

การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและสารพฤษเคมีจากสารสกัด
Euphorbia heterophylla

STUDY OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND PHYTOCHEMICALS
FROM *EUPHORBIA HETEROPHYLLA* EXTRACTS



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

STUDY OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND PHYTOCHEMICALS
FROM *EUPHORBIA HETEROPHYLLA* EXTRACTS



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FUFILMENT OF
THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ในงานเพื่อการศึกษานานาชาติเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ACADEMIC YEAR 2018
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2018

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ยืมเห็นหน้าไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและสารพฤกษเคมีจากสารสกัด *Euphorbia heterophylla*

STUDY OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND PHYTOCHEMICALS FROM *EUPHORBIA HETEROPHYLLA* EXTRACTS

ชื่อนักศึกษา นางสาวน้ำทิพย์ ไคร์ครวญ รหัส 58050909
นางสาวนุจรินทร์ มุลนามัย รหัส 58050912
นางสาวบุศรินทร์ สุรจรัสสาร รหัส 58050913

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาจุลชีววิทยา
อุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ลินจง สุขล้าภู ประธานกรรมการ	ลินจง สุขล้าภู
ผศ.ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไฟวงศ์ กรรมการ	วรภัทร์ สงวนไชยไฟวงศ์
ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและสารพิษจากสารสกัด <i>Euphorbia heterophylla</i>	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวน้ำทิพย์	ไคร่ครวญ
	นางสาวนุจรินทร์	มูลนามัย
	นางสาวบุศรินทร์	สุรจรรย์สาร
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต	
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรมประยุกต์	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล	

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางพิษเคมีและกิจกรรมการต้านทานต่อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย ต่อการต้านทานเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* TISTR1466, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* TISTR5040, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR781, *Escherichia coli* TISTR780 และ *Yersinia enterocolitica* หาสมบัติบางประการของสารพิษเคมี ได้แก่ การวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ สารประกอบแทนนิน สารประกอบแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging ผลการทดลองพบว่าดอกนั้นมีสารพิษเคมี ได้แก่ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแอนโทไซยานิน มากที่สุด ซึ่งมีค่าเทียบเท่ากับ 501.452 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด 773.00 มิลลิกรัมของควอซีตินต่อกรัมของสารสกัด และ 2.97 มิลลิกรัมของ ไฮยานิดิน-3-กลูโคไซด์ ต่อลิตรของสารสกัด ตามลำดับ และในส่วนของใบยังพบปริมาณของแทนนินมากที่สุด โดยมีค่าเทียบเท่ากับ 353.33 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดหยาบ นอกจากนี้ยังทดสอบ DPPH radical scavenging พบว่าต้นมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุด พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 18.039 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และจากการทดลองกิจกรรมการต้านทานต่อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย ต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด พบว่าสารสกัดจากใบมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิดมากที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สารสกัดสามารถทำลายเชื้อได้ (MBC) ต่อเชื้อ *B. cereus* ที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC ต่อเชื้อ *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *Y. enterocolitica* ที่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

คำสำคัญ : กิจกรรมการต้านทานต่อแบคทีเรีย, พิษเคมี, การต้านอนุมูลอิสระ, ต้นเขยตาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	STUDY OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND PHYTOCHEMICALS FROM <i>EUPHORBIA HETEROPHYLLA</i> EXTRACTS	
Students	Miss Namthip Kraikruan	Miss Nutcharin Moolnamai
	Miss Budsarintorn	Surajarusarn
Degree	Bachelor of Science	
Major Program	Industrial Microbiology	
Academic Year	2018	
Advisor	Asst. Prof. Dr. Suttijit Sriwatcharakul	

ABSTRACT

A study was carried out to determine the phytochemical components (i.e. total phenolic, Flavonoid, Anthocyanin and Tannin contents) and antibacterial activity of *Euphorbia heterophylla* L. crude extracts (i.e. Leaf Stem and Flower) on six pathogenic bacteria namely; *Staphylococcus aureus* TISTR1466, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* TISTR5040, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR781, *Escherichia coli* TISTR780 and *Yersinia enterocolitica*. Antioxidant activity was studied by using DPPH radical scavenging assay. Flower extract presented the highest level of phenolic group i.e. Total phenolic, Flavonoid and Anthocyanin contents equaled to 501.452 mg GAE/g extract, 773.00 mg QE/g extract and 2.97 mg cyanidin-3-glucoside/L extract, respectively. Leaves extracts exhibited significantly highest total tannin contents (353.33 mg TAE/g extract). In addition, Stem extract exhibited significantly highest free radical (IC₅₀ 18.039 mg/ml). Leaf extract showed strong antimicrobial activities against on six pathogenic bacteria. The minimum bactericidal concentration: MBC of *B. cereus* equaled to 25 mg/ml and *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* and *Y. enterocolitica* equaled to 50 mg/ml

Keywords : Antibacterial activity, phytochemical, antioxidant, and *Euphorbia heterophylla* L.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต ซึ่งสำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากการให้ความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ที่คอยให้ความช่วยเหลือดูแล และแนวทางการแก้ปัญหาและข้อบกพร่องต่างๆด้วยความเอาใจใส่ตลอดการทำโครงการพิเศษ รวมทั้งยังให้ความรู้ผู้จัดทำ รวมทั้ง ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ที่คอยกรุณาแนะนำข้อบกพร่อง และแนวทางการแก้ไขปัญหาให้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.สินจง สุขล้าภู ที่ชี้แนวทางในการดำเนินงานวิจัย และแนะนำข้อบกพร่องต่างๆแก่เล่มโครงการพิเศษฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณคณะอาจารย์ในสาขาชีววิทยาทุกท่านที่มอบความรู้และทักษะปฏิบัติงานต่างๆซึ่งสามารถนำมาใช้ในการทำโครงการพิเศษฉบับนี้ได้เป็นอย่างดี

ขอกราบขอบพระคุณนางกิมไล้ เหน่งเพชร และครอบครัวที่คอยให้ความช่วยเหลือในด้านการจัดหาทรัพยากร และสนับสนุนทั้งกำลังกายและกำลังทรัพย์

ขอกราบขอบพระคุณบุคลากรและเจ้าหน้าที่ในสาขาชีววิทยาที่ให้ความสะดวกในการเบิกจ่ายเครื่องมือ สารเคมี รวมทั้งการชี้แนะในการใช้เครื่องมือ และคำแนะนำในห้องปฏิบัติการ

ขอกราบขอบพระคุณบิดาและมารดาของผู้จัดทำที่ให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจและคำปรึกษาที่ดี สนับสนุนทั้งกำลังกายและกำลังทรัพย์

ขอขอบคุณพี่ น้อง และเพื่อนๆทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือให้ข้อคิดเห็นแนะนำสิ่งต่างๆ และมีรูปภาพที่ติดตลอดมา

น้ำทิพย์	ไคร่ครวณ
นุจรินทร์	มูลนามัย
บุศรินทร์	สุรจรัสสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	IX
สารบัญรูป	X
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ต้นเขยตาย	3
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	4
2.1.2 สรรพคุณทางยา	4
2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืช	4
2.2.1 การเตรียมตัวอย่างพืช	4
2.2.2 วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืช	5
2.2.3 ตัวทำละลาย	6
2.2.4 การทำให้สารสกัดเข้มข้น	7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ	8
2.3.1 สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ	9
2.4 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ	15
2.4.1 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ	15
2.4.2 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ	16
2.5 เชื้อที่ใช้ในการทดสอบ	17
2.5.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
2.5.2 <i>Escherichia coli</i>	18
2.5.3 <i>Yersinia enterocolitica</i>	18
2.5.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	19
2.5.5 <i>Bacillus cereus</i>	20
2.5.6 <i>Bacillus subtilis</i>	21
2.6 ยาต้านจุลชีพ	22
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	24
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	26
3.1 เชื้อจุลินทรีย์	26
3.2 พืชที่ใช้ในการทดสอบ	26
3.3 สารเคมีและอุปกรณ์	26
3.3.1 สารเคมีที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย	26
3.3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.4 วิธีดำเนินงานวิจัย	28
3.4.1 การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย และการเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ	28
3.4.1.1 การเตรียมสารสกัดจากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย ด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95	28
3.4.1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ	29
3.4.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบ จากใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย	29
3.4.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์	29
3.4.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณแทนนินโดยวิธี Folin-denis	29
3.4.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินโดยใช้ ความแตกต่างของพีเอช	30
3.4.2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	30
3.4.3 การวิเคราะห์การเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบ จากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย	31
3.4.3.1 การยับยั้งกิจกรรมการแย่งดักจับอนุมูลอิสระ DPPH	31
3.4.4 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของ สารสกัดด้วยวิธี Agar-well diffusion	31
3.4.5 การวิเคราะห์หาค่าเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบจาก ต้นเขยตายในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration: MIC)	32
3.4.6 การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบ จากต้นเขยตายที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Bactericidal Concentration: MBC)	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	33
4.1 การศึกษาสารพิษเคมีในสารสกัดหยาบส่วนใบ ต้น และดอก จากต้นเขยตาย	33
4.1.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบ จากส่วนใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย	33
4.1.2 การวิเคราะห์หาสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบ จากส่วนใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย	34
4.1.3 การวิเคราะห์หาสารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบ จากส่วนใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย	34
4.1.4 การศึกษาหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบ จากส่วนใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย	35
4.2 การวิเคราะห์การเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบ จากใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย	37
4.2.1 การศึกษาการยับยั้งกิจกรรมการแย่งดักจับอนุมูลอิสระ DPPH	37
4.3 การทดสอบการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากต้นเขยตาย	39
4.3.1 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดหยาบ ของต้นเขยตายเบื้องต้นด้วยวิธี Agar-well Diffusion	39
4.3.2 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากต้นเขยตาย ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum Inhibitory Concentration: MBC) โดยวิธี Macrobroth Dilution Technique	42
4.3.3 การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบ จากต้นเขยตายที่สามารถทำลายแบคทีเรียได้ (Minimu Bactericidal Concentration: MBC)	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	48
5.1 สรุปผลการทดลอง	48
5.2 ข้อเสนอแนะ	49
เอกสารอ้างอิง	50
ภาคผนวก	56
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและการเตรียมสารละลาย	57
ภาคผนวก ข ตารางผลการทดสอบ การคำนวณ และการสร้างกราฟมาตรฐาน	60
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ทางสถิติ	83



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ตารางแสดงกลไกการออกฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพ	23
4.1 แสดงค่าสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบ จากส่วนใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย	33
4.2 แสดงค่าสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย	34
4.3 แสดงค่าสารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบ จากส่วนใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย	35
4.4 แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย	36
4.5 แสดงร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย	38
4.6 บริเวณยับยั้งของสารสกัดจากใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ยับยั้งต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด	39
4.7 บริเวณยับยั้งของสารสกัดจากใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ยับยั้งต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด	40
4.8 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากต้นเขยตาย ที่สามารถทำลายแบคทีเรียได้ (MBC)	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ต้นเขยตาย	3
2.2 Classification of dietary phenolic compounds	10
2.3 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกโดยทั่วไป	11
2.4 โครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยด์	11
2.5 โครงสร้างของสารประกอบแอนโทไซยานิน	13
2.6 โครงสร้างของสารประกอบไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนิน	14
2.7 โครงสร้างของสารประกอบคอนเดนส์แทนนิน	15
2.8 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
2.9 <i>Escherichia coli</i>	18
2.10 <i>Yersinia enterocolitica</i>	19
2.11 <i>Staphylococcus aureus</i>	20
2.12 <i>Bacillus cereus</i>	21
2.13 <i>Bacillus subtilis</i>	22
4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Gallic acid และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร	36
4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบแต่ละส่วนกับร้อยละการยับยั้งกิจกรรมการแย่งดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร	37
4.3 แสดงการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ	41
4.4 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตายต่อเชื้อ <i>S. aureus</i>	43
4.5 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตายที่สามารถทำลายแบคทีเรียได้ (MBC)	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ประเทศไทยมีภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญงอกงามของพืชขนานาชนิด โดยเฉพาะพืชสมุนไพรซึ่งมีอยู่เป็นจำนวนมาก ทั้งที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติและจากการเพาะปลูก บางชนิดใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตยาแผนปัจจุบัน สมุนไพรหลายชนิดถูกนำมาใช้ในรูปของยากกลางบ้าน ยาแผนโบราณ ซึ่งคนไทยไม่เพียงแต่ใช้พืชสมุนไพรเป็นยารักษาโรคเท่านั้น แต่ได้นำมาดัดแปลงเพื่อบริโภคในรูปของอาหารด้วย

ในปัจจุบันการแพทย์แผนไทยมีบทบาทมากขึ้นในการเข้าถึงระบบสุขภาพของประชาชน ในทางเดียวกันประชาชนก็เริ่มหันมาให้ความสนใจในศาสตร์ด้านการแพทย์แผนไทยเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากการแพทย์แผนปัจจุบันเพียงระบบเดียวไม่สามารถตอบสนองปัญหาสุขภาพได้อย่างครอบคลุม จำเป็นต้องมีทางเลือกในการดูแลสุขภาพ จึงได้นำเอาการแพทย์พื้นบ้านหรือการแพทย์ดั้งเดิมของแต่ละประเทศมาเป็นทางเลือก ด้วยเหตุนี้ จึงควรศึกษาถึงประสิทธิภาพ ความปลอดภัย และสรรพคุณทางยาของพืชสมุนไพรที่นำมาใช้ รวมถึงศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการนำพืชสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ต่อไป

ต้นเขยตาย (*Euphorbia heterophylla* L.) จัดอยู่ในวงศ์ *Euphorbiaceae* ประกอบด้วยประมาณ 300 จำพวกและประมาณ 7,000 สปีชีส์ ซึ่งสกุล *Euphorbia* เป็นหนึ่งในสกุลที่ใหญ่ที่สุดในวงศ์ *Euphorbiaceae* มีประมาณ 1,600 ชนิด (Fred-Jaiyesimi และ Abo, 2010) ต้นเขยตายเป็นไม้ยืนต้น สูง 20-200 เซนติเมตร (ขึ้นอยู่กับสภาพการเจริญเติบโต) ในหลายพื้นที่ของแอฟริกาเป็นพืชที่ใช้ในยาแผนโบราณกันอย่างแพร่หลาย และใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อทางผิวหนัง หูด การติดเชื้อทางเดินหายใจ เนื่องจาก และโรคที่มาจากเชื้อไวรัส ขนาดที่พบมากที่สุดคือสูง 40-60 เซนติเมตร เมื่อส่วนของพืชหักจะมีน้ำยางไหลออกมา กิ่งก้านแตกแขนง รูปร่างทรงกระบอกมีตุ่มปมเป็นระยะๆ พื้นผิวเรียบและมีสีเขียวอมแดง พืชถูกนำมาใช้ในยาแผนโบราณโดยใช้เป็นยาระบาย รักษาโรคหนองใน อาการปวดไมเกรนและโรคหูด นอกจากนี้ น้ำยางของพืชยังใช้ในการรักษาอาการท้องผูก โรคหลอดลมอักเสบ โรคหอบหืดและเป็นยาระบายเป็นต้น *Euphorbia heterophylla* มีชื่อสามัญว่า "spurge weed" เจริญเติบโตขึ้นในพื้นที่กึ่งแห้งโดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง ถั่วฝักยาวและถั่วเหลือง (Oso และ Ogunnusi, 2017) จากการศึกษาเกี่ยวกับสารสำคัญที่พบในต้นเขยตายพบว่ามีสารพิษเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญอยู่หลายชนิด ได้แก่ อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน ซึ่งสารประกอบนี้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ (Omale และ Emmanuel, 2010) นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิดได้อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยต้นเขยตายเป็นวัชพืชที่ทนต่อสารกำจัดวัชพืชที่ขึ้นอยู่ตามไร่นาและอยู่ริมทางถนน ชาวบ้านไม่ได้ให้ความสนใจและต้องการจะกำจัดทิ้ง แต่มีการศึกษาอย่างแพร่หลายว่าต้นเขยตายสามารถนำมารับประทานและนำมาใช้ประโยชน์ด้านยารักษาโรคได้ ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาการทดสอบสารพิษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical screening)ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย ที่พบในเขตตำบลยูงทะเลสาบ อำเภอบึงสามพัน จังหวัดสุพรรณบุรี พร้อมทั้งทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เพื่อเป็นข้อมูลด้านวิชาการและเป็นข้อมูลในการเลือกใช้ประโยชน์จากสมุนไพรดังกล่าวต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดด้วยเอทานอลจากส่วนต่างๆของต้นเขยตาย ต่อแบคทีเรียทั้งหมด 6 ชนิด พร้อมทั้งหาปริมาณของสารสกัดที่ต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) และหาปริมาณของสารสกัดที่ต่ำที่สุดในการทำลายแบคทีเรีย (MBC)
2. เพื่อศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยเอทานอลจากส่วนต่างๆของต้นเขยตาย
3. เพื่อศึกษาสารประกอบพิษเคมีของสารสกัดด้วยเอทานอลจากส่วนต่างๆของต้นเขยตาย

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

นำส่วนต่างๆ ของต้นเขยตาย ได้แก่ ส่วนใบ ต้น และ ดอก มาอบแห้ง บดเป็นผง และสกัดสารด้วยตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 จากนั้นทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องกลั่นระเหยภายใต้สุญญากาศ (Rotary Evaporator) เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ ศึกษาหาปริมาณของสารพิษเคมีที่พบในสารสกัดหยาบ ได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด, แทนนิน, แอนโทไซยานิน และ ฟลาโวนอยด์ ศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย รวมถึงศึกษาหาปริมาณของสารสกัดที่ต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) และปริมาณของสารสกัดที่ต่ำที่สุดในการฆ่าแบคทีเรีย (MBC)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ทราบถึงผลของการใช้สารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของต้นเขยตายที่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย
2. เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการนำต้นเขยตายมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆได้
3. เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าให้กับต้นเขยตายซึ่งเป็นวัชพืชตามไร่นาและริมทางถนนให้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ต้นเขยตาย (*Euphorbia heterophylla* L.)

รูปที่ 2.1 ต้นเขยตาย

ที่มา : <https://www.flickr.com/photos/adaduitokla/7906600598> (สืบค้นวันที่ 04/03/2562)

ชื่อทั่วไป

ต้นเขยตาย

ชื่อท้องถิ่น

ใบต่างดอก, ต้นเขยตายเมื่อยายทำศพ

ชื่อวิทยาศาสตร์

Euphorbia heterophylla L.

Kingdom

Plantae

Division

Magnoliophata

Class

Magnoliopsida

Order

Malpighiales

Family

Euphorbiaceae

Genus

Euphorbia

Species

heterophylla

ที่มา : <http://biodiversity.forest.go.th> (สืบค้นวันที่ 04/03/2562)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ต้น : จัดเป็นไม้ล้มลุกทรงกระบอก ความสูงของต้นประมาณ 57.37 ± 6.33 เซนติเมตร ลำต้นตั้งตรง เปลือกของลำต้นมีสีเขียว ผิวเรียบ เมื่อหักแล้วจะมียางสีขาวขุ่น

ใบ : ใบเป็นใบเดี่ยวสีเขียว ลักษณะของใบเป็นรูปไข่ ปลายใบเรียวแหลม ส่วนโคนใบเรียวขอบใบเรียบ ใบกว้างประมาณ 6.5 เซนติเมตรและยาวประมาณ 10 เซนติเมตร การเรียงตัวของใบบนกิ่งตรงข้ามและสลับตั้งฉาก

ดอก : ออกดอกเป็นช่อกระจุกบริเวณปลายยอด มีเกสรตัวผู้และตัวเมียต่างดอกกันแต่ต้นเดียวกัน ก้านดอกสีเขียว กลีบเลี้ยงโคนเชื่อมติดกัน ปลายแยกเป็น 5 แฉกสีเขียวและไม่มีกลีบดอก ส่วนเกสรตัวผู้มีสีเหลืองจำนวน 4 ก้าน ปลายเกสรเป็นกระเปาะ ส่วนเกสรตัวเมียมีสีเหลืองจำนวน 1 ก้าน ปลายเกสรแยกออกเป็น 4 แฉก

ผล : ผลออกเป็นกลุ่ม โดยผลอ่อนจะเป็นสีเขียวอ่อน ส่วนผลแก่เป็นสีน้ำตาล ลักษณะของผลกลมแบน มีเมล็ด 3 เมล็ดสีเขียว

ที่อยู่อาศัย : บริเวณพื้นที่เพาะปลูกและทุ่งโล่ง

2.1.2 สรรพคุณทางยา

ยอดอ่อน : ใช้รับประทานสดประมาณ 3 ใบ มีฤทธิ์เป็นยาถ่าย ยาระบาย ช่วยแก้อาการท้องผูก

ราก : ช่วยกระทุ้งพิษ ช่วยแก้พิษฝิภายใน

เปลือกต้น : รักษาฝีภายนอกและฝีภายใน ช่วยรักษาพิษนาคราช และช่วยขับน้ำนมของสตรี

2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืช

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds) คือสารจากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคน สัตว์ และพืช สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีต้องเป็นสารที่มีผลจำเพาะเจาะจง เช่น มีฤทธิ์จำเพาะ ต่อเซลล์มะเร็ง มีฤทธิ์จำเพาะต่อเชื้อไวรัส เป็นต้น และสารนั้นจะต้องไม่มีผลในทางลบต่อร่างกาย หรือมี ผลข้างเคียงน้อย (สุรียา และ จิตรา, 2560)

2.2.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

การเตรียมตัวอย่างพืชนับเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญ ซึ่งต้องคำนึงถึงสิ่งที่มีผลต่อความแตกต่างของสารสำคัญในพืช ได้แก่ การตรวจเอกลักษณ์ที่ถูกต้องของพืช เพื่อให้ได้ชื่อพฤกษศาสตร์และได้ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ถูกต้อง ไม่มีพืชอื่นปน เพราะจะทำให้ได้สารแปลกปลอม ซึ่งอาจเป็นอันตรายได้นอกจากนี้ ยังทำให้ผลการวิจัยผิดพลาดได้ พืชต้องไม่มีโรค หากตัวอย่างที่เก็บมามีจุลินทรีย์อันเป็นสาเหตุของโรค พืช จุลินทรีย์อาจให้สารซึ่งถูกสกัดออกมาพร้อมกับสารที่เราต้องการ นอกจากนี้จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการชีวสังเคราะห์ในพืชทำให้ได้สารที่แตกต่างออกไป จากธรรมชาติ (จันทร์เพ็ญ, 2559)

2.2.2 วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืช

2.2.2.1 มาเซอเรชัน (Maceration หรือ Immersion) เป็นวิธีที่ใช้ในการทำไวน์ แต่ได้รับการรับรองและใช้กันอย่างแพร่หลายในการวิจัยพืชสมุนไพร ทำโดยหมักพืชสมุนไพร (หยาบหรือเป็นผง) ในภาชนะบรรจุที่มีตัวทำละลาย ทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาอย่างน้อย 3 วัน หมั่นกวนบ่อยๆ ซึ่งวิธีนี้จะทำลายผนังเซลล์ของพืช เพื่อปล่อยสารพิษทุกชนิดที่ละลายน้ำได้ หลังจากครบ 3 วัน จึงนำไปกรอง ซึ่งในการเลือกตัวทำละลายจะขึ้นอยู่กับประเภทของตัวอย่างพืชที่นำมาทดสอบ (Azwanida, 2015)

2.2.2.2 Decoction วิธี Decoction เหมาะสำหรับการสกัดสารตัวอย่างที่ทนความร้อนและมีความแข็ง(เช่นรากและเปลือก) และจะส่งผลให้สารประกอบที่ละลายได้ในน้ำมันออกมา มากเมื่อเทียบกับวิธี maceration และ infusion (Azwanida, 2015)

2.2.2.3 Percolation เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญแบบต่อเนื่องโดยใช้ เครื่องมือที่เรียกว่า เพอร์โคเลเตอร์ (Percolator) นำสมุนไพรมาหมักกับตัวทำละลายพอขึ้น ทั้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่แล้วค่อย ๆ บรรจุผงยาที่ละเอียดเป็นชั้นในเพอร์โคเลเตอร์เติมตัวทำละลายลงไป ให้ระดับตัวทำละลายสูงเหนือสมุนไพร (Solvent head) ประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทั้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงเริ่มไหลสารสกัดออกมา โดยค่อย ๆ เติมตัวทำละลายเหนือสมุนไพรอย่าให้แห้ง เก็บ สารสกัดจน การสกัดสมบูรณ์ บีบกากเอาสารสกัดออกให้ได้มากที่สุด นำสารสกัดที่เก็บได้ทั้งหมด รวมกัน นำไปกรอง วิธีนี้อาจพบปัญหา ผลยาอาจจับตัวเป็นก้อนทำให้ตัวทำละลายไม่สามารถแทรก ซึมเข้าไปสกัดได้ การพองตัวมาก ๆ ทำให้ต้องใช้ความดัน และอาจทำให้อุดตัน การบรรจุไม่ สม่าเสมอจะเกิดร่องซึ่ง ตัวทำละลายจะไหลผ่านร่องแทนการแทรกซึมไปตามผงยา ทำให้สกัดไม่ สมบูรณ์ (จันทร์เพ็ญ, 2559)

2.2.2.4 Hot Continuous Extraction (Soxhlet) เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง โดยใช้อุปกรณ์ Soxhlet ตัวอย่างพืชจะถูกบรรจุไว้ในทิมเบอร์ (Thimble) ซึ่งถูกวางไว้ตรงกลางของ อุปกรณ์ Soxhlet และสกัดโดยใช้ตัวทำละลายซึ่งมีจุดเดือดต่ำการสกัดทำได้โดยใช้ความร้อนทำให้ตัวทำละลายในภาชนะระเหยขึ้นไป แล้วกลั่นตัวลงมาในทิมเบอร์ (Thimble) ตัวทำละลายที่ใช้เช่น บิโตรเลียมอีเธอร์ คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตท เมทานอลและน้ำกลั่น (Sruthi and Indira, 2016) แต่ Soxhlet extraction มีข้อเสียคือ ใช้ระยะเวลาการสกัดนานและใช้พลังงานความร้อนในระหว่าง เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการสกัด จึงไม่ เหมาะกับสารที่ไม่ทนต่อความร้อน นอกจากนั้นยังมีการ ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดสาร จึงอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมได้ (Sruthi และ Indira, 2016)

2.2.3 ตัวทำละลาย ในการสกัดจะได้ผลดีหรือไม่ อยู่ที่การคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวทำละลายที่ดี ควรมีสมบัติ เป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่ต้องการได้ดีพอ ไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป ไม่ทำปฏิกิริยา กับสารที่เราต้องการสกัด ไม่เป็นพิษ และมีราคาไม่แพง ตัวทำละลายที่นิยมใช้ เช่น คลอโรฟอร์ม อีเธอร์ เฮกเซน และแอลกอฮอล์ เป็นต้น ซึ่งในการเลือกใช้ตัวทำละลายอาศัยหลักเกณฑ์ดังนี้ คือ สารละลายและตัวทำละลายมีคุณสมบัติความมีขั้วคล้ายคลึงกัน ละลายสารที่ต้องการออกมามากที่สุด และแรง (Force) ที่เกี่ยวข้องในการละลายที่สำคัญ เช่น แรงการกระจายหรือแรงลอนดอน (Dispersion force หรือ London force) แรงดึงดูดระหว่างขั้ว (Dipole-dipole force) และพันธะ ไฮโดรเจน (H-bonding) (จันทร์เพ็ญ, 2559)

2.2.3.1 น้ำ เป็นตัวทำละลายที่สำคัญ มีการใช้ทั่วโลก และได้รับการขนานนามว่า ตัวทำละลายสากล (Universal solvent) เมื่อเทียบกับสารประกอบชนิดอื่นแล้ว น้ำเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด เมื่อโมเลกุลของน้ำอยู่รวมตัวกัน ยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะไฮโดรเจน โดยมีแรงที่ชื่อว่า “อิเล็กโตรสแตติก” (Electrostatic forces) นอกจากโมเลกุลของน้ำจะเชื่อมต่อกันเองแล้ว โมเลกุลของน้ำยังสามารถยึดเหนี่ยวกับโมเลกุลอื่นได้ด้วย โมเลกุลของสารประกอบบางชนิดยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะไอออนิก (Ionic bonds) โดยมีแรงอิเล็กโตรสแตติกระหว่างประจุบวกและประจุลบของอะตอมแต่ละตัว

2.2.3.2 แอลกอฮอล์

1) เอทานอล หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ คือ แอลกอฮอล์ชนิดหนึ่ง มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี ติดไฟง่าย มีความไวไฟและค่าออกเทนสูง (เอทานอลบริสุทธิ์ร้อยละ 99.8 มีค่าออกเทนสูงถึง 113) สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากมาย อาทิ ใช้ผลิตอาหาร และเครื่องดื่ม แอลกอฮอล์ใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรม รวมถึงการใช้เป็นเชื้อเพลิงในยานพาหนะ โดยเอทานอล จัดเป็นสารกลุ่มที่มีขั้วปานกลาง จึงนิยมใช้ในการสกัดสารเบื้องต้น เพราะสามารถสกัดได้ทั้งสารที่มีขั้วและสารที่ไม่มีขั้วออกมาได้ มีความสามารถละลายสารได้กว้างขวาง และค่อนข้างปลอดภัยกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น

2) เมทานอล หรือ เมทิลแอลกอฮอล์ มีสูตรโครงสร้างแบบย่อ CH_3OH เป็นของเหลวใส ระเหยง่าย เป็นพิษ นิยมใช้เป็นตัวทำละลาย และใช้เป็นเชื้อเพลิง ในธรรมชาติ เมทานอลเป็นผลิตภัณฑ์จากการสลายสารอาหารแบบไม่ใช้ออกซิเจนของแบคทีเรียหลายชนิด ในกรณีของแอลกอฮอล์ทั้งเอทานอลและเมทานอล เป็นสารกลุ่มที่มีขั้วปานกลาง จึงนิยมใช้ในการสกัดสารเบื้องต้น เพราะสามารถสกัดได้ทั้งสารที่มีขั้วและสารที่ไม่มีขั้วออกมาได้ และหากเทียบกับน้ำซึ่งเป็นเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารมีขี้วมมาก หากใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจะสกัดสารกลุ่มที่มีขี้วออกมากกว่าได้มากกว่าการใช้แอลกอฮอล์

3) คลอโรฟอร์ม เป็นสารประกอบเคมีอินทรีย์ชนิดหนึ่ง มีลักษณะเป็นของเหลวใส ไม่มีสี ที่อุณหภูมิปกติ มีรสหวาน ระเหยง่าย และมีกลิ่นเฉพาะตัว ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ ไขมัน ละลายน้ำได้บ้าง คลอโรฟอร์มมีประโยชน์ใช้งานหลายอย่างเช่นเป็นสารตั้งต้นตัวทำปฏิกิริยา และเป็นตัวทำละลาย

4) อีเทอร์ เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีหมู่ฟังก์ชันเป็น หมู่แอลคอกซี มีสูตรทั่วไปเป็น ROR' มีสูตรโมเลกุลเหมือนแอลกอฮอล์และฟินอล จึงเป็นไอโซเมอร์โครงสร้างกับแอลกอฮอล์และฟินอล คุณสมบัติของอีเทอร์ เป็นโมเลกุลไม่มีขี้ว ไม่ละลายน้ำ ติดไฟได้ง่ายจุดหลอมเหลว จุดเดือดต่ำ ความหนาแน่นน้อยกว่าน้ำ สามารถนำมาใช้เป็นตัวทำละลายสารอินทรีย์ในอดีตใช้เอทอกซีอีเทน เป็นยาสลบ ซึ่งนิยมเรียกลักษณะนี้ว่าอีเทอร์ โดยสารนี้จะออกฤทธิ์กดประสาทส่วนกลางจนทำให้หมดสติ และใช้เอทอกซีอีเทน เป็นตัวทำละลายสารในห้องปฏิบัติการและในอุตสาหกรรม เนื่องจากอีเทอร์สามารถละลายสารประกอบอินทรีย์ได้หลายชนิด เกิดปฏิกิริยากับสารอื่นได้ยาก และแยกออกได้ง่ายเมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาเนื่องจากอีเทอร์มีจุดเดือดต่ำ

5) เฮกเซน เป็นสารที่ผลิตได้จากกระบวนการกลั่นน้ำมันดิบหรือการแยกก๊าซปิโตรเลียมเหลว ที่ถูกนำมาใช้งานสำหรับเป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรมต่าง ๆ อาทิ การสกัดสารอินทรีย์จากสมุนไพร หรือใช้เป็นส่วนผสมเพื่อเป็นตัวทำละลายสี เป็นต้น มีการทดสอบความอันตรายของสารเฮกเซน โดยมีการทดสอบด้วยวิธีต่าง ๆ ทั้งการใช้แบบที่เรื้อรัง และเมื่อดูดดมของมนุษย์ พบไม่จัดเป็นสารก่อการกลายพันธุ์ และจัดเป็นสารมีพิษ ห้ามรับประทานหรือสูดดม และควรใช้ในสถานที่ที่มีการระบายอากาศที่ดี

2.2.4 การทำให้สารสกัดเข้มข้น

เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้มักจะมีปริมาณมาก และเจือจาง ทำให้นำไปแยกส่วนได้ไม่สะดวก และไม่มีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อนซึ่งมีหลายวิธีดังนี้ (จันทร์เพ็ญ, 2559)

2.2.4.1 การระเหย (Free Evaporation) คือ การระเหยให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (Water bath) หรือเครื่องให้ความร้อน (Hot plate) บางครั้งอาจจะเป่าอากาศร้อนลงไปบนสารสกัด ด้วยเพื่อให้ระเหยได้เร็วขึ้น

2.2.4.2 การกลั่นในภาวะสุญญากาศ (Distillation in vacuo) เป็นวิธีการระเหยแห้งโดย กลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำ และลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump) เครื่องมือนี้เรียกว่า rotary evaporator ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ภายในมหาวิทยาลัยเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

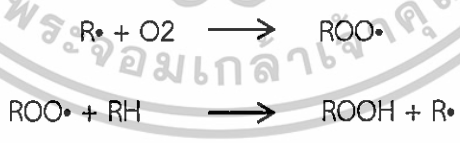
ภาชนะบรรจุสารสกัด อย่างหยาบที่จะกลั่น (Distillation flask) คอนเดนเซอร์หรือส่วนควบแน่นไอของสารละลาย (Con-denser) และภาชนะรองรับสารละลายหลังการกลั่น (Receiving flask) โดยภาชนะบรรจุสาร สกัดอย่างหยาบที่จะกลั่นจะหมุนอยู่ตลอดเวลาที่ทำงาน และแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำ เพื่อให้การกระจาย ของความร้อนทั่วถึงและสม่ำเสมอ เครื่องมือที่มีต้องมีระบบการทำสุญญากาศที่ดี ระยะระหว่าง ภาชนะ บรรจุสารสกัดหยาบที่จะกลั่น และคอนเดนเซอร์สั้น และมีระบบทำความเย็นของคอนเดนเซอร์ที่ดี

2.2.4.3 การแช่แข็ง (Freezing) ถ้าเป็นสารสกัดด้วยน้ำ วิธีที่เหมาะสมคือใช้วิธีแช่แข็งโดย การใช้ความเย็น (Lyophilized หรือ Freeze dryer) เฉพาะตัวทำละลายเท่านั้นที่แข็ง ซึ่ง แยกจาก Concentrated extract โดยการเหวี่ยง วิธีนี้มีข้อดีเหมาะสมกับสารที่สลายตัวง่ายด้วยความร้อน

2.2.4.4 อัลตราฟิลเทรชัน (Ultrafiltration) เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้น โดยใช้ แผ่นเมมเบรน (Membrane) ใช้กับสารที่มีมวลโมเลกุล (Molecular weight) สูงกว่า 5,000

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radicals) หมายถึง สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอม หรือโมเลกุล พบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อมในสิ่งมีชีวิต และในเซลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์หรือจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) โดยมีการ เคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจน ทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุล กลายเป็นอนุมูลอิสระและว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามากและสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุล อื่น มาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ ตลอดเวลา ดังสมการ



สารต้านอนุมูลอิสระถือว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระ หรือสามารถยับยั้ง ปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบ การป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูล อิสระประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป ซึ่งมีทั้งที่เป็น เอนไซม์และไม่เป็นเอนไซม์ สารประกอบที่ละลายในน้ำและสารประกอบที่ละลายในไขมัน โดยสาร ต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation) หยุดปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) เสริมฤทธิ์ (synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ เป็นต้น

ปัจจุบันมีการรายงานว่าสารพิษเคมีจากพืช ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารในกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งถือว่าเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ มีการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในพืชเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชสมุนไพรแหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระมี 2 แหล่ง ได้แก่สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เกิดจากการกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีโดยเป็นสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ propyl gallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylate hydroxyanisole, BHT (butylated hydroxytoluene) และ tertiary butylhydroquinone สารสังเคราะห์ดังกล่าวนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารมีกลิ่น สีและรสชาติเปลี่ยนแปลงไป สารสังเคราะห์นี้มีสภาพคงตัวกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติแต่มีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยในการบริโภค (บุหรัน, 2556)

2.3.1 สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ

สามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ซึ่งเป็นที่ตั้งเอนไซม์วิตามินและสารอื่น ๆ ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นวิตามิน เช่น vitamin C (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไฮโดรฟิลิก) vitamin E (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไลโปฟิลิก) ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ ได้แก่ glutathione peroxidase (GPX), glutathione reductase และ glutathione transferase ซึ่งทำหน้าที่ทำให้โมเลกุลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นออกซิเจนและน้ำ สารต้านอนุมูลอิสระอื่น ๆ ได้แก่ carotenoids และ ubiquinones เป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถป้องกันอนุมูลอิสระออกซิเจนทั้งภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ ในภาวะปกติร่างกายของคนเราจะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระโดยการสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณสารอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุล และอีกส่วนได้จากสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายรับประทานเข้าไปจำพวกวิตามิน เบต้าแคโรทีน และแคโรทีนอยด์ รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งสารดังกล่าวได้จากพืชผักและผลไม้ (บุหรัน, 2556)

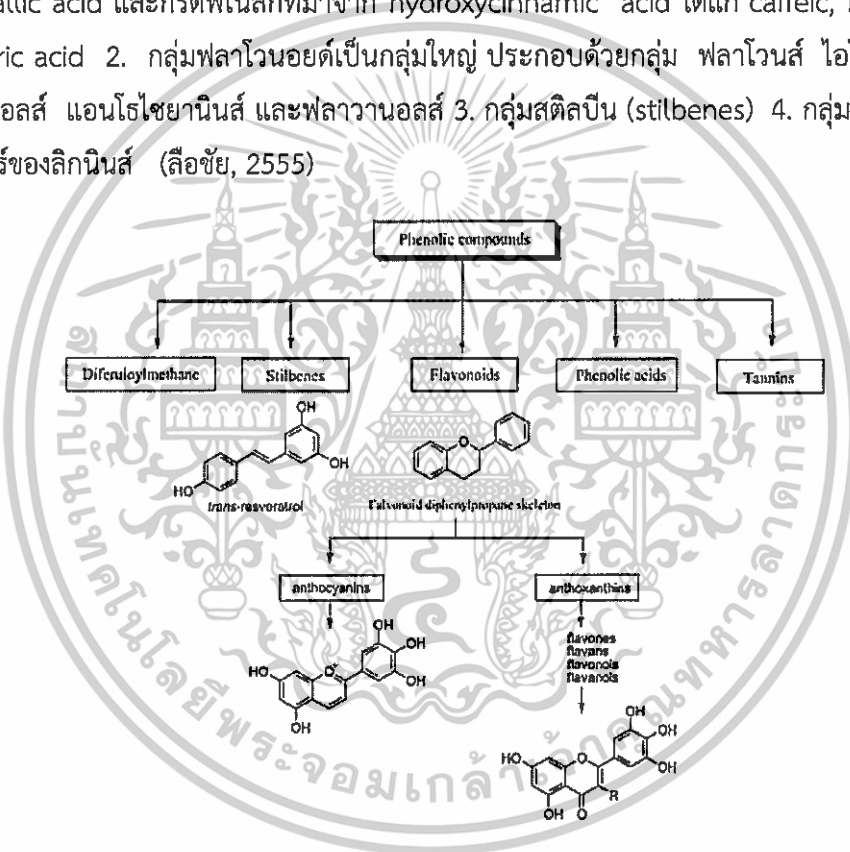
2.3.1.1 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารทุติยภูมิที่พบได้ทั่วไปในผัก ผลไม้ ไขมัน น้ำมัน มะกอก และช็อคโกแลต เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่จะพบในรูปอนุพันธ์และหรือไอโซเมอร์ของฟลาโวนส์ ไอโซฟลาโวนส์ ฟลาโวนอลส์คาร์ทีซิน และกรดฟีนอลิก สารเหล่านี้มีฤทธิ์หลายอย่างเช่น ด้านการเกิดสภาวะออกซิเดชัน ป้องกันการเกิดโรคมะเร็งต่างๆ เช่น มะเร็งเต้านม มะเร็งหลอดอาหาร มะเร็งผิวหนัง มะเร็งลำไส้ มะเร็งต่อมลูกหมาก และมะเร็งตับ เป็นต้น สามารถนำมาใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ห้ามทำซ้ำหรือการศึกษานำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ทางยา โดยเป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์ด้านสารก่อมะเร็ง ด้านภาวะการอักเสบต่างๆ และช่วยปรับระบบภูมิคุ้มกัน สามารถกำจัดอนุมูลอิสระและโครงสร้างมีความเสถียร สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิก (linoleic acid) และ low-density lipoprotein (LDL) ป้องกันเนื้อเยื่อและดีเอ็นเอจากการถูกทำลายด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ลือชัย, 2555)

การจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่พบมากในอาหาร ในธรรมชาติพบมากกว่า 8,000 ชนิด 20 เป็นสารทุติยภูมิที่สร้างขึ้นโดยพืช โดยมีโครงสร้างประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซีเกาะอยู่กับวงแหวนเบนซีน สามารถจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มต่างๆ ได้แก่ 1. กลุ่มกรดฟีนอลิกที่มาจาก hydroxybenzoic acids ได้แก่ gallic acid และกรดฟีนอลิกที่มาจาก hydroxycinnamic acid ได้แก่ caffeic, ferulic และ coumaric acid 2. กลุ่มฟลาโวนอยด์เป็นกลุ่มใหญ่ ประกอบด้วยกลุ่ม ฟลาโวนอลส์ ไอโซฟลาโวนอลส์ ฟลาโวนอลส์ แอนโธไซยานินส์ และฟลาโวนอลส์ 3. กลุ่มสติลเบิน (stilbenes) 4. กลุ่มลิกนินส์และโพลีเมอร์ของลิกนินส์ (ลือชัย, 2555)

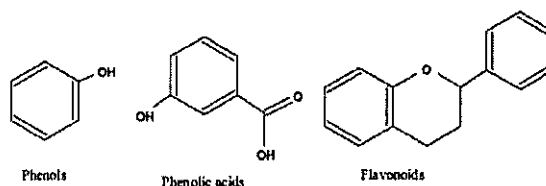


รูปที่ 2.2 Classification of dietary phenolic compounds

ที่มา : https://openi.nlm.nih.gov/detailedresult?img=PMC3871896_ijms-08-00950f1&req=4 (สืบค้นวันที่ 05/03/2562)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารประกอบที่เป็น วงแหวนอะโรมาติก และมีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อย 1 หมู่ รวมไปถึงอนุพันธ์ของสารประกอบฟีนอล ซึ่งมีการแทนที่ด้วยหมู่ฟังก์ชันต่างๆ เช่น ฟลาโวนอยด์ ลิกนิน กรดซินนามิก และโคเอ็นไซม์คิว (เนตรนภา และ เฉลิม, 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

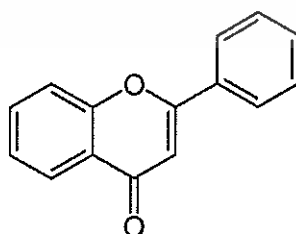


รูปที่ 2.3 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกโดยทั่วไป

ที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compounds-สารประกอบฟีนอล> (สืบค้นวันที่ 05/03/2562)

2.3.1.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) จัดเป็นสารประกอบในกลุ่ม โพลีฟีนอล (polyphenolic compounds) และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบได้ในธรรมชาติมีมากกว่า 4,000 ชนิด โดยมีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrone) ซึ่งสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามโครงสร้างเคมีได้ 7 กลุ่ม ได้แก่ ฟลาโวนอล (flavonols) ฟลาโวน (flavones) ฟลาวาโนน (flavanones) ฟลาวานอล (flavanols) ฟลาวาโนนอล (flavanonols) ไอโซฟลาโวน (isoflavones) และ แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) ฟลาโวนอยด์สามารถพบได้ในพืช เช่น ผัก ผลไม้ และเครื่องดื่มบางชนิดเช่น ไวน์ ชา เป็นต้น ดังนั้น ฟลาโวนอยด์จึงเป็นส่วนประกอบซึ่งอยู่ในอาหารที่เรารับประทานในชีวิตประจำวัน รวมถึงพืชสมุนไพรที่ใช้ในตำราแพทย์แผนโบราณ (วิภพ, 2013)

งานวิจัยจำนวนมากแสดงให้เห็นว่าฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง เช่น ด้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ด้านการเกิดมะเร็ง (anticancer) ยับยั้งการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง (antiproliferation) ด้านการอักเสบ (antiinflammation) ด้านโรคเบาหวาน (antidiabetes) ลดระดับของคอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ในเลือด (cholesterol and triglyceride lowering effects) ด้านจุลชีพ (antimicrobial) ฤทธิ์ปรับการทำงานระบบภูมิคุ้มกัน (immunomodulation) เป็นต้น (วิภพ, 2013)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยด์

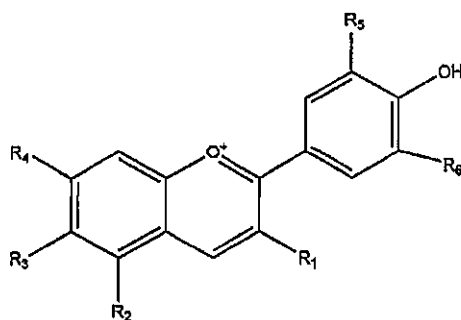
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้ซึ่งเนื้อหาทั้งหมดนี้ เมื่อผู้ใดที่เห็นใจเรื่องลิขสิทธิ์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1.3 แอนโทไซยานิน (anthocyanin) เป็นหนึ่งในสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่มีมากที่สุด มีอยู่ตามธรรมชาติในผักและผลไม้ให้สีและมีประโยชน์ต่อสุขภาพผู้บริโภคเนื่องจากความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ จนถึงปัจจุบันมีแอนโทไซยานินมากกว่า 600 ตัวในธรรมชาติ การศึกษาจำนวนมากในรูปแบบเซลล์สัตว์และการทดลองทางคลินิกของมนุษย์แนะนำว่าแอนโทไซยานิน มีฤทธิ์ต้านมะเร็งและต้านการอักเสบ ป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด ควบคุมโรคอ้วนและโรคเบาหวาน (Patricio และคณะ, 2014) แต่คุณสมบัติเด่นที่สุดของแอนโทไซยานินคือประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระโดยแอนโทไซยานิน มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีและอีถึง 2 เท่า ปริมาณของแอนโทไซยานินที่มนุษย์สามารถบริโภคได้เฉลี่ยสูงสุดคือ 200 มิลลิกรัมต่อวัน ซึ่งพบว่าผู้ที่นิยมดื่มไวน์แดงมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเกี่ยวกับหัวใจลดลง ไวน์แดงจึงได้ชื่อว่าอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติมากที่สุดชนิดหนึ่ง

แอนโทไซยานินมีโครงสร้างเป็นแบบ C6-C3-C6 ซึ่งเป็นไกลโคไซด์ของ 2-phenylbenzopyrylium หรือ flavylum cation ที่มีด้วยกันหลายชนิดแต่มีอยู่ 6 ชนิดเท่านั้นที่พบบ่อย ได้แก่ pelargonidin, cyanidin, delphinidin, peonidin, petunidin และ malvidin ในสารละลายตัวกลางแอนโทไซยานินจะทำหน้าที่เป็นอินดิเคเตอร์วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH indicator) คือ ให้สีแดงที่ pH ต่ำ ให้สีน้ำเงินที่สภาวะเป็นกลางและไม่มีสีที่ pH สูง โดยปัจจัยที่มีผลต่อสีและความเสถียรของแอนโทไซยานินคือ ปัจจัยทางเคมีและฟิสิกส์ เช่น โครงสร้าง อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง กรดแอสคอร์บิก น้ำตาล และปัจจัยอื่นๆ

การวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของแอนโทไซยานินเป็นการศึกษาโครงสร้างและหน้าที่ของแอนโทไซยานินในพืช เพื่อที่จะนำแอนโทไซยานินไปใช้ประโยชน์ได้อย่างถูกต้อง และเหมาะสม โดยแอนโทไซยานินสามารถสกัดจากพืชได้ถึง 539 โครงสร้าง โดยใช้การสกัด การทำให้บริสุทธิ์ และการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีวิธีวิเคราะห์ที่นิยมใช้คือการแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟี แบบแผ่นบาง (Thin-layer chromatography ; TLC) และ High performance liquid chromatography (HPLC) (สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 โครงสร้างของสารประกอบแอนโทไซยานิน

ที่มา : <http://www.pathway27.eu/topstory/anthocyanins/> (สืบค้นวันที่ 07/03/2562)

2.3.1.4 แทนนิน (tannin) เป็นสารที่มีโมเลกุลใหญ่และมีโครงสร้างซับซ้อน มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน มีรสฝาด จึงเป็นสารที่ให้ความฝาดในพืช พบได้ในส่วนต่าง ๆ ของพืชหลายชนิด แทนนินมีคุณสมบัติ ช่วยในการตกตะกอนโปรตีนทำให้หนังสัตว์ไม่เน่าเปื่อยจึงมีการใช้สารแทนนินในอุตสาหกรรมฟอกหนัง ในทางการแพทย์พบว่า สารแทนนินสามารถใช้เป็นยารักษาโรคท้องเสียได้ นอกจากนี้ ยังพบว่าสารแทนนิน บางประเภทมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียบางชนิดได้ แทนนินถูกจัดประเภททางเคมีออกเป็น 2 กลุ่มที่แตกต่างกัน (ชินธุธา และคณะ, 2558)

1) ไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนิน (hydrolyzable tannins) เป็นสารประกอบ ที่ประกอบไปด้วยส่วนโครงสร้าง 2 ส่วนใหญ่ ๆ คือ ส่วนแรกเป็นส่วนของน้ำตาล โดยส่วนมากพบว่า เป็นน้ำตาลกลูโคส หรืออาจเป็นสารประกอบโพลีออล (polyols) อื่น ๆ และส่วนที่สองเป็นกรดฟีนอลิก (phenolic acid) เช่น กรดแกลลิก หรือกรดเฮกซะไฮดรอกซีไดฟีนิค (hexahydroxydiphenic acid; HHDP) หรือสารอนุพันธ์ของกรดเฮกซะไฮดรอกซีไดฟีนิค มักอยู่ในรูปออกซิไดซ์พบส่วนที่เป็นกรดฟีนอลิก มากกว่าส่วนของน้ำตาล หรือโพลีออลเชื่อมโยงกันด้วยพันธะเอสเทอร์ที่เรียกว่า เดปไซด์ ลิงเกจ (depside linkage) ซึ่งพันธะเอสเทอร์นี้สามารถเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในสภาวะที่มีน้ำและถูกเร่งปฏิกิริยาด้วยกรดเบส หรือเอนไซม์แทนเนสให้กรดฟีนอลิกและน้ำตาล หรือโพลีออลเมื่อนำไปกลั่นแบบแห้ง สารประกอบกรดฟีนอลิกจะเปลี่ยนเป็นไพโรแกลลอล (pyrogallol) ดังนั้นไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนินจึงเรียก อีกอย่างว่า ไพโรแกลลอล แทนนิน (pyrogallol tannins) มีหมู่ไฮดรอกซีอิสระ 3 หมู่ เมื่อเกิดปฏิกิริยา กับสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์จะให้สีน้ำเงิน สารประกอบกลุ่มไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนินแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มย่อย ดังนี้

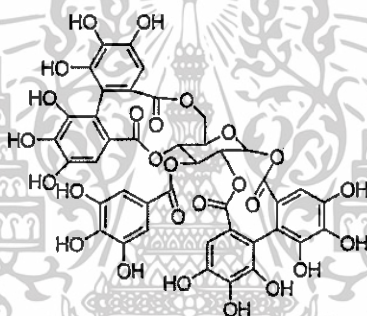
1.1) แกลโลแทนนิน (gallotannins) เป็นสารประกอบที่

ประกอบด้วยกรดแกลลิก เชื่อมต่อกับน้ำตาลกลูโคสด้วยพันธะเอสเทอร์เมื่อเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรดเกิดการสลายตัว จะให้สาร 2 ชนิด คือ กรดแกลลิก และน้ำตาลกลูโคส ตัวอย่างของแกลโล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้วยการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แทนนิน ได้แก่ กรดแทนนิก (tannic acid หรือ chinese gallotannin) และทารา แกลโรแทนนิน (tara gallotannin) พืชที่เป็น แหล่งของแกลโลแทนนิน ได้แก่ โกศน้ำเต้า กานพลูและกลีบกุหลาบแดง เป็นต้น

1.2) แอลลาจิก แทนนิน (ellagic tannins) เป็นกลุ่มของสารประกอบโพลีฟีนอล ที่ประกอบไปด้วยกรดเฮกซะไฮดรอกซีไดฟีนิค โดยอยู่ร่วมกับน้ำตาล แอลลาจิกแทนนินเมื่อเกิด การสลายตัวแบบปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยกรด ส่วนของกรดเฮกซะไฮดรอกซีไดฟีนิคจะแยกตัวออก และเกิดปฏิกิริยาแลกโทไนเซชัน (lactonization) ให้กรดแอลลาจิก ตัวอย่างของแอลลาจิกแทนนิน ได้แก่ เพดงคูลาจิน (pedunculagin) และกรดชิบูลาจิก (chebulagic acid) พืชที่นำไปใช้เป็นยาที่ เป็นแหล่งของแอลลาจิกแทนนิน ได้แก่ เปลือกผลทับทิม ผลสมอไทย เปลือกต้นไฉ้ และใบยูคาลิปตัส เป็นต้น



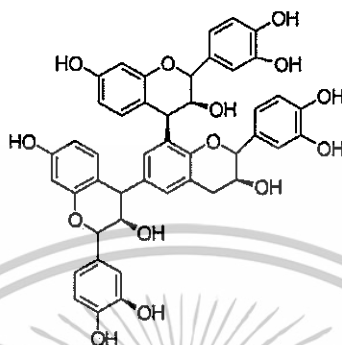
รูปที่ 2.6 โครงสร้างของสารประกอบไฮโดรไลซ์เชเบิลแทนนิน

ที่มา : https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-a-hydrolyzable-tannin-b-condensed-tannin_fig1_273496930 (สืบค้นวันที่ 08/03/2562)

1.3) คอนเดนส์แทนนิน (condensed tannins) หรือที่เรียกอีกอย่างว่า โปรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidins) เป็นกลุ่มของสารประกอบพอลิฟีนอลที่มีความซับซ้อน และสลายตัวด้วยน้ำ ยากกว่ากลุ่มไฮโดรไลซ์เชเบิลแทนนิน โครงสร้างพอลิฟีนอลในกลุ่มนี้ เป็นอนุพันธ์ของสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ พืชที่เป็นแหล่งของคอนเดนส์แทนนิน ได้แก่ เปลือกอบเชย เปลือกชินโคนาเปลือกหลิว เปลือกไฉ้ เปลือกโกโก้ เปลือก และใบชา เป็นต้น สารประกอบกลุ่มนี้ เมื่อนำมาต้มกับกรด หรือทำปฏิกิริยากับเอนไซม์จะได้สารประกอบพอร์ลิเมอร์รูปอสัณฐานสีแดง ไม่สามารถละลายน้ำ เรียกว่า โฟบาฟิน (phobaphenes) หรือแทนนินแดง (tannin red) จึงเรียกรวม กลุ่มนี้ว่า โฟบาแทนนิน (phobatannins) เมื่อนำสารประกอบกลุ่มนี้ มา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ การใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ยืมได้เห็นว่าเบี่ยงประเอียงกันการค้ำ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการกลั่นแบบแห้ง จะได้ สารประกอบที่เป็น แคทีคอลแทนนิน (catechol tannins) สารในกลุ่มคอนเดนส์แทนนินประกอบไปด้วยหมู่ไฮดรอกซีอิสระ 2 หมู่ เมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์จะให้สีเขียว (ชนิษฐา และคณะ, 2558)



รูปที่ 2.7 โครงสร้างของสารประกอบคอนเดนส์แทนนิน

ที่มา : https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-a-hydrolyzable-tannin-b-condensed-tannin_fig1_273496930 (สืบค้นวันที่ 08/03/2562)

2.4 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสามารถ แบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้าน อนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้าน อนุมูลอิสระเชิงปริมาณ ในแต่ละประเภทจะมีหลาย วิธีด้วยกัน ซึ่งแต่ละวิธีมีความจำเพาะแตกต่างกันโดย ปกติมักใช้หลายวิธีรวมกันในการตรวจสอบและสรุปผล (บุหรัน, 2556)

2.4.1 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ

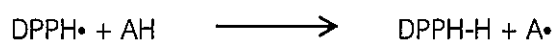
การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิง คุณภาพเป็นการทดสอบเพื่อหาชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยอาศัยหลักการ ต่าง ๆ เช่น การทำให้เกิดสีการทำให้เกิดตะกอน ความสามารถในการละลายในตัวทำละลายและการถูกดูดซับโดยตัวดูดซับ วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่นิยม ได้แก่การตรวจวัดสารโพลีฟีนอล ชนิดต่าง ๆ (เช่น Shinoda test และ Pew test) โครมาโตกราฟีแบบชั้นบาง (thin layer chromatography, TLC) และการตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระชนิด ต่าง ๆ โดยใช้เครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิง ปริมาณเป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่าง ๆ วิธีที่นิยม ได้แก่การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH•) วิธีการฟอกสี อนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS•+) และการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) ซึ่งวิธีการดังกล่าวข้างต้นจะมี การสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน และวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัด อนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจ โดยวัดปริมาณ อนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือจากค่าการดูดกลืนแสง สารอนุมูลอิสระที่นิยมใช้เช่น ABTS•+ และ DPPH• การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ หาได้จากอัตราส่วนของการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง กับสารมาตรฐาน (เช่น trolox, vitamin C และ ferrous sulfate) หน่วยของการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณแสดงได้ 2 แบบ คือ (1) แบบปริมาณความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในตัวอย่าง ซึ่งค่าตัวเลขสูงก็แสดงว่ามี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงและ (2) แบบปริมาณความ เข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลงร้อยละ 50 (IC50, 50% of inhibitory concentration) โดยค่า ตัวเลขต่ำแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ทั้งสองแบบสามารถแสดงหน่วยได้หลากหลาย ได้แก่ $\mu\text{M}/\text{mg}$, mM/mg , $\mu\text{M}/\text{mL}$, mM/mL เป็นต้น

2.4.2.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay) เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารที่มี คุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระในที่นี้ก็คืออนุมูลอิสระ ดีพีพีเอช (DPPH• , diphenyl-picrylhydrazyl radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัว และมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เมื่อ DPPH• ทำ ปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอล (สารที่ให้อิเล็กตรอน) จะทำให้สีม่วงจางลง ๆ จนเป็นสีเหลือง ซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ที่มีดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ทำให้สามารถหาการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูตรคำนวณ ได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงจากการใส่ ตัวอย่างเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น (ก่อนใส่ สารตัวอย่าง) ดังนี้



$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = [(A_0 - A_s)/A_0] \times 100$$

โดย A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น และ A_s = ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากเติมสารตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น มิใช่เผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารมาตรฐานที่ใช้ในการเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือ โทรล็อกซ์ (trolox, 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchlorman-2-carboxylic acid) แสดงค่าเป็น TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) มีหน่วยเป็น mM/mg หรือ $\mu\text{M}/\text{mg}$ ข้อดีของวิธีนี้คือง่าย สะดวกและรวดเร็ว ส่วนข้อเสียคือ DPPH• ค่อนข้างเสถียรไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือน อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง และต้องวัดใน ปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์ซึ่งจะทำให้โปรตีนตกตะกอนจึงไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือด ได้ อีกทั้งสารปนเปื้อนและโลหะจะรบกวน (interfere) ซึ่งสามารถเป็นตัวรบกวนแล้วทำให้สีของอนุมูลอิสระ DPPH จางลงได้เช่นกัน

2.5 เชื้อที่ใช้ในการทดสอบ

2.5.1 *Pseudomonas aeruginosa*

เชื้อ *P. aeruginosa* เป็นจุลินทรีย์ที่จัดอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรีย แกรมลบ มีรูปร่างแท่ง ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต อยู่ในวงศ์ *Pseudomonadaceae* สามารถเคลื่อนที่ได้มีขนาด $0.5-1.0 \times 1.5-5.0$ ไมโครเมตร และเป็น normal flora ในลำไส้คน *P. aeruginosa* เป็นเชื้อฉวยโอกาสจะมีการติดเชื้อมักกับผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำหรือป่วยมาก ๆ หรือผู้ที่รักษาตัวในโรงพยาบาลและผู้ที่ภูมิคุ้มกันบกพร่อง สามารถก่อให้เกิดการติดเชื้อและก่อโรคได้เกือบทุกอวัยวะ เช่น ผิวหนัง แก้วตา หู ทางเดินหายใจ กระดูก และแสโลहितเป็นพิษ เป็นต้น บางทีจึงเรียกโรคติดเชื้อนี้ว่าโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล (พินิจ, 2553)



รูปที่ 2.8 *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา : <https://www.sciencenews.org/article/new-antibiotic-uses-sneaky-tactics-kill-drug-resistant-superbugs> (สืบค้นวันที่ 04/03/2562)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 *Escherichia coli*

เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์เลื้อยคืบ แยกได้ครั้งแรกจากอุจจาระเด็ก จัดอยู่ใน วงศ์ *Enterobacteriaceae* ลักษณะที่สำคัญของ *E. coli* คือ เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เคลื่อนที่ได้ รูปร่างท่อนสามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน ในสภาวะที่มีออกซิเจนจะใช้กระบวนการหายใจ ส่วนสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะใช้การหมัก สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่ 45 องศาเซลเซียส ผลิต Shiga-like toxins (SLT) หรือ Verotoxins (VT) โคโลนีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ L-EMB มีลักษณะสีน้ำตาลอมแดงและวาวต่อแสง *E. coli* O157:H7 เป็นเชื้อที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ ไม่ใช่เพียงแค่อาการท้องร่วงธรรมดา แต่อาจทำให้ไตวาย ไตพิการ หรือ อาจพรากชีวิตของผู้ป่วยได้ด้วย สาเหตุสำคัญที่ทำให้ *E. coli* O157:H7 มีอันตรายต่อมนุษย์เนื่องจากสามารถสร้างโปรตีนที่เป็นสารพิษ เรียกว่า shiga-like toxin และที่สำคัญคือเป็นแบคทีเรียก่อโรคที่พบได้ในอาหาร ตามปกติมักพบการระบาดของ *E. coli* ส่วนใหญ่ที่ nursing house, โรงเรียน, ครอบครัว, ชุมชนต่าง ๆ โดยการติดต่อ จะสามารถเกิดได้ทั้งจากอาหาร และติดต่อจากบุคคลหนึ่ง ไปสู่อีกบุคคลหนึ่ง อาหารที่พบว่ามีการระบาดได้แก่ อาหารที่ให้ความร้อนไม่เพียงพอ (วฤษณี, 2554)



รูปที่ 2.9 *Escherichia coli*

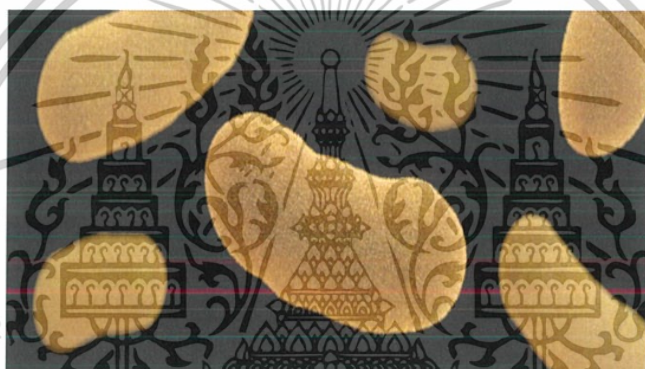
ที่มา : <https://www.bbc.com/thai/international-43958600> (สืบค้นวันที่ 04/03/2562)

2.5.3 *Yersinia enterocolitica*

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะรูปร่าง เป็นท่อนสั้น ขนาดเล็กประมาณ 0.5-0.8 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ เพิ่มจำนวนได้ทั้งใน สภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน และเป็นแบคทีเรียที่ทนต่ออุณหภูมิต่ำ 0-4 องศาเซลเซียส สามารถเพิ่มจำนวนได้ในตู้เย็น (psychotropic bacteria) เจริญได้ดีที่ 25-30 องศาเซลเซียส แต่ที่ 25 องศาเซลเซียส เจริญได้ดีกว่าแบคทีเรียลำไส้อื่นๆ และ ใช้เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนเชื้อ แบคทีเรียชนิดนี้มักปนเปื้อนในอาหารประเภทเนื้อสัตว์ เช่น เนื้อหมู เนื้อวัว เนื้อแกะ และผลผลิตจากสัตว์เช่น นม นมดิบ นอกจากนี้ อาจมีการปนเปื้อนในสัตว์น้ำ เช่น ปลา หอยนางรม หอยแมลงภู่ โดยอาจปนเปื้อนมาจาก ดิน แหล่งน้ำที่ปนเปื้อนหรือสัตว์ที่มีเชื้อ หรืออาจเกิดจากสุขาภิบาลที่ไม่เหมาะสม *Y. enterocolitica* ทำให้เกิด โรคเยอซินีโอซิส (Yersiniosis) มักพบในประเทศ เขตหนาว เมื่อผ่านเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารจะ เพิ่มจำนวนนำไปสู่ ทำให้เกิดโรคเยอซินีโอซิส (Yersiniosis) ซึ่งเกิดจากสารพิษ enterotoxin ที่ทนต่อความร้อน เรียกว่า *Yersinia Enterocolitica* Heat Stable Toxin (YEST) จะมีอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบ (gastroenteritis) อาการที่สำคัญ คือ ท้องเสีย อาจมีอาการอาเจียน มีไข้และปวดท้อง อาการคล้ายไส้ติ่ง อักเสบ และอาจมีการติดเชื้อ บริเวณอื่น เช่น ผิวหนังมีผื่นแดง และทางเดินปัสสาวะอักเสบ นอกจากนี้ ยังมีโรคแทรกซ้อนอื่น กลุ่มเด็กทารก คนชรา รวมทั้งผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง จัดเป็นกลุ่มเสี่ยงที่ต้องระวัง (สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม)



รูปที่ 2.10 *Yersinia enterocolitica*

ที่มา : <https://www.cdc.gov/yersinia/index.html> (สืบค้นวันที่ 04/03/2562)

2.5.4 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก จัดอยู่ในตระกูลไมโครค็อกคาซี (Micrococcaceae) มีลักษณะทรงกลม (เส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์ 0.5- 1.5 ไมโครเมตร) ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ บางสายพันธุ์สามารถสร้างแคปซูลทำให้โคโลนีเป็นเมือก ช่วยให้เชื้อมีความทนทานต่อการทำลายของ ยาปฏิชีวนะและภูมิคุ้มกันของร่างกาย การเจริญของโคโลนีบนอาหาร แข็งมีลักษณะกลม เรียบขุ่นและนูนเล็กน้อย ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-4 มิลลิเมตร เชื้อ *S. aureus* มีลักษณะโคโลนีเป็นสีเหลืองสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีและอาจมีชีวิตรอดได้ในหนองหรือเสมหะแห้งเป็นเวลานาน *S. aureus* เป็นเชื้อก่อโรคที่พบ ได้บ่อยในโรงพยาบาลและเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อบน ผิวหนัง กระจก และในกระแสเลือด นอกจากนี้ยังเป็น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อฉวยโอกาสในผู้ป่วยที่มีร่างกายอ่อนแอ หรืออยู่ในสภาวะ พักฟื้น โดยมักจะแทรกซ้อนในผู้ป่วยที่ ติดเชื้อทำให้มีอาการรุนแรงขึ้น เช่น ทำให้เกิดโรคปอดบวมที่มีอัตราการ เสียชีวิตสูงถึงร้อยละ 50 เชื้อกลุ่ม *Staphylococcus* เป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อบนผิวหนังโดยเฉพาะโรคฝีหนอง นอกจากนี้ยังพบได้ทั่วไปตามร่างกายคน อุปกรณ์ทางการแพทย์ในโรงพยาบาลและชุมชน โดยเฉพาะ เชื้อที่พบภายในโรงพยาบาลมักก่อโรคในลักษณะเชื้อ ฉวยโอกาส ก่อโรคในผู้ป่วยที่มีร่างกายอ่อนแอ หรือ ติดต่อบาดแผลถลอกหรือแผลจากการผ่าตัด เชื้อจะบุกรุกเข้าไปในเนื้อเยื่อชั้นใน และเข้าสู่ กระแสเลือด แพร่กระจายออกไปตามส่วนต่างๆ ของร่างกายและก่อ ให้เกิดโรคได้ (นิตยสาร และเอก ชัย, 2552)



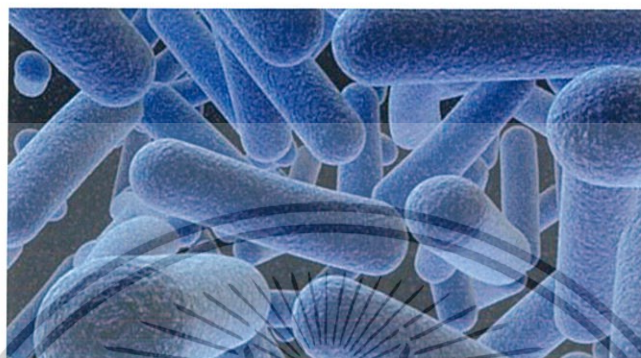
รูปที่ 2.11 *Staphylococcus aureus*

ที่มา : https://www.123rf.com/photo_69636547_stock-illustration-bacteria-staphylococcus-aureus-on-the-surface-of-skin-or-mucous-membrane-3d-illustration.html (สืบค้นวันที่ 04/03/2562)

2.5.5 *Bacillus cereus*

เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นรูปท่อนตรง ขนาด $0.3-2.2 \times 1.2-7.0$ ไมโครเมตร ส่วนใหญ่ เคลื่อนที่ได้ สร้างสปอร์ และ สร้างสารพิษ ซึ่งจะขับสารพิษออกมาขณะปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ช่วง อุณหภูมิในการเติบโต อยู่ระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์สามารถเติบโตได้ที่อุณหภูมิ สูงถึง 55 องศาเซลเซียส และบางสายพันธุ์เติบโตได้ที่ อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส สำหรับค่า pH ที่ เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อชนิดนี้อยู่ระหว่าง 6-7 และสามารถเติบโตได้ดีในสภาพที่มี ออกซิเจน และจะสร้างสารพิษเมื่ออยู่ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนน้อย *B. cereus* พบได้ทั่วไปใน ธรรมชาติ ในดิน ฝุ่นละออง ผลิตภัณฑ์จากพืช เช่น ข้าว ธัญพืช แป้ง ผลิตภัณฑ์จากแป้ง เครื่องเทศ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ และเครื่องปรุงแต่ง รสต่างๆ นอกจากนี้ยังพบในอุจจาระของคนที่มีสุขภาพปกติได้ ประมาณร้อยละ 15 *B. cereus* เป็นแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเป็นพิษ และสามารถถ่ายทอดเข้าสู่ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร่างกายได้โดยการรับประทานอาหารที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อน อาหารที่พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ *B. cereus* จนทำให้เกิดอาการอาเจียนได้แก่ อาหาร ประเภทข้าว และแป้ง อาทิ มั๊กกะโรนี และข้าวผัดเนยแข็ง ผลิตรัณฑ์จากวานิลลาที่ ส่วนอาหารที่ พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจนทำให้เกิดอาการท้องร่วง ได้แก่ ผักต่างๆ สลัด อาหารที่มีเนื้อสัตว์เป็นส่วนประกอบ ซอส ชุป และอาหารที่มีแป้งและครีมเป็นส่วนประกอบ เป็นต้น (สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม)



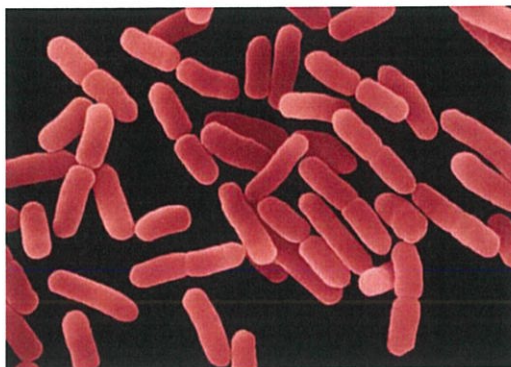
รูปที่ 2.12 *Bacillus cereus*

ที่มา : <https://viviendoenlatierra.com/2010/06/15/bacillus-cereus-dq01-el-microorganismo-que-podria-salvar-al-golfo-de-mexico/> (สืบค้นวันที่ 04/03/2562)

2.5.6 *Bacillus subtilis*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ที่สร้างสปอร์ที่มีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมต่างๆได้เป็นอย่างดี โดยสปอร์ของ *B. subtilis* สามารถทนสภาพ ร้อน-ชื้นได้ถึง 100 องศาเซลเซียสและต้องใช้เวลา 20-30 นาทีจึงจะ ทำให้ความสามารถในการมีชีวิตของมัน (viability) ลดจำนวนลง 1-log ได้ แต่ถ้าเป็นสภาวะที่ร้อน-แห้ง ความสามารถในการมีชีวิตของมันจะเพิ่มขึ้นอีกถึง 1000 เท่า (รัตนยาภรณ์ และ ภารดี, 2554) และเป็นแบคทีเรียที่มักจะพบอาศัยอยู่ในพืช โดยไม่ก่อให้เกิดผลเสียหายต่อพืชที่อาศัยอยู่ มีคุณสมบัติป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราและแบคทีเรียได้หลายชนิด (อนุเทพ, 2557) และสามารถพบได้ทั่วไป เช่น ในดิน น้ำจืด น้ำเค็ม เป็นต้น เชื้อ *B. subtilis* เป็นเชื้อที่ไม่ทำให้เกิดโรคเจริญได้ดีที่ความเป็นกรดต่าง 5.5 -8.5 อุณหภูมิระหว่าง 28-40 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญเติบโตได้แม้จะอยู่ในอุณหภูมิสูงถึง 55 องศาเซลเซียส (ศศิ, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.13 *Bacillus subtilis*

ที่มา : <https://www.indiamart.com/proddetail/bacillus-subtilis-3472880512.html> (สืบค้น
วันที่ 04/03/2562)

2.6 ยาต้านจุลชีพ

ยาปฏิชีวนะ หรือ แอนติไบโอติก (Antibiotic) คือ ยารักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อโดยทั่วไปแล้วหมายถึง เชื้อแบคทีเรีย ปัจจุบันมีการใช้คำอื่นทดแทน คือ ยาต้านจุลชีพ หรือ ยาต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial) โดยยากลุ่มนี้ จะใช้เมื่อแพทย์ให้การวินิจฉัย หรือ คาดว่าผู้ป่วยมีการติดเชื้อแบคทีเรียเท่านั้น ในสังคมไทยประชาชนทั่วไปมัก เรียกยากลุ่มนี้เป็นยาแก้อักเสบทำให้เกิดความเข้าใจผิดว่าการใช้ยานี้จะทำให้โรคที่เป็นอยู่หายเร็วขึ้นเพราะยาจะไป รักษาหรือแก้การอักเสบซึ่งเป็นความเข้าใจผิด ยาปฏิชีวนะที่เป็นที่คุ้นเคยและผู้ป่วยมักซื้อใช้เองได้แก่ อะม็อกซิซิลลิน (amoxicillin) อ็อกเมนติน (augmentin) นอร์ฟล็อกซาซิน (norfloaxacin) เตตราไซคลิน (tetracycline) อะซี โทรมัยซิน (azithromycin) เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ตารางแสดงกลไกการออกฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพ

ผลที่มีต่อจุลชีพ	กลไกการออกฤทธิ์	กลุ่มยา	ตัวอย่างยา
	1. ชัดขวางการสร้างผนังเซลล์	กลุ่มเพนิซิลลิน	Penicillin, Ampicillin, Amoxycillin, Cloxacillin, Dicloxacillin, Bacampicillin, Amoxiclave (สูตรผสมระหว่าง Amoxycillin + Clavulanicacid) เป็นต้น
		กลุ่มเซฟาโลสปอริน	Cephalexin, Cefuroxime, Cefaclor, Cefdinir, Cefprozil เป็นต้น
		กลุ่มอิมิดาโซล	Clotrimazole, Miconazole, Tioconazole Isoconazole, Ketoconazole เป็นต้น
		ยาต้านจุลชีพอื่นๆ	Bacitracin, Vancomycin เป็นต้น
ฆ่าแบคทีเรียโดยตรง (Bactericidal)	2. เปลี่ยนแปลงเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้การผ่านเข้าออกของสารต่างๆ ที่อยู่ในเซลล์และนอกเซลล์ผิดปกติ		Polymyxin B, Polymyxin E (Colistin), Amphotericin B, Nystath, Gramicidin
	3. ทำให้การสร้างโปรตีนผิดปกติที่ไรโบโซมส่วน 30s	กลุ่มอะมิโนกลัยโคไซด์	Streptomycin, Neomycin, Kanamycin Gentamycin, Paromomycin, Amikacin เป็นต้น
ทำให้แบคทีเรียหยุดเจริญเติบโต (Bacteriostatic)	4. ยับยั้งการสร้างโปรตีน 4.1 ออกฤทธิ์ที่ไรโบโซม ส่วน 30s	กลุ่มเตตราไซคลิน	Tetracycline, Oxytetracycline Chlortetracycline, Doxycycline และ Minocycline

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ออกฤทธิ์ที่โรโบโซม	กลุ่มคลอแรมเฟนิคอล	Chloramphenicol และ Thiamphenicol
	กลุ่มมะโครไลด์	Erythromycin, Roxithromycin, Spiramycin, Medicamycin Clarithromycin และ Azithromycin
	ยาต้านจุลชีพอื่นๆ	Lincomycin, Clindamycin เป็นต้น
5. ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างกรดนิวคลีอิก	กลุ่มฟลูออโรควิโนโลน	Norfloxacin, Ofloxacin, Pefloxacin, Ciprofloxacin, Levofloxacin และ Moxifloxacin เป็นต้น
	ยาต้านจุลชีพอื่นๆ	Rifampicin, Metronidazole เป็นต้น
6. ออกฤทธิ์รบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์	กลุ่มซัลโฟนาไมด์	Cotrimoxazole (สูตรผสมระหว่าง Sulfamethoxazole + Trimethoprim) ยาซัลฟาชนิดต่างๆ
	ยาต้านจุลชีพอื่นๆ	Isonizaid, Trimethoprim เป็นต้น

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Falodun และคณะ (2006) ทำการศึกษาการตรวจสอบสารพิษเคมีด้วยสารสกัดเมทานอลและน้ำจากใบของต้นเขยตาย ซึ่งจากการทดลองพบว่าสารสกัดด้วยเมทานอลพบสารพิษเคมีที่สำคัญได้แก่ ซาโปนิน ส่วนการสกัดด้วยน้ำพบสารพิษเคมีที่สำคัญได้แก่ ซาโปนิน ฟลาโวนอยด์และเทอร์ปีน จากการศึกษาพบว่าสารบางชนิดเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าพืชมีความสำคัญในการบำบัดโรค เช่นรักษาอาการอักเสบ โรคหอบหืด เป็นต้น

Omale และ Emmanuel (2010) ได้ทำการทดสอบหาสารพิษเคมีในสารสกัดหยาบส่วนใบของต้นเขยตาย โดยใช้น้ำและเอทานอลเป็นตัวทำละลาย โดยพบว่าทั้งที่ใช้น้ำและเอทานอลเป็นตัวทำละลายพบสารพิษเคมีที่สำคัญได้แก่ อัลคาลอยด์ ซาโปนิน แทนนิน และฟลาโวนอยด์ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าบางสายพันธุ์ของ *Euphorbia* รวมถึง *Euphorbia heterophylla* สามารถใช้เป็นยาถ่าย รักษาอาการไอ โรคหอบหืดและโรคมุมิแพ้ได้

Oso และ Ogunnusi (2017) ได้ทำการศึกษาสารสกัดจากส่วนใบของต้นเขยตายโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายด้วยวิธีสกัดเย็นและนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion ซึ่งจากการทดลองพบว่าสารสกัดจากต้นเขยตายสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ โดยใช้เชื้อทดสอบได้แก่ *Staphylococcus aureus* (ผิวหนัง),

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่หรือใช้ซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Staphylococcus aureus (ทางเดินหายใจ) *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Salmonella typhi* โดยพบว่าสารสกัดจากต้นเขยตายที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhi* ได้ดีกว่าแบคทีเรียตัวอื่นๆ โดยเกิดบริเวณยับยั้ง 25 มิลลิเมตร รองมาเป็นเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* เกิดบริเวณการยับยั้ง 22 มิลลิเมตร ต่อมาเป็นเชื้อ *Staphylococcus aureus* (ผิวหนัง) 19 มิลลิเมตร *Klebsiella pneumoniae* 16 มิลลิเมตร และ *Streptococcus pneumoniae* กับ *Escherichia coli* 14 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นเชื้อที่มีบริเวณการยับยั้งการเจริญน้อยที่สุด ใช้ยาปฏิชีวนะ Cefuroxime เป็นยามาตรฐานซึ่งที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ดีที่สุด โดยเกิดบริเวณยับยั้ง 36 มิลลิเมตร โดยความเข้มข้นของสารสกัดจากต้นเขยตายต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* (ผิวหนัง) *Klebsiella pneumoniae* และ *Streptococcus pneumoniae* เท่ากับ 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (ทางเดินหายใจ) และ *Pseudomonas aeruginosa* เท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำการทดลองไม่สามารถฆ่าทำลายเชื้อ *Salmonella typhi* ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์จากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR1466, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* TISTR5040, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR781, *Escherichia coli* TISTR780 และ *Yersinia enterocolitica*

3.2 พืชที่ใช้ในการทดสอบ

เก็บตัวอย่างของดอก ใบ และลำต้นของต้นเขยตายจาก ตำบลยั้งหลาย อำเภออุทุมพร จัหวัดสุพรรณบุรี เดือนมิถุนายน พุทธศักราช 2561

3.3 สารเคมีและอุปกรณ์

3.3.1 สารเคมีที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย

3.3.1.1 เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

3.3.1.2 Nutrient agar

3.3.1.3 Nutrient broth

3.3.1.4 0.5 McFarland

3.3.1.5 น้ำกลั่น

3.3.1.6 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

3.3.1.7 α -tocopherol

3.3.1.8 Folin-ciocalteu's reagent

3.3.1.9 โซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 และ 35

3.3.1.10 กรดแกลลิก

3.3.1.11 Folin-Denis reagent

3.3.1.12 โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride : NaCl)

3.3.1.13 กรดแทนนิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
3.3.1.14 โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride : KCl)
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.3.1.15 โซเดียมอะซิเตต (Sodium acetate : CH_3COONa)
- 3.3.1.16 เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30
- 3.3.1.17 โซเดียมไนไตรท์ (Sodium Nitrite : NaNO_2)
- 3.3.1.18 อะลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminum chloride : AlCl_3)
- 3.3.1.19 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide : NaOH)
- 3.3.1.20 เควอซีดินที่ความเข้มข้น 1 ถึง 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
- 3.3.1.21 Mueller Hinton agar
- 3.3.1.22 Gentamicin
- 3.3.1.23 Ciprofloxacin

3.3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย

- 3.3.2.1 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- 3.3.2.2 เครื่องปั่นอาหาร (Blender) Heidolph รุ่น hel-VAP
- 3.3.2.3 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (balance) รุ่น TE2145
- 3.3.2.4 กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 (Filter paper Whatman no.1)
- 3.3.2.5 ขวดโหลที่มีฝาปิด
- 3.3.2.6 เครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator)
- 3.3.2.7 หลอดทดสอบ (Test tube)
- 3.3.2.8 จานอาหารสำหรับเพาะเชื้อ (Petri dish)
- 3.3.2.9 เครื่องผสมสารละลาย (vortex)
- 3.3.2.10 96-well Microplate
- 3.3.2.11 Microplate Reader
- 3.3.2.12 ปิเปตแก้ว (Glass pipette) ขนาด 1 5 และ 10 มิลลิลิตร
- 3.3.2.13 ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 20p 200p และ 1000p
Eppendorf รุ่น RAININ Pipet-Lite XLS
- 3.3.2.14 กล่องทิป (Tip box sterile)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.3.2.15 ไม้พันสำลีปลอดเชื้อ (Cotton swab sterile)
- 3.3.2.16 อุปกรณ์เจาะจุกคออร์ก (Cork borer)
- 3.3.2.17 ตู้สำหรับบ่มเชื้อ (Incubator) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส BINDER รุ่น DO6061
- 3.3.2.18 ไม้จิ้มฟันปลอดเชื้อ (Stick wood sterile)
- 3.3.2.19 ลูปเชี่ยเชื้อ (Loop)
- 3.3.2.20 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) UNICO UV-2800A
- 3.3.2.21 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol burner)
- 3.3.2.22 ชุดกรองสูญญากาศ (Filtration system)
- 3.3.2.23 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 3.3.2.24 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
- 3.3.2.25 ขวดดูแลน (Duran bottle) ขนาด 500 และ 1000 มิลลิลิตร
- 3.3.2.26 ตู้ปลอดเชื้อชนิดเป่าลม (Laminar Air Flow Cabinet)
- 3.3.2.27 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (Autoclave) รุ่น high pressure STREAM STERILIZET 4S-315

3.4 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.4.1 การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบ ตั๊ก และดอกของต้นเขยต่าย และการเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

3.4.1.1 การเตรียมสารสกัดจากใบ ตั๊ก และดอกของต้นเขยต่ายด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

นำส่วนใบ ตั๊ก และดอกของต้นเขยต่ายมาล้างด้วยน้ำสะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ตากลมให้แห้งด้วยอุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) โดยไม่ให้โดนแสงอาทิตย์ และนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นอาหาร และเก็บไว้ในที่อุณหภูมิห้อง เมื่อทำการทดลองให้ชั่งส่วนของใบ ตั๊ก และดอกที่บดละเอียดอย่างละ 100 กรัมใส่ในผ้าขาวบางมาสกัดหยาบด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 900 มิลลิลิตร ในภาชนะมีฝาปิด และตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 3-7 วัน จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และนำมาทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยเครื่องกลั่นระเหยสูญญากาศ ทำซ้ำ 3 ครั้ง และนำสารสกัดหยาบใบ ตั๊ก และดอกของต้นเขยต่ายมาตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งสารละลายเอทานอลระเหยไปจนหมด จากนั้นนำสารสกัดมาเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อทำการทดสอบต่อไป

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียในการทดสอบ

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR14, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* TISTR5040, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR781, *Escherichia coli* TISTR780 และ *Yersinia enterocolitica* ในอาหาร Nutrient broth นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 16-18 ชั่วโมง หลังจากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยใช้วิธี Streak plate บนอาหาร Nutrient agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 16-18 ชั่วโมง ใช้ลูปเขี่ยเชื้อที่แยกได้เป็นโคโลนีเดียวมาทดสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยวิธีการย้อมแกรม เมื่อได้ลักษณะของเชื้อที่ถูกต้อง จึงทำการย้ายเชื้อใส่ในหลอดอาหารเลี้ยงที่มี Nutrient agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 16-18 ชั่วโมง และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.4.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย

3.4.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ (Barros และคณะ, 2007) เตรียมสารสกัดหยาบแต่ละส่วนด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ให้สารสกัดหยาบแต่ละส่วนมีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารสกัดหยาบดังกล่าวปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตรและสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 0.075 มิลลิลิตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที ผสมกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 0.275 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ทำซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง ใช้ควอดริตินที่ความเข้มข้น 1 ถึง 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสารละลายมาตรฐาน และสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 เป็นแบลนด์ แสดงผลการทดลองที่ได้ในรูปเทียบเท่า มิลลิกรัมของควอดริตินต่อกรัมของสารสกัดหยาบ (mg QE/g extract)

3.4.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณแทนนินโดยใช้วิธี Folin-Denis

การวิเคราะห์ปริมาณแทนนิน (Kathirvel และ Sujatha, 2016) เตรียมสารสกัดหยาบแต่ละส่วนด้วยสารละลายเมทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 30 ให้สารสกัดหยาบแต่ละส่วนมีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารสกัดหยาบดังกล่าวปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนกระทั่งปริมาตรสุดท้ายเป็น 7.5 มิลลิลิตร จากนั้นผสมกับสารละลาย Folin-Denis 0.5 มิลลิลิตร และโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ทำซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง ใช้กรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 0.1 10 100 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสารละลายมาตรฐาน และใช้สารละลายเมทานอลความเอกลสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นร้อยละ 30 เป็นแปลงค์ แสดงผลการทดลองที่ได้ในรูปเทียบเท่ามิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดหยาบ (mg TAE/g extract)

3.4.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินโดยใช้ความแตกต่างของพีเอช

การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินโดยใช้ความแตกต่างของพีเอช (Lee และคณะ, 2005) เริ่มโดยชั่งสารสกัดหยาบแต่ละส่วน 0.4 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปิเปตสารสกัดหยาบดังกล่าว 0.03 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยากับสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ พีเอช 1.0 ปริมาตร 0.27 มิลลิลิตร และทำปฏิกิริยาสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตด พีเอช 4.5 ปริมาตร 0.27 มิลลิลิตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ทำซ้ำอย่างละ 5 ครั้ง แล้วนำค่าที่ได้คำนวณหาค่าสมการดังนี้

$$\text{ปริมาณแอนโทไซยานิน(มิลลิกรัม/ลิตร)} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon \times 1} \quad \text{สมการที่ 3.2}$$

กำหนดให้ A คือ $(A_{520} - A_{270})_{pH1.0} - (A_{520} - A_{270})_{pH4.5}$
 MW คือ มวลโมเลกุล
 DF คือ Dilution factor
 ϵ คือ Molar absorptivity

3.4.2.4 การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-ciocalteu's Colorimetric (อรชร และ กาญจนา, 2558) เริ่มโดยเตรียมสารสกัดหยาบแต่ละส่วนในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ให้สารสกัดหยาบแต่ละส่วนมีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุม 96-well plate หลังจากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร เริ่มปฏิกิริยาเมื่อเติมสารละลาย Folin-ciocalteu's ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปบ่มเป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ทำซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง ใช้สารละลายกรดกลลิกความเข้มข้น 0.0001 0.001 0.01 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสารละลายมาตรฐาน และใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นแปลงค์ โดยทำทดสอบวิธีเดียวกับสารสกัดหยาบ ผลการทดลองที่ได้อยู่ในรูปเทียบเท่ามิลลิกรัมของกรดกลลิกต่อกรัมของสารสกัดหยาบ (mg GAE/g extract)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 การวิเคราะห์การเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย

3.4.3.1 การยับยั้งกิจกรรมการแย่งดักจับอนุมูลอิสระ DPPH

การทดสอบกิจกรรมการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH scavenging assay) (อรชร และกาญจนา, 2558) เริ่มด้วยการเตรียมสารสกัดหยาบแต่ละส่วนที่ความเข้มข้น 1.25 2.5 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร บีเปตใส่แต่ละหลุม 96-well plate เริ่มปฏิกิริยาโดยการเติม DPPH ปริมาตร 190 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง ใช้สารละลายแอลฟา-โทโคฟีรอล 0.5 มิลลิโมลาร์เป็นสารละลายมาตรฐาน และใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นแบลนค์ โดยทำทดสอบวิธีเดียวกับสารสกัดหยาบ แล้วนำค่าที่ได้คำนวณหาค่าสมการดังนี้

$$\text{ร้อยละ DPPH reduction} = \left(\frac{A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{blank}}} \right) \times 100 \quad \text{สมการที่ 3.1}$$

กำหนดให้ A_{blank} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของแบลนค์หรือตัวควบคุม
 A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

3.4.4 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดด้วยวิธี Agar well diffusion

การทดสอบประสิทธิภาพของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดโดยวิธี Agar well diffusion ดัดแปลงมาจาก (Abew และคณะ, 2014) เริ่มโดยการเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรียในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ให้มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland โดยบีเปตเชื้อแบคทีเรียปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าอาหาร Mueller Hinton agar จากนั้นใช้ไม้พันสำลีเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้า ตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งผิวหน้าอาหารแห้ง เจาะหลุมด้วยอุปกรณ์เจาะ จุกคอร์ก (cork borer) เตรียมสารสกัดหยาบแต่ละส่วนด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ให้สารสกัดหยาบมีความเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นตัวควบคุมแบบลบ ยาปฏิชีวนะเจนตาไมซิน (gentamycin) ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน (ciprofloxacin) ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมแบบบวก (ใช้ไซโปรฟลอกซาซินสำหรับเชื้อ *P. aeruginosa* และ *S. aureus*) บีเปตปริมาตรอย่างละ 20 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ถึง 18 ชั่วโมง และนำมาวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใส (clear zone) ซึ่งเป็นบริเวณที่สารสกัด และยาปฏิชีวนะสามารถยับยั้งเชื้อได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5 การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบจากต้นเขยตายในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum inhibitory Concentration : MIC)

เมื่อได้ทำการทดสอบเบื้องต้นแล้วว่าสารสกัดหยาบจากต้นเขยตายสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ จึงนำมาทำการทดสอบการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อย่างละเอียดโดยใช้วิธี macro broth dilution technique โดยปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อ (Nutrient broth) ลงในแต่ละหลอด หลอดละ 1 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารสกัดหยาบแต่ละส่วนที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหาร NB ในหลอดที่ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางไปยังหลอดถัดไปเป็นลำดับโดยใช้วิธี Two-fold dilution ทำให้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดเป็น 12.5 25 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ตามด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมในอาหาร Nutrient broth ให้มีค่าดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.8 ถึง 1.0 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (เท่ากับความขุ่น 0.5 McFarland) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ถึง 5 ชั่วโมง ปิเปตเชื้อจุลินทรีย์ ลงในแต่ละหลอดที่เตรียมไว้ หลอดละ 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นทำการตรวจผลโดยการสังเกตความขุ่น แต่เนื่องจากสารสกัดทั้ง 3 ส่วนมีสีเข้มมากทำให้ไม่สามารถสังเกตความขุ่นได้ จึงนำไปทำ MBC ต่อไป

3.4.6 การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบของต้นเขยตายที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Bactericidal Concentration : MBC)

จากการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญในอาหารเหลว (MIC) แล้วไม่สามารถวัดผลโดยการดูจากความขุ่นได้นั้นทำการวัดผลโดย นำหลอดที่ทำ MIC ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงแล้วนั้น มาทำ simple streak ลงบนอาหารแข็ง Nutrient agar วัดผลโดยดูการเจริญของเชื้อบนอาหารแข็ง ถ้าเชื้อไม่สามารถเจริญได้แสดงว่าสารสกัดที่ความเข้มข้นนั้นเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สารสกัดจากต้นเขยตายสามารถยับยั้งเชื้อได้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

4.1 การศึกษาสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบส่วนใบ ต้น และดอก จากต้นเขยตาย

4.1.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย

จากการวิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอก จากต้นเขยตายที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามวิธีของ Barros และคณะ (2017) โดยใช้เคอเวซิทินเป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนดอกของต้นเขยตายมีปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุดเทียบเท่ากับ 773 มิลลิกรัมของเคอเวซิทินต่อกรัมของสารสกัด รองมาเป็นสารสกัดหยาบจากส่วนใบ และต้น พบปริมาณฟลาโวนอยด์ที่ 424 และ 27 มิลลิกรัมของเคอเวซิทินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ แสดงไว้ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย

สารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของต้นเขยตาย	ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg QE/g extract)
ใบ	424.00±16.09 ^b
ต้น	27.00±10.88 ^c
ดอก	773.00±44.57 ^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในระดับเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากตารางที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าพบสารประกอบฟลาโวนอยด์จากทุกส่วนของต้นเขยตายที่ใบ ต้น และดอกซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Omale และ Emmanuel (2010) ที่ได้ทำการทดสอบหาสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบส่วนใบของต้นเขยตาย โดยใช้น้ำและเอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่าทั้งที่ใช้น้ำและเอทานอลเป็นตัวทำละลายพบสารพฤกษเคมีได้แก่ อัลคาลอยด์ ซาโปนิน แทนนิน รวมถึงพบสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วย นอกจากนี้ผลการทดลองยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Edeoga และคณะ (2005) ที่ได้ทำการสกัดส่วนใบ และต้น ของต้นเขยตายโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ซึ่งพบว่าพบสารพฤกษเคมีได้แก่ อัลคาลอยด์ แทนนิน โพลบาแทนนิน เทอร์พีนอยด์ ไกลโคไซด์ รวมถึงมีสารประกอบฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นไปตามผลการทดลองที่พบสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบส่วนต้นของต้นเขยตาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 การวิเคราะห์หาสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย

จากการวิเคราะห์หาสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอกของต้นเขยตายที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้วิธี Folin-Denis โดยใช้กรดแทนนิกเป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนใบของต้นเขยตายมีปริมาณแทนนินมากที่สุดเทียบเท่ากับ 353.33 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดหยาบ รองมาเป็นสารสกัดหยาบจากส่วนดอก และต้น พบปริมาณแทนนินที่ 27.33 และ 9.33 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ แสดงไว้ตามตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย

สารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของต้นเขยตาย	ปริมาณของแทนนิน (mg TAE/g extract)
ใบ	353.33±1.25 ^a
ต้น	9.33±2.26 ^c
ดอก	27.33±4.22 ^b

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสมมุติเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากตารางที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่าพบสารประกอบแทนนินจากทุกส่วนของต้นเขยตายที่ใบ ต้น และดอก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Fred-Jaiyesimi และ Abo (2010) ที่ได้ทำการทดสอบหาการมีอยู่ของสารฟลาโวนอยด์จากทุกส่วนของพืชโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ผลการทดลองพบสารฟลาโวนอยด์ได้แก่ อัลคาลอยด์ ซาโปนิน โกลโคไซด์ รวมถึงพบสารประกอบแทนนิน ซึ่งเป็นไปตามผลการทดลองที่พบสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบจากส่วน ใบ ต้น และ ดอกของต้นเขยตาย

4.1.3 การวิเคราะห์หาสารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย

จากการวิเคราะห์หาสารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอกของต้นเขยตายที่ความเข้มข้นของสารสกัด 40 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ใช้วิธีความแตกต่างของพีเอช (Lee และคณะ, 2005) โดยนำสารสกัดหยาบมาทำปฏิกิริยากับสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ พีเอช 1.0 และ สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต พีเอช 4.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนดอกของต้นเขยตายมีปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุดที่ 2.97 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตรของสารสกัด รองมาเป็นสารสกัดหยาบจากส่วนใบ และต้น พบปริมาณแอนโทไซยานินที่ 1.87 และ 1.27 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตรของสารสกัด ตามลำดับ แสดงไว้ตามตารางที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าสารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย

สารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ของต้นเขยตาย	ปริมาณแอนโทไซยานิน
	(มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตรของสารสกัด)
ใบ	1.87±0.72 ^a
ต้น	1.27±0.25 ^a
ดอก	2.97±1.36 ^a

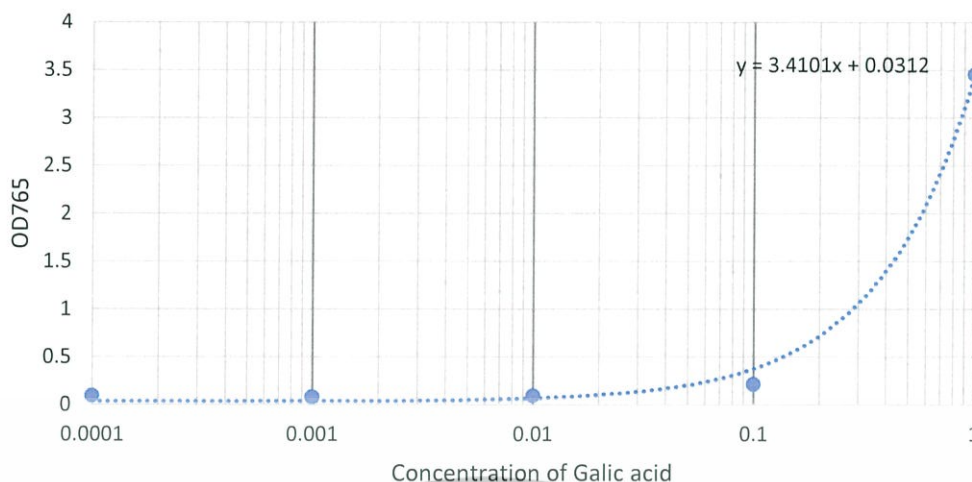
หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ไม่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

จากตารางที่ 4.3 พบว่าสารสกัดจากใบ ต้นและดอกของต้นเขยตายนั้นมีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบ แต่พบในปริมาณที่น้อยมากในทุกส่วนของสารสกัดจากต้นเขยตาย เนื่องจากแอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่มีสีที่ละลายน้ำได้เป็นสารประกอบในกลุ่มฟิโนลิก แอนโทไซยานินมีสีแดง ม่วง และน้ำเงิน มักจะพบในผักและผลไม้ ผลเบอร์รี่ ลูกเกด และองุ่น เป็นต้น ซึ่งจะพบแอนโทไซยานินในปริมาณที่สูง ตามที่ Hock Eng Khoo และคณะ (2017) ได้รายงานไว้ นอกจากนี้ Obouayeba และคณะ (2015) ได้รายงานผลการวิเคราะห์หาสารฟลิกษเคมีในดอกกระเจี๊ยบแดง โดยเฉพาะอย่างยิ่งแอนโทไซยานิน ซึ่งดอกกระเจี๊ยบแดงมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงถึง 12.34 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงมากเมื่อเทียบกับสารสกัดจากใบ ดอก และต้นเขยตาย เนื่องจากว่าใบและต้นของต้นเขยตายนั้นเป็นสีเขียวทำให้พบแอนโทไซยานินได้น้อย แต่ในส่วนของดอกที่มีปริมาณมากกว่าใบและต้น เนื่องจากดอกมีสีเขียวเหลืองแดงเล็กน้อย และดอกที่แก่ยังมีสีออกน้ำตาลอีกด้วย

4.1.4 การศึกษาหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย

เมื่อนำสารสกัดหยาบใบ ต้น และดอก ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-ciocalteu's Colorimetric (ออร์ช และ กาญจนนา, 2558) เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 765 นาโนเมตร โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 0.0001 0.001 0.01 0.1 และ 1 ซึ่งผลการทดลองที่ได้อยู่ในรูปเทียบเท่ามิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดหยาบ (mg GAE/g extract) ดังตารางที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Galic acid และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย

สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของต้น	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g extract)
เขยตาย	
ใบ	364.79±14.85 ^b
ต้น	353.07±23.17 ^b
ดอก	501.45±33.62 ^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย พบว่าสารสกัดหยาบที่มีปริมาณฟีนอลิกมากที่สุดคือ ดอก รองลงมาเป็นใบและต้น โดยมีค่าเทียบเท่ากับ 501.45 364.79 และ 353.07 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าดอกมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดต่างกับใบและต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากการศึกษาวิเคราะห์หาสารฟลูเคมิในสารสกัดหยาบส่วนใบ ต้น และดอก จากต้นเขยตายพบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ในสารสกัดส่วนดอกของต้นเขยตาย รองลงมาคือ ใบและต้น ตามลำดับ จากการศึกษาของ Han และคณะ (2007) กล่าวว่า ฟลาโวนอยด์ เป็นสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) ประเภทพอลิฟีนอล (polyphenol) แบ่งออกเป็นแอนโทไซยานินที่มีอยู่ในดอกไม้และผลไม้ที่มีสีส้ม และแอนโทแซนทินเป็นกลุ่มของสารประกอบไม่มีสี ซึ่งจากการศึกษาของ Maoulainine และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาคณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและวิเคราะห์หาสารฟลูเคมิของสารสกัดจากเมทานอลและเอทานอลของ *Euphorbia helioscopia*, (L.) จากส่วนเหนือดิน พบว่าสารสกัดหยาบจากการสกัดด้วยเอทานอลพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดส่วนดอกมากที่สุด รองลงมาคือ ใบและต้น ตามลำดับ ซึ่งเป็นผลมาจากการสะสมของสารทุติยภูมิ

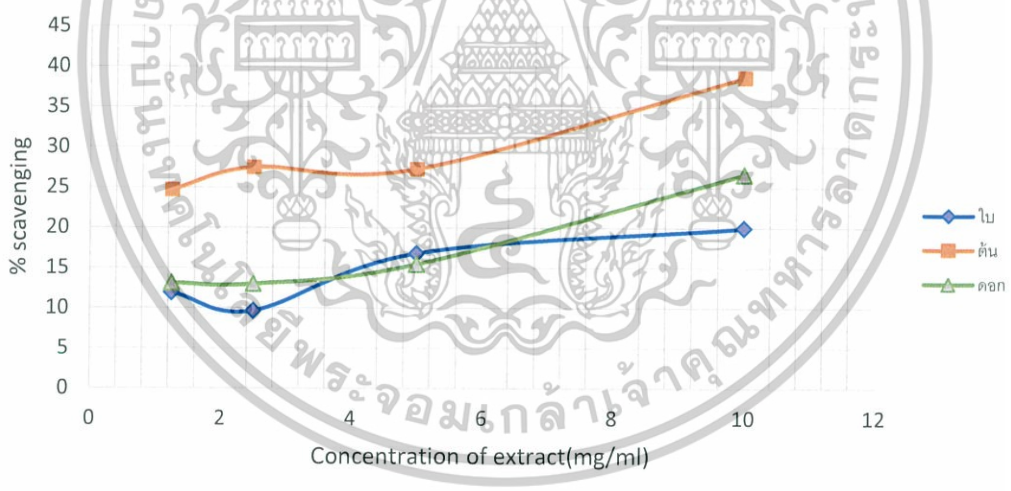
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเนื้อเยื่อดอกไม้เพื่อดึงดูดแมลงให้ผสมเกสรและปกป้องดอกไม้จากสิ่งมีชีวิตและ / หรือความเครียดจากสิ่งไม่มีชีวิต ซึ่งตรงตามผลการทดลองในการพบสารประกอบฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน และ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดในสารสกัดส่วนดอกของต้นเขยตาย รองลงมาคือ ใบและต้นตามลำดับ

4.2 การวิเคราะห์การเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย

4.2.1 การศึกษาการยับยั้งกิจกรรมการแย่งดักจับอนุมูลอิสระ DPPH

เมื่อนำสารสกัดหยาบใบ ต้น และดอก มาทดสอบกิจกรรมการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH scavenging assay) (อรชร และ กาญจนนา (2558)) เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบแต่ละส่วนในที่มืด สีของสารละลายสีม่วงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง หากสารสกัดหยาบแต่ละส่วนมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูง ความเข้มของสารละลายสีม่วงจะลดลง ซึ่งแสดงผลด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยสารสกัดหยาบแต่ละส่วนจะนำมาเจือจางลงครึ่งละ 2 เท่า (Two-fold dilution) ให้ได้ความเข้มข้น 1.25 2.5 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเทียบกับสารละลายมาตรฐาน α -tocopherol ได้ผลดังตารางที่ 4.5



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบแต่ละส่วนกับร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จากสารสกัดหยาบใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย

ความเข้มข้นของ สารสกัดหยาบ (มก./มล.)	ร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH		
	ใบ	ต้น	ดอก
1.25	11.92±3.64 ^f	24.66±2.11 ^{cd}	13.08±1.93 ^{ef}
2.5	9.62±1.96 ^f	27.43±3.32 ^c	12.96±1.78 ^{ef}
5	16.79±1.76 ^{ef}	27.25±2.68 ^c	15.44±2.16 ^{ef}
10	19.91±0.78 ^{cd}	38.63±1.95 ^b	26.57±2.81 ^{de}
α-tocopherol		90.72 ^a	
IC ₅₀	37.19	18.04	25.09

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

จากตารางที่ 4.5 แสดงร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความ 1.25 2.5 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากสารสกัดหยาบใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ 517 นาโนเมตร พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนต้นของต้นเขยตายมีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมการแย่งดักจับอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุดที่ความเข้มข้นสูงที่สุดที่ทำการทดลอง (10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) คือร้อยละ 38.63 รองลงมาคือส่วน ดอก และใบมีค่าร้อยละการยับยั้งกิจกรรมการแย่งดักจับอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 26.57 และ 19.91 ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากตารางที่ 4.5 พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนต้นมีค่า IC₅₀ น้อยที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 18.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือส่วนดอก และใบ มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 25.09 และ 37.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แสดงว่าสารสกัดหยาบส่วนต้นมีประสิทธิภาพในการดักจับอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับส่วนดอกและใบ เนื่องจากใช้สารสกัดหยาบส่วนต้นเพียง 18.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก็สามารถยับยั้ง DPPH ได้ 50 เปอร์เซนต์ ในขณะที่สารสกัดหยาบจากส่วนดอกและใบนั้น ต้องใช้ปริมาณสารสกัดที่มากกว่า และเมื่อเปรียบเทียบร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH กับค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซนต์ พบว่าผลการทดลองที่ได้มีความสัมพันธ์กัน เพราะสารสกัดหยาบจากส่วนต้นมีค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุด และใช้ความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ 50 เปอร์เซนต์ (IC₅₀) น้อยที่สุด

ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์จากผลการทดลองพบว่าปริมาณมากที่สุดในดอก ซึ่งไม่สอดคล้องกับร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่มีมากในต้น เนื่องจากการศึกษาของ Ismail และคณะ (2017) กล่าวว่าหากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงขึ้น จะส่งผลต่อประสิทธิภาพของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระให้สูงขึ้นด้วย ซึ่งผลการทดลองที่ไม่สัมพันธ์กันนี้อาจเนื่องมาจากการศึกษาของ Basma และคณะ (2011) ที่กล่าวว่าปริมาณของร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ไม่ได้ขึ้นอยู่กับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกเพียงอย่างเดียว แต่ยังขึ้นอยู่กับสารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ เช่น วิตามิน

เอกสารนี้ว่ามันที่ระเหยได้ และแคโรทีนอยด์ ก็มีผลต่อปริมาณของร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เช่นกัน
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้จากตารางที่ 4.5 พบว่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของใบ ต้น และดอก มีค่าที่ต่ำเมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน α -tocopherol ที่มีมากถึงร้อยละ 90.72 อาจเนื่องมาจากการรายงานของ N. A. Bakhari และคณะ (2010) ที่กล่าวว่าค่าการที่ร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ที่มีค่าอยู่ต่ำกว่าร้อยละ 60 ขึ้นอยู่กับความเสถียรของสารพฤกษเคมีแต่ละสาร และอุณหภูมิในระหว่างกระบวนการอบแห้งเป็นผลทำให้เกิดการย่อยสลายของสารพฤกษเคมีไปบางส่วน หรือสภาพการเจริญเติบโตทางภูมิอากาศ ระยะเวลาในการเก็บรักษา และการเพาะปลูกของพืชที่ส่งผลต่อกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ

4.3 การทดสอบการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากต้นเขยตาย

4.3.1 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดหยาบของต้นเขยตายเบื้องต้นด้วยวิธี agar well diffusion

จากการทดลองศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากส่วนต่าง ๆ ของต้นเขยตาย ได้แก่ ใบ ต้น และดอก โดยทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus* TISTR5040, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* TISTR1466, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR781, *Escherichia coli* TISTR780 และ *Yersinia enterocolitica* โดยใช้เทคนิค agar well diffusion ในการทดสอบเบื้องต้นใช้สารสกัดจากต้นเขยตายที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับในการทดสอบ จากนั้นวัดบริเวณที่สารสกัดสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ (inhibition zone) พบว่าสารสกัดจากดอกที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรนั้นสามารถยับยั้งต่อ *B. cereus* ได้เพียงชนิดเดียว (รูปที่ 4.3 ข และ ค) โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 7.97 มิลลิเมตร แต่ในส่วนของ ใบ และต้นไม่แสดงบริเวณยับยั้งที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตาราง 4.6)

ตารางที่ 4.6 บริเวณยับยั้งของสารสกัดจากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตายที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ยับยั้งต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด

สารสกัด	บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)			
	ใบ	ต้น	ดอก	ยาปฏิชีวนะเจนตาไมซิน (positive control)
<i>B. cereus</i>	6.00±0.00 ^c	6.00±0.00 ^c	7.97±0.22 ^b	21.88±0.52 ^a
<i>B. subtilis</i>	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	25.47±0.00 ^a
<i>S. aureus</i>	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	26.14±0.44 ^a
<i>P. aeruginosa</i>	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	18.98±0.50 ^a
<i>E. coli</i>	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	20.80±1.91 ^a
<i>Y. enterocolitica</i>	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	17.33±1.34 ^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

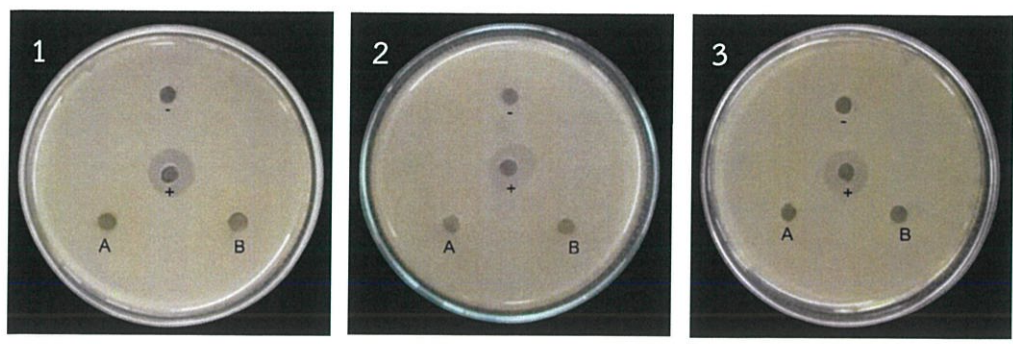
ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของขอบเขตการยับยั้ง \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยหลุมที่มีการยับยั้งจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางของขอบเขตการยับยั้งมากกว่าหรือเท่ากับ 6 มิลลิเมตร ตั้ให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.6 พบว่าบริเวณยับยั้งของใบ ตัน และดอก ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร มีเฉพาะส่วนของดอกเท่านั้นที่สามารถยับยั้งต่อ *B. cereus* ได้เพียงชนิดเดียว จึงทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบ ตัน และดอกของต้นเขยตายเป็น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตาราง 4.7) พบว่ามีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ *B. cereus* และ *B. subtilis* เท่านั้น แต่ไม่ยับยั้งต่อเชื้อจุลินทรีย์อีก 4 ชนิดคือ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* และ *Y. enterocolitica* ตารางที่ 4.7 แสดงบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากใบ ตัน และดอกของต้นเขยตายที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ด้านต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด

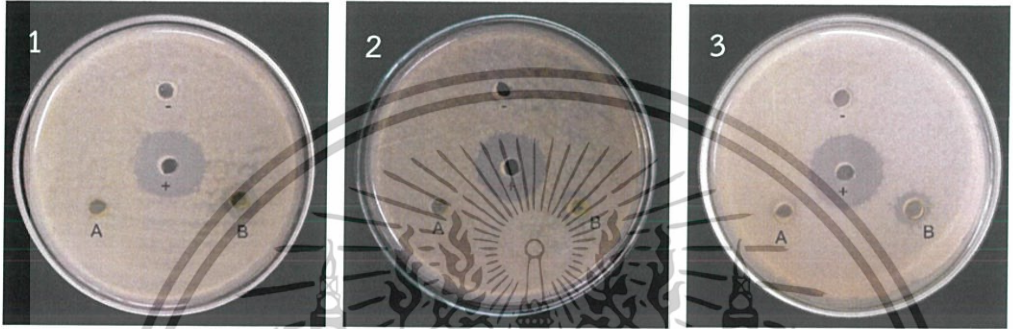
สารสกัด	บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)			
	ใบ	ตัน	ดอก	ยาปฏิชีวนะเจนตาไมซิน (positive control)
<i>B. cereus</i>	9.84±0.31 ^b	9.50±0.41 ^b	10.07±0.79 ^b	21.88±0.52 ^a
<i>B. subtilis</i>	8.55±0.16 ^c	6.00±0.00 ^d	9.97±0.24 ^b	25.47±0.11 ^a
<i>S. aureus</i>	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	26.17±0.45 ^a
<i>P. aeruginosa</i>	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	19.03±0.51 ^a
<i>E. coli</i>	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	21.30±0.80 ^a
<i>Y. enterocolitica</i>	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^b	17.33±0.13 ^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของขอบเขตการยับยั้ง ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยหลุมที่มีการยับยั้งจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางของขอบเขตการยับยั้งมากกว่าหรือเท่ากับ 6 มิลลิเมตร

จากตารางที่ 4.6 และ 4.7 ซึ่งเป็นการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากต้นเขยตายโดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ต่างกันนั้น แสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบ ตัน และดอกในการทดสอบกับเชื้อ ก็จะทำให้ขนาดของบริเวณยับยั้งเพิ่มขึ้นด้วย รายงานโดย Saravanan และคณะ (2012) โดยความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากต้นเขยตายที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งต่อ *B. cereus* และ *B. subtilis* เท่านั้น แต่จะไม่ยับยั้งต่อเชื้อจุลินทรีย์อีก 4 ชนิด สังเกตได้จากไม่พบบริเวณยับยั้งต่อเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิด คือ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* และ *Y. enterocolitica* (รูปที่ 4.3 ก. ซึ่งเป็นรูปตัวอย่างแสดงผลการทดสอบต่อเชื้อ *Y. enterocolitica*)



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 4.3 แสดงการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica* (ก) *Bacillus cereus* (ข) และ *Bacillus subtilis* (ค) ของสารสกัดหยาดจากใบ (1) ต้น (2) และดอก (3) ด้วยวิธี Agar well diffusion ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (A) และที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (B) โดยมียาปฏิชีวนะเจนตาไมซินเป็นตัวควบคุมเชิงบวก (+) และเอทานอลเป็นตัวควบคุมเชิงลบ (-)

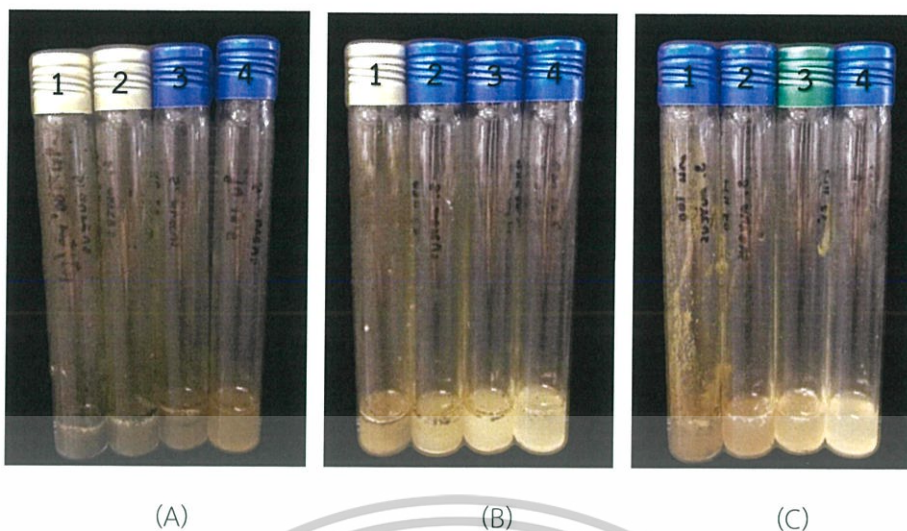
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.7 พบว่าสารสกัดจากส่วนดอกของต้นเขยตายนั้นสามารถยับยั้งการเจริญของทั้ง *B. cereus* และ *B. subtilis* ได้ดีที่สุดโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของขอบเขตการยับยั้ง (inhibition zone) เท่ากับ 10.07 และ 9.97 มิลลิเมตรตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดจากส่วนของใบของต้นเขยตายซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางของขอบเขตการยับยั้ง เท่ากับ 9.84 และ 8.55 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจากส่วนของต้นของต้นเขยตายนั้นยับยั้งต่อ *Bacillus cereus* ได้เพียงชนิดเดียว และยับยั้งได้น้อยที่สุดจากทั้งสามส่วนของต้นเขยตายโดยจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางของขอบเขตการยับยั้ง เท่ากับ 9.50 มิลลิเมตร (รูปที่ 4.3 ข และ ค) ในการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าขอบเขตการยับยั้งของสารสกัดหยาบจากต้นเขยตายทั้งใบ ต้น และดอกต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์นั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 4. ข และ ค)

4.3.2 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากต้นเขยตายที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum inhibitory concentration : MIC) โดยใช้วิธี Macro broth dilution technique

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion นั้นเป็นวิธีเบื้องต้นที่ทำให้ทราบว่าสารสกัดจากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย ที่ความเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรนั้นไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิดคือ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* และ *Y. enterocolitica* แต่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *B. cereus* และ *B. subtilis* แสดงดังตารางที่ 4.10 และ 4.11 โดยวิธี Agar well diffusion เป็นวิธีเบื้องต้นที่วัดเชิงคุณภาพเท่านั้นจึงต้องนำมาทำ MIC ซึ่งเป็นการวิเคราะห์เชิงปริมาณที่ทำให้ทราบถึงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากต้นเขยตายที่สามารถยับยั้งต่อแบคทีเรียได้ ซึ่งการทดสอบโดยใช้วิธี Macro broth dilution technique นั้นทำโดยการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเหลวในหลอดทดลองที่มีสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 12.5, 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สังเกตผลได้จากการดูจากความขุ่น ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากใบ (A) ต้น (B) และดอก (C) ของต้นเขยตาย ต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ MIC โดยวิธี Macro broth dilution technique

- 1 คือ สารสกัดหยาบจากใบ ต้น และ ดอก ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
- 2 คือ สารสกัดหยาบจากใบ ต้น และ ดอก ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
- 3 คือ สารสกัดหยาบจากใบ ต้น และ ดอก ที่ระดับความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
- 4 คือ สารสกัดหยาบจากใบ ต้น และ ดอก ที่ระดับความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากรูปที่ 4.4 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดจากใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตายที่ทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี Macro broth dilution technique โดยความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบคือ 100, 50, 25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่ผลการทดลองนี้ ไม่สามารถสังเกตความขุ่นเพื่อวัดการเจริญของเชื้อได้ เนื่องจากสารสกัดทั้งใบ ต้น และดอกจากต้น เขยตายมีสีเข้มมากซึ่งผลการวิเคราะห์ MIC ให้ผลเหมือนกันต่อเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์คือ *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* และ *Y. enterocolitica* จึงต้องทำการ ทดสอบต่อด้วยการวิเคราะห์หาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากต้นเขยตายในการทำลาย เชื้อจุลินทรีย์ (Minimum bactericidal concentration: MBC) โดยการนำแต่ละหลอดของ MIC มา simple streak ลงบน Nutrient Agar เพื่อดูการเจริญของเชื้อที่ความเข้มข้นต่างๆ

4.3.3 การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากต้นเขยตายที่สามารถ ทำลายแบคทีเรียได้ (Minimum bactericidal concentration: MBC)

เนื่องจากการทดลองหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากต้นเขยตายที่สามารถ ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) นั้น ไม่สามารถวัดผลการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้จากการดู ความขุ่น เนื่องจากสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตายมีสีเข้มมาก จึงต้องมาทำการ ทดสอบด้วยการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากต้นเขยตายที่สามารถทำลาย เชื้อจุลินทรีย์ (Minimum bactericidal concentration: MBC) โดยการนำแต่ละหลอดของ MIC มา simple streak ลงบน Nutrient Agar เพื่อดูการเจริญของเชื้อที่ความเข้มข้นต่างๆ

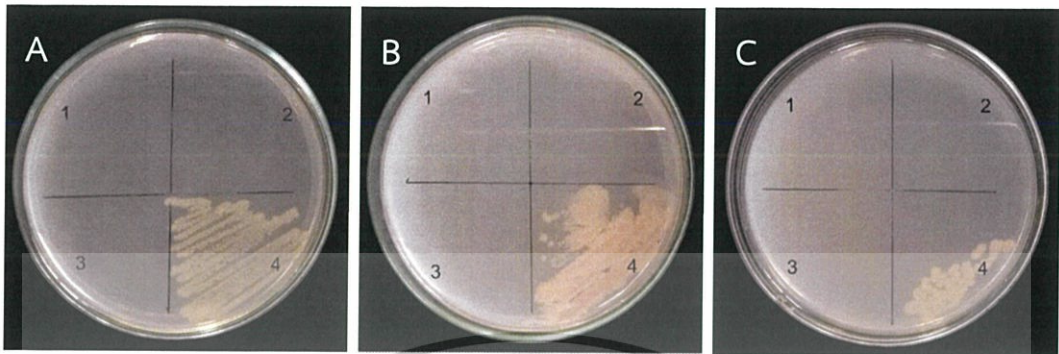
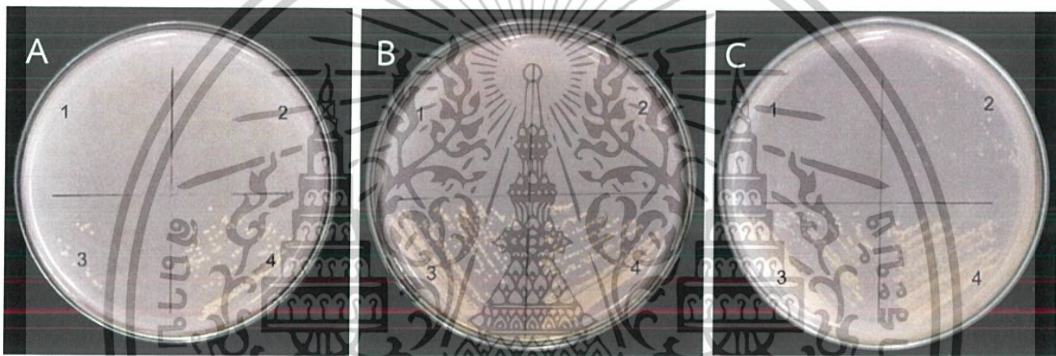
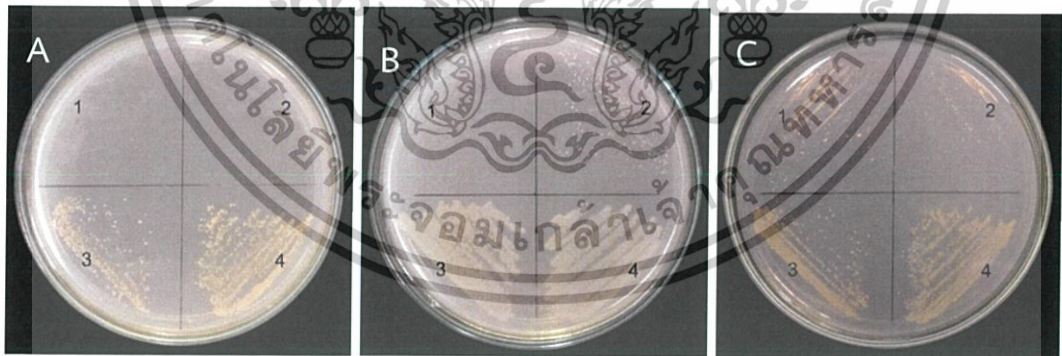
แบคทีเรียได้ โดยการทำ simple streak จากทุกหลอดทดลองในขั้นตอน MIC ลงบน Nutrients Agar เพื่อดูการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ถ้าเชื้อไม่เจริญที่ความเข้มข้นใดถือว่าเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ (ตารางที่ 4.12)

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากต้นเขยตายที่สามารถทำลายแบคทีเรียได้ (MBC)

สารสกัด	ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถทำลายจุลินทรีย์ (MBC) (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)					
	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Y. enterocolitica</i>
ใบ	25	50	50	50	50	50
ต้น	25	50	100	50	50	50
ดอก	25	100	100	50	50	50

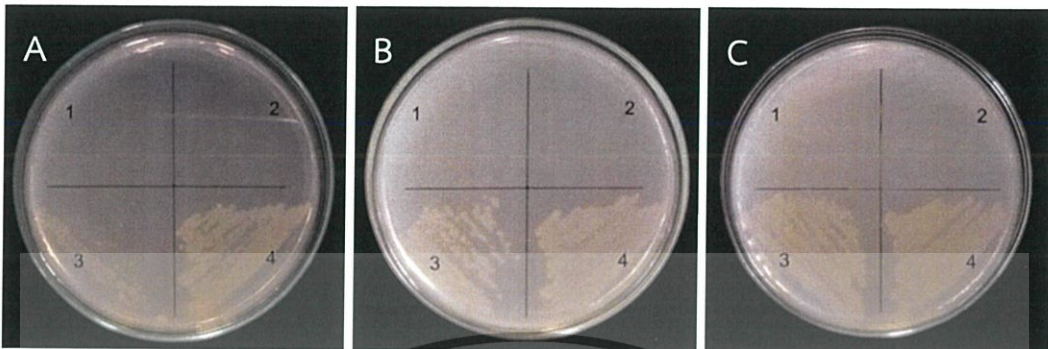
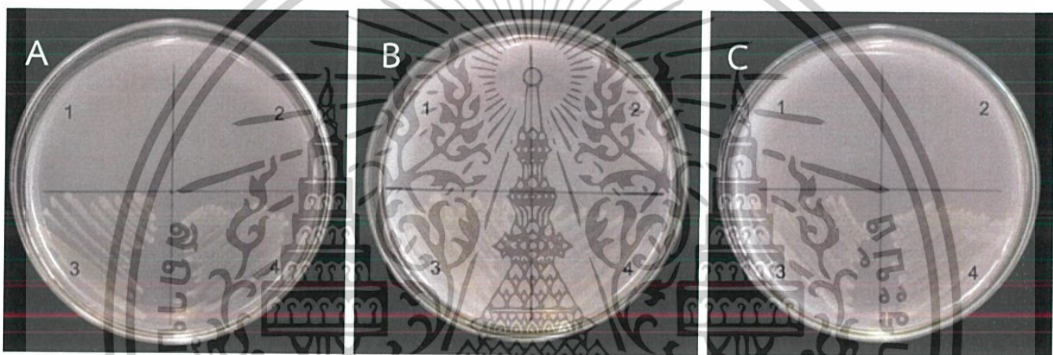
จากตารางที่ 4.8 แสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากต้นเขยตายที่สามารถทำลายแบคทีเรียได้ (MBC) พบว่าสารสกัดจากใบ ต้น และดอกมีฤทธิ์ทำลาย *B. cereus* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุด 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *Y. enterocolitica* โดยสารสกัดสามารถทำลายได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สารสกัดส่วนของใบและต้นสามารถทำลาย *B. subtilis* ได้ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ในส่วนของดอกสามารถทำลายได้ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดในส่วนของใบสามารถทำลาย *S. aureus* ได้ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ในส่วนของต้นและดอกสามารถทำลายได้ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปที่ 4.4) นอกจากนี้จากตารางที่ 4.8 ยังชี้ให้เห็นว่าการทดสอบโดยใช้วิธี MBC แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ที่ความเข้มข้นต่ำถึง 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งผลต่างกับการทดสอบด้วยวิธี agar well diffusion ที่ต้องใช้ความเข้มข้นถึง 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจึงแสดงบริเวณยับยั้งที่ชัดเจน ทั้งนี้เนื่องมาจากวิธี agar well diffusion เป็นวิธีที่ใช้ทดสอบเบื้องต้นเท่านั้น โดยสารสกัดจะแพร่จากจุดเริ่มต้นคือในหลุมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อระยะทางที่สารแพร่ออกไปเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นของสารสกัดจะลดลงทำให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้นของสาร ณ จุดต่าง ๆ กันรอบหลุมของสารสกัด ทำให้ในการแสดงผลยับยั้งเชื้อจะต้องใช้ความเข้มข้นมากเพื่อที่จะเห็นบริเวณยับยั้งชัดเจน แต่วิธี MBC เป็นวิธีเชิงปริมาณที่บอกความเข้มข้นต่ำสุดที่สารสกัดฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ โดยสารสกัดมีการสัมผัสโดยตรงกับเชื้อแบคทีเรียและความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากันทั้งหมดที่ใช้ในการทดสอบทำให้แสดงผลการยับยั้งที่ละเอียดกว่า และใช้ความเข้มข้นที่ต่ำกว่า agar well diffusion ก็สามารถฆ่าเชื้อได้ (อมรรรัตน์ และคณะ, 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

B. cereus*B. subtilis**S. aureus*

รูปที่ 4.5 แสดงการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากใบ (A) ต้น (B) และดอก (C) ของต้นเขยตายที่ความเข้มข้น 12.5 (4), 25 (3), 50 (2) และ 100 (1) มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่สามารถทำลายแบคทีเรียได้ (MBC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

P. aeruginosa*E. coli**Y. enterocolitica*

รูปที่ 4.5 (ต่อ) แสดงการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากใบ (A) ต้น (B) และดอก (C) ของต้นเขยตายที่ความเข้มข้น 12.5 (4), 25 (3), 50 (2) และ 100 (1) มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่สามารถทำลายแบคทีเรียได้ (MBC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.8 ซึ่งเป็นการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตายที่ทำลายต่อเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 6 ชนิด แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากต้นเขยตายนั้นมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิดทั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งเป็นไปตามที่ Annapurna และคณะ (2004) รายงานว่าสารสกัดหยาบจากต้นเขยตายนี้สามารถต้านทานต่อแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียที่สร้างสปอร์ ยีสต์ และราบางชนิดจากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากใบของต้นเขยตายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุด รองลงมาคือต้น และดอก ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดจากใบนั้นมีค่า MBC ต่อเชื้อ *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *Y. enterocolitica* ที่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC ต่อเชื้อ *B. cereus* ที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ถือได้ว่าความเข้มข้นเพียง 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดจากใบของต้นเขยตายสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 6 ชนิดนี้ได้ การที่สารสกัดจากใบของต้นเขยตายมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้มากที่สุดนี้เนื่องมาจากสารสกัดจากใบมีปริมาณของสารแทนนินมากที่สุดเมื่อเทียบกับต้น และดอก สารพฤษเคมีที่สำคัญที่พบ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และแอนโทไซยานิน ซึ่งเป็นไปตามรายงานของ Auwal และคณะ (2016) ที่รายงานว่ามีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยแทนนินนั้นมีสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยเฉพาะอย่างยิ่งต้านต่อเชื้อ *S. aureus* และฟลาโวนอยด์เป็นสารพฤษเคมีที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ DNA gyrase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่ทำหน้าเร่งปฏิกิริยาเชิงลบของ ATP-dependent ในการคลายเกลียวดีเอ็นเอที่ขดกันแน่นและยังเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์อีกด้วย

สารสกัดจากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตายนั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่อเชื้อ *B. cereus* ได้มากที่สุด โดยมีค่า MBC เท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในทุกส่วนของสารสกัด ซึ่งให้เห็นว่า *B. cereus* มีความไวต่อสารสกัดมากที่สุด ซึ่งเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ดังรายงานของ Pisano และคณะ (2016) ที่กล่าวว่าแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และรา มีความไวต่อสารสกัดจากต้นเขยตายน้อยที่สุด ทั้งนี้เนื่องมาจากแบคทีเรียแกรมลบมีเยื่อหุ้มเซลล์ที่เป็นฟอสโฟลิปิด ที่มีลิพิดพอลิแซ็กคาไรด์เป็นองค์ประกอบหลักช่วยให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบนี้อันต่อยาต้านจุลชีพรวมถึงสารสกัดด้วย ตามที่ Abubakar และคณะ (2009) ได้รายงานไว้ โดยผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบเป็นเหมือนเยื่อเลือกผ่าน และจำกัดสารออกฤทธิ์ในการแพร่เข้าสู่เซลล์ ในขณะที่แบคทีเรียแกรมบวกมีโครงสร้างของผนังเซลล์เป็นฟอสโฟลิปิดไบเลเยอร์ที่ช่วยให้เกิดการสัมผัสโดยตรงกับสารสกัด ทำให้สารสกัดสามารถแพร่เข้าสู่เซลล์แบคทีเรียได้ รายงานโดย Hanane Farah และคณะ (2014) นอกจากนี้ผลการทดลองยังชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตายมีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่อ *S. aureus* ได้ต่ำที่สุด โดยใบมีค่า MBC 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต้น และดอกมีค่า MBC 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ เนื่องมาจากแบคทีเรียบางชนิดมีกลไกในการเปลี่ยนสารที่ยับยั้งการเจริญเติบโตให้เป็นสารประกอบที่ไม่มีพิษ *S. aureus* ผลิตเอนไซม์ penicillinase ซึ่งเปลี่ยนยาปฏิชีวนะเพนนิซิลินให้เป็นกรดเพนนิซิลิโนนิกซึ่งทำให้ยาปฏิชีวนะนี้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้ รายงานโดย Ogbulie และคณะ (2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

ผลจากการสกัดสารส่วนใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย เพื่อศึกษาสารพฤษเคมีเบื้องต้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี Agar Well Diffusion สามารถสรุปผลได้ดังนี้

จากการนำสารสกัดหยาบจากส่วน ใบ ต้น และดอกของต้นเขยตายมาวิเคราะห์สารพฤษเคมีพบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนดอกของต้นเขยตาย มีปริมาณฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน และฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดที่ 773.00 มิลลิกรัมของแควอซีตินต่อกรัมของสารสกัด 2.97 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตรของสารสกัด และ 501.452 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากส่วนใบและต้น ตามลำดับ

จากวิเคราะห์หาสารประกอบแทนนินพบว่าสารสกัดหยาบส่วนใบจากต้นเขยตายมีปริมาณแทนนินมากที่สุดเทียบเท่ากับ 353.33 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาคือดอกและต้น ตามลำดับ

และจากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging assay จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอก มีค่า IC_{50} เท่ากับ 37.187 18.039 และ 25.094 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งจากผลที่ได้พบว่า สารสกัดทุกส่วนของต้นเขยตายมีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระได้ โดยเฉพาะสารสกัดจากส่วนต้นสามารถออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด รองลงมาคือดอก และใบ ตามลำดับ ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดหยาบส่วนใบ ต้น และดอกที่มีค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระมากที่สุดอยู่ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งไม่สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่พบมากในส่วนดอก เนื่องจากปริมาณของร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ไม่ได้ขึ้นอยู่กับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพียงอย่างเดียว แต่ยังขึ้นอยู่กับสารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ เช่น วิตามิน น้ำมันที่ระเหยได้ และแคโรทีนอยด์ ก็มีผลต่อปริมาณของร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เช่นกัน Basma และคณะ (2011) ซึ่งสารพฤษเคมีเหล่านี้มีความสำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระ และยังมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วย

จากการศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ด้วยสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย ผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดหยาบมีเพียงสารสกัดหยาบจากส่วนดอกเท่านั้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ คือ *B. cereus* ให้ค่า Inhibition zone เท่ากับ 7.97 มิลลิเมตร จึงได้ทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ได้ให้ค่า Inhibition zone เท่ากับ 9.84 9.50 และ 10.07

เอกสารนี้เป็นเอกสารทบทวนเนื้อหาสำหรับการเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามลำดับ และยังพบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนใบและดอก สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ได้ให้ค่า Inhibition zone เท่ากับ 8.55 และ 9.97 ตามลำดับ

และจากการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายแบคทีเรียได้ (Minimum bactericidal concentration: MBC) จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบจากส่วน ใบ ต้น และดอกสามารถทำลายเชื้อ *B. cereus* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากส่วน ใบ ต้น และดอกที่สามารถทำลายเชื้อ *E. coli*, *P. aeruginosa*, และ *Y. enterocolitica* ได้คือ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากส่วนใบและต้นที่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถทำลายเชื้อ *B. subtilis* ได้นอกจากนี้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากส่วนใบที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยังสามารถออกฤทธิ์ทำลายเชื้อ *S. aureus* ได้เช่นกัน

จากข้อมูลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดส่วน ใบ ต้น และดอก ของต้นเขยพบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ในการทำลาย *B. cereus* ได้ดีที่สุด และมีฤทธิ์ในการทำลาย *S. aureus* ได้น้อยที่สุดเนื่องจากแบคทีเรียบางชนิดมีกลไกในการเปลี่ยนสารที่ยับยั้งการเจริญเติบโตให้เป็นสารประกอบที่ไม่มีพิษ ซึ่ง *S. aureus* สามารถผลิตเอนไซม์ Penicillinase ซึ่งเปลี่ยนยาปฏิชีวนะเพนนิซิลินให้เป็นกรดเพนิซิลลินโอนิก ทำให้ยาปฏิชีวนะนี้ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้ (Ogbulie และคณะ, 2007)

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการสกัดสารสกัดหยาบจากพืชควรเลือกใช้ตัวทำละลายที่จำเพาะเจาะจงต่อสารนั้นๆ เพื่อให้ได้ปริมาณสารที่ต้องการในปริมาณที่มากพอ นอกจากนี้ในการนำสารสกัดจากต้นเขยตายมาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ควรศึกษาถึงอายุ และสถานที่เพาะปลูก ซึ่งต้นเขยตายที่นำมาเป็นพืชตัวอย่างในการทดลองนั้น จัดเป็นวัชพืชที่ขึ้นรกริมทางถนน และตามไร่นา ซึ่งเกษตรกรต้องการที่จะกำจัดทิ้ง แต่จากการทดลองครั้งนี้พบสารพฤษเคมีที่สำคัญจากส่วนต่างๆของต้นเขยตายและยังพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียบางชนิดได้ด้วย จึงสามารถนำมาเพิ่มมูลค่าโดยนำมาใช้ในอุตสาหกรรมยา หรืออุตสาหกรรมอื่นที่เกี่ยวข้องได้

เอกสารอ้างอิง

ชนิษฐา แพบขุนทด ปนิตา เย็นใจ และศิริพร ตะทะกระโทก. 2558. การศึกษาสารแทนนินจากส่วนต่างๆ ของทับทิม DETERMINATION OF TANNIN FROM DIFFERENT PARTS OF POMEGRANATE. สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา.

จันทร์เพ็ญ โคตรภูธร. 2559. การสกัดสารพฤกษเคมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเพกา (EXTRACTION, PHYTOCHEMICAL SCREENING, ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL OF CRUDE EXTRACT FROM OROXYLUM INDICUM). สาขาวิชาเคมี ศึกษา มหาวิทยาลัยบูรพา.

นิติพงษ์ ศิริวงศ์ และเอกชัย ชูเกียรติโรจน์. 2552. การดื้อยาปฏิชีวนะของ *Staphylococcus aureus* และแนวทางการควบคุม. สงขลานครินทร์เวชสาร ปีที่ 27 ฉบับที่ 4 ก.ค.-ส.ค. 2552

เนตรนภา เมยกลาง และเฉลิม เรืองวิริยะชัย. 2557. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำผลไม้. สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

บุหรัน พันธสุวรรณรงค์. 2556. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Free radicals, Antioxidants and Antioxidant Activity Determination. สาขาวิชาสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยพะเยา.

ประสาทพร บริสุทธิ์เพชร และคณะ. 2551. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ. วารสารประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มข. ครั้งที่ 9 ปี 2551. หน้า 91-101

พรพรรณ กุ้มานะชัย. ข้อควรรู้เกี่ยวกับการใช้ยาปฏิชีวนะ. สาขาวิชาโรคติดเชื้อและอายุรศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล.

พิณิจ กล้าคลองตัน. 2553. การแพร่กระจายเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ในสถานพยาบาล: กรณีศึกษาโรงพยาบาลนภลัย จังหวัดสมุทรสงคราม. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยศิลปากร.

รัตนยาภรณ์ ฉายศรี และภารตี ช่วยบำรุง. 2554. การกำจัดสปอร์ของ *Bacillus subtilis* ในน้ำ ด้วยวิธีเฟนตัน Disinfection of *Bacillus subtilis* spores in water using Fenton. วารสาร วิจัย มข. 16 (1): มกราคม 2554

ลือชัย บุตุคูป. 2554. สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพ. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิภาพ สุทระนะ. 2556. *ฤทธิ์ต้านมะเร็งของพลาโวนอยด์: กลไกการออกฤทธิ์*. สาขาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา.

วฤชณี ปรีชานฤชิตกุล. 2554. *สิ่งเล็กๆที่เรียกว่าอีโอไล*. น.ส.พ. กลสิกร ปีที่ 84 ฉบับที่ 4 กรกฎาคม - สิงหาคม.หน้าที่ 77-82

ศศิ วิมล .2557.*ผลของสารเสริมชีวิต Bacillus subtilis และ Bacillus licheniformis ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต การย่อยได้ของสารอาหาร จำนวนจุลชีพในไส้ตันและสัณฐานวิทยาของลำไส้เล็กในไก่เนื้อ*. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม. *เยอซีเนีย เอนเทอโรโคไลติกา (Yersinia enterocolitica)*. ศูนย์วิจัยและประเมินความเสี่ยงด้านอาหารปลอดภัย : 1-2

สุรียา ทุดปอ และจิตรา สิงห์ทอง. 2560. *สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของแก่นตะวัน ที่มีอายุการเก็บเกี่ยวต่างกัน Bioactive Compound and Antioxidant Activity of Sunchoke (Helianthus tuberosus L.) at Different Harvest Times*. วารสารวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยอุบลราชธานีปีที่ 19 ฉบับที่ 3 กันยายน - ธันวาคม 2560

สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กรมวิทยาศาสตร์บริการ. 2553. *ประมวลสารสนเทศพร้อมใช้แอนโทไซยานิน (Anthocyanin)*.

อนุเทพ ภาสุระ.2558. *การใช้ชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ Bacillus subtilis ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้น ข้าวที่ปลูกในสภาวะดินเค็มจากทะเล*. มหาวิทยาลัยบูรพา.

อรชร ไอสันเทียะ และ กาญจนา วงศ์กระจ่าง. 2558. *การศึกษาระบบตัวทำละลายของการสกัด สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบ พลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี ที่สุดจากดอกดาวเรืองสด*. วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏ นครสวรรค์ ปีที่ 7 ฉบับที่ 7 2557-2558: หน้า 29-40

อมรรัตน์ สีสุกอง. 2551. *การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากวัชพืชท้องถิ่นในจังหวัดนนทบุรี*. โปรแกรมวิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต. หน้า 25-36

Abu A. Basma., Z. Zakaria., Lacimanan Y. Latha., and S. Sasidharan. 2011. *Antioxidant activity and phytochemical screening of the methanol extracts of Euphorbia hirta L.* Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 4(5): 386-390

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- A.A Fred-Jaiyesimi and K.A. Abo. 2010. *Phytochemical and Antimicrobial analysis of the crude extract, petroleum ether and chloroform fractions of Euphorbia heterophylla Linn Whole Plant*. Pharmacognosy Journal. 2(16): 1-4
- A. Kathirvel. and V. Sujatha. 2016. *Phytochemical studies, antioxidant activities and identification of active compounds using GC-MS of Dryopteris cochleata leaves*. Arabian Journal of Chemistry. 9(2): S1435-S1442.
- A.O. Bolaji., C.B. Olojede., A.A. Famurewa and J.O. Faluyi. 2014. *Morphological and cytological studies of Euphorbia hyssopifolia L. and Euphorbia heterophylla L. from Ile-Ife, Nigeria*. Nigerian Journal of Genetics. 28(2): 15-18
- Azwanida NN. 2015. *A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation*. Med Aromat Plants. 4(3): 1-6
- B. Abew., S. Sahile., and F. Moges. 2014. *In vitro antibacterial activity of leaf extracts of Zehneria scabra and Ricinus communis against Escherichia coli and methicillin resistance Staphylococcus aureus*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 4(10): 816-820.
- B. A. Oso. and T. A. Ogunnusi. 2017. *Antibacterial Activity of Methanolic Extracts of Euphorbia heterophylla and Tithonia diversifolia against Some Microorganisms*. European Journal of Medicinal Plants. 20(3): 1-8.
- Ben Mohamed Maoulainine L., Jelassi A Hassen I., and Ould Mohamed Salem Ould Boukhari A. 2012. *Antioxidant proprieties of methanolic and ethanolic extracts of Euphorbia helioscopia, (L.) aerial parts*. International Food Research Journal. 19(3): 1125-1130.
- Daniel P. Demarquee., Daniel R. Callejona., Gibson G. de Oliveiraa., Denise B. Silva., Carlos A. Carollo., and Norberto P. Lopes. 2018. *The role of tannins as antiulcer agents: a fluorescence-imaging based study*. Revista Brasileira de Farmacognosia. 28: 425-432.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Falodun A., Okunrobo L.O. and Uzoamaka.2006. *Phytochemical screening and anti-inflammatory evaluation of methanolic and aqueous extracts of Euphorbia heterophylla Linn (Euphorbiaceae)*. African Journal of Biotechnology. 5(6): 529-xxx.
- H.O. Edeoga., D. E. Okwu., and B.O Mbaebie. 2005. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. African Journal of Biotechnology. 4(7): 685-688.
- J. Lee., Robert W. Durst., and Ronald E. Wrolstad. 2005. *Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study*. J AOAC Int. 88(5): 1269–1278.
- Jude N. Ogbullie., Chika C. Ogueke., Ifeanyi C. Okoli and Beatrice N Anyanwu. 2007. *Antibacterial activities and toxicological potentials of crude ethanolic extracts of Euphorbia hirta*. African Journal of Biotechnology. 6(13): 1544-1548.
- L. Barros., P. Baptista., and Isabel C. F. R. Ferreira. 2007. *Effect of Lactarius piperatus fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays*. Food and Chemical Toxicology. 45(9): 1731-1737.
- Nor A. Bakhari., Ainnie R. Abdillah., H. Osman and Nor H. Nordin. 2010. *The relationship between phenolic, tannin and flavonoid content with the antioxidant activity of Pereskia bleo (Kunth)*. International Conference on Science and Social Research. 494–498.
- M. Ismail., Asmaa I. Owis., M. Hetta., and R. Mohammed. 2017. *Total phenolics and flavonoids content, antioxidant activity and GC/MS analyses of Euphorbia grandialata*. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 7(6): 176–181.
- M.S. Auwal., S.U. Uvu., A. Suhuaibu., A. Ibrahim., M. Mustapha and N. Kumar. 2016. *PHYTOCHEMICAL AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF ETHANOLIC LEAVES EXTRACT OF EUPHORBIA HIRTA (EUPHORBACEAE)*. Journal of ResearchGate. 55 (1), 62-65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Omale James and Emmanuel. T. Friday. 2010. *PHYTOCHEMICAL COMPOSITION, BIOACTIVITY AND WOUND HEALING POTENTIAL OF EUPHORBIA HETEROPHYLLA (Euphorbiaceae) LEAF EXTRACT*. International Journal on Pharmaceutical and Biomedical Research. 1(1): 54-63.
- Patricio Ramos., Raul Herrera and María Alejandra Moya-León. 2014. *ANTHOCYANINS: FOOD SOURCES AND BENEFITS TO CONSUMER'S HEALTH*. ResearchGate.
- Sarepoua, E., Tangwongchai, R., Suriharn, B., Lertrat, K. 2013. *Relationships between phytochemicals and antioxidant activity in corn silk*. International Food Research Journal; Selangor. 20(5): 2073-2079.
- Sruthi DR and Indira G. 2016. *A comparative evaluation of maceration, soxhlation and ultra sound assisted extraction for the phytochemical screening of the leaves of Nephelium lappaceum. L. (Sapindaceae)*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 5(5): 386-389.
- Safaa S. Abozed., M. El-kalyoubi., A. Abdelrashid., and Manal F. Salama. 2014. *Total phenolic contents and antioxidant activities of various solvent extracts from whole wheat and bran*. Annals of Agricultural Sciences. 59(1): 63-67.
- Sukhdev S. Handa. 2008. *An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants*. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. 21-24.
- Xiuzhen Han., Tao Shen and Hongxiang Lou. 2007. *Dietary Polyphenols and Their Biological Significance*. Int. J. Mol. Sci. 8: 950-988
- [Online]. Availble: <https://medthai.com/หญ่ายายง/> (4 มีนาคม 2562)
- [Online]. Availble: <https://www.ttmed.psu.ac.th/blog> (10 มีนาคม 2562)
- [Online]. Availble: <https://sites.google.com/site/ilovesamunprit/home/prawati-khxng-smunphir> (10 มีนาคม 2562)
- [Online]. Availble: <http://haamor.com> (14 มีนาคม 2562)
- [Online]. Availble: <http://portal.edu.chula.ac.th> (14 มีนาคม 2562)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[Online]. Available: <https://www.trueplookpanya.com/knowledge/content> (14 มีนาคม 2562)

[Online]. Available: <http://medplant.mahidol.ac.th> (14 มีนาคม 2562)

[Online]. Available: <https://th.wikipedia.org/wiki/เมทานอล> (14 มีนาคม 2562)

[Online]. Available: <http://webdb.dmsc.moph.go.th> (14 มีนาคม 2562)

[Online]. Available: <https://th.wikipedia.org/wiki/คลอโรฟอร์ม> (14 มีนาคม 2562)

[Online]. Available: <https://th.wikipedia.org/wiki/อีเทอร์> (14 มีนาคม 2562)

[Online]. Available: <https://www.siamchemi.com> (14 มีนาคม 2562)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและการเตรียมสารละลาย

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 Mueller Hinton Agar (MHA)

สูตรอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) สำหรับการเตรียมปริมาณ 1 ลิตร

Beef infusion	300 กรัม
Casein hydrolysate	17.5 กรัม
Starch	1.5 กรัม
Agar	17 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ชั่ง MHA 38 กรัม ลงในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตรที่อยู่ในขวดดูแรน คนให้ละลายเข้ากัน จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทอาหารจากขวดดูแรนลงในเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วแต่ละเพลทเท่าๆกัน ในตู้ปลอดเชื้อชนิดเป่าลม ทั้งไว้อาหารแข็งตัว

1.2 Nutrient Agar (NA)

สูตรอาหาร Nutrient Agar (NA) สำหรับการเตรียมปริมาณ 1 ลิตร

Beef extract	3 กรัม
Peptone	5 กรัม
Agar	15 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ผสมส่วนผสมทุกชนิดในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตรที่อยู่ในขวดดูแรน คนให้ละลายเข้ากัน จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที pH สุดท้าย 6.8 ± 0.2 กรณีเตรียม Nutrient Broth ไม่ต้องเติม Agar เทอาหารจากขวดดูแรนลงในเพลทอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วแต่ละเพลทเท่าๆกัน ในตู้ปลอดเชื้อชนิดเป่าลม ทั้งไว้อาหารแข็งตัว

2. การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดสอบ

2.1 การเตรียมน้ำเกลือเข้มข้น ร้อยละ 0.85 สำหรับการเตรียมปริมาณ 1 ลิตร

ชั่งโซเดียมคลอไรด์ 8.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดดูแรน จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2.2 การเตรียม McFarland standard No. 0.5 สำหรับการเตรียมปริมาณ 1 ลิตร

เตรียมโดยใช้กรดซัลฟิวริก ปริมาตร 995 มิลลิลิตร ผสมกับแบเรียมคลอไรด์ 5 มิลลิลิตร ให้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ขึ้นต้นการค้า เข้ากัน บรรจุใส่หลอดฝาเกลียวปิดให้สนิท แล้วเก็บไว้ในที่มืด ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต เข้มข้นร้อยละ 7.5 สำหรับการเตรียม ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนตปริมาตร 0.75 กรัม ละลายในเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นคนจนผงโซเดียมคาร์บอเนตละลายหมด

2.4 การเตรียมสารละลาย DPPH ใน Absolute Ethanol

เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 0.0039 กรัม ละลาย ใน Absolute Ethanol ปริมาณ 100 มิลลิลิตร

การคำนวณเตรียม DPPH (DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ มีค่า MW เท่ากับ 394.33)

$$\begin{aligned} \text{สูตรการคำนวณ} \quad \frac{g}{MW} &= \frac{CV}{1000} \\ g &= \frac{0.1 \times 10^{-3} \times 100 \times 394.33}{1000} \\ &= 0.00394 \text{ กรัม} \end{aligned}$$

2.5 การเตรียมสารละลาย α -tocopherol 1 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลาย α -tocopherol ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง α -tocopherol 0.0002155 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

2.6 การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณแทนนิน

2.6.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 35

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนตปริมาตร 175 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จากนั้นคนจนผงโซเดียมคาร์บอเนตละลายหมด

2.6.2 การเจือจางสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งแทนนิน 0.001 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาณ 1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจาง 10 เท่า จนกระทั่งถึงความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.7 การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน

2.7.1 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ pH 1.0

เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ pH 1.0 โดยชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.93 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 450 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปรับความเป็นกรด-ด่างให้ได้ pH 1.0 แล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.2 การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต pH 4.5

เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต pH 4.5 โดยชั่งโซเดียมอะซิเตต 27.22 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 450 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปรับความเป็นกรด-ด่างให้ได้ pH 4.5 แล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.8 การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

2.8.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5

เตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยชั่งโซเดียมไนไตรท์ 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร จากนั้นคนจนกระทั่งโซเดียมไนไตรท์หมด

2.8.2 การเตรียมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10

เตรียมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยชั่งอะลูมิเนียมคลอไรด์ 50 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร จากนั้นคนจนกระทั่งอะลูมิเนียมคลอไรด์หมด

2.8.3 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 19.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร จากนั้นคนโซเดียมไฮดรอกไซด์จนหมด

2.8.4 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเคออสติน

การเตรียมสารละลายมาตรฐานเคออสติน ความเข้มข้น 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งแทนนิน 0.01 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาณ 1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจาง 10 เท่า จนกระทั่งถึงความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ตารางผลการทดสอบ การคำนวณ และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ข้อมูลที่ได้จากการทดลองเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัด
หยาบจากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตายที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางภาคผนวก ข ที่ 1.1 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง
การเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus*

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิลิตร)					เฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
<i>S. aureus</i>	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ต้น	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ดอก	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	27.95	25.63	25.80	25.63	25.85	26.17

ตารางภาคผนวก ข ที่ 1.2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง
การเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis*

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิลิตร)					เฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
<i>B. subtilis</i>	ใบ	8.33	9.05	8.38	8.22	8.78	8.55
	ต้น	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ดอก	9.88	10.58	9.52	9.42	10.45	9.97
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนตร้ามัยซิน 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	25.38	25.50	25.22	25.88	25.37	25.47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 1.3 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง การเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus*

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)					เฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
<i>B. cereus</i>	ใบ	8.88	10.08	10.03	9.48	10.73	9.84
	ต้น	8.28	10.80	9.67	9.18	9.58	9.50
	ดอก	7.67	10.12	10.60	12.55	9.43	10.07
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนตร้ามัยซิน 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร	23.52	22.45	20.45	21.48	21.52	21.88

ตารางภาคผนวก ข ที่ 1.4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง การเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)					เฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
<i>P. aeruginosa</i>	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ต้น	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ดอก	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน 20 ไมโครกรัมต่อ มิลลิเมตร	20.17	18.32	20.25	18.67	17.73	19.03

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 1.5 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง การเจริญของเชื้อ *Yersinia enterocolitica*

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)					เฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
<i>Y. enterocolitica</i>	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ต้น	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ดอก	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนตร้ามัยซิน 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร	17.73	17.18	17.03	17.57	17.15	17.33

ตารางภาคผนวก ข ที่ 1.6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง การเจริญของเชื้อ *Escherichia coli*

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)					เฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
<i>E. coli</i>	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ต้น	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ดอก	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนตร้ามัยซิน 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร	28.3	20.1	18.6	18.1	18.7	20.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ข้อมูลที่ได้จากการทดลองเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัด
หยาบจาก ใบ ต้นและดอกจากต้นเขยตายที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางภาคผนวก ข ที่ 2.1 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง
การเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus*

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิลิตร)					เฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
<i>S. aureus</i>	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ต้น	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ดอก	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน 20 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร	27.9	25.6	25.8	25.6	25.8	26.1

ตารางภาคผนวก ข ที่ 2.2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง
การเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis*

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิลิตร)					เฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
<i>B. subtilis</i>	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ต้น	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ดอก	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนตร้ามัยซิน 20 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร	25.38	25.50	25.22	25.88	25.37	25.47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 2.3 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง การเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus*

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)					เฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
<i>B. cereus</i>	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ต้น	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ดอก	8.57	7.25	8.02	8.18	7.82	7.97
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนตร้ามัยซิน 20 ไมโครกรัมต่อ มิลลิเมตร	23.52	22.45	20.45	21.48	21.52	21.88

ตารางภาคผนวก ข ที่ 2.4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง การเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)					เฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
<i>P. aeruginosa</i>	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ต้น	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ดอก	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนตร้ามัยซิน 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร	20.1	18.3	20.2	18.6	17.7	19.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 2.5 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง การเจริญของเชื้อ *Yersinia enterocolitica*

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)					เฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
<i>Y. enterocolitica</i>	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ต้น	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ดอก	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนตร้ามัยซิน 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร	17.73	17.18	17.03	17.57	17.15	17.33

ตารางภาคผนวก ข ที่ 2.6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้ง การเจริญของเชื้อ *Escherichia coli*

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)					เฉลี่ย
		1	2	3	4	5	
<i>E. coli</i>	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ต้น	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ดอก	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนตร้ามัยซิน 20 ไมโครกรัมต่อ มิลลิเมตร	28.35	20.12	18.65	18.15	18.75	20.80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ข้อมูลที่ได้จากการทดลองเพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบ ต้นและดอกของต้นเขยตาย

ตารางภาคผนวก ข ที่ 3.1 เชื้อ *Staphylococcus aureus*

ส่วน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	โซนการยับยั้ง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)				
		1	2	3	4	5
ใบ	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	+	+	+	+	+
	12.5	+	+	+	+	+
ต้น	100	-	-	-	-	-
	50	+	+	+	+	+
	25	+	+	+	+	+
	12.5	+	+	+	+	+
ดอก	100	-	-	-	-	-
	50	+	+	+	+	+
	25	+	+	+	+	+
	12.5	+	+	+	+	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 3.2 เชื้อ *Bacillus subtilis*

ส่วน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	โซนการยับยั้ง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)				
		1	2	3	4	5
ใบ	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	+	+	+	+	+
	12.5	+	+	+	+	+
ต้น	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	+	+	+	+	+
	12.5	+	+	+	+	+
ดอก	100	-	-	-	-	-
	50	+	+	+	+	+
	25	+	+	+	+	+
	12.5	+	+	+	+	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 3.3 เชื้อ *Bacillus cereus*

ส่วน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	โซนการยับยั้ง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)				
		1	2	3	4	5
ใบ	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-
	12.5	+	+	+	+	+
ต้น	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-
	12.5	+	+	+	+	+
ดอก	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-
	12.5	+	+	+	+	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 3.4 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

ส่วน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	โซนการยับยั้ง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)				
		1	2	3	4	5
ใบ	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	+	+	+	+	+
	12.5	+	+	+	+	+
ต้น	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	+	+	+	+	+
	12.5	+	+	+	+	+
ดอก	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	+	+	+	+	+
	12.5	+	+	+	+	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 3.5 เชื้อ *Yersinia enterocolitica*

ส่วน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	โซนการยับยั้ง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)				
		1	2	3	4	5
ใบ	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	+	+	+	+	+
	12.5	+	+	+	+	+
ต้น	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	+	+	+	+	+
	12.5	+	+	+	+	+
ดอก	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	+	+	+	+	+
	12.5	+	+	+	+	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 3.6 เชื้อ *Escherichia coli*

ส่วน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	โซนการยับยั้ง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)				
		1	2	3	4	5
ใบ	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	+	+	+	+	+
	12.5	+	+	+	+	+
ต้น	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	+	+	+	+	+
	12.5	+	+	+	+	+
ดอก	100	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-
	25	+	+	+	+	+
	12.5	+	+	+	+	+

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อศึกษาความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของการต้านอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้นต่างๆ จากสารสกัดหยาดต้นไม้ และดอก ของต้นเขยตาย

ความเข้มข้น (มก./มล.)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร		
	ต้น	ใบ	ดอก
1.25	0.066	0.810	0.085
	0.064	0.810	0.081
	0.072	0.090	0.079
	0.071	0.078	0.077
	0.071	0.072	0.075
ค่าเฉลี่ย	0.0688	0.0804	0.0794
2.5	0.061	0.089	0.081
	0.064	0.083	0.077
	0.075	0.085	0.079
	0.068	0.077	0.073
	0.063	0.079	0.088
ค่าเฉลี่ย	0.0662	0.0826	0.0796
5	0.069	0.079	0.077
	0.069	0.079	0.075
	0.059	0.076	0.081
	0.07	0.073	0.079
	0.065	0.073	0.074
ค่าเฉลี่ย	0.0664	0.076	0.0772
10	0.056	0.074	0.062
	0.059	0.07	0.071
	0.053	0.074	0.072
	0.058	0.071	0.065
	0.054	0.077	0.065
ค่าเฉลี่ย	0.056	0.0732	0.067

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 4.2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของหลุมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 (Blank)

ค่าดูดกลืนแสงของหลุมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95					
0.095	0.089	0.091	0.088	0.094	

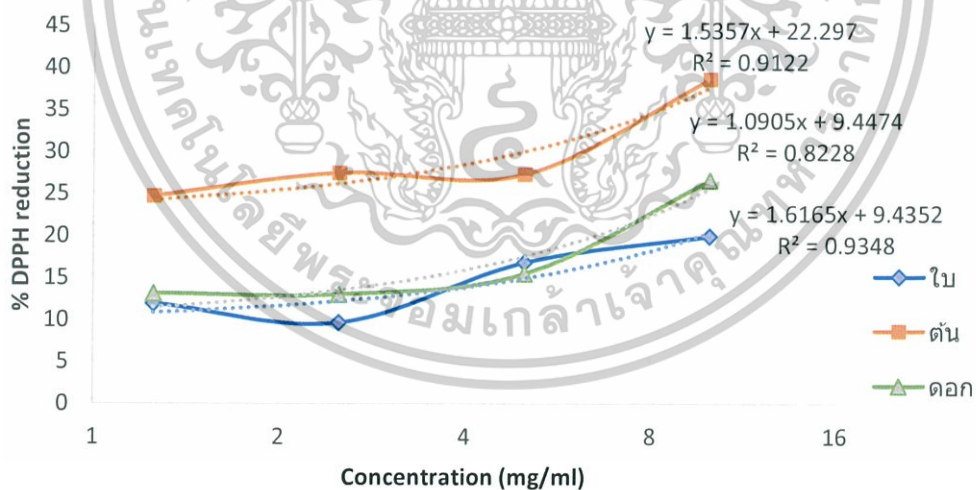
ค่าเฉลี่ย = 0.0914

ตารางภาคผนวก ข ที่ 4.3 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของ α -tocopherol

α -tocopherol	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร					ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	
	0.047	0.047	0.050	0.044	0.047	0.047

ตารางภาคผนวก ข ที่ 4.4 ค่าร้อยละการยับยั้งกิจกรรมการแย่งดักจับอนุมูลอิสระ DPPH

α -tocopherol	ค่าร้อยละการยับยั้งกิจกรรมการแย่งดักจับอนุมูลอิสระ DPPH					ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	
	91.79756	90.16736	88.58447	91.80633	90.72063	90.72063



รูปภาคผนวก ข ที่ 1 กราฟแสดงร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นเขยตาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 4.5 แสดงร้อยละการยับยั้งกิจกรรมการแย่งดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆจากสารสกัดหยาบต้น ใบ และดอก ของต้นเขยตาย

ความเข้มข้น (มก./มล.)	ร้อยละการยับยั้งกิจกรรมการแย่งดักจับอนุมูลอิสระ DPPH		
	ต้น	ใบ	ดอก
1.25	24.656	11.918	13.083
2.5	27.434	9.622	12.967
5	27.262	16.789	15.434
10	38.632	19.908	26.566
α -tocopherol	90.72063		
IC ₅₀	18.039	37.187	25.094

การคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ลดอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด (IC₅₀)

จากสมการเส้นตรง $y = 1.5357x + 22.297$

ให้ y คือ ร้อยละ 50 ของการยับยั้งกิจกรรมการแย่งดักจับอนุมูลอิสระ DPPH

ให้ x คือ ค่า IC₅₀

$$\text{แทนค่า } 50 = 1.5357x + 22.297$$

$$50 - 22.297$$

$$x = \frac{50 - 22.297}{1.5357}$$

$$x = 18.039$$

ดังนั้นค่าความเข้มข้นของสารสกัดส่วนต้นที่ลดอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด (IC₅₀) เท่ากับ 18.039

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ข้อมูลการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย

ตารางภาคผนวก ข ที่ 5.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากใบ ต้น ดอก ของต้นเขยตายที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ส่วนต่างๆของ ต้นเขยตาย	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร					
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	ค่าเฉลี่ย
ใบ	0.143	0.168	0.148	0.167	0.152	0.1556
ต้น	0.132	0.169	0.162	0.162	0.133	0.1516
ดอก	0.184	0.188	0.189	0.204	0.246	0.2022
Blank	0.066	0.052	0.241	0.057	0.045	0.0922

ตารางภาคผนวก ข ที่ 5.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรของกรดแกลลิก

ความเข้มข้น (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร					
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	ค่าเฉลี่ย
0.0001	0.129	0.099	0.081	0.084	0.086	0.0958
0.001	0.077	0.096	0.072	0.071	0.094	0.082
0.01	0.083	0.085	0.111	0.087	0.111	0.0954
0.1	0.214	0.221	0.244	0.202	0.194	0.215
1	3.5	3.5	3.283	3.5	3.5	3.4566



รูปภาคผนวก ค ที่ 2 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

$$\text{จากสมการเส้นตรง } y = 3.4101x + 0.0312$$

เมื่อ y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

x คือ ปริมาณของกรดแกลลิก (มิลลิกรัม)

สารสกัดหยาบใบมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร เท่ากับ 0.143

$$\text{ดังนั้น } 0.143 = 3.4101x + 0.0312$$

$$x = \frac{0.143 - 0.0312}{3.4101}$$

$$x = 0.0328 \text{ มิลลิกรัมของกรดแกลลิก}$$

เพราะฉะนั้น สารสกัด 0.1 มิลลิกรัม มีกรดแกลลิก 0.0328 มิลลิกรัม

$$\text{สารสกัด 1000 มิลลิกรัม มีกรดแกลลิก } \frac{0.0328 \times 1000}{0.1} = 328 \text{ มิลลิกรัม}$$

ดังนั้นมีปริมาณกรดแกลลิก 328 มิลลิกรัม ในสารสกัดหยาบใบ 1 มิลลิกรัม (mg GAE/g extract)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 5.3 แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตาย

ส่วนต่างๆของ ต้นเขยตาย	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g extract)					
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	ค่าเฉลี่ย
ใบ	327.85	401.161	342.512	398.229	354.242	364.799
ต้น	295.593	404.094	383.566	383.566	298.525	353.069
ดอก	448.081	459.811	462.743	506.73	629.894	501.452

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

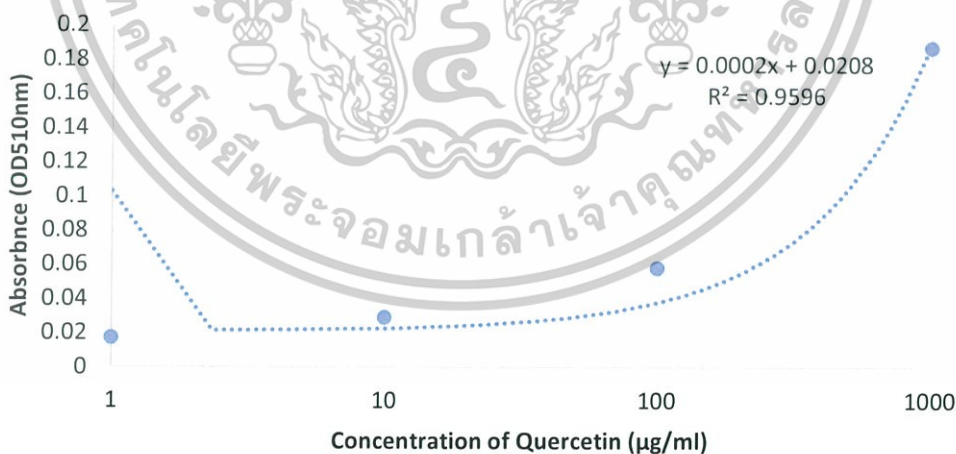
6. ข้อมูลผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากต้นเขยตาย

ตารางภาคผนวก ข ที่ 6.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร จากสารสกัดหยาบใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตายที่ความเข้มข้นละ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ส่วนต่างๆของต้นเขยตาย	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร					
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	ค่าเฉลี่ย
ใบ	0.115	0.105	0.108	0.105	0.095	0.1056
ต้น	0.034	0.027	0.021	0.025	0.024	0.0262
ดอก	0.186	0.175	0.203	0.156	0.157	0.1754

ตารางภาคผนวก ข ที่ 6.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของเคอควิซีนโดยเจือจางสิบเท่า (Ten-fold dilution)

ความเข้มข้น (ug/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร	
	ค่าเฉลี่ย	
10000	1.280	
1000	0.187	
100	0.058	
10	0.029	
1	0.017	



รูปภาคผนวก ข ที่ 3 กราฟมาตรฐานเคอควิซีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์

จากสมการเส้นตรง $y = 0.0002x + 0.0208$

เมื่อ y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

X คือ ปริมาณของเคอเวอซีติน (ไมโครกรัม)

สารสกัดหยาบต้นมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เท่ากับ 0.115

$$\text{ดังนั้น } 0.115 = 0.0002x + 0.0208$$

$$x = \frac{0.115 - 0.0208}{0.0002}$$

$$x = 471 \text{ ไมโครกรัมของเคอเวอซีติน หรือ } 0.471 \text{ มิลลิกรัม}$$

เพราะฉะนั้น สารสกัด 1 มิลลิกรัม มีเคอเวอซีติน 0.471 มิลลิกรัม

$$\text{มิลลิกรัม สารสกัด 1000 มิลลิกรัม มีเคอเวอซีติน } \frac{0.471 \times 1000}{1} = 471$$

ดังนั้นปริมาณกรดแกลลิก 471 มิลลิกรัม ในสารสกัดหยาบต้น 1 กรัม (mg QE/g extract)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 6.3 แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอก ของต้น
เขยตาย

ส่วนต่างๆของต้น เขยตาย	ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg QE/g extract)					ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	
ใบ	471	421	436	421	371	424
ต้น	66	31	1	21	16	27
ดอก	826	771	911	676	681	773

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

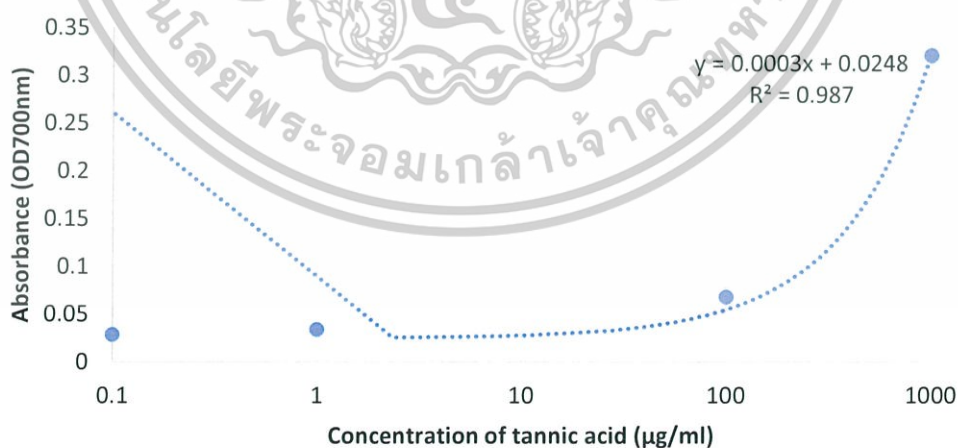
7. ข้อมูลผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากต้นเขยตาย

ตารางภาคผนวก ข ที่ 7.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากใบ ต้นและดอกของต้นที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร					
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	ซ้ำ5	เฉลี่ย
ใบ	0.132	0.131	0.13	0.13	0.131	0.1308
ต้น	0.03	0.027	0.028	0.027	0.026	0.0272
ดอก	0.036	0.03	0.035	0.034	0.03	0.033

ตารางภาคผนวก ข ที่ 7.2 แสดงค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรของกรดแทนนิก

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร					
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	ซ้ำ5	เฉลี่ย
1000	0.327	0.32	0.317	0.328	0.311	0.3206
100	0.065	0.065	0.068	0.071	0.071	0.068
10	0.049	0.049	0.043	0.047	0.045	0.0466
1	0.036	0.036	0.031	0.034	0.033	0.034
0.1	0.025	0.026	0.034	0.03	0.028	0.0286



รูปภาคผนวก ข ที่ 4 กราฟมาตรฐานของกรดแทนนิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณการวิเคราะห์ปริมาณแทนนิน

$$\text{จากสมการเส้นตรง } y = 0.0003x + 0.0248$$

เมื่อ y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

X คือ ปริมาณของกรดแทนนิน (ไมโครกรัม)

สารสกัดหยาบใบมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร เท่ากับ 0.132

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น } 0.132 &= 0.0003x + 0.0248 \\ x &= \frac{0.132 - 0.0248}{0.0003} \\ x &= 357.33 \text{ ไมโครกรัมของกรดแทนนิน หรือ } 0.35733 \end{aligned}$$

มิลลิกรัม

เพราะฉะนั้น สารสกัด 1 มิลลิกรัม มีกรดแทนนิน 0.352 มิลลิกรัม
 สารสกัด 1000 มิลลิกรัม มีกรดแทนนิน $\frac{0.35733 \times 1000}{1}$ มิลลิกรัม

ดังนั้นมีปริมาณกรดแทนนิน 357.33 มิลลิกรัม ในสารสกัดหยาบใบ 1 กรัม (mg TAE/g extract)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 7.3 แสดงปริมาณแทนนินในสารสกัดหยาบจากใบ ต้น และดอก ของต้น
 เขยตาย

สารสกัดหยาบ	ปริมาณของแทนนิน (mg TAE/g extract)					
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	ซ้ำ5	เฉลี่ย
ใบ	357.33	354.00	350.67	350.67	354.00	353.33
ต้น	17.33	7.33	10.67	7.33	4.00	8.00
ดอก	37.33	17.33	34.00	30.67	17.33	27.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ข้อมูลผลการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากต้น เขยตาย

ตารางภาคผนวก ข ที่ 8.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรของสารสกัด
หยาบจากใบ ต้น และดอกที่ pH 1 และ pH 4.5

สารสกัดหยาบ	pH	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร					
		ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	เฉลี่ย
ใบ	1	0.059	0.045	0.043	0.038	0.059	0.0488
	4.5	0.043	0.038	0.033	0.032	0.045	0.0382
ต้น	1	0.044	0.044	0.045	0.044	0.046	0.0446
	4.5	0.036	0.05	0.039	0.035	0.042	0.0404
ดอก	1	0.072	0.095	0.054	0.052	0.051	0.0648
	4.5	0.04	0.048	0.043	0.053	0.054	0.0476

ตารางภาคผนวก ข ที่ 8.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรของสารสกัด
หยาบจากใบ ต้น และดอกที่ pH 1 และ pH 4.5

สารสกัดหยาบ	pH	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร					
		ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	เฉลี่ย
ใบ	1	0.035	0.033	0.031	0.033	0.039	0.0342
	4.5	0.047	0.032	0.026	0.034	0.035	0.0348
ต้น	1	0.029	0.032	0.024	0.037	0.034	0.0312
	4.5	0.03	0.045	0.03	0.031	0.037	0.0346
ดอก	1	0.045	0.042	0.041	0.04	0.04	0.0416
	4.5	0.041	0.04	0.035	0.049	0.046	0.0422

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดหยาดจากต้นเขยตาย

$$\text{ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด(มิลลิกรัม/ลิตร)} = (A \times MW \times DF \times 1,000) / (\square \times 1)$$

$$\begin{aligned} \text{Absorbance(ใบ)} &= (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4.5} \\ &= (0.048 - 0.0342) - (0.0382 - 0.0348) \\ &= 0.0104 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Absorbance(ต้น)} &= (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4.5} \\ &= (0.0394 - 0.0312) - (0.0404 - 0.0346) \\ &= 0.0024 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Absorbance(ดอก)} &= (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4.5} \\ &= (0.0628 - 0.0476) - (0.0496 - 0.0422) \\ &= 0.0078 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณแอนโทไซยานินของใบ(มิลลิกรัม/ลิตร)} &= (0.0104 \times 449.2 \times 10 \times 1,000) / (26900 \times 1) \\ &= 46,716.80 / 26900 \\ &= 1.7367 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณแอนโทไซยานินของต้น(มิลลิกรัม/ลิตร)} &= (0.0024 \times 449.2 \times 10 \times 1,000) / (26900 \times 1) \\ &= 10780.80 / 26900 \\ &= 0.40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณแอนโทไซยานินของดอก(มิลลิกรัม/ลิตร)} &= (0.0078 \times 449.2 \times 10 \times 1,000) / (26900 \times 1) \\ &= 35,037.60 / 26900 \\ &= 1.3025 \end{aligned}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการคำนวณค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 24.0 แบบ One-Way ANOVA ตามวิธีของ Duncan

1. การวิเคราะห์ทางสถิติของการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอกของต้นเขยตายที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Tests of Normality

Plants	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zone leaf	.208	5	.200*	.975	5	.907
stem	.227	5	.200*	.970	5	.873
flower	.183	5	.200*	.986	5	.965
positive	.224	5	.200*	.967	5	.857

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Descriptives

Zone	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
leaf	5	9.8400	.69588	.31121	8.9759	10.7041	8.88	10.73
stem	5	9.5020	.91051	.40719	8.3715	10.6325	8.28	10.80
flower	5	10.0740	1.77506	.79383	7.8700	12.2780	7.67	12.55
positive	5	21.8840	1.15639	.51715	20.4482	23.3198	20.45	23.52
Total	20	12.8250	5.48268	1.22596	10.2590	15.3910	7.67	23.52

ANOVA

Zone	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	547.930	3	182.643	125.932	.000
Within Groups	23.205	16	1.450		
Total	571.136	19			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าความสม่ำเสมอของข้อมูล (Homogeneous Subsets)

CZ

Plants	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a stem	5	9.5020	
leaf	5	9.8400	
flower	5	10.0740	
positive	5		21.8840
Sig.		.488	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์ทางสถิติของการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอกของต้นเขยตายที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Tests of Normality^b

Plants	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zone leaf	.289	5	.200*	.891	5	.364
flower	.218	5	.200*	.888	5	.348
positive	.252	5	.200*	.885	5	.333

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

b. Zone is constant when Plants = stem. It has been omitted.

แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Descriptives

plants	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
leaf	5	8.5520	.34967	.15638	8.1178	8.9862	8.22	9.05
stem	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
flower	5	9.9700	.52811	.23618	9.3143	10.6257	9.42	10.58
positive	5	25.4700	.24980	.11171	25.1598	25.7802	25.22	25.88
Total	20	12.4980	7.82757	1.75030	8.8346	16.1614	6.00	25.88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

Zone

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1162.292	3	387.431	3343.019	.000
Within Groups	1.854	16	.116		
Total	1164.147	19			

ตารางแสดงค่าความสม่ำเสมอของข้อมูล (Homogeneous Subsets)

		Zone			
		Subset for alpha = 0.05			
Plants	N	1	2	3	4
Duncan ^a stem	5	6.0000			
leaf	5		8.5520		
flower	5			9.9700	
positive	5				25.4700
Sig.		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 อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ทางสถิติของการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ต้น และดอกของต้นเขยตายที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Tests of Normality^{b,c}

plants	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
zone Flower	.181	5	.200*	.981	5	.941
positive	.224	5	.200*	.967	5	.857

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

b. zone is constant when plants = Leaf. It has been omitted.

c. zone is constant when plants = Stem. It has been omitted.

แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Descriptives

zone

zone	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Leaf	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Stem	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Flower	5	7.9680	.48669	.21766	7.3637	8.5723	7.25	8.57
positive	5	21.8840	1.15639	.51715	20.4482	23.3198	20.45	23.52
Total	20	10.4630	6.83952	1.52936	7.2620	13.6640	6.00	23.52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

zone

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	882.505	3	294.168	747.521	.000
Within Groups	6.296	16	.394		
Total	888.801	19			

ตารางแสดงค่าความสม่ำเสมอของข้อมูล (Homogeneous Subsets)

CZ

plants	N	Subset for alpha = 0.05 ^a		
		1	2	3
Duncan ^a Leaf	5	6.0000		
Stem	5	6.0000		
Flower	5		7.9680	
positive	5			21.8840
Sig.		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 อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบส่วน ใบ ต้น และดอก ของต้นเขยตายด้วยสาร DPPH โดยวิธี DPPH Radical scavenging

Tests of Normality

Plants	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Dpph Leaf10	.233	5	.200*	.910	5	.466
Leaf5	.274	5	.200*	.914	5	.494
Leaf2.5	.344	5	.053	.799	5	.079
Leaf1.25	.165	5	.200*	.989	5	.975
Stem10	.311	5	.129	.787	5	.063
Stem5	.187	5	.200*	.963	5	.826
Stem2.5	.173	5	.200*	.965	5	.841
Stem1.25	.188	5	.200*	.948	5	.726
Flower10	.217	5	.200*	.920	5	.532
Flower5	.221	5	.200*	.919	5	.521
Flower2.5	.322	5	.098	.878	5	.298
Flower1.25	.290	5	.196	.881	5	.316

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Descriptives

Dpph

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Leaf10	5	19.9091	1.73682	.77673	17.7525	22.0656	18.09	22.11
Leaf5	5	16.7904	3.92974	1.75743	11.9110	21.6698	11.24	22.34
Leaf2.5	5	9.6212	4.38415	1.96065	4.1775	15.0648	6.32	15.96
Leaf1.25	5	11.9174	8.15009	3.64483	1.7977	22.0370	1.10	23.40
Stem10	5	38.6325	4.35461	1.94744	33.2256	44.0395	33.71	42.55
Stem5	5	27.2597	6.01311	2.68915	19.7934	34.7259	20.45	35.16
Stem2.5	5	27.4339	7.42010	3.31837	18.2206	36.6472	17.58	35.79
Stem1.25	5	24.6573	4.71748	2.10972	18.7997	30.5148	19.32	30.53
Flower10	5	26.5654	6.28290	2.80980	18.7641	34.3666	20.22	34.74
Flower5	5	15.4355	4.83316	2.16146	9.4343	21.4366	10.23	21.28
Flower2.5	5	12.9674	3.98449	1.78192	8.0200	17.9148	6.38	17.05
Flower1.25	5	13.0833	4.31378	1.92918	7.7270	18.4395	8.99	20.21
Total	60	20.3561	9.59779	1.23907	17.8767	22.8354	1.10	42.55

ANOVA

Dpph

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4099.513	11	372.683	13.396	.000
Within Groups	1335.423	48	27.821		
Total	5434.936	59			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าความสม่ำเสมอของข้อมูล (Homogeneous Subsets)

Dpph

Plants	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Duncan ^a Leaf2.5	5	9.6212				
Leaf1.25	5	11.9174				
Flower2.5	5	12.9674	12.9674			
Flower1.25	5	13.0833	13.0833			
Flower5	5	15.4355	15.4355			
Leaf5	5	16.7904	16.7904			
Leaf10	5		19.9091	19.9091		
Stem1.25	5			24.6573	24.6573	
Flower10	5			26.5654	26.5654	
Stem5	5				27.2597	
Stem2.5	5				27.4339	
Stem10	5					38.6325
Sig.		.064	.068	.064	.456	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบส่วนใบ ต้น และ ดอกของต้นเขยตาย

Tests of Normality

Plants	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Flavonoid Leaf	.267	5	.200*	.948	5	.725
Stem	.235	5	.200*	.925	5	.563
Flower	.222	5	.200*	.920	5	.530

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Descriptives

Plants	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Leaf	5	424.0000	35.98611	16.09348	379.3173	468.6827	371.00	471.00
Stem	5	27.0000	24.34132	10.88577	-3.2237	57.2237	1.00	66.00
Flower	5	773.0000	99.66193	44.57017	649.2534	896.7466	676.00	911.00
Total	15	408.0000	320.76805	82.82195	230.3646	585.6354	1.00	911.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

Flavonoid

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1393210.000	2	696605.000	176.803	.000
Within Groups	47280.000	12	3940.000		
Total	1440490.000	14			

ตารางแสดงค่าความสม่ำเสมอของข้อมูล (Homogeneous Subsets)

Flavonoid

Plants	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^a Stem	5	27.0000		
Leaf	5		424.0000	
Flower	5			773.0000
Sig.		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 อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดทั้งหมดของสารสกัด
หยาบส่วนใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย

Tests of Normality

Plants	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Phenolic Leaf	.243	5	.200*	.876	5	.291
Stem	.322	5	.099	.799	5	.079
Flower	.297	5	.173	.773	5	.048

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Descriptives

Phenolic

Plants	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimu m	Maximu m
					Lower	Upper		
					Bound	Bound		
Leaf	5	364.7982	33.21651	14.85488	323.5544	406.0420	327.85	401.16
Stem	5	353.0700	51.82206	23.17553	288.7244	417.4156	295.59	404.09
Flower	5	501.4500	75.17550	33.61951	408.1073	594.7927	448.08	629.89
Total	1 5	406.4394	86.93485	22.44648	358.2965	454.5823	295.59	629.89

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

Phenolic

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	68046.483	2	34023.241	10.812	.002
Within Groups	37760.872	12	3146.739		
Total	105807.355	14			

ตารางแสดงค่าความสม่ำเสมอของข้อมูล (Homogeneous Subsets)

		Phenolic		Subset for alpha = 0.05	
	Plants	N	1	2	
Duncan ^a	Stem	5	353.0700		
	Leaf	5	364.7982		
	Flower	5		501.4500	
	Sig.		.747	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบส่วนใบ
ต้น และดอกของต้นเขยตาย

Tests of Normality

Plants	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
tannin Leaf	.231	5	.200*	.881	5	.314
Stem	.254	5	.200*	.914	5	.493
Flower	.256	5	.200*	.843	5	.174

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Descriptives

tannin

Plants	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Leaf	5	353.3340	2.78608	1.24597	349.8746	356.7934	350.67	357.33
Stem	5	9.3320	5.05481	2.26058	3.0556	15.6084	4.00	17.33
Flower	5	27.3320	9.42927	4.21690	15.6240	39.0400	17.33	37.33
Total	15	129.9993	163.74778	42.27950	39.3188	220.6798	4.00	357.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

tannin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	374897.800	2	187448.900	4600.934	.000
Within Groups	488.898	12	40.741		
Total	375386.698	14			

ตารางแสดงค่าความสม่ำเสมอของข้อมูล (Homogeneous Subsets)

tannin

Plants	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^a Stem	5	9.3320		
Flower	5		27.3320	
Leaf	5			353.3340
Sig.		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 อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดหยาบ ส่วนใบ ต้น และดอกของต้นเขยตาย

แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Descriptives

Anthocyanin

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Leaf	5	1.8703	1.59909	.71513	-.1153	3.8558	.83	4.68
Stem	5	1.2691	.54878	.24542	.5877	1.9505	.50	2.00
Flower	5	2.9724	3.03672	1.35806	-.7982	6.7430	.50	7.51
Total	15	2.0373	1.99610	.51539	.9319	3.1427	.50	7.51

ANOVA

Anthocyanin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.462	2	3.731	.927	.422
Within Groups	48.320	12	4.027		
Total	55.782	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางแสดงค่าความสม่ำเสมอของข้อมูล (Homogeneous Subsets)

Anthocyanin

		Subset for alpha = 0.05	
Plants	N	1	
Duncan ^a	Stem	5	1.2691
	Leaf	5	1.8703
	Flower	5	2.9724
	Sig.		.226

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้