สารออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์และสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลของแคแสด

ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF *Spathodea campunulana* ETHANOLIC CRUDE EXTRACT

ธมลวรรณ พูลสมบูรณ์ผล

นฏกร อินทสิทธิ์

วรัปสร อัศวสุจินดารัตน์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF *Spathodea campunulana* ETHANOLIC CRUDE EXTRACT

TAMONWAN PULSOMBULPOL

NATAKORN INTASIT

WARAPSORN ASSAWASUJINDARAT

A SPECIAL PROJCT SUBMITTED IN PARTIALFULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY

LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	สารออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์และสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลของแคแสด Antimicrobial And Antioxidant Activities Of *Spathodea Campunulana* Ethanolic Crude Extract		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวธมลวรรณ	พูลสมบูรณ์ผล	รหัสนักศึกษา 55051292
	นางสาวนฏกร	อินทสิทธิ์	รหัสนักศึกษา 55051299
	นางสาววรัปสร	อัศวสุจินดารัตน์	รหัสนักศึกษา 55051388
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
ปีการศึกษา	2558		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดวงใจ โอชัยกุล ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ กรรมการ	
ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการ และอาจารย์ที่ปรึกษา	สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงงานพิเศษ	สารออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์และสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลของแคแสด		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวธมลวรรณ	พูลสมบูรณ์ผล	รหัสนักศึกษา 55051292
	นางสาวนฏกร	อินทสิทธิ์	รหัสนักศึกษา 55051299
	นางสาววรัปสร	อัศวสุจินดารัตน์	รหัสนักศึกษา 55051388
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
คณะ	วิทยาศาสตร์		
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง		
ปีการศึกษา	2558		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล		

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของต้นแคแสด (*Spathodea campunulana*) โดยทำการตรวจหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Total Phenolic Assay พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.1920, 0.1925 และ 0.1919 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ จากนั้นทำการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Activity ได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 7.81, 9.66 และ 9.47 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้นที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระเท่ากับร้อยละ 38.54 ซึ่งมีฤทธิ์เป็นครึ่งหนึ่งของตัวควบคุมเชิงบวก α-tocopherol ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมล ซึ่งมีฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระเท่ากับร้อยละ 73.19 สุดท้ายศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Agar Well Diffusion Test ซึ่งทดสอบแบคทีเรีย 6 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* TISTR 780, *Salmonella typhimurium* TISTR 292, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Bacillus cereus* TISTR 687 และ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกมีค่า MIC ในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 0.20, 25 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดจากส่วนเปลือกยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และ *M. luteus* ได้ ในขณะที่แบคทีเรียแกรมลบ 3 ชนิดที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *E. coli*, *S. typhimurium* และ *P. aeruginosa* สารสกัดหยาบจากทุกส่วนไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำสำคัญ : แคแสด อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งแบคทีเรีย

Title	Antimicrobial and antioxidant activities of *Spathodea campunulana* ethanolic crude extract		
Students	Miss Tamonwan	Pulsombulpol	Student ID 55051292
	Miss Natakorn	Intasit	Student ID 55051299
	Miss Warapsorn	Assawasujindarat	Student ID 55051388
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2015		
Advisor	Dr.Suttijit Sriwatcharakul		

Abstract

This research studies about biological activities of *Spathodea campunulana* crude extracts be taken from bark, leaves and flowers. From total phenolic assay, it has been found that value of GAE (mg gallic acid/100g crude extract) in order is 0.1920, 0.1925 and 0.1919. Then test for efficacy of free radical scavenging by using DPPH radical scavenging assay was carred on and found that the values of IC_{50} were 7.81, 9.66 and 9.47 mg/ml, respectively, and bark ethanolic crude extract at concentration 10 mg/ml had the 38.54% antioxidant activity there is 50% efficacy of 0.5 mM α-tocopherol. Finally, to test antibacterial activity by using agar well diffusion test with 6 bacterial species *Escherichia coli* TISTR 780, *Salmonella typhimurium* TISTR 292, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Bacillus cereus* TISTR 687 and *Micrococcus luteus* TISTR 2374. From this experiment, Found that extracts from the bark, leaves and flowers of *Spathodea campunulana* with MIC to inhibit *B. cereus* at concentrations of 0.20, 25 and 25 mg/ml, respectively. In addition, bark crude extracts tested with *S. aureus*, *M. luteus* has MIC at 3.13 and 0.20 mg/ml, respectively. While crude extract from all part of *S. campanulata* couldn't have any activities against three Gram negative bacterial; *E. coli*, *S. typhimurium* and *P. aeruginosa*.

Keyword: *Spathodea campunulana*, free radical, antioxidant, antimicrobial activity

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจากท่านอาจารย์ซึ่งผู้จัดทำปัญหาพิเศษขอกราบขอบพระคุณ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่กรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือชี้แนะปรับปรุงแก้ไขด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่งตลอดมา

ผู้ทำโครงงานพิเศษขอขอบพระคุณ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล และ ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ กรรมการสอบโครงงานที่ให้ทั้งคำแนะนำ ตรวจสอบ ชี้แนะในการแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความเรียบร้อยและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้นพิเศษ

ขอขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการทดลอง ตึกจุฬาภรณ์ฯ 1 ชั้น 4 คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความช่วยเหลือทางด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา เพื่อนๆ สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม และสาขาอื่นๆทุกคน รวมถึงเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ คุณป้าแม่บ้านที่เป็นกำลังใจและสนับสนุนช่วยเหลือมาโดยตลอด

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้จะมีประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจหรือผู้ที่ต้องการค้นคว้าและศึกษางานวิจัยทางด้านนี้ไม่มากก็น้อย

ธมลวรรณ พูลสมบูรณ์ผล
นฏกร อินทสิทธิ์
วรัปสร อัศวสุจินดารัตน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญรูป	ฌ
คำย่อและสัญลักษณ์	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานโครงงานพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 แคแสด	4
2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร	5
2.2.1 องค์ประกอบของสารสำคัญที่พบได้ในพืช	6
2.3 น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย	7
2.3.1 การเลือกตัวทำละลายที่นำมาใช้ในการสกัดมีหลักทั่วไป	7
2.4 สารอนุมูลอิสระ	7
2.4.1 ความหมายของสารอนุมูลอิสระ	7
2.4.2 แหล่งที่มาของสารอนุมูลอิสระ	8
2.4.3 ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation)	9
2.4.4 ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ	10
2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)	10
2.5.1 ความหมายของสารต้านอนุมูลอิสระ	10
2.5.2 ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระ	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.6 การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH	14
2.7 การวิเคราะห์ความสามารถของการยับยั้งของเชื้อจุลินทรีย์	14
2.8 โครงสร้างผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย	15
2.8.1 แบคทีเรียแกรมลบ	15
2.8.2 แบคทีเรียแกรมบวก	16
2.9 ยาต้านจุลชีพ	17
2.9.1 การจำแนกประเภทของยาต้านจุลชีพ	18
2.9.2 หลักการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพ	19
2.10 ไซโพรฟลอกซาซิน (Ciprofloxacin)	20
2.10.1 กลไกการออกฤทธิ์	20
2.10.2 ขอบเขตของการออกฤทธิ์	21
2.10.3 การดื้อยา	21
2.10.4 การใช้ยาและผลข้างเคียงจากการใช้ยา	21
2.11 งานวิจันที่เกี่ยวข้อง	22
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน	24
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษ	24
3.1.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ	24
3.1.3 สารเคมี	24
3.1.4 อุปกรณ์	24
3.2 การเตรียมสารสกัดจาก *Spathodea campunulana* หรือแคแสด ด้วยตัวทำละลายเอทานอล และการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์	25
3.2.1 การเตรียมสารสกัดจาก *Spathodea campunulana* หรือแคแสดด้วยตัวทำละลายเอทานอล	25
3.2.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์	26
3.3 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากต้นแคแสด	26
3.3.1 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหาร (Agar Well Diffusion)	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3.2 การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดแคแสดที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Mininmal inhibitory concentration, MIC)	26
3.4 การศึกษาคุณสมบัติการต้านทานอนุมูลอิสระของสารสกัดจากแคแสด	28
3.4.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic content)	28
3.4.2 การศึกษาฤทธิ์การต้านทานอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช(DPPH scavenging activity)	28
บทที่ 4 ผลการทดลองวิจารณ์ผลการทดลอง	29
4.1 สารสกัดหยาบจากแคแสดที่ใช้ในการทดสอบ	29
4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบ	29
4.3 ทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity	30
4.4 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC; Minimum inhibitory concentration)	35
4.4.1 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของแคแสด	38
4.4.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของแคแสด	39
4.4.3 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของแคแสด	40
4.4.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของแคแสด	41
4.4.5 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของแคแสด	44
4.4.6 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. luteus* ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของแคแสด	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.4.7 การเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของแคแสด 49

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 52

5.1 สรุปผลการทดลอง 52

5.2 ข้อเสนอแนะ 53

เอกสารอ้างอิง 55

ภาคผนวก ก เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง 59

ภาคผนวก ข สูตรอาหาร 73

ภาคผนวก ค การย้อมแกรม 75

ภาคผนวก ง มาตรฐานกรดแกลลิก 77

ภาคผนวก จ ข้อมูลดิบจากผลการทดสอบต่างๆ 79

ภาคผนวก ฉ การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ 89

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดผงตัวอย่างส่วนต่างๆของแคแสด	29
4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของแคแสด	30
4.3 ร้อยละกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของแคแสด	31
4.4 ค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของแคแสด	32
4.5 ความเข้มข้นและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone เชื้อ *E. coli* ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของแคแสด	38
4.6 ความเข้มข้นและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone เชื้อ *S. typhimurium* ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของแคแสด	39
4.7 ความเข้มข้นและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone เชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของแคแสด	40
4.8 ความเข้มข้นและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone เชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของแคแสด	42
4.9 ความเข้มข้นและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone เชื้อ *B. cereus* ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของแคแสด	45
4.10 ความเข้มข้นและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone เชื้อ *M. luteus* ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของแคแสด	47
4.11 การเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิดของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของแคแสด	50
4.12 การเปรียบเทียบค่า MIC ของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของแคแสด	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ส่วนต่างๆของต้นแคแสด	4
2.2 ปฏิกิริยารีดอกซ์	9
2.3 สูตรโครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานิดิน	11
2.4 สูตรโครงสร้างทางเคมีของฟลาวานโนน	12
2.5 สูตรโครงสร้างทางเคมีของฟลาโวน	12
2.6 สูตรโครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอล	12
2.7 สูตรโครงสร้างทางเคมีของไอโซฟลาโวน	13
2.8 สูตรโครงสร้างทางเคมีของแทนนิน	13
2.9 โครงสร้างแบคทีเรียแกรมลบ	15
2.10 โครงสร้างแบคทีเรียแกรมบวก	16
2.11 แสดงความแตกต่างระหว่างผนังเซลล์	17
2.12 สูตรโครงสร้างทางเคมีของยาไซโพรฟลอกซาซิน	20
3.1 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อเบื้องต้น	27
3.2 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ	27
4.1 กราฟแสดงฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของแคแสด	32
4.2 บริเวณการ clear zone ของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของแคแสด	36
4.3 บริเวณ clear zone เชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกของแคแสด	43
4.4 บริเวณ clear zone เชื้อ *B. cereus* ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของแคแสด	46
4.5 บริเวณ clear zone เชื้อ *M. luteus* ของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกของแคแสด	49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อและสัญลักษณ์

คำย่อ	ความหมาย
MIC	Minimal inhibitory concentration
ROS	Reactive Oxygen Species
LDL	Low Density Lipoproteins
IU	International unit
µg/ml	Microgram/ milliliter
mg	Milligram
LPS	Lipopolysaccharides
KDO	phosphate trisaccharide of 2 – keto –3- deoxyoctonic acid
NaCl	Sodium chloride
$NaCO_3$	Sodium Carbonate
NA	Nutrient agar
NB	Nutrient broth
MHA	Mueller Hinton Agar
CFU	Colony forming unit
IC_{50}	Inhibitory Concentration

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

อนุมูลอิสระ (free radical) เป็นสารที่ไม่เสถียร มีความไวสูงในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลในร่างกายของสิ่งมีชีวิต เนื่องจากมีอิเล็คตรอนที่ไม่ได้จับคู่อยู่ในโมเลกุล (unpaired electron) การเข้าทำปฏิกิริยานี้ก่อให้เกิดความเสียหายต่อองค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ ส่งผลให้ระบบต่างๆ ภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิตสูญเสียสมดุลในการทำงานไป จากการศึกษาค้นคว้าในปัจจุบัน เป็นที่ยอมรับว่าอนุมูลอิสระนี้ก่อให้เกิดโรคภัยต่างๆ เช่น โรคหลอดเลือดและหัวใจ โรคมะเร็ง เป็นต้น ดังนั้น การควบคุมหรือต่อต้านอนุมูลอิสระอาจมีส่วนช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคดังกล่าวได้ (บังอร และศศิลักษณ์, 2549)

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) มีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระหรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานเพื่อต้านอนุมูลอิสระได้หลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) เสริมฤทธิ์ (synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ เป็นต้น (บุหรัน, 2556)

ปัจจัยที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระมีทั้งปัจจัยภายในร่างกายเช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชัน กระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว และปัจจัยภายนอกร่างกายเช่น มลพิษ รังสี รวมถึงการใช้ยารักษาโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การใช้ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) (เจนจิรา และประสงค์, 2554)

ในปัจจุบันยาปฏิชีวนะได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางว่ามีบทบาทสำคัญในการใช้รักษาโรค โดยเฉพาะการักษาอาการติดเชื้อจากจุลินทรีย์ก่อโรค ยาปฏิชีวนะหลายชนิดสังเคราะห์ขึ้นจากสารเคมี ซึ่งการใช้ปฏิชีวนะเหล่านี้อาจส่งผลข้างเคียงต่อผู้ใช้ เช่น การเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ถือเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นภายในร่างกาย รวมถึงการใช้ยาปฏิชีวนะที่ไม่ถูกวิธีหรือการใช้มากเกินจำเป็น จะส่งผลให้เชื้อเกิดการต่อต้านหรือดื้อยา (drug resistance) ขึ้นได้ ทำให้การใช้ยาปฏิชีวนะชนิดเดิมไม่ได้ผล อาจต้องมีการใช้ยาที่รุนแรงขึ้นและส่งผลเสียต่อร่างกายมากยิ่งขึ้น

ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน มนุษย์และธรรมชาติมีความสัมพันธ์กันอย่างมาก การแพทย์ในสมัยโบราณมีภูมิปัญญาที่นำเอาพืชรอบตัวมาใช้เป็นยารักษาโรค และในปัจจุบันมีการศึกษาค้นคว้ากันอย่างแพร่หลายถึงการใช้ประโยชน์จากพืชในเชิงการแพทย์และการดูแลสุขภาพ หลายงานวิจัยรายงานว่าพืชมีความสามารถในการสังเคราะห์สารประกอบทางเคมีได้หลากหลายและมีคุณประโยชน์นานัปการต่อการรักษาอาการของโรคต่างๆ ในมนุษย์ นอกเหนือจากการบำบัดรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยยาปฏิชีวนะซึ่งเป็นที่รู้จักกันในปัจจุบันว่าสามารถต่อต้านจุลชีพที่ทนต่อยาได้ การใช้ยาสมุนไพรก็เป็นอีกทางเลือกที่ได้รับการยอมรับมากขึ้นในปัจจุบัน มีรายงานจากหลายการศึกษาพบว่าพืชมีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระ ตลอดจนสามารถป้องกันการก่อตัวและต่อต้านการทำงานของอนุมูลที่เป็นพิษเหล่านี้ได้ (Sharmin และคณะ, 2014)

ต้นแคแสด (*Spathodea campunulana*) หรือต้นแคแดง จัดเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนของแอฟริกา ซึ่งในปัจจุบันสามารถพบได้ทั่วไปในเขตร้อน รวมถึงในทวีปเอเชีย ลักษณะเด่นของต้นแคแสดคือ เปลือกต้นเป็นสีน้ำตาลเข้มแตกเป็นร่อง ลักษณะของใบเป็นวงรี มีขนเล็กน้อย ดอกออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง มีสีส้มแสด ออกดอกในช่วงเดือนตุลาคมถึงกุมภาพันธ์ นิยมปลูกเป็นไม้ประดับเพื่อความร่มรื่นและความสวยงาม รวมทั้งการแพทย์แผนโบราณได้นำส่วนของเปลือกต้นและใบของต้นแคแสด มาใช้ในการรักษาบาดแผล จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า ส่วนประกอบต่างๆ ของต้นแคแสดมีฤทธิ์ในการรักษาบาดแผล รวมทั้งสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ และมีความเป็นไปได้ว่าสามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ (Akharaiyi และคณะ 2012)

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1) ศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ของสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลของส่วนดอก ใบ และเปลือกต้นจากต้นแคแสด (*Spathodea campanulata*) ที่พบในบริเวณสนามกีฬาของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
2) ศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (antimicrobial) ของสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลของส่วนดอก ใบ และเปลือกต้นจากต้นแคแสด (*Spathodea campanulata*) และศึกษาปริมาณของสารสกัดจากต้นแคแสดที่น้อยที่สุดในการควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (minimal inhibitory concentration, MIC)

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

สกัดสารสกัดหยาบจากดอก ใบ และเปลือกต้นของต้นแคแสด ด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator) จากนั้นนำมาศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay รวมไปถึงการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) นอกจากนั้นยังศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ (antimicrobial) ของสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลของส่วนดอก ใบ และเปลือกต้นจากต้นแคแสด รวมทั้งศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (minimal inhibitory concentration, MIC) โดยใช้วิธี Agar well diffusion ซึ่งใช้สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลของส่วนดอก ใบ และเปลือกต้นจากต้นแคแสด มาทดสอบกับเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus*

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ทำให้ทราบถึงผลของการนำดอก ใบ และเปลือกต้นของต้นแคแสด มาทำเป็นสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์
2) สามารถนำผลการศึกษาที่ได้ไปประยุกต์ใช้ทางด้านการแพทย์ การรักษาโรค และการดูแลสุขภาพ อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับไม้ยืนต้นอย่างแคแสด
3) สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับผู้ที่สนใจใช้ในการศึกษาค้นคว้าหรือทำการวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แคแสด (เต็ม, 2544)

(A) (B)

(C)

รูปที่ 2.1 ส่วนต่างๆของต้นแคแสด A) ต้นแคแสด B) ดอกแคแสด C) ใบแคแสด
ที่มา: http://frynn.com/แคแสด/ (10/05/2559)

ชื่อวิทยาศาสตร์:	*Spathodea campanulata*
วงศ์:	Bignoniaceae
ชื่อภาษาอังกฤษ:	African tulip tree, Fire bell, Flame of the Forest
ถิ่นกำเนิด:	เขตร้อนของแอฟริกา

แคแสด (Spathodea campanulata) จัดอยู่ในวงศ์แคหางค่าง โดยแคแสดนั้นเป็นพืชพื้นเมืองของแอฟริกาตอนใต้ และในภายหลังได้แพร่กระตายไปยังประเทศอื่น ๆ ที่มีอากาศค่อนข้างร้อน ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของแคแสดเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง สูง 15-20 เมตร เรือนยอดเป็นพุ่มกลมค่อนข้างทึบ เปลือกลำต้นสีน้ำตาลเข้ม แตกเป็นร่องตามยาว ใบเป็นใบประกอบแบบขนนก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลายคี่ ยาวประมาณ 30-45 ซม. ใบย่อยมี 4-9 คู่ รูปรีถึงรูปไข่ ขอบใบเป็นริ้วเล็กน้อย ปลายใบแหลมและมักจะงุ้มลง มีขนเล็กน้อย มีขนาดยาว 5-12 ซม. กว้าง 2-5 ซม. ดอกเป็นช่อตั้งที่ปลายกิ่ง ดอกย่อยมีจำนวนมาก โคนกลีบดอกติดกัน ปลายแผ่เป็นรูปแตร ปลายแยกเป็น 4-5 กลีบ กลีบดอกยับย่น สีส้มแสดถึงสีแดงแสด ดอกทยอยบาน ออกดอกราวเดือนตุลาคม – กุมภาพันธ์ ผลแบนคล้ายฝัก ปลายแหลม ผลแก่สีน้ำตาลดำ ผลแก่จะแตกเป็นด้านเดียวเมล็ดเล็กแบนมีปีก ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด จะเริ่มให้ดอกเมื่อมีอายุประมาณ 4 - 8 ปี

แต่ละส่วนมีสรรพคุณแตกต่างกันออกไป อาทิเช่น เปลือกใช้ต้มกินเป็นยาบำรุงธาตุในร่างกาย รักษาแผล โรคผิวหนัง แผลเรื้อรัง ใบใช้ใช้พอกแผล และดอกใช้รักษาแผลเรื้อรัง อีกทั้งยังนำมาประกอบอาหาร และให้ร่มเงาจึงนิยมปลูกตามสวนสาธารณะ

2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร

สมุนไพร หมายถึง ยาที่ได้จากพืช สัตว์ หรือแร่ ซึ่งยังไม่ได้ผสม ปรุง หรือเปลี่ยนสภาพ เช่น พืชก็ยังเป็นส่วนของ ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล ฯลฯ ซึ่งยังไม่ได้ผ่านขั้นตอนการแปรรูปใด ๆ แต่ในทางการค้าสมุนไพรมักจะถูกดัดแปลงในรูปต่าง ๆ เช่น ถูกหั่นให้เป็นชิ้นเล็กลง บดเป็นผงละเอียด หรืออัดเป็นแท่ง อย่างไรก็ตามในความรู้สึกของคนทั่ว ๆ ไป เมื่อกล่าวถึงสมุนไพร มักจะนึกถึงเฉพาะต้นไม้ที่นำมาใช้เป็นยาเท่านั้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าสัตว์ หรือแร่ มีการนำมาใช้น้อยและใช้ในโรคบางชนิดเท่านั้น อีกทั้งพืชสมุนไพรพันธุ์ไม้ต่าง ๆ ที่สามารถนำมาใช้ปรุงหรือประกอบเป็นยารักษา โรคต่าง ๆ ใช้ในการส่งเสริมสุขภาพร่างกายได้ ในการเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรนั้นมีหลายวิธีซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่สกัด สมบัติของสารในพืชที่จะมีความคงตัวทนต่อความร้อนมากน้อยเพียงใด และชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ ทั้งนี้แต่ละวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรนั้นจะมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกันไป

การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปการสกัดเบื้องต้นไม่ว่าจะสกัดด้วยวิธีใดหรือใช้ตัวทำละลายใด จะได้เป็นองค์ประกอบของผสมหรือสารสกัดหยาบ ซึ่งเป็นสิ่งที่สกัดออกมาจากสมุนไพร โดยน้ำยาสกัดทำละลาย (solvent) สารสกัดอย่างหยาบนี้เป็นของผสมขององค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรซึ่งมีองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ชนิดและสัดส่วนขององค์ประกอบในสารสกัดจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพของสมุนไพรที่ใช้และสภาวะที่ใช้ในการสกัด วัตถุประสงค์ในการสกัดสารจากพืชสมุนไพร คือ

- เพื่อลดขนาด (dose) ของการใช้สมุนไพรลงให้อยู่ในปริมาณที่เหมาะสม
- เพื่อสกัดแยกเอาสาระสำคัญออกจากพืชสมุนไพร
- เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นของสาระสำคัญสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1 องค์ประกอบของสารสำคัญที่พบได้ในพืช

- สารกลุ่มไขมัน (Lipids) ไขมันที่พบในพืช อาจอยู่ในรูปของแข็ง หรือของเหลว ที่ไม่ละลายน้ำ แต่สามารถละลายได้ตัวทำละลายอินทรีย์ สารกลุ่มไขมันมีคุณสมบัติเป็นสารอีมอลเลียนต์ ช่วยบำรุงผิวทำให้ผิวนุ่มลื่น น้ำมันที่ได้จากพืชมักดูดซึมสู่ผิวได้ดีไม่เหนียวเหนอะหนะ อีกทั้งยังอุดมไปด้วย Phytosterol และวิตามินอี ซึ่งช่วยบำรุงผิวและชะลอความแก่ได้

- สารประกอบฟีนอล (Phenol) มักมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อโรค ลดอาการอักเสบ แต่หากใช้กับผิวหนังอาจก่อให้เกิดอาการระคายเคืองได้ ต้องระวังโดยใช้ในความเข้มข้นที่ต่ำ ตัวอย่างเช่น Thymol ที่พบได้ในต้นไธม์ (Thyme)

- สารกลุ่มแทนนิน (Tannins) เป็นสารที่สามารถพบได้ในพืชเกือบทุกชนิดและกระจายอยู่ทั่วทุกส่วนของพืช สารกลุ่มนี้ละลายน้ำได้ มีฤทธิ์ในการสมานแผลไฟไหม้โดยกระตุ้นให้เนื้อเยื่อสร้างใหม่เร็วขึ้น อีกทั้งยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อไวรัสและต้านมะเร็งได้อีกด้วย

- สารกลุ่มโปรตีน (Proteins) โปรตีนในพืชสามารถแยกออกมาได้ในรูปผลึก มักถูกนำมาใช้เป็นสารอาหารในการบำรุงผิวและเส้นผม ซึ่งโปรตีนที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางจะอยู่ในรูปกรดอะมิโน (Amino acid), Derived protein และเอนไซม์ (Enzyme)

- สารกลุ่มแอลคาลอยด์ (Alkaloids) คือสารที่มักพบในพืชที่มีดอกและพบในทุกส่วนของพืช เป็นสารที่ไม่ละลายในน้ำแต่ละลายในอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม และตัวทำละลายชนิดไม่มีขั้ว สารแอลคาลอยด์มีฤทธิ์ทางยา เช่น ลดไข้ ขยายม่านตา ลดอาการอักเสบ ต้านมะเร็ง เป็นต้น

- สารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต (Carbohydates) ในพืชสามารถแบ่งได้ 3 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่ม True sugar ในทางอุตสาหกรรมเครื่องสำอางนำมาใช้เป็นสารให้ความชุ่มชื้น (Demulcen) กลุ่ม Polysaccharides มักใช้เป็นสารทำให้ผิวนุ่มลื่น (Slipering agent) และกลุ่ม Derived carbohydrates ทำให้ผิวเย็นชุ่ม (Skin soothing)

- สารกลุ่มไกลโคไซด์ (Glycosides) ที่พบในพืชมักทำหน้าที่สะสมน้ำตาล ควบคุมและกำจัดสารพิษที่มีอันตรายต่อพืช สารกลุ่มไกลโคไซด์มีฤทธิ์ทางยา เช่น ลดไข้ แก้ปวด เป็นต้นและในทางอุตสาหกรรมเครื่องสำอางมีคุณสมบัติช่วยให้ผิวชุ่มชื้น และลดการสูญเสียน้ำในผิวหนังได้

- สารกลุ่มน้ำมันหอมระเหย (Essential oils) เป็นสารที่มีกลิ่นหอมซึ่งพบได้ในพืชหลากหลายชนิด ในทางอุตสาหกรรมเครื่องสำอางน้ำมันหอมระเหยถือว่ามีความสำคัญอย่างมาก เพราะเป็นส่วนประกอบหลักของสารแต่งกลิ่นในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ฆ่าเชื้อโรค และดับกลิ่น

- สารกลุ่มเรซิน (Resins and Resin combinations) สารเรซินเป็นของแข็งใสหรือโปร่งแสง เปราะ ซึ่งมักพบปนอยู่กับน้ำมันหอมระเหย และถูกเรียกว่า โอลีโอเรซิน (Oleoresins) ในธรรมชาติพบในพริกและขิง เป็นต้น สารกลุ่มนี้สีคุณสมบัติทางยา เช่น ขับเสมหะ ฆ่าปรสิต ขับลม และแก้ระคายเคือง (นิจศิริ เรืองรังสี, 2534)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย

ปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether)เป็นตัวทำลาย ซึ่งใช้สกัดพืชสุมนไพรในขั้นต้นเพื่อขจัดสารพวกไขมันออกไปก่อนที่จะทำการสกัดขั้นต่อไป ตัวทำละลายชนิดนี้นิยมใช้สกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้ว เช่น ไขมัน สเตียรอยด์ เทอร์พีนอยด์ เป็นต้น

เมทานอล (methanol) เป็นตัวทำละลายที่ใช้สกัดสาระสำคัญที่มีขั้วเช่นเดียวกับแอลกอฮอล์แต่นิยมใช้เอทานอลมากกว่าเพราะมีราคาถูกและมีความเป็นพิษน้อย

เอทานอล (ethanol) จัดเป็นตัวทำละลายที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับกับน้ำเนื่องจากมีความจำเพาะในการละลายมากกว่าน้ำ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หากต้องการทำให้สารสกัดเข้มข้นระเหยง่าย

2.3.1 การเลือกตัวทำละลายที่นำมาใช้ในการสกัดมีหลักทั่วไป ดังนี้

1.ต้องละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี

2. ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด

3. ถ้าต้องการแยกสี ตัวทำละลายจะต้องไม่มีสี ถ้าต้องการแยกกลิ่น ตัวทำละลายต้องไม่มีกลิ่น

4. ไม่มีพิษ มีจุดเดือดต่ำ และแยกตัวออกจากสารที่ต้องการสกัดได้ง่าย

5. ไม่ละลายปนเป็นเนื้อเดียวกับสารที่นำมาสกัด

6. มีราคาถูก

ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัด ได้แก่ น้ำ เบนซิน อีเทอร์ โทลูอีน และเฮกเซน สำหรับการสกัดน้ำมันพืชนิยมใช้เฮกเซนในการสกัดน้ำมันพืชนั้น จากนั้นนำไปกรองเอากากเมล็ดพืชออกแล้วนำสารละลายไปกลั่นแยกลำดับส่วนเพื่อแยกเฮกเซนออกไปจากสารที่สกัดได้ เฮกเซนมีสูตรทางเคมีคือ C_6H_{14} เป็นของเหลวใส ไม่มีสี มีจุดเดือด 69 องศาเซลเซียส (นันทนา, 2547)

2.4 สารอนุมูลอิสระ

2.4.1 ความหมายของสารอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือ อะตอม โมเลกุลหรือไอออนซึ่งมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวหรือการจัดเรียงเป็นเชลล์เปิด (open shell) อนุมูลอิสระอาจมีประจุเป็นบวก ลบหรือเป็นศูนย์ก็ได้ ด้วยข้อยกเว้นบางประการ อิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวเหล่านี้ทำให้อนุมูลอิสระว่องไวต่อปฏิกิริยาสูง อนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในการสันดาป เคมีบรรยากาศ พอลิเมอไรเซชัน เคมีพลาสมาชีวเคมี และกระบวนการทางเคมีอีกหลายอย่าง ในสิ่งมีชีวิต ซูเปอร์ออกไซด์ ไนตริกออกไซด์และผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาของมันควบคุมหลายกระบวนการ เช่น ควบคุมการบีบตัวของหลอดเลือด ซึ่งควบคุมความดันโลหิตอีกต่อหนึ่ง นอกจากนี้ อนุมูลอิสระยังมีบทบาทสำคัญในเมแทบอลิซึมตัวกลางของสารประกอบทางชีวภาพหลายชนิด (Gerhard Herzberg, 1971)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุมูลอิสระเกิดขึ้นเป็นปกติจากปฏิกิริยาในร่างกายอยู่แล้ว โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อมีธาตุเหล็ก ทองแดง แมงกานีส โคบอลต์ โครเมียม นิเกิลน้อย มักเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยร่างกายจะมีระบบกำจัดอนุมูลอิสระ แต่หากร่างกายได้รับสารอนุมูลอิสระจากภายนอก เช่น ได้รับจากอาหารบางชนิด จากขบวนการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีไขมันประกอบสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่อุณหภูมิสูง ๆ มาใช้อีก หรือจากสิ่งแวดล้อม เช่น แสงอาทิตย์ซึ่งมีรังสีอัลตราไวโอเลต การแผ่รังสี รังสีเอกซ์ หรือจากมลพิษ เช่น ควันบุหรี่ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์จากไอเสียรถยนต์ มากเกินไป หรือในภาวะที่ร่างกายสามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ลดลง ก็จะทำให้มีอนุมูลอิสระมากเกินไป เป็นสาเหตุของโรคภัยได้ จึงจำเป็นต้องใฝ่หาอิเล็กตรอนเพื่อมาทำให้เกิดความเสถียร ดังนั้นจึงไปแย่งอิเล็กตรอนจากสารอื่นเพื่อมาทดแทน สารอื่นที่ถูกแย่งอิเล็กตรอนมาก็กลายเป็นสารที่สร้างปัญหา เนื่องจากจะต้องไปแย่งเอาอิเล็กตรอนมาทดแทนเช่นเดียวกัน ดังนั้นจึงเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ขึ้นต่อเนื่อง อนุมูลอิสระจะมีอายุสั้นมาก จึงจัดเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี โมเลกุลดังกล่าวนี้แหละเป็นตัวก่อเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ในร่างกาย ซึ่งการเผาผลาญอาหารประเภทเนื้อสัตว์จะมีของเสียที่เรียกว่าอนุมูลอิสระเป็นจำนวนมาก (น้ำฝน และถนอมนวล, 2556)

อนุมูลอิสระที่มากเกินไปจะเป็นอันตรายต่อไขมัน (โดยเฉพาะไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ) โปรตีน หน่วยพันธุกรรม และคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจะไม่กล่าวถึงรายละเอียดในที่นี้ ทำให้เพิ่มอัตราการเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลายชนิด โรคที่สำคัญและมีการศึกษากันมาก ได้แก่ โรคหลอดเลือดตีบและแข็งตัว โรคมะเร็งบางชนิด โรคอัลไซเมอร์ โรคไขข้ออักเสบ โรคความแก่ เป็นต้น

โดยปกติแล้วมักจะกล่าวถึงเฉพาะอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย แต่ในความเป็นจริงจะมีตัวกระตุ้นที่สำคัญเรียกว่า Reactive Oxygen Species (ROS) ซึ่งจะหมายถึงโมเลกุลที่ว่องไวต่อการทำปฏิกิริยา ซึ่งอาจเป็นอนุมูลอิสระหรือไม่ใช่อนุมูลอิสระ (Nonradicals) ก็ได้ ตัวอย่างของอนุมูลอิสระและ ROS เช่น อนุมูลซูเพอร์ออกไซด์ (Superoxide Anion Radical) อนุมูลไฮดรอกซิล (Hydroxyl Radical) อนุมูลเพอร์ออกไซด์ (Peroxide Radical) อนุมูลเพอร์ออกซิล (Peroxyl Radical) ไฮโดรเจนเพอร์ ออกไซด์ (Hydrogen Peroxide) โอโซน (Ozone) ออกซิเจนอะตอมเดี่ยว(Singlet Oxygen) อนุมูลไฮโดรเจน (Hydrogen Radical) และอนุมูลเมทิล (Methyl Radical) เป็นต้น

2.4.2 แหล่งที่มาของสารอนุมูลอิสระ

2.4.2.1 อนุมูลอิสระที่เกิดในร่างกายของเรา เป็นผลจากในร่างกายของเรามีกระบวนการเผาผลาญอาหาร หรือที่เรียกเป็นทางการว่า กระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) เกิดขึ้นตลอดเวลา ซึ่งเป็นผลจากปฏิกิริยาเคมีและกิจกรรมของเซลล์ในร่างกาย ที่ต้องดำเนินการตามปกติ ตัวอย่าง เช่น ในกระบวนการหายใจจะเกิดออกซิเจนที่มีประจุลบ ซึ่งก็คืออนุมูลอิสระ สารตัวนี้สามารถรวมตัวกับไขมัน LDL (Low Density Lipoproteins) ได้ดี และยังสามารถรวมตัวกับสาร

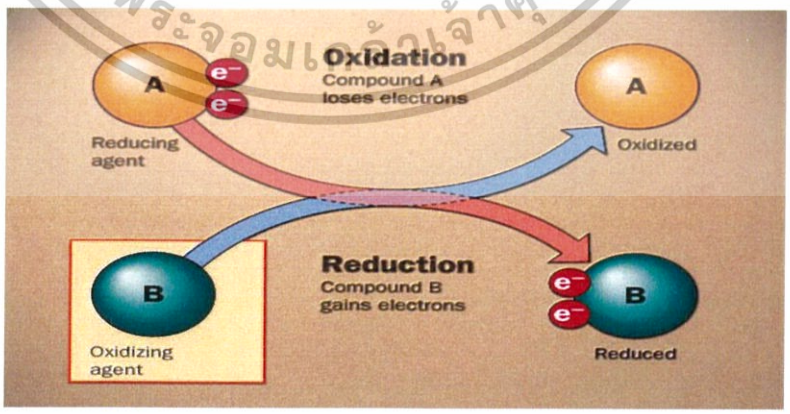
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บางชนิดในร่างกายก่อให้เกิดสารพิษที่ทำลายเนื้อเยื่อ หรืออาจไปเปลี่ยนแปลงข้อมูลทางพันธุกรรมในดีเอ็นเอ ทำให้เซลล์ปกติเปลี่ยนสภาพไปเป็นเซลล์มะเร็งเป็นต้น

2.4.2.2 อนุมูลอิสระที่มาจากนอกร่างกาย ซึ่งเกิดได้หลายปัจจัยด้วยกันคือ จากการได้รับเชื้อโรค เช่นการติดเชื้อไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรีย โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (Autoimmune Diseases) เช่น ข้ออักเสบ รูมาตอยด์ จากรังสี เช่นรังสีอัลตราไวโอเลต รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา จากมลภาวะเช่นควันบุหรี่ แก๊สจากท่อไอเสียรถยนต์เช่น ไนตรัสออกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ เขม่า จากเครื่องยนต์ ฝุ่น จากกระบวนการประกอบอาหารเช่น การย่างเนื้อสัตว์ ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่มีอุณหภูมิสูงๆกลับมาใช้อีก ทำให้เกิดอาหารประเภทเกรียม ไหม้ หรือเกิดจากการปิ้ง ย่าง จากยาบางชนิดเช่น โดโซรูบิซิน (Doxorubicin) เพนนิซิลามิน (Penicillamine) พาราเซทามอล (Paracetamol) เป็นต้น

2.4.3 ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation)

ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) หมายถึงปฏิกิริยาที่โมเลกุลหรืออะตอมมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากวงโคจรให้กับโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน ปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชัน (reduction) จะเกิดคู่กัน สารที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนเรียกว่า ตัวรีดิวซ์ (reducing agent) และเรียกสารที่ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนนี้ว่า ตัวออกซิไดส์ (oxidizing agent) โดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน มักจะเกี่ยวข้องกับออกซิเจน นอกจากนี้ออกซิเดชันยังหมายถึงการเสียไฮโดรเจนอะตอมออกจากโมเลกุลอีกด้วย ปฏิกิริยาออกซิเดชันและอนุมูลอิสระนั้นมี ความเกี่ยวข้องกัน เนื่องจากปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดอนุมูลอิสระของสารต่างๆ ได้มากมายหลายชนิด และอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารอื่นๆ เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป อะตอมที่ทำหน้าที่เป็น reducing agent ได้ดี เป็นอะตอมที่มีขนาดใหญ่ จึงมีระยะห่างระหว่าง นิวเคลียส กับอิเล็กตรอนวงนอกสุดมาก จึงมีแรงดึงดูดอิเล็กตรอน (electronegativity) ต่ำ ทำให้สูญเสียอิเล็กตรอนง่าย



รูปที่ 2.2 ปฏิกิริยารีดอกซ์แบ่งเป็น 2 ส่วนคือปฏิกิริยาออกซิเดชั่น และปฏิกิริยารีดักชั่น
ที่มา: http://members.chello.nl/r.kuijt/en_oxidation_reduction.htm (12/05/2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4 ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระจะเกิดปฏิกิริยาที่เป็นแบบปฏิกิริยาลูกโซ่แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือขั้นแรกเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกสร้าง หรือผลิตขึ้น เรียกขั้นตอนนี้ว่าอินนิทิเอชัน (initiation step) ขั้นที่สองเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลอิสระตัวอื่นต่อๆกันไป เรียกขั้นตอนนี้ว่าพรอพาเกชัน (propagation step) และขั้นสุดท้ายเรียกว่าขั้นเทอร์มิเนชัน (termination step) เป็นขั้นหยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระเป็นขั้นตอนที่มีการรวมกันของอนุมูลอิสระ 2 อนุมูล ได้เป็นสารที่มีความเสถียร โดยทั่วไปการที่โมเลกุล หรืออะตอมของสารที่มีอิเล็กตรอนเข้าคู่กันครบเสียอิเล็กตรอนไปกลายเป็นอนุมูลอิสระได้นั้นต้องอยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง แต่ก็มีโมเลกุลอีกหลายชนิดที่กลายเป็นอนุมูลอิสระได้เมื่ออยู่ในสภาวะปกติซึ่งรวมถึงสารชีวโมเลกุลต่างๆที่พบในสิ่งมีชีวิตด้วย (อนันต์, 2551)

2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

2.5.1 ความหมายของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือสารที่ทำหน้าที่ยับยั้ง หรือต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือสารที่สามารถขจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกาย ร่างกายมีระบบต้านออกซิเดชันแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ ประเภทแรกป้องกันการเกิดสารอนุมูลอิสระ ได้แก่ เอนไซม์ superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, peroxidase, cytochrome C peroxidase ทองแดง สังกะสี ซีเลเนียม ซึ่งมีทองแดงอยู่ในโมเลกุล และประเภทสองคือสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มที่ทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่นี้ ได้แก่ วิตามินอี เบต้า-แคโรทีน วิตามินซี ในกรดอะมิโนซิสเทอีนซึ่งมีอยู่ในโปรตีน เช่น เนื้อสัตว์ นอกจากนี้ยังมีสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่น่าสนใจ และสารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งตามกลไลการยับยั้งได้ 3 ชนิด ดังต่อไปนี้

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

2.5.2 ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระ

2.5.2.1 สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซิน มีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่ สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoid) สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) และพบว่าอาจมี

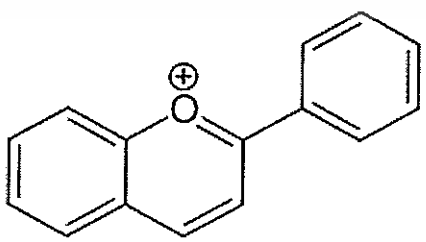
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุล ของโปรตีน อัลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น

พบว่าสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และแทนนิน เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระที่สำคัญคืออนุมูล peroxyl โดยมีกลไก 2 แบบ คือเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์ สารประกอบฟีนอลิกจะป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เกิดเป็นสารที่มีความเสถียร ดังนั้นจึงสามารถป้องกันการเกิดขั้นตอนโพลพาเกชันได้ อีกทั้งสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังสามารถทำหน้าที่เป็นสารคีเลตดักจับไอออนของโลหะเข้าไว้ในโมเลกุล เช่น เคอร์ซิทีน

2.5.2.2 ฟลาโวนอยด์ เป็นสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) ประเภทพอลีฟีนอล (polyphenol) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนแอโรมาติก (aromatic ring) ที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) รวมอยู่ในโมเลกุล ตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป สามารถละลายในน้ำได้ ส่วนใหญ่มักพบอยู่รวมกับน้ำตาล ในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) สารประกอบ flavonoids ได้แก่ flavonol, flavonone, flavone, isoflavone และ anthocyanins ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยไปกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในเซลล์พืชออกไป ความสามารถของการต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับโครงสร้างของฟลาโวนอยด์ และคุณสมบัติของฟลาโวนอยด์ ฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ ที่พบบางส่วนมีดังนี้

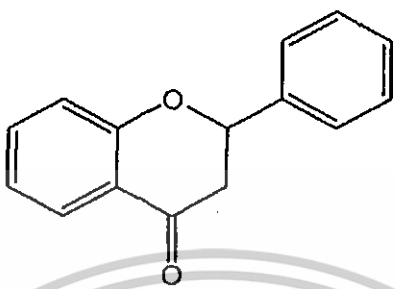
1. แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) เป็นรงควัตถุที่พบในพืชทั้งในดอกและในผลของพืช ให้สีแดง น้ำเงิน หรือม่วง เป็นสารที่ละลายในน้ำได้ดี มีฤทธิ์เป็น สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของลิโปโปรตีน และการตกตะกอนของเกล็ดเลือด ทำให้มีบทบาทในการป้องการการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่นโรคเกี่ยวกับหลอดเลือดหัวใจ มะเร็ง เบาหวาน และช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) อีโคไล (*Escherichia coli*) ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงและอาหารเป็นพิษ (อรุษา, 2554).



รูปที่ 2.3 สูตรโครงสร้างทางเคมีของแอนโทไซยานิดิน
ที่มา: https://en.wikipedia.org/wiki/anthocyanidin (12/05/2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

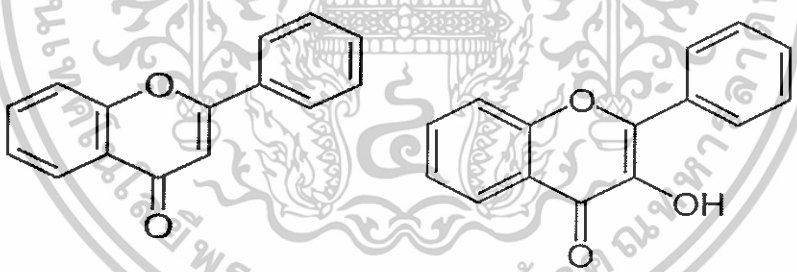
2. ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อย (minor flavonoid) ที่พบในธรรมชาติใน ธรรมชาติได้แก่ ฟลาวานโนน (flavanones) ฟลาวาน-3-ออล (flava-3-ols) ไดไฮโดรฟฟลาโวน (dihydroflavone) แลไดไฮโดรชาล์โคน (dihydrochalcones) กลุ่มนี้พบในพืชตระกูลส้ม (citrus) ได้แก่ ส้ม องุ่น แต่จะพบในส่วนที่เป็นน้ำ



รูปที่ 2.4 สูตรโครงสร้างทางเคมีของฟลาวานโนน (flavanones)

ที่มา: http://www.google.com/patents/EP1838275A1?cl=en (12/05/2559)

3. ฟลาโวน (flavone) และฟลาโวนอล (flavonol) เป็นกลุ่มที่พบมาก ที่สุดของฟลาโวนอยด์ซึ่งสามารถพบได้ในบลูเบอร์รี่ เชอร์รี่หวาน บร็อคโคลี่ หัวหอม ชาดำ ชาเขียว ไวน์แดง มันฝรั่ง เขือเทศ แครอท ผักขม ส้ม ลูกแพร แอปเปิ้ล องุ่น เป็นต้น



(5) (6)

รูปที่ 2.5 สูตรโครงสร้างทางเคมีของฟลาโวน (flavone)

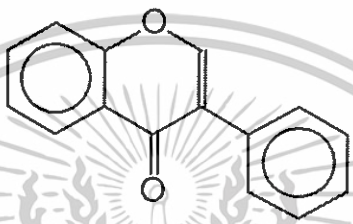
รูปที่ 2.6 สูตรโครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอล (flavonol)

ที่มา: http://www.google.com/patents/EP1838275A1?cl=en (12/05/2559)

4. ไอโซฟลาโวน (Isoflavones) เป็นไฟโตนิวเทรียนต์หรือสารอาหารจาก พืช ที่ใกล้เคียงกับฟลาโวนอยด์ เมื่อเข้าสู่ ร่างกายจะถูกเปลี่ยนเป็นไฟโตเอสโทรเจน (เอสโทรเจนจาก พืช) ซึ่งเป็นสารที่มีรูปร่างคล้ายฮอร์โมน และช่วยยับยั้ง มะเร็งที่เกี่ยวกับฮอร์โมนที่สัมพันธ์กับฮอร์โมน เพศ เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งเยื่อบุโพรงมดลูก เป็นต้น ไอโซฟลาโวน ยังช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ในเลือด ส่งผลต่อการป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด ไอโซฟลาโวนที่รู้จักกันดีคือ เจนีสทีน (Genistein) ช่วยยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง โดยการป้องกันการเติบโต ของเส้น

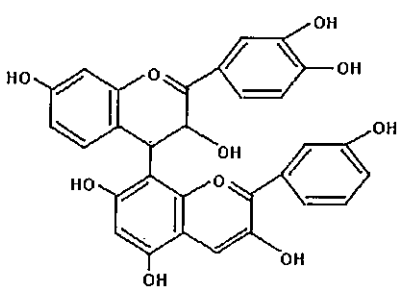
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลือดใหม่ที่ไปหล่อเลี้ยงเซลล์มะเร็ง และอาจช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านม และมะเร็งต่อมลูกหมาก และเดดซีน (Daidzein) ทำงานร่วมกับเจนิสทีนในการยับยั้งเอนไซม์ที่ช่วยให้เซลล์มะเร็งเติบโต อาจมีประโยชน์เป็นพิเศษสำหรับเพศหญิง ในแง่ของการควบคุมการทำงานของฮอร์โมนเอสโทรเจน ที่อาจมีฤทธิ์ มากไปจนกระตุ้นการเติบโตของมะเร็งเต้านม นอกจากนี้ยังช่วยลดระดับแอลกอฮอล์ในเลือดและลดอาการเมาค้าง ได้อีกด้วย เดดซีน มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และสารต้านมะเร็ง ซึ่งไอโซฟลาโวนที่พบในถั่วเหลืองนั้น เป็นสารกลุ่มที่มีโครงสร้างคล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน จึงสามารถไปจับกับตัว รับเอสโตนเจนในร่างกายได้ สารในกลุ่มนี้ที่พบมากคือ genistein, daidzain และ coumestrol



รูปที่ 2.7 สูตรโครงสร้างทางเคมีของไอโซฟลาโวน (Isoflavones)
ที่มา: http://www.mdpi.com/1422-0067/11/2/595/htm (12/05/2559)

5. แทนนิน (tannin) เป็นสารที่มีโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน มีสถานะเป็นกรดอ่อนรสฝาด เป็นสารให้ความฝาดในพืช พบได้ในพืชหลายชนิด แทนนิน มี 2 ชนิด คือ คอนเดนส์แทนนิน (condensed tannins) หรือเรียกอีกอย่างว่า โปรแอนโทรไซยานิน (proanthrocyanin) พบได้ในส่วนเปลือกต้น และแก่นไม้เป็นส่วนใหญ่ และ สารไฮโดรไลซ์แทนนิน (hydrolysable tannins) คือแบบที่สามารถถูกแยกออกเป็นโมเลกุลเล็กๆ ได้ พบมากในส่วนใบฝัก และส่วนที่ปูดออกมาจากปกติ เมื่อต้นไม้ได้รับอันตราย (gall) แทนนิน มีคุณสมบัติตกตะกอนโปรตีน ทำให้หนังสัตว์ไม่เน่าเปื่อย จึงมีการใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนังด้วย แทนนินมีฤทธิ์ฝาดสมานจึงใช้เป็นยารักษาโรคท้องเสียได้ แทนนินมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ ตัวอย่างแทนนินได้แก่ theogallin, gallic acid, ellagic acid แทนนินมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร หากกินเข้าไปมากจะทำให้รู้สึกท้องอืด หรือท้องผูก มีอาการเหมือนกับการดื่มน้ำชา (บุหรัน, 2556)



รูปที่ 2.8 สูตรโครงสร้างทางเคมีของแทนนิน (tannin)
ที่มา: http://www.mdpi.com/1422-0067/11/2/595/htm (12/05/2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH

DPPH คืออนุมูลอิสระที่เสถียรละสามารถรับอิเลคตรอนได้อีก เมื่อได้รับอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลอื่นจะทำให้สารดังกล่าวไม่เป็นอนุมูลอิสระ โดยในการทดสอบจะให้ DPPH (สีม่วงเข้ม) ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในระยะเวลาที่กำหนด วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จะแปรผันกับความเข้มข้นของ DPPH ดังนั้นการลดลงของความเข้มข้นของ DPPH (สีอ่อนลง) จะบ่งบอกความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ

นาโนเมตร ของรังสีอุลตร้าไวโอเลต (Ultraviolet) แต่การ ตรวจสอบด้วยสารเรืองแสงจะเป็นที่นิยมมากกว่าเนื่องจาก ความจำเพาะเจาะจงและความไวในการตรวจสอบ

2.7 การวิเคราะห์ความสามารถของการยับยั้งของเชื้อจุลินทรีย์

Diffusion test วิธีที่ใชกันอยางแพรหลายมาก โดยเปนที่ยอมรับขององคการอาหารและยา แต่เปนการทดสอบเชิงคุณภาพเทานั้น ซึ่งสามารถบอกไดเพียงวาเชื้อมีความไวตอยา มีความไวปานกลาง หรือดื้อยา ไม่อาจทราบค่าความเขมขนที่ต่ำที่สุดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโต หรือค่าความเขมข้นที่ต่ำที่สุดมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได 99.9 % ไดไมเหมาะในการ ทดสอบเชื้อที่เจริญช้า และเชื้อแบคทีเรียที่เจริญเติบโตที่สภาวะไม่มีออกซิเจน (Anaerobic bacteria) การทดสอบความไวตอสารต้านจุลชีพโดยวิธี agar well diffusion ทำโดยนำเชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงให้เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อมาปรับความขุ่นใน Normal saline solution ให้ขุ่นเท่ากับ McFarland standard nephelometer No.0.5 จากนั้นใชสำลีพันไมที่ปราศจากเชื้อจุมเชื้อที่ได้ปรับความขุนแล้วปายใหทั่วผิวหน้าจานเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton agar (MHA) แลวตั้งทิ้งไว15 นาที รอให้ผิวหน้าอาหารแห้ง แล้วทำการเจาะหลุมด้วย cork-borer ปิเปตสารสกัดลงในหลุมที่เจาะไว้ และปิเปตยาปฏิชีวนะลงในหลุมเพื่อใช้เป็นการควบคุมเชิงบวก จากนั้นนำไปบ่ม (Incubate) ในสภาวะที่มีคารบอนไดออกไซด์ (Aerobic condition) อุณหภมิ 35 – 37 °C หลังจากปลอยใหเชื้อเจริญเติบโตในตูบ่มนาน 18 – 24 ชั่วโมง นำจานเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อเจริญอยูโดยทั่วจาน (ยกเวนบริเวณรอบๆปากหลุมที่เจาะไว้) มาวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้ง (zone of inhibition) ซึ่งจะเห็นเป็นวงใสรอบปากหลุมยา โดยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสจะแปรผกผันกับค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)

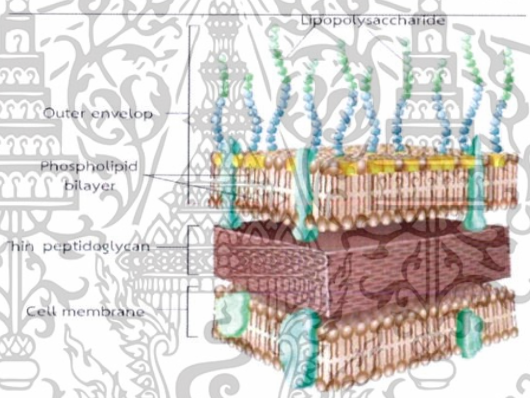
Minimum Inhibitory Concentration (MIC) เปนความเขมขนต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ หน่วยที่ใชโดยทั่วไป คือ ไมโครกรัม (μg) ตอมิลลิลิตร (ml) หรือหนวยสากล (IU, international unit) ตอมิลลิลิตร คา MIC นี้ สามารถนำมาใชเปนคาเปรียบเทียบเพื่อดูความไวของเชื้อหนึ่งๆ ตอยาตานจุลชีพ หลายๆ ชนิด หรือความไวของเชื้อหลายๆ ชนิดตอยาหนึ่งๆ และรวมทั้งเพื่อประเมินค่าอื่นที่เกี่ยวข้องกับยาหรือแปรผลของยาตอเชื้อ ในการทดสอบเพื่อหาคา MIC ยาควรไดรับการเจือจางให้มีความเขมขนลดลงทุก 2 เทา ไปเรื่อยๆ (2-fold serial dilution)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิน อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 โครงสร้างผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย

2.8.1 แบคทีเรียแกรมลบ

แบคทีเรียแกรมลบโครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์นอกจากสายของเพปทิโดไกลแคน ที่เรียงตัวซ้อนกันเป็นชั้นบางๆแล้ว องค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ ไม่พบ teichoic acid เป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้โครงสร้างโดยภาพรวมและองค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์จะมีความแตกต่างจากแบคทีเรียแกรมบวก กล่าวคือ พบส่วนที่ปกคลุมชั้นของเพปทิโดไกลแคน อยู่ด้านบน ส่วนนี้เรียกว่า outer membrane ซึ่งเป็นผนังชั้นนอกสุดองค์ประกอบโดย outer membrane ส่วนใหญ่เป็นลิพอพอลิแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide) ที่เกิดจากการเชื่อมยึดกันของ lipid A และ O polysaccharide หรือเรียกอีกชื่อว่า O side chain ฟอสฟอลิพิด (phospholipid) ลิพอโปรตีน (lipoprotein) นอกจากนี้พบโปรตีนอีกหลายชนิด ที่สำคัญคือ Porin ที่มีบทบาทในการควบคุมการผ่านเข้าและออกของสารต่างๆที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย รายละเอียดของโครงสร้างและองค์ประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ แสดงในภาพที่ 1 (ธวัชชัย, ม.ป.ป.)



รูปที่ 2.9 โครงสร้างแบคทีเรียแกรมลบ

ที่มา: https://sites.google.com/site/baekhthireiy/kar-canaek/khorngsrang-laea-xngkh-prakxb-thang-khemi-khxng-baekhthireiy-kae-rm-lb (12/05/2559)

โครงสร้างชนิดหนึ่งที่พิเศษของ Outer membrane คือ lipopolysaccharides (LPS) ซึ่งประกอบด้วย LPS มีคุณสมบัติเป็นสารพิษเอนโดทอกซิน (endotoxin) ซึ่งจะพบอยู่ที่ชั้นนอกสุด ของเมมเบรนชั้นนอก (outer membrane) ของแบคทีเรียแกรมลบเท่านั้น LPS ประกอบด้วยส่วนประกอบ 3 ชนิด คือ

1. lipid A อยู่ในเมมเบรนชั้นนอก (outer membrane) มีความสำคัญในการเป็น toxic component (endotoxin) ซึ่งประกอบด้วย Glucasamine – 4 – Phosphate, ethanolaminev และ Long chain fatty acid หลายชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

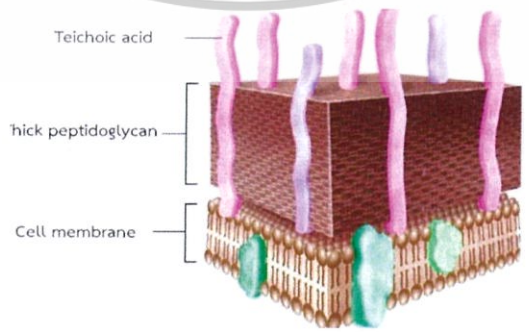
2. core polysaccharide พบอยู่ที่ผิวเมมเบรน ประกอบด้วย ethanolamine, heptose และ phosphate trisaccharide of 2 – keto –3- deoxyoctonic acid (KDO) ทำหน้าที่เชื่อม Lipid A กับ Core Polysaccharide

3. specific antigen หรือ O – antigen polysaccharide เป็นส่วนที่ยื่นออกมาจากผิว เมมเบรน ปฏิกิริยาทาง serology ของแบคทีเรียแกรมลบ (นงลักษณ และปรีชา, 2541)

บทบาทหน้าที่ของ outer membrane คือ ช่วยป้องกันเซลล์แบคทีเรียโดยเฉพาะแบคทีเรียก่อ โรคจากกระบวนการฟาโกไซโทซิสของเซลล์ให้อาศัย รวมถึงมีส่วนช่วยให้เซลล์ทนต่อการทำลายโดยสารปฏิชีวนะ (antibiotics) สารซักฟอก (detergents) โลหะหนัก (heavy metals) สี (dyes) และ digestive enzymes นอกจากนี้พบว่า O polysaccharide และ lipid A ของแบคทีเรียก่อโรคมีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน และ endotoxin ตามลำดับ คุณสมบัติของการเป็นแอนติเจนมีประโยชน์มากในการช่วยระบุชนิดหรือสายพันธุ์ของแบคทีเรียก่อโรค ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการระบุชื่อของแบคทีเรีย ทำให้การรักษาอาการของโรคเป็นไปอย่างถูกต้องและรวดเร็ว ส่วน endotoxin นั้นมีผลต่อระบบการไหลเวียนโลหิตของมนุษย์และสัตว์ที่ติดเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว ทำให้เกิดอาการไข้สูงและหมดสติ หากรักษาไม่ทันท่วงทีมนุษย์และสัตว์ดังกล่าวอาจได้รับอันตรายถึงแก่ชีวิต นอกจาก outer membrane แล้ว พบว่าในโครงสร้างของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบมีช่องว่างระหว่าง outer membrane และเยื่อหุ้มเซลล์ที่เรียกว่า periplasmic space หรือ periplasm ซึ่งเป็นบริเวณที่พบเอนไซม์หลายชนิดที่มีบทบาทในการย่อยสลายสารชีวโมเลกุล (biomolecules) ขนาดใหญ่หลายชนิดที่จำเป็นต่อการเจริญของเซลล์ ก่อนที่เซลล์จะขนส่งเข้าสู่ภายในเซลล์โดยการทำงานของโปรตีนอีกกลุ่มที่ชื่อว่า transport proteins (ธวัชชัย, ม.ป.ป.)

2.8.2 แบคทีเรียแกรมบวก

แบคทีเรียแกมบวก (Gram positive eubacteria) เป็นแบคทีเรียที่มีผนังเซลล์หนา ประกอบด้วยpeptidoglycan แต่ไม่มีเยื่อสารประกอบไขมันและคาร์โบไฮเดรตหุ้มภายนอก เหมือนกับแบคทีเรียแกรมลบ

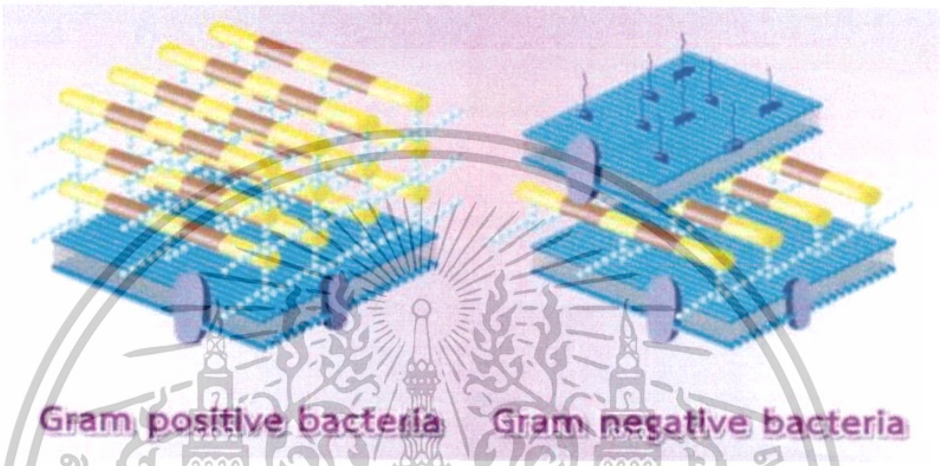


รูปที่ 2.10 โครงสร้างแบคทีเรียแกรมบวก

ที่มา: https://sites.google.com/site/baekhthireiy/kar-canaek/khorngsrang-laea-xngkh-prakxb-thang-khemi-khxng-baekhthireiy-kae-rm-bwk (12/05/2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น รวมถึงการนำไปดัดแปลงเนื้อหาบางส่วนหรือทั้งหมดของเอกสารนี้ไปใช้ในการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

ความแตกต่างที่สำคัญของผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ คือ แบคทีเรียแกรมลบมีเมมเบรนชั้นนอก (outer membrane) ล้อมรอบเพปทิโดไกลแคนไว้ เมมเบรนนี้มีชั้นไขมันมากถึง 11-22 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักแห้งของเซลล์ เมมเบรนชั้นนอกทำหน้าที่เป็นเครื่องกั้นเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการเจริญของเซลล์ไม่ให้ออกจากช่องว่าง periplasm และยังกั้นสารเคมีและเอนไซม์จากภายนอกไม่ให้เข้าไปทำลายเซลล์ ดังนั้นเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกจึงถูกทำลายด้วยไลโซไซม์ได้ง่ายกว่าของแบคทีเรียแกรมลบ (นงลักษณ และปรีชา, 2541)



รูปที่ 2.11 แสดงความแตกต่างระหว่างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกที่มีชั้นของเพปติโดไกลแคนหนา และแบคทีเรียแกรมลบที่มีชั้นของเพปติโดไกลแคนบางๆ และมีเมมเบรนห่อหุ้มรอบผนังเซลล์อีกชั้นหนึ่ง

ที่มา:http://www.phukhieo.ac.th/obecmedia/2555/manual/%A4%D9%E8%C1%D7%CD%AA% %B7%C2E1%C5.pdf (12/05/2559)

2.9 ยาต้านจุลชีพ

ยาปฏิชีวนะ(antibiotics) หมายถึง สารที่สร้างขึ้นและแยกได้จากเชื้อจุลชีพชนิดหนึ่ง และออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายเชื้อจุลชีพอีกกลุ่มหนึ่ง ส่วนยาต้านจุลชีพ (antimicrobial agents) หมายถึง กลุ่มของสารหรือยาที่แยกได้จากเชื้อจุลชีพหรือกึ่งสังเคราะห์เหมือนสารที่แยกได้จากเชื้อจุลชีพ และที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีโดยตรงมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายเชื้อจุลชีพ ดังนั้น ยาต้านจุลชีพจึงมีความหมายรวมถึงยาปฏิชีวนะด้วย อาจกล่าวได้ว่า ยาต้านจุลชีพ เป็นที่ใช้สำหรับ ทำลาย หรือ ยับยั้ง การเจริญการเติบโตของเชื้อจุลชีพที่ทำให้เกิดการติดเชื้อหรืออักเสบในร่างกายคนเรา ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา เชื้อโปรโตซัว (เช่น มาลาเรีย บิดอะมีบา) และเชื้อริกเกตเซีย (เช่น ไทฟัส) แต่จะไม่ได้ผลต่อเชื้อไวรัส (เช่น ไข้หวัด ไข้หวัดใหญ่ หัด อีสุกอีใส คางทูม) แต่อย่างใด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.1 การจำแนกประเภทของยาต้านจุลชีพ

ยาต้านจุลชีพ จำแนกเป็นประเภทต่าง ๆ ได้หลายแบบ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับหลักเกณฑ์ในการจำแนก

2.9.1.1 จำแนกตามสูตรโครงสร้างทางเคมี

1. เบต้า-แลคแทม แอนตี้ไบโอติค (lactam antibiotics) เช่น 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. กลุ่มอื่น ๆ เช่น คลอแรมเฟนิคอล ไนโตรฟูแรนโตอิน

2.9.1.2 จำแนกตามขอบเขตการออกฤทธิ์

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

2. Medium spectrum ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวก และ แกรมลบบางชนิดเท่านั้น ได้แก่ ซัลโฟนาไมด์ (sulfonamides)

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

2.9.1.3 จำแนกตามฤทธิ์ต่อจุลชีพ

1. Bactericidal หมายถึง ยาต้านจุลชีพมีฤทธิ์ฆ่าหรือทำลายเชื้อจุลชีพ โดยทั่วไปมักมีกลไกการออกฤทธิ์ต่อผนังเซลล์ และต่อเซลล์เมมเบรนของแบคทีเรีย

2. Bacteriostatic หมายถึง ยาต้านจุลชีพมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ มักมีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีน ดังนั้น จึงต้องการระบบภูมิคุ้มกันเซลล์เม็ดเลือดขาวเพื่อเก็บกินเชื้อจุลชีพ ถ้าเพิ่มขนาดยามากขึ้นยาต้านจุลชีพเหล่านี้อาจออกฤทธิ์ฆ่าหรือทำลายเชื้อจุลชีพ

เอกสารนี้เป็นสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.1.4 จำแนกตามกลไกการออกฤทธิ์

1. ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ เช่น เพนิซิลลิน เซฟาโลสปอริน แวนโคมัยซิน

2. ออกฤทธิ์ต่อเซลล์เมมเบรน เช่น โพลีมิกซิน-บี คีโตโคนาโซล แอมโพเทอริซิน –บี

3. ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีน เช่น คลอแรมเฟนิคอล เตตร้า-ซัยคลิน อีริโทรมัยซิน อะมิโนกลัยโคไซด์

4. ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างกรดนิวคลิอิค เช่น ไรแฟมปิซิน ควิโนโลน เมโทรนิดาโซล

5. รบกวนการสังเคราะห์เมตาบอไลต์ที่จำเป็นในการดำรงชีพของเชื้อจุลชีพ เช่น ซัลโฟนาไมด์ ไอโซไนอะซิด

ยาต้านจุลชีพที่ดีควรออกฤทธิ์ต่อเชื้อจุลชีพเท่านั้น ไม่ควรมีผลต่อเซลล์ของร่างกายผู้ป่วย ยาต้านจุลชีพที่มีการออกฤทธิ์อย่างเลือกเฟ้น (selective) ต่อเฉพาะเชื้อ ได้แก่ กลุ่มที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ เช่น ยาปฏิชีวนะกลุ่ม เบต้า-แลคแทม ยากลุ่มนี้จึงใช้ได้ค่อนข้างปลอดภัย ส่วนยาต้านจุลชีพที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีน โดยจับกับไรโบโซมซึ่งเป้าหมายที่มีทั้งในเซลล์ของแบคทีเรียและเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่พบว่า ไรโบโซมแตกต่างกัน กล่าวคือ ไรโบโซมของแบคทีเรียเป็น 70s ส่วนไรโบโซมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเป็น 80s ยกเว้นในไมโตคอนเดรีย ในเซลล์ไขกระดูกเป็น 70s ดังนั้นยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ โดยจับกับไรโบโซม จึงพบว่าค่อนข้างปลอดภัย แต่บางชนิดอาจเกิดอาการข้างเคียงถึงขั้นเป็นพิษได้ เช่น คลอแรมเฟนิคอล จึงต้องใช้อย่างระมัดระวัง

2.9.2 หลักการเลือกใช้ยาต้านจุลชีพ

การใช้ยาต้านจุลชีพให้ได้ผลการรักษาที่ดี มีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง 2 ประการ ได้แก่

2.9.2.1 เชื้อจุลชีพที่เป็นสาเหตุของโรค

ปัจจัยเกี่ยวกับเชื้อจุลชีพ การเลือกใช้ยาต้านจุลชีพ จำเป็นต้องค้นหาเชื้อที่เป็นต้นเหตุของโรคเพื่อตัดสินใจว่า สมควรเลือกใช้ยาต้านจุลชีพหรือไม่ ตามทฤษฎีจะต้องมีการเพาะเชื้อและทดสอบหาความไวของเชื้อที่มีต่อยาต้านจุลชีพ แต่ในความเป็นจริงบางครั้งไม่สามารถกระทำได้เพราะขาดอุปกรณ์ทางห้องปฏิบัติการ หรือบางกรณีไม่มีความจำเป็นที่ต้องทำเพราะเป็นโรคที่พบบ่อยและอาการไม่รุนแรง แพทย์มักให้การรักษาได้โดยอาศัยการคาดคะเนชนิดของเชื้อตามสถิติที่พบบ่อย หรือจากความชำนาญในการรักษา

2.9.2.2 ยาต้านจุลชีพ

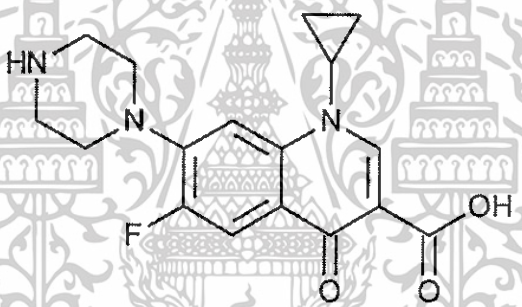
ปัจจัยเกี่ยวกับยาต้านจุลชีพ เมื่อเลือกยาต้านจุลชีพที่มีความไวต่อเชื้อนั้นแล้ว ยังต้องคำนึงถึงเภสัชจลนศาสตร์ของยานั้นด้วย ได้แก่ การดูดซึม การกระจายตัว การเปลี่ยนสภาพยา และการขจัดยา นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับการเลือกวิถีทางให้ยา ขนาดยา ระยะเวลาระหว่างมื้อของยา ระยะเวลาการให้ยาด้วย ทั้งนี้เพื่อให้ระดับยาในบริเวณที่มีการติดเชื้อสูงพอที่จะออกฤทธิ์

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้เพื่อการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

ทำลายเชื้อ คือต้องสูงกว่าระดับยาต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อ (minimum inhibitory concentration, MIC) ขณะเดียวกันความเข้มข้นของยาในพลาสมาและเนื้อเยื่อต่าง ๆ จะต้องต่ำกว่าระดับที่จะเกิดอันตราย กรณีที่โรคไม่รุนแรง มักให้ยารับประทานแทนยาฉีด เพื่อให้ได้ผลดีควรเลือกยารับประทานที่ไม่ว่าจะรับประทานก่อนหรือหลังอาหาร ก็ให้ระดับยาสูงในพลาสมาหรือในเนื้อเยื่อต่างๆ ให้มีระดับยาสูงพอที่จะออกฤทธิ์ทำลายเชื้อ และอยู่นานพอสำหรับการรักษาโรคติดเชื้อนั้น นอกจากนี้ควรเป็นยาที่รับประทานเพียงวันละ 1-2ครั้งจึงจะทำให้ผู้ป่วยได้รับประทานยาได้ครบขนาด (นงลักษณ์, *2541)*

2.10 ไซโพรฟลอกซาซิน (Ciprofloxacin)

ไซโพรฟลอกซาซิน มีชื่อทางเคมีว่า 1-Cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1- piperazinyl)-3-quinolinecarboxylic acid เป็นยาต้านจุลชีพในกลุ่ม ควิโนโลน (Quinolone) รุ่นที่ 2 (Second – generation) เนื่องจากสูตรโครงสร้างของยานี้มี ฟลูออรีน (fluorine) อยู่ในโครงสร้าง ทำให้ได้ fluorinated 4-quinolones หรือ ฟลูออโรควิโนโลน (fluoroquinolone) โดยการเพิ่มฟลูออรีนในโครงสร้าง จะทำให้ยามีฤทธิ์เพิ่มมากขึ้นและออกฤทธิ์ได้กว้างขึ้น (สุพยาน, 2544)



รูปที่ 2.12 สูตรโครงสร้างทางเคมีของยาไซโพรฟลอกซาซิน

ที่มา : http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m17865.html (13/05/2559)

2.10.1 กลไกการออกฤทธิ์

ยาไซโพรฟลอกซาซิน ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียด้วยการยับยั้งการสร้าง DNA โดยตัวยาจะจับกับเอนไซม์ดีเอ็นเอไกเรส (DNA gyrase) หรือเอนไซม์โทโพไอโซเมอเรส-2 (topoisomerase II) ซึ่งเอนไซม์นี้มีหน้าที่หดพับทำให้ DNA เป็นเกลียวซ้อนกันเพื่อลดขนาดของโครโมโซมลง โดยเอนไซม์ DNA gyrase หรือ topoisomerase II จะประกอบด้วย 2 A subunit กับ 2 B subunit ในการหดพับขั้นตอนแรก A subunit จะตัด DNA สายคู่ออกเป็นท่อน จากนั้น B subunit จะทำให้ DNA บิดพับ และสุดท้าย A subunit จะเชื่อม DNA ที่ตัดออกในช่วงแรกให้ติดกัน ยาไซโพรฟลอกซาซินหรือฟลูออโรควิโนโลนชนิดอื่นๆ จะออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง DNA โดยจับกับ A subunit ของ DNA gyrase ยับยั้งการเชื่อมติดกันของ DNA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยาไซโพรฟลอกซาซิน ออกฤทธิ์ด้วยกลไกที่แตกต่างกับยาในกลุ่ม Penicillins, Cephalosporins, Aminoglycosides, Macrolides และ Tetracyclines ดังนั้น เชื้อจุลชีพที่ดื้อต่อยาต่างๆ เหล่านี้ อาจจะไวต่อยาไซโพรฟลอกซาซินหรือยาในกลุ่มควิโนโลนตัวอื่นๆ ได้

2.10.2 ขอบเขตของการออกฤทธิ์

จากการศึกษาในห้องทดลองและการศึกษาทางคลินิก พบว่ายาไซโพรฟลอกซาซินออกฤทธิ์กว้างต่อจุลินทรีย์ทั้งแกรมลบและแกรมบวก เช่น *Bacillus anthracids, Staphylococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Escherichia coli, Neisseria gonorrhoeae, Pseudomonas aeruginosa* และ *Salmonella typhi* เป็นต้น ออกฤทธิ์ต่อ anaerobic bacteria ได้บางชนิด และออกฤทธิ์ต่อเชื้ออื่นๆ เช่น *Chlamydia, Mycoplasma, Mycobacterium* และ *Rickettsia* ได้ อย่างไรก็ตาม โดยทั่วไปแล้วยาจะออกฤทธิ์ได้ดีต่อเชื้อแกรมลบมากกว่าเชื้อแกรมบวก

2.10.3 การดื้อยา

เชื้อสามารถดื้อยาในกลุ่ม fluoroquinolones ได้โดยกลไก 2 ประการ คือ มีการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการจับกับเอนไซม์ DNA gyrase เพราะเกิดการกลาย (mutation) ที่ A subunit และ การซึมผ่านเข้าเชื้อแบคทีเรียได้น้อยลง

เชื้อแบคทีเรียแกรมลบดื้อต่อยาในกลุ่ม fluoroquinolones โดยวิธี mutation เป็นการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นที่โครโมโซม ไม่ได้เกิดจากการถ่ายทอดพลาสมิด ส่วนเชื้อแกรมบวกดื้อยากลุ่มนี้ได้อย่างรวดเร็ว และเมื่อเชื้อดื้อต่อยาชนิดใดในกลุ่มนี้แล้ว มักจะดื้อต่อยาอื่นๆ ในกลุ่มเดียวกัน แต่ไม่มีการดื้อข้ามไปยังยาต้านจุลชีพกลุ่มอื่น

2.10.4 การใช้ยาและผลข้างเคียงจากการใช้ยา

ยาไซโพรฟลอกซาซินใช้สำหรับรักษาโรคติดเชื้อที่ระบบต่างๆ ของร่างกาย ได้แก่ โรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ โรคติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจส่วนล่าง โรคติดเชื้อที่ผิวหนังและโครงสร้างของผิวหนัง การติดเชื้อที่กระดูกอ่อนและข้อต่อ การติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร การติดเชื้อ *Salmonella* การติดเชื้อ *Gonorrhoea* และการติดเชื้ออื่นๆ

อาการข้างเคียงที่รุนแรงที่เกิดจากการใช้ไซโพรฟลอกซาซินเกิดขึ้นน้อยมาก ส่วนใหญ่ที่พบเป็นอาการเล็กน้อยที่ผู้ป่วยทนได้

อาการข้างเคียงต่างๆ ที่พบ ได้แก่

- อาการทางระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเดิน อาหารไม่ย่อย ปวดท้อง ท้องอืด เบื่ออาหาร
- อาการทางระบบประสาทส่วนกลาง เกิดขึ้นน้อยมาก ได้แก่ ปวดศีรษะ วิงเวียน อ่อนล้า นอนไม่หลับ กระวนกระวาย สั่น เหงื่อออก
- อาการทางผิวหนัง พบได้น้อยมาก ได้แก่ แพ้ มีผื่นขึ้น คัน ลมพิษ
- อาการทางระบบหัวใจและหลอดเลือด อาจพบอาการหัวใจเต้นเร็ว ร้อนวูบวาบ ปวดศีรษะ ไมเกรน (สุพยาน, 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Akharaiyi และคณะ (2012) ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านจุลชีพ และการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบของแคฝรั่ง และแคแสด ในการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิเคราะห์การดูดกลืนแสงตามวิธี Folin-Ciocalteu Method นั้น สารสกัดที่ได้จากใบของของแคฝรั่ง และแคแสด ได้เลือกใช้เอทานอล เมทานอล และปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลายจากแต่ละตัวอย่างพืชที่ละลายในน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 นาที พบว่าสารสกัดจากแคฝรั่งมีปริมาณฟีนอลที่มีค่าสูงสุดที่ 1.7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และในแคแสด 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้นำสารสกัดจากใบที่มีเมทานอล เอทานอล และปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลายที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาวิเคราะห์การดูดกลืนแสงตามวิธี DPPH Radical Scavenging Activity ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของแคฝรั่งและแคแสด พบว่าการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดใบของแคฝรั่งมีค่าสูงสุดที่ร้อยละ 88.2 ตามด้วยการใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดใบของแคแสด คือร้อยละ 58 และปิโตรเลียมอีเทอร์มีค่าน้อยสุดคือร้อยละ 1

การวิเคราะห์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียนั้นใช้วิธี Agar Well Diffusion เป็นเทคนิคที่ใช้ในการประเมินผลฤทธิ์ในการต้านจุลชีพของสารสกัด โดยได้เลือกใช้เชื้อแบคทีเรียดังนี้ *Pseudomonas aeruginosa*, *Serretia marcescens*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi* และ *Enterococcus feacium* จากบริเวณที่ยับยั้ง (มิลลิเมตร) จากสารสกัดหยาบของเมทานอล เอทานอล และปิโตรเลียมอีเทอร์ของใบแคฝรั่ง พบว่า สารสกัดหยาบเมทานอลของแคฝรั่งแสดงถึงความมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียต่อจุลินทรีย์ทั้งหมดในรัศมีระหว่าง 8 – 17.8 มิลลิเมตร ตามด้วยสารสกัดเอทานอลที่มีรัศมีการยับยั้งระหว่าง 6 – 17 มิลลิเมตร และที่น้อยสุดคือปิโตรเลียมอีเทอร์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งจาก 3 ใน 9 เท่านั้น ส่วนบริเวณที่ยับยั้ง (มิลลิเมตร) จากสารสกัดหยาบของเมทานอล เอทานอล และปิโตรเลียมอีเทอร์ของใบแคแสด พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลจากแคแสดยังมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งหมดมีรัศมียับยั้งระหว่าง 10 – 15.5 มิลลิเมตร ตามด้วยสารสกัดเอทานอลทีมีรัศมียับยั้งระหว่าง 9.8 – 23 มิลลิเมตร ในขณะที่ปิโตรเลียมอีเทอร์มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียเพียง 2 สายพันธุ์ เชื้อ *E. coli* ที่ 14.9 มิลลิเมตร และเชื้อ *S. aureus* ที่ 15.8 มิลลิเมตร

Meléndez และ Capriles (2006) ศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของต้นไม้ในเขตร้อนชื้นจากประเทศเปอร์โตริโก โดยได้ศึกษาจากส่วนใบของพืช 172 สายพันธุ์ มาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียโดยแบ่งเป็น แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris*, *Alcaligenes faecalis*, *Serratia marcescens* และ *Enterobacter aerogenes* แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Arthrobacter globiformis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus* และ *Bacillus subtilis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gram variable bacteria ได้แก่ *Bacillus coagulans* และ *Micrococcus roseus* โดยทำตามวิธี Disc Diffusion Method และให้ยาปฏิชีวนะคลอแรมเฟนิคอลที่ระดับความเข้มข้น 30 มิลลิกรัม, สเตรปโตมัยซินที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม, เตตราซัยคลีนที่ระดับความเข้มข้น 30 มิลลิกรัม, อิริโทรมัยซินที่ระดับความเข้มข้น 15 มิลลิกรัม, นีโอมัยซินที่ระดับความเข้มข้น 30 มิลลิกรัม, โนโวไบโอซินที่ระดับความเข้มข้น 30 มิลลิกรัม, กานามัยซินที่ระดับความเข้มข้น 30 มิลลิกรัม และเพนิซิลเลียม 10 ยูนิต เป็นตัวควบคุมเชิงบวก หลังจากบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ามีเพียงพืช 14 สายพันธุ์ที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ส่วนพืชอีก 158 สายพันธุ์ รวมทั้ง *Spathodea campanulata* นั้นไม่เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษ

3.1.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ

ส่วนดอก ใบ และเปลือกต้นของต้น *Spathodea campunulana* หรือแคแสด จากบริเวณสนามกีฬาสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อเดือนตุลาคม พ.ศ. 2558 – มกราคม พ.ศ. 2559

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 6 ชนิด

1. *Escherichia coli* TISTR 780
2. *Salmonella typhimurium* TISTR 292
3. *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781
4. *Staphylococcus aureus* TISTR 1466
5. *Bacillus cereus* TISTR 687
6. *Micrococcus luteus* TISTR 2374

3.1.3 สารเคมี

1. เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และ 99.99
2. 2, 2-Diphenyl-1-picrylhdrazyl (DPPH)
3. โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride ; NaCl)
4. โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate ; $NaCO_3$)
5. วิตามินอี (α - tocopherol)
6. Folin – Ciocalteu' s reagent
7. กรดแกลลิก (Gallic acid)
8. ยาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซิน (Ciprofloxcin)
9. อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด (Nutrient agar; NA)
10. อาหารกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Nutrient broth; NB)
11. อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด (Mueller Hinton Agar; MHA)

3.1.4 อุปกรณ์

1. เครื่องอบลมร้อน (Hot air oven)
2. เครื่องบด (Crushing machinery)
3. เครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ 37 องศาเซลเซียส (Incubator)
5. ตู้ปลอดเชื้อชนิดลมเป่า (Laminar air flow hood)
6. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (Autoclave)
7. เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (Balance)
8. ชุดกรองสุญญากาศ (Vacuum Filtration)
9. กระดาษกรองเบอร์ 1 (Whatman)
10. จานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม (96-well plate)
11. ไมโครเพลทรีดเดอร์ (Microplate reader)
12. หลอดทดลอง (Test tube)
13. กระบอกตวงขนาด 1,000 มิลลิลิตร
14. ไมโครปิเปต ขนาด 10 100 และ 1,000 ไมโครลิตร (Micropipette)
15. จานเพาะเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 35 มิลลิลิตร (Petri dish)
16. ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 และ100 มิลลิลิตร (Volumetric flask)
17. Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร
18. ปิเปตแก้วขนาด 1 5 และ 10 มิลลิลิตร
19. ขวด Duran 250 500 มิลลิลิตร
20. เครื่องเขย่าสาร (Vortex)
21. ขวด vial สีชา
22. เครื่องไมโครเวฟ (Microwave)
23. ไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (Cotton swab)
24. เข็มเขี่ยเชื้อปลายกลม (Loop)
25. ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol lamp)
26. เวอร์เนียร์คาร์ลิปเปอร์ (Vernier caliper)

3.2 การเตรียมสารสกัดจาก *Spathodea campunulana* หรือแคแสด ด้วยตัวทำละลายเอทานอล และการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

3.2.1 การเตรียมสารสกัดจาก *Spathodea campunulana* หรือแคแสด ด้วยตัวทำละลายเอทานอล

เก็บตัวอย่างส่วนดอก ใบ และเปลือกต้นจาก *Spathodea campunulana* ในช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2558 – มกราคม พ.ศ. 2559 นำส่วนดอก ใบ และเปลือกต้น หั่นเป็นชิ้นเล็กและนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำไปบดให้ละเอียดโดยใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องบด แล้วนำส่วนต่างๆมาสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยอัตราส่วนของผลตัวอย่างที่บดละเอียด 200 กรัมต่อปริมาณเอทานอล 1800 มิลลิลิตร ใส่ในโหลและหมักเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ และนำสารละลายที่ได้ไปสกัดต่อด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความดัน 90 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว จนได้สารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอก จากนั้นเก็บในขวดสีชาและวางทิ้งไว้จนเอทานอลระเหยจนหมด

3.2.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

ทำการถ่ายเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Escherichia coli* TISTR 780, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Bacillus cereus* TISTR 687, *Salmonella typhimurium* TISTR 292 และ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ในหลอดอาหาร NA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยเชื้อจุลินทรีย์ลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นแล้วทำการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องผสมสารละลาย (Votex mixer) ปรับความขุ่นของเซลล์โดยเทียบกับสารละลาย Mcfarland Standard เบอร์ 0.5 ซึ่งมีความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร

3.3 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากต้นแคแสด

3.3.1 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหาร (Agar Well Diffusion)

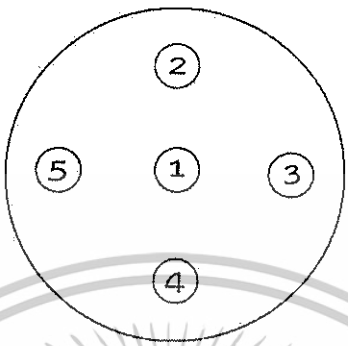
การทดสอบวิธีนี้จะทดสอบการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เบื้องต้น โดยถ่าย เชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ โดยปิเปตสารแขวนลอยของเซลล์จุลินทรีย์ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Agar (MHA) จากนั้นเกลี่ยด้วยไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหาร รอให้ผิวหน้าอาหารแห้งแล้วทำการเจาะหลุมด้วย cork-borer เตรียมสารสกัดจากส่วนต่างๆ ที่ความเข้มข้น 100 mg/ml และใช้ไมโครปิเปต ปิเปตสารสกัดลงในหลุมที่เจาะไว้ ปิเปตยาปฏิชีวนะลงในหลุมเพื่อใช้เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และปิเปตสารละลายเอทานอลเพื่อใช้เป็นตัวควบคุมเชิงลบ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจผลกิจกรรมการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้งในหน่วยมิลลิเมตร โดยขั้นตอนการทดสอบตามวิธีของ Wiegand และคณะ (2007)

3.3.2 การหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดแคแสดที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Mininmal inhibitory concentration, MIC)

ทดสอบการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดแคแสดที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยมีวิธีการทดสอบคล้ายการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เบื้องต้นแต่จะเจือจางสารสกัดหยาบจากพืชทั้งสามส่วน มาทดสอบกับระดับความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นต่างๆที่ 200, 100, 50, 25 12.50, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39, 0.20, 0.10 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเตรียมสารสกัดหยาบใช้สำหรับการทดสอบ ถ้าผลการทดสอบเกิดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้งให้ทำการลดความเข้มข้นลงเรื่อยๆ โดยค่าMIC มีค่าเท่ากับความเข้มข้นของสารสกัดน้อยที่สุดที่ทำให้เกิดบริเวณยับยั้ง

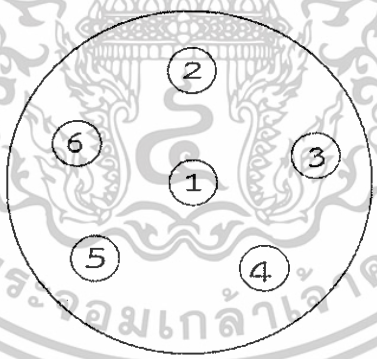


รูปที่ 3.1 แสดงการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อเบื้องต้น

หลุมที่ 1 = ยาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซิน ความเข้มข้น 10 µg/ml

หลุมที่ 2 = เอทานอลร้อยละ 95 หลุมที่ 3 = สารสกัดหยาบจากใบแคแสด

หลุมที่ 4 = สารสกัดหยาบบจากดอกแคแสด หลุมที่ 5 = สารสกัดหยาบจากเปลือกต้นแคแสด



รูปที่ 3.2 แสดงการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ

หลุมที่ 1 = ยาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซิน ความเข้มข้น 10 µg/ml

หลุมที่ 2 = เอทานอลร้อยละ 95

หลุมที่ 3 = สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หลุมที่ 4 = สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หลุมที่ 5 = สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หลุมที่ 6 = สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การศึกษาคุณสมบัติการต้านทานอนุมูลอิสระของสารสกัดจากแคแสด

3.4.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic content)

วิเคราะห์โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu method ตามวิธีของ Kaur และคณะ (2001) โดยมีการสร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลายกรดแกลลิก ที่มีความเข้มข้นต่างๆ โดยปิเปตสารละลายกรดแกลลิก ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุมที่มี Folin-Ciocalteu ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้สารเข้ากันตั้งทิ้งไว้ 5 นาที หลังจากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 80 ไมโครลิตร และตั้งไว้ 30 นาที จึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร ด้วยไมโครเพลทรีดเดอร์ (Microplate reader) หลังจากนั้นวิเคราะห์หาฟีนอลิกทั้งหมด โดยการนำสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของแคแสดที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองเหมือนกับสารละลายกรดแกลลิก โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยเฉลี่ยในรูปมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

3.4.2 การศึกษาฤทธิ์การต้านทานอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity)

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ตามวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีของ MacDonald-Wicks (2006) นำสารสกัดที่ได้จากดอก ใบ เปลือกต้นมาเจือจางให้มี 5 ระดับความเข้มข้นได้แก่ 10, 5, 2.50, 1.25 และ 0.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ในแต่ละความเข้มข้นหยดลงในหลุมของจานเพาะเลี้ยงเซลล์ 96 หลุมและหยดสารละลาย DPPH ปริมาตร 190 ไมโครลิตร แล้วทำการเก็บในที่มืดนาน 30 นาที และนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร โดยสารมาตรฐานที่ใช้คือ α-Tocopheral หรือที่เรียกว่าวิตามินอี ที่มีความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมล เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวควบคุมเชิงลบ แล้วนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

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

A sample = ค่าการดูดกลืนแสงทั้งหมดของชุดทดสอบ

A control = ค่าการดูดกลืนแสงทั้งหมดของชุดควบคุม

จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปราย

4.1 สารสกัดหยาบจากแคแสดที่ใช้ในการทดสอบ

สารสกัดหยาบจากต้นแคแสดที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ ส่วนเปลือกต้น ใบ และดอก ซึ่งเก็บมาจากสนามกีฬาของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2558 – มกราคม พ.ศ. 2559 โดยนำมาทำความสะอาดและผ่านกระบวนการอบแห้ง จากนั้นทำการบดให้เป็นผงแล้วสกัดโดยใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย และทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ จะได้สารสกัดหยาบเข้มข้นของแคแสดแต่ละส่วน ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้จากการน้ำหนักแห้งของเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด ปริมาณ 200 กรัม

ชนิดผงตัวอย่าง	น้ำหนักของสารสกัดหยาบ (กรัม)	ผลได้ของสารสกัด (เปอร์เซ็นต์)
เปลือกต้น	14.46	7.23
ใบ	55.83	27.91
ดอก	22.86	11.43

4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบ

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการทดสอบด้วยสารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก โดยผลการทดลองในตารางที่ 4.2 ชี้ให้เห็นว่า สารสกัดหยาบจากใบของแคแสดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด คือ 0.20 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นแคแสดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 0.1920 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และสารสกัดหยาบจากดอกของแคแสดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุด คือ 0.1919 มิลลิกรัมของกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แกลลิกต่อกรัมของสารสกัด จะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบแต่ละส่วนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ใกล้เคียงกันมาก

ส่วนการหาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่แท้จริงในรูปของค่า GAE (Gallic Acid Equivalent) โดยนำข้อมูลของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วย มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด มาคำนวณหาค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วย มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง พบว่า สารสกัดจากส่วนใบของแคแสดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด คือ 53.73 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาเป็นส่วนดอกคือ 21.93 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง และส่วนเปลือกต้นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุด คือ 13.88 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด

สารสกัด	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	
	มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด	มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง
เปลือกต้น	$0.1920^{a}\pm0.0036$	$13.88^{c}\pm0.2639$
ใบ	$0.1925^{a}\pm0.0012$	$53.73^{a}\pm0.3389$
ดอก	$0.1919^{a}\pm0.0012$	$21.93^{b}\pm0.1324$

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

4.3 ทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

จากการนำสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดมาทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity ที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร โดยทำการเจือจางสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ให้มีความเข้มข้นเป็น 10, 5, 2.50, 1.25 และ 0.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำมาทดสอบกับสารอนุมูล DPPH จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

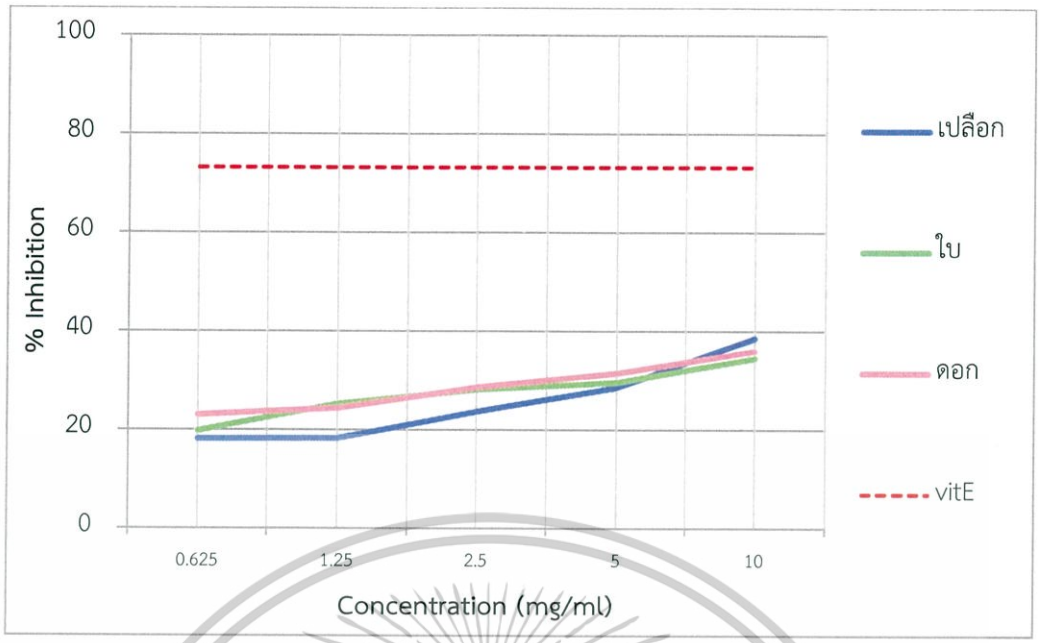
คำนวณเป็นร้อยละของการกำจัดสารอนุมูล DPPH (% Inhibition) และเปรียบเทียบกับมีวิตามินอี (α-tocopherol) ที่เป็นตัวควบคุมเชิงบวก ดังตารางที่ 4.3 จะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการทดสอบคือ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากเปลือกต้นแคแสดมีค่าร้อยละของการกำจัดสารอนุมูล DPPH สูงสุด คือ 38.54 รองลงมาคือส่วนดอกมีค่าร้อยละของการกำจัดสารอนุมูล DPPH เป็น 35.95 ส่วนสารสกัดจากใบมีค่าร้อยละของการกำจัดสารอนุมูล DPPH เป็น 34.50 ส่วนสารสกัดหยาบจากใบของแคแสดมีค่าร้อยละของการกำจัดสารอนุมูล DPPH น้อยที่สุดคือ 34.50 ส่วนที่ความเข้มข้นต่ำสุดคือ 0.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากดอกของแคแสดมีค่าร้อยละของการกำจัดสารอนุมูล DPPH สูงสุด คือ 23.04 รองลงมาคือส่วนใบมีค่าร้อยละของการกำจัดสารอนุมูล DPPH เป็น 19.79 ส่วนสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของแคแสดมีค่าร้อยละของการกำจัดสารอนุมูล DPPH น้อยที่สุดคือ 18.13 จะเห็นได้ว่าแนวโน้มของร้อยละการกำจัดอนุมูล DPPH ไม่ได้เป็นไปในทิศทางเดียวกัน ดังรูปที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าความชันของเส้นกราฟของสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของแคแสดมากกว่าความชันของสารสกัดหยาบจากใบและดอก มีความเป็นไปได้ว่าอัตราการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของแคแสดส่งผลให้เกิดการกำจัดอนุมูล DPPH ได้ดียิ่งขึ้น และยังเพิ่มขึ้นในอัตราที่รวดเร็วกว่าของสารสกัดหยาบจากใบและดอก

ตารางที่ 4.3 แสดงร้อยละกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด

ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	% Inhibition		
	เปลือกต้น	ใบ	ดอก
10	$38.54^{b}\pm1.06$	$34.50^{cd}\pm0.36$	$35.95^{bc}\pm0.72$
5	$28.55^{ef}\pm5.51$	$29.62^{e}\pm1.78$	$31.51^{de}\pm0.74$
2.5	$23.71^{g}\pm1.24$	$28.18^{ef}\pm1.70$	$28.62^{ef}\pm1.72$
1.25	18.31 ± 0.28	$25.22^{fg}\pm0.22$	$24.41^{g}\pm0.68$
0.63	$18.1i^{a}\pm1.68$	$19.79^{hi}\pm1.79$	$23.04^{gh}\pm0.76$
วิตามินอี (α-tocopherol) ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมล	$73.19^{a}\pm3.86$		

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันมีทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสด

นอกจากนี้กราฟของการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของแคแสด ยังสามารถนำมาคำนวณค่าความเข้มข้นของสารที่ใช้เพื่อกำจัดอนุมูลอิสระให้ลดลงเหลือร้อยละ 50 หรือค่า IC_{50} (The half maximal inhibitory concentration) โดยค่าที่คำนวณได้แสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด

สารสกัดหยาบ	ค่า IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
เปลือกต้น	7.81
ใบ	9.66
ดอก	9.47

เมื่อพิจารณาค่า IC_{50} จากตารางที่ 4.4 พบว่า สารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของแคแสด มีค่า IC_{50} น้อยที่สุด คือ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบจากดอก คือ 9.47 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดหยาบจากใบของแคแสดมีค่า IC_{50} มากที่สุด คือ 9.66 มิลลิกรัมต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตร แสดงว่า สารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของแคแสดมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากส่วนอื่นๆ เนื่องจากใช้สารสกัดจากเปลือกต้นเพียง 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก็สามารถลดความเข้มข้นของ DPPH เริ่มต้นให้ลดลงร้อยละ 50 ได้ ในขณะที่สารสกัดหยาบจากส่วนอื่นต้องใช้ความเข้มข้นมากกว่านี้

จากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากเปลือกต้นมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH มากกว่าสารสกัดจากส่วนอื่นๆ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Elusiyan และคณะ (2010) ที่นำส่วนเปลือกต้น ดอก และผลของแคแสดมาสกัดด้วยเอทานอลและเมทานอล และทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity พบว่าสารที่สกัดด้วยเมทานอลจากเปลือกต้นของแคแสดมีค่า EC_{50} (The half maximal effective concentration) หรือค่าความเข้มของสารที่ออกฤทธิ์ได้ร้อยละ 50 เท่ากับ 2.038 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดด้วยเมทานอลจากดอกของแคแสดมีค่า EC_{50} เท่ากับ 17.435 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเปลือกต้นมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดจากดอกของแคแสด

เมื่อเปรียบเทียบค่า IC_{50} กับผลการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่า สารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้นและใบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 0.1920 และ 0.1925 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าผลการทดสอบที่ได้ไม่สัมพันธ์กัน เพราะสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยกว่าส่วนใบ แต่กลับมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีกว่า เนื่องจากสารที่ออกฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระนั้นมีหลายกลุ่ม สารที่กำจัดอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของแคแสดอาจจะเป็นสารกลุ่มอื่นที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิก เช่น สารจำพวกแอลคาลอยด์ (Alkaloids) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ซาโปนิน (Saponin) และแทนนิน (Tannins)

จากงานวิจัยของ Brindha และคณะ (2012) ที่ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและพฤกษศาสตร์ของแคแสด ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าในเปลือกต้นของแคแสดมีสารประกอบจำพวกแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ และแทนนินอยู่ถึง 1.92, 2.50 และ 0.35 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ในขณะที่มีสารประกอบจำพวกฟีนอลอยู่เพียง 0.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

เมื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบและค่า IC_{50} กับงานวิจัยของ Ahmed และคณะ ซึ่งนำตัวอย่างใบของแคแสดมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลด้วยเครื่องสกัดแบบซอกห์เลต (Soxhlet extractor) พบว่าสารสกัดจากส่วนใบของแคแสดประกอบไปด้วยสารจำพวกแอลคาลอยด์ ซาโปนิน แอนธราควิโนน (Anthraquinone) ไกลโคไซด์ (Glycosides) ฟลาโวนอยด์ ไตรเตอร์พินอยด์ (Triterpenoids) และแทนนิน นอกจากนั้นยังนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3 วิธี ได้แก่ วิธี TBARS (Thiobarbituric acid reactive substance) method วิธี Hydroxyl radical scavenging activity และวิธี DPPH radical scavenging activity พบว่าสารสกัดจากใบของแคแสดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.220, 0.250 และ 0.185 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ชัดว่าค่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบที่ใช้ทดสอบมีค่าน้อยกว่าสารสกัดของผู้วิจัย จากการเปรียบเทียบแสดงให้เห็นว่าพืชชนิดเดียวกัน แต่วิธีที่ใช้ทดสอบแตกต่างกันและใช้วิธีการสกัดที่ไม่เหมือนกัน ผลการทดสอบที่ได้ย่อมมีความแตกต่างกัน

จากงานวิจัยที่กล่าวมา จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของแคแสดมีสารประกอบจำพวกแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน อยู่มากกว่าสารประกอบจำพวกฟีนอล เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Akharaiyi และคณะ (2012) ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านจุลชีพ และการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบของแคฝรั่ง และแคแสด ในการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิเคราะห์การดูดกลืนแสงตามวิธี Folin-Ciocalteu Method นั้น สารสกัดที่ได้จากใบของของแคฝรั่ง และแคแสดได้เลือกใช้เอทานอล เมทานอล และปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดจากใบของแคแสดมีสารประกอบจำพวกฟีนอลอยู่ 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีสารประกอบจำพวกฟลาโวนอยด์และซาโปนิน เท่ากับ 0.56 และ 3.92 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบสารประกอบจำพวกแอลคาลอยด์ สเตียรอยด์ (Steroids) และเทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) อีกด้วย จะเห็นได้ว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล เมทานอล และปิโตรเลียมอีเทอร์นั้นนอกจากจะได้สารประกอบฟีนอลิกแล้ว ยังพบสารประกอบประเภทฟลาโวนอยด์และแอลคาลอยด์อีกด้วย และเมื่อนำสารสกัดจากใบของแคแสดมาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity พบว่าที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากใบของแคแสดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล เอทานอล และปิโตรเลียมอีเทอร์ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นร้อยละ 58, 19 และ 30 ตามลำดับ

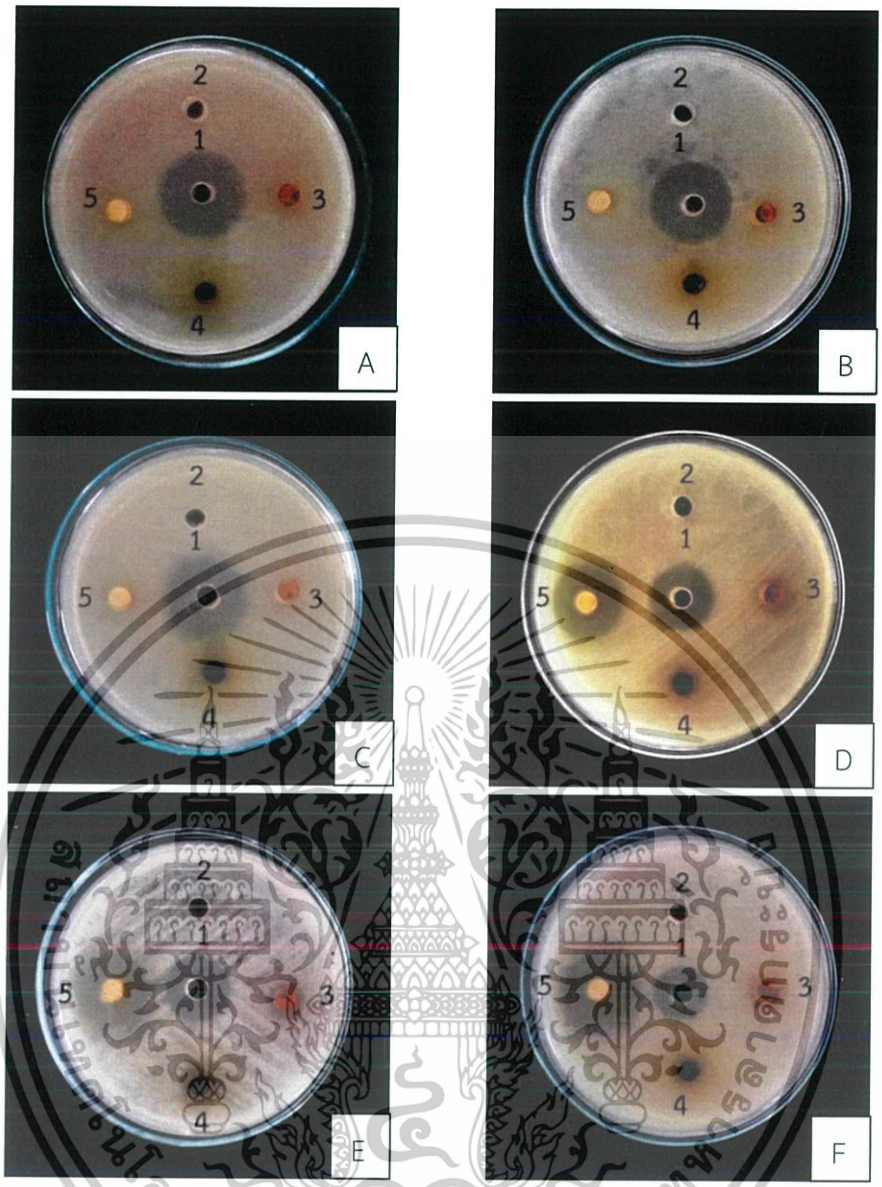
จะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบของแคแสดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล เอทานอล และปิโตรเลียม นอกจากจะมีสารประกอบฟีนอลิกแล้ว ยังมีสารประกอบจำพวกอื่นเช่น ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ และซาโปนินอยู่ด้วย สอดคล้องกับงานวิจัยของ Peter และคณะ (2016) ที่ศึกษาสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดด้วยเอทานอลและเอทิลอะซีเตตจากเปลือกต้นของแคแสด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเปลือกต้นของแคแสดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีสารประกอบประเภทฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ และซาโปนิน ซึ่งสารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 93.60 ไมโครกรัม จึงอาจสรุปได้ว่า สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของแคแสดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล นอกจากจะมีสารประกอบฟีนอลิกแล้ว ยังมีสารประกอบจำพวกอื่น เช่น ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ และซาโปนิน ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC; Minimum minhibitory concentration)

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย โดยนำสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดมาทดสอบกับแบคทีเรีย 6 ชนิด คือ *Escherichia coli* TISTR 780, *Salmonella typhimurium* TISTR 292, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Bacillus cereus* TISTR 687 และ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ด้วยวิธี Agar Well Diffusion Test แล้ววัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (clear zone) โดยใช้สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของแคแสดโดยมีความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ยาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซิน (Ciprofloxcin) ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นตัวควบคุมเชิงลบ ซึ่งผลการทดสอบจะแสดงดังรูปที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูป E รูป F

รูปที่ 4.2 แสดงบริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด ของสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสดที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

รูป A : *Escherichia coli* TISTR 780 รูป B : *Salmonella typhimurium* TISTR 292

รูป C : *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 รูป D : *Staphylococcus aureus* TISTR 1466

รูป E : *Bacillus cereus* TISTR 687 รู ป F : *Micrococcus luteus* TISTR 2374

หมายเลข 1 : ยาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซิน ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 2 : เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 หมายเลข 3 : สารสกัดจากส่วนดอก

หมายเลข 4 : สารสกัดจากส่วนใบ หมายเลข 5 : สารสกัดจากส่วนเปลือกต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบพบว่า สารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้นของแคแสดที่ในระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus, M. luteus* และ *S. aureus* โดยสังเกตได้จากบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อรอบหลุมที่เห็นได้ชัดเจน (clear zone) ดังนั้น จึงได้ทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบให้ลดลงทีครึ่งหนึ่ง (two fold dilution) เพื่อหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ โดยได้ทำการลดระดับความเข้มข้นลงเป็น 50, 25 และ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งพบว่ายังมีบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อรอบหลุมเกิดขึ้น จึงทำการลดความเข้มข้นลงอีกเป็น 6.25, 3.13, 1.56, 0.78 และ 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดหยาบจากใบ และดอกของแคแสดที่ระดับความเข้มข้นที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* เพียงเชื้อเดียว ดังนั้นจึงทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบลงเป็น 50, 25 และ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ นอกจากนี้เมื่อนำสารสกัดหยาบทั้งเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดทุกส่วนมาทดสอบกับเชื้อ *E. coli, S. typhimurium* และ *P. aeruginosa* พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อน้อยมากหรือไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวก ดังนั้น จึงได้ทำการเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ใช้ทดสอบให้เพิ่มขึ้นเป็น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780 ของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด

จากการทดสอบพบว่า สารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ เมื่อนำผลที่ได้นั้นมาเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวกคือยาปฏิชีวนะ (Ciprofloxacin) ดังนั้น จึงทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบทั้งส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด ให้เป็น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดในแต่ละส่วนของแคแสดไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ดังผลการทดลองในตารางที่ 4.5 นอกจากนี้ยังพบว่าสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Taniguchi และคณะ (1978) ซึ่งทดสอบสารสกัดหยาบจากใบของแคแสดที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรกับเชื้อ *E. coli* IFO 3545 และพบว่าสารสกัดดังกล่าวไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* IFO 3545 ได้

ตารางที่ 4.5 แสดงความเข้มข้นและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780 ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของแคแสด

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
เปลือกต้น	200	$6.00^{b} \pm 0.00$
	100	$6.00^{b} \pm 0.00$
	50	$6.00^{b} \pm 0.00$
ใบ	200	$6.00^{b} \pm 0.00$
	100	$6.00^{b} \pm 0.00$
	50	$6.00^{b} \pm 0.00$
ดอก	200	$6.00^{b} \pm 0.00$
	100	$6.00^{b} \pm 0.00$
	50	$6.00^{b} \pm 0.00$
ชุดควบคุม Ciprofloxacin	10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$28.30^{a} \pm 0.65$
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	$6.00^{b} \pm 0.00$

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 ของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด

จากการทดสอบพบว่า สารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ เมื่อนำผลที่ได้นั้นมาเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวกคือยาปฏิชีวนะ (Ciprofloxacin) ดังนั้น จึงทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบทั้งส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด ให้เป็น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดในแต่ละส่วนของแคแสดไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* ดังผลการทดลองในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 แสดงความเข้มข้นและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของแคแสด

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
เปลือกต้น	200	$6.00^{b} \pm 0.00$
	100	$6.00^{b} \pm 0.00$
	50	$6.00^{b} \pm 0.00$
ใบ	200	$6.00^{b} \pm 0.00$
	100	$6.00^{b} \pm 0.00$
	50	$6.00^{b} \pm 0.00$
ดอก	200	$6.00^{b} \pm 0.00$
	100	$6.00^{b} \pm 0.00$
	50	$6.00^{b} \pm 0.00$
ชุดควบคุม Ciprofloxacin	10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$28.68^{a} \pm 0.43$
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	$6.00^{b} \pm 0.00$

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 ของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด

จากการทดสอบพบว่า สารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ เมื่อนำผลที่ได้นั้นมาเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวกคือยาปฏิชีวนะ (Ciprofloxacin) ดังนั้น จึงทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบทั้งส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด ให้เป็น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดในแต่ละส่วนของแคแสดไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ดังผลการทดลองในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 แสดงความเข้มข้นและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของแคแสด

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
เปลือกต้น	200	$6.00^{b} \pm 0.00$
	100	$6.00^{b} \pm 0.00$
	50	$6.00^{b} \pm 0.00$
ใบ	200	$6.00^{b} \pm 0.00$
	100	$6.00^{b} \pm 0.00$
	50	$6.00^{b} \pm 0.00$
ดอก	200	$6.00^{b} \pm 0.00$
	100	$6.00^{b} \pm 0.00$
	50	$6.00^{b} \pm 0.00$
ชุดควบคุม Ciprofloxacin	10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$29.03^{a} \pm 0.38$
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	$6.00^{b} \pm 0.00$

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 ของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด

จากการทดสอบโดยใช้สารสกัดหยาบเปลือกต้นของแคแสดที่ความเข้มข้นที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดหยาบมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 27.22 มิลลิเมตร ดังนั้นจึงทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบลงทีละครึ่งหนึ่งเพื่อหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* โดยเมื่อทำการลดความเข้มข้นลงเป็น 50, 25 และ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์เท่ากับ 24.65, 16.05 และ 14.50 มิลลิเมตร ตามลำดับ จึงทำการลดระดับความเข้มข้นลงอีกเป็น 6.25, 3.13, 1.56, 0.78 และ 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 6.25 และ 3.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้แต่ประสิทธิภาพในการยับยั้งน้อยลง ซึ่งบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 12.15 และ 9.96 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 1.56, 0.78 และ 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ และจากการทดสอบสารสกัดหยาบใบ และดอกของแคแสดที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ เมื่อนำผลที่ได้นั้นมาเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวกนั้นคือยาปฏิชีวนะ (Ciprofloxacin) ดังนั้น จึงทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบทั้งส่วนใบ และดอกของแคแสด ให้เป็น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดในส่วนใบ และดอกของแคแสดไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ดังผลการทดลองในตารางที่ 4.8 นอกจากนี้ยังพบว่าสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Meléndez และคณะ (2006) ที่ได้ทดสอบสารสกัดหยาบจากใบและผลของพืชหลายชนิดต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* และพบว่าสารสกัดจากใบของแคแสดไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อดังกล่าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงความเข้มข้นและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของแคแสด

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
เปลือกต้น	100	$27.22^{a} \pm 1.00$
	50	$24.65^{b} \pm 1.27$
	25	$16.05^{d} \pm 1.30$
	12.50	$14.50^{e} \pm 1.37$
	6.25	$12.15^{f} \pm 1.62$
	3.13	$9.96^{g} \pm 2.70$
	1.56	$6.00^{h} \pm 0.00$
	0.78	$6.00^{h} \pm 0.00$
ใบ	200	$6.00^{h} \pm 0.00$
	100	$6.00^{h} \pm 0.00$
	50	$6.00^{h} \pm 0.00$
ดอก	200	$6.00^{h} \pm 0.00$
	100	$6.00^{h} \pm 0.00$
	50	$6.00^{h} \pm 0.00$
ชุดควบคุม Ciprofloxacin	10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$20.15^{c} \pm 0.59$
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	$6.00^{h} \pm 0.00$

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.3 แสดงบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 ของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้นของแคแสด ที่ระดับความเข้มข้น 12.50, 6.25, 3.12, 1.56 และ 0.78มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 1 : ยาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซิน ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 2 : เอทานอลความเข้มข้น 95%

หมายเลข 3 : สารสกัดความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 4 : สารสกัดความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 5 : สารสกัดความเข้มข้น 3.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ)

หมายเลข 6 : สารสกัดความเข้มข้น 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 7 : สารสกัดความเข้มข้น 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.5 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687 ของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด

จากการทดสอบ พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด ที่ระดับความเข้มข้นที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดหยาบมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 24.80, 12.10 และ 11.60 มิลลิเมตรตามลำดับ ดังนั้นจึงทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบลงทีละครึ่งหนึ่ง เพื่อหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. cereus* โดยเมื่อทำการลดความเข้มข้นลงเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์เท่ากับ 23.05, 10.60 และ 9.52 มิลลิเมตรตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์เท่ากับ 20.45, 9.40 และ 8.15 มิลลิเมตรตามลำดับ ขณะที่สารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้นสามารถลดระดับความเข้มข้นลงได้อีกเป็น 12.50, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งพบว่า มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 15.60, 13.70, 11.15, 10.60, 9.03, 9.00 และ 8.90 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่เมื่อลดความเข้มข้นลงอีกเป็น 0.10 และ 0.05 พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้นของแคแสดไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ส่วนสารสกัดจากใบ และดอกของแคแสด ที่ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ เมื่อนำผลที่ได้นั้นมาเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวก คือยาปฏิชีวนะ (Ciprofloxacin) ดังผลการทดลองในตารางที่ 4.9 นอกจากนี้ยังพบว่าผลการทดสอบ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ravi และคณะ (2013) ที่ทำการทดสอบสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากใบของแคแสด ต่อเชื้อ *B. subtilis* และ *B. pumilis* ซึ่งเป็นเชื้อในสกุลเดียวกันกับ *B. cereus* พบว่าสารสกัดจากใบของแคแสดที่ระดับความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อหลุมมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อในสกุล *Bacillus*

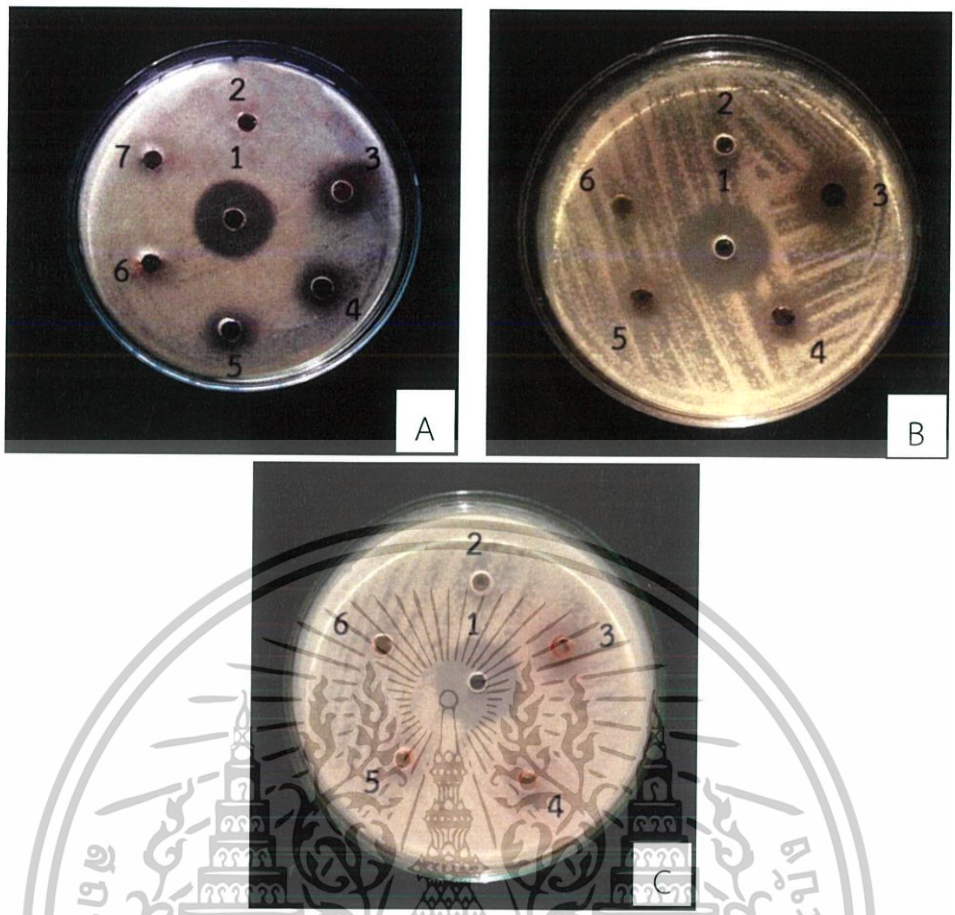
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 แสดงความเข้มข้นและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687 ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของแคแสด

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
เปลือกต้น	100	$24.80^{a} \pm 1.15$
	50	$23.05^{b} \pm 1.67$
	25	$20.45^{c} \pm 0.91$
	12.50	$15.60^{d} \pm 1.33$
	6.25	$13.70^{e} \pm 1.49$
	3.13	$11.15^{fg} \pm 2.02$
	1.56	$10.60^{gh} \pm 0.84$
	0.78	$9.03^{i} \pm 1.22$
	0.39	$9.00^{i} \pm 0.98$
	0.20	$8.90^{i} \pm 1.14$
	0.10	$6.00^{j} \pm 0.00$
	0.05	$6.00^{j} \pm 0.00$
ใบ	100	$12.10^{f} \pm 0.04$
	50	$10.60^{gh} \pm 0.68$
	25	$9.40^{hi} \pm 0.72$
	12.50	$6.00^{j} \pm 0.00$
ดอก	100	$11.60^{fg} \pm 1.40$
	50	$9.52^{hi} \pm 0.42$
	25	$8.15^{i} \pm 0.74$
	12.50	$6.00^{j} \pm 0.00$
ชุดควบคุม Ciprofloxacin	10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$23.23^{b} \pm 0.97$
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	$6.00^{j} \pm 0.00$

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 แสดงบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 ของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด

รูป A : สารสกัดจากเปลือกต้นของแคแสด รูป B : สารสกัดจากใบ รูป C : สารสกัดจากดอก

หมายเลข 1 : ยาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซิน ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 2 : เอทานอลความเข้มข้น 95%

หมายเลข 3 : สารสกัดความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 4 : สารสกัดความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 5 : สารสกัดความเข้มข้น 3.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ)

หมายเลข 6 : สารสกัดความเข้มข้น 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 7 : สารสกัดความเข้มข้น 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

รูป B และ C หมายเลข 3 : สารสกัดความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

รูป B และ C หมายเลข 4 : สารสกัดความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

รูป B และ C หมายเลข 5 : สารสกัดความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ)

รูป B และ C หมายเลข 6 : สารสกัดความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.6 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด

จากการทดสอบโดยใช้สารสกัดหยาบเปลือกต้นของแคแสดที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้นของแคแสดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. luteus* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 23.85 มิลลิเมตร ดังนั้นจึงทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบลงทีละครึ่งหนึ่ง เพื่อหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *M. luteus* โดยเมื่อทำการลดความเข้มข้นลงเท่ากับ 50, 25, 12.50, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะเกิดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์เท่ากับ 20.95, 18.00, 17.00, 16.30, 13.00, 13.06, 11.50, 9.90 และ 9.20 มิลลิเมตรตามลำดับ และเมื่อความเข้มข้นลดลงอีกเป็น 0.10 และ 0.05 พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้นของแคแสดไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. luteus* ส่วนสารสกัดจากใบ และดอกของแคแสด ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นความเข้มข้นที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ เมื่อนำผลที่ได้นั้นมาเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวกคือยาปฏิชีวนะ (Ciprofloxacin) ดังนั้น จึงทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบทั้งส่วนใบ และดอกของแคแสด ให้เป็น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดในส่วนของใบและดอกของแคแสดไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ ดังผลการทดลองในตารางที่ 4.10

ตารางที่ 4.10 แสดงความเข้มข้นและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของแคแสด

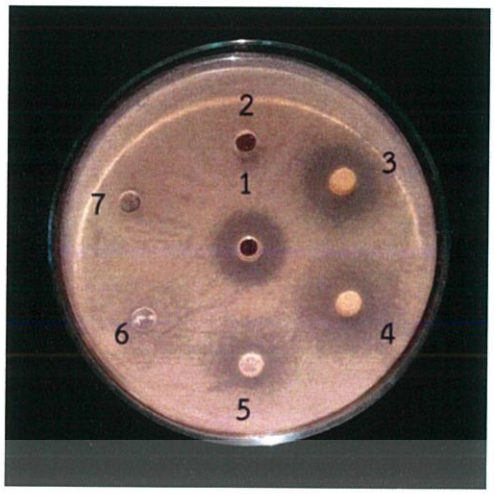
สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ(มิลลิเมตร)
เปลือกต้น	100	$23.85^{a} \pm 1.97$
	50	$20.95^{b} \pm 1.64$
	25	$18.00^{c} \pm 0.61$
	12.50	$17.00^{de} \pm 0.53$
	6.25	$16.30^{e} \pm 0.91$
	3.13	$13.00^{f} \pm 1.54$
	1.56	$13.06^{f} \pm 1.91$
	0.78	$11.50^{g} \pm 1.90$
	0.39	$9.90^{h} \pm 0.91$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
เปลือกต้น	0.20	$9.20^{h} \pm 1.08$
	0.10	$6.00^{i} \pm 0.00$
	0.05	$6.00^{i} \pm 0.00$
ใบ	200	$6.00^{i} \pm 0.00$
	100	$6.00^{i} \pm 0.00$
	50	$6.00^{i} \pm 0.00$
ดอก	200	$6.00^{i} \pm 0.00$
	100	$6.00^{i} \pm 0.00$
	50	$6.00^{i} \pm 0.00$
ชุดควบคุม Ciprofloxacin	10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$19.6^{c} \pm 0.75$
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	$6.00^{i} \pm 0.00$

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 แสดงบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้นของแคแสด ที่ระดับความเข้มข้น 12.50, 6.25, 3.13 (ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ), 1.56 และ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 1 : ยาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซิน ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 2 : เอทานอลความเข้มข้น 95%

หมายเลข 3 : สารสกัดจากเปลือกต้นของแคแสดความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 4 : สารสกัดจากเปลือกต้นของแคแสดความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 5 : สารสกัดจากเปลือกต้นของแคแสดความเข้มข้น 3.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 6 : สารสกัดจากเปลือกต้นของแคแสดความเข้มข้น 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเลข 7 : สารสกัดจากเปลือกต้นของแคแสดความเข้มข้น 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4.4.7 การเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด ของสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการเปรียบเทียบทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780, *Salmonella typhimurium* TISTR 292, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Bacillus cereus* TISTR 687 และ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ของสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของต้นแคแสดที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าเชื้อ *S. aureus* ถูกยับยั้งได้ดีที่สุดจากสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้น รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากใบ และดอกของแคแสด ส่วนเชื้อ *B. cereus* ถูกยับยั้งได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่สุดโดยสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของแคแสด เช่นเดียวกับเชื้อ *M. luteus* โดยที่สารสกัดส่วนใบและดอกของแคแสดไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* TISTR 687 และ *M. luteus* TISTR 2374 ได้ ส่วนเชื้อ *E. coli* TISTR 780, *S. typhimurium* TISTR 292 และ *P. aeruginosa* TISTR 781 ไม่มีสารสกัดหยาบใดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เลย ดังผลการทดลองในตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 ตารางแสดงการเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิดของสารสกัดหยาบส่วน เปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)		
	เปลือกต้น	ใบ	ดอก
E. coli	$6.00^{c} \pm 0.00$	$6.00^{b} \pm 0.00$	$6.00^{b} \pm 0.00$
S. typhimurium	$6.00^{c} \pm 0.00$	$6.00^{b} \pm 0.00$	$6.00^{b} \pm 0.00$
P. aeruginosa	$6.00^{c} \pm 0.00$	$6.00^{b} \pm 0.00$	$6.00^{b} \pm 0.00$
S. aureus	$27.22^{a} \pm 1.00$	$6.00^{b} \pm 0.00$	$6.00^{b} \pm 0.00$
B. cereus	$24.80^{b} \pm 1.15$	$12.10^{a} \pm 0.04$	$11.60^{a} \pm 1.40$
M. luteus	$23.85^{b} \pm 1.97$	$6.00^{b} \pm 0.00$	$6.00^{b} \pm 0.00$

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

จากผลการทดสอบหาค่า MIC ดังตารางที่ 4.12 พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้นมีค่า MIC (Minimum Inhibitory Concentration) หรือค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของเชื้อ *B. cereus* และ *M. luteus* ที่ 0.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเชื้อ *S. aureus* มีค่า MIC ที่ 3.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดหยาบจากใบ และดอก มีค่า MIC ของเชื้อ *B. cereus* ที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเชื้อ *E. coli*, *S. typhimurium* และ *P. aeruginosa* พบว่าที่ความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดหยาบทุกส่วนที่ใช้ในการทดสอบ (200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้จึงสรุปได้ว่าสารสกัดหยาบจากแคแสดทุกส่วนไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*, *S. typhimurium* และ *P. aeruginosa* ซึ่งเชื้อทั้ง 3 ชนิดนี้ เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ในขณะที่สารสกัดส่วนเปลือกต้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *M. luteus* ส่วนสารสกัดจากทั้งเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

B. cereus ได้ดี โดยที่เชื้อ *S. aureus*, *M. luteus* และ *B. cereus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากแคแสดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแกรมลบ อย่างไรก็ตามค่า MIC สูงสุดที่ทดสอบ คือ 200 มิลลิกรัมต่อมิลิตร หากเชื้อชนิดใดมีค่า MIC อยู่ในขอบเขตที่ต่ำกว่าความเข้มข้นนี้ แสดงว่าสามารถนำไปต่อยอดด้านการยับยั้งเชื้อชนิดนั้นได้

ตารางที่ 4.12 แสดงการเปรียบเทียบค่า MIC ของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด ของสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด

เชื้อที่ใช้ทดสอบ	Minimum inhibition concentration (MIC) (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		
	เปลือกต้น	ใบ	ดอก
E. coli	-	-	-
S. typhimurium	-	-	-
P. aeruginosa	-	-	-
S. aureus	3.13	-	-
B. cereus	0.20	25	25
M. luteus	0.20	-	-

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่เกิดบริเวณยับยั้งที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบคือ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการทดสอบหาค่า MIC ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด ของสารสกัดหยาบเปลือกต้น ใบ และดอก โดยสารสกัดหยาบจากแคแสดทุกส่วนไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีชั้นเพปทิโดไกลแคน อยู่ด้านบน ส่วนนี้เรียกว่า outer membrane ซึ่งเป็นผนังชั้นนอกสุดองค์ประกอบโดย outer membrane ส่วนใหญ่เป็นลิพอพอลิแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide) ที่เกิดจากการเชื่อมยึดกันของ lipid A และ O polysaccharide อีกทั้ง outer membrane ทำหน้าที่เป็นเครื่องกั้นเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการเจริญของเซลล์ไม่ให้ออกจากช่องว่าง periplasm และยังกั้นสารเคมี และเอนไซม์จากภายนอกไม่ให้เข้าไปทำลายเซลล์ ในขณะที่สารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจากแบคทีเรียแกรมบวกมีชั้นเพปติโดไกลแคนที่มีรูพรุนมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบทำให้สารหรือสิ่งแปลกปลอมจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ง่าย (Salton และคณะ, 2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากสารสกัดหยาบแห้งแบบผงของตัวอย่างจากส่วนต่างๆ ของแคแสดปริมาณ 200 กรัม พบว่าผงตัวอย่างจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด เมื่อนำมาสกัดด้วยเอทานอลจะได้สารสกัดหยาบ 14.46, 55.83 และ 22.86 กรัม ตามลำดับ ซึ่งส่วนใบนั้น ได้ปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 27.91

จากการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี Total Phenolic Assay พบว่าในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด พบว่า ใน 100 กรัมน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง สารสกัดจากใบของแคแสดมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด คือ 53.73 มิลลิกรัม สารสกัดจากดอกของแคแสดมี ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 21.93 และสารสกัดจากเปลือกต้นมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 13.88 มิลลิกรัม ซึ่งถือว่าสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อศึกษาเพิ่มเติมหรือต่อยอดทางด้านอุตสาหกรรมได้

จากการนำสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดมาทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity โดยทำการเจือจางสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ให้มีความเข้มข้น 10, 5, 2.50, 1.25 และ 0.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เพื่อหาร้อยละในการกำจัดอนุมูลอิสระ และหาค่า IC_{50} จากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดมีค่า IC_{50} เป็น 7.81, 9.66 และ 9.47 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบจากทุกส่วนมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยที่สารสกัดหยาบจากเปลือกต้นมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระมากที่สุด รองลงมาคือ ดอก และใบ ตามลำดับ

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสดมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด คือ *Escherichia coli* TISTR 780, *Salmonella typhimurium* TISTR 292, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Bacillus cereus* TISTR 687 และ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ด้วยวิธี Agar Well Diffusion Test โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเริ่มต้นที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด เมื่อนำสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด มาทดสอบกับเชื้อ พบว่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของแคแสดในการยับยั้ง *S. aureus* คือ 3.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 9.96 มิลลิเมตร ส่วน *M. luteus* และ *B. cereus* มีความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อของสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของแคแสดคือ 0.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเท่ากับ 9.20 และ 8.90 มิลลิเมตร ตามลำดับ และความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และดอกของแคแสดคือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเท่ากับ 9.40 และ 8.15 มิลลิเมตร ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า สารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ส่วนสารสกัดจากเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดที่ระดับความเข้มข้น 200, 100 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli*, *S. typhimurium* และ *P. aeruginosa*

จากการทดสอบหาค่า MIC ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด ของสารสกัดหยาบเปลือกต้น ใบ และดอก ซึ่งสรุปได้ว่าสารสกัดหยาบจากแคแสดทุกส่วนไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli*, *S. typhimurium* และ *P. aeruginosa* ในขณะที่สารสกัดหยาบจากแคแสดทุกส่วนมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus*, *M. luteus* และ *B. cereus*

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการสกัดสารสกัดจากพืชเพื่อใช้ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพหรือเพื่อนำมาใช้ประโยชน์นั้น ในขั้นตอนของการสกัดควรพิจารณาเลือกตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดให้เหมาะสม เนื่องจากตัวทำละลายในการสกัด มีผลต่อสารที่สกัดได้ ตัวทำละลายที่ต่างกันจะสกัดได้สารที่แตกต่างกันด้วย อีกทั้งยังต้องคำนึงถึงวัตถุประสงค์ของการสกัด เช่น หากสกัดเพื่อนำไปใช้กับสิ่งมีชีวิต ควรเลือกตัวทำละลายที่ไม่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตนั้น หรือในการสกัดเพื่อนำไปทดสอบหรือทดลอง ควรเลือกตัวทำละลายที่หลากหลายเพื่อที่จะได้สารสกัดที่มีสารต่างชนิดกันซึ่งสามารถนำไปเปรียบเทียบผลของสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกันได้ นอกจากนี้ อาจทำการแยกสารที่สกัดได้ด้วยโครมาโตกราฟฟีเพื่อให้ทราบถึงส่วนประกอบของสารต่างๆ ที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบที่สกัดได้ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์และต่อยอดเพื่อการใช้ประโยชน์และการศึกษาเพิ่มเติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนั้น สิ่งที่ควรคำนึงถึงในการสกัดสารจากพืช คือ ต้นกำเนิดของพืช สถานที่ปลูก การเก็บเกี่ยว ฤดูกาล การเก็บรักษา สภาพแวดล้อม ได้แก่ สภาพดิน แร่ธาตุ ปริมาณน้ำ และสภาพอากาศ เนื่องจากปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารสำคัญของพืช ส่งผลให้สารที่สกัดได้มีความแตกต่างกันและทำให้ผลการทดลองที่ได้แตกต่างกันด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

เกษร เทพแปง. (2536). จุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

จุณจันทร์ เมนะพันธุ์. (2531). ขั้นตอนการวินิจฉัยแบคทีเรียในลำไส้ สัมมนาเชิงปฏิบัติการ การวินิจฉัยแบคทีเรียก่อโรคลำไส้. คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาวิทยาลัยขอนแก่น

เจนจิรา จิรัมย์ และ ประสงค์ สีหานาม. (2554). อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์ 1, 1: 59-70

ชาญณรงค์รอดคำ. (2552). แบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างกลม (The Gram Positive Cocci). ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.: 4-9

เต็ม สมิตินันท์. (2544). ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย,บริษัทประชาชน จำกัด.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. (2544). แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค.พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร : NOBLE PRINT.

นงลักษณ์ สุขวาณิชย์ศิลป์ (2541). เภสัชวิทยาเล่ม 2 คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล บริษัทนิวไทยมิตรการพิมพ์ กรุงเทพฯ.: 1-19

นิจศิริ เรืองรังสี. (2534) ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับน้ำมันหอมระเหย. ตำราวิชาการ สุคนธบำบัด. : 10-48

นิติพงษ์ ศิริวงศ์ และ เอกชัย ชูเกียรติโรจน์. (2552). การดื้อยาปฏิชีวนะของ *Staphylococcus aureus* และแนวทางการควบคุม. วารสารคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์., 4: 347-358

น้ำฝน เบ้าทองคำ และ ถนอมนวล พรหมบุญ. (2556). ศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลลิกทั้งหมดของเห็ดป่ากิน ได้ 5 ชนิดจากป่าชุมชนบ้านน้าจางในเขตพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์. มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 21, 3: 276-286.

บังอร วงศ์รักษ์ และ ศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ์. (2549). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน. วิทยานิพนธ์ปริญญาเภสัชบัณฑิต คณะ เภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

ปรานอม ธรรมศิริ. (2555). การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรประกอบยาดองและยาดองเหล้า. งานวิจัยจากสารนิพนธ์สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา., 1: 1-22.

มณฑล สุกใส. (2552). สุขภาพกับโภชนาการอาหาร.กรุงเทพฯ: ไทยวัฒนาพานิช.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาลิน จุลศิริ. (2532). ยาต้านจุลชีพ: ความรู้พื้นฐานและประยุกต์. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล., 1: 91-98

สุฟยาน ลาเต๊ะ. (2554). ยา Ciprofloxacin Hydrochloride Tablet. งานประชาสัมพันธ์ ฝ่ายเภสัชกรรมชุมชน โรงพยาบาลยะหริ่ง ปัตตานี.

อนันต์ สกุลกิม. (2551). อนุมูลอิสระ สารอันตรายต่อสุขภาพและร่างกาย. ก้าวทันโลก วิทยาศาสตร์ 8, 1: 28-31.

อรุษา เชาวนลิขิต. (2554). การสกัดและวิธีการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน. วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) 3, 6 กรกฎาคม-ธันวาคม 2554.

Ahmed, M. G., Kowtl, R., Hareesh, AR., Harsha, R., Satish, K. BP., and Thammanna, G. (2013). In Vitro Antioxidant Activity of Leaves of *Spathodea campanulata* P Beauv. International Journal of Pharmaceutical Science and Biotechnology, 1 (3): 2229-3604

Akharaiyi, F.C., Boboye, B. and Adetuyi, F.C. (2012). Antibacterial, Phytochemical and Antioxidant Activities of the Leaf Extracts of Gliricidia sepium and Spathodea campanulata. World Applied Sciences Journal, 16: 523-530.

Angela, E. Peter, Jagan Mohan, and Sandeep, B. V. (2016). PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL, ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL STUDIES ON THE BARK OF *SPATHODEA CAMPANULATA* P.BEAUV. European journal of biomedical and pharmaceutical science, 3(2): 243-251.

Bouayed, J., Djilani, A., Rammal, H., Dicko, A., Younos, C. and Souliman, R. (2008). Qualitative evaluation of the antioxidant properties of Catha edulis. J. Life Sci., 2: 7-14.

Brindha, P., Nagarajan, A., Saralla, R.P., Narendran, R., & Sridharan, K. (2012). School of Chemical & Biotechnology, SASTRA University, India, 2012

Elusiyan, C.A, Ani, N.C, Adewunmi, C.O, and Olugbade, T.A. (2010). Distribution of Iridiod Glucosides and Anti-Oxidants in *Spathodea campanulata* Parts. Junrnal List Afr J Tradit Complemant Altern Med. 2011; 8(1): 27-33

Herzberg Gerhard. (1971). The Spectra and Structures of Simple Free Radicals. Cornell University.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kaur Charanjit and Kapoor Harish C. (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. International Journal of Food Science and Technology, 37: 153–161

Kennedy, D. O., and Wightman, E. L. (2011). Herbal extracts and phytochemicals: plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. Advance in Nutrition 2: 32–50.

MacDonald-Wicks Lesley K, Wood Lisa G and Garg Manohar L. (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. Journal of the Science of Food and Agriculture., 86: 2046–2056

Makoto, T., Andiguchi, C., Isao, K., and Koji, N. (1978). Screening of East African Plants for Antimicrobial Activity. Faculty of Science, Osaka City University, 1978

Marufa Sharmin, Kamal Kanta Das and Mrityunjoy Acharjee. (2014). Estimation of microbiological propagation and antimicrobial traits of the frequently accessible flowers. Stamford Journal of Microbiology., 4: 19-23.

Mele´ndez, P.A., & Capriles, V.A. (2006). Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. Phytomedicine, 13, 272-276.

Nair, R., Kalaliya, T. and Chanda, S. (2005). Antibacterial activity of some selected Indian medicinal flora. Turk J. Biol., 29: 41-47.

Ravi, K.J., Ganga, R.B., Prasad, and Mallikarjuna, R.T. (2013). Evalution of Antiinflammatory Activity and Invitro Antibacterial Activity of *Spathodea campanulata* leaves. International Junrnal of Biological, 4: 640-648

Sakthidevi, G. and Mohan, V.R. (2013). Total Phenolic, Flavonoid Contents and In vitro Antioxidant Activity of Dioscorea alata l. Tuber. J. Pharm. Sci. & Res., 5: 115-119.

Wiegand Irith, Hilpert Kai and Hancock Robert E W. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. NATURE PROTOCOLS, 3,2: 163-175

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

1. เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

รูปภาคผนวก ก ที่ 1 *Escherichia coli*

ที่มา: http://healthland.time.com/2010/05/18/why-urinary-tract-infections-are-getting-harder-to-treat/ (04/06/59)

1.1 *Escherichia coli*

1.1.1 อนุกรมวิธานของเชื้อ (Taxonomy)

Domain	:	Bacteria
Kingdom	:	Eubacteria
Phylum	:	Proteobacteria
Class	:	Gamma Proteobacteria
Order	:	Enterobacteriales
Family	:	Enterobacteriaceae
Genus	:	*Escherichia*
Species	:	*coli*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1.2 สัณฐานวิทยาของเชื้อ (Morphology)

E.coli เป็นเซลล์มีรูปร่างเป็นท่อน ยาว ๆ แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ อาจเคลื่อนที่ได้หรือไม่เคลื่อนที่ บางสายพันธุ์ที่แยกได้จากนอกลำไส้สร้างแคปซูลได้ ให้โคโลนีเรียบ ไม่มีสี มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตรในเวลา 18 ชั่วโมง แต่ถ้าเลี้ยงในอาหารที่แสดงความแตกต่าง (differential media)เช่น Mac Conkey agar โคโลนีมีสีแดงชมพู ขนาดใหญ่ และเป็นแบคทีเรียซึ่งเป็นจุลินทรีย์เซลล์โพรคาริโอตขนาดเล็กที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับยีสต์ ไม่มีรงควัตถุภายในเซลล์ เนื่องจากเฟอร์เมนแลกโทส หรือเลี้ยงในอาหาร Eosin methylene blue agar (EMB) และ Endo agar โคโลนีมีสีมันวาวคล้ายโลหะ มีบางสายพันธุ์ที่เฟอร์เมนต์แลกโทสได้ช้า เชื้อนี้เจริญได้ในอุณหภูมิช่วงกว้าง (15-45 องศาเซลเซียส) บางสายพันธุ์ทนความร้อน 60 องศาเซลเซียส 15 นาที หรือ 55 องศาเซลเซียส 60 นาที

1.1.3 แหล่งอาศัยของเชื้อ (Common source)

แบคทีเรีย *Escherichia coli* (*E. coli*) แบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์ม เป็นตัวชี้การปนเปื้อนของอุจจาระในน้ำ มีอยู่ตามธรรมชาติในลำไส้ใหญ่ของสัตว์และมนุษย์ แบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดอาการท้องเสียบ่อยที่สุด ทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ ทำให้ถ่ายอุจจาระเหลว หรือเป็นน้ำ เชื้อนี้มักปนเปื้อนมากับอาหาร น้ำ หรือ มือของผู้ประกอบอาหาร ปกติเชื้อเหล่านี้อาจพบในอุจจาระได้อยู่แล้ว แม้จะไม่มีอาการอะไร

1.1.4 การก่อโรค (Pathology)

E.coli ส่วนใหญ่ไม่ใช่จุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) แต่บางชนิดที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) หรือเรียกว่าEnterovirulent *Escherichia coli* group (EEC group) มี 4 ประเภทคือ

1. Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) เป็น *E. coli* ซึ่งทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ อาการทั่วไปคือ ท้องร่วง ปวดท้อง ไข้ต่ำ คลื่นไส้ และ อ่อนเพลีย การติดเชื้อหรือแสดงอาการต่อเมื่อได้รับเชื้อเข้าไปประมาณ 100 ล้าน ถึง 10 พันล้านเซลล์ โดยระหว่างการเจริญจะสร้างสารพิษที่ทำให้เกิดการหลั่งของของเหลว (fluid secretion) แหล่งที่พบคือน้ำที่ปนเปื้อน แล้วไปปนเปื้อนต่อในอาหาร หรือจากคนป่วยที่สัมผัสหรือปรุงอาหาร ถ้ารับเชื้อเข้าไปมาก จะมีอาการภายใน 24 ชั่วโมง ทั้งนี้การระบาดมีไม่บ่อยนัก หากมีการปฏิบัติทางสุขลักษณะที่ดี ปัจจุบันการวิเคราะห์เชื้อ ตัวนี้ในอาหารทำได้โดยใช้ gene probe ซึ่งใช้เวลา 3 วัน หรือใช้วิธีทดสอบสารพิษโดยทั่วไป ซึ่งใช้เวลาอย่างน้อยที่สุด 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) เป็น *E.coli* ชนิดที่ถือว่าเป็นเชื้อโรคที่ระบาดโดยมีความรุนแรงที่ไม่ได้เกี่ยวข้องกับการขับสารพิษทั่วไปของ EEC ชนิดอื่น EPEC แพร่ไปในคนและสัตว์หลายชนิด เช่น วัวควาย และหมู มักเป็นโรคที่เป็นกับเด็ก ทำให้อุจจาระร่วงเป็นน้ำหรือเป็นเลือด คล้ายกับอาการที่เกิดจากเชื้อ Shigella ซึ่งเรียกว่า ชิกะทอกซิน (shigatoxin) ด้วยเช่นกัน ปริมาณเชื้อที่ก่อโรค อาจในปริมาณต่ำ dysenteriae หรือมากกว่า 10^6 อาหารที่พบเชื้อนี้คือ เนื้อวัวและเนื้อไก่ดิบ และจากน้ำปนเปื้อนที่นำมาขงนมให้เด็ก และหากเด็กติดเชื้อนี้ อาจทำให้เกิดการขาดน้ำ และอัตราการเสียชีวิต อาจสูงถึงร้อยละ 50 ในประเทศโลกที่สาม

3. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) หรือ *E. coli* 0157:H7 พิษที่สร้างโดย *E. coli* 0157:H7 เป็นประเภท verotoxin ที่คล้ายกับ shigatoxin ที่สร้างโดย *Shigella dysenteriae* ทำให้เกิดความเสียหายให้แก่เยื่อบุของลำไส้ ความรุนแรงคือทำให้เกิดลำไส้ใหญ่อักเสบจนตกเลือด (hemorrhagic colitis) อาการคือ ปวดท้องรุนแรง อุจจาระร่วงในตอนแรก แต่กลายเป็นมูกเลือดต่อมา อาจมีอาเจียนบ้าง และมีไข้ต่ำหรือไม่มี อาหารที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ เนื้อบดหรือแฮมเบอร์เกอร์ดิบหรือไม่ค่อยสุก นอกจากนี้ยังอาจพบในหน่ออัลฟัลฟา น้ำผลไม้ที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ ไส้กรอกหมูปนเนื้อวัว (dry-cured salami) ผักกาดหอม เนื้อสัตว์ป่า (game meat) และน้ำนมดิบ บางครั้งคนไข้อาจมีอาการจากการมีสารในปัสสาวะปะปนในเลือด (hemolytic uremic syndrome: HUS) ที่มีลักษณะพิเศษคืออาจทำให้ไตวายถาวรได้

4. Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) ทำให้เกิดอาการคล้ายของโรคบิดจากเชื้อ *Shigella dysenteriae* หรือบิดมีตัว (bacillary dysentery) ทำให้ท้องร่วงโดยมีเลือดหรือมูกในอุจจาระของผู้ที่ติดเชื้อ ปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดอาการ ประมาณ 10 เซลล์ (เท่ากับ Shigella) อาหารที่เกี่ยวข้อง ยังไม่ชัดเจน แต่มีรายงานว่าเกี่ยวกับเนื้อแฮมเบอร์เกอร์ และน้ำนมที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ เวลาฟักตัว ประมาณ 12 ถึง 72 ชั่วโมง (เกษร, 2536)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 *Salmonella typhimurium*

รูปภาคผนวก ก ที่ 2 *Salmonella typhimurium*
ที่มา: http://www.denniskunkel.com/DK/Bacteria/96424A.html (04/06/59)

1.2.1 อนุกรมวิธานของเชื้อ (Taxonomy)

Domain	:	Bacteria
Kingdom	:	Eubacteria
Phylum	:	Proteobacteria
Class	:	Gamma Proteobacteria
Order	:	Enterobacteriales
Family	:	Enterobacteriaceae
Genus	:	*Salmonella*
Species	:	*typhimurium*

1.2.2 สัณฐานวิทยาของเชื้อ (Morphology)

Salmonella เป็นแบคทีเรียจัดอยู่ในวงศ์ Enterobactiriaceae แบคทีเรียชนิดนี้ ติดสีแกรมลบ มีลักษณะท่อนสั้น ไม่มีแคปซูลและไม่มีสปอร์สปอร์ มีขนาด 0.6 × 1-3 ไมโครเมตร สายพันธ์ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้โดยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.3 แหล่งอาศัยของเชื้อ (Common source)

พบได้ในลำไส้มนุษย์ และสัตว์ อาหารที่พบว่ามักมีการปนเปื้อน เช่น เนื้อสัตว์ดิบ ปรุงไม่สุก หรือซากเป็ดไก่ ไข่ดิบ ผลิตภัณฑ์ที่มีไข่ดิบ นมดิบหรือนมที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อ และ ผลิตภัณฑ์จากนมเช่น เนย ไอศกรีม เนยแข็งและผักบางชนิด สามารถเติบโตได้ที่อุณหภูมิในขอบเขตระหว่าง 8-45 องศาเซลเซียส ในอาหารที่มีความเป็นกรด-ด่างระหว่าง 4-9

1.2.4การก่อโรค (Pathology)

โดยทั่วไปก่อโรคในคน แต่ส่วนใหญ่ก่อโรคในสัตว์ ซึ่งเป็นรังโรคสำคัญที่แพร่มาสู่คน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆร่วมด้วย เช่น สายพันธ์ของเชื้อ ภูมิคุ้มกันของโฮสต์ ความเป็นกรดของกระเพาะอาหาร จุลชีพประจำถิ่นในลำไส้ เป็นต้น ซึ่งสามารถก่อให้เกิดโรคกระเพาะลำไส้ อักเสบ โลหิตเป็นพิษ (จุณจันทร์, 2531)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 *Pseudomonas aeruginosa*

รูปภาคผนวก ก ที่ 3 *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา: http://fineartamerica.com/featured/8-pseudomonas-aeruginosa-sem-david-m-phillips.html (04/06/59)

1.3.1 อนุกรมวิธานของเชื้อ (Taxonomy)

Domain	:	Bacteria
Kingdom	:	Eubacteria
Phylum	:	Proteobacteria
Class	:	Gamma Proteobacteria
Order	:	Pseudomonadales
Family	:	Pseudomonadaceae
Genus	:	*Pseudomonas*
Species	:	*aeruginosa*

1.3.2 สัณฐานวิทยาของเชื้อ (Morphology)

Pseudomonas aeruginosa จะเป็นแบคทีเรียรูปท่อน ย้อมติดสีแกรมลบ จะมีขนาด 0.5-1.0 × 1.5-5.0 ไมโครเมตร มีลักษณะเด่นของเชื้อ *P. aeruginosa* คือกลิ่นที่พิเศษเฉพาะของเชื้อคล้ายกลิ่นองุ่นและเจริญได้ดีในอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส และในที่มีออกซิเจนมากกว่าไม่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือแสวงหาประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกซิเจน สามารถที่จะเคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลา ซึ่งแฟลกเจกลาในที่นี้จะหมายถึงส่วนที่ยื่นออกมาจากเซลล์เพื่อที่จะใช้ในการเคลื่อนที่ มองดูแล้วจะคล้ายขน แฟลกเจลลาจะคล้ายกับซิเลีย แต่จะต่างกันที่แฟลกเจลลาจะขนาดยาวกว่า และมีจำนวนน้อยกว่าซิเลีย ซึ่งโครงสร้างทั้งสองจะมีส่วนประกอบพื้นฐานเดียวกัน คือหลอดโปรตีนไมโครทูบูล (microtubules) ส่วนโคนของแฟลกเจลลา และซิเลียแต่ละอันนั้นจะอยู่ลึกเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ เรียกส่วนที่อยู่ลึกนี้ว่าเบซัลบอดี (basal body) ซึ่งจะทำหน้าที่ในการควบคุมการโบกพัดของแฟลกเจลลา และซิเลีย *P. aeruginosa* บางสายพันธุ์โคโลนีจะมีลักษณะคล้ายเมือก เพราะมีความสามารถที่จะสร้างสารเมือกห่อหุ้มเซลล์ที่คล้ายแคปซูล มีการผลิตสารเม็ดสีที่เรืองแสงอัลตราไวโอเลต ไพโอไซยานินซึ่งจะเป็นสารเม็ดสีเขียวน้ำเงิน อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งจะสามารถสลายเม็ดเลือดแกะได้อย่างสมบูรณ์อีกด้วย

1.3.3 แหล่งอาศัยของเชื้อ (Common source)

เป็นแบคทีเรีย ที่ก่อโรคในสัตว์ รวมทั้งคน พบได้ในดิน น้ำ ผิวหนัง และในสภาพแวดล้อมอื่นๆ อยู่ได้ทั้งในสภาพแวดล้อมปกติ และสภาพออกซิเจนต่ำ ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนได้หลายชนิด ในสัตว์ จะเข้าทำลายเนื้อเยื่อที่มีภูมิคุ้มกันต่ำลง

1.3.4 การก่อโรค (Pathology)

1. การติดเชื้อที่แผลไฟไหม้ เมื่อมีการรวมตัวของเชื้อ *P. aeruginosa* ที่บริเวณแผลไฟไหม้จะเกิดการทำลายของผนังหลอดเลือดและจะเกิดการตายของเนื้อเยื่อ จนทำให้เชื้อนั้นสามารถเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดตรงบริเวณผิวหนังที่ไหม้นั้นจะมีความชุ่มชื้นและจะไม่มีนิวโทรฟิวป้องกันการบุกรุกของเชื้อ จึงทำให้เกิดการติดเชื้อของ *P.aeruginosa* ได้ง่ายอีกด้วย

2. การติดเชื้อที่ปอด (Pulmonary infaction) การติดเชื้อ *P. aeruginosa* บริเวณทางเดินหายใจส่วนล่างจะมีตั้งแต่หลอดคอและหลอดลมปอดอักเสบจนถึงปอดอักเสบอย่างรุนแรง ซึ่งการติดเชื้อจะพบในคนไข้ที่เป็นโรคปอดเรื้อรังและผู้ที่มีนิวโทรฟิวน้อยกว่าปกติ ซึ่งในการติดเชื้อ *P.aeruginosa* ที่ปอดนั้นจะมีลักษณะการติดเชื้อในโรงพยาบาลและที่ทำให้เกิดโรคปอดบวมมี 4 วิธี ดังนี้

2.1 การใช้เครื่องช่วยหายใจรูปแบบต่างๆ การใส่ท่อช่วยหายใจ (Intubation) การเจาะคอ ซึ่งอุปกรณ์เหล่านี้จะกดระบบภูมิคุ้มกันโรคของทางเดินหายใจส่วนต้น หากไม่มีการระมัดระวังในการดูแลคนไข้จะทำให้เชื้อเข้าถึงปอดได้ง่าย ซึ่งการพบเชื้อนั้นจะพบในน้ำที่ใช้ให้ความชื้นภายในเครื่องช่วยหายใจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การแพร่กระจายทางกระแสเลือดในร่างกายของผู้ป่วยจะมีการติดเชื้อที่ใดที่หนึ่ง เมื่อเชื้อลามเข้าสู่กระแสเลือดจะมีปอดเป็นอวัยวะสุดท้ายของการติดเชื้อทางกระแสเลือด ซึ่งจะได้รับการติดเชื้อเสมอ

2.2 การสำลักอาหารภายในปากหรือจากกระเพาะอาหารเข้าสู่ปอดนั้น ผู้ป่วยจะไม่ค่อยรู้สึกตัว

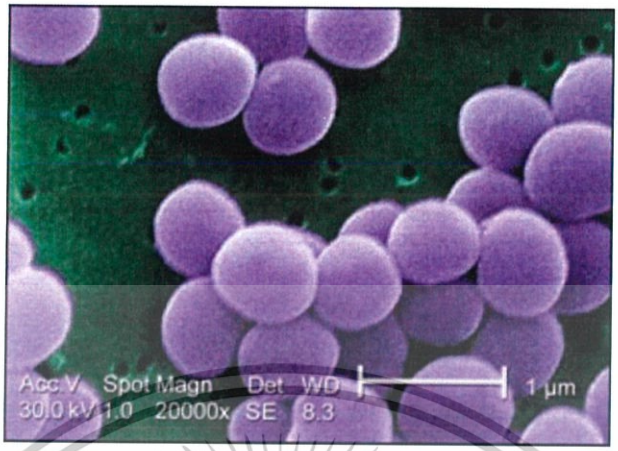
2.3 การหายใจละอองอากาศที่มีเชื้อเข้าไป ทำให้เชื้อแพร่กระจายและสามารถติดต่อได้ง่าย

3. การติดเชื้อที่หู (Ear infaction) สำหรับคนที่ชอบเล่นน้ำมักจะเกิดการติดเชื้อ *P. aeruginosa* จะส่งผลทำให้หูชั้นนอกอักเสบ และการติดเชื้อนั้นสามารถจะลุกลามเข้าไปในเนื้อเยื่อชั้นใน ทำให้เกิดอันตรายได้ จึงจำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะและผ่าตัดในการรักษา

4. ติดเชื้อในกระแสเลือด (bacteremia) และเยื่อบุหัวใจอักเสบ (endocarditis) ในการติดเชื้อ *P. aeruginosa* ในกระแสเลือดนั้นจะไม่แตกต่างกันเลยจากการติดเชื้อแกรมลบชนิดอื่น ถึงจะมีอัตราการตายสูงกว่า เนื่องจากความรุนแรงของเชื้อและเนื่องจากเชื้อจะติดเชื้อในคนไข้ที่มีภูมิคุ้มกันผิดปกติ (Immunocompromised) (นงลักษณ์, 2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 *Staphylococcus aureus*



รูปภาคผนวก ก ที่ 4 *Staphylococcus aureus*
ที่มา: http://www.cafnrnews.com (06/06/2559)

1.4.1 อนุกรมวิธานของเชื้อ (taxonomy)

Domain	:	Bacteria
Kingdom	:	Eubacteria
Phylum	:	Firmicutes
Class	:	Bacilli
Order	:	Bacillales
Family	:	Staphylococcaceae
Genus	:	*Staphylococcus*
Species	:	*aureus*

1.4.2 สัณฐานวิทยาของเชื้อ (Morphology)

S. aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะรูปร่างกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น (staphylococci) หรือเป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ เซลล์มีเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่าง 0.5-1.5 ไมโครเมตร โคโลนีมีสีเหลืองหรือสีทอง *S. aureus* จัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobe คือเจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 6-46 องศาเซลเซียส โดยมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30-37 องศาเซลเซียส และเจริญได้ในช่วง pH 4.0-10.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4.3 แหล่งอาศัยของเชื้อ (Common source)

S. aureus พบได้ทั่วไปบนผิวหนัง เส้นผม ทางเดินหายใจ และลำคอของมนุษย์และสัตว์ โดยเฉพาะสัตว์เลี้ยง เช่น โค กระบือ สุนัข สุกร มักพบปนเปื้อนในอาหารที่ผลิตมาจากเนื้อสัตว์หรือผลิตภัณฑ์จากสัตว์ หรือปนเปื้อนจากการใช้มือสัมผัสอาหารโดยตรง ถ้าอาหารนั้นไม่ได้ผ่านความร้อนที่เพียงพอต่อการทำลายเซลล์ของเชื้อ

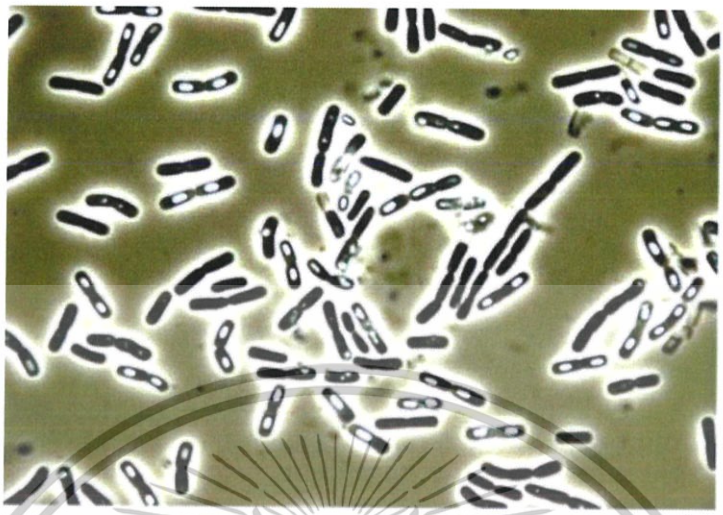
1.4.4 การก่อโรค (Pathology)

เมื่อ *S. aureus* ปนเปื้อนลงไปในอาหาร จะสร้างสารพิษที่เรียกว่าเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ขึ้น ทำให้ผู้บริโภคเกิดอาหารเป็นพิษ หลังจากรับประทานอาหารที่มีแบคทีเรียปนเปื้อนเข้าไปประมาณ 1-6 ชั่วโมง โดยอาการของโรคคือ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง ปวดท้องอ่อนเพลีย

นอกจากนี้เชื้อ *S. aureus* ยังสามารถก่อโรคสำคัญที่ผิวหนัง เช่น ฝี หนอง โรคผิวหนังเป็นตุ่มพุพอง โรคผิวหนังหลุดลอก และการติดเชื้อของบาดแผล (นิติพงษ์ และเอกชัย, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 *Bacillus cereus*



รูปภาคผนวก ก ที่ 5 *Bacillus cereus*

ที่มา: http://www.infectioncontroltoday.com/news/2015/04/the-number-of-food-poisoning-cases-caused-by-bacillus-cereus-is-on-the-rise.aspx (06/06/2559)

1.5.1 อนุกรมวิธานของเชื้อ (Taxonomy)

Domain	:	Bacteria
Kingdom	:	Eubacteria
Phylum	:	Firmicutes
Class	:	Bacilli
Order	:	Bacillales
Family	:	Bacillaceae
Genus	:	*Bacillus*
Species	:	*cereus*

1.5.2 สัณฐานวิทยาของเชื้อ (Morphology)

Bacillus cereus เป็นแบคทีเรียที มี ลักษณะเป็นรูปท่อนตรง ขนาด 0.3-2.2 x 1.2-7.0 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่เคลือนที ได้ สร้างสปอร์ และ สร้างสารพิษ ซึ่งจะขับสารพิษออกมาขณะปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ช่วงอุณหภูมิในการเติบโต อยู่ระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส แต่บางสาย พันธุ์สามารถเติบโตได้ที อุณหภูมิสูงถึง 55 องศา เซลเซียส และบางสายพันธุ์เติบโตได้ที อุณหภูมิ 4-5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเซลเซียส สำหรับค่า pH ที เหมาะสมต่อ การเจริญเติบโตของเชื้อชนิดนี้อยู่ระหว่าง 6-7 และสามารถเติบโตได้ดีในสภาพที มีออกซิเจน และจะสร้างสารพิษเมื่ออยู่ภายใต้สภาพที มี ออกซิเจนน้อย

1.5.3 แหล่งอาศัยของเชื้อ (Common source)

พบทั่วไปในธรรมชาติในดิน น้ำเชื้อสร้างสปอร์ซึ่งทนความแห้งแล้งได้ดี สปอร์จึงพบได้ทั่วไปในฝุ่น ควัน และ ปะปนมากับอาหารแห้ง เช่น น้ำตาล วัตถุเจือปนอาหาร เครื่องเทศ และพบบ่อยในอาหารกลุ่ม แป้ง เมล็ดธัญชาติ (cereal grain) เช่น ข้าวหุงสุก เส้นก๋วยเตี๋ยว พาสต้า อาหารกึ่งสำเร็จรูป เช่น ข้าวกึ่งสำเร็จรูป

1.5.4 การก่อโรค (Pathology)

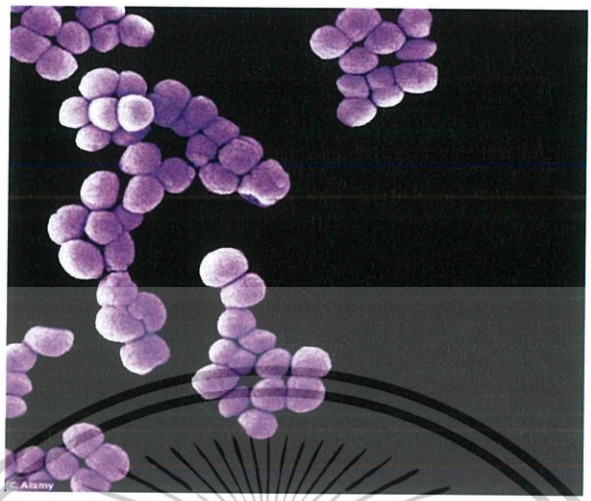
โรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) ทำให้เกิดอาการ 2 ลักษณะ

1. อาการอาเจียน (Emetic syndrome) เกิดจากที่ร่างกายได้รับสารพิษ (intoxication) ที่แบคทีเรียสร้างขึ้นในอาหารก่อนที่จะบริโภคเข้าไป สารพิษนี้ทนต่ออุณหภูมิสูงและทนต่อความเป็นกรดในกระเพาะอาหารได้ดี ผู้ป่วยจะเกิดอาการคลื่นไส้และอาเจียน ภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไปประมาณ 5 ชั่วโมง โดยทั่วไปอาการเป็นอยู่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง โรคอาหารเป็นพิษลักษณะนี้ มักเรียกว่า Chinese restaurant syndrome เนื่องจากมักพบในผู้ป่วยรับประทานอาหารจีน ซึ่งมักเป็นข้าวผัด ที่ทำจากข้าวสุกที่หุงค้างไว้นาน ทำให้แบคทีเรียเจริญเติบโตและสารพิษทนต่อความร้อน ก่อนนำมาปรุงหรือทำให้ร้อนใหม่

2. อาการถ่ายเหลว (Diarrhea syndrome) เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีเซลล์ของแบคทีเรีย และเพิ่มจำนวนในลำไส้ของมนุษย์ ใช้เวลาฟักตัวประมาณ 8-16 ชั่วโมง มีสารพิษเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ที่ไม่ทนต่อความร้อน ทำให้เกิดอาการการปวดท้อง เป็นตะคริวที่ท้อง และถ่ายอุจจาระเหลวโดยทั่วไปอาการเป็นอยู่ไม่เกิน 14 ชั่วโมง ปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (infective dose) 100-100,000 เซลล์ต่อกรัม (สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.6 *Micrococcus luteus*



รูปภาคผนวก ก ที่ 6 *Micrococcus luteus*

ที่มา: http://www.dailymail.co.uk/home/you/article-2788036/why-learn-love-bacteria-s-time-easy-antibac-spray.html(06/06/2559)

1.6.1 อนุกรมวิธานของเชื้อ (Taxonomy)

Kingdom	:	Bacteria
Phylum	:	Actinobacteria
Order	:	Micrococcales
Family	:	Micrococcaceae
Genus	:	*Micrococcus*
Species	:	*luteus*

1.6.2 สัณฐานวิทยาของเชื้อ (Morphology)

Micrococcus luteus เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram-positive bacteria) มีลักษณะรูปร่างกลม (coccus) การแบ่งเซลล์แบบ binary fission ของแบคทีเรียวงศ์นี้ จะเกิดการแบ่งมากกว่าหนึ่งแนวทำให้เซลล์เกาะกันเป็นกลุ่ม ไม่สร้างสปอร์ สร้างเม็ดสี (pigment) ได้ ทำให้มีสีต่างๆ เช่น สีชมพู สีแดง สีส้ม มี metabolism แบบ respiratory คืออาศัยปฏิกิริยาออกซิเดทีฟในการเปลี่ยนสารประกอบคาร์บอนเป็นน้ำและพลังงาน สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรด แต่ไม่ผลิตก๊าซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้องการอากาศในการเจริญ (aerobic bacteria) มีปฏิกิริยา catalase-positive เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophillic bacteria) แต่บางสายพันธุ์เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (psychrophilic bacteria)

1.6.3 แหล่งอาศัยของเชื้อ (Common source)

พบในดิน ฝุ่น น้ำ และบนผิวหนังของคนและสัตว์ ซากสัตว์

1.6.4 การก่อโรค (Pathology)

Micrococcus luteus เป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรค แต่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (microbial spoilage) ได้หลายประเภท เช่น การเสื่อมเสียของน้ำนม การเสื่อมเสียของไข่ การเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์ สัตว์ปีก อาหารกึ่งแห้ง อาหารทะเล ปลา หอย รวมทั้งผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เช่น ไส้กรอก แฮม (ชาญณรงค์, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Mueller Hinton Agar (MHA)

Beef infusion form	300	กรัม
Casein acid hydrolysate	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar	17	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร
pH	7.3 ± 0.2	

วิธีการเตรียม

ชั่งอาหารสำเร็จรูป Mueller Hinton agar 38 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตรนำมาต้มให้เดือดและละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไป autoclave ที่ 121°C เป็นเวลา 15 นาที อาหารที่ได้จะมีลักษณะใส สีเหลืองค่อนข้างน้ำตาล นำออกมาวางให้อุณหภูมิลดลงเหลือประมาณ 50°C และดูดใส่ petri dish ขนาด 150 มิลลิเมตรให้ได้ปริมาตร Mueller Hinton agar 50 มิลลิลิตรต่อ 1 plate

2. Nutrient agar medium (NA)

Nutrient broth	8.0	กรัม
ผงวุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

ละลาย Nutrient broth ลงในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร คนด้วยแท่งแก้วให้สารอาหารละลาย ปรับ pH ด้วย 0.1 NaOH หรือ 0.1 N HCl จนได้ประมาณ 6.8 – 7 ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร นำไปผสมผงวุ้นแล้วต้มจนละลาย เทอาหารใส่ขวดปริมาณขวดละ 200 มิลลิลิตร ปิดจุกด้วยสำลี ปิดทับด้วยกระดาษอีกครั้ง นำไป autoclave ที่ 121°C เป็นเวลา 15 นาที อาหารที่ได้จะมีลักษณะใส สีเหลืองอ่อน

3. Nutrient Broth (NB)

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการเตรียม

การเตรียมอาหาร Nutrient Broth โดยใช้อาหารสำเร็จรูป ทำได้โดยชั่งอาหาร NB สำเร็จรูป 8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนำเข้าหม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที อาหารที่ได้จะมีลักษณะใส สีเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การย้อมสีแบบแกรม เป็นวิธีการเบื้องต้นในการจำแนกแบคทีเรียออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ การย้อมแบบนี้จัดเป็นการย้อมการย้อมแบบ differential staining ซึ่งหมายถึงการใช้สีย้อมตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป โดยสีย้อมแกรมชนิดแรกนั้นเรียกว่า primary stain ซึ่งได้แก่สี crystal violet ส่วนสีย้อมแกรมชนิดที่ 2 เรียกว่าที่ counter stain หรือ secondary stain สีที่ใช้คือ safranin o แบคทีเรียที่ย้อมติดสีแรก เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนแบคทีเรียที่ย้อมติดสีที่ 2 เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ระหว่างการย้อมสีแรกกับสีที่ 2 จะมีการใส่สารละลายไอโอดีน ซึ่งทำหน้าที่เป็น mordant ช่วยให้ crystal violet จับกับแบคทีเรียแกรมบวกได้แน่นไม่หลุดเมื่อล้างออกด้วย สารละลายแอลกอฮอล์

การที่แบคทีเรียจะติดสีแบบใดนั้น เนื่องจากส่วนประกอบทางเคมีและโครงสร้างของผนังเซลล์แบคทีเรียต่างกัน พวกแกรมลบจะมีปริมาณไขมันที่ผนังเซลล์สูงทำให้เมื่อชะล้างสีด้วยสารละลายแอลกอฮอล์ ไขมันจะถูกล้างออกและสารประกอบเชิงซ้อน crystal violet – iodine จะหลุดออกจากเซลล์ได้ง่ายเพราะผนังเซลล์จะเกิดรูพรุนมากขึ้น อย่างไรก็ตามการติดสีของแบคทีเรียโดยเฉพาะอย่างยิ่ง crystal violet มีผลจากปัจจัยภายนอกหลายประการ เช่น ปริมาณความร้อนที่ใช้ระหว่างการตรึงรอย smear การใช้ปริมาณเซลล์มากเกินไปบนรอย smear ระยะเวลาที่ใช้ในการย้อมแต่ละขั้นตอน (โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้สารละลายไอโอดีน และการชะล้างสีด้วยสารละลายแอลกอฮอล์) อายุของแบคทีเรีย (ปกติควรมีอายุไม่เกิน 24 ชั่วโมง) ดังนั้นในการย้อมสีแบบนี้ไม่ควรให้ปัจจัยภายนอกมีอิทธิพลต่อผลของการย้อม การจำแนกแบคทีเรียออกเป็น 2 กลุ่มนี้มีประโยชน์อย่างมากในการค้นคว้าวิจัยทางจุลชีววิทยา โดยวิธีปฏิบัติดังนี้

1. ทำความสะอาดสไลด์และเช็ดให้แห้ง
2. เตรียมรอย smear และตรึงเซลล์ด้วยความร้อนผ่านเปลวไฟ โดยการตรึงเซลล์นั้นจะช่วยให้เซลล์แห้งติดแผ่นกระจกสไลด์
3. หยดสี crystal violet ให้ท่วมรอย smear ทิ้งไว้นาน 1 นาที
4. เทสีที่เหลือค้างบนสไลด์ลงในอ่างน้ำ แล้วชะด้วยสารละลายไอโอดีน หลังจากนั้นหยดสารละลายไอโอดีนให้ท่วมรอย smear และทิ้งไว้นาน 1 นาที ซึ่งสารละลายไอโอดีนนั้นจะช่วยให้เซลล์ย้อมติดสีได้ดีขึ้น
5. เทสารละลายไอโอดีนทิ้ง แล้วชะด้วยสารละลายแอลกอฮอล์ 95% จนกระทั่งไม่มีสีม่วงละลายออกมา แต่อย่าเกิน 20 วินาที แล้วล้างน้ำทันที โดยให้น้ำผ่านเบา ๆ
6. ซับด้วยกระดาษซับ แล้วย้อมทับด้วยการหยดสี safranin o ให้ท่วมรอย smear ทิ้งไว้นาน 1 นาที
7. เทสีทิ้ง ล้างด้วยน้ำ แล้วซับด้วยกระดาษซับ วางทิ้งให้แห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. นำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้เลนส์วัตถุกำลังขยาย 100 เท่า แบคทีเรียทีเป็นแบคทีเรียแกรมบวก จะติดสีน้ำเงิน ส่วนแบคทีเรียแกรมลบจะติดสีแดง (มณฑล, 2552)

ตารางผนวก ค ที่ 1 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงระหว่างการย้อมแกรมของแบคทีเรีย

สี และสารละลายที่ใช้	ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น	
	แบคทีเรียแกรม	แบคทีเรียแกรมลบ
crystal violet	เซลล์ติดสีม่วง	เซลล์ติดสีแดง
สารละลายไอโอดีน	สารละลายไอโอดีนรวมกับ crystal violet เป็นสารประกอบชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ ภายในเซลล์ยังติดสีม่วง	สารละลายไอโอดีนรวมกับ crystal violet เป็นสารประกอบชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ ภายในเซลล์ยังติดสีม่วง
สารละลายแอลกอฮอล์ 95%	ไซโตพลาสซึม และผนังเซลล์สูญเสียน้ำ จึงเกิดการเหี่ยวหรือหดตัว ทำให้รูของผนังเซลล์มีขนาดเล็ก สารประกอบของสีซึ่งมีโมเลกุลขนาดใหญ่จึงไม่สามารถละลายออกมาได้ เซลล์จึงติดสีม่วง	สารพวกลิปิดที่ผนังเซลล์ถูกละลายออกไป ทำให้รูของผนังเซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้น สารละลายของสีจึงสามารถละลายออกจากเซลล์ได้ เซลล์จึงไม่ติดสี
safranin o	เซลล์ไม่ทำปฏิกิริยากับสี safranin o จึงทำให้เซลล์ติดสีม่วงตามเดิม	เซลล์ทำปฏิกิริยากับสี safranin o ทำให้เซลล์ติดสีแดงของสี safranin o

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

1. การสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

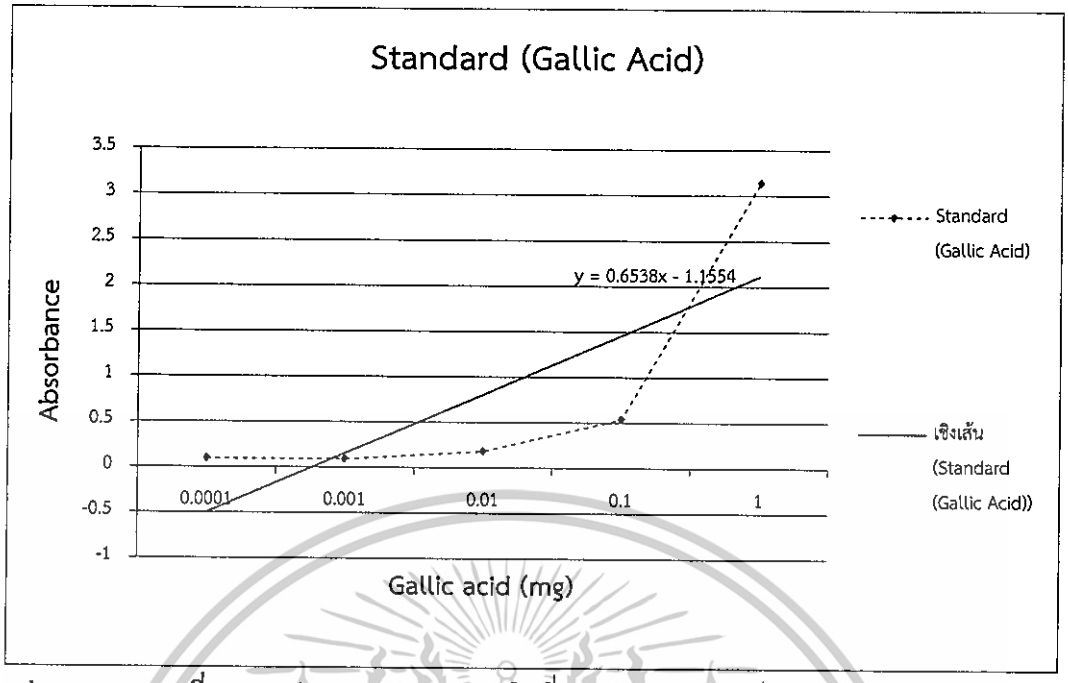
1.1 วิธีการทำสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

นำกรดแกลลิดไปเจือจางด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ให้ได้ความเข้มข้นเป็น 1, 0.1, 0.01, 0.001 และ 0.0001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการดูดสารละลายกรดแกลลิกปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลุมไมโครไตเตอร์เพลท 96 (96-well plate) จากนั้นใส่สารละลาย Folin Ciocalteu's reagent 100 ไมโครลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที เมื่อครบเวลากำหนด นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร

ตารางภาคผนวก ง ที่ 1.1 แสดงค่าดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของกรดแกลลิก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	จำนวนซ้ำ			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
1	0.087	0.075	0.113	0.09
0.1	0.086	0.08	0.097	0.09
0.01	0.223	0.158	0.153	0.18
0.001	0.542	0.523	0.541	0.54
0.0001	3.133	3.143	3.134	3.14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก ง ที่ 1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงและปริมาณกรดแกลลิก พร้อมเส้นแนวโน้มและสมการเชิงเส้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

1. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด

ตารางภาคผนวก จ ที่ 1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบ	การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
เปลือกต้น	0.083	0.089	0.127	0.10
ใบ	0.094	0.109	0.106	0.10
ดอก	0.094	0.108	0.096	0.10

ตารางภาคผนวก จ ที่ 2 แสดงค่ามิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้น ใบ ดอกของแคแสดในแต่ละซ้ำ

จำนวนซ้ำ	มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดหยาบ		
	เปลือกต้น	ใบ	ดอก
ซ้ำที่ 1	0.1894	0.1911	0.1911
ซ้ำที่ 2	0.1903	0.1934	0.1932
ซ้ำที่ 3	0.1961	0.1930	0.1914
ค่าเฉลี่ย	0.1920	0.1925	0.1919

ตารางภาคผนวก จ ที่ 3 แสดงมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้งของตัวอย่างส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด

จำนวนซ้ำ	มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดหยาบ		
	เปลือกต้น	ใบ	ดอก
ซ้ำที่ 1	13.6948	53.3432	21.8416
ซ้ำที่ 2	13.7611	53.9836	22.0863
ซ้ำที่ 3	14.1813	53.8555	21.8765
ค่าเฉลี่ย	13.8790	53.7274	21.9348

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อหาร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด

ตารางภาคผนวก จ ที่ 4 แสดงค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระในแต่ละซ้ำที่ความเข้มข้นต่างๆ จากสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของแคแสด

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	% Inhibition			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
10	39.5340	38.6464	37.4260	38.5355
5	22.7811	33.7648	29.1050	28.5503
2.5	22.7811	23.2249	25.1109	23.7056
1.25	18.0104	18.5651	18.3432	18.3062
0.625	19.6746	18.3727	16.3462	18.1311

ตารางภาคผนวก จ ที่ 5 แสดงค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระในแต่ละซ้ำที่ความเข้มข้นต่างๆ จากสารสกัดหยาบจากใบของแคแสด

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	% Inhibition			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
10	34.7633	34.0976	34.6524	34.5044
5	28.8831	28.3284	31.6568	29.6228
2.5	26.3314	29.6598	28.5503	28.1805
1.25	25.0000	25.4438	25.2219	25.2219
0.625	18.3432	21.7825	19.2308	19.7855

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ ที่ 6 แสดงค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระในแต่ละซ้ำที่ความเข้มข้นต่างๆ จากสารสกัดหยาบจากดอกของแคแสด

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	% Inhibition			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
10	36.6494	35.2071	35.9837	35.9467
5	31.8787	31.9896	30.6583	31.5089
2.5	28.1065	30.5473	27.2189	28.6243
1.25	24.5562	23.6686	25.0000	24.4083
0.625	22.7811	22.4482	23.8905	23.0399

ตารางภาคผนวก จ ที่ 7 แสดงค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระของวิตามินอี (α-tocopherol)

ความเข้มข้นของวิตามินอี (α-tocopherol) (ไมโครโมล)	% DPPH Reduction			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
0.5	70.3772	77.5888	71.5976	73.1879

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด

ตารางภาคผนวก จ ที่ 8 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด ในรูปของการเกิด clear zone โดยสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสด และยาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซิน (Ciprofloxacin)

แบคทีเรีย	สารสกัด (100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			ยาปฏิชีวนะ (10ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
	เปลือกต้น	ใบ	ดอก	Ci
แกรมลบ				+
E. coli	-	-	-	+
S. typhimurium	-	-	-	+
P. aeruginosa	-	-	-	+
แกรมบวก				+
S. aureus	+	-	-	+
B. cereus	+	+	+	+
M. luteus	+	-	-	+

หมายเหตุ 1. ผลการทดลองที่ได้เกิดจากการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ

2. เครื่องหมาย + หมายถึง เกิด clear zone และ
เครื่องหมาย – หมายถึง ไม่เกิด clear zone

3. ตัวย่อ Ci หมายถึง ยาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซิน (Ciprofloxacin)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ ที่ 9 แสดงข้อมูลผลการวัดบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ (clear zone) ของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780 ด้วยวิธี Agar Well ของสารสกัดหยาบจาก ส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดที่มีความเข้มข้นต่างๆ โดยมียาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซินเป็นตัวควบคุมเชิงบวก

สารสกัดหยาบความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone (มิลลิเมตร)					
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	ค่าเฉลี่ย
เปลือกต้น	200	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	100	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	50	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
ใบ	200	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	100	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	50	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
ดอก	200	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	100	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	50	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
Ci	10 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	27.25	28.17	28.50	28.67	28.92	28.30
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ ที่ 10 แสดงข้อมูลผลการวัดบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ (clear zone) ของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 292 ด้วยวิธี Agar Well ของสารสกัดหยาบจาส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดที่มีความเข้มข้นต่างๆ โดยมียาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซินเป็นตัวควบคุมเชิงบวก

สารสกัดหยาบความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone (มิลลิเมตร)					
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	ค่าเฉลี่ย
เปลือกต้น	200	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	100	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	50	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
ใบ	200	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	100	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	50	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
ดอก	200	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	100	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	50	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
Ci	10 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	28.08	28.50	28.67	29.00	29.17	28.68
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ ที่ 11 แสดงข้อมูลผลการวัดบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ (clear zone) ของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 ด้วยวิธี Agar Well ของสารสกัดหยาบจาส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดที่มีความเข้มข้นต่างๆ โดยมียาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซินเป็นตัวควบคุมเชิงบวก

สารสกัดหยาบความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone (มิลลิเมตร)					
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	ค่าเฉลี่ย
เปลือกต้น	200	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	100	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	50	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
ใบ	200	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	100	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	50	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
ดอก	200	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	100	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	50	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
Ci	10 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	30.00	29.83	30.08	30.50	30.75	29.03
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ ที่ 12 แสดงข้อมูลผลการวัดบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ (clear zone) ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 ด้วยวิธี Agar Well ของสารสกัดหยาบจาส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดที่มีความเข้มข้นต่างๆ โดยมียาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซินเป็นตัวควบคุมเชิงบวก

สารสกัดหยาบความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone (มิลลิเมตร)					
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	ค่าเฉลี่ย
เปลือกต้น	100	25.60	27.50	27.00	28.00	28.00	27.22
	50	25.50	22.50	25.50	24.50	25.25	24.65
	25	18.00	14.75	16.00	15.00	16.50	16.05
	12.5	14.00	14.50	15.50	16.00	12.50	14.50
	6.25	12.50	10.50	14.50	10.75	12.50	12.15
	3.13	10.50	11.25	13.50	7.03	7.50	9.96
	1.56	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	0.78	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
ใบ	200	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	100	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	50	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
ดอก	200	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	100	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	50	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
Ci	10 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	20.50	20.83	20.33	19.42	19.67	20.15
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ ที่ 13 แสดงข้อมูลผลการวัดบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ (clear zone) ของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687 ด้วยวิธี Agar Well ของสารสกัดหยาบจาส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดที่มีความเข้มข้นต่างๆ โดยมียาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซินเป็นตัวควบคุมเชิงบวก

สารสกัดหยาบความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone (มิลลิเมตร)					
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	ค่าเฉลี่ย
เปลือกต้น	100	25.00	23.50	25.00	24.00	26.50	24.80
	50	25.75	22.25	22.25	21.50	23.50	23.05
	25	20.00	19.75	20.5	22.00	20.00	20.45
	12.5	15.00	14.50	14.75	17.75	16.00	15.60
	6.25	11.75	12.50	14.5	15.25	14.50	13.70
	3.13	12.75	9.25	9.00	11.25	13.50	11.15
	1.56	10.50	10.25	11.00	11.75	9.50	10.60
	0.78	10.50	9.40	9.50	7.25	8.50	9.03
	0.39	9.00	10.50	8.25	8.25	8.00	9.00
	0.20	10.00	8.00	7.50	9.00	10.00	8.90
	0.10	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	0.05	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
ใบ	100	11.25	11.50	12.50	11.50	13.75	12.10
	50	11.00	9.50	10.75	11.25	10.50	10.60
	25	9.25	9.25	8.50	10.50	9.50	9.40
	12.5	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
ดอก	100	10.25	13.00	12.00	10.00	12.75	11.60
	50	9.50	9.35	9.25	10.25	9.25	9.52
	25	8.50	7.50	8.00	7.50	9.25	8.15
	12.5	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
Ci	10 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	23.33	21.75	23.00	23.75	24.33	23.23
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ ที่ 14 แสดงข้อมูลผลการวัดบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ (clear zone) ของเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ด้วยวิธี Agar well ของสารสกัดหยาบจาส่วนเปลือกต้น ใบ และดอกของแคแสดที่มีความเข้มข้นต่างๆ โดยมียาปฏิชีวนะไซโพรฟลอกซาซินเป็นตัวควบคุมเชิงบวก

สารสกัดหยาบความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone (มิลลิเมตร)					
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	ค่าเฉลี่ย
เปลือกต้น	100	24.25	24.00	25.50	25.00	20.50	23.85
	50	23.50	21.25	20.50	19.00	20.50	20.95
	25	18.50	18.00	17.00	18.50	18.00	18.00
	12.5	17.00	17.75	17.25	16.50	16.50	17.00
	6.25	15.50	17.50	15.50	16.00	17.00	16.30
	3.13	11.50	15.00	11.50	14.00	13.00	13.00
	1.56	12.25	10.25	13.50	15.50	13.00	13.06
	0.78	8.50	11.00	12.50	13.50	12.00	11.50
	0.39	10.50	10.75	8.50	9.50	10.25	9.90
	0.20	8.25	9.25	8.00	10.00	10.50	9.20
	0.10	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	0.05	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
ใบ	200	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	100	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	50	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
ดอก	200	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	100	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	50	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
Ci	10 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	18.33	20.08	20.08	20.00	19.50	19.60
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

1. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสด

1.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสด ในหน่วยมิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด

Descriptives

Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เปลือกต้น	3	.191965	.0036495	.0021071	.182899	.201031	.1894	.1961
ใบ	3	.192475	.0012140	.0007009	.189459	.195491	.1911	.1934
ดอก	3	.191914	.0011581	.0006686	.189037	.194791	.1911	.1932
Total	9	.192118	.0020263	.0006754	.190560	.193675	.1894	.1961

Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.215	2	6	.049

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	2	.000	.054	.948
Within Groups	.000	6	.000		
Total	.000	8			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Data

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ดอก	3	.191914
เปลือกต้น	3	.191965
ใบ	3	.192475
Sig.		.784

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสด ในหน่วยมิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง

Descriptives

Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เปลือกต้น	3	13.879064	.2638619	.1523407	13.223595	14.534533	13.6948	14.1813
ใบ	3	53.727405	.3388812	.1956531	52.885578	54.569233	53.3432	53.9836
ดอก	3	21.934804	.1323689	.0764232	21.605981	22.263626	21.8416	22.0863
Total	9	29.847091	18.2481463	6.0827154	15.820324	43.873858	13.6948	53.9836

Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.039	2	6	.211

ANOVA

Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2663.555	2	1331.777	19780.334	.000
Within Groups	.404	6	.067		
Total	2663.959	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Data

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
เปลือกต้น	3	13.879064		
ดอก	3		21.934804	
ใบ	3			53.727405
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

2. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging activity ของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสด

2.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระในระดับความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้นของแคแสด

Descriptives

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เปลือกต้น 0.63 mg/ml	3	18.131138	1.6772987	.9683889	13.964497	22.297779	16.3462	19.6746
เปลือกต้น 1.25 mg/ml	3	18.306213	.2792099	.1612019	17.612617	18.999809	18.0104	18.5651
เปลือกต้น 2.5 mg/ml	3	23.705621	1.2371101	.7142459	20.632469	26.778773	22.7811	25.1109
เปลือกต้น 5 mg/ml	3	28.550296	5.5128365	3.1828376	14.855651	42.244941	22.7811	33.7648
เปลือกต้น 10 mg/ml	3	38.535503	1.0583645	.6110470	35.906380	41.164626	37.4260	39.5340
vitE 0.5 mM	3	73.187870	3.8598201	2.2284682	63.599545	82.776195	70.3772	77.5888
Total	18	33.402773	19.8010549	4.6671534	23.555941	43.249606	16.3462	77.5888

Test of Homogeneity of Variances

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.196	5	12	.046

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6563.727	5	1312.745	154.953	.000
Within Groups	101.663	12	8.472		
Total	6665.390	17			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ

Duncan[a]

สารสกัด	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
เปลือกต้น 0.63 mg/ml	3	18.131138			
เปลือกต้น 1.25 mg/ml	3	18.306213			
เปลือกต้น 2.5 mg/ml	3		23.705621		
เปลือกต้น 5 mg/ml	3		28.550296		
เปลือกต้น 10 mg/ml	3			38.535503	
vitE 0.5 mM	3				73.187870
Sig.		.942	.064	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 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระในระดับความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบของแคแสด

Descriptives

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ 0.63 mg/ml	3	19.785503	1.7855189	1.0308698	15.350028	24.220978	18.3432	21.7825
ใบ 1.25 mg/ml	3	25.221893	.2218935	.1281103	24.670680	25.773107	25.0000	25.4438
ใบ 2.5 mg/ml	3	28.180473	1.6947395	.9784583	23.970507	32.390440	26.3314	29.6598
ใบ 5 mg/ml	3	29.622781	1.7832194	1.0295422	25.193018	34.052544	28.3284	31.6568
ใบ 10 mg/ml	3	34.504438	.3566439	.2059084	33.618485	35.390390	34.0976	34.7633
vitE 0.5 mM	3	73.187870	3.8598201	2.2284682	63.599545	82.776195	70.3772	77.5888
Total	18	35.083826	18.2010311	4.2900242	26.032667	44.134986	18.3432	77.5888

Test of Homogeneity of Variances

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.069	5	12	.010

ANOVA

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5583.089	5	1116.618	275.541	.000
Within Groups	48.629	12	4.052		
Total	5631.718	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ

Duncan[a]

สารสกัด	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
ใบ 0.63 mg/ml	3	19.785503				
ใบ 1.25 mg/ml	3		25.221893			
ใบ 2.5 mg/ml	3		28.180473	28.180473		
ใบ 5 mg/ml	3			29.622781		
ใบ 10 mg/ml	3				34.504438	
vitE 0.5 mM	3					73.187870
Sig.		1.000	.097	.397	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 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระในระดับความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดหยาบจากส่วนดอกของแคแสด

Descriptives

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ดอก 0.63 mg/ml	3	23.039941	.7551989	.4360143	21.163923	24.915959	22.4482	23.8905
ดอก 1.25 mg/ml	3	24.408284	.6778958	.3913833	22.724297	26.092271	23.6686	25.0000
ดอก 2.5 mg/ml	3	28.624260	1.7235474	.9950905	24.342731	32.905789	27.2189	30.5473
ดอก 5 mg/ml	3	31.508876	.7387198	.4265001	29.673794	33.343958	30.6583	31.9896
ดอก 10 mg/ml	3	35.946746	.7218647	.4167688	34.153534	37.739957	35.2071	36.6494
vitE 0.5 mM	3	73.187870	3.8598201	2.2284682	63.599545	82.776195	70.3772	77.5888
Total	18	36.119329	17.6888207	4.1692950	27.322886	44.915773	22.4482	77.5888

Test of Homogeneity of Variances

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.834	5	12	.006

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5279.273	5	1055.855	317.304	.000
Within Groups	39.931	12	3.328		
Total	5319.204	17			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ

Duncan[a]

สารสกัด	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ดอก 0.63 mg/ml	3	23.039941			
ดอก 1.25 mg/ml	3	24.408284			
ดอก 2.5 mg/ml	3		28.624260		
ดอก 5 mg/ml	3		31.508876		
ดอก 10 mg/ml	3			35.946746	
vitE 0.5 mM	3				73.187870
Sig.		.376	.077	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

2.4 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระในระดับความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสด

Descriptives

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ

สารสกัด	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Mini-mum	Maxi-mum
					Lower Bound	Upper Bound		
เปลือกต้น 0.63 mg/ml	3	18.131138	1.6772987	.9683889	13.964497	22.297779	16.3462	19.6746
เปลือกต้น 1.25 mg/ml	3	18.306213	.2792099	.1612019	17.612617	18.999809	18.0104	18.5651
เปลือกต้น 2.5 mg/ml	3	23.705621	1.2371101	.7142459	20.632469	26.778773	22.7811	25.1109
เปลือกต้น 5 mg/ml	3	28.550296	5.5128365	3.1828376	14.855651	42.244941	22.7811	33.7648
เปลือกต้น 10 mg/ml	3	38.535503	1.0583645	.6110470	35.906380	41.164626	37.4260	39.5340
ใบ 0.63 mg/ml	3	19.785500	1.7854874	1.0308516	15.350103	24.220897	18.3432	21.7825
ใบ 1.25 mg/ml	3	25.221900	.2219000	.1281140	24.670670	25.773130	25.0000	25.4438
ใบ 2.5 mg/ml	3	28.180500	1.6947347	.9784555	23.970546	32.390454	26.3314	29.6598
ใบ 5 mg/ml	3	29.622767	1.7832251	1.0295455	25.192990	34.052543	28.3284	31.6568
ใบ 10 mg/ml	3	34.504433	.3566647	.2059205	33.618429	35.390438	34.0976	34.7633
ดอก 0.63 mg/ml	3	23.039933	.7551843	.4360059	21.163952	24.915915	22.4482	23.8905
ดอก 1.25 mg/ml	3	24.408267	.6779157	.3913948	22.724231	26.092303	23.6686	25.0000
ดอก 2.5 mg/ml	3	28.624233	1.7235421	.9950875	24.342717	32.905749	27.2189	30.5473
ดอก 5 mg/ml	3	31.508867	.7386964	.4264866	29.673843	33.343890	30.6583	31.9896
ดอก 10 mg/ml	3	35.946733	.7218603	.4167662	34.153533	37.739934	35.2071	36.6494
vitE 0.5 mM	3	73.187867	3.8598581	2.2284901	63.599448	82.776286	70.3772	77.5888
Total	48	30.078736	12.8103479	1.8490145	26.358998	33.798473	16.3462	77.5888

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Test of Homogeneity of Variances

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.443	15	32	.002

ANOVA

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7582.305	15	505.487	123.827	.000
Within Groups	130.631	32	4.082		
Total	7712.936	47			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ

Duncan[a]

สารสกัด	N	Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
เปลือกต้น 0.63 mg/ml	3	18.131138								
เปลือกต้น 1.25 mg/ml	3	18.306213								
ใบ 0.63 mg/ml	3	19.785500	19.785500							
ดอก 0.63 mg/ml	3		23.039933	23.039933						
เปลือกต้น 2.5 mg/ml	3			23.705621						
ดอก 1.25 mg/ml	3			24.408267						
ใบ 1.25 mg/ml	3			25.221900	25.221900					
ใบ 2.5 mg/ml	3				28.180500	28.180500				
เปลือกต้น 5 mg/ml	3				28.550296	28.550296				
ดอก 2.5 mg/ml	3				28.624233	28.624233				
ใบ 5 mg/ml	3					29.622767				
ดอก 5 mg/ml	3					31.508867	31.508867			
ใบ 10 mg/ml	3						34.504433	34.504433		
ดอก 10 mg/ml	3							35.946733	35.946733	
เปลือกต้น 10 mg/ml	3								38.535503	
vitE 0.5 mM	3									73.187867
Sig.		.352	.057	.237	.067	.079	.079	.388	.126	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสด

3.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดของสารสกัดหยาบจากส่วนของเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสด ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

3.1.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780

Descriptives

Data

สารสกัด	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เปลือกต้น 100 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
เปลือกต้น 50 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ใบ 100 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ใบ 50 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ดอก 100 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ดอก 50 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ethanol 95%	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ciprofloxacin 10 ug/ml	5	28.3000	.64711	.28940	27.4965	29.1035	27.25	28.92
Total	40	8.7875	7.47186	1.18140	6.3979	11.1771	6.00	28.92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8.077	7	32	.000

ANOVA

Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2175.644	7	310.806	5937.791	.000
Within Groups	1.675	32	.052		
Total	2177.319	39			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Data

Duncan[a]

สารสกัด	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เปลือกต้น 100 mg/ml	5	6.0000	
เปลือกต้น 50 mg/ml	5	6.0000	
ใบ 100 mg/ml	5	6.0000	
ใบ 50 mg/ml	5	6.0000	
ดอก 100 mg/ml	5	6.0000	
ดอก 50 mg/ml	5	6.0000	
ethanol 95%	5	6.0000	
ciprofloxacin 10 ug/ml	5		28.3000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TTISRT 292

Descriptives

Data

สารสกัด	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เปลือกต้น 100 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
เปลือกต้น 50 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ใบ 100 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ใบ 50 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ดอก 100 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ดอก 50 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ethanol 95%	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ciprofloxacin 10 ug/ml	5	28.6833	.42655	.19076	28.1537	29.2130	28.08	29.17
Total	40	8.8354	7.59860	1.20144	6.4053	11.2656	6.00	29.17

Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9.491	7	32	.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2251.085	7	321.584	14139.855	.000
Within Groups	.728	32	.023		
Total	2251.812	39			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Data

Duncan[a]

สารสกัด	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เปลือกต้น 100 mg/ml	5	6.0000	
เปลือกต้น 50 mg/ml	5	6.0000	
ใบ 100 mg/ml	5	6.0000	
ใบ 50 mg/ml	5	6.0000	
ดอก 100 mg/ml	5	6.0000	
ดอก 50 mg/ml	5	6.0000	
ethanol 95%	5	6.0000	
ciprofloxacin 10 ug/ml	5		28.6833
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781

Descriptives

Data

สารสกัด	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เปลือกต้น 100 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
เปลือกต้น 50 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ใบ 100 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ใบ 50 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ดอก 100 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ดอก 50 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ethanol 95%	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ciprofloxacin 10 ug/ml	5	29.0333	2.83615	1.26837	25.5118	32.5549	24.00	30.75
Total	40	8.8792	7.76789	1.22821	6.3949	11.3635	6.00	30.75

Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.808	7	32	.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2321.088	7	331.584	329.781	.000
Within Groups	32.175	32	1.005		
Total	2353.263	39			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Data

Duncan[a]

สารสกัด	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เปลือกต้น 100 mg/ml	5	6.0000	
เปลือกต้น 50 mg/ml	5	6.0000	
ใบ 100 mg/ml	5	6.0000	
ใบ 50 mg/ml	5	6.0000	
ดอก 100 mg/ml	5	6.0000	
ดอก 50 mg/ml	5	6.0000	
ethanol 95%	5	6.0000	
ciprofloxacin 10 ug/ml	5		29.0333
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TTISTR 1466

Descriptives

Data

สารสกัด	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เปลือกต้น 100 mg/ml	5	27.2200	.99599	.44542	25.9833	28.4567	25.60	28.00
เปลือกต้น 50 mg/ml	5	24.6500	1.26984	.56789	23.0733	26.2267	22.50	25.50
เปลือกต้น 25 mg/ml	5	16.0500	1.30384	.58310	14.4311	17.6689	14.75	18.00
เปลือกต้น 12.5 mg/ml	5	14.5000	1.36931	.61237	12.7998	16.2002	12.50	16.00
เปลือกต้น 6.25 mg/ml	5	12.1500	1.61632	.72284	10.1431	14.1569	10.50	14.50
เปลือกต้น 3.13 mg/ml	5	9.9550	2.69968	1.20733	6.6029	13.3071	7.03	13.50
เปลือกต้น 1.56 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
เปลือกต้น 0.78 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ใบ 100 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ใบ 50 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ดอก 100 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ดอก 50 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ethanol 95%	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ciprofloxacin 10 ug/ml	5	20.1500	.59043	.26405	19.4169	20.8831	19.42	20.83
Total	70	11.9054	7.37194	.88112	10.1476	13.6631	6.00	28.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7.057	13	56	.000

ANOVA

Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3684.125	13	283.394	241.497	.000
Within Groups	65.715	56	1.173		
Total	3749.841	69			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Data

Duncan[a]

สารสกัด	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
เปลือกต้น 1.56 mg/ml	5	6.0000							
เปลือกต้น 0.78 mg/ml	5	6.0000							
ใบ 100 mg/ml	5	6.0000							
ใบ 50 mg/ml	5	6.0000							
ดอก 100 mg/ml	5	6.0000							
ดอก 50 mg/ml	5	6.0000							
ethanol 95%	5	6.0000							
เปลือกต้น 3.13 mg/ml	5		9.9550						
เปลือกต้น 6.25 mg/ml	5			12.1500					
เปลือกต้น 12.5 mg/ml	5				14.5000				
เปลือกต้น 25 mg/ml	5					16.0500			
ciprofloxacin 10 ug/ml	5						20.1500		
เปลือกต้น 50 mg/ml	5							24.6500	
เปลือกต้น 100 mg/ml	5								27.2200
Sig.		1.000	1.000	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 = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.5 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TTISTR 687

Descriptives

Data

สารสกัด	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เปลือกต้น 100 mg/ml	5	24.8000	1.15109	.51478	23.3707	26.2293	23.50	26.50
เปลือกต้น 50 mg/ml	5	23.0500	1.67145	.74750	20.9746	25.1254	21.50	25.75
เปลือกต้น 25 mg/ml	5	20.4500	.90830	.40620	19.3222	21.5778	19.75	22.00
เปลือกต้น 12.5 mg/ml	5	15.6000	1.32994	.59477	13.9487	17.2513	14.50	17.75
เปลือกต้น 6.25 mg/ml	5	13.7000	1.49374	.66802	11.8453	15.5547	11.75	15.25
เปลือกต้น 3.13 mg/ml	5	11.1500	2.02021	.90347	8.6416	13.6584	9.00	13.50
เปลือกต้น 1.56 mg/ml	5	10.6000	.84039	.37583	9.5565	11.6435	9.50	11.75
เปลือกต้น 0.78 mg/ml	5	9.0300	1.22147	.54626	7.5133	10.5467	7.25	10.50
เปลือกต้น 0.39 mg/ml	5	9.0000	.98425	.44017	7.7779	10.2221	8.00	10.50
เปลือกต้น 0.20 mg/ml	5	8.9000	1.14018	.50990	7.4843	10.3157	7.50	10.00
เปลือกต้น 0.10 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
เปลือกต้น 0.05 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ใบ 100 mg/ml	5	12.1000	1.03983	.46503	10.8089	13.3911	11.25	13.75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัด	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ 50 mg/ml	5	10.6000	.67546	.30208	9.7613	11.4387	9.50	11.25
ใบ 25 mg/ml	5	9.4000	.72024	.32210	8.5057	10.2943	8.50	10.50
ใบ 12.5 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ดอก 100 mg/ml	5	11.6000	1.39866	.62550	9.8633	13.3367	10.00	13.00
ดอก 50 mg/ml	5	9.5200	.42071	.18815	8.9976	10.0424	9.25	10.25
ดอก 25 mg/ml	5	8.1500	.74162	.33166	7.2292	9.0708	7.50	9.25
ดอก 12.5 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ethanol 95%	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ciprofloxacin 10 ug/ml	5	23.2333	.96717	.43253	22.0324	24.4342	21.75	24.33
Total	110	11.8583	5.89453	.56202	10.7444	12.9722	6.00	26.50

Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.226	21	88	.000

ANOVA

Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3694.588	21	175.933	167.071	.000
Within Groups	92.668	88	1.053		
Total	3787.255	109			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Data

Duncan[a]

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
เปลือกต้น 0.10 mg/ml	5	6.0000									
เปลือกต้น 0.05 mg/ml	5	6.0000									
ใบ 12.5 mg/ml	5	6.0000									
ดอก 12.5 mg/ml	5	6.0000									
ethanol 95%	5	6.0000									
ดอก 25 mg/ml	5		8.1500								
เปลือกต้น 0.20 mg/ml	5		8.9000								
เปลือกต้น 0.39 mg/ml	5		9.0000								
เปลือกต้น 0.78 mg/ml	5		9.0300								
ใบ 25 mg/ml	5		9.4000	9.4000							
ดอก 50 mg/ml	5		9.5200	9.5200							
เปลือกต้น 1.56 mg/ml	5			10.6000	10.6000						
ใบ 50 mg/ml	5			10.6000	10.6000						
เปลือกต้น 3.13 mg/ml	5				11.1500	11.1500					
ดอก 100 mg/ml	5				11.6000	11.6000					
ใบ 100 mg/ml	5					12.1000					
เปลือกต้น 6.25 mg/ml	5						13.7000				
เปลือกต้น 12.5 mg/ml	5							15.6000			
เปลือกต้น 25 mg/ml	5								20.4500		
เปลือกต้น 50 mg/ml	5									23.0500	
ciprofloxacin 10 ug/ml	5									23.2333	
เปลือกต้น 100 mg/ml	5										24.8000
Sig.		1.000	.067	.095	.165	.171	1.000	1.000	1.000	.778	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.6 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374

Descriptives

Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Mini-mum	Maxi-mum
					Lower Bound	Upper Bound		
เปลือกต้น 100 mg/ml	5	23.8500	1.96532	.87892	21.4097	26.2903	20.50	25.50
เปลือกต้น 50 mg/ml	5	20.9500	1.64317	.73485	18.9097	22.9903	19.00	23.50
เปลือกต้น 25 mg/ml	5	18.0000	.61237	.27386	17.2396	18.7604	17.00	18.50
เปลือกต้น 12.5 mg/ml	5	17.0000	.53033	.23717	16.3415	17.6585	16.50	17.75
เปลือกต้น 6.25 mg/ml	5	16.3000	.90830	.40620	15.1722	17.4278	15.50	17.50
เปลือกต้น 3.13 mg/ml	5	13.0000	1.54110	.68920	11.0865	14.9135	11.50	15.00
เปลือกต้น 1.56 mg/ml	5	12.9000	1.90886	.85367	10.5298	15.2702	10.25	15.50
เปลือกต้น 0.78 mg/ml	5	11.5000	1.90394	.85147	9.1359	13.8641	8.50	13.50
เปลือกต้น 0.39 mg/ml	5	9.9000	.91173	.40774	8.7679	11.0321	8.50	10.75
เปลือกต้น 0.20 mg/ml	5	9.2000	1.08109	.48348	7.8577	10.5423	8.00	10.50
เปลือกต้น 0.10 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
เปลือกต้น 0.05 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ใบ 100 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ใบ 50 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ดอก 100 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ดอก 50 mg/ml	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ethanol 95%	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ciprofloxacin 10 ug/ml	5	19.6000	.74861	.33479	18.6705	20.5295	18.33	20.08
Total	90	11.9000	5.99674	.63211	10.6440	13.1560	6.00	25.50

Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.876	17	72	.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3119.525	17	183.501	163.129	.000
Within Groups	80.992	72	1.125		
Total	3200.517	89			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Data

Duncan

		Subset for alpha = 0.05								
ความเข้มข้น	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9
เปลือกต้น 0.10 mg/ml	5	6.0000								
เปลือกต้น 0.05 mg/ml	5	6.0000								
ใบ 100 mg/ml	5	6.0000								
ใบ 50 mg/ml	5	6.0000								
ดอก 100 mg/ml	5	6.0000								
ดอก 50 mg/ml	5	6.0000								
ethanol 95%	5	6.0000								
เปลือกต้น 0.20 mg/ml	5		9.2000							
เปลือกต้น 0.39 mg/ml	5		9.9000							
เปลือกต้น 0.78 mg/ml	5			11.5000						
เปลือกต้น 1.56 mg/ml	5				12.9000					
เปลือกต้น 3.13 mg/ml	5				13.0000					
เปลือกต้น 6.25 mg/ml	5					16.3000				
เปลือกต้น 12.5 mg/ml	5					17.0000	17.0000			
เปลือกต้น 25 mg/ml	5						18.0000			
ciprofloxacin 10 ug/ml	5							19.6000		
เปลือกต้น 50 mg/ml	5								20.9500	
เปลือกต้น 100 mg/ml	5									23.8500
Sig.		1.000	.300	1.000	.882	.300	.140	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดของสารสกัดหยาบจากส่วนของเปลือกต้น ใบ และดอก ของแคแสด ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดจากสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้นของแคแสดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Escherichia coli TISTR 780	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Salmonella typhimurium TTISRT 292	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Pseudomonas aeruginosa TISTR 781	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Staphylococcus aureus TTISTR 1466	5	27.2200	.99599	.44542	25.9833	28.4567	25.60	28.00
Bacillus cereus TTISTR 687	5	24.8000	1.15109	.51478	23.3707	26.2293	23.50	26.50
Micrococcus luteus TISTR 2374	5	23.8500	1.96532	.87892	21.4097	26.2903	20.50	25.50
Total	30	15.6450	9.90592	1.80857	11.9461	19.3439	6.00	28.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.106	5	24	.008

ANOVA

Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2820.974	5	564.195	547.806	.000
Within Groups	24.718	24	1.030		
Total	2845.692	29			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Data

Duncan[a]

เชื้อจุลินทรีย์	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Escherichia coli TISTR 780	5	6.0000		
Salmonella typhimurium TTISRT 292	5	6.0000		
Pseudomonas aeruginosa TISTR 781	5	6.0000		
Micrococcus luteus TISTR 2374	5		23.8500	
Bacillus cereus TTISTR 687	5		24.8000	
Staphylococcus aureus TTISTR 1466	5			27.2200
Sig.		1.000	.152	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดจากสารสกัดหยาบส่วนใบของแคแสดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Escherichia coli TISTR 780	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Salmonella typhimurium TTISRT 292	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Pseudomonas aeruginosa TISTR 781	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Staphylococcus aureus TTISTR 1466	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Bacillus cereus TTISTR 687	5	12.1000	1.03983	.46503	10.8089	13.3911	11.25	13.75
Micrococcus luteus TISTR 2374	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	30	7.0167	2.34423	.42800	6.1413	7.8920	6.00	13.75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
13.965	5	24	.000

ANOVA

Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	155.042	5	31.008	172.069	.000
Within Groups	4.325	24	.180		
Total	159.367	29			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Data

Duncan[a]

เชื้อจุลินทรีย์	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Escherichia coli TISTR 780	5	6.0000	
Salmonella typhimurium TTISRT 292	5	6.0000	
Pseudomonas aeruginosa TISTR 781	5	6.0000	
Staphylococcus aureus TTISTR 1466	5	6.0000	
Micrococcus luteus TISTR 2374	5	6.0000	
Bacillus cereus TTISTR 687	5		12.1000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดจากสารสกัดหยาบส่วนดอกของแคแสดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Descriptives

Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Escherichia coli TISTR 780	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Salmonella typhimurium TTISRT 292	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Pseudomonas aeruginosa TISTR 781	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Staphylococcus aureus TTISTR 1466	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Bacillus cereus TTISTR 687	5	11.6000	1.39866	.62550	9.8633	13.3367	10.00	13.00
Micrococcus luteus TISTR 2374	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	30	6.9333	2.18531	.39898	6.1173	7.7493	6.00	13.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
32.269	5	24	.000

ANOVA

Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	130.667	5	26.133	80.153	.000
Within Groups	7.825	24	.326		
Total	138.492	29			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Data

Duncan[a]

เชื้อจุลินทรีย์	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Escherichia coli TISTR 780	5	6.0000	
Salmonella typhimurium TTISRT 292	5	6.0000	
Pseudomonas aeruginosa TISTR 781	5	6.0000	
Staphylococcus aureus TTISTR 1466	5	6.0000	
Micrococcus luteus TISTR 2374	5	6.0000	
Bacillus cereus TTISTR 687	5		11.6000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้