การเปรียบเทียบกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ พฤกษเคมี และการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากต้นมะยม

COMPARATIVE ANTIOXIDANT, PHYTOCHEMICAL AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF *PHYLLANTHUS ACIDUS* (L.) SKEELS CRUDE EXTRACTS

พัชริดา คงคาใส
ภริตาพร ภูมิมาโนช
ยลดา สิงห์เงา

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COMPARATIVE ANTIOXIDANT, PHYTOCHEMICAL AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF *PHYLLANTHUS ACIDUS* (L.) SKEELS CRUDE EXTRACTS

PHATCHARIDA KHONGKHASAI

PHARITAPORN PHOOMMANOTH

YOLLADA SINGNGAO

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การเปรียบเทียบกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ พฤกษเคมี และการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากต้นมะยม COMPARATIVE ANTIOXIDANT, PHYTOCHEMICAL AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF *PHYLLANTHUS ACIDUS* (L.) SKEELS CRUDE EXTRACTS
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพัชริดา คงคาใส รหัส 58050939 นางสาวภริตาพร ภูมิมาโนช รหัส 58050948 นางสาวยลดา สิงห์เงา รหัส 58050956
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา2561

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

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การเปรียบเทียบกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ พฤกษเคมี และการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากต้นมะยม COMPARATIVE ANTIOXIDANT, PHYTOCHEMICAL AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF *PHYLLANTHUS ACIDUS* (L.) SKEELS CRUDE EXTRACTS
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพัชริดา คงคาใส นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 58050939 นางสาวภริตาพร ภูมิมาโนช นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 58050948 นางสาวยลดา สิงห์เงา นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 58050956
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

บทคัดย่อ

ในการวิจัยครั้งนี้ ได้นำสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยมจาก 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดสุพรรณบุรี จังหวัดระยอง จังหวัดตราด มาทำการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging assay พบว่าสารสกัดจากส่วนกิ่งของจังหวัดตราดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยมีค่า IC_{90} เท่ากับ 11.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำมาศึกษาหาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ สารประกอบแทนนิน และปริมาณของแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบทั้งใบ และกิ่งจากทั้ง 3 จังหวัดพบว่า สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราดมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และแทนนินสูงที่สุดเท่ากับ 0.2088 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และ 103.00 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด ส่วนสารสกัดใบจากจังหวัดระยองมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุดเท่ากับ 529.00 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด และสารสกัดใบจากจังหวัดตราดมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุด เท่ากับ 0.00192 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตรของสารสกัด ส่วนการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยมจาก 3 จังหวัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กับเชื้อจุลินทรีย์ 6 ชนิด ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* TISTR 678, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* ATCC 25299 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Staphylococcus epidermidis ATCC 1228 ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* และ *B. cereus* ได้ เมื่อศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าสารสกัดจากกิ่งมะยมจังหวัดตราดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับส่วนอื่น ๆ ที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และการศึกษาการทำลายเชื้อด้วยวิธี Broth dilution พบว่าในเชื้อ *B. cereus* สารสกัดจากกิ่งมะยมทั้ง 3 จังหวัดมีค่า MBC ต่ำที่สุดเท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

คำสำคัญ : มะยม, กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ, สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด, พฤกษเคมี, การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	COMPARATIVE ANTIOXIDANT, PHYTOCHEMICAL AND ACTIVITIES OF *PHYLLANTHUS ACIDUS* (L.) SKEELS CRUDE EXTRACTS
Students	MISS PHATCHARIDA KHONGKHASAI MISS PHARITAPORN PHOOMMANOTH MISS YOLLADA SINGNGAO
Degree	Bachelor of Science
Major	Industrial Microbiology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2018
Advisor	Asst.Prof.Dr.Sutijit Sriwatcharakul

Abstract

In this study, analyzed antioxidant by DPPH scavenging assay method of leaf and branch extracts of *Phyllanthus acidus* from three provinces are Trat, Rayong and Suphanburi. Branch extract from gave the best antioxidant activity with IC_{90} values at 11.75 mg/ml. The determination of Phytochemicals of *P. acidus* showed that branch extract from Trat had the highest total phenolic compounds and Tannin compound of 0.2088 mgGAE/g extract and 103.00 mgTAE/g extract, respectively. Leaf extract from Rayong had the highest flavonoid compounds of 529.00 mgQE/g extract and leaf extract from Trat had the highest Total anthocyanin content of 0.00192 mg of cyanidin-3-glucoside/l extract. Analyze of growth inhibition of microorganisms with initial concentration of crude extracts 100 mg/ml using the 6 bacteria species; *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* TISTR 678, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* ATCC 25299 and *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228. The agar well diffusion results found the extracts inhibited *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* and *B. cereus*. The study of minimum inhibition concentration showed that the Trat branch extract of *P. acidus* had the lowest concentration at 3.125 mg/ml inhibited the growth of microorganisms, compared with

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

other parts extract. And determined the lowest concentration of extracts by Broth dilution method found that three branch extract had the lowest concentration that killed *B. cereus* at 6.25 mg/ml.

Keyword : *Phyllanthus acidus*, antioxidant activity, total phenolic compounds, phytochemical, antimicrobial

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงงานพิเศษในหัวข้อเรื่องการเปรียบเทียบกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ พฤกษเคมี และการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากต้นมะยม ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) และได้สำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่ได้ให้คำแนะนำ และชี้แนะในการทำโครงงานพิเศษ ตลอดจนแก้ไขปัญหา และตรวจทานรายงานเล่มนี้ให้มีความเรียบร้อย และสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดวงใจ โอชัยกุล ประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ลินจง สุขลำภู กรรมการสอบโครงงานพิเศษ รวมถึงคณาจารย์ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำ และความรู้ต่าง ๆ ที่สามารถนำมาประกอบการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือ และอุปกรณ์ต่าง ๆ ในการทำโครงงานพิเศษให้สำเร็จไปได้ด้วยดี ขอบคุณเพื่อนๆทุกคนที่มีส่วนรวม และสนับสนุนในการทำโครงงานพิเศษนี้ ให้สามารถดำเนินไปได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ และมีคุณค่ากับผู้ที่สนใจ หากมีสิ่งใดบกพร่องหรือผิดพลาดประการใด คณะผู้วิจัยต้องขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

พัชริดา คงคาใส
ภริตาพร ภูมิมาโนช
ยลดา สิงห์เงา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค
กิตติกรรมประกาศ ..... จ
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ญ
สารบัญรูป ..... ฎ
บทที่ 1 ..... **1**
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ..... **3**
2.1 มะยม 3
2.1.1 ลักษณะทางพรรณพฤกษศาสตร์ 4
2.1.2 สรรพคุณของมะยม 4
2.1.3 สารเคมีที่พบในมะยม 5
2.2 การสกัดแยกสารจากพืชสมุนไพร 5
2.3 สารอนุมูลอิสระ 6
2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ 7
2.4.1 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ 7
2.4.2 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ 7
2.4.2.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอ (diphenylpicryhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay) 7
2.4.2.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (ferric ionreducing antioxidant power (FRAP) assay) 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง 9
2.5.1 เชื้อ Pseudomonas aeruginosa 9
2.5.2 เชื้อ Staphylococcus aureus 10
2.5.3 เชื้อ Bacillus cereus 12
2.5.4 เชื้อ Yersinia enterocolitica 13
2.5.5 เชื้อ Escherichia coli 13
2.5.6 เชื้อ Staphylococcus epidermidis 14
บทที่ 3 15
3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ 15
3.2 เชื้อจุลินทรีย์ 15
3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 15
3.4 เครื่องมือและอุปกรณ์ 16
3.5 วิธีการทดลอง 17
3.5.1. การเตรียมสารสกัดจากต้นมะยมด้วยตัวทำละลายเอทานอล 17
3.5.2. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย 17
3.5.2.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีกาแพร่บนวุ้นอาหาร (Agar Well Diffusion) 17
3.5.2.2 การทดสอบฤทธิ์ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบมะยมในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย (MBC) โดยวิธี Broth dilution 18
3.5.3 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากต้นมะยม 18
3.5.3.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) 18
3.5.3.2 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity) 19
3.5.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบของสารสกัดจากต้นมะยม 20
3.5.4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ 20
3.5.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารแทนนิน 20
3.5.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานิน 21
3.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ 21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4 22

4.1 สารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้ในการทดลอง 22

4.2 การตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากพืช โดยวิธี DPPH radical scavenging 22

4.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 25

4.3.1 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 25

4.3.2 สารประกอบฟลาโวนอยด์ 26

4.3.3 สารประกอบแทนนิน 27

4.3.4 สารประกอบแอนโทไซยานิน 28

4.4 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบจากพืช 28

4.4.1 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 678 จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม 29

4.4.2 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม 32

4.4.3 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม 35

4.4.4 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Yersinia enterocolitica* จากสารสกัดหยาบจากใบและกิ่งของมะยม 38

4.4.5 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม 40

4.4.6 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coil* ATCC 25299 จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม 43

4.5 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย (MBC) 45

4.5.1 ฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 678 จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม 45

4.5.2 ฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม 47

4.5.3 ฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.4 ฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *Yersinia enterocolitica* จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม 51
4.5.5 ฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *Staphylococcus aureus* จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม 53
4.5.6 ฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25299 จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม 56
บทที่ 5 59
เอกสารอ้างอิง 61
ภาคผนวก 68
ภาคผนวก ก 69
ภาคผนวก ข 70
ภาคผนวก ค 75
ภาคผนวก ง 76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้าที่**

4.1 แสดงน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดโดยเครื่องระเหยสุญญากาศ.....22
4.2 ร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระของ DPPH ในสารสกัดหยาบจาก ใบ และกิ่งของมะยม.....23
4.3 แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....25
4.4 แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....26
4.5 แสดงปริมาณแทนนินในสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....27
4.6 แสดงปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....28
4.7 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....31
4.8 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....34
4.9 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....36
4.10 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....39
4.11 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....41
4.12 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....44
4.13 แสดงความสามารถในการฆ่าเชื้อ *B. cereus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....47
4.14 แสดงความสามารถในการฆ่าเชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....49
4.15 แสดงความสามารถในการฆ่าเชื้อ *S. epidermidis* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....51
4.16 แสดงความสามารถในการฆ่าเชื้อ *Y. enterocolitica* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....53
4.17 แสดงความสามารถในการฆ่าเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....56
4.18 แสดงความสามารถในการฆ่าเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้าที่**

2.1 ต้นมะยม.....3

2.2 ลักษณะของเซลล์ *Pseudomonas aeruginosa*.....9

2.3 ลักษณะของเซลล์ *Staphylococcus aureus*.....10

2.4 ลักษณะของเซลล์ *Bacillus cereus*.....12

2.5 ลักษณะของเซลล์ *Yersinia enterocolitica*.....13

2.6 ลักษณะของเซลล์ *Escherichia coli*.....13

2.7 ลักษณะของเซลล์ *Staphylococcus epidermidis*.....14

4.1 กราฟแสดงกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยมจากแหล่งต่าง ๆ.....24

4.2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....29

4.3 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดหยาบจากใบและกิ่งของมะยม.....32

4.4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ของสารสกัดหยาบจากใบและกิ่งของมะยม.....35

4.5 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica* ของสารสกัดหยาบจากใบและกิ่งของมะยม.....38

4.6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งมะยม.....40

4.7 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม.....43

4.8 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถฆ่าเชื้อ *B. Cereus*.....45

4.9 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถฆ่าเชื้อ *P. aeruginosa*.....47

4.10 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. epidermidis*.....49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้าที่**

4.11 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถฆ่าเชื้อ *Y. enterocolitica*.....51
4.12 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus*.....53
4.13 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถฆ่าเชื้อ *E. coli*.....56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พืชเป็นแหล่งของยารักษาโรคต่าง ๆ ที่ดีที่สุด ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการใช้เป็นยารักษาโรคต่าง ๆ กันอย่างแพร่หลาย โดยทั่วโลกได้มีพืชประมาณร้อยละ 20 ที่ได้รับการทดสอบทางเภสัชวิทยาหรือเกี่ยวกับเชื้อโรคดื้อยาหลากหลายสายพันธุ์ ซึ่งปัจจุบันได้มีการค้นพบยาปฏิชีวนะใหม่ที่ได้จากสมุนไพรจากหลายชนิดและหลายแห่งทั่วโลก (Foyzun และคณะ, 2016) สมุนไพรมีการใช้เป็นยาพื้นบ้านอย่างแพร่หลายเป็นวงกว้าง และช้านานดังที่มีการอธิบายเกี่ยวกับการใช้สมุนไพรไว้ในตำราโบราณ เช่น พระคัมภีร์ นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาพืชสมุนไพรในทางอุตสาหกรรมและการแพทย์ โดยการนำไปพัฒนาเป็นยาและเคมีบำบัดจากพืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆ องค์การอนามัยโลกได้ประมาณการว่าประชากรร้อยละ 80 ของโลกใช้ยาจากพืชสมุนไพรในการรักษาดูแลสุขภาพเบื้องต้น โดยส่วนใหญ่จะถูกใช้ในประเทศที่กำลังพัฒนา (Rahman และคณะ, 2011) ซึ่งมะยมจัดเป็นสมุนไพรอีกชนิดหนึ่งที่ได้รับความสนใจในการทำการวิจัย เนื่องจากมีสรรพคุณและประโยชน์ที่น่าสนใจหลายประการ รวมถึงสามารถหาได้ง่ายจากในพื้นที่ท้องถิ่นของประเทศไทยอีกด้วย

มะยมมีชื่อสามัญ Star gooseberry ชื่อวิทยาศาสตร์ *Phyllanthus acidus* (L.) วงศ์ Euphorbiaceae มีขนาดเล็ก สูง 2 - 10 เมตร ลำต้นสั้น คดงอ แตกกิ่งก้านสาขา ลักษณะปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ โคนใบกลม (กมลทิพย์, 2553) ขนาดใบยาว 2 - 7.5 เซนติเมตร มีสีเขียวอ่อน ดอกเป็นแพศผู้ เพศเมีย หรือสองเพศ ดอกมีสีชมพู ส่วนของผลมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร อยู่เป็นกระจุกหนาแน่น สามารถกินได้ มีสีขาวถึงเหลือง มีความชื้นสูงและมีรสหวาน สามารถพบได้ทั้งในคาบสมุทรคาริเบียน แปซิฟิก รวมถึงทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Andrianto และคณะ, 2017) ส่วนต่าง ๆ ของมะยมมีสรรพคุณรักษาหรือบรรเทาอาการมากมาย เช่น ใช้เป็นยาระบาย รักษาโรคสะเก็ดเงิน ลมพิษ บรรเทาโรคหอบหืด (Jain และคณะ, 2011) บำรุงตับ ฟอกเลือด ดีซ่าน แก้ท้องผูก ขับปัสสาวะ รักษาโรคหลอดลมอักเสบ อาการปวด (Kirtikar และ Basu, 1987) รักษาอาการอาเจียนเป็นเลือด โรคริดสีดวงทวาร ไข้ อาการคัน และเหงือกอักเสบ (Subhadrabandhu, 2001)

พืชที่อยู่ในสกุล Phyllanthus (Euphorbiaceae) มีการสร้างสารทุติยภูมิ เช่น อัลคาลอยด์ แทนนิน ฟลาโวนอยด์ ลิกนิน ฟีนอลิก และเทอร์พีน (Foyzun และคณะ, 2016) และมีรายงานการทดสอบมะยมในคุณสมบัติการรักษาด้านต่าง ๆ ทั้งการต้านไวรัส (Derekbusarakom และคณะ, 1996) ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Melendez และ Capriles, 2006) ป้องกันระบบประสาท (Ingkaninan และคณะ, 2003) ต้านพังผืด (Sousa และคณะ, 2007) และต้านมะเร็ง (Mahidol และคณะ, 2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น และไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา รวมทั้งไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ต่อ ทั้งนี้ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) ศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ของสารสกัดส่วนใบ และกิ่งของมะยม จาก 3 จังหวัด โดยการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (Total phenolic content) และวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity)
2) ศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรีย (Antibacterial) ของสารสกัดหยาบส่วนใบ และกิ่งของมะยม
3) ศึกษาองค์ประกอบของสารพฤกษเคมีของสารสกัดจากต้นมะยม

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ทำการสกัดสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของต้นมะยมจาก 3 จังหวัด ได้แก่ สุพรรณบุรี ระยอง และตราด ด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ จากนั้นนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและสารพฤกษเคมี เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของต้นมะยม

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ได้ข้อมูลของสารสกัดจากส่วนใบและกิ่งของต้นมะยมที่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์
2) ได้ข้อมูลจากการศึกษาซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์หรือพัฒนาเพื่อใช้ร่วมกับยารักษาโรค
3) เป็นข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ของต้นมะยมสำหรับผู้ที่สนใจใช้ในการศึกษา วิจัยและค้นคว้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มะยม

มะยมหรือ Star gooseberry จัดเป็นผลไม้ตระกูล berry อยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels (กมลทิพย์, 2553) ซึ่งคนไทยนิยมปลูกกันอย่างแพร่หลาย มะยมสามารถนำมารับประทานได้ทั้งผลนำมารับประทานเป็นผลไม้ ใบนำมาปรุงเป็นอาหาร และมีการนำส่วนต่าง ๆ ของมะยมมาใช้ในการรักษาโรคตามการแพทย์พื้นบ้าน โดยมีการจัดแบ่งหมวดหมู่ตามหลักอนุกรมวิธานจาก Natural Resources Conservation Service (NRCS) ได้ดังนี้

อาณาจักร: Plantae

ดิวิชั่น: Magnoliophyta

ชั้น: Magnoliopsida

อันดับ: Euphorbiales

วงศ์: Euphorbiaceae

สกุล: *Phyllanthus*

สปีชีส์: *acidus*

รูปที่ 2.1 ต้นมะยม

ที่มา : https://florafaunaweb.nparks.gov.sg/special-pages/plant-detail.aspx?id=3669

(สืบค้นวันที่ 12/5/2562)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีชื่อสามัญในภาษาต่าง ๆ เช่น Star gooseberry, Karmay, Cerisier, Cerme, Sino-Tibetan, Kemangul, Grosella และมีชื่อท้องถิ่นในประเทศไทยตามภาคต่าง ๆ เช่น ภาคกลาง และทั่วไป เรียกว่า มะยม ภาคอีสาน เรียกว่า หมักยม หรือ หมากยม ภาคใต้ เรียกว่า ยม

2.1.1 ลักษณะทางพรรณพฤกษศาสตร์

ลำต้น เป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กถึงขนาดกลาง มีความสูงประมาณ 3-10 เมตร ลำต้นตั้งตรง แตกกิ่งก้านบริเวณปลายยอด กิ่งก้านเปราะและแตกง่าย เปลือกของลำต้นมีผิวขรุขระสีเทาปนน้ำตาล

ใบ เป็นใบประกอบ แต่ละก้านมีความยาว 20 – 40 เซนติเมตร และมีใบย่อย 20 – 30 คู่ ออกเรียงกันแบบสลับ โดยใบมีรูปขอบขนานกลมหรือค่อนข้านเป็นรูปสีเหลี่ยมขนมเปียกปูนปลายใบแหลม ฐานใบกลมหรือมน ขอบใบเรียบ มีความยาว 4 – 9 เซนติเมตร กว้าง 2.5 – 4.5 เซนติเมตร

ผล มีรูปร่างกลมหรือรีมีพู 6 – 8 พู เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 – 2.7 เซนติเมตร เมื่อผลอ่อนหรือสดจะมีสีเขียว และเมื่อแก่ผลจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหรือขาวแกมเหลือง มีรสเปรี้ยวออกหวาน เนื้อฉ่ำน้ำ เมล็ดรูปร่างกลม แข็ง มีสีน้ำตาลอ่อน แต่ละผลมี 1 เมล็ด

ดอก มีสีเหลืองอมน้ำตาลหรือสีออกชมพู ออกเป็นช่ออย่างหนาแน่นตามกิ่งก้าน มีขนาดดอกเล็ก ดอกมีดอกตัวผู้และตัวเมีย โดยดอกตัวผู้เกิดที่ปลายช่อมีกลีบดอก 4 กลีบ จานฐานดอกเป็นต่อม 4 ต่อม เกสรมี 4 อัน ยาวประมาณ 5 มิลลิเมตร ดอกตัวเมียมี 4 - 6 กลีบ จานฐานดอกเป็นต่อม 4 - 6 ต่อม มีก้านเกสร 3 – 4 อัน ยาว 1 – 6 มิลลิเมตร มีรังไข่ 6 – 8 พู อาจพบเกสรตัวผู้ 1 – 3 อัน บริเวณฐานรังไข่

2.1.2 สรรพคุณของมะยม

ใบ นำมาเป็นยาแก้ไอ ขับเสมหะ บำรุงประสาท ปรุงเป็นส่วนประกอบยาเขียวรับประทานเพื่อดับพิษร้อน ถอนพิษไข้ แก้ไข้ แก้โรคหัดเหือด แก้พิษไข้อีสุกอีใส สามารถนำมาต้มกับใบหมากผู้หมากเมีย หรือใบมะเฟืองเพื่ออาบแก้ผื่นคัน หัด ฝีดาษ เหือด นำใบต้มน้ำดื่มพร้อมกับผลสามารถเป็นยาขับเหงื่อ

ราก มีรสจืด นำเป็นยาแก้โรคผิวหนัง ขับน้ำเหลือง ดับพิษเสมหะโลหิต ทาแก้คัน แก้หอบหืด ปวดศีรษะ สูดไอร้อนแก้ไอ น้ำยางจากเปลือกรากมีพิษเล็กน้อย ถ้ารับประทานอาจมีอาการปวดท้องอาเจียน ปวดศีรษะและง่วงซึม

ผล มีรสเปรี้ยว ช่วยลดเสมหะ แก้ไอ เป็นยาระบาย บำรุงโลหิต นำมาบดรวมกับพริกไทยเป็นยาพอกแก้ปวดกล้ามเนื้อ ปวดหลัง ผลสามารถรับประทานได้ทั้งสุกและดิบ มีฤทธิ์เป็นกรด ใช้ทำแยมหรือเชื่อมเพื่อรับประทานได้ เป็นยาฝาดสมาน ขับปัสสาวะ และแก้หลอดลมอักเสบ

เปลือกส่วนต้น มีรสจืด นำมาต้มน้ำดื่ม แก้ไข้ทับระดู แก้ผดผื่นคัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 สารเคมีที่พบในมะยม

ใบ พบอัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ สเตียรอยด์ ฟีนอล ซาโปนิน แทนนิน คาร์โบไฮเดรต น้ำมัน ยาง (Angamuthu และคณะ, 2014) คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แอนทราควิโนน เทอร์พินอยด์ (Kumari และคณะ, 2014)

ราก พบคาร์โบไฮเดรต ซาโปนิน แทนนิน (Wahed และคณะ, 2014)

เปลือกลำต้น พบอัลคาลอยด์ ไกลโคไซด์ สเตียรอยด์ (Biswas และคณะ, 2011)

ผล พบไกลโคไซด์ แทนนิน และยาง (Rahman และคณะ, 2011)

2.2 การสกัดแยกสารจากพืชสมุนไพร

การสกัดสาระสำคัญจากพืชสมุนไพรสามารถทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดของสารสกัด ชนิดตัวทำละลายที่ใช้ คุณสมบัติของสารในการทนต่อความร้อน ซึ่งแต่ละวิธีมีหลักที่ต่างกันออกไป ได้แก่

1. การสกัดด้วย Soxhlet extractor

เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง โดยเป็นการใช้ตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำ ทำได้โดยใช้ความร้อนทำให้ตัวทำละลายในฟลาสก์ระเหยไปแล้วกลั่นตัวลงใน thimble ซึ่งบรรจุพืชไว้ และเมื่อตัวทำละลายใน extracting chamber สูงถึงระดับที่สารสกัดจะไหลกลับลงไปในฟลาสก์ด้วยวิธีการกาลักน้ำ ฟลาสก์นี้ได้รับความร้อนจาก heating mantle หรือหม้ออังไอน้ำ จึงทำให้ตัวทำละลายระเหยเหลือเพียงสารสกัดในฟลาสก์ และเมื่อตัวทำละลายที่ระเหยกระทบกับ condenser ตัวทำละลายจะกลั่นตัวกลับมาสกัดใหม่วนเวียนกระทั่งการสกัดสมบูรณ์ วิธีนี้เป็นการใช้ความร้อน จึงอาจทำให้สารเคมีบางชนิดสลายตัวได้

2. Liquid-liquid extraction

เป็นการสกัดสารจากสารละลายซึ่งเป็นของเหลวลงในตัวทำละลายอีกตัวหนึ่งซึ่งของเหลวชนิดที่สองจะไม่ผสมกับตัวทำละลายชนิดแรก โดยจะแบ่งเป็น 2 ชนิดคือ Extractant lighter เป็น liquid-liquid extractor ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้สกัดเบากว่าตัวทำละลายที่ใช้ละลายสาร Reffinate lighter เป็น liquid-liquid extractor ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้สกัดหนักกว่าตัวทำละลายที่ใช้ละลายสาร

3. การไหลซึม (Perclation)

เป็นวิธีการสกัดสารแบบต่อเนื่องโดยใช้เครื่องมือที่ชื่อว่า percolation โดยนำผงพืชสมุนไพรมาหมักกับสารละลายพอชื้อนาน 1 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่จากนั้นค่อย ๆ บรรจุทีละน้อยเป็นชั้น ๆ ลงใน percolator และเติมตัวทำละลายให้สูงเหนือสมุนไพรแล้วทิ้งไว้นาน 24 ชั่วโมง จึงเริ่มไขเอาสารสกัดออก โดยค่อย ๆ เติมตัวทำละลายอย่าให้แห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การหมัก (Maceration)

เป็นวิธีการสกัดโดยวิธีการหมักกับตัวทำละลายในภาชนะปิด และทิ้งไว้นาน 7 วัน โดยเขย่าหรือคนบ่อย ๆ จากนั้นเมื่อครบกำหนดจึงค่อย ๆ รินเอาสารสกัดออก โดยพยายามบีบเอาสารละลายออกจากกากให้มากที่สุด นำสารสกัดที่ได้ไปกรอง วิธีนี้อาจต้องสกัดซ้ำกันหลาย ๆ ครั้ง เป็นวิธีที่สารจะไม่ถูกความร้อนแต่จะสิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก

5. Supercritical fluid extraction

เป็นจุดที่อุณหภูมิและความดันเหมาะสม โดยสารที่อยู่ในภาชนะจะไม่กลั่นตัวหรือไม่ระเหย แต่จะอยู่ในสถานะของเหลว เรียกสภาวะนี้ว่า critical state ในทางปฏิบัติถ้าสารอยู่เหนือ critical temperature และความดัน สารจะอยู่ในสภาวะที่มีคุณสมบัติระหว่างของเหลว และก๊าซ จึงทำให้สามารถกระจายตัวได้ดี (ธันยกร, 2561)

2.3 สารอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radicals หรือ oxidant) จัดเป็นสารที่มีอิเล็คตรอนอิสระ (unpaired electron) อยู่รอบนอกของอะตอมหรือโมเลกุล ไม่เสถียรและมีความว่องไวในการทำปฏิกิริยา ตัวอย่างอนุมูลอิสระ เช่น superoxide anion, hydroxyl radical, peroxynitrite และ singlet oxygen เป็นต้น สามารถจับกับโมเลกุลหลายชนิดที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ เช่น ไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ เพื่อให้มีความเสถียรอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิตที่ใช้ออกซิเจน ผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกาย เช่น การหายใจระดับเซลล์ นอกจากนี้เกิดจากการที่เซลล์เกิดการเสียหายและอักเสบจากผลการทำงานของเซลล์เม็ดเลือดขาวเพื่อทำลายสิ่งแปลกปลอม (Halliwell, 2001) และจากการสร้างอนุมูลอิสระหรือการกระตุ้นให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระทั้งจากอนุมูลอิสระและสารที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระของ ROS และ RNS ส่งผลให้เกิดอนุมูลอิสระจำนวนมากซึ่งไม่สมดุลกับสารต้านอนุมูลอิสระที่ถูกสร้างขึ้น ในการกำจัดทำให้เกิดสภาวะ oxidative stress เป็นสาเหตุของโรคมะเร็ง โรคหัวใจขาดเลือด โรคภูมิแพ้ โรคความจำเสื่อม โรคความผิดปกติของระบบประสาท เป็นต้น อนุมูลอิสระสามารถแบ่งได้เป็น 3 ชนิด ได้แก่ (Mut-Salud และคณะ, 2015)

1. oxygen-centered radicals สร้างจากไมโตคอนเดรีย โดยกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอน (electron transport chain, ETC) และระบบของหลอดเลือดที่มีความผิดปกติ ซึ่งอนุมูลอิสระจะอยู่ในรูป superoxide anion, hydrogen peroxide, hydroxyl radical และ singlet oxygen เป็นต้น

2. carbon-centered radicals ได้แก่ peroxyl และ alkoxyl radicals

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. nitrogen-center free radicals ได้แก่ nitric oxide (NO) และ by-product ของ nitric oxide เช่น nitrate, nitrite, peroxynitrite, 3 -nitrotyrosine และ nitrogen dioxide

2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ

สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ ในแต่ละประเภทจะมีหลายวิธีด้วยกัน ซึ่งแต่ละวิธีมีความจำเพาะแตกต่างกัน โดยปกติมักใช้หลายวิธีร่วมกันในการตรวจสอบและสรุปผล

2.4.1 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพเป็นการทดสอบเพื่อหาชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยอาศัยหลักการต่างๆ เช่น การทำให้เกิดสีการทำให้เกิดตะกอน ความสามารถของการละลายในตัวทำละลายและการถูกดูดซับโดยตัวดูดซับ วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่นิยม ได้แก่ การตรวจวัดสารโพลีฟีนอลชนิดต่างๆ โครมาโตกราฟีแบบชั้นบาง และการตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ โดยใช้เครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC)

2.4.2 วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณเป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่างๆ วิธีที่นิยม ได้แก่การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช(DPPH), วิธีการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส(ABTS) และการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) ซึ่งวิธีการดังกล่าวข้างต้นจะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนและวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจ โดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือจากค่าการดูดกลืนแสง สารอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ เช่น ABTS และ DPPH การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระหาได้จากอัตราส่วนของการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน หน่วยของการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณแสดงได้ 2 แบบ คือ แบบปริมาณความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในตัวอย่าง ซึ่งค่าตัวเลขสูงก็แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และแบบปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลงร้อยละ 50 โดยค่าตัวเลขต่ำแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ทั้งสองแบบสามารถแสดงหน่วยได้หลากหลาย ได้แก่ μM/mg, mM/mg, μM/mL, mM/mL

2.4.2.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอ (diphenylpicryhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay)

เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระ คือ อนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH, diphenyl-picryhydrazyl radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา รวมทั้งต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดโดยใช้เครื่องสเปกโตโฟโตรมิเตอร์(spectrophotometer) ที่ความยาว

คลื่น 515 นาโนเมตร เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอลจะทำให้สีม่วงจางลงจนเป็นสีเหลือง ซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาทำให้สามารถหาการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูตรคำนวณได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงจากการใส่ตัวอย่างเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น

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

โดย A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น และ A_s = ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากเติมสารตัวอย่าง สารมาตรฐานที่ใช้ในการเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือ โทรล็อกซ์ (trolox, 6-hydroxy2,5,7,8-tetramethylchlorman-2-carboxylic acid) แสดงค่าเป็น TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) มีหน่วยเป็น mM/mg หรือ µM/mg ข้อดีของวิธีนี้คือง่าย สะดวกและรวดเร็ว ส่วนข้อเสียคือ DPPH ค่อนข้างเสถียรไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง และต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งจะทำให้โปรตีนตกตะกอนจึงไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือดได้ และสารปนเปื้อนและโลหะจะรบกวน(interfere) ซึ่งสามารถเป็นตัวรีดิวซ์แล้วทำให้สีของอนุมูลอิสระ DPPH จางลงได้เช่นกัน ได้มีการนำวิธีการนี้ไปใช้ตัวอย่าง เช่น การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในกระถิน ติ้ว และกระโดนบก พบว่าสารสกัดทั้งสามให้สารสกัดที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดี ขณะที่สารสกัดเมทานอลจากใบของชุมเห็ดเทศมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่แรงกว่าดอกและฝัก เช่นเดียวกับใบของมะตูมมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ (IC50) มากกว่าผลและราก

2.4.2.2 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (ferric ionreducing antioxidant power (FRAP) assay)

วิธีการนี้อาศัยหลักการของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อน $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$ ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$ ซึ่ง $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$ มีความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ปริมาณของ $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$ ที่เกิดขึ้นสามารถประมาณความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ในรูป FRAP value เทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต (FeSO4) ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้วิธีการดังกล่าว เช่น การตรวจพบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเอทิลอะซิเทตและบิวทานอลของใบฝรั่ง สารสกัดรังกะแท้ในประเทศจีนที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ และสารสกัดเมทานอลและเอทิลอะซิเทตในพืชวงศ์ Lamiaceae และวงศ์ Apiaceae จำนวน 7 ชนิด จากประเทศอิหร่าน (พยุงศักดิ์ และคณะ, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

2.5.1 เชื้อ Pseudomonas aeruginosa

รูปที่ 2.2 ลักษณะของเซลล์ *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา : https://www.ehagroup.com/resources/pathogens/

(สืบค้นวันที่ 12/5/2562)

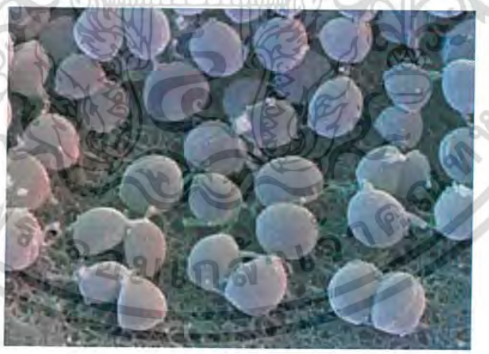
Pseudomonas aeruginosa เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือเป็นคู่ ไม่สร้างสปอร์ จัดเป็นเชื้อโรคฉวยโอกาสจะมีการติดเชื้อกับผู้ที่ภูมิคุ้มกันต่ำหรือป่วย หรือผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาล บางทีจึงเรียกโรคติดเชื้อที่เกิดจาก Pseudomonas aeruginosa ว่าโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล จากผู้ป่วยโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล 2000 คนต่อปี จะมีจำนวนร้อยละ 10 ที่มีสาเหตุมาจาก Pseudomonas aeruginosa ซึ่ง Pseudomonas aeruginosa เป็นสาเหตุอันดับสองในการทำให้เกิดโรคปอดบวมในโรงพยาบาล และเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ในการก่อให้เกิดโรคปอดบวม ในห้อง ICU โรคติดเชื้อจาก Pseudomonas สามารถแพร่กระจายภายในโรงพยาบาลโดยบุคลากร อุปกรณ์การแพทย์ ผิวหนัง น้ำยาทำลายเชื้อ และอาหาร โรคติดเชื้อนี้เป็นปัญหาที่รุนแรงมากในโรงพยาบาลมากเนื่องจาก ผู้ป่วยซึ่งมีอาการหนักอยู่แล้วจะเสียชีวิตเนื่องจากโรคติดเชื้อจาก Pseudomonas และ Pseudomonas ดื้อต่อยาปฏิชีวนะมาก ทำให้ยากต่อการรักษา Pseudomonas aeruginosa สามารถติดเชื้อได้หลายระบบในร่างกายเนื่องจากมีหลายปัจจัยในการก่อให้เกิด เช่น ความสามารถในการเกาะยึดติดกับเยื่อบุผิว ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ สร้างโปรตีนที่มาทำลายเนื้อเยื่อ และมี protective outer coat Pseudomonas aeruginosa ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ ดังนั้นในการรักษาจึงนิยมให้ยาปฏิชีวนะสองตัวร่วมกัน โรคติดเชื้อจาก Pseudomonas มักรักษาโดยการให้ยาร่วมกัน เช่น ยา ceftazidime, ciprofloxacin imipenem, gentamicin, tobramycin, ticarcillin- clavulanate หรือ piperacillin-tazobactam ให้โดยฉีดเข้าเส้นเลือดดำหรือรับประทาน เป็นเวลา 2- 6 สัปดาห์ ถ้าเป็นการรักษาตาควรจะต้องใช้ยาหยอดตา หรือใช้การผ่าตัด ซึ่งบางครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำเป็นที่จะต้องตัดเนื้อเยื่อส่วนที่ติดเชื้อและถูกทำลายออกไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่สมองอักเสบ , ติดเชื้อที่ตา, กระดูกและข้อต่อ, หู, หัวใจหรือบาดแผล

แบคทีเรียชนิดนี้สามารถเจริญและแพร่กระจายไปยังอวัยวะของผู้ป่วยในส่วนต่าง ๆ พร้อมทั้งมีการทำลายเนื้อเยื่อของผู้ป่วยโดยสร้างสารพิษและเอนไซม์ต่าง ๆ(Virulence factors)15,16 เช่น Alginate (slime layers, biofilm) ซึ่งแบคทีเรียใช้การยึดเกาะเซลล์โฮสต์และป้องกันการถูกกำจัดจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของผู้ป่วย, ไพไลหรือฟิมเบรีย(pili หรือfimbriae)จะเป็นส่วนที่คล้ายสันขนเล็ก ๆ ที่ยื่นออกมาจากผิวเซลล์เพื่อที่จะจับกับเยื่อบุผิวทางเดินหายใจ, เอนโดทอกซินหรือลิพิดเอ (Endotoxin หรือ lipid A) เป็นลิโพพอลิแซ็กคาไรด์ที่อยู่ตามผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบและเป็นแอนติเจนที่สำคัญอีกด้วย ส่วนลิพิดเอเป็นองค์ประกอบของเอนโดซินที่เกี่ยวกับความเป็นพิษ, อีลาสเทส (Elastase) เป็นเอนไซม์ที่จะทำลายอีลาสติกไฟเบอร์ที่ผนังหลอดเลือด ซึ่งจะทำให้เกิดเลือดออกและเชื้อแพร่กระจายออกไปอีกด้วย,เอกโซทอกซินเอ (Exotoxin A) เป็นปัจจัยที่ทำให้เชื้อรุนแรง จะขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ยูคาริโอต ทอกซินนี้จะทำให้เซลล์ตาย, โปรตีนเอส(Proteases) เป็นเอนไซม์ที่ถูกขับออกนอกเซลล์จะย่อยสลายเนื้อเยื่อของโฮสต์และทำลายอิมมิวโนกลอบิวลินและคอมพลีเมนต์ นอกจากนี้ยังจะช่วยให้เชื้อบุกรุกและแพร่กระจายออกไป (สมหวัง, 2544)

2.5.2 เชื้อ Staphylococcus aureus



รูปที่ 2.3 ลักษณะของเซลล์ *Staphylococcus aureus*

ที่มา : http://medchrome.com/mbbs-exams/staphylococcus-aureus-lab/

(สืบค้นวันที่ 12/5/2562)

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมบวก รูปร่างกลม มีการเรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น แต่อาจพบเซลล์เดี่ยวๆเป็นคู่ หรือต่อกันเป็นสายสั้นๆ ปัจจัยที่เอื้ออำนวยให้เชื้อสามารถในการก่อโรคได้ ได้แก่ โครงสร้างเซลล์การสร้างสารพิษ การสร้างเอนไซม์ซึ่งเป็นผลให้เชื้อเจริญและแพร่กระจายไปยังส่วนต่างๆ พร้อมทั้งมีการทำลายเนื้อเยื่อของผู้ป่วย แบคทีเรียชนิดนี้

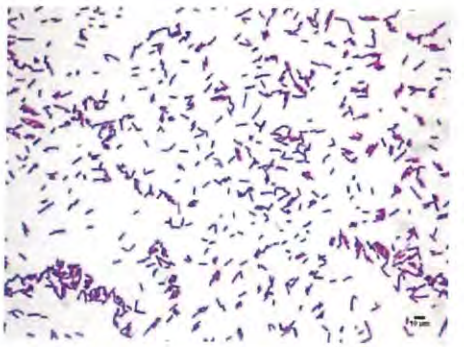
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถสร้างเอนไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพ เช่น Coagulase เป็นเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติทำให้พลาสมาแข็งตัวโดยขบวนการดังกล่าวจะทำให้มีการสร้างไฟบรินในผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อแบคทีเรียนี้ซึ่งไฟบรินที่สร้างขึ้นนี้จะไปหุ้มรอบเชื้อแบคทีเรียแต่ละตัว เป็นกลวิธีหลบหนีจากการกินเม็ดเลือดขาวของโฮสต์ได้, Staphylokinase เป็นเอนไซม์ที่กระตุ้นให้พลาสมิโนเจนย่อยสลายเป็นพลาสมิน ซึ่งเกี่ยวกับการสลายก้อนไฟบรินนอกจากนี้เอนไซม์นี้ยังสามารถย่อยอิมมิวโนกลอบิวลินและคอมพลีเมนต์, Hyaluronidase เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายโพลีแซคคาไรด์ที่หุ้มผนังโฮสต์เซลล์ ทำให้เชื้อแบคทีเรียแพร่กระจาย และลุกลามไปยังส่วนอื่น

S. aureus เป็นเชื้อก่อโรคที่พบได้บ่อยในโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลและเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อได้ทั่วร่างกาย เช่นโรคติดเชื้อที่ผิวหนังการเกิดตุ่มหนองที่ผิวหนัง ฝี ฝีฝักบัว บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษ exfoliative toxin (ET) ที่ทำให้เกิดโรคผิวหนังหลุดลอกที่เรียกว่า "Staphylococcalscalded skinsyndrome (SSSS)"โรคปอดบวม(Staphylococcal pneumonia) การติดเชื้อที่กระดูก(osteomyelitis) และข้อ (pyoarthrosis) แบคทีเรีย *S.aureus* บางสายพันธุ์ทำให้เกิดกลุ่มอาการ toxic-shock syndromeโดยการสร้าง toxicshocksyndrometoxin-1(TSST-1) ทำให้ผู้ป่วยมีไข้สูงคลื่นไส้อาเจียน มีความดันโลหิตต่ำ มีผื่นแดงการทำงานของไตมักจะล้มเหลวและเกิดอาการช็อคในที่สุด30,31 โดยทั่วไปการรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ทำโดยให้ยา Penicillin แต่ต่อมามีรายงานพบเชื้อ *S. aureus* ที่ดื้อต่อ Penicillin โดยการสร้างเอนไซม์ beta-lactamase และมีจำนวนรายงานเพิ่มสูงขึ้น ทำให้มีการพัฒนายา Methicillin ซึ่งมีความทนต่อเอนไซม์ betalactamaseของ*S. aureus* แต่มีการรายงานพบ *S. aureus* ที่ดื้อยา Methicillin ซึ่งเรียกว่า MRSA เชื้อแบคทีเรีย MRSA บางกลุ่มนี้ยังสามารถสร้างเอนไซม์ beta-lactamase มาทำลายโครงสร้าง beta-lactam ของยาปฏิชีวนะในกลุ่มนี้เช่น Oxacillin ซึ่งเรียก *S. aureus* สายพันธุ์นี้ว่า "borderline Oxacillin resistant S. aureus (BORSA)"การรักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียกลุ่มนี้ต้องให้ยาปฏิชีวนะร่วมกันเช่น Ampicillin/Sulbactam และ Amoxicillin/Clavulanate ในปัจจุบันมีการรายงานพบแบคทีเรียกลุ่ม MRSA ดื้อต่อยา Vancomycin เรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า Vancomycin intermediate S. aureus (VISA) (สมหวัง, 2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.3 เชื้อ Bacillus cereus



รูปที่ 2.4 ลักษณะของเซลล์ *Bacillus cereus*

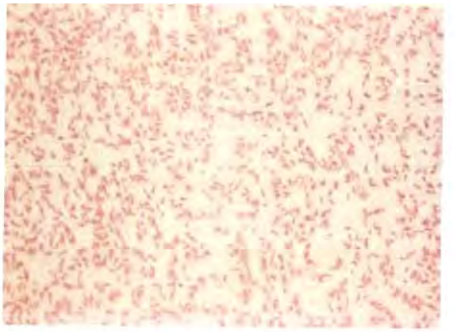
ที่มา : https://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/xbc/xbc01.html

(สืบค้นวันที่ 12/5/2562)

Bacillus cereus ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) สร้างสปอร์ (spore forming bacteria) เจริญได้ในที่มีอากาศ (aerobic bacteria) สามารถสร้างสารพิษ (toxin) ที่ทนต่อความร้อนได้ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง ในร่างกายมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 28-37 องศาเซียลเซียส ไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซียสเซียส และสูงกว่า 55 องศาเซลเซียล เป็นแบคทีเรียที่พบว่ามีการปนเปื้อนในอาหารจำนวนมาก โดยสามารถพบ *B. cereus* ได้ทั่วไปในอากาศหรือดิน ในส่วนของการปนเปื้อนในอาหารนั้นมักจะพบการปนเปื้อนในอาหารที่มีโปรตีนสูงจำพวกเนื้อสัตว์ นมและไข่ เช่น ขนมไส้สังขยาหรือวานิลาสอดไส้ครีม และยังสามารถพบการปนเปื้อนได้ในของแห้ง เช่น ธัญพืช แป้ง และเครื่องเทศ การที่พบ B. cereus มีการปนเปื้อนในอาหารมาก อาจเนื่องจากเชื้อนี้สามารถสร้างสปอร์ซึ่งทนต่อความร้อนได้สูง การให้ความร้อนแก่อาหารอาจไม่สามารถทำลายเชื้อนี้ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงพบการปนเปื้อนของ *B. cereus* เหลืออยู่ในอาหาร เมื่อรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนของ *B. cereus* หรือสปอร์จะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษหรือโรคกระเพาะและลำไส้อักเสบ(gastroenteritis) ซึ่งโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจาก *B. cereus*นั้น สาเหตุเกิดจากสารพิษที่ *B. cereus* สร้างขึ้น เรียกว่า เอนเทอโรท๊อกซิน (enterotoxin) โดยสามารถจำแนกได้เป็น 2 ชนิด คือ เอนเทอโรท๊อกซินที่ทนร้อน (heat stable enterotoxin) ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีลักษณะอาการเป็นการอาเจียน (emetic form) และเอนเทอโรท๊อกซินที่ไม่ทนร้อน (heat labile enterotoxin) ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษที่มีลักษณะอาการเป็นแบบท้องร่วง (diarrheal form) (วีรพงศ์, 2536)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.4 เชื้อ Yersinia enterocolitica



รูปที่ 2.5 ลักษณะของเซลล์ *Yersinia enterocolitica*

ที่มา : http://kukr.lib.ku.ac.th/db/BKN/search_detail/dowload_digital_file/8378/98850 (สืบค้นวันที่ 12/5/2562)

Yersinia enterocolitica ย้อมติดสีแกรมลบ มีลักษณะเป็นท่อนสั้น ขนาดเล็กประมาณ 0.5-0.8 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ เป็นสาเหตุของโรคลำไส้อักเสบของประชากรแถบสแกนดิเนเวีย ทวีบยุโรป และอเมริกาเหนือ ซึ่งสามารถแยกเชื้อได้จาก น้ำ นม จากสัตว์เลี้ยง และสัตว์ป่า การติดเชื้อในคนเกิดขึ้นโดยการกินอาหารหรือน้ำที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไป ความรุนแรงของเชื้อเนื่องจากมีเอนเทอโรทอกซินที่คล้ายกับทอกซินที่ทนความร้อน (heat stable toxin, ST) ของ *E. coli* (นงลักษณ์, 2547)

2.5.5 เชื้อ Escherichia coli

รูปที่ 2.6 ลักษณะของเซลล์ *Escherichia coli*

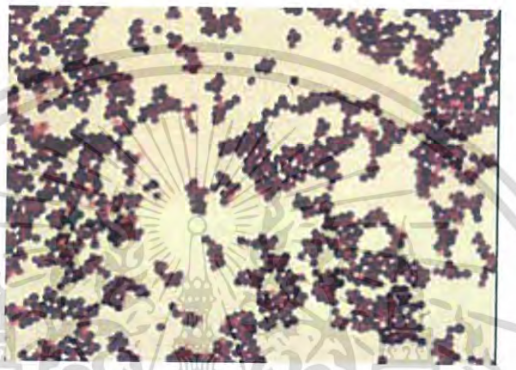
ที่มา : https://www.niaid.nih.gov/diseases-conditions/e-coli (สืบค้นวันที่ 12/5/2562)

Escherichia coli เป็นเซลล์รูปท่อน แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ แกมักพบเป็น อาจเคลื่อนที่ได้หรือไม่เคลื่อนที่ บางสายพันธุ์ที่แยกได้จากนอกลำไส้สร้างแคปซูลได้ เป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ ส่วนจีนัสอื่นจะพบในลำไส้เช่นกันแต่น้อยกว่า ได้แก่ Proteus, Enterobacter, Klebsiella, Morganella, Providencia, Citrobacter และ Serratia แหล่งอาศัยของเชื้อ *Escherichia coli* คือ ระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ ดังนั้นจึงนิยมใช้เชื้อนี้เป็นจุลินทรีย์บ่งชี้ (indicator

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

organism) สำหรับตรวจสอบการปนเปื้อนของอุจจาระในน้ำและอาหาร *Escherichia coli* จัดเป็นเชื้อก่อโรค ที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อที่พบบ่อยในมนุษย์ นอกจากนี้การติดเชื้อนอกลำไส้ (extraintestinal infection) เช่น การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ มักเกิดขึ้นได้โดยสายพันธุ์ที่เป็น UPEC โรคติดเชื้อในลำไส้ส่วนใหญ่มักเกิดจากสายพันธุ์ EPEC, ETEC, EIEC และ EAggEC มักทำในเกิดท้องเสียในเด็กทารก ส่วน ETEC จะสร้าง enterotoxin ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดอาการท้องเสียคล้ายอหิวาตกโรค และ EIEC ทำให้เกิดการติดเชื้อในลำไส้ใหญ่คล้ายโรคบิด (อรอนงค์, 2555)

2.5.6 เชื้อ Staphylococcus epidermidis



รูปที่ 2.7 ลักษณะของเซลล์ *Staphylococcus epidermidis*

ที่มา : https://faculty.mc3.edu/jearl/ML/ml-2-3.htm (สืบค้นวันที่ 12/5/2562)

Staphylococcus epidermidis เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม ขนาด 0.5-1.5 ไมโครเมตร อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น เป็นเชื้อประจำถิ่น (Micro flora) เชื้อชิดนี้มีความจำเพาะกับโฮสต์คือคนทุกคนจะมีเชื้อชนิดนี้เป็นเชื้อประจำถิ่นในร่างกาย ที่ผิวหนัง แขน ขา รักแร้ โพรงจมูก รูหู ทางเดินปัสสาวะส่วนปลาย ในอดีตไม่ค่อยเป็นสาเหตุของการติดเชื้อ แต่เนื่องจากมีการใช้ Catheters และ Prostesis อย่างแพร่หลายมากขึ้น จึงพบว่ามีความสำคัญในการติดเชื้อในโรงพยาบาลมากขึ้น นอกจากนี้ยังยากต่อการรักษาเนื่องจาก *Hylococcus epidermidis* สามารถสร้างไบโอฟิมล์ได้ และมีแนวทางการดื้อยาที่ไม่แน่นอนและแตกต่างกับ S. aureus พบการดื้อยาต่อกลุ่ม Penicilinase resistant และ Cephalosporin มากกว่า *S. aureus* ซึ่งยาทั้งสองกลุ่มนี้ให้ผลดีกับ *S. aureus* (นงลักษณ์, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงาน

3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ

ส่วนใบและกิ่งของมะยมจาก 3 แหล่ง คือ จังหวัดระยอง จังหวัดตราด และจังหวัดสุพรรณบุรี

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์จากห้องปฏิบัติการชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* TISTR 678, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* ATCC 25299 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228

3.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1 เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 (Ethanol 95%)

3.2 เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.9 (Absolute ethanol)

3.3 เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 (Ethanol 70%)

3.4 กรดแกลลิก (Gallic acid)

3.5 Folin-ciocalteu reagent

3.6 โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)

3.7 2,2-diphenyl-2-picylhydrazyl (DPHH)

3.8 α-Tocopheral (Vitamin E)

3.9 โซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$)

3.10 อะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$)

3.11 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

3.12 สารละลายมาตรฐานของควอซิติน

3.13 โฟลิน-เดนิช (Folin-Denis' reagent)

3.14 สารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิก

3.15 โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)

3.16 เกลือโซเดียมอะซิเตต (CH_3COONa)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.17 ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน

3.18 อาหารเลี้ยงเชื้อ NA

3.19 Muller Hinton Agar

3.20 McFarland No.5

3.4 เครื่องมือและอุปกรณ์

4.1 ใบ กิ่ง ของมะยม

4.2 เครื่องปั่น (blender) Retsch รุ่น sk 100

4.3 เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator) Heidolph รุ่น hel-VAP

4.4 เครื่องผสม (vorex mixer) VORTEX-2 GENIE รุ่น No. G560E U.S.

4.5 เครื่องไมโครไตเตอร์เพลท รีดเดอร์ Labsystem รุ่น iEMS Reader MF

4.6 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) UNICO รุ่น UV-2800A

4.7 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ TOMY รุ่น hihgt pressure STREAM STERILIZET 4S-315

4.8 ตู้บ่มเชื้อ 37 องศาเซลเซียส(Incubator) BINDER รุ่น DO6061

4.9 ตู้อบลมร้อน 180 องศาเซลเซียส (Hot air oven) Memmert

4.10 เครื่องชั่งทศนิยมสี่ตำแหน่ง Sartorius รุ่น TE2145

4.11 กล้องจุลทรรศน์แบบประกอบ (compound microscope)

4.12 ชุดกรองสุญญากาศ

4.13 ผ้าขาวบาง

4.14 ช้อนตักสาร

4.15 กระดาษกรอง whatman No.1

4.16 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ

4.17 จานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม (96-well plate)

4.18 ลูกยาง

4.19 ขวด Duran ขนาด 500 ml

4.20 ขวดสีชาที่ใช้ใส่สารที่สกัดได้ขนาด 100 ml

4.21 แท่งแก้ว

4.22 หลอดทดลองขนาดต่าง ๆ

4.23 ปิเปตแก้วขนาดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.24 ทิปขนาดต่าง ๆ

4.25 ไมโครปิเปตขนาดต่าง ๆ Eppendorf รุ่น RAININ Pipet-Lite XLS

4.26 พาราฟิมล์

4.27 ขวดแก้วใส่สาร (vial)

4.28 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (alcohol burner)

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1. การเตรียมสารสกัดจากต้นมะยมด้วยตัวทำละลายเอทานอล

นำส่วนใบและกิ่งของต้นมะยมจาก 3 จังหวัดของประเทศไทย ได้แก่ สุพรรณบุรี ระยอง และตราด ไปตากแห้งประมาณ 10 วัน และนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำแต่ละส่วนไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นอาหารหรือเครื่องบดไม้ แล้วนำผงที่บดของแต่ละส่วนชั่งน้ำหนักส่วนละ 100 กรัมแล้วจึงนำผงของแต่ละส่วนห่อด้วยผ้าขาวบาง และแช่ด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 900 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:9) ในภาชนะปิดสนิท ตั้งทิ้งไว้ในที่อุณหภูมิห้องและมืด เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นจึงกรองด้วยเครื่องกรองแบบสุญญากาศด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และนำส่วนที่กรองมาแช่ตามขั้นตอนข้างต้นอีก 2 ซ้ำ แล้วนำสารละลายของสารสกัดที่กรองได้ไประเหยเอาเอทานอลออกโดยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความดัน 125 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว และความเร็วรอบที่ 140 รอบต่อนาที จนกระทั่งได้สารสกัดหยาบ (Crude extract) ของแต่ละส่วน แล้วนำสารสกัดหยาบเก็บไว้ในขวดสีชาและตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งเอทานอลที่เหลือระเหยไปจนหมด จากนั้นนำไปเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.5.2. การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* TISTR 678, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* ATCC 25299 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 ทำการถ่ายเชื้อแต่ละชนิดลงในหลอดอาหาร NA และนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศา เซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการเขี่ยเชื้อแต่ละชนิดลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่น แล้วทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer) และปรับความขุ่นของสารละลายเซลล์ให้ได้ตามมาตรฐาน McFarland Standard เบอร์ 5 ซึ่งมีความเข้มข้นของเซลล์ 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตรโดยการเติมน้ำกลั่นให้เท่ากันทุกหลอด

3.5.2.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีกาแพร่บนวุ้นอาหาร (Agar Well Diffusion)

ทดสอบตามวิธีของ Rauha และคณะ (2000) โดยทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โดยการถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้นเซลล์ 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร โดยปิเปต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารแขวนลอยของแบคทีเรียแต่ละชนิดปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Agar (MHA) จากนั้นใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อทำการเกลี่ย (swab) ให้ทั่วผิวหน้าอาหาร รอให้ผิวหน้าอาหารแห้งแล้วเจาะหลุมโดยให้มีระยะห่างที่เท่ากันด้วยที่เจาะ (cork-borer) ที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จำนวน 6 หลุมต่อเพลท จากนั้นปิเปตสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของต้นมะยมที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตรลงในหลุมที่เจาะไว้ส่วนละ 1 หลุมต่อเพลทของเชื้อแต่ละชนิด และปิเปตยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (Gentamicin) หรือไซโปฟลอกซาซิน (Ciprofloxacin) ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตรลงหลุมของเพลทเชื้อแต่ละชนิด เพลทละ 1 หลุม เพื่อใช้เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) และปิเปตสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลุมของเพลทเชื้อแต่ละชนิด เพลทละ 1 หลุม เพื่อใช้เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะทำการทดสอบทั้งหมด 5 ซ้ำ โดยการตรวจผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้ง (Inhibition zone) โดยใช้เวอร์เนียร์คาลิปเปอร์และวัดในหน่วยของมิลลิเมตร

3.5.2.2 การทดสอบฤทธิ์ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบมะยมในการทำลายเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Broth dilution (MBC)

ทดลองตามวิธีของ Julianti และคณะ (2017) โดยทำการปิเปตอาหาร NB ลงจาน 96 หลุมโดยจะมีหลุมควบคุมเชิงบวก (sterility control) และหลุมทุกหลุมควบคุมเชิงลบ (Growth control) จะปิเปตอาหารปริมาตร 100 มิลลิลิตรยกเว้นหลุมที่ใช้เป็นหลุมควบคุม ที่ใช้อาหารปริมาตร 200 มิลลิลิตร จากนั้นปิเปตเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตรลงทุกหลุมยกเว้นหลุมควบคุมเชิงลบ และปิเปตสารสกัดที่ความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรปริมาตร 100 มิลลิลิตรยกเว้นหลุมควบคุมเชิงบวก แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำมา streak บนจานอาหาร NA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.5.3 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากต้นมะยม

3.5.3.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

วิเคราะห์โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu method ตามวิธีของ Singleton และคณะ (1999) โดยสร้างกราฟมาตรฐานจากสารละลายกรดแกลลิกโดยปิเปตสารละลายกรดแกลลิก (Gallic acid) ที่มีความเข้มข้น 1, 0.1, 0.01, 0.001 และ 0.0001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตรลงในเพลทขนาด 96 หลุม และปิเปตโฟลิน-ซีโอเคาทู (Folin-Ciocalteu) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (96-well microplate reader) ทำการบันทึกค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้และวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดส่วนใบและกิ่งของต้นมะยม โดยเตรียมสารสกัดหยาบของส่วนใบและกิ่งของต้นมะยมที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตรและทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดสอบสารละลายกรดแกลลิกโดยทดสอบตัวอย่างละ 5 ซ้ำ โดยมีแบลงค์ที่ใช้คือเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับโฟลิน-ซีโอเคาทู ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และโซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 80 ไมโครลิตร จากนั้นทำการคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จากกราฟมาตรฐานโดยให้กรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นแกน X และค่าการดูดกลืนแสงจากตัวอย่างเป็นแกน Y และหาสมการเส้นตรง คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง (mg GAE/g dry weight)

3.5.3.2 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity)

หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของต้นมะยมโดยใช้ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ตามวิธีของ Brand-williams และคณะ (1995) โดยนำสารสกัดหยาบของส่วนใบและกิ่งของต้นมะยมมาปรับความเข้มข้นของสารสกัดมาละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ร้อยละ 99.9 ให้ได้ความเข้มข้นดังนี้ 10, 5, 2.5, 1.25 และ 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารสกัดแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงหลุมเพลทขนาด 96 หลุม และเติม DPPH ปริมาตร 190 ไมโครลิตร แล้วนำไปเก็บในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จึงนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยมีแบลงก์คือเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 แทนการใช้สารสกัด และสารมาตรฐานที่ใช้คือ α-Tocopherol (Vitamin E) ความเข้มข้น0.5 มิลลิโมลาร์ และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามสมการดังนี้

$$\% \text{ DPPH reduction} = [\,(A - B) / A\,] \times 100$$

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของแบลงก์

B = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 90 (IC_{90}) จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (%scavenging) กับความเข้มข้นของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบของสารสกัดจากต้นมะยม

3.5.4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์

ทดสอบตามวิธีของ Kathirvel และ Sujatha (2012) โดยปิเปตสารสกัดส่วนใบและกิ่งของต้นมะยมที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเมทานอลร้อยละ 30 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ และนำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของควอซิตินในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด (mg quercetin equivalents (QE)/g extract)

เตรียมสารละลายมาตรฐานของควอซิตินที่ความเข้มข้น 1 ถึง 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และทำการทดสอบตามวิธีหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เช่นเดียวกับวิธีดังข้างต้น โดยใช้สารละลายมาตรฐานควอซิตินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แทนสารสกัดจากมะยม ส่วนแบลงก์ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของสารละลายมาตรฐานควอซิตินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาพลอตกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณควอซิตินกับค่าการดูดกลืนแสงของควอซิตินจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง และหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่มีในตัวอย่างที่วิเคราะห์

3.5.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารแทนนิน

วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Denis (Kathrivel และ Sujatha, 2012) โดยปิเปตสารสกัดส่วนใบและกิ่งของต้นมะยมที่ความเข้มข้นละ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงหลอดทดลอง ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ 7.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายโฟลิน-เดนิช ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น แล้วผสมให้เข้ากันอีกครั้ง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบแทนนินต่อกรัมของสารสกัด (mg of tannin acid equivalent (TAE)/g of extract)

เตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 1000, 100, 10, 1 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และทำการทดสอบตามวิธการหาปริมาณสารประกอบแทนนิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่นเดียวกับวิธีข้างต้น โดยใช้สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แทนสารสกัดจากมะยม ส่วนของแบลงก์ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และเมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แล้วนำค่าที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแทนนินกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแทนนิก

3.5.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานิน

ใช้วิธี pH differential ดัดแปลงจากวิธีของ Wrolstad (1976) โดยนำสารละลายของสารสกัดหยาบส่วนใบและกิ่งจากต้นมะยมส่วนละ 40 ไมโครกรัมที่ละลายในน้ำกลั่น 1000 ไมโครลิตร ปริมาตร 30 ไมโครลิตร โดยหลอดที่ 1 ผสมสารสกัดตัวอย่างกับบัฟเฟอร์ KCl pH 1.0 ปริมาตร 270 ไมโครลิตร และหลอดที่ 2 ผสมสารสกัดตัวอย่างกับบัฟเฟอร์ CH_3COONa pH 4.5 ปริมาตร 270 ไมโครลิตร และผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และ 700 นาโนเมตรตามลำดับ แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมของแอนโทไซยานินต่อลิตรของสารละลาย คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินของสารสกัดจากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณแอนโทไซยานิน (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = (A \times MW \times DF \times 1000) / (\varepsilon \times 1)$$

โดยที่ $A = (A520 - A700)_{pH\ 1.0} - (A520 - A700)_{pH\ 4.5}$

MW = มวลโมเลกุล

DF = Dilution factor

ε = Molar absorptivity

3.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ใช้โปรแกรม Statistical Package for the Sciences (SPSS) Version 25.0 ในการวิเคราะห์ทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 สารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้ในการทดลอง

สารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้ในการทดลองโดยนำ ใบ และกิ่งของมะยมจาก 3 จังหวัด มาผ่านกระบวนการอบแห้ง นำมาบดเป็นผง จากนั้นจึงนำมาสกัดโดยมีตัวทำลายละลายคือเอทานอลร้อยละ 95 จนได้สารสกัดหยาบเข้มข้นของพืชแต่ละส่วน โดยปริมาณสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยมแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดโดยเครื่องระเหยสุญญากาศ

ชนิดสารสกัดหยาบ	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (กรัม)	ร้อยละของผลได้ของสารสกัดหยาบ
ใบ	สุพรรณบุรี	100	20.15	20.15
	ระยอง	100	17.58	17.58
	ตราด	100	19.97	19.97
กิ่ง	สุพรรณบุรี	100	16.47	16.47
	ระยอง	100	15.78	15.78
	ตราด	100	13.99	13.99

ลักษณะสารสกัดจากใบจะมีสีเขียวเข้มหนืด และกิ่งจะมีสีน้ำตาลอมแดงข้นหนืด โดยสารสกัดหยาบที่ได้จากใบจังหวัดสุพรรณบุรีมีปริมาณร้อยละผลได้สูงที่สุด คือ 20.15 โดยที่ร้อยละผลได้ของสารสกัดจากใบมีค่ามากกว่าสารสกัดจากกิ่ง

4.2 การตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากพืช โดยวิธี DPPH radical scavenging

นำสารสกัดหยาบที่สกัดจาก ใบ และกิ่งของมะยมที่เก็บมาจาก 3 จังหวัด มาทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธีดักจับอนุมูลอิสระของ DPPH (DPPH Radical Scavenging method) ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดหยาบให้เท่ากับ 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นสูงสุด (10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราดมีค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับร้อยละ 86.97 รองลงมาคือสารสกัดใบจากจังหวัดตราดเท่ากับร้อยละ 59.24 สารสกัดใบจากจังหวัดระยองเท่ากับร้อยละ 52.70 สารสกัดกิ่งจากจังหวัดระยองเท่ากับร้อยละ 46.18 สารสกัดกิ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรีเท่ากับร้อยละ 38.40 และสารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณบุรีเท่ากับร้อยละ 32.41 ตามลำดับ ซึ่งค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระมีค่าน้อยลงเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดน้อยลง และเมื่อนำมาเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวกคือวิตามินอีที่มีค่าร้อยละเท่ากับ 89.99 สารสกัดนั้นมีค่าร้อยละที่น้อยกว่าตัวควบคุมเชิงบวกทั้งหมดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ดังตารางที่ 4.2)

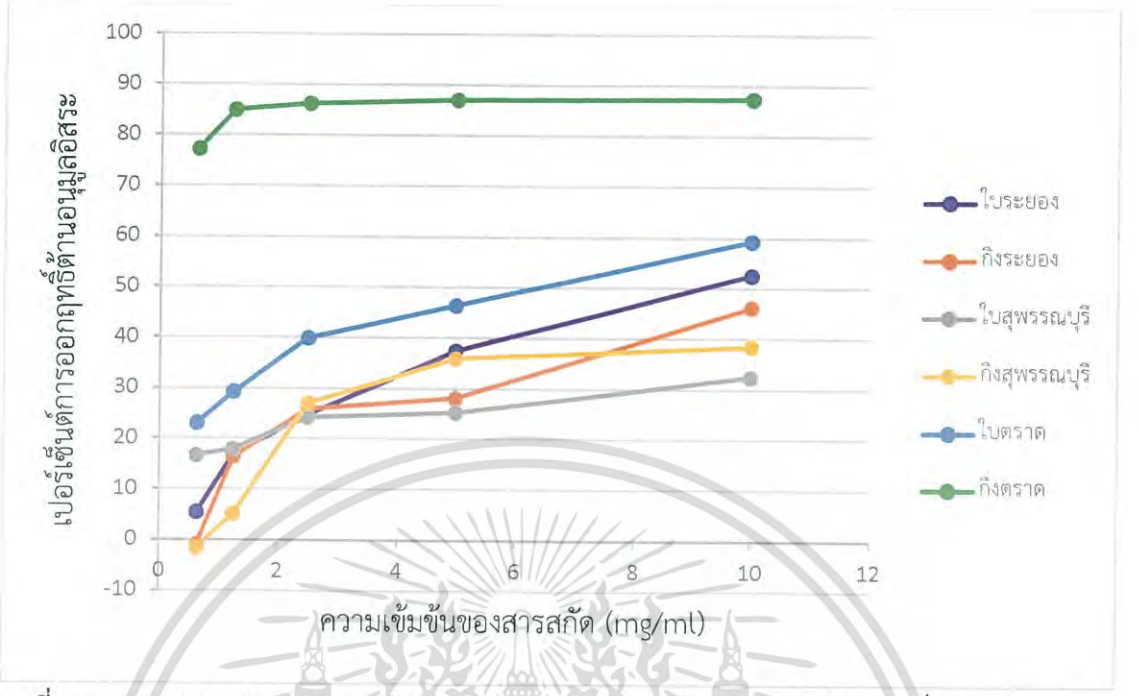
ความเข้มข้น(มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระของ DPPH		
	สุพรรณบุรี	ระยอง	ตราด
ใบ			
0.625	$16.66^{b} \pm 4.20$	$1.70^{d} \pm 23.68$	$23.02^{d} \pm 7.87$
1.25	$17.93^{b} \pm 5.86$	$16.87^{cd} \pm 4.14$	$29.21^{d} \pm 2.05$
2.5	$24.20^{b} \pm 21.07$	$24.82^{c} \pm 9.24$	$40.00^{c} \pm 15.03$
5	$25.22^{b} \pm 6.93$	$37.36^{bc} \pm 8.32$	$46.24^{c} \pm 4.32$
10	$32.41^{b} \pm 15.04$	$52.70^{b} \pm 12.61$	$59.24^{b} \pm 7.17$
α-tocopherol	$89.99^{a} \pm 4.23$	$89.99^{a} \pm 4.23$	$89.99^{a} \pm 4.23$
IC_{90}(มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	45.83	17.47	17.94
กิ่ง			
0.625	$-1.56^{d} \pm 2.55$	$-0.84^{d} \pm 9.24$	$77.22^{c} \pm 3.13$
1.25	$5.02^{d} \pm 4.21$	$16.44^{c} \pm 10.43$	$84.97^{b} \pm 0.37$
2.5	$26.97^{c} \pm 2.44$	$25.83^{b} \pm 6.93$	$85.35^{b} \pm 2.18$
5	$35.66^{b} \pm 14.24$	$27.88^{b} \pm 21.21$	$86.03^{b} \pm 2.77$
10	$38.40^{b} \pm 2.83$	$46.18^{b} \pm 6.31$	$86.97^{ab} \pm 0.30$
α-tocopherol	$89.99^{a} \pm 4.23$	$89.99^{a} \pm 4.23$	$89.99^{a} \pm 4.23$
IC_{90}(มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	21.28	20.17	11.75

ตารางที่ 4.2 ร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระของ DPPH ในสารสกัดหยาบจาก ใบ และกิ่งของมะยม

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันของแต่ละส่วนมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อย

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ... ไม่ว่ากรณีใดๆ ... อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละ 95



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยมจากแหล่งต่าง ๆ

คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของมะยมแสดงในรูปของค่า IC_{90} (Inhibition concentration 90%) หรือค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัดที่ใช้ในการลดความเข้มข้นของ DPPH เริ่มต้นลดลงร้อยละ 90 เมื่อพิจารณาค่า IC_{90} พบว่าสารสกัดหยาบกิ่งจากจังหวัดตราดให้ฤทธิ์ในการยับยั้งได้ดีที่สุดโดยมีค่า IC_{90} เท่ากับ 11.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ สารสกัดใบจากจังหวัดระยอง ตราด สารสกัดกิ่งจากจังหวัดระยอง และสุพรรณบุรี โดยมีค่าเท่ากับ 17.47, 17.94, 20.17 และ 21.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ โดยสารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณบุรีมีค่า IC_{90} สูงที่สุดเท่ากับ 45.83 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ดังตารางที่ 4.2)

จากผลการทดลองเนื่องจากยังไม่พบการศึกษาเกี่ยวกับค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัดที่ใช้ในการลดความเข้มข้นของ DPPH เริ่มต้นลดลงร้อยละ 90 (IC_{90}) ของสารสกัดจากใบ และกิ่งของมะยม จึงนำงานวิจัยที่เกี่ยวข้องของ Chakraborty และคณะ (2012) ได้วิเคราะห์ค่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบมะยมที่ใช้ตัวทำละลายเมทานอลโดยมีวิตามินซีเป็นตัวควบคุมเชิงบวก จากรายงานวิจัยพบว่าสารสกัดจากใบมะยมมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.086 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และงานวิจัยของ Biswas และคณะ (2011) วิเคราะห์ค่า IC_{90} ของสารสกัดจากเปลือกไม้ของมะยมซึ่งมีค่า IC_{90} เท่ากับ 0.794 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับผลการทดลองในครั้งนี้ พบว่าค่า IC_{90} มีค่าสูงกว่าจากทั้ง 2 การทดลองอาจเป็นเพราะแหล่งที่เก็บตัวอย่างและตัวทำละลายที่ต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนของผลในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันนั้น เนื่องมาจากสารสกัดแต่ละส่วนของทั้ง 3 จังหวัดมีปริมาณของสารพฤกษเคมีในปริมาณที่ต่างกัน ซึ่งสารพฤกษเคมีมีผลกับค่าของการต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากสารพฤกษเคมีเหล่านี้มีคุณบัติในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Ozcan และคณะ, 2014) สารประกอบแทนนิน (Khanbabaee และคณะ, 2001) สารประกอบฟลาโวนอยด์ (Corradini และคณะ, 2010) และสารประกอบแอนโทไซยานิน (Cisowaska และคณะ, 2010) เมื่อสารสกัดหยาบมีสารพฤกษเคมีเหล่านี้ในปริมาณมากจึงทำให้มีผลในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี

4.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

4.3.1 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin- Ciocalteu's method ในสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยมจาก 3 จังหวัดที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

โดยทำการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก พบว่าสารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราดมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเทียบเท่ากับ 0.2088 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาคือสารสกัดกิ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรี ใบจังหวัดตราด ใบจังหวัดระยอง กิ่งจังหวัดระยอง และใบจังหวัดสุพรรณบุรี ที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเทียบเท่ากับ 0.0430, 0.0172, 0.0158, 0.0078 และ 0.0018 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (ดังตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

สารสกัดหยาบ	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	mgGAE/g สารสกัด
ใบ	สุพรรณบุรี	$0.0018^{b} \pm 0.0001$
	ระยอง	$0.0158^{b} \pm 0.0210$
	ตราด	$0.0172^{b} \pm 0.0050$
กิ่ง	สุพรรณบุรี	$0.0430^{b} \pm 0.0930$
	ระยอง	$0.0078^{b} \pm 0.0080$
	ตราด	$0.2088^{a} \pm 0.0210$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากงานวิจัยของ Eldeen และคณะ (2010) พบว่าสารสกัดจากใบของมะยมมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 0.16 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งมีความสอดคล้องกับสารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด โดยสารสกัดจากกิ่งจังหวัดตราดมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่มากกว่าเพียงเล็กน้อย

4.3.2 สารประกอบฟลาโวนอยด์

จากการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยมที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยนำค่าการดูดกลืนแสงในสารสกัดหยาบมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของควอซิทิน พบว่าในสารสกัดใบจากจังหวัดระยองมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุดเท่ากับ 529.00 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาคือสารสกัดใบจากจังหวัดตราด จังหวัดสุพรรณบุรี สารสกัดกิ่งจากจังหวัดระยอง ตราด และสุพรรณบุรี ที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์เท่ากับ 411.00, 303.00, 103.00, 57.00 และ 23.60 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ (ดังตารางที่ 4.4) ซึ่งจากการทดลองสารสกัดจากใบมีปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์มากกว่าในสารสกัดจากกิ่ง

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

สารสกัดหยาบ	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	mgQE/g สารสกัด
ใบ	สุพรรณบุรี	$303.00^{c} \pm 100.35$
	ระยอง	$529.00^{a} \pm 26.08$
	ตราด	$411.00^{b} \pm 23.02$
กิ่ง	สุพรรณบุรี	$23.60^{e} \pm 8.65$
	ระยอง	$103.00^{d} \pm 19.74$
	ตราด	$57.00^{de} \pm 30.33$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากงานวิจัยของ Biswas และคณะ (2011) วิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดในเปลือกไม้ของมะยมโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล ไม่พบสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดจากเปลือกไม้ของมะยม และงานวิจัยของ Kumari และคณะ (2014) ได้วิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดในใบของมะยมโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล พบว่ามีสารประกอบฟลาโวนอยด์ ซึ่งจากงานวิจัยข้างต้นมีผลการทดลองสอดคล้องกับผลการทดลองนี้ในส่วนของสารสกัดจากใบ ส่วนใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดจากกิ่งเนื่องจากแหล่งที่เก็บตัวอย่าง และองค์ประกอบของสารภายในเนื้อไม้ของกิ่งจึงทำให้มีผลที่ต่างกับงานวิจัยของ Biswas

4.3.3 สารประกอบแทนนิน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม จากแหล่งต่าง ๆ พบว่าสารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราดมีปริมาณสารประกอบแทนนินมากที่สุดเท่ากับ 103.00 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาคือสารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณบุรี สารสกัดกิ่งจากจังหวัดระยอง สุพรรณบุรี สารสกัดใบจากจังหวัดระยอง และจังหวัดตราด ที่มีปริมาณสารประกอบแทนนินเท่ากับ 39.66, 35.00, 23.66, 13.66 และ 7.00 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ (ดังตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณแทนนินในสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

สารสกัดหยาบ	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	mgTAE/g สารสกัด
ใบ	สุพรรณบุรี	$39.66^{b} \pm 2.79$
	ระยอง	$13.66^{c} \pm 6.91$
	ตราด	$7.00^{c} \pm 3.80$
กิ่ง	สุพรรณบุรี	$23.66^{bc} \pm 9.01$
	ระยอง	$35.00^{b} \pm 13.21$
	ตราด	$103.00^{a} \pm 23.85$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากศึกษางานวิจัยของ Kumari และคณะ (2015) ที่มีการวิเคราะห์สารประกอบแทนนินในสารสกัดจากใบของมะยมที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอลพบว่ามีสารประกอบแทนนินในสารสกัดจากใบเช่นกัน ซึ่งมีผลการทดลองสอดคล้องกับผลการทดลองนี้ แต่ในงานวิจัยของ Angamuthu และคณะ (2014) ไม่พบสารประกอบแทนนินในสารสกัดจากใบของมะยมที่ใช้ตัวทำละลายเมทานอล และในงานวิจัยของ Biswas และคณะ (2011) พบว่าสารสกัดจากเปลือกไม้ของมะยมไม่พบสารประกอบแทนนินเช่นกัน ซึ่งจากผลที่ต่างกันนี้เนื่องจากแหล่งที่เก็บตัวอย่าง และตัวทำละลายมีความต่างกันจึงทำให้ผลที่ได้แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.4 สารประกอบแอนโทไซยานิน

การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH – differential ที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม พบว่าสารสกัดใบจากจังหวัดตราดมีปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินสูงที่สุดเท่ากับ 0.00192 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตรของสารสกัด รองลงมาคือสารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณบุรี ระยอง จากกิ่งจังหวัดระยอง ตราด และสุพรรณบุรี ที่มีสารประกอบแอนโทไซยานินเท่ากับ 0.00089, 0.00080, 0.00076, 0.00064 และ 0.00061 ตามลำดับ (ดังตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 แสดงปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

สารสกัดหยาบ	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	mg ของ Cyanidin-3-glucoside/l สารสกัด
ใบ	สุพรรณบุรี	$0.00089^{b} \pm 0.00009$
	ระยอง	$0.00080^{bc} \pm 0.00013$
	ตราด	$0.00192^{a} \pm 0.00011$
กิ่ง	สุพรรณบุรี	$0.00061^{d} \pm 0.00008$
	ระยอง	$0.00076^{c} \pm 0.00007$
	ตราด	$0.00064^{d} \pm 0.00005$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เนื่องจากยังไม่พบการศึกษาการวิเคราะห์สารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดส่วนใบและกิ่งของมะยม จึงนำงานวิจัยที่เกี่ยวข้องของ Narasimhudu และ Raju (2012) ที่ได้วิเคราะห์สารพฤกษเคมีของพืชวงศ์ Euphorbiaceae จำนวน 15 ชนิด ซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกับมะยม พบว่าในสารสกัดหยาบของพืชวงศ์นี้มีสารประกอบแอนโทไซยานินถึง 14 ใน 15 ชนิด

4.4 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบจากพืช

โดยนำสารสกัดหยาบจากใบและกิ่งมะยมที่ได้จาก 3 จังหวัดมาทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* TISTR 678, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* ATCC 25299 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 ที่ความเข้มข้นสูงสุด 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยวิธี Agar well Diffusion และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ไม่มีเชื้อเจริญรอบ ๆ หลุมทดสอบที่ใส่สารสกัดหยาบ

4.4.1 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 678 จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

ก. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด

ข. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรี

ค. สารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณบุรี

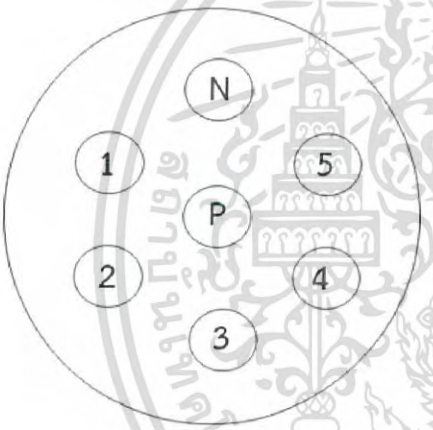
ง. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดระยอง

รูปที่ 4.2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จ. สารสกัดใบจากจังหวัดระยอง

ฉ. สารสกัดใบจากจังหวัดตราด



(1) สารสกัดที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(2) สารสกัดที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(3) สารสกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(4) สารสกัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(5) สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(N) เอทานอลร้อยละ 95 (P) ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน

รูปที่ 4.2 (ต่อ) แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ของสารสกัดหยาบจากใบและกิ่งของมะยม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

สารสกัดหยาบ	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้ง (มิลลิเมตร)	ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน	เอทานอลร้อยละ 95
ใบ	สุพรรณบุรี	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$24.32^{a} \pm 0.33$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ระยอง	6.25	$6.00^{e} \pm 0.00$	$24.32^{a} \pm 0.33$	$6.00^{e} \pm 0.00$
		12.5	$6.11^{e} \pm 0.11$		
		25	$6.56^{d} \pm 0.90$		
		50	$6.88^{c} \pm 0.13$		
		100	$7.34^{b} \pm 0.30$		
	ตราด	12.5	$6.00^{d} \pm 0.00$	$24.32^{a} \pm 0.33$	$6.00^{d} \pm 0.00$
		25	$6.00^{d} \pm 0.00$		
		50	$6.22^{c} \pm 0.06$		
		100	$6.54^{b} \pm 0.10$		
กิ่ง	สุพรรณบุรี	25	$6.00^{d} \pm 0.00$	$24.32^{a} \pm 0.33$	$6.00^{d} \pm 0.00$
		50	$6.98^{c} \pm 0.13$		
		100	$7.22^{b} \pm 0.08$		
	ระยอง	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$24.32^{a} \pm 0.33$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ตราด	6.25	$6.00^{e} \pm 0.00$	$24.32^{a} \pm 0.33$	$6.00^{e} \pm 0.00$
		12.5	$6.15^{e} \pm 0.10$		
		25	$6.46^{d} \pm 0.21$		
		50	$7.27^{c} \pm 0.20$		
		100	$11.55^{b} \pm 0.12$		

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดแต่ละจังหวัดกับยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินและเอทานอลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบความสามารถของสารสกัดของมะยมในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้ผลดังตารางแสดงที่ 4.7 พบว่าสารสกัดใบจากจังหวัดระยอง ตราด สารสกัดกิ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรี ตราด มีการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดต่ำสุดที่ 12.5 50 50 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และยังพบว่าที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดนั้นในส่วนของสารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราดมีการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้ดีที่สุดโดยมีบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 11.55 มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดใบจากจังหวัดตราดมีการยับยั้งได้ต่ำที่สุดโดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 6.54 มิลลิเมตร ในขณะที่สารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณบุรีและกิ่งจากจังหวัดระยองไม่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากยังไม่พบงานวิจัยเกี่ยวกับการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ของสารสกัดจากใบ และกิ่งของมะยม จึงเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Foyzun และคณะ (2016) ซึ่งทดสอบสารสกัดจากเนื้อผล และเมล็ดของมะยมที่ใช้ตัวทำละลายเมทานอล พบว่าสารสกัดจากเนื้อผล และเมล็ดมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้

4.4.2 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

ก. สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

(1) สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด
(2) สารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณบุรี
(3) สารสกัดใบจากจังหวัดระยอง
(N) เอทานอลร้อยละ 95
(P) ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน

รูปที่ 4.3 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดหยาบจากใบและกิ่งของมะยม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข. สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

(4) สารสกัดใบจากจังหวัดตราด

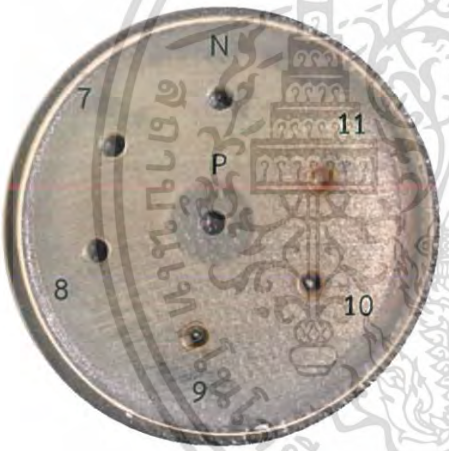
(5) สารสกัดกิ่งจากจังหวัดระยอง

(6) สารสกัดกิ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรี

(N) เอทานอลร้อยละ 95

(P) ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน

ค. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด



(7) สารสกัดที่ความเข้มข้น 6.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

(8) สารสกัดที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

(9) สารสกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

(10) สารสกัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

(11) สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

รูปที่ 4.3 (ต่อ) แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดหยาบจากใบและกิ่งของมะยม

สารสกัดหยาบ	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้ง (มิลลิเมตร)	ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน	เอทานอลร้อยละ 95
ใบ	สุพรรณบุรี	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$18.94^{a} \pm 0.35$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ระยอง	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$18.94^{a} \pm 0.35$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ตราด	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$18.94^{a} \pm 0.35$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
กิ่ง	สุพรรณบุรี	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$18.94^{a} \pm 0.35$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ระยอง	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$18.94^{a} \pm 0.35$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ตราด	25	$6.00^{c} \pm 0.00$	$18.94^{a} \pm 0.35$	$6.00^{c} \pm 0.00$
		50	$6.00^{c} \pm 0.00$		
		100	$7.13^{b} \pm 0.17$		

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดแต่ละจังหวัดกับยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินและเอทานอลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากผลการทดลองตารางที่ 4.8 แสดงถึงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดจากใบ และกิ่งของมะยม พบว่ามีเพียงสารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราดเท่านั้นที่มีการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 7.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากงานวิจัยของ Jagessar และ Hope (2016) ทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากใบของมะยมที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดจากใบของมะยมมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ ซึ่งต่างจากการทดลองนี้สารสกัดจากใบไม่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้ อาจเนื่องมาจากตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดต่างกัน และจากงานวิจัยของ Biswas และคณะ (2011) ทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกไม้ของมะยมที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอล พบว่าสารสกัดจากเปลือกไม่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* แต่สารสกัดจากกิ่งจังหวัดตราดสามารถยับยั้งเชื้อได้ ทั้งนี้เนื่องมาจากแหล่งที่เก็บพืช และส่วนของพืช

4.4.3 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

รูปที่ 4.4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ของสารสกัดหยาบจากใบและกิ่งของมะยม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด

(7) สารสกัดที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(8) สารสกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(9) สารสกัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(10) สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

รูปที่ 4.4 (ต่อ) แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ของสารสกัดหยาบจากใบและกิ่งของมะยม

ตารางที่ 4.9 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ของสารสกัดหยาบจากใบและกิ่งของมะยม

สารสกัดหยาบ	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้ง (มิลลิเมตร)	ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน	เอทานอลร้อยละ 95
ใบ	สุพรรณบุรี	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$13.05^{a} \pm 0.19$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ระยอง	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$13.05^{a} \pm 0.19$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ตราด	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$13.05^{a} \pm 0.19$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 (ต่อ) แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

สารสกัดหยาบ	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้ง (มิลลิเมตร)	ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน	เอทานอลร้อยละ 95
กิ่ง	สุพรรณบุรี	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$13.05^{a} \pm 0.19$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ระยอง	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$13.05^{a} \pm 0.19$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ตราด	12.5	$6.00^{e} \pm 0.00$	$13.05^{b} \pm 0.19$	$6.00^{e} \pm 0.00$
		25	$9.14^{d} \pm 0.20$		
		50	$9.78^{c} \pm 0.13$		
		100	$14.30^{a} \pm 0.30$		

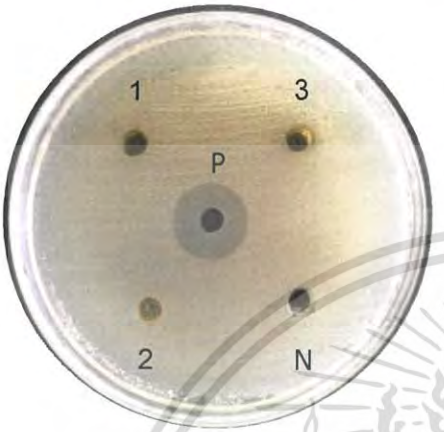
หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดแต่ละจังหวัดกับยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินและเอทานอลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากผลการทดลองตารางที่ 4.9 แสดงถึงความสามารถในการยับยั้ง *S. epidermidis* ของสารสกัดจากใบ และกิ่งของมะยม พบว่ามีเพียงสารสกัดจากกิ่งจังหวัดตราดเท่านั้นที่มีการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 14.30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีบริเวณการยับยั้งมากกว่ายาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.4 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Yersinia enterocolitica* จากสารสกัดหยาบจากใบและกิ่งของมะยม

ก. สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



(1) สารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณบุรี
(2) สารสกัดกิ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรี
(3) สารสกัดใบจากจังหวัดระยอง
(N) เอทานอลร้อยละ 95
(P) ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน

ข. สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

(4) สารสกัดกิ่งจากจังหวัดระยอง
(5) สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด
(6) สารสกัดใบจากจังหวัดตราด

รูปที่ 4.5 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica* ของสารสกัดหยาบจากใบและกิ่งของมะยม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

สารสกัดหยาบ	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้ง (มิลลิเมตร)	ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน	เอทานอลร้อยละ 95
ใบ	สุพรรณบุรี	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$17.88^{a} \pm 0.26$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ระยอง	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$17.88^{a} \pm 0.26$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ตราด	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$17.88^{a} \pm 0.26$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
กิ่ง	สุพรรณบุรี	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$17.88^{a} \pm 0.26$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ระยอง	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$17.88^{a} \pm 0.26$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ตราด	12.5	$6.00^{b} \pm 0.00$	$17.88^{a} \pm 0.26$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		25	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		

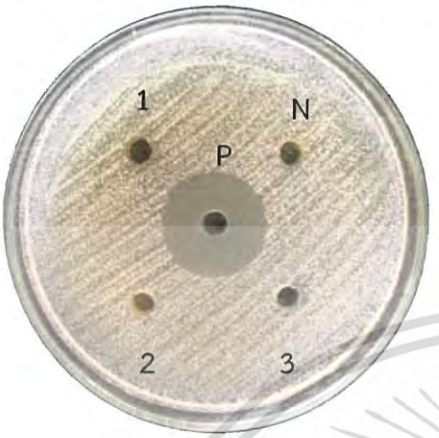
หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดแต่ละจังหวัดกับยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินและเอทานอลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากผลการทดลองตารางที่ 4.10 พบว่าสารสกัดจากใบ และกิ่งของมะยมทั้ง 3 จังหวัดไม่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica* ทั้งนี้ยังไม่พบการศึกษาเกี่ยวกับความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica* ของสารสกัดจากใบ และกิ่งของมะยม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

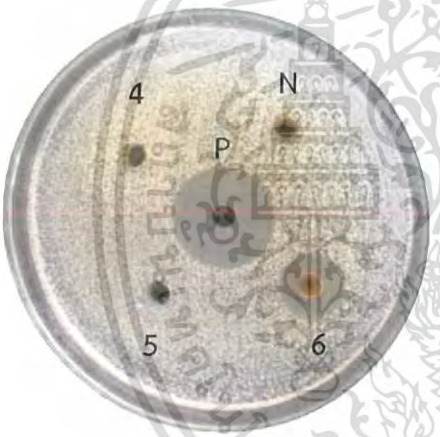
4.4.5 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

ก. สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



(1) สารสกัดกิ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรี
(2) สารสกัดใบจากจังหวัดระยอง
(3) สารสกัดกิ่งจากจังหวัดระยอง
(N) เอทานอลร้อยละ 95
(P) ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน

ข. สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



(4) สารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณบุรี
(5) สารสกัดใบจากจังหวัดตราด
(6) สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด

ค. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด

(7) สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(8) สารสกัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(9) สารสกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(10) สารสกัดที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(11) สารสกัดที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

รูปที่ 4.6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งมะยม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด

(12) สารสกัดที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(13) สารสกัดที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(14) สารสกัดที่ความเข้มข้น 1.5625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (15) สารสกัดที่ความเข้มข้น 0.78125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(N) เอทานอลร้อยละ 95
(P) ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน

รูปที่ 4.6 (ต่อ) แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดหยาบจากใบและ กิ่งมะยม

ตารางที่ 4.11 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

สารสกัดหยาบ	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้ง (มิลลิเมตร)	ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน	เอทานอลร้อยละ 95
ใบ	สุพรรณบุรี	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$27.31^{a} \pm 0.27$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ระยอง	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$27.31^{a} \pm 0.27$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ตราด	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$27.31^{a} \pm 0.27$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 (ต่อ) แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดหยาบจากใบและกิ่งของมะยม

สารสกัดหยาบ	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้ง (มิลลิเมตร)	ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน	เอทานอลร้อยละ 95
กิ่ง	สุพรรณบุรี	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$27.31^{a} \pm 0.27$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ระยอง	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$27.31^{a} \pm 0.27$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ตราด	1.5625	$6.00^{h} \pm 0.00$	$27.31^{a} \pm 0.27$	$6.00^{h} \pm 0.00$
		3.125	$6.33^{g} \pm 0.17$		
		6.25	$6.84^{f} \pm 0.82$		
		12.5	$7.24^{e} \pm 0.25$		
		25	$8.26^{d} \pm 0.32$		
		50	$9.10^{c} \pm 0.10$		
		100	$11.12^{b} \pm 0.00$		

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดแต่ละจังหวัดกับยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินและเอทานอลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

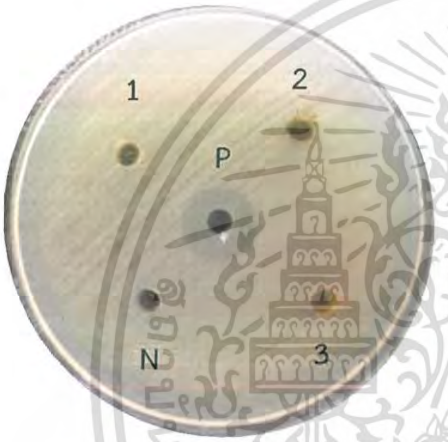
เมื่อพิจารณาผลการทดลองจากตารางที่ 4.11 ในการแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากใบ และกิ่งของมะยม พบว่าสารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราดมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้โดยมีความกว้างของบริเวณการยับยั้งมากที่สุดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากับ 11.12 มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดจากใบ และกิ่งที่เหลือนั้นไม่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้เพราะไม่เกิดบริเวณการยับยั้ง จากงานวิจัยของ Jagessar และคณะ (2008) ที่ทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากใบของมะยมที่ใช้ตัวทำละลายต่างกัน พบว่าสารสกัดจากใบของมะยมมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้แต่มีบริเวณการยับยั้งที่ต่างกันออกไปในแต่ละตัวทำละลายที่ใช้ และงานวิจัยของ Biswas และคณะ (2011) พบว่าสารสกัดจากเปลือกไม้ไม่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ซึ่งจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองนี้สารสกัดจากใบไม่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแต่สารสกัดจากกิ่งสามารถยับยั้งได้ ทั้งนี้เนื่องมาจากแหล่งสถานที่เก็บตัวอย่าง และตัวทำละลายที่ใช้มีความแตกต่างกันจึงทำให้ผลมีความแตกต่างกัน

4.4.6 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coil* ATCC 25299 จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

ก. สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



(1) สารสกัดกิ่งจากจังหวัดสุพรรณ
(2) สารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณ
(3) สารสกัดกิ่งจากจังหวัดระยอง
(N) เอทานอลร้อยละ 95
(P) ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน

ข. สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

(4) สารสกัดใบจากจังหวัดระยอง
(5) สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด
(6) สารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณ
(N) เอทานอลร้อยละ 95
(P) ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน

รูปที่ 4.7 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

สารสกัดหยาบ	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้ง (มิลลิเมตร)	ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน	เอทานอลร้อยละ 95
ใบ	สุพรรณบุรี	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$18.17^{a} \pm 0.23$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ระยอง	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$18.17^{a} \pm 0.23$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ตราด	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$18.17^{a} \pm 0.23$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
กิ่ง	สุพรรณบุรี	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$18.17^{a} \pm 0.23$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ระยอง	25	$6.00^{b} \pm 0.00$	$18.17^{a} \pm 0.23$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		
	ตราด	12.5	$6.00^{b} \pm 0.00$	$18.17^{a} \pm 0.23$	$6.00^{b} \pm 0.00$
		25	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		50	$6.00^{b} \pm 0.00$		
		100	$6.00^{b} \pm 0.00$		

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดแต่ละจังหวัดกับยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซินและเอทานอลมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.12 พบว่าสารสกัดจากใบ และกิ่งของมะยมทั้ง 3 จังหวัดไม่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ จากงานวิจัยของ Jagessar และคณะ (2008) และงานวิจัยของ Biswas และคณะ (2011) พบว่าสารสกัดจากใบ และเปลือกไม้ของมะยมมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ แต่มีบริเวณการยับยั้งที่ต่างกันออกไปในแต่ละตัวทำละลายที่ใช้ ซึ่งจากผลการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้นำไฟล์นี้ไปโพสต์ต่อในอินเทอร์เน็ต

ทดลองนี้สารสกัดจากใบ และกิ่งไม่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้ ทั้งนี้เนื่องมาจากแหล่งสถานที่เก็บตัวอย่าง และตัวทำละลายที่ใช้มีความแตกต่างกัน

4.5 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย (MBC) โดยวิธี Broth dilution

จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการทำลายเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Broth dilution เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบจากมะยมทั้ง 2 ส่วนได้แก่ ใบ และกิ่งที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากส่วนต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* TISTR 678, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* ATCC 25299 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 ซึ่งหลุมที่มีความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียหรือหลุมที่หลังทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียจะเป็นค่าความเข้มข้นของค่า MIC แต่เนื่องด้วยสารสกัดหยาบทั้ง 2 ส่วนมีสีเข้ม จึงทำให้การดูผลของค่า MIC เป็นไปได้ยากจึงได้ทำการเลือกความเข้มข้นทั้งหมดมา Streak ลงอาหาร NA เพื่อหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ (MBC)

4.5.1 ฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 678 จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

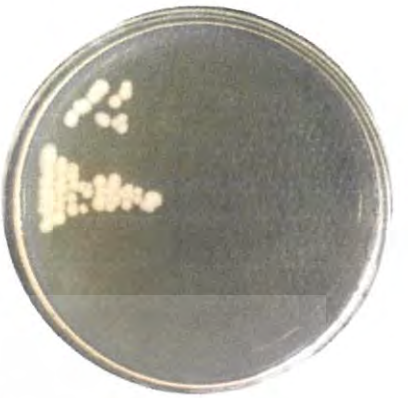
ก. สารสกัดใบจากจังหวัดตราด ข. สารสกัดใบจากจังหวัดระยอง

รูปที่ 4.8 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถทำลายเชื้อ *B. cereus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค. สารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณบุรี

ง. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด



จ.สารสกัดกิ่งจากจังหวัดระยอง

ฉ. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรี

รูปแบบการ Streak

(1) สารสกัดที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(2) สารสกัดที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(3) สารสกัดที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(4) สารสกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(5) สารสกัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(6) สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(G) Growth control (S) Sterile control

รูปที่ 4.8 (ต่อ) การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถทำลายเชื้อ *B. cereus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 แสดงความสามารถในการทำลายเชื้อ *B. cereus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่ง ของมะยม

ส่วนของพืช	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	ค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ใบ	ตราด	12.5
	ระยอง	12.5
	สุพรรณบุรี	12.5
กิ่ง	ตราด	6.25
	ระยอง	6.25
	สุพรรณบุรี	6.25

จากตารางที่ 4.13 เมื่อพิจารณาความสามารถในการทำลายเชื้อ *B. cereus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งมะยม พบว่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดคือสารสกัดจากใบจังหวัดตราด ระยอง สุพรรณบุรี และสารสกัดจากกิ่งจังหวัดตราด ระยอง สุพรรณบุรี ที่ 6.25, 6.25, 6.25, 12.5, 12.5และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

4.5.2 ฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

ก. สารสกัดใบจากจังหวัดตราด ข. สารสกัดใบจากจังหวัดระยอง

รูปที่ 4.9 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถทำลายเชื้อ *P. aeruginosa*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค. สารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณบุรี

ง. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด

จ. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดระยอง

ฉ. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรี

รูปแบบการ Streak

(1) สารสกัดที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(2) สารสกัดที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(3) สารสกัดที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(4) สารสกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(5) สารสกัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(6) สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(G) Growth control (S) Sterile control

รูปที่ 4.9 (ต่อ) การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถทำลายเชื้อ *P. aeruginosa*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 แสดงความสามารถในการทำลายเชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดหยาบจากใบ และ กิ่งของมะยม

ส่วนของพืช	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	ค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ใบ	ตราด	50
	ระยอง	>100
	สุพรรณบุรี	>100
กิ่ง	ตราด	>100
	ระยอง	100
	สุพรรณบุรี	100

จากตารางที่ 4.14 เมื่อพิจารณาความสามารถในการทำลายเชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดจากใบ และกิ่งของมะยม พบว่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยมที่สามารถทำลายเชื้อ *P. aeruginosa* คือ สารสกัดจากใบจังหวัดตราด และสารสกัดจากกิ่งจังหวัดระยอง และสุพรรณบุรีที่ความเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่เหลือมีค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดมากกว่า 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4.5.3 ฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

ก. สารสกัดใบจากจังหวัดตราด ข. สารสกัดใบจากจังหวัดระยอง

รูปที่ 4.10 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถทำลายเชื้อ *S. epidermidis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น และห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

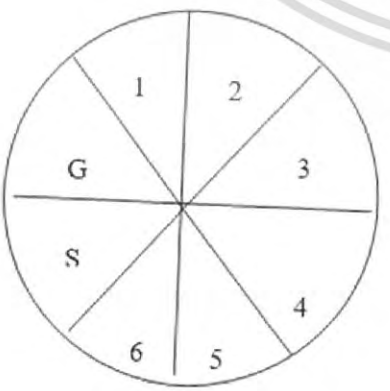
ค. สารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณบุรี

ง. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด

จ. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดระยอง

ฉ. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรี

รูปแบบการ Streak



(1) สารสกัดที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(2) สารสกัดที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(3) สารสกัดที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(4) สารสกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(5) สารสกัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(6) สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(G) Growth control (S) Sterile control

รูปที่ 4.10 (ต่อ) การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถทำลายเชื้อ *S. epidermidis*

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.15 แสดงความสามารถในการทำลายเชื้อ *S. epidermidis* ของสารสกัดหยาบจากใบและ กิ่งของมะยม

ส่วนของพืช	แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	ค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ใบ	ตราด	>100
	ระยอง	100
	สุพรรณ	50
กิ่ง	ตราด	25
	ระยอง	50
	สุพรรณ	100

จากตารางที่ 4.15 เมื่อพิจารณาความสามารถในการทำลายเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ของสารสกัดจากใบ และกิ่งของมะยม พบว่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อ *S. epidermidis* คือ สารสกัดจากกิ่งจังหวัดตราด ระยอง สุพรรณ สารสกัดจากใบจังหวัดระยอง และสุพรรณบุรี คือ 25, 50, 100, 100 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากใบจังหวัดตราดมีความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดมากกว่า 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร

4.5.4 ฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *Yersinia enterocolitica* จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

ก. สารสกัดใบจากจังหวัดตราด

ข. สารสกัดใบจากจังหวัดระยอง

รูปที่ 4.11 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถทำลายเชื้อ *Y. enterocolitica*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

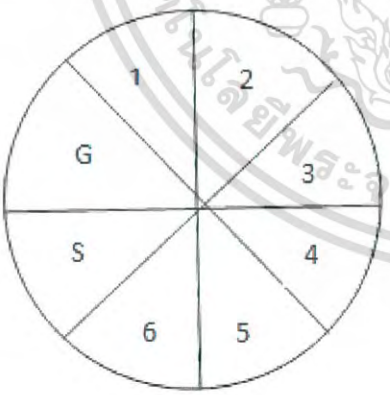
ค. สารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณบุรี

ง. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด

จ. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดระยอง

ฉ. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรี

รูปแบบการ Streak



(1) สารสกัดที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(2) สารสกัดที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(3) สารสกัดที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(4) สารสกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(5) สารสกัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(6) สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(G) Growth control (S) Sterile control

รูปที่ 4.11 (ต่อ) การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถทำลายเชื้อ *Y. enterocolitica*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.16 แสดงความสามารถในการทำลายเชื้อ *Y. enterocolitica* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

ส่วนของพืช	จังหวัด	ค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ใบ	ตราด	>100
	ระยอง	>100
	สุพรรณบุรี	>100
กิ่ง	ตราด	>100
	ระยอง	>100
	สุพรรณบุรี	>100

จากตารางที่ 4.16 เมื่อพิจารณาความสามารถในการทำลายเชื้อ *Y. enterocolitica* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งมะยม พบว่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากใบและกิ่งของมะยมที่สามารถทำลายเชื้อ *Y. enterocolitica* มีค่าความเข้มข้นมากกว่า 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4.5.5 ฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *Staphylococcus aureus* จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

ก. สารสกัดใบจากจังหวัดตราด ข. สารสกัดใบจากจังหวัดระยอง

รูปที่ 4.12 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถทำลายเชื้อ *S. aureus*

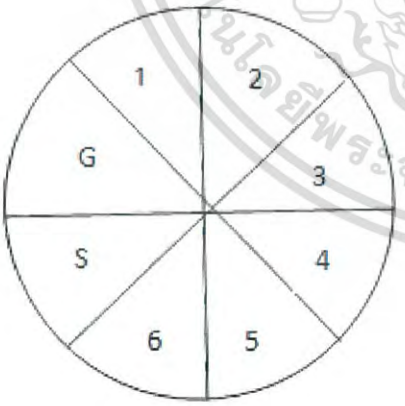
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค. สารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณบุรี

ง. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรี

จ. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดระยอง

รูปแบบการ Streak รูป ก-จ



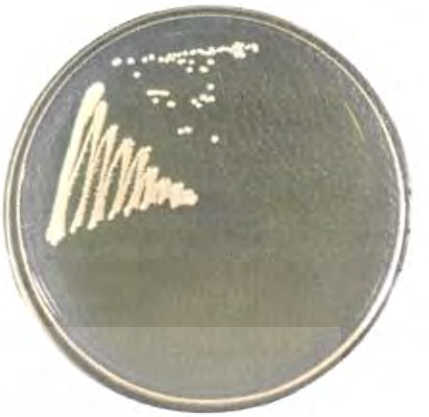
(1) สารสกัดที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(2) สารสกัดที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(3) สารสกัดที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(4) สารสกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(5) สารสกัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(6) สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(G) Growth control (S) Sterile control

รูปที่ 4.12 (ต่อ) การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถทำลายเชื้อ *S. aureus*

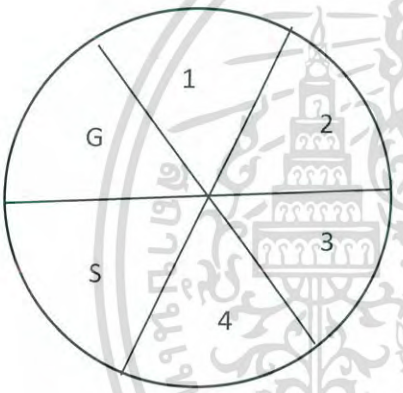
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฉ. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด

ช. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด

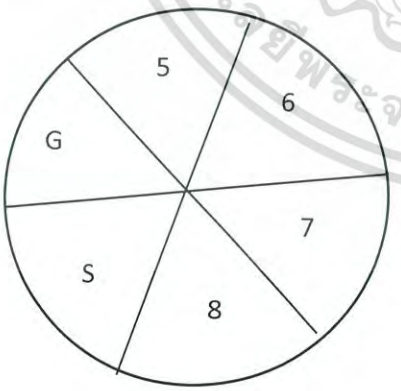


รูปแบบการ streak รูป ฉ



(1) สารสกัดที่ความเข้มข้น 0.78125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(2) สารสกัดที่ความเข้มข้น 1.5625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(3) สารสกัดที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(4) สารสกัดที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(G) Growth control (S) Sterile control

รูปแบบการ streak รูป ช



(5) สารสกัดที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(6) สารสกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(7) สารสกัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(8) สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(G) Growth control (S) Sterile control

รูปที่ 4.12 (ต่อ) การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถทำลายเชื้อ *S. aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.17 แสดงความสามารถในการทำลายเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

ส่วนของพืช	จังหวัด	ค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ใบ	ตราด	50
	ระยอง	100
	สุพรรณบุรี	50
กิ่ง	ตราด	25
	ระยอง	50
	สุพรรณบุรี	50

จากตารางที่ 4.17 เมื่อพิจารณาความสามารถในการทำลายเชื้อ *S.* aureus ของสารสกัดจากใบ และกิ่งของมะยม พบว่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อ *S.* aureus คือ สารสกัดจากกิ่งจังหวัดตราด สารสกัดของใบจังหวัดตราด สุพรรณบุรี สารสกัดจากกิ่งจังหวัดสุพรรณบุรี ระยอง และสารสกัดจากใบจังหวัดระยองที่ความเข้มข้น 25, 50, 50, 50, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

4.5.6 ฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25299 จากสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

ก. สารสกัดใบจากจังหวัดตราด ข. สารสกัดใบจากจังหวัดระยอง

รูปที่ 4.13 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถทำลายเชื้อ *E. coli*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

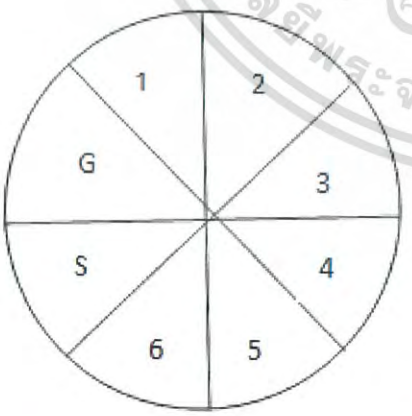
ค. สารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณบุรี

ง. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด

จ. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดระยอง

ฉ. สารสกัดกิ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรี

รูปแบบการ Streak



(1) สารสกัดที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(2) สารสกัดที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(3) สารสกัดที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(4) สารสกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(5) สารสกัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(6) สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
(G) Growth control (S) Sterile control

รูปที่ 4.13 (ต่อ) การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากมะยมที่สามารถทำลายเชื้อ *E. coli*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.18 แสดงความสามารถในการทำลายเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยม

ส่วนของพืช	จังหวัด	ค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ใบ	ตราด	>100
	ระยอง	100
	สุพรรณบุรี	>100
กิ่ง	ตราด	100
	ระยอง	100
	สุพรรณบุรี	>100

จากตารางที่ 4.18 เมื่อพิจารณาความสามารถในการทำลายเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดจากใบและกิ่งมะยม พบว่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดของใบ และกิ่งจากมะยมที่สามารถทำลายเชื้อ *E. coli* คือ สารสกัดจากใบจังหวัดระยองที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบของกิ่งจังหวัดตราดและจังหวัดระยองที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดที่เหลือมีค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดมากกว่า 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เนื่องจากยังไม่พบการศึกษาเกี่ยวกับค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ของเชื้อ *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. Cereus*, *Y. enterocolitica*, *E. coli* และ *S. epidermidis* ในสารสกัดจากมะยมจึงไม่สามารถนำงานวิจัยมาเปรียบเทียบได้

โดยในการยับยั้งและการทำลายเชื้อแบคทีเรียนี้มีผลสอดคล้องกับปริมาณของสารพฤกษเคมีในการทดลอง เนื่องจากสารพฤกษเคมีมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ เช่น สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Ozcan และคณะ, 2014) สารประกอบแทนนิน (Khanbabaee และคณะ, 2001) สารประกอบฟลาโวนอยด์ (Corradini และคณะ, 2010) และสารประกอบแอนโทไซยานิน (Cisowaska และคณะ, 2010) เมื่อสารสกัดหยาบมีปริมาณของสารพฤกษเคมีเหล่านี้ในปริมาณมากจึงทำให้มีผลต่อการยับยั้งและการทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย

5.1 สรุปผลการวิจัย

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งของมะยมจาก 3 จังหวัด มาทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีดักจับอนุมูลอิสระของ DPPH พบว่าสารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดมีค่า IC_{90} เท่ากับ 11.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีบางประการโดยมีการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ สารประกอบแทนนิน และปริมาณของแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบทั้งใบ และกิ่งจากทั้ง 3 จังหวัดพบว่าสารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราดมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และแทนนินสูงที่สุด เท่ากับ 0.2088 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และ 103.00 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด ส่วนสารสกัดใบจากจังหวัดระยองมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุด เท่ากับ 529.00 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัดสารสกัด และสารสกัดใบจากจังหวัดตราดมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุด เท่ากับ 0.00192 mg ของ cyanidin-3-glucosideต่อลิตรของสารสกัด

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจาก 3 จังหวัด ในการยับยั้งการเจริญและการทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* TISTR 678, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* ATCC 25299 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 โดยการนำมาทดสอบการยับยั้งการเจริญด้วยวิธี Agar well diffusion เมื่อทดสอบที่ความเข้มข้นสูงสุด 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดใบจากจังหวัดสุพรรณบุรี และสารสกัดกิ่งจากจังหวัดระยองไม่สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 6 ชนิดได้ ส่วนสารสกัดใบจากจังหวัดระยอง จังหวัดตราด และสารสกัดกิ่งจากจังหวัดสุพรรณบุรีสามารถยับยั้งได้เพียงเชื้อ *B. cereus* ในขณะที่สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราดสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus, S. epidermidis, P. aeruginosa* และ *B. cereus* จึงทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดลงเพื่อหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อแต่ละชนิด ในเชื้อ *B. cereus* พบว่าสารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด จังหวัดสุพรรณบุรี และสารสกัดใบจากจังหวัดระยอง จังหวัดตราดมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อที่ความเข้มข้น 12.5, 100, 12.5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนเชื้อ *S. aureus, S. epidermidis* และ *P. aeruginosa* พบว่าสารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราดมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อที่ความเข้มข้น 3.125, 25 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากการทดสอบการทำลายเชื้อด้วยวิธี Broth dilution โดยทดสอบที่ความเข้มข้นสูงสุด 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าในเชื้อ *B. cereus* สารสกัดกิ่งจากทั้ง 3 จังหวัดมีค่า MBC ต่ำที่สุดเท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าต่ำกว่าสารสกัดใบ เชื้อ *P. aeruginosa* สารสกัดใบจากจังหวัดตราดมีค่า MBC ต่ำที่สุดเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เชื้อ *S. epidermidis* สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราดมีค่า MBC ต่ำที่สุดเท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เชื้อ *Y. enterocolitica* สารสกัดทั้งใบ และกิ่งมีค่า MBC มากกว่า 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เชื้อ *S. aureus* สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราดมีค่า MBC ต่ำที่สุดเท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และในเชื้อ *E. coli* สารสกัดใบจากจังหวัดระยอง สารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราด และจังหวัดระยอง มีค่า MBC ต่ำที่สุดเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพนี้สารสกัดใบ และกิ่งของมะยมจาก 3 จังหวัดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญและการทำลายเชื้อแบคทีเรียในแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ โดยในแบคทีเรียแกรมบวกสารสกัดหยาบสามารถยับยั้งและทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ทั้ง 3 ชนิด และใช้ความเข้มข้นที่ต่ำกว่าแบคทีเรียแกรมลบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กมลทิพย์ กสิภาร์, 2543. พืชพรรณไม้พื้นบ้านอีสาน. สำนักพิมพ์มติชน, กรุงเทพมหานคร

ธันยกร อารีรัชชกุล. 2561. การสกัดแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีจากสมุนไพร. [Online]. Available: https://www.tistr.or.th/tistrblog/?p=4737

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ, 2547. แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. พิมพ์ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์ NOBLE PRINT. ศูนย์หนังสือแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร

พยุงศักดิ์ ตันติไพบูลย์วงศ์ และสุรศักดิ์ ใจเขียนดี, 2555. การวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลดีพีพีเอชและการฟอกสีอนุมูลเอบีทีเอส, เทคนิคในการตรวจวัดอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และดัชนีภาวะเครียดออกซิเดชัน. คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์มหาวิทยาลัยพะเยา ร่วมกับ สมาคมเพื่อการวิจัยอนุมูลอิสระไทย. บริษัท นพบุรีการพิมพ์จำกัด, เชียงใหม่

วีรพงศ์ ลุลิตานนท์, 2536. โรคอาหารเป็นพิษที่มีสาเหตุมาจาก *Bacillus cereus*. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์สาธารณสุขมูลฐานอาเซียน, กรุงเทพมหานคร

สมหวัง ด่านชัยวิจิตร, 2544. โรคติดเชื้อในโรงพยาบาล. พิมพ์ครั้งที่ 3. แอล ทีเพรส, กรุงเทพมหานคร :1-16.

อรอนงค์ พริ้งศุลกะ, 2555. จุลชีววิทยาทางการแพทย์: แบคทีเรียก่อโรค. บริษัทจรัลสนิทวงศ์การพิมพ์จำกัด, กรุงเทพมหานคร

Andrianto D., Widianti W., Bintang M. 2017. Antioxidant and cytotoxic activity of *Phyllanthus acidus* fruit extracts. *IOP Conference Series : Earth and Environmental Science 58*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Angamuthu, J., Ganapathy, M., Evanjelene, V. K., Ayyavuv, N., Padamanabhan, V. 2014. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Phyllanthus Acidus*. *International Journal of Innovation in Science and Mathematics*. Volume 2, Issue 1, ISSN 2347-9051

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Techologie*. 28:25-30

Biswas, S. K., Chowdhury, A., Das, J., Karmakar, U. K., Shill, M. C., Raihan, S. Z. 2011. Assessment of cytotoxicity, antibacterial activity and phytochemical screening of ethanol extract of *Phyllanthus acidus* L. (family: Euphorbiacceae) bark. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 01(06): 112-114

Chakraborty, R., De, B., Devanna, N., Sen, S. 2012. Antiimflammatory, antinociceptive and antioxidant activities of *Phyllanthus acidus* L. extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. S953-S961

Cisowska, A., Wojnicz, D., Hendrich, A. B. 2010. Anthocyanins as antimicrobial agents of natural plant origin. *Natural Product Communications*, Vol.6, No. 1, 149-156

Corradini, E., Foglia, P., Giansanti, P., Gubbiotti, R., Samperi, R., Lagana, A. 2010. Flavonoids: chemical properties and analytical methodologies of identification and quantitation in foods and plants. *Natural Product Research*. Vol. 25, No. 5

Derekbusarakom S., Herunsalee A., Yoshimizu M., Ezura Y. 1996. Antiviral activity of Several Thai traditional herb extracts against fish pathogenic viruses. *Fish Pathol*. 31(4) : 209-213

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Eldeen, I. M. S., Seow, E-M., Abdullah, R., Sulaiman, S. F. 2010. In virto antibacterial, antioxidant, total phenolic contents and anti-HIV-1 reverse transcriptase activities of extracts of seven *Phyllanthus* sp. *South African Journal of Botany,* 77: 75-79

Foyzun T., Aktar K., Uddin M. A., 2016. Evaluation of antioxidant cytotoxic and antimicrobial activity of *Phyllanthus acidus*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*., 8 (11) : 1751-1758

Halliwell, B. 2001. Free Radicals and other reactive species in Disease. *Encyclopedia of Life Sciences*, 1-7

Ingkaninan K., Temkitthawon P., Chuenchom K., Yuyaem T., Thongnoi W. 2003. Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. *J Ethnopharmacol*. 89 (2-3) : 261-264

Jain N. K., Lodhi S., Jain A., Nahata A., Singhai A. K. 2011. Effects of *Phyllanthus acidus* (L.) Skeelsfruit on carbon tetrachloride-induced acute oxidative damage in livers of rats and mice. *Journal Chinese Integrative Medicine* 9(1) : 49-56

Jagessar, R. C., Mars, A., Gomes, G. 2008. Selective antimicrobial properties of *Phyllanthus acidus* leaf extract against *Candida albicans*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* using stokes disc diffusion, well diffusion, streak plate and a dilution method. *Nature and Science*, ISSN 1545-0740

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Jagessar, R. C., Hope, S. 2016. Antimicrobial activity of the uncombined and combined aqueous extract of *Phyllanthus acidus*, *Sphagneticola trilobata* leaves and *Doliocarpus dentatus*'s bark against human pathogenic microorganisms in the absence and presence of a selective transition metal cation, Zn^{2+}. *World Journal of Pharmacertical Research*. ISSN 2278-4357

Julianti, E., Rajah K. K., Fidrianny, I. 2017. Antibacterial activity of ethanolic extract of cinnamon bark, honey and their combination effects against acne-causing bacteria. *Scientia Pharmaceutica*.

Kathirvel, A., Sujatha, V. 2012. Phytochemical analysis and antioxidant activity of Barringtonia acutangular (L.) Gaertn. Leaves. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 4(2):277-81

Khanbabaee, K., Ree, T. V. 2001. Tannins: classification and definition. *Natural Product Reports*, 18, 641-649.

Kirtikar K. R., Basu B. D. 1987. Indian Medicinal Plants. Lalit. Mohan. Basu. 2(3) : 2227-2228

Kumari, O. S., Rao, N. B., Chawhan, L. P., Rachel, B. 2014. Phytochemical analysis of *Phyllanthus amarus* (Nela usiri), *Phyllanthus emblica* and *Phyllanthus acidus*. *World Journal of Pharmacertical Research*. ISSN 2277-7105

Mahidol C., Prawat W., Prachyawarakorn V., Ruchirawat S. 2002. Investigation of some bioactive Thai medicinal plant. *Phytochem Reviews* 1 (3) : 287-297

Melendez P. A,, Capriles V. A. 2006. Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. *Phytomedicine*. 13 (4) : 272-276

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Mut-Salud, N., Alvarez, P. J., Garrido, J. M., Carrasco, E., Aranega, A., Rodriguez-Serrano. 2015. Antioxidant Intake and Antitumor Therapy: Toward nutritional recommendation for optimal results oxidative medicine and cellular longevity, 2016, 1-19

Narasimhudu, C. L., Raju, R. R. V. 2012. Phytochemical constituents of *Phyllanthus* species (Euphorbiaceae) from eastern ghats of Andhra Pradesh, India. *International Research Journal of Pharmacy*, ISSN 2230-8407

Ozcan, T., Akpinar-Bayizit, A., Yilmaz-Ersan, L., Delikanli, B. 2014. Phenolics in human health. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, Vol. 5

Rahman M., Habib R., Hasan S. M. R., Sayeed M. A., Rana S. 2011. Antibacterial cytotoxic and antioxidant potential of methanolic extract of *Phyllanthus acidus* L. *International Journal of Drug Development and Research*. Vol. 3

Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*. 299, 152-178

Sousa M., Ousingsawat J., Seitz R., Puntheeranurak S., Regalado A., Schmidt A., Grego T., Jansakul C., Amaral M. D., Schreiber R., Kunzelmann K. 2007. An extract from the medicinal plant *Phyllanthus acidus* and its isolated compounds induce airway chloride secretion: a potential treatment for cystic fibrosis. *Mol Pharmacol*. 71 (1) : 366-376

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Subhadrabandhu S. 2001. Under-utilized tropical fruit of Thailand. *RAP Publication*, Thailand. 37.

Wahed, T. B., Islam F., Alam, N., Yasmin, S. 2014. Preliminary phytochemical antioxidant and cytotoxicity study of the ethanolic extracts of *Phyllanthus acidus* L. root bark. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol. 5, Issue 6

Wrolstad, R. E., 1976. Color and pigment analyses in fruit products. *Oregon Agricultural Experiment Station Bulletin*. 624

"ต้นมะยม" เข้าถึงเมื่อ 12 พฤษภาคม 2562 สืบค้นได้จาก https://florafaunaweb.nparks.gov.sg/special-pages/plant-detail.aspx?id=3669

"ลักษณะของเซลล์ *Pseudomonas aeruginosa*" เข้าถึงเมื่อ 12 พฤษภาคม 2562 สืบค้นได้จาก https://www.ehagroup.com/resources/pathogens/

"ลักษณะของเซลล์ *Staphylococcus aureus*" เข้าถึงเมื่อ 12 พฤษภาคม 2562 สืบค้นได้จาก http://medchrome.com/mbbs-exams/staphylococcus-aureus-lab/

"ลักษณะของเซลล์ *Bacillus cereus*" เข้าถึงเมื่อ 12 พฤษภาคม 2562 สืบค้นได้จาก https://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/xbc/xbc01.html

"ลักษณะของเซลล์ *Yersinia enterocolitica*" เข้าถึงเมื่อ 12 พฤษภาคม 2562 สืบค้นได้จาก http://kukr.lib.ku.ac.th/db/BKN/search_detail/dowload_digital_file/8378/98850

"ลักษณะของเซลล์ *Escherichia coli*" เข้าถึงเมื่อ 12 พฤษภาคม 2562 สืบค้นได้จาก https://www.niaid.nih.gov/diseases-conditions/e-coli

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

"ลักษณะของเซลล์ *Staphylococcus epidermidis*" เข้าถึงเมื่อ 12 พฤษภาคม 2562 สืบค้นได้จาก https://faculty.mc3.edu/jearl/ML/ml-2-3.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

สูตรอาหาร

Nutrient Broth (NB)

เป็นอาหารสำเร็จรูป ปริมาตรที่ใช้ 13 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

Beef extract 3.0 กรัม

Peptone 5.0 กรัม

Nutrient Agar (NA)

ใช้อาหาร NB ปริมาตร 13 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร แล้วเติม Agar 15 กรัม

Mueller Hinton Agar (MHA)

เป็นอาหารสำเร็จรูป ปริมาตรที่ใช้ 38 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

Beef infusion 300 กรัม

Casamino Acid 17.5 กรัม

Starch 1.5 กรัม

Agar 17 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การเตรียมสารละลาย

1. การเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ DPPH Radical Scavenging Assay

การเตรียมสารละลายตัวอย่างในเอทานอลของสารสกัด 2 ชนิด ได้แก่ ใบ กิ่ง ของมะยมจาก 3 จังหวัด ทำการเตรียม 95% Ethanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด Micro tube 1 หลอดและปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด ต่อสารสกัด 1 ชนิด แล้วทำการระบุความเข้มข้นของสารสกัดไว้ที่หลอดคือ 10, 5, 2.5, 1.25 และ 0.625 โดยหลอด Micro tube ที่มี 95% Ethanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะระบุความเข้มข้นที่ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และชั่งสารสกัดหยาบ 10 มิลลิกรัม ใส่ในหลอด Micro tube ที่ระบุความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มี 95% Ethanol ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จะได้ปริมาตรสุทธิ 1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางต่อจะได้ความเข้มข้น 2.5, 1.25, 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิตรตามลำดับ

1.1 การเตรียมสารละลาย DPPH ใน Absolute Ethanol

การเตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 ไมโครโมล โดยชั่ง DPPH 0.0039 กรัม ละลาย

ใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

หมายเหตุ 1. ควรเตรียมก่อนใช้

2. คำนวณความเข้มข้นของ DPPH (น้ำหนักโมเลกุลของ DPPH = 394.33)

น้ำหนักสาร (g) = $1x10^{-4}$ mol/L x 394.33 g/mol

= 0.039 g/L

ถ้าต้องการเตรียม DPPH ให้มีความเข้มข้น $1x10^{-4}$ mol จำนวน 100 มิลลิลิตร

จะต้องชั่ง DPPH = (0.039 g x 100 mL)/1000 mL

= 0.0039 g

1.2 การเตรียมสารละลายวิตามินอี (α-Tocopherol)

เตรียมสารละลายวิตามินอี หรือ Alpha-tocopherol ความเข้มข้น 50 ไมโครโมล โดยทำการชั่ง

วิตามินอี 0.00215 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

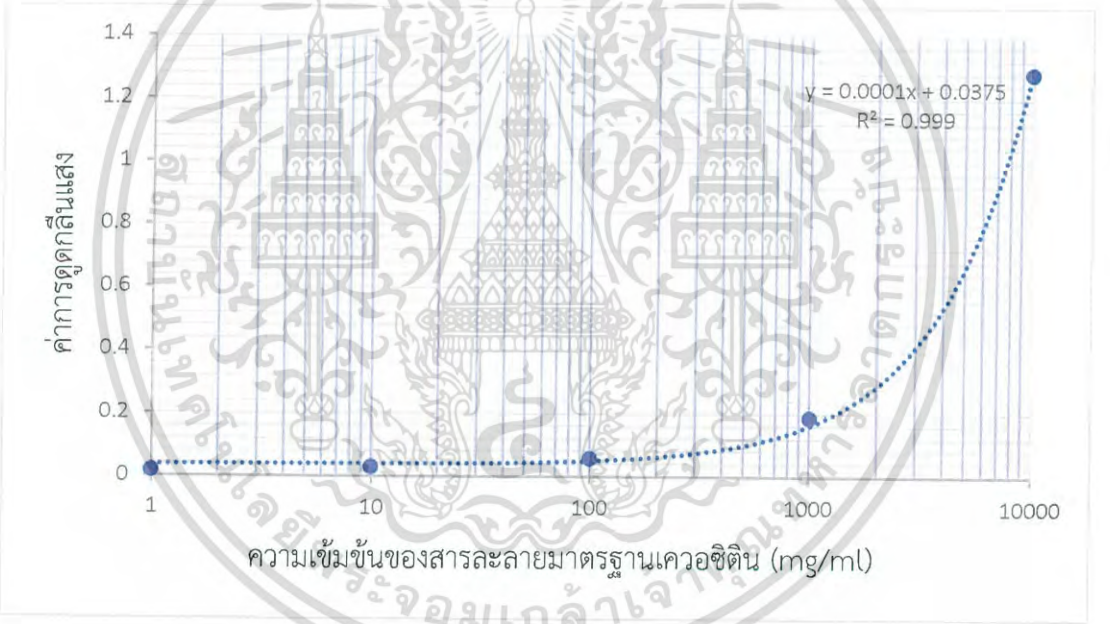
เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการเจือจางให้ความเข้มข้นเท่ากับ 1, 0.1, 0.01, 0.001 และ 0.0001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายมาตรฐานแกลลิกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ลงใน well plate ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงใน well plate ผสมให้เข้ากัน เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7.5% ปริมาตร 80 ไมโครลิตรลงในแต่ละ well plate ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดุดการกลืนแสงกับปริมาณแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม

รูปภาคผนวก ข ที่ 1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การเตรียมสารละลายมาตรฐานของควอซิติน

ทำการการเตรียมสารละลายมาตรฐานของควอซิติน ที่ระดับความเข้มข้น 1 ถึง 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตรในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายอะลูมิเนียมครอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลง ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตรและน้ำกลั่นปริมาตร 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาตรของสารประกอบฟลาโวนอยด์จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของควอซิตินจากนั้นรายงายผลในหน่อยมิลลิกรัมของควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด

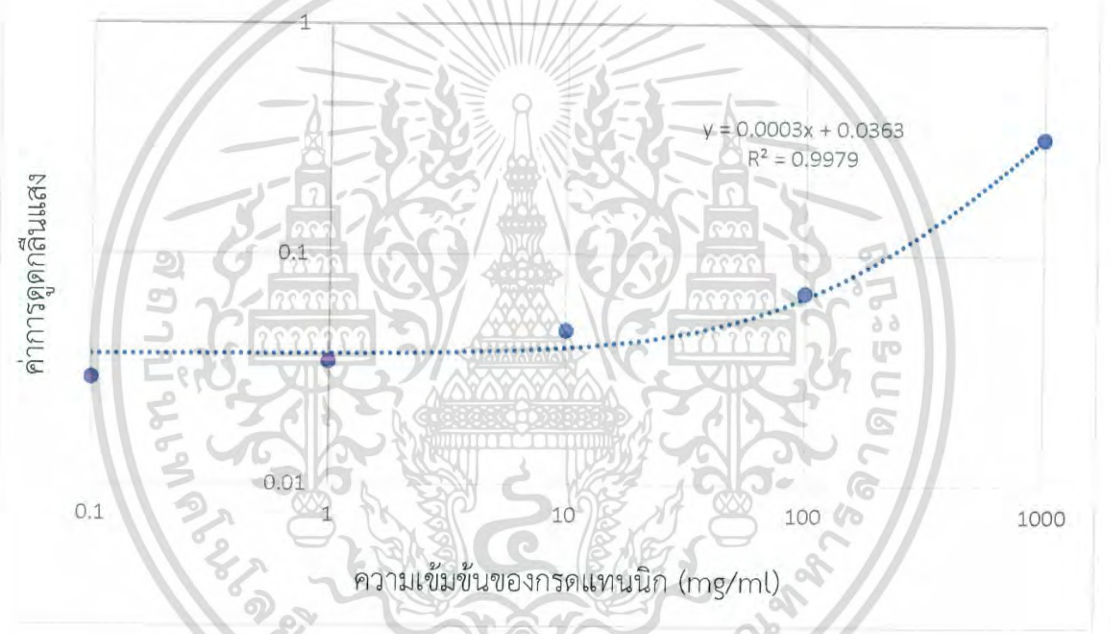


รูปภาคผนวก ข ที่ 2 กราฟมาตรฐานของเควอซิติน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การเตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิก

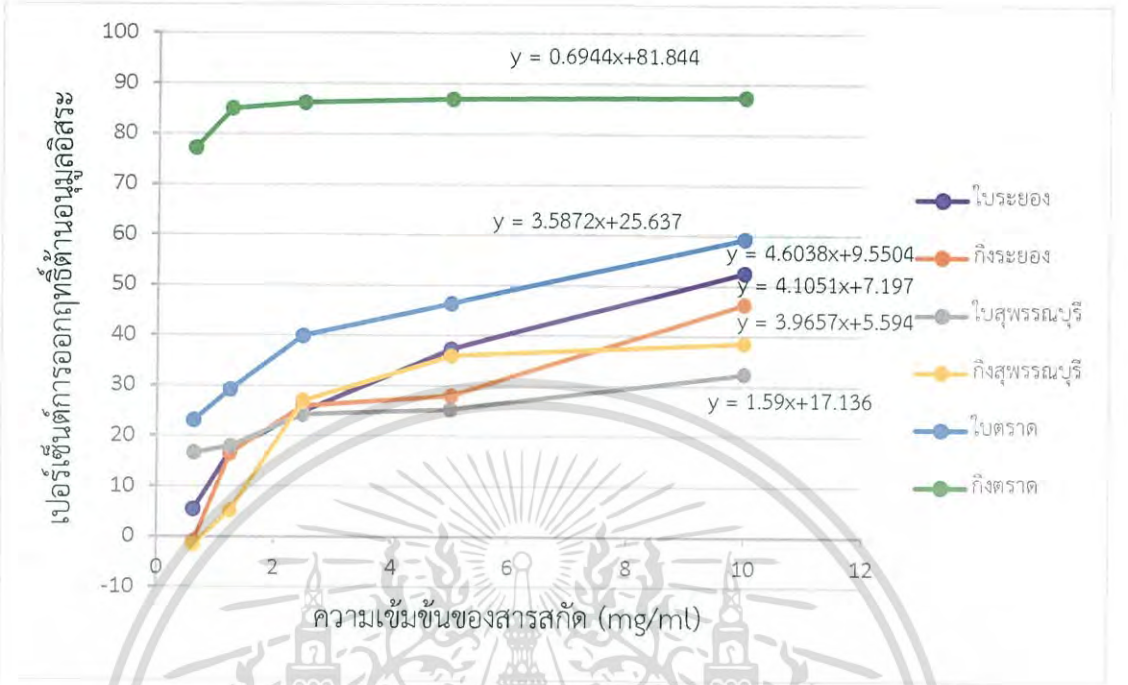
ทำการการเตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิก ความเข้มข้น 1000, 100, 10 1 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 7.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายโฟลิน-เดนิช ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร พร้อมทั้งผสมให้เข้ากัน จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น แล้วผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำไปวัดค่าการดูดกลืนกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นั้นมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบแทนนินต่อกรัมของสารสกัด



รูปภาคผนวก ข ที่ 3 กราฟมาตรฐานของกรดแทนนิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. คำนวณหาค่า IC_{90}



รูปภาคผนวก ข ที่ 4 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ตัวอย่างการคำนวณค่า IC_{90}

เช่น จากสมการ $y = 0.6944x + 81.844$ ของสารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราดจะคำนวณได้ดังนี้

$$90 = 0.6944x + 81.844$$

$$x = 90 - 81.844 / 0.6944$$

$$x = 11.75$$

ดังนั้นค่า IC_{90} ของสารสกัดกิ่งจากจังหวัดตราดมีค่า 11.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

1. Agar well Diffusion Method

การวิเคราะห์ผลทางชีววิทยาโดยวิธี Agar well Diffusion เป็นวิธีการวิเคราะห์ปริมาณของสารชีวภาพโดยอาศัยหลักการแพร่ ซึ่งทั่วไปนิยมใช้อาหาร NA แล้วตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็ง ทำการเจาะวุ้นแล้วหยอดสารที่ต้องการวิเคราะห์ลงในแต่ละหลุม โดยสารที่ต้องการวิเคราะห์จะแพร่กระจายเข้าสู่อาหารแข็งและเกิดบริเวณใสรอบ ๆ หลุม

วิธีการทำ Agar well Diffusion Method

1. เขี่ยเชื้อที่ทดสอบใส่ในน้ำเกลือที่ผ่านการทำลายเชื้อ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ให้มีความขุ่นเทียบเท่ากับ McFarland 0.5 ซึ่งจะได้เชื้อประมาณ $1.5x10^8$ colony forming unit/ml (CFU/ml) และนำมาใช้ ภายใน 15 นาที

2. ใช้ไม้พันสำลีที่ผ่านการทำลายเชื้อจุ่มเชื้อที่ละลายในน้ำเกลือ จากนั้นทำการ swab เชื้อลงบนอาหารแข็งให้ทั่วผิวหน้าของอาหาร

3. ทำการเจาะอาหารด้วย Cork borer ที่ขนาดกว้าง 6 มิลลิเมตร แล้วเขี่ยวุ้นออกให้เป็นหลุม

4. หยดสารที่ต้องการทดสอบ 20 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม

5. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาแล้วจึงวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส

การเตรียม McFarland No. 0.5

1. เตรียมสารละลายแบเรียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.048 โมลต่อลิตร

2. เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.18 โมลต่อลิตร

3. นำสารละลายแบเรียมคลอไรด์ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 99.5 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

1. ค่าวิเคราะห์ทางสถิติของ DPPH Radical Scavenging จากสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจาก 3 จังหวัด

1.1 สารสกัดหยาบใบ และกิ่งมะยมจากจังหวัดตราด

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	0.625	5	23.0159	7.87365	3.52120	13.2395	32.7924	15.22	35.95
	1.25	5	29.2054	2.05439	.91875	26.6546	31.7563	25.95	31.35
	2.5	5	39.9923	15.02654	6.72007	21.3344	58.6502	21.45	61.96
	5	5	46.2442	4.32710	1.93514	40.8714	51.6170	39.79	50.60
	10	5	59.2425	7.17389	3.20826	50.3349	68.1501	52.86	70.76
	Vitamin E	5	89.9893	4.23327	1.89318	84.7330	95.2456	82.49	92.67
	Total	30	47.9483	23.62867	4.31399	39.1252	56.7714	15.22	92.67
กิ่ง	0.625	5	77.2172	3.12651	1.39822	73.3352	81.0993	74.04	80.80

1.25	5	84.9694	.37444	.16746	84.5045	85.4344	84.50	85.54
2.5	5	85.3547	2.18070	.97524	82.6470	88.0624	82.11	87.04
5	5	86.9692	.30025	.13427	86.5964	87.3420	86.53	87.22
10	5	86.0271	2.77437	1.24074	82.5823	89.4720	81.14	87.72
Vitamin E	5	89.9893	4.23327	1.89318	84.7330	95.2456	82.49	92.67
Total	30	85.0878	4.60099	.84002	83.3698	86.8059	74.04	92.67

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	14670.630	5	2934.126	46.314	.000
	Within Groups	1520.483	24	63.353		
	Total	16191.113	29			
กิ่ง	Between Groups	452.390	5	90.478	13.444	.000
	Within Groups	161.514	24	6.730		
	Total	613.904	29			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
ใบ	0.625	5	23.0159			
	1.25	5	29.2054			
	2.5	5		39.9923		
	5	5		46.2442		
	10	5			59.2425	
	Vitamin E	5				89.9893
	Sig.		.231	.226	1.000	1.000
กิ่ง	0.625	5	77.2172			
	1.25	5		84.9694		
	2.5	5		85.3547		
	5	5		86.0271		
	10	5		86.9692	86.9692	
	Vitamin E	5			89.9893	
	Sig.		1.000	.276	.078	

1.2 สารสกัดหยาบใบ และกิ่งมะยมจากจังหวัดระยอง

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	0.625	5	1.6968	23.67849	10.58934	-27.7040	31.0975	-31.65	34.75
	1.25	5	16.8721	4.13756	1.85037	11.7346	22.0096	11.76	22.90
	2.5	5	24.8217	9.24031	4.13239	13.3484	36.2951	9.09	32.54
	5	5	37.3618	8.32091	3.72122	27.0300	47.6936	29.80	50.94
	10	5	52.7027	12.60898	5.63891	37.0466	68.3588	31.82	62.68
	Vitamin E	5	89.9893	4.23327	1.89318	84.7330	95.2456	82.49	92.67
	Total	30	37.2407	31.02124	5.66368	25.6572	48.8243	-31.65	92.67
กิ่ง	0.625	5	-0.8401	9.24215	4.13322	-12.3157	10.6356	-9.88	13.94
	1.25	5	16.4411	10.43320	4.66587	3.4865	29.3956	-1.73	24.41
	2.5	5	25.8382	6.93433	3.10113	17.2281	34.4483	14.53	33.00
	5	5	27.8754	21.21393	9.48716	1.5348	54.2160	-5.71	51.85
	10	5	46.1802	6.30922	2.82157	38.3463	54.0141	41.06	56.10
	Vitamin E	5	89.9893	4.23327	1.89318	84.7330	95.2456	82.49	92.67
	Total	30	34.2474	30.81970	5.62688	22.7391	45.7556	-9.88	92.67

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	24269.928	5	4853.986	32.028	.000
	Within Groups	3637.272	24	151.553		
	Total	27907.199	29			
กิ่ง	Between Groups	24545.317	5	4909.063	39.267	.000
	Within Groups	3000.447	24	125.019		
	Total	27545.765	29			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
ใบ	0.625	5	1.6968				
	1.25	5	16.8721	16.8721			
	2.5	5		24.8217	24.8217		
	5	5			37.3618	37.3618	

	10	5				52.7027	
	Vitamin E	5					89.9893
	Sig.		.063	.317	.120	.060	1.000
กิ่ง	0.625	5	-.8401				
	1.25	5		16.4411			
	2.5	5		25.8382			
	5	5		27.8754			
	10	5			46.1802		
	Vitamin E	5				89.9893	
	Sig.		1.000	.139	1.000	1.000	

1.3 สารสกัดหยาบใบ และกิ่งมะยมจากจังหวัดสุพรรณบุรี

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	0.625	5	16.6656	4.20308	1.87968	11.4467	21.8844	11.59	22.47
	1.25	5	17.9348	5.86220	2.62166	10.6559	25.2137	11.11	24.74

	2.5	5	24.2029	21.07031	9.42293	-1.9593	50.3652	-13.32	35.89
	5	5	25.2240	6.92811	3.09834	16.6216	33.8264	18.64	37.02
	10	5	32.4115	15.04289	6.72738	13.7333	51.0897	7.27	44.77
	Vitamin E	5	89.9893	4.23327	1.89318	84.7330	95.2456	82.49	92.67
	Total	30	34.4047	27.84958	5.08461	24.0055	44.8039	-13.32	92.67
กิ่ง	0.625	5	-1.5644	2.54870	1.13981	-4.7291	1.6002	-5.22	1.02
	1.25	5	5.0160	4.21033	1.88292	-.2118	10.2438	-.54	8.92
	2.5	5	26.9721	2.44372	1.09287	23.9378	30.0063	24.82	31.01
	5	5	35.6582	14.23672	6.36686	17.9810	53.3354	12.50	46.68
	10	5	38.3973	2.83378	1.26731	34.8787	41.9159	35.02	41.58
	Vitamin E	5	89.9893	4.23327	1.89318	84.7330	95.2456	82.49	92.67
	Total	30	32.4114	30.80277	5.62379	20.9095	43.9134	-5.22	92.67

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	19339.584	5	3867.917	29.444	.000
	Within Groups	3152.788	24	131.366		
	Total	22492.372	29			

กิ่ง	Between Groups	26480.191	5	5296.038	122.769	.000
	Within Groups	1035.319	24	43.138		
	Total	27515.509	29			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
ใบ	0.625	5	16.6656			
	1.25	5	17.9348			
	2.5	5	24.2029			
	5	5	25.2240			
	10	5	32.4115			
	Vitamin E	5		89.9893		
	Sig.		.061	1.000		
กิ่ง	0.625	5	-1.5644			
	1.25	5	5.0160			
	2.5	5		26.9721		

5	5			35.6582	
10	5			38.3973	
Vitamin E	5				89.9893
Sig.		.126	1.000	.516	1.000

2. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจาก 3 จังหวัดเทียบกับสารสกัด

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบตราด	5	.017220	.0048251	.0021579	.011229	.023211	.0121	.0248
กิ่งตราด	5	.208800	.0215801	.0096509	.182005	.235595	.1780	.2340
ใบระยอง	5	.015820	.0211320	.0094505	-.010419	.042059	.0004	.0490
กิ่งระยอง	5	.007820	.0081398	.0036402	-.002287	.017927	.0019	.0220
ใบสุพรรณบุรี	5	.001820	.0001483	.0000663	.001636	.002004	.0016	.0020
กิ่งสุพรรณบุรี	5	.042980	.0928081	.0415050	-.072256	.158216	.0013	.2090
Total	30	.049077	.0823125	.0150281	.018341	.079813	.0004	.2340

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.158	5	.032	19.722	.000
Within Groups	.038	24	.002		
Total	.196	29			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ใบสุพรรณบุรี	5	.001820	
กิ่งระยอง	5	.007820	
ใบระยอง	5	.015820	
ใบตราด	5	.017220	
กิ่งสุพรรณบุรี	5	.042980	
กิ่งตราด	5		.208800
Sig.		.158	1.000

3. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจาก 3 จังหวัดเทียบกับสารสกัด

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบตราด	5	411.0000	23.02173	10.29563	382.4147	439.5853	395.00	445.00
กิ่งตราด	5	57.0000	30.33150	13.56466	19.3385	94.6615	15.00	95.00
ใบระยอง	5	529.0000	26.07681	11.66190	496.6214	561.3786	495.00	555.00
กิ่งระยอง	5	103.0000	19.73575	8.82610	78.4948	127.5052	85.00	135.00
ใบสุพรรณบุรี	5	303.0000	100.34939	44.87761	178.3998	427.6002	145.00	415.00
กิ่งสุพรรณบุรี	5	23.6000	8.64870	3.86782	12.8612	34.3388	15.00	35.00
Total	30	237.7667	197.36168	36.03315	164.0706	311.4627	15.00	555.00

มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1078940.167	5	215788.033	102.234	.000
Within Groups	50657.200	24	2110.717		
Total	1129597.367	29			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
กิ่งสุพรรณบุรี	5	23.6000				
กิ่งตราด	5	57.0000	57.0000			
กิ่งระยอง	5		103.0000			
ใบสุพรรณบุรี	5			303.0000		
ใบตราด	5				411.0000	
ใบระยอง	5					529.0000

Sig.		.262	.126	1.000	1.000	1.000

4. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารแทนนินจากสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจาก 3 จังหวัดเทียบกับสารสกัด

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบตราด	5	6.9960	3.80161	1.70013	2.2757	11.7163	2.33	12.33
กิ่งตราด	5	102.9980	23.85123	10.66659	73.3828	132.6132	85.66	142.33
ใบระยอง	5	13.6640	6.91319	3.09167	5.0801	22.2479	5.66	22.33
กิ่งระยอง	5	34.9960	13.20728	5.90647	18.5970	51.3950	12.33	45.66
ใบสุพรรณบุรี	5	39.6660	2.78608	1.24597	36.2066	43.1254	35.67	42.33
กิ่งสุพรรณบุรี	5	23.6640	9.00512	4.02721	12.4827	34.8453	9.00	32.33
Total	30	36.9973	34.00063	6.20764	24.3013	49.6934	2.33	142.33

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	29947.587	5	5989.517	40.180	.000
Within Groups	3577.649	24	149.069		
Total	33525.236	29			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ใบตราด	5	6.9960		
ใบระยอง	5	13.6640		
กิ่งสุพรรณบุรี	5	23.6640	23.6640	
กิ่งระยอง	5		34.9960	
ใบสุพรรณบุรี	5		39.6660	
กิ่งตราด	5			102.9980
Sig.		.051	.060	1.000

5. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจาก 3 จังหวัดเทียบกับสารสกัด

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบตราด	5	.0019260	.00011480	.00005134	.0017835	.0020685	.00178	.00206
กิ่งตราด	5	.0006400	.00005244	.00002345	.0005749	.0007051	.00058	.00071
ใบระยอง	5	.0008040	.00012818	.00005732	.0006448	.0009632	.00064	.00096
กิ่งระยอง	5	.0007660	.00007232	.00003234	.0006762	.0008558	.00069	.00087
ใบสุพรรณบุรี	5	.0008960	.00008735	.00003906	.0007875	.0010045	.00079	.00102
กิ่งสุพรรณบุรี	5	.0006140	.00007829	.00003501	.0005168	.0007112	.00051	.00070
Total	30	.0009410	.00046614	.00008510	.0007669	.0011151	.00051	.00206

มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000	142.455	.000
Within Groups	.000	24	.000		
Total	.000	29			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
กิ่งสุพรรณ	5	.0006140			
กิ่งตราด	5	.0006400			
กิ่งระยอง	5		.0007660		
ใบระยอง	5		.0008040	.0008040	
ใบสุพรรณ	5			.0008960	
ใบตราด	5				.0019260
Sig.		.661	.522	.129	1.000

6. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจาก 3 จังหวัดที่ทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์

6.1 เชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 678

6.1.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดตราด

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	12.5	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.2200	.05701	.02550	6.1492	6.2908	6.15	6.30
	100	5	6.5400	.09618	.04301	6.4206	6.6594	6.40	6.65
	Gentamycin	5	24.3200	.32711	.14629	23.9138	24.7262	23.80	24.70
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	30	9.1800	6.89057	1.25804	6.6070	11.7530	6.00	24.70
กิ่ง	12.5	5	6.1500	.10000	.04472	6.0258	6.2742	6.00	6.25
	25	5	6.4600	.20736	.09274	6.2025	6.7175	6.20	6.70
	50	5	7.2700	.20494	.09165	7.0155	7.5245	7.00	7.50

100	5	11.5500	.12247	.05477	11.3979	11.7021	11.40	11.70
Gentamycin	5	24.3200	.32711	.14629	23.9138	24.7262	23.80	24.70
Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	30	10.2917	6.66870	1.21753	7.8015	12.7818	6.00	24.70

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	1376.440	5	275.288	13821.992	.000
	Within Groups	.478	24	.020		
	Total	1376.918	29			
กิ่ง	Between Groups	1288.807	5	257.761	7127.046	.000
	Within Groups	.868	24	.036		
	Total	1289.675	29			

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
ใบ	25	5	6.0000				
	12.5	5	6.0000				
	Ethanol	5	6.0000				
	50	5		6.2200			
	100	5			6.5400		
	Gentamycin	5				24.3200	
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	
กิ่ง	Ethanol	5	6.0000				
	12.5	5	6.1500				
	25	5		6.4600			
	50	5			7.2700		
	100	5				11.5500	
	Gentamycin	5					24.3200
	Sig.		.224	1.000	1.000	1.000	1.000

6.1.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดระยอง

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	6.25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	12.5	5	6.1100	.11402	.05099	5.9684	6.2516	6.00	6.25
	25	5	6.5600	.08944	.04000	6.4489	6.6711	6.50	6.70
	50	5	6.8800	.13038	.05831	6.7181	7.0419	6.70	7.00
	100	5	7.3400	.30496	.13638	6.9613	7.7187	6.90	7.70
	Gentamycin	5	24.3200	.32711	.14629	23.9138	24.7262	23.80	24.70
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	35	9.0300	6.35288	1.07383	6.8477	11.2123	6.00	24.70
กิ่ง	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	24.3200	.32711	.14629	23.9138	24.7262	23.80	24.70
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	9.6640	7.48030	1.49606	6.5763	12.7517	6.00	24.70

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	1371.259	6	228.543	6721.858	.000
	Within Groups	.952	28	.034		
	Total	1372.211	34			
กิ่ง	Between Groups	1342.490	4	335.622	15683.290	.000
	Within Groups	.428	20	.021		
	Total	1342.918	24			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
ใบ	6.25	5	6.0000				
	Ethanol	5	6.0000				
	12.5	5	6.1100				
	25	5		6.5600			

	50	5			6.8800		
	100	5				7.3400	
	Gentamycin	5					24.3200
	Sig.		.382	1.000	1.000	1.000	1.000
กิ่ง	100	5	6.0000				
	50	5	6.0000				
	25	5	6.0000				
	Ethanol	5	6.0000				
	Gentamycin	5		24.3200			
	Sig.		1.000	1.000			

6.1.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดสุพรรณบุรี

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00

	Gentamycin	5	24.3200	.32711	.14629	23.9138	24.7262	23.80	24.70
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	9.6640	7.48030	1.49606	6.5763	12.7517	6.00	24.70
กิ่ง	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.9800	.13038	.05831	6.8181	7.1419	6.80	7.10
	100	5	7.2200	.08367	.03742	7.1161	7.3239	7.10	7.30
	Gentamycin	5	24.3200	.32711	.14629	23.9138	24.7262	23.80	24.70
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	10.1040	7.27384	1.45477	7.1015	13.1065	6.00	24.70

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	1342.490	4	335.622	15683.290	.000
	Within Groups	.428	20	.021		
	Total	1342.918	24			
กิ่ง	Between Groups	1269.286	4	317.321	12111.504	.000
	Within Groups	.524	20	.026		
	Total	1269.810	24			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
ใบ	100	5	6.0000			
	50	5	6.0000			
	25	5	6.0000			
	Ethanol	5	6.0000			
	Gentamycin	5		24.3200		
	Sig.		1.000	1.000		
กิ่ง	25	5	6.0000			
	Ethanol	5	6.0000			
	50	5		6.9800		
	100	5			7.2200	
	Gentamycin	5				24.3200
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

6.2 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781

6.2.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดตราด

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	18.9440	.34775	.15552	18.5122	19.3758	18.37	19.30
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.5888	5.28627	1.05725	6.4067	10.7709	6.00	19.30
กิ่ง	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	7.1300	.17176	.07681	6.9167	7.3433	6.90	7.30
	Gentamycin	5	24.3200	.32711	.14629	23.9138	24.7262	23.80	24.70
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.8148	5.19071	1.03814	6.6722	10.9574	6.00	19.30

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	670.189	4	167.547	6927.443	.000
	Within Groups	.484	20	.024		
	Total	670.672	24			
กิ่ง	Between Groups	646.043	4	161.511	5368.300	.000
	Within Groups	.602	20	.030		
	Total	646.644	24			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
ใบ	100	5	6.0000		
	50	5	6.0000		
	25	5	6.0000		
	Ethanol	5	6.0000		

	Gentamycin	5		18.9440	
	Sig.		1.000	1.000	
กิ่ง	25	5	6.0000		
	Ethanol	5	6.0000		
	50	5	6.0000		
	100	5		7.1300	
	Gentamycin	5			18.9440
	Sig.		1.000	1.000	1.000

6.2.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดระยอง

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	18.9440	.34775	.15552	18.5122	19.3758	18.37	19.30

	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.5888	5.28627	1.05725	6.4067	10.7709	6.00	19.30
กิ่ง	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	18.9440	.34775	.15552	18.5122	19.3758	18.37	19.30
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.5888	5.28627	1.05725	6.4067	10.7709	6.00	19.30

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	670.189	4	167.547	6927.443	.000
	Within Groups	.484	20	.024		
	Total	670.672	24			
กิ่ง	Between Groups	670.189	4	167.547	6927.443	.000
	Within Groups	.484	20	.024		
	Total	670.672	24			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
ใบ	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		18.9440
	Sig.		1.000	1.000
กิ่ง	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		18.9440
	Sig.		1.000	1.000

6.2.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดสุพรรณบุรี

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	18.9440	.34775	.15552	18.5122	19.3758	18.37	19.30
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.5888	5.28627	1.05725	6.4067	10.7709	6.00	19.30
กิ่ง	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	18.9440	.34775	.15552	18.5122	19.3758	18.37	19.30
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.5888	5.28627	1.05725	6.4067	10.7709	6.00	19.30

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	670.189	4	167.547	6927.443	.000
	Within Groups	.484	20	.024		
	Total	670.672	24			
กิ่ง	Between Groups	670.189	4	167.547	6927.443	.000
	Within Groups	.484	20	.024		
	Total	670.672	24			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
ใบ	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	

	Gentamycin	5		18.9440
	Sig.		1.000	1.000
กิ่ง	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		18.9440
	Sig.		1.000	1.000

6.3 เชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228

6.3.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดตราด

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00

	Gentamycin	5	13.0500	.18708	.08367	12.8177	13.2823	12.80	13.30
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	7.4100	2.87916	.57583	6.2215	8.5985	6.00	13.30
กิ่ง	12.5	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	25	5	9.1400	.19494	.08718	8.8980	9.3820	8.90	9.40
	50	5	9.7800	.13038	.05831	9.6181	9.9419	9.60	9.90
	100	5	14.3000	.29155	.13038	13.9380	14.6620	14.00	14.70
	Gentamycin	5	13.0500	.18708	.08367	12.8177	13.2823	12.80	13.30
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	30	9.7117	3.22227	.58830	8.5084	10.9149	6.00	14.70

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	198.810	4	49.703	7100.357	.000
	Within Groups	.140	20	.007		
	Total	198.950	24			
กิ่ง	Between Groups	300.408	5	60.082	2059.943	.000
	Within Groups	.700	24	.029		
	Total	301.108	29			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
ใบ	100	5	6.0000				
	50	5	6.0000				
	25	5	6.0000				
	Ethanol	5	6.0000				
	Gentamycin	5		13.0500			
	Sig.		1.000	1.000			
กิ่ง	12.5	5	6.0000				
	Ethanol	5	6.0000				
	25	5		9.1400			
	50	5			9.7800		
	Gentamycin	5				13.0500	
	100	5					14.3000
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

6.3.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดระยอง

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	13.0500	.18708	.08367	12.8177	13.2823	12.80	13.30
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	7.4100	2.87916	.57583	6.2215	8.5985	6.00	13.30
กิ่ง	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	13.0500	.18708	.08367	12.8177	13.2823	12.80	13.30
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	7.4100	2.87916	.57583	6.2215	8.5985	6.00	13.30

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	198.810	4	49.703	7100.357	.000
	Within Groups	.140	20	.007		
	Total	198.950	24			
กิ่ง	Between Groups	198.810	4	49.703	7100.357	.000
	Within Groups	.140	20	.007		
	Total	198.950	24			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
ใบ	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	

	Gentamycin	5		13.0500
	Sig.		1.000	1.000
กิ่ง	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		13.0500
	Sig.		1.000	1.000

6.3.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดสุพรรณบุรี

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	13.0500	.18708	.08367	12.8177	13.2823	12.80	13.30

	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	7.4100	2.87916	.57583	6.2215	8.5985	6.00	13.30
กิ่ง	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	13.0500	.18708	.08367	12.8177	13.2823	12.80	13.30
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	7.4100	2.87916	.57583	6.2215	8.5985	6.00	13.30

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	198.810	4	49.703	7100.357	.000
	Within Groups	.140	20	.007		
	Total	198.950	24			
กิ่ง	Between Groups	198.810	4	49.703	7100.357	.000
	Within Groups	.140	20	.007		
	Total	198.950	24			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
ใบ	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		13.0500
	Sig.		1.000	1.000
กิ่ง	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		13.0500
	Sig.		1.000	1.000

6.4 เชื้อ *Yersinia enterocolitica*

6.4.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดตราด

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	17.8800	.25884	.11576	17.5586	18.2014	17.50	18.20
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.3760	4.85114	.97023	6.3735	10.3785	6.00	18.20
กิ่ง	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	17.8800	.25884	.11576	17.5586	18.2014	17.50	18.20
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.3760	4.85114	.97023	6.3735	10.3785	6.00	18.20

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	564.538	4	141.134	10532.418	.000
	Within Groups	.268	20	.013		
	Total	564.806	24			
กิ่ง	Between Groups	564.538	4	141.134	10532.418	.000
	Within Groups	.268	20	.013		
	Total	564.806	24			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
ใบ	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	

	Gentamycin	5		17.8800
	Sig.		1.000	1.000
กิ่ง	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		17.8800
	Sig.		1.000	1.000

6.4.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดระยอง

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	17.8800	.25884	.11576	17.5586	18.2014	17.50	18.20

	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.3760	4.85114	.97023	6.3735	10.3785	6.00	18.20
กิ่ง	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	17.8800	.25884	.11576	17.5586	18.2014	17.50	18.20
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.3760	4.85114	.97023	6.3735	10.3785	6.00	18.20

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	564.538	4	141.134	10532.418	.000
	Within Groups	.268	20	.013		
	Total	564.806	24			
กิ่ง	Between Groups	564.538	4	141.134	10532.418	.000
	Within Groups	.268	20	.013		
	Total	564.806	24			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
ใบ	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		17.8800
	Sig.		1.000	1.000
กิ่ง	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		17.8800
	Sig.		1.000	1.000

6.4.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดสุพรรณบุรี

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	17.8800	.25884	.11576	17.5586	18.2014	17.50	18.20
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.3760	4.85114	.97023	6.3735	10.3785	6.00	18.20
กิ่ง	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	17.8800	.25884	.11576	17.5586	18.2014	17.50	18.20
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.3760	4.85114	.97023	6.3735	10.3785	6.00	18.20

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	564.538	4	141.134	10532.418	.000
	Within Groups	.268	20	.013		
	Total	564.806	24			
กิ่ง	Between Groups	564.538	4	141.134	10532.418	.000
	Within Groups	.268	20	.013		
	Total	564.806	24			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

	ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
ใบ	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	

	Gentamycin	5		17.8800
	Sig.		1.000	1.000
กิ่ง	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		17.8800
	Sig.		1.000	1.000

6.5 เชื้อ *Staphylococcus aureus*

6.5.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดตราด

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00

	Gentamycin	5	27.3100	.27477	.12288	26.9688	27.6512	26.90	27.60
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	10.2620	8.70049	1.74010	6.6706	13.8534	6.00	27.60
กิ่ง	1.5625	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	3.125	5	6.3300	.17176	.07681	6.1167	6.5433	6.10	6.50
	6.25	5	6.8400	.08216	.03674	6.7380	6.9420	6.75	6.95
	12.5	5	7.2400	.24850	.11113	6.9315	7.5485	7.00	7.65
	25	5	8.2600	.32094	.14353	7.8615	8.6585	8.00	8.80
	50	5	9.1000	.10000	.04472	8.9758	9.2242	9.00	9.20
	100	5	11.1200	.24900	.11136	10.8108	11.4292	10.70	11.30
	Gentamycin	5	27.3100	.27477	.12288	26.9688	27.6512	26.90	27.60
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	45	9.8000	6.46423	.96363	7.8579	11.7421	6.00	27.60

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	1816.464	4	454.116	30073.914	.000
	Within Groups	.302	20	.015		

	Total	1816.766	24			
กิ่ง	Between Groups	1837.201	8	229.650	5930.706	.000
	Within Groups	1.394	36	.039		
	Total	1838.595	44			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05							
			1	2	3	4	5	6	7	8
ใบ	100	5	6.0000							
	50	5	6.0000							
	25	5	6.0000							
	Ethanol	5	6.0000							
	Gentamycin	5		27.3100						
	Sig.		1.000	1.000						
กิ่ง	1.5625	5	6.0000							
	Ethanol	5	6.0000							
	3.125	5		6.3300						

6.25	5			6.8400					
12.5	5				7.2400				
25	5					8.2600			
50	5						9.1000		
100	5							11.1200	
Gen	5								27.3100
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

6.5.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดระยอง

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Gentamycin		5	27.3100	.27477	.12288	26.9688	27.6512	26.90	27.60
Ethanol		5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00

Total		25	10.2620	8.70049	1.74010	6.6706	13.8534	6.00	27.60
กิ่ง	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	27.3100	.27477	.12288	26.9688	27.6512	26.90	27.60
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	10.2620	8.70049	1.74010	6.6706	13.8534	6.00	27.60

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	1816.464	4	454.116	30073.914	.000
	Within Groups	.302	20	.015		
	Total	1816.766	24			
กิ่ง	Between Groups	1816.464	4	454.116	30073.914	.000
	Within Groups	.302	20	.015		
	Total	1816.766	24			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
ใบ	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		27.3100
	Sig.		1.000	1.000
กิ่ง	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		27.3100
	Sig.		1.000	1.000

6.5.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดสุพรรณบุรี

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	27.3100	.27477	.12288	26.9688	27.6512	26.90	27.60
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	10.2620	8.70049	1.74010	6.6706	13.8534	6.00	27.60
กิ่ง	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Gentamycin	5	27.3100	.27477	.12288	26.9688	27.6512	26.90	27.60
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	10.2620	8.70049	1.74010	6.6706	13.8534	6.00	27.60

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	1816.464	4	454.116	30073.914	.000
	Within Groups	.302	20	.015		
	Total	1816.766	24			
กิ่ง	Between Groups	1816.464	4	454.116	30073.914	.000
	Within Groups	.302	20	.015		
	Total	1816.766	24			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
ใบ	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	

	Gentamycin	5		27.3100
	Sig.		1.000	1.000
กิ่ง	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		27.3100
	Sig.		1.000	1.000

6.6 เชื้อ *Escherichia coil* ATCC 25299

6.6.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดตราด

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00

	Ciprofloxacin	5	18.1700	.22804	.10198	17.8869	18.4531	17.95	18.50
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.4340	4.96925	.99385	6.3828	10.4852	6.00	18.50
กิ่ง	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Ciprofloxacin	5	18.1700	.22804	.10198	17.8869	18.4531	17.95	18.50
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.4340	4.96925	.99385	6.3828	10.4852	6.00	18.50

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	592.436	4	148.109	14241.240	.000
	Within Groups	.208	20	.010		
	Total	592.644	24			
กิ่ง	Between Groups	592.436	4	148.109	14241.240	.000
	Within Groups	.208	20	.010		
	Total	592.644	24			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
ใบ	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		18.1700
	Sig.		1.000	1.000
กิ่ง	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		18.1700
	Sig.		1.000	1.000

6.6.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดระยอง

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Ciprofloxacin	5	18.1700	.22804	.10198	17.8869	18.4531	17.95	18.50
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.4340	4.96925	.99385	6.3828	10.4852	6.00	18.50
กิ่ง	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Ciprofloxacin	5	18.1700	.22804	.10198	17.8869	18.4531	17.95	18.50
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.4340	4.96925	.99385	6.3828	10.4852	6.00	18.50

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	592.436	4	148.109	14241.240	.000
	Within Groups	.208	20	.010		
	Total	592.644	24			
กิ่ง	Between Groups	592.436	4	148.109	14241.240	.000
	Within Groups	.208	20	.010		
	Total	592.644	24			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

	ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
ใบ	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	

	Gentamycin	5		18.1700
	Sig.		1.000	1.000
กิ่ง	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		18.1700
	Sig.		1.000	1.000

6.6.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบใบ และกิ่งของมะยมจากจังหวัดสุพรรณบุรี

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Ciprofloxacin	5	18.1700	.22804	.10198	17.8869	18.4531	17.95	18.50

	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.4340	4.96925	.99385	6.3828	10.4852	6.00	18.50
กิ่ง	25	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	50	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	100	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Ciprofloxacin	5	18.1700	.22804	.10198	17.8869	18.4531	17.95	18.50
	Ethanol	5	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	25	8.4340	4.96925	.99385	6.3828	10.4852	6.00	18.50

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	592.436	4	148.109	14241.240	.000
	Within Groups	.208	20	.010		
	Total	592.644	24			
กิ่ง	Between Groups	592.436	4	148.109	14241.240	.000
	Within Groups	.208	20	.010		
	Total	592.644	24			

Post Hoc Test (Homogeneous Subsets)

Duncan[a]

ความเข้มข้น		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
ใบ	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		18.1700
	Sig.		1.000	1.000
กิ่ง	100	5	6.0000	
	50	5	6.0000	
	25	5	6.0000	
	Ethanol	5	6.0000	
	Gentamycin	5		18.1700
	Sig.		1.000	1.000