.0000	.00000	.00000	9.0000	9.0000	9.00	9.00
25	3	7.0000	.00000	.00000	7.0000	7.0000	7.00	7.00
12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
6.25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Ciprofloxacin 5 µg/ml	3	25.0000	.00000	.00000	25.0000	25.0000	25.00	25.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	24	10.7813	6.31910	1.28988	8.1129	13.4496	6.00	25.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	917.789	7	131.113	3356.486	.000
Within Groups	.625	16	.039		
Total	918.414	23			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
12.5	3	6.0000					
6.25	3	6.0000					
ethanol	3	6.0000					
25	3		7.0000				
50	3			9.0000			
100	3				12.7500		
200	3					14.5000	
Gentamicin	3						25.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนกิ่งของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 292

Descriptives

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	15.3333	.57735	.33333	13.8991	16.7676	15.00	16.00
100	3	12.8333	.76376	.44096	10.9360	14.7306	12.00	13.50
50	3	8.6667	.57735	.33333	7.2324	10.1009	8.00	9.00
25	3	7.3333	.57735	.33333	5.8991	8.7676	7.00	8.00
12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
6.25	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Ciprofloxacin 5 µg/ml	3	25.0000	.00000	.00000	25.0000	25.0000	25.00	25.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	24	10.8958	6.38949	1.30425	8.1978	13.5939	6.00	25.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	935.823	7	133.689	675.481	.000
Within Groups	3.167	16	.198		
Total	938.990	23			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
12.5	3	6.0000					
6.25	3	6.0000					
ethanol	3	6.0000					
25	3		7.3333				
50	3			8.6667			
100	3				12.8333		
200	3					15.3333	
Gentamicin	3						25.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 ของสารสกัดหยาบจากส่วนของใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้นต่างกัน

5.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนใบของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781

Descriptives

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Ciprofloxacin 5 µg/ml	3	32.0000	.00000	.00000	32.0000	32.0000	32.00	32.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	15	11.2000	10.76502	2.77952	5.2385	17.1615	6.00	32.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1622.400	4	405.600	.	.
Within Groups	.000	10	.000		
Total	1622.400	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50	3	6.0000	
100	3	6.0000	
200	3	6.0000	
ethanol	3	6.0000	
Ciprofloxacin	3		32.0000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนผลของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781

Descriptives

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	10.0000	.86603	.50000	7.8487	12.1513	9.00	10.50
100	3	9.7500	.66144	.38188	8.1069	11.3931	9.00	10.25
50	3	7.3333	.28868	.16667	6.6162	8.0504	7.00	7.50
25	3	6.5000	.00000	.00000	6.5000	6.5000	6.50	6.50
12.5	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Ciprofloxacin 5 µg/ml	3	32.0000	.00000	.00000	32.0000	32.0000	32.00	32.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	21	11.0833	8.89991	1.94212	7.0321	15.1345	6.00	32.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1581.625	6	263.604	1451.984	.000
Within Groups	2.542	14	.182		
Total	1584.167	20			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ethanol	3	6.0000			
12.5	3	6.0000			
25	3	6.5000			
50	3		7.3333		
100	3			9.7500	
200	3			10.0000	
ciprofloxacin	3				32.0000
Sig.		.194	1.000	.484	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนกิ่งของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781

Descriptives

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Ciprofloxacin 5 µg/ml	3	32.0000	.00000	.00000	32.0000	32.0000	32.00	32.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	15	11.2000	10.76502	2.77952	5.2385	17.1615	6.00	32.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1622.400	4	405.600	.	.
Within Groups	.000	10	.000		
Total	1622.400	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50	3	6.0000	
100	3	6.0000	
200	3	6.0000	
ethanol	3	6.0000	
Ciprofloxacin	3		32.0000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780 ของสารสกัดหยาบจากส่วนของใบ ผลและกิ่งของต้นยอที่ความเข้มข้นต่างกัน

6.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนใบของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780

Descriptives

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Ciprofloxacin 5 µg/ml	3	28.0000	.00000	.00000	28.0000	28.0000	28.00	28.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	15	10.4000	9.10887	2.35190	5.3557	15.4443	6.00	28.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1161.600	4	290.400	.	.
Within Groups	.000	10	.000		
Total	1161.600	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50	3	6.0000	
100	3	6.0000	
200	3	6.0000	
ethanol	3	6.0000	
Ciprofloxacin	3		28.0000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนผลของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780

Descriptives

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	7.1667	.14434	.08333	6.8081	7.5252	7.00	7.25
100	3	6.8333	.28868	.16667	6.1162	7.5504	6.50	7.00
50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Ciprofloxacin 5 µg/ml	3	28.0000	.00000	.00000	28.0000	28.0000	28.00	28.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	15	10.8000	8.91538	2.30194	5.8628	15.7372	6.00	28.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1112.567	4	278.142	13350.800	.000
Within Groups	.208	10	.021		
Total	1112.775	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ethanol	3	6.0000			
50	3	6.0000			
100	3		6.8333		
200	3			7.1667	
ciprofloxacin	3				28.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนกิ่งของต้นยอในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780

Descriptives

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
100	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
50	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Ciprofloxacin 5 µg/ml	3	28.0000	.00000	.00000	28.0000	28.0000	28.00	28.00
ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	15	10.4000	9.10887	2.35190	5.3557	15.4443	6.00	28.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1161.600	4	290.400	.	.
Within Groups	.000	10	.000		
Total	1161.600	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

ความเข้มข้น (mg/ml)	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50	3	6.0000	
100	3	6.0000	
200	3	6.0000	
ethanol	3	6.0000	
Ciprofloxacin	3		28.0000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบของใบ ผลและกิ่งของต้นยอ ด้วยสาร DPPH โดยวิธี DPPH Radical scavenging

Descriptives

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (mg/ml)		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	10	3	54.6067	2.03814	1.17672	49.5436	59.6697	52.43	56.47
	5	3	35.1533	1.45115	.83782	31.5485	38.7582	33.57	36.42
	2.5	3	22.8600	.86556	.49973	20.7098	25.0102	22.20	23.84
	1.25	3	12.0200	.53113	.30665	10.7006	13.3394	11.51	12.57
	0.625	3	6.3267	.24583	.14193	5.7160	6.9373	6.05	6.52
	Total	15	26.1933	17.92352	4.62783	16.2676	36.1190	6.05	56.47
ผล	10	3	40.1767	.56146	.32416	38.7819	41.5714	39.74	40.81
	5	3	28.5883	.66050	.38134	26.9476	30.2291	28.00	29.30
	2.5	3	18.4667	.13279	.07667	18.1368	18.7965	18.39	18.62
	1.25	3	8.4233	.23502	.13569	7.8395	9.0071	8.19	8.66
	0.625	3	4.1133	.17786	.10269	3.6715	4.5552	3.92	4.27
	Total	15	19.9537	13.65525	3.52577	12.3916	27.5157	3.92	40.81
กิ่ง	10	3	30.0933	1.06402	.61431	27.4502	32.7365	29.42	31.32
	5	3	17.8333	.69176	.39939	16.1149	19.5518	17.32	18.62
	2.5	3	9.1733	.56146	.32416	7.7786	10.5681	8.54	9.61
	1.25	3	5.1800	.06928	.04000	5.0079	5.3521	5.10	5.22
	0.625	3	3.8333	.65516	.37826	2.2058	5.4608	3.08	4.27
	Total	15	13.2227	10.10684	2.60958	7.6257	18.8197	3.08	31.32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	4482.834	4	1120.709	762.221	.000
	Within Groups	14.703	10	1.470		
	Total	4497.537	14			
ผล	Between Groups	2608.809	4	652.202	3809.630	.000
	Within Groups	1.712	10	.171		
	Total	2610.521	14			
กิ่ง	Between Groups	1425.356	4	356.339	754.977	.000
	Within Groups	4.720	10	.472		
	Total	1430.076	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ใบ

Duncan[a]

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0.625 mg/ml	3	6.3267				
1.25 mg/ml	3		12.0200			
2.5 mg/ml	3			22.8600		
5 mg/ml	3				35.1533	
10 mg/ml	3					54.6067
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผล

Duncan[a]

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0.625 mg/ml	3	4.1133				
1.25 mg/ml	3		8.4233			
2.5 mg/ml	3			18.4667		
5 mg/ml	3				28.5883	
10 mg/ml	3					40.1767
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

กิ่ง

Duncan[a]

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0.625 mg/ml	3	3.8333				
1.25 mg/ml	3		5.1800			
2.5 mg/ml	3			9.1733		
5 mg/ml	3				17.8333	
10 mg/ml	3					30.0933
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากใบ ผล และกิ่งของต้นยอ

3.1 หน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Mini mum	Maxi mum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	423.0000	36.37307	21.00000	332.6443	513.3557	381.00	444.00
ผล	3	413.3333	30.02221	17.33333	338.7540	487.9126	396.00	448.00
กิ่ง	3	288.6667	22.36813	12.91425	233.1011	344.2322	269.00	313.00
Total	9	380.7778	73.92357	24.64119	323.9551	437.6005	269.00	448.00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	33680.667	2	16840.333	18.542	.003
Within Groups	5449.333	6	908.222		
Total	39130.000	8			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
กิ่ง	3	288.6667	
ผล	3		413.3333
ใบ	3		423.0000
Sig.		1.000	.766

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 หน่วยมิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Mini mum	Maxi mum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	8506.5300	731.46238	422.31000	6689.4767	10323.5833	7661.91	8928.84
ผล	3	6324.0000	459.33987	265.20000	5182.9365	7465.0635	6058.80	6854.40
กิ่ง	3	1443.3333	111.84066	64.57124	1165.5057	1721.1609	1345.00	1565.00
Total	9	5424.6211	3162.08335	1054.02778	2994.0287	7855.2135	1345.00	8928.84

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	78473091.460	2	39236545.730	155.179	.000
Within Groups	1517077.323	6	252846.221		
Total	79990168.790	8			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
กิ่ง	3	1443.3333		
ผล	3		6324.0000	
ใบ	3			8506.5300
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอ

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Mini mum	Maxi mum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	129.8000	14.73092	8.50490	93.2064	166.3936	116.80	145.80
ผล	3	507.1333	17.61628	10.17076	463.3721	550.8946	490.80	525.80
กิ่ง	3	383.8000	38.97435	22.50185	286.9823	480.6177	338.80	406.80
Total	9	340.2444	168.15180	56.05060	210.9915	469.4974	116.80	525.80

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	222107.556	2	111053.778	162.809	.000
Within Groups	4092.667	6	682.111		
Total	226200.222	8			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ใบ	3	129.8000		
กิ่ง	3		383.8000	
ผล	3			507.1333
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากใบผลและกิ่งของต้นยอ

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Mini mum	Maxi mum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	227.2233	13.87510	8.01080	192.7557	261.6910	211.67	238.33
ผล	3	190.5567	1.92835	1.11333	185.7664	195.3470	188.33	191.67
กิ่ง	3	249.4433	1.92835	1.11333	244.6530	254.2336	248.33	251.67
Total	9	222.4078	26.70609	8.90203	201.8797	242.9359	188.33	251.67

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5305.812	2	2652.906	39.802	.000
Within Groups	399.911	6	66.652		
Total	5705.724	8			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ผล	3	190.5567		
ใบ	3		227.2233	
กิ่ง	3			249.4433
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากใบ ผลและกิ่งของต้นยอ

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Mini mum	Maxi mum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	7.8067	.77365	.44667	5.8848	9.7285	7.36	8.70
ผล	3	3.9100	.17321	.10000	3.4797	4.3403	3.71	4.01
กิ่ง	3	.6633	.16743	.09667	.2474	1.0793	.47	.76
Total	9	4.1267	3.12380	1.04127	1.7255	6.5278	.47	8.70

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	76.752	2	38.376	175.349	.000
Within Groups	1.313	6	.219		
Total	78.065	8			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan[a]

สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
กิ่ง	3	.6633		
ผล	3		3.9100	
ใบ	3			7.8067
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้