การทดสอบการยับยั้งแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและวิเคราะห์สารพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากผักตบชวา (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms)

ANTIBACTERIAL ANTIOXIDANT AND PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF WATER HYACINTH (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) EXTRACT

กริช รัตนจันทร์
จตุพล ชารีนาง

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIBACTERIAL ANTIOXIDANT AND PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF WATER HYACINTH EXTRACT (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms)

KRIT RATANACHAN
JATUPON CHAREENANG

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR DEGREE OF BACHELOR OF SCIENEC IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY FACULTY OF SCIENCE KING MONGKUT'S INSTITUTE TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การทดสอบการยับยั้งแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและวิเคราะห์สารพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากผักตบชวา (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) ANTIBACTERIAL ANTIOXIDANT AND PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF WATER HYACINTH (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms)
ชื่อนักศึกษา	นายกริช รัตนจันทร์ รหัสนักศึกษา 57050793
	นายจตุพล ชารีนาง รหัสนักศึกษา 57050808
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ ประธานกรรมการ	
ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ กรรมการ	วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์
ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การทดสอบการยับยั้งแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและวิเคราะห์สารพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากผักตบชวา (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms)
ชื่อนักศึกษา	นายกริช รัตนจันทร์ รหัสนักศึกษา 57050793
	นายจตุพล ชารีนาง รหัสนักศึกษา 57050808
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

บทคัดย่อ

ในการวิจัยครั้งนี้ได้สกัดสารสกัดหยาบโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายจากส่วนต่างๆ ของผักตบชวาได้แก่ ราก ต้น และใบ นำมาวิเคราะห์ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 2592, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* TISTR 1469, *Pseudomonasaeruginosa* TISTR 781, *Bacillus subtilis* TISTR 6633 และ *Yersinia enterocolitica* โดยใช้วิธีAgar well diffusion พบว่าที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัดหยาบส่วนต้นสร้างบริเวณการยับยั้งได้มากที่สุดเท่ากับ 11.03 มิลลิเมตร แก่เชื้อ *Y. enterocolitica* และเมื่อนำมาหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้โดยวิธี Broth dilution พบว่าที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัดหยาบส่วนต้นเป็นความเข้มข้นต่ำที่สุดสามารถฆ่าเชื้อ *P. aeruginosa* ได้เมื่อเทียบกับสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบที่ทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging assay พบว่าสารสกัดหยาบส่วนต้นมีค่ามากที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.23 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการศึกษาสารพฤกษเคมีจากสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของผักตบชวาโดยการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่าสารสกัดหยาบส่วนต้นมีค่ามากที่สุดเท่ากับ 1,556 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด เมื่อทำการวิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สารประกอบแทนนินและแอนโทไซยานินพบว่าสารสกัดหยาบส่วนใบมีค่ามากที่สุดโดยมีค่าเทียบเท่ากับ 207.60 มิลลิกรัมควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด 72.40 มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดและ 15.73 มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ ตามลำดับ จากผลการทดลองทั้งหมดส่วนของผักตบชวาที่น่าสนใจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการนำมาสกัดสารสกัดหยาบคือส่วนของใบเนื่องจากมีปริมาณร้อยละผลได้ของสารประกอบฟลาโวนอยด์ ปริมาณสารแทนนิน และปริมาณสารแอนโทไซยานินได้มากที่สุดจากทุกส่วนที่นำมาทดลอง

คำสำคัญ : การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย, กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ, ผักตบชวา, สารพฤกษเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	ANTIBACTERIAL ANTIOXIDANT AND PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF WATER HYACINTH (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms)
Students	Mr.Krit Rattanachan Student ID 57050793
	Mr.Jatupon Chareenang Student ID 57050808
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2017
Advisor	Dr.Suttijit Sriwatcharakul

Abstract

In this study, ethanolic crude extracts from the root, stem and leaves of *Eichhorniacrassipes* (Mart.) Solms. Were analyzed for the bacterial growth inhibition by using the 7 bacteriaspecies; *Escherichia coli* ATCC 2592, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* TISTR 1469, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Bacillus subtilis* TISTR 6633 and *Yersinia enterocolitica*. Agar well diffusion method found that stem extract 200 mg/ml had the widest inhibition zone (11.30 mm) *Y. enterocolitica*. Minimum Bactericidal Concentration (MBC) by broth dilution methods found that stem extract at concentration 25 mg/ml against *P. aeruginosa* was the best compared with the other extracts with the 7 bacterial strains. Analysis of antioxidant by DPPH scavenging assay method found that stem extract gave the best antioxidant activity with IC_{50} values 3.23 mg/ml. The determination of total phenolic compound showed the highest total phenolic content in the stem extract 1,556 mgGAE/g extract. Analysis of total flavonoid, tannin and anthocyanin showed the highest content in the leaves extract 207.60 mgQE/g extract, 72.40 mgTAE/g extract and 15.73 mg cyanidin-3-glucoside respectively. From the experimental results, crude extract of the

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

leaves is the best fascinating because it gave the most of yield and the most content of total flavonoid, tannin and anthocyanin among the extracts.

Keyword : Antibacterial, Antioxidant, *Eichhornia crassipes,* Phytochemicals

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สาเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจาก ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล อาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนาแนวทางที่ถูกต้อง ช่วยเหลือในทุกปัญหาการวิจัย พร้อมทั้งให้กำลังใจ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วนและเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมารวมทั้งให้ความรู้แก่ข้าพเจ้า ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง และขอบพระคุณ ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ที่กรุณาแนะนำข้อบกพร่องเพื่อให้ข้าพเจ้าได้นำไปปรับปรุงแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ ที่ช่วยชี้นำแนวทางในการดำเนินงานวิจัยให้ครอบคลุมมากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณะอาจารย์ในภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สาขาวิชาเคมี สาขาวิชาสถิติทุกท่านที่มอบความรู้ในเชิงทฤษฎีและทักษะในด้านการปฏิบัติ ซึ่งข้าพเจ้าสามารถนำมาใช้ในการทำโครงงานพิเศษฉบับนี้ได้เป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์ภาคชีววิทยาทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีรวมถึงอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้กำลังใจ และสนับสนุนด้านปัจจัยต่างๆ ในการศึกษาของข้าพเจ้าเสมอมา

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือและให้ข้อคิดเห็นสิ่งต่างๆ ที่ดีเสมอมา

คุณค่าและประโยชน์ของการทำโครงงานพิเศษฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบเป็นกตัญญูกตเวทิตาแด่บุพการี บูรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษา และประสบความสำเร็จมาจนตราบเท่าทุกวันนี้

กริช รัตนจันทร์

จตุพล ชารีนาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ค
กิตติกรรมประกาศ..... จ
สารบัญ..... ฉ
สารบัญตาราง..... ญ
สารบัญรูป..... ฐ
คำย่อและสัญลักษณ์..... ฒ
บทที่ 1 บทนำ..... 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ..... 1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย..... 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 3
2.1 ลักษณะทางพฤษศาสตร์ของผักตบชวา..... 3
2.1.1 ต้นผักตบชวา..... 3
2.1.2 ใบผักตบชวา..... 4
2.1.3 ดอกผักตบชวา..... 4
2.1.4 ผลผักตบชวา..... 5
2.1.5 ราก..... 5
2.1.6 การขยายพันธุ์..... 5
2.2 การสกัดสารสมุนไพรจากวัชพืชน้ำ..... 6
2.2.1 น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย..... 7
2.2.2 การเลือกตัวทำละลาย..... 7
2.2.3การทำสารสกัดให้เข้มข้น..... 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ 7
2.3.1 บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระ 9
2.3.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) 10
2.3.3 แอนโทไซยานิน (Anthocyanins) 11
2.3.4 สารควอซิติน (Quercetin) 12
2.3.5 แทนนิน (Tannins) 12
2.3.6 ฟีนอล (Phenol) 13
2.3.7 วิตามินอี (Vitamin E) 27
2.4 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ 17
2.4.1 Dilution test 17
2.5 ยาต้านจุลชีพ (Antibiotic) 18
2.6 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง 18
2.6.1 เชื้อ *Escherichia coli* 18
2.6.2 เชื้อ *Staphylococcus aureus* 19
2.6.3 เชื้อ *Bacillus subtilis* 20
2.6.4 เชื้อ *Staphylococcus epidermidi* 21
2.6.5 เชื้อ *Salmonella typhimurium* 22
2.6.6 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* 23
2.6.7 เชื้อ *Yersinia enterocolitica* 23
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน 25
3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ 25
3.2 เชื้อจุลินทรีย์ 25
3.3 สารเคมี 25
3.4 เครื่องมือและอุปกรณ์ 26
3.5 วิธีการทดลอง 27
3.5.1 สารสกัดผักตบชวา (*Eichhornia crassipes*) 27
3.5.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ 27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

3.5.2.1 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบผักตบชวาในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยวิธี Agar well diffusion..... 27
3.5.2.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบผักตบชวาในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยวิธี Broth dilution (MBC)..... 28
3.5.2.3 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ..... 29
3.5.3 การหาปริมาณสารพฤกษเคมี..... 29
3.5.3.1 การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวา..... 29
3.5.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวา..... 30
3.5.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวา..... 30
3.5.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินรวมในสารสกัดหยาบจากผักตบชวา โดยวิธี pH differential..... 31
บทที่ 4 ผลการวิจัย..... 32
4.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากผักตบชวา..... 32
4.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากผักตบชวา..... 32
4.2.1 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหารเบื้องต้น (Agar well diffusion)..... 32
4.2.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Broth dilution (MBC)..... 41
4.3 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากผักตบชวา..... 44
4.4 การหาสารพฤกษเคมี..... 46
4.4.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)..... 46
4.4.2 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวา..... 46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

4.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสานสกัดหยาบจากผักตบชวา 47
4.4.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินรวมที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากผักตบชวา (pH differential) 48
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 49
5.1 สรุปผลการวิจัย 49
5.2 ข้อเสนอแนะ 50
เอกสารอ้างอิง 51
ภาคผนวก ก 54
ภาคผนวก ข 56
ภาคผนวก ค 60
ภาคผนวก ง 65
ภาคผนวก จ 69
ภาคผนวก ฉ 71
ภาคผนวก ช 73
ภาคผนวก ซ 83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 2.1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกลุ่มต่างๆ..... 14
ตารางที่ 4.1 ลักษณะและปริมาณของสารสกัดหยาบจากผักตบชวา..... 32
ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร..... 33
ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร..... 34
ตารางที่ 4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร..... 35
ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร..... 36
ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร..... 37
ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร..... 38
ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Y. enterocolitica* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร..... 39
ตารางที่ 4.9 ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC)..... 41
ตารางที่ 4.10 แสดงร้อยละของคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วน ราก ต้น และใบ..... 44
ตารางที่ 4.11 แสดงคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากทั้งหมด (IC_{50}) ของสารสกัดหยาบจากส่วนราก ต้น และใบของผักตบชวา..... 45
ตารางที่ 4.12 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบผักตบชวาส่วน ราก ต้น และใบ..... 46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 4.13 แสดงปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจาก ผักตบชวาส่วนราก ต้น และใบ 47
ตารางที่ 4.14 แสดงปริมาณของสารแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวาส่วน ราก ต้น และใบ 47
ตารางที่ 4.15 แสดงปริมาณสารแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบจากผักตบชวาส่วน ราก ต้น และใบ 48
ตารางที่ ข-1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร 58
ตารางที่ ข-2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบจากผักตบชวา 58
ตารางที่ ค-1 การวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จากราก ต้น และใบของผักตบชวาที่ความเข้มข้นต่างๆ 61
ตารางที่ ค-2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของวิตามินอี (Positive control) 61
ตารางที่ ค-3 ค่าร้อยละฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของวิตามินอี (Positive control) 61
ตารางที่ ค-4 ค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสัดหยาบส่วน ราก ต้น และใบ ของผักตบชวาที่ความเข้มข้นต่างๆ 62
ตารางที่ ค-5 ค่าเฉลี่ยร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วน ราก ต้น และใบของผักตบชวาที่ความเข้มข้นต่างๆ 62
ตารางที่ ง-1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานควอซิตินที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร 67
ตารางที่ ง-2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบ ราก ต้น และใบของผักตบชวา ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร 67
ตารางที่ ง-3 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด (mg of quercetin equivalents (QE/g of extract) ที่ค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น510 นาโนเมตร ของสารจากส่วนต่างๆ ของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 67
ตารางที่ ง-4 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิติน ต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง (mg of quercetin equivalents (QE)/ 100 g dry weight) ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร จากส่วนต่างๆ ของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ ฉ-1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของสารประกอบแอนโทไซยานินจากส่วนต่างๆ ของผักตบชวา..... 72
ตารางที่ ช-1 ผลการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดส่วนต่างๆ ของผักตบชวาที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร..... 73
ตารางที่ ช-2 ผลการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดส่วนต่างๆ ของผักตบชวาที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร..... 74
ตารางที่ ช-3 ผลการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดส่วนต่างๆ ของผักตบชวาที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร..... 76
ตารางที่ ช-4 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Broth dilution (MBC)..... 77
ตารางที่ ช-5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของผักตบชวา..... 79
ตารางที่ ช-6 ปริมาณสารแทนนินในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด (mg of tannic acid equivalents (TAE)/g of extract) ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร จากส่วนต่างๆ ของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากสมการกราฟมาตรฐาน..... 79
ตารางที่ ช-7 ปริมาณสารแทนนินในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg of tannic acid equivalents (TAE)/100 g dry weight) ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร จากส่วนต่างๆ ของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากสมการกราฟมาตรฐาน..... 80
ตารางที่ ช-8 ค่าการดูดกลืนแสงของ KCl pH 1.0 ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร..... 80
ตารางที่ ช-9 ค่าการดูดกลืนแสงของ KCl pH 1.0 ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร..... 80
ตารางที่ ช-10 ค่าการดูดกลืนแสงของ CH_3COONa pH 4.5 ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร..... 81
ตารางที่ ช-11 ค่าการดูดกลืนแสงของ CH_3COONa pH 4.5 ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร..... 81
ตารางที่ ช-12 ค่าเฉลี่ยการหาสารประกอบแอนโทไซยานิน (mg cyanidin-3-glucoside/l crude extract)..... 82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

รูปที่ 2.1 ลักษณะต้นของผักตชวา 3
รูปที่ 2.2 ลักษณะใบของผักตบชวา 4
รูปที่ 2.3 ลักษณะดอกของผักตบชวา 4
รูปที่ 2.4 ลักษณะผลของผักตบชวา 5
รูปที่ 2.5 ลักษณะรากของผักตบชวา 5
รูปที่ 2.6 กลไกการต้านอนุมูลอิสระของ DPPH 9
รูปที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ 10
รูปที่ 2.8 โครงสร้างททางเคมีของสารประกอบในกลุ่มแทนนิน 12
รูปที่ 2.9 เชื้อ *Escherichia coli* 19
รูปที่ 2.10 เชื้อ *Staphylococcus aureus* 20
รูปที่ 2.11 เชื้อ *Bacillus subtilis* 21
รูปที่ 2.12 เชื้อ *Staphylococcus epidermidis* 22
รูปที่ 2.13 เชื้อ *Salmonella typhimurium* 22
รูปที่ 2.14 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* 23
รูปที่ 2.15 เชื้อ *Yersinia enterocolitica* 24
รูปที่ 4.1 ลักษณะของสารสกัดหยาบจาก ราก (ก), ต้น (ข), และใบ (ค) ของผักตบชวา 32
รูปที่ 4.2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *E. coli* จากสารสกัดหยาบ
ผักตบชวา (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ 34
รูปที่ 4.3 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* จากสารสกัดหยาบ
ผักตบชวา (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ 35
รูปที่ 4.4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. aureus* จากสารสกัดหยาบ
ผักตบชวา (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ 36
รูปที่ 4.5 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* จากสารสกัดหยาบ
ผักตบชวา (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ 37
รูปที่ 4.6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* จากสารสกัดหยาบ
ผักตบชวา (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ 38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ **หน้า**

รูปที่ 4.7 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* จากสารสกัดหยาบผักตบชวา (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ..... 39
รูปที่ 4.8 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica* จากสารสกัดหยาบผักตบชวา (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ..... 40
รูปที่ 4.9 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบผักตบชวาที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (MBC) (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ..... 41
รูปที่ 4.10 ร้อยละในการดักจับอนุมูลอิสระของ ราก ต้น และใบจากสารสกัดหยาบผักตบชวา..... 45
รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของกรดแกลลิก สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมด..... 57
รูปที่ ค-1 การแสดงการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนรากของผักตบชวา..... 63
รูปที่ ค-2 การแสดงการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนต้นของผักตบชวา..... 63
รูปที่ ค-3 การแสดงการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนใบของผักตบชวา..... 64
รูปที่ ง-1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร กับปริมาณเนื้อสารควอซิตินในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด..... 66
รูปที่ จ-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณสารละลายกรดแทนนิกในหน่วยไมโครกรัม..... 70
รูปที่ ช-1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร กับปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิกในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร..... 78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อสัญลักษณ์

คำย่อ	ความหมาย
DPPH	2,2-diphenyl-l-picrylhydrazyl
µg/ml	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
mg/ml	มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
mgGAE/g	เทียบเท่ามิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด
mgGAE/g dry weight	เทียบเท่ามิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง
mgQE/g สารสกัด	เทียบเท่ามิลลิกรัมควอซิตินต่อกรัมสารสกัด
mgQE/g dry weight	เทียบเท่ามิลลิกรัมควอซิตินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง
mgTAE/g สารสกัด	เทียบเท่ามิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมสารสกัด
mgTAE/g dry weight	เทียบเท่ามิลลิกรัมแทนนิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง
IC_{50}	Inhibition Concentration 50 %
MIC	Minimum inhibitory concentration
MBC	Minimum bactericidal concentration

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ผักตบชวา ชื่อวิทยาศาสตร์ *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms จัดเป็นพรรณไม้น้ำที่มีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมอยู่ในทวีปอเมริกาใต้ โดยผักตบชวานั้นจัดเป็นพืชน้ำล้มลุกมีอายุหลายฤดู มีต้นสั้นแตกใบเป็นกอลอยไปตามน้ำ ต้นมีลักษณะอวบน้ำ ผิวต้นเรียบเป็นสีเขียวอ่อนและเข้ม ก้านใบจะพองออกตรงช่องกลาง ภายในมีลักษณะเป็นรูพรุน จึงช่วยพยุงต้นให้ลอยน้ำได้ ต้นสั้นมีความสูงได้ประมาณ 3-90 เซนติเมตร รากจะแตกออกจากต้นบริเวณข้อ รากมักมีสีม่วงดำ ซึ่งต้นลอยอยู่บนผิวน้ำบางต้นอาจจะขึ้นอยู่ตามโคลนในที่น้ำตื้น สามารถขึ้นบนบกก็ได้ มีความทนทานต่อความแห้งแล้งได้ดี แต่จะไม่ทนน้ำเค็ม ผักตบชวาเป็นพืชที่ขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว โดยการแยกกอหรือใช้ไหล พบได้ทั่วไปตามริมน้ำ เนื่องจากความสามารถในการขยายพันธุ์ที่รวดเร็วทำให้ผักตบชวาสร้างปัญหาในหลายด้าน เช่น การชลประทาน การกสิกรรม การประมง การคมนาคมทางน้ำ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการเล็งเห็นถึงประโยชน์ของผักตบชวาในด้านพลังงานโดยใช้เป็นเชื้อเพลิงอัดแท่งและในด้านสิ่งแวดล้อมโดยใช้เป็นตัวดูดซับสารพิษต่างๆ ในแหล่งน้ำ ซึ่งผลเสียเหล่านี้ก็ยังคงมีมากกว่าผลดีจึงจำต้องหาทางแก้ไขปัญหาเหล่านี้ให้มากขึ้น ซึ่งปัจจุบันนี้จะเห็นได้ว่าผักตบชวาเป็นวัชพืชน้ำที่เจริญเติบโตอย่างหนาแน่นตามแหล่งน้ำต่างๆก่อให้เกิดปัญหาแก่แหล่งน้ำในหลายท้องที่สร้างความเดือดร้อนให้แก่ประชากรและสิ่งแวดล้อมในหลายประเทศทั่วโลกและความลำบากและความรำคาญส่วนนี้ที่เป็นสาเหตุที่ผลักดันให้นักวิทยาศาสตร์หาวิธีการต่างๆ เพื่อกำจัดผักตบชวาที่มีอยู่อย่างแพร่หลาย มีการใช้กระบวนการหลายรูปแบบเพื่อกำจัดผักตบชวา แต่การกำจัดผักตบชวาในบางวิธีอาจมีผลเสียหายต่อสิ่งแวดล้อมได้ ดังนั้นหากมีการศึกษาถึงการนำผักตบชวามาใช้ให้เกิดประโยชน์ และเพิ่มมูลค่า ได้แก่ การศึกษาในเรื่องการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งอาจจะมีศักยภาพสำหรับนำมาใช้เป็นสารชีวภัณฑ์ให้เกิดประโยชน์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1). เพื่อศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากราก ต้น และใบของผักตบชวา

2). เพื่อศึกษาองค์ประกอบของสารสกัด เพื่อเป็นประโยชน์ในด้านการแพทย์

3). เพื่อศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของส่วนต่างๆของผักตบชวา โดยการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนราก ต้น และใบของผักตบชวา ด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ จากนั้นนำมาทดสอบด้วยวิธี DPPH และทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากส่วน ราก ต้น และใบของผักตบชวา

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1). ทำให้ทราบถึงผลของการใช้สารสกัดส่วน ราก ต้น และใบของผักตบชวาที่มีผลต่อการยับยั้งต่อเชื้อแบคทีเรีย

2). สามารถนำไปประยุกต์ใช้ทางการแพทย์เพื่อใช้รักษาโรคผิวหนังอักเสบ

3). เป็นแนวทางในการเพื่อมูลค่าของผักตบชวาให้เกิดประโยชน์สูงสุด

4). เป็นข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อผักตบชวาสำหรับผู้ที่สนใจใช้ในการศึกษาวิจัยและค้นคว้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ผักตบชวา (Water hyacinth)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms

ชื่อสามัญ : Water hyacinth, Floating water hyacinth

วงศ์ : Pontederiaceae

ชื่อท้องถิ่น : ผักปง (นครราชสีมา), ผักปอด (อ่างทอง), ผักป่อง (สุพรรณบุรี), บัวลอย (เชียงราย), ผักตบ (ภาคตะวันตกเฉียงเหนือ), ผักตบป่องสวะ (ภาคกลาง)

สถานที่พบ : แหล่งน้ำจืดตามธรรมชาติ

ลักษณะทางพฤษศาสตร์

2.1.1 ต้นผักตบชวา

จัดเป็นพรรณไม้น้ำที่มีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมอยู่ในทวีปอเมริกาใต้ได้มีการนำเข้ามาปลูกที่ประเทศไทยครั้งแรกไว้ที่วังสระปทุมในกรุงเทพมหานครเมื่อปีพ.ศ.2444 แต่จากการขยายพันธุ์อย่างรวดเร็วและเกิดน้ำท่วมจึงทำให้ผักตบชวาหลุดรอดออกมาและเกิดการแพร่กระจายไปทั่วจนกลายเป็นวัชพืชน้ำที่รุนแรงโดยผักตบชวานั้นจัดเป็นพืชน้ำล้มลุกมีอายุหลายฤดูมีต้นสั้นแตกใบเป็นกอลอยไปตามน้ำมีดอกซึ่งเกิดตามซอกใบแล้วเจริญเป็นต้นอ่อนที่ปลายต้นมีลักษณะอวบน้ำผิวต้นเรียบเป็นสีเขียวอ่อนและเข้มต้นจะมีขนาดสั้นหรือยาวจะขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของแม่น้ำก้านใบจะพองออกตรงช่องกลางภายในมีลักษณะเป็นรูพรุนจึงช่วยพยุงต้นให้ลอยน้ำได้ ต้นสั้นมีความสูงได้ประมาณ 3-90 เซนติเมตรรากจะแตกออกจากต้นบริเวณข้อรากมักมีสีม่วงดำซึ่งต้นลอยอยู่บนผิวน้ำบางต้นอาจจะขึ้นอยู่ตามโคลนในที่น้ำตื้นสามารถขึ้นบนบกก็ได้มีความทนทานต่อความแห้งแล้งได้ดีแต่จะไม่ทนน้ำเค็มผักตบชวาเป็นพืชที่ขยายพันธุ์ได้รวดเร็วโดยการแยกกอพบได้ทั่วไปตามริมน้ำ

ภาพที่ 2.1 ลักษณะต้นของผักตบชวา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 ใบผักตบชวา

ใบเป็นใบเลี้ยงเดี่ยวแตกจากต้นเป็นกอโคนก้านใบแผ่เป็นกาบหุ้มประกันไว้ใบจะป่องออกเพื่อช่วยให้ลอยตัวอยู่ในน้ำได้ใบเป็นรูปไข่หรือเกือบกลมก้านใบอวบน้ำตรงกลางพองออกภายในเป็นช่องอากาศคล้ายกับฟองน้ำจึงช่วยพยุงต้นให้ลอยน้ำได้ลักษณะของใบจะคล้ายกับใบโพธิ์แต่ขนาดของใบจะกว้างกว่าและปลายใบจะป้านเล็กน้อยใบมีขนาดกว้างใหญ่รูปร่างค่อนข้างกลมปลายใบมนโคนใบเว้าเข้าหาก้านใบมีหูใบขนาดของใบและความยาวของก้านจะขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมแผ่นใบเป็นสีเขียวสดมีลายเส้นโค้งทั้งใบใบสดจะประกอบไปด้วยสารแคโรทีนในปริมาณที่ค่อนข้างสูง

ภาพที่ 2.2 ลักษณะใบของผักตบชวา

ที่มา https://medthai.com สืบค้นวันที่ 8/1/2018

2.1.3 ดอกผักตบชวา

ออกดอกเป็นช่ออยู่กลางกอไม่มีก้านดอกในช่อหนึ่งจะประกอบไปด้วยดอกขนาดเล็กหลายดอกมีดอกประมาณ 3-25 ดอก ดอกย่อยเป็นสีชมพูอมฟ้าหรือสีม่วงมีกลีบดอก 6 กลีบ ดอกมักจะบานพร้อมกันหมดทั้งช่อโดยจะเริ่มบานตั้งแต่แสงอาทิตย์เริ่มส่องและจะบานเต็มที่เมื่อแสงแดดส่องจ้าโดยดอกจะบานแค่เพียง 1 วัน

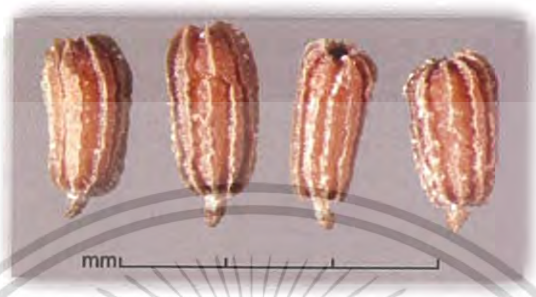
ภาพที่ 2.3 ลักษณะดอกของผักตบชวา

ที่มา https://medthai.com สืบค้นวันที่ 8/1/2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 ผลผักตบชวา

ผลเป็นแบบแคปซูลแห้งและแตกได้ลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกแบ่งเป็นพู 3 พูเมื่อแก่จะแตกกลางพูภายในมีเมล็ดจำนวนมากลักษณะของเมล็ดเป็นรูปกลมขนาดเล็ก



ภาพที่ 2.4 ลักษณะผลของผักตบชวา
ที่มา https://medthai.com สืบค้นวันที่ 8/1/2018

2.1.5 ราก

เป็นรากฝอย มีคุณสมบัติดูดซับได้ดี

ภาพที่ 2.5 ลักษณะรากของผักตบชวา
ที่มา https://medthai.com สืบค้นวันที่ 8/1/2018

2.1.6. การขยายพันธุ์

โดยทั่วไปผักตบชวาจะไม่สืบพันธุ์โดยเมล็ดนอกจากในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมเช่นในตอนที่น้ำแห้งในฤดูแล้งซึ่งต้นผักตบชวาแห้งตายหมดครั้งพอถึงฤดูฝนเมล็ดที่พักตัวอยู่ในดินจะเริ่มงอกขึ้นมาเป็นต้นอ่อนและในไม่ช้าก็เจริญเติบโตขึ้นการสืบพันธุ์ของผักตบชวาที่พบเห็นอยู่ทั่วไปและเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพที่สุดก็คือโดยการแยกกอหรือใช้ไหลไปตามท้องน้ำสามารถแพร่พันธุ์ได้อย่างรวดเร็วจนกลายเป็นมลพิษทางน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ของผักตบชวา

การบริโภค ดอกอ่อนและก้านใบอ่อนกินเป็นผักลวกจิ้มน้ำพริกหรือทำแกงส้ม ก้านและใบอ่อนนำมารับประทานได้

ด้านสมุนไพร ใช้แก้พิษภายในร่างกาย และขับลม ใช้ทาหรือพอกแก้แผลอักเสบ

อาหารสัตว์ ในรัฐฟลอริดา สหรัฐอเมริกา มีการนำผักตบชวาไปแปรรูปเป็นอาหารสัตว์โดยการบดเอาน้ำออก อบให้แห้ง แล้วอัดเป็นเม็ดแบบเดียวกับมันสำปะหลังเม็ด โดยผักตบชวาแห้งมีปริมาณโปรตีน 11.15% ซึ่งนับว่าสูงพอสมควร

2.2 การสกัดสารสมุนไพรจากวัชพืชน้ำ

วัตถุประสงค์ของการสกัดคือ เพื่อสกัดแยกสาระสำคัญให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น หลังจากที่ทำการเตรียมตัวอย่างแล้วควรเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมกับชนิดของสารสกัดที่ต้องการสกัด โดยตัวทำละลายควรมีความสามารถในการละลายสารสำคัญมากที่สุดและไม่มละลายหรือละลายองค์ประกอบอื่นได้น้อย(มีความจำเพาะสูง) เนื่องจากสาระสำคัญส่วนใหญ่เป็นสารประกอบอินทรีย์ดังนั้นควรพิจารณาถึงสภาพหรือรูปแบบของสารที่ต้องการสกัดนอกเหนือจากความมีขั้วของสารดังกล่าวในการเลือกตัวทำละลายมีหลักการทั่วไปว่าถ้าสารสำคัญมีคุณสมบัติเป็นสารที่มีขั้วควรเลือกสารละลายที่มีขั้วเช่นเดียวกันในการสกัด อีกทั้งตัวทำละลายที่ใช้จะต้องมีความคงตัว หาง่าย ราคาถูก ไม่เป็นพิษต่อร่างกายและไม่ระเหยง่ายเกินไป เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้จะมีปริมาตรมากและเจือจาง ทำให้นำไปแยกส่วนได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้นก่อน ซึ่งอาจทำได้หลายวิธี ดังนี้

- Free evaporation การระเหยให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ หรือ hot plate บางครั้งอาจเป่าอากาศร้อนลงไปในสารสกัดด้วยเพื่อให้ระเหยเร็วขึ้น
- Distillation in vacuum เป็นวิธีระเหยแห้งโดยกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำ และลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ vacuum pump เครื่องมือนี้เรียกว่า Rotary evaporator ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ distillation flask, condenser และ receiving flask โดย distillation flask จะหมุนตลอดเวลาที่ทำงาน และแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำเพื่อให้การกระจายความร้อนทั่วถึงและสม่ำเสมอ
- Freezing (การแช่แข็ง) ถ้าเป็นสารกสกัดด้วยน้ำ วิธีที่เหมาะสมคือใช้วิธีแช่แข็ง โดยใช้ Lyophilizer หรือ Freeze dryer แต่ถ้าเป็นตัวทำละลายอื่น เฉพาะตัวทำละลายเท่านั้นที่แข็ง ซึ่งแยกได้จาก Concentrated extract โดย centrifuge วิธีนี้มีข้อดีเหมาะสมกับสารที่ละลายตัวง่ายด้วยความร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Ultrafiltration เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้น โดยใช้แผ่นเมมเบรน ใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 5,000 เป็นต้น

2.2.1 น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย

เอทิลแอลกอฮอล์จัดเป็นตัวทำละลายที่ดีมากเมื่อเทียบกับน้ำ เอทิลแอลกอฮอล์มีข้อดีที่มากกว่าน้ำคือมีความจำเพาะในการละลายมากกว่าน้ำเนื่องจากสามารถองค์ประกอบที่ต้องการออกมาได้มากกว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และทำให้สารสกัดเข้มข้นขึ้นเพราะระเหยได้มากกว่าน้ำ แต่มีราคาที่สูงกว่าน้ำ

2.2.2 การเลือกตัวทำละลาย

หลักการของตัวทำละลายคือสารที่มีขั้วเหมือนกันจะสามารถเข้ากันได้ ดังนั้นในการใช้ตัวทำละลายในการสกัดเป็นเหมือนการดึงเอาสารที่มีขั้วเหมือนกับตัวทำละลายออกจากพืชโดยตัวคุณสมบัติของตัวทำละลายที่เหมาะสมและสิ่งที่ควรคำนึงถึงในการเลือกตัวทำละลายมีดังนี้

1) สารที่ใช้ต้องมีความสามารถในการละลายสสารสำคัญออกมาให้ได้มากที่สุดและไม่ละลายสารประกอบอื่นๆ หรือละลายได้น้อย

2) มีความคงตัว หาง่าย และราคาถูก

3) ไม่เป็นพิษหรือมีความเป็นพิษต่ำ

4) ไม่ระเหยง่ายจนเกินไป

2.2.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

สารสกัดที่สกัดออกมาได้นี้มีปริมาณและมีความเจือจางสูงทำให้ไม่สามารถไม่สามารถแยกองค์ประกอบได้อย่างสะดวก และเมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพจะไม่มีประสิทธิภาพจึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นโดยวิธีดังนี้

การระเหยสุญญากาศ เป็นการนำตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำหรือแผ่นความร้อนภายในสภาพสุญญากาศที่มีการควบคุมความดัน โดยการควบคุมความดันให้ต่ำทำให้อุณหภูมิที่ใช้ในการทำให้สารระเหยต่ำลงเป็นการป้องกันการเสียสภาพขององค์ประกอบของสารสกัดจากความร้อน

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

ในทางเคมี สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือ สารประกอบที่สามารถป้องกันหรือชะลอกระบวนการเกิดออกซิเดชัน กระบวนการเกิดออกซิเดชันมีหลายรูปแบบ เช่น กระบวนการออกซิเดชันที่ทำให้เหล็กกลายเป็นสนิม ทำให้แอปเปิ้ลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือทำให้น้ำมันเหม็นหืน หรือกระบวนการออกซิเดชันที่เกิดในร่างกาย เช่น การย่อยสลายโปรตีนและไขมันจากอาหารที่กินเข้าไปมลพิษทางอากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหายใจ ควันบุหรี่ รังสียูวี ล้วนทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายของเราซึ่งสร้างความเสียหายต่อร่างกายได้ ในความเป็นจริงไม่มีสารประกอบสารใดสารหนึ่งที่สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันได้ทั้งหมดแต่ละกลไกอาจต้องใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันในการหยุดกระบวนการออกซิเดชัน

ในอีกทางหนึ่ง กระบวนการออกซิเดชันเป็นกระบวนการที่สำคัญต่อร่างกาย เช่น เราใช้ออกซิเจนจากอากาศโดยการหายใจไปเผาผลาญอาหารที่ร่างกายได้รับให้ไปเป็นพลังงานสำหรับการทำงานของเซลล์ต่างๆ แต่ก็ทำให้เกิดอนุมูลอิสระเป็นผลพลอยได้ อนุมูลอิสระต่างๆ ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่สำคัญในร่างกาย เช่น ไขมัน โปรตีน ดีเอ็นเอ ทำให้เกิดความเสียหายต่อโมเลกุลดังกล่าว ตัวอย่างเช่น เมื่ออนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับแอลดีแอล (LDL : low – density lipoprotein) ซึ่งเป็นโคเลสเตอรอล ทำให้เกิดออกซิไดซ์แอลดีแอล (Oxidized LDL) ซึ่งมีหลักฐานยืนยันว่าออกซิไดซ์แอลดีแอลเป็นสาเหตุของภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง ทำให้เกิดการอุดตันของหลอดเลือดและเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคหัวใจ

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายเนื่องจากมีมูลเหตุจากออกซิเจนจึงมีชื่อเรียกเป็นภาษาอังกฤษว่า Reactive oxygen species (ROS) อนุมูลอิสระที่สำคัญได้แก่

Superoxide anion

Hydrogen peroxide

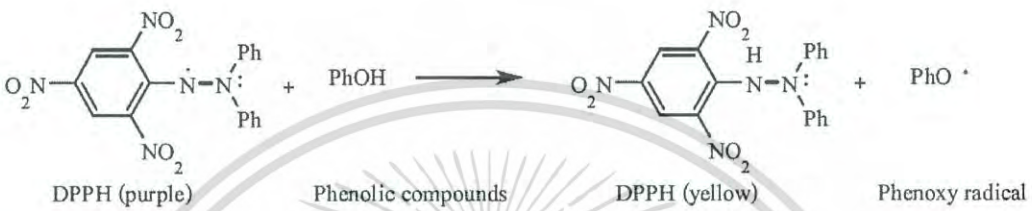
Hydrogen radical

เมื่อมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น จึงเกิดการทำลายโมเลกุลอื่นๆ ต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ ส่งผลให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อร่างกาย เกิดริ้วรอยเหี่ยวย่นบนใบหน้า รอบดวงตาและผิวพรรณ รวมทั้งเป็นสาเหตุของโรคเรื่อรังต่างๆ เช่น โรคหัวใจขาดเลือด ต้อกระจก ความดันโลหิตสูง อัลไซเมอร์ เบาหวานและมะเร็ง เป็นต้น ปกติภายในร่างกายมีกลไกป้องกันการโจมตีจากอนุมูลอิสระ โดยอาศัยการทางานของสารต้านอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นในร่างกาย เช่น เอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD), Catalase และ Glutathione peroxidase เป็นต้น แต่การสร้างสารต้านอนุมูลอิสระยังไม่เพียงพอและมีขีดจำกัดประกอบกับเมื่ออายุมากขึ้น ร่างกายจะสร้างสารต้านอนุมูลอิสระได้น้อยลง ดังนั้นร่างกายจึงควรรับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกด้วยเช่นกัน สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารแอนติออกซิแดนซ์ (Antioxidants) ที่รู้จักกันดี ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี ซีลีเนียม เบต้าแคโรทีน วิตามินเอ และพฤกษเคมีต่างๆ (Phytochemical) เช่น โพลีฟีนอล (Polyphenol) และไอโซฟลาโวน (Isoflavone) เป็นต้น ปัจจุบันสารต้านอนุมูลอิสระถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เสริม อาหารหลายชนิด นอกจากนี้ยังมีการใช้สารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติในเภสัชภัณฑ์ และ ส่วนประกอบอื่นๆ ในผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เช่น สารกันบูดในอาหาร และเครื่องสำอางอีกด้วย (วรพร ศีลศร, 2554) สำหรับวิธีการทดสอบที่นิยมใช้เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนั้นจะเรียกว่า DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) กลไกการต้านอนุมูลอิสระของ DPPH ของสารจา

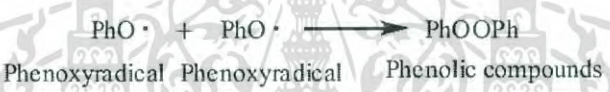
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พวกฟีนอล เกิดจากการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH ของสารจาพวกฟีนอล เมื่ออนุมูลอิสระ DPPH ได้รับอิเล็กตรอนจากสารจาพวกฟีนอลแล้วจะได้เป็นโมเลกุลที่มีความเสถียร โดยจะเห็นเป็นสีเหลือง (ขั้นที่ 1) ส่วน phenoxy radical ที่เกิดขึ้นจะจับกัน ทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระหมด ไป (ขั้นที่ 2) (ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง, 2549)

ขั้นที่ 1



ขั้นที่ 2



ภาพที่ 2.6 กลไกการต้านอนุมูลอิสระของ DPPH

2.3.1 บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระ

มีงานวิจัยมากมายบ่งชี้ว่า สารต้านอนุมูลอิสระสามารถลดความเสี่ยงต่อโรคได้โดยเฉพาะโรคเรื้อรังที่สัมพันธ์กับอาการ เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคสมอง เป็นต้น รวมทั้งช่วยชะลอกระบวนการบางขั้นตอนที่ทำให้เกิดความชรา โดยปกติร่างกายสามารถกำจัดอนุมูลอิสระก่อนที่สารอนุมูลอิสระจะทำอันตราย แต่ถ้ามีการสร้างอนุมูลอิสระเร็วหรือมากเกินกว่าร่างกายจะกำจัดทัน อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะสร้างความเสียหายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อได้ ซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพ สารต้านอนุมูลอิสระจะลดความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้ 2 ทาง คือ

1. ลดการสร้างอนุมูลอิสระในร่างกาย

2. ลดอันตรายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ

แหล่งอาหารที่สำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ

วิตามินซี – ฝรั่ง ส้ม มะขามป้อม มะละกอสุก พริกชี้ฟ้าเขียว บร็อกโคลี ผักคะน้า ยอด ใบสะเดา ใบปอ ผักหวาน ผักกาดเขียว

วิตามินอี – น้ำมันจากจมูกข้าวสาลี น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันดอกคำฝอย เมล็ดทานตะวัน เมล็ดอัลมอนด์ จมูกข้าวสาลี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

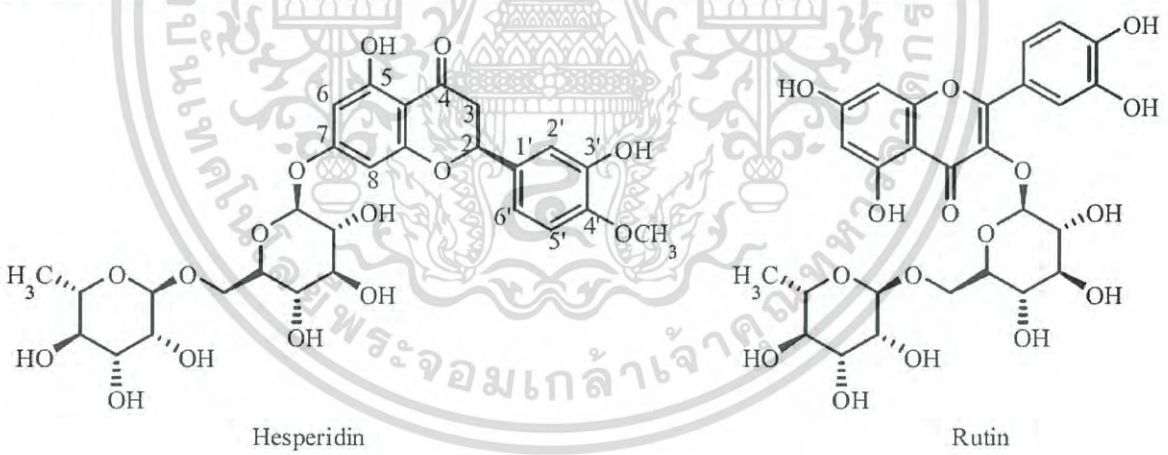
ซีลีเนียม – อาหารทะเล ปลาทูน่า เนื้อสัตว์และตับ ไก่ ปลา ขนมปัง

วิตามินเอ – ตับหมู ตับไก่ ไข่แดง น้ำนม พืชที่มีสีเขียวเข้ม ผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม เช่น แครอท ฟักทอง มะม่วงสุก มะเขือเทศ

แคโรทีนอยด์ (เบตาแคโรทีนลูทีนและไลโคฟีน) – ผักที่มีสีเขียวเข้ม ผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม

2.3.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

ฟลาโวนอยด์ เป็นสารพฤกษเคมีที่มีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระ พบในเม็ดสีชนิดละลายในน้ำของผัก ผลไม้ เมล็ดธัญพืช ใบไม้ และเปลือก (ฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในร่างกายของมนุษย์ คือ ไบโอฟลาโวนอยด์) ฟลาโวนอยด์มีอยู่มากมายหลายชนิด เป็นสารโพลีฟีนอล (Polyphenolic compound) ส่วนใหญ่เป็น o-glycoside พบเป็น c-glycoside บ้าง และน้ำตาลมักจับตำแหน่ง 3, 5 หรือ 7 ของ Aglycone บางชนิดมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และพืชแต่ละชนิดจะมีฟลาโวนอยด์แต่ละประเภทในความเข้มข้นที่แตกต่างกันไป มีการศึกษาที่มากมายพบว่า ฟลาโวนอยด์บางชนิดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเหนือกว่าวิตามินซีหรือวิตามินอี ถึง 50 เท่า และฟลาโวนอยด์ในองุ่นแดงมีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันแอลดีแอล (LDL) (สัมพันธ์กับการอุดตันของเส้นเลือดแดงและการเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด) มากกว่าวิตามินอี ถึง 1,000 เท่า



ภาพที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์

ฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ ที่พบบางส่วนมีดังนี้

2.3.2.1 แคเทคิน (Catechin) เป็นหนึ่งในสมาชิกของตระกูลพอลิฟีนอล-ฟลาโวนอยด์ มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย กลุ่ม Staphylococcus ซึ่งดื้อต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด การติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดอันตรายถึงชีวิตได้ แคเทคินยังช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดและยังช่วยป้องกันฟันผุและโรคเหงือกได้อีกด้วย ยังมีข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่า แคเทคินช่วยลดอัตราการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารและมะเร็งปอด ช่วยป้องกันการทำลายดีเอ็นเอ (DNA) จากอนุมูลอิสระและยังช่วยชะลอการเกิดโรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว แคเทคินพบในใบชาเขียว องุ่น (น้ำองุ่น ไวน์องุ่น)

2.3.2.2 **เรสเวอราทรอล (Resveratrol)** สมาชิกสำคัญอีกหนึ่งจากตะกูลพอลีฟีนอล-ฟลาโวนอยด์ มีการศึกษาพบว่า ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและเส้นเลือดในสมองตีบ โดยยับยั้งการก่อตัวของลิ่มเลือดและไขมันชนิดแอลดีแอล (LDL) ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี และยังพบว่าช่วยยับยั้งการสร้างเซลล์มะเร็ง และสามรถเปลี่ยนเซลล์มะเร็งให้กลับคืนเป็นเซลล์ปกติได้ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เรสเวอราทรอล พบในผิวและเมล็ดขององุ่น (ไวน์แดง) และถั่วลิสง

2.3.2.3 **โปรแอนโทไซยานิดินส์และแอนโทไซยานิดินส์ (Proanthocyanidins and Anthocyanidins, PCOSs)** หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า โอลิโกเมอริก โปแอนโทไซยานิดินส์ฟลาโวนอยด์เหล่านี้เป็นผู้คุ้มกันหลอดเลือดและยังโดดเด่นในการเชื่อมโยงและสร้างความแข็งแรงให้เสนสายโปรตีนคลอลาเจน โดยเฉพาะคลอลาเจนที่บริเวณเนื้อเยื่ออ่อน เส้นเอ็น และกระดูก ด้วยเหตุผลดังกล่าว OPCs จึงช่วยส่งเสริมการไหลเวียนของเลือดไปหล่อเลี้ยงต่อมและอวัยวะทั่วร่างกาย ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการป้องกันและรักษาโรค ช่วยรักษาเส้นเลือดฝอยที่เปราะแตกง่าย เช่น อาการฟกช้ำ เส้นเลือดขอดบริเวณขาและริดสีดวงทวารหนัก และยังมีส่วนสำคัญในการป้องกันโรคกระดูกพรุน OPCs มีคุณสมบัติการละลายน้ำได้ดี ส่งผลให้ต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในของเหลวรอบเนื้อเยื่อต่างๆ ได้เป็นอย่างดี เป็นสารต้านอนุมูลอิสระหนึ่งในไม่กี่ตัวที่สามารถผ่านระบบกั้นระหว่างเส้นเลือดกับสมองได้ ดังนั้น จึงสามารถช่วยปกป้องสมองและเนื้อเยื่อประสาทจากการเข้าทำลายของอนุมูลอิสระได้ พบมากในสารสกัดเมล็ดองุ่นและเปลือกสน สารต้านอนุมูลอิสระจำพวกไบโอฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารที่พบมากในผักและผลไม้ จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง จากการศึกษาวิจัยทางคลินิกแสดงให้เห็นว่า สารอาหารชนิดนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกและเส้นเลือดภายในเนื้องอกได้

2.3.3 **แอนโทไซยานิน (Anthocyanins)**

แอนโทไซยานินมีชื่อย่อมาจากรากศัพท์เดิมของกรีก คือ Athos แปลว่า ดอกไม้ แอนโทไซยานิน จึงหมายถึง ดอกไม้สีน้ำเงิน แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำ จัดอยู่ในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ สีของแอนโทไซยานิน จะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-ด่าง สีน้ำเงินเข้มในสภาวะที่เป็นด่าง มีสีม่วงในสภาวะที่เป็นกลาง และจะเปลี่ยนเป็นสีแดงส้มในสภาวะที่เป็นกรด สามารถพบแอนโทไซยานินได้ทั่วไปในเซลล์เนื้อเยื่อชั้นนอกของ ดอก ผล ใบ ยกเว้นในพืช ตะบองเพชร หัวผักกาด สาหร่าย บางครั้งจะอยู่ในเนื้อเยื่อพืช ได้แก่ ราก หัวใต้ดินของพืช ลำต้น หน่อ และพืชเมล็ดเปลือยต่างๆ เช่น เฟิร์น และไบโอไฟต์ นอกจากแอนโทไซยานินจะทำให้ดอกไม้สีสันสวยงามยังช่วยป้องกันพืชไม่ให้ได้รับอันตราย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

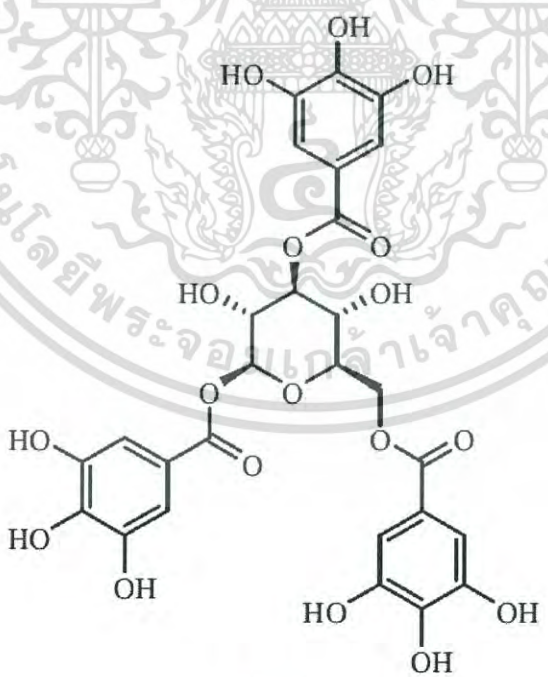
จากสิ่งแวดล้อมและแมลงต่างๆ แอนโทไซยานินจากธรรมชาติสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหรือเครื่องดื่มและผลิตภัณฑ์อื่นๆ ได้หลายชนิด แต่ได้รับความสนใจมากในปัจจุบัน คุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจึงมีแนวโน้มในการนำมาประยุกต์ใช้ในด้านสุขภาพและความงาม โดยช่วยลดการเกิดริ้วรอยของผิวจากมลภาวะทางอากาศ ช่วยป้องกันผนังเซลล์ และทำให้เส้นผมเงางามและแข็งแรง

2.3.4 สารควอซิติน (Quercetin)

สารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์มีคุณสมบัติเป็นสารแอนตีออกซิแดนท์ที่พบในแอปเปิ้ล ผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ และหัวหอม สารคอซิตินทำหน้าที่เป็น Chelating agent ซึ่งจะดักจับไอออนของโลหะเข้าไปในโมเลกุล โดยโครงสร้างของสารควอซิตินมีตำแหน่ง (Binding site) ที่สามารถดักจับไอออนของโลหะ เช่น ทองแดงได้ 3 บริเวณ คือบริเวณ 3', 4' dihydroxyของวงแหวน B บริเวณ 3-hydroxy, 4-keto ของวงแหวน C และบริเวณระหว่างตำแหน่ง 5-hydroxy ของวงแหวน A

2.3.5 แทนนิน (Tannins)

เป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป มีรสฝาด มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน และสามารถตกตะกอนโปรตีนได้ เช่น ตกตะกอนเจลาติน และเป็นสารที่ไม่ตกผลึก เมื่อนำมาละลายในน้ำ จะให้สารละลายคอลลอยด์ มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย พบในใบฝรั่ง เนื้อของกล้วยน้ำว้าดิบ ประโยชน์ของแทนนิน ใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง ทำให้หนังเป็นเงางามและทนทาน เป็นยาแก้ท้องเสียเนื่องจากมีฤทธิ์ฝาดสมาน



Tannin

ภาพที่ 2.8 โครงสร้างททางเคมีของสารประกอบในกลุ่มแทนนิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.6 ฟีนอล (Phenol)

เป็นกลุ่มสารที่พบมากในพืช มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ป้องกันความเสียหายที่เกิดจากรังสีอัลตราไวโอเลต และป้องกันการสร้างสารก่อมะเร็ง สารกลุ่มนี้ถูกจำแนกตามโครงสร้างทางเคมีออกเป็นกลุ่มย่อยหลายกลุ่ม ซึ่งสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นหนึ่งในกลุ่มย่อยเหล่านี้ที่มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและถูกนำมาใช้ประโยชน์เป็นอาหาร ยา และเครื่องสำอางอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) เป็นสารประกอบอะโรมาติกที่ผลิตได้จากสารประกอบอะโรมาติกชนิดอื่นๆ เช่น เบนซีนโทลูอีน เป็นสารที่ถูกนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์เคมีหลายชนิด เช่น สีย้อม สารเคมีกำจัดวัชพืช และศัตรูพืช ยาในทางการแพทย์ เป็นต้น ฟีนอลมีสูตรเคมี C_6H_5OH เป็นสารประกอบที่มีหมู่ Hydroxy (OH) ต่อกับกลุ่มอะโรมาติก มีสถานะเป็นของแข็งสีชมพูอ่อน มวลโมเลกุลเท่ากับ 94.01 กรัมต่อโมล สามารถละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ คาร์บอนเตรทตระคลอไรด์และอซิติกเอซิด เป็นต้น หากมีหมู่อื่นแทนที่หมู่ OH หรือมาเกาะอยู่กับวงแหวนของฟีนอล เช่น CH_3 หรือ Cl จะได้เป็นอนุพันธ์ของฟีนอล ซึ่งเรียกแตกต่างกันตามหมู่ที่มาเกาะ พบได้ในพืช ผัก และผลไม้ทั่วไป อาจแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ ได้แก่

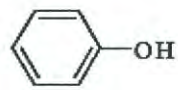
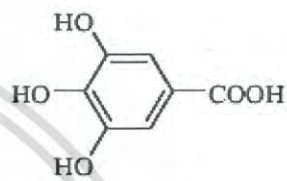
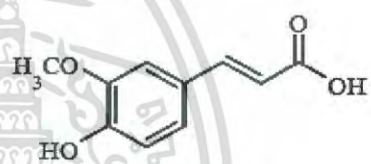
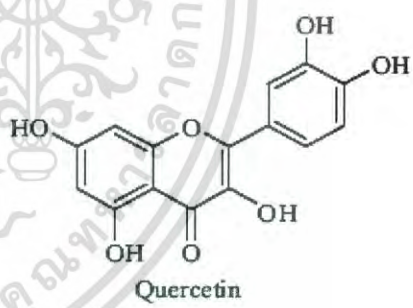
1) Simple phenols หรือ phenolic acid และอนุพันธุ์ เช่น Gallic acid, Ellagic acid, Tannic acid, Vanillin, Catechol, Resorcinol และ Salicylic acid เป็นต้น สารกลุ่มนี้พบได้ในผลไม้หลายชนิด เช่น Raspberry และ Blackberry

2) Phenylpropanoids ได้แก่ Phenolic compound ที่ Aromatic ring มี Three-carbon side chain เกาะอยู่ แยกย่อยได้หลายกลุ่ม ได้แก่ Hydroxycinnamic acid (Ferulic acid, Caffeic acid หรือ Coumaric acid), Coumarins (Umbelliferone, Scopoletin, Aesculetin หรือ Psoralen), Lignans (Pinoresinol, Eugenol หรือ Myristicin) พบได้ในแอปเปิ้ล แพร์ และกาแฟ

3) Flavonoids เป็นกลุ่มสำคัญของ Phenolic compounds ได้แก่ สารที่มีสูตรโครงสร้างเป็น C6-C3-C6 แยกย่อยออกได้เป็นหลายกลุ่ม ได้แก่ Catechins, Proanthocyanins, Anthocyanidines, Flavones, Flavovols, Flavonones และ Isoflavones จากการที่พบ Flavonoid อย่างกว้างขวาง ทั้งพืช ผักและผลไม้ รวมทั้งเครื่องดื่มที่เตรียมจากพืช เช่น ชา พบว่าในใบชาจะมี Catechins อยู่ถึง 30% ของน้ำ หนักแห้ง และเชื่อว่าเป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและ Chemoprevention โดยAnthocyanins เป็นสารที่มีสีในพืช ส่วนกลุ่ม Flavones, Flavonols และ Isoflavones พบได้ทั่วไปและเชื่อว่าเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกลุ่มต่างๆ

Class	Basic skeleton	Sample
Simple phenols	C_6	 Phenol
Phenolic acid	C_6-C_1	 Gallic acid
Phenylpropenes	C_6-C_3	 Ferulic acid
Flavonoids	C_6-C_3-C_6	 Quercetin

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) เป็นสารที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด ดังนั้นรูปแบบของสารประกอบฟีนอลในพืชแต่ละชนิดจึงมีความแตกต่างกันไป ปัจจุบันพบว่ามีสารประกอบฟีนอลที่ทราบโครงสร้างแน่นอนแล้วมากกว่า 8,000 ชนิด ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (Phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นโพลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (Lignins) โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิกจะเกิดจากการรวมตัวของโมเลกุลน้ำตาลตั้งแต่ 1 โมเลกุลขึ้นไปกับหมู่ไฮดรอกซิล (OH-group) โดยน้ำตาลดังกล่าวอาจเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Monosaccharides) น้ำตาลโมเลกุลคู่ (Disaccharides) หรือ โอลิโกแซคคาไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Oligosaccharides) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก คือ กลูโคส (Glucose) นอกจากนี้ยังพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟินอลิกด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก (Carboxylic acids) กรดอินทรีย์ (Organic acids) เอมีน (Amines) และไขมัน ปัจจุบันสารประกอบฟีนอลิกได้รับความสนใจในฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidation) และฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ (Antimutagenic activity) ที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (Free radicals) และการใช้สารประกอบฟีนอลิกในการป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะ โรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอลิกจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$ROO\bullet + PPH \longrightarrow ROOH + PP\bullet$$

$$RO\bullet + PPH \longrightarrow ROH + PP\bullet$$

เมื่อ ROO·, RO· คือ Free radicals, PPH คือ Polyphenolic Compounds

เมื่อสารประกอบฟีนอลิกให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระไปแล้ว อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกจะค่อนข้างมีเสถียรภาพ ดังนั้นจึงไม่ทำปฏิกิริยาอื่นต่อไป ยิ่งไปกว่านั้นอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลบางชนิดยังคงสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้ด้วย จึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกเหล่านั้นลดจำนวนอนุมูลอิสระลงได้ถึง 2 เท่า ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$ROO\bullet + PP\bullet \longrightarrow ROOPP$$

$$RO\bullet + PP\bullet \longrightarrow ROPP$$

สารประกอบฟีนอลิกที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันนั้น สามารถพบได้ในส่วนต่างๆของพืช เช่น เมล็ด (ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง เมล็ดฝ้าย ข้าว และงา) ผล (ได้แก่ องุ่น ส้ม และพริกไทยดำ) ใบ (ได้แก่ ชา และเครื่องเทศต่างๆ) ดอก (ได้แก่ กล้วยไม้) และส่วนอื่นๆ (ได้แก่ มันเทศและหัวหอม) สารประกอบฟีนอลิกที่เป็นที่รู้จักกันดี คือ Flavonoids และ Cinnamic acid derivatives โดยสามารถพบได้ในเกือบทุกส่วนของพืช แต่จะมีความแตกต่างกันในด้านของชนิดและปริมาณ (วรพร ศีลศร, 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.6.1 ประโยชน์ฟีนอล สารฟีนอลมีการนำมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมหลายประเภท ได้แก่ อุสาหกรรมปิโตรเคมี อุตสาหกรรมพลาสติก สารเคมีในการเกษตร อุตสาหกรรมผลิตยา อุตสาหกรรมสารฆ่าเชื้อโรคและน้ำยาทำความสะอาด อุตสาหกรรมสีย้อม อุสาหกรรมสบู่ และกระดาษ เป็นต้น

การใช้ฟีนอล และอนุพันธ์ของฟีนอลในกระบวนการผลิต

- สารตั้งต้นพลาสติก
- สารตั้งต้นผลิตยา
- ส่วนผสมของสีย้อม
- สารผสมในการผลิตเส้นใยสังเคราะห์ Nylon 66 และ Nylon 6
- สารผสมสำหรับผลิตยากำจัดวัชพืช
- สารผสมน้ำยาฆ่าเชื้อโรค น้ำยาทำความสะอาด ทั้งในด้านครัวเรือนและการเกษตร เนื่องจากฟีนอลมีฤทธิ์ทำลายเชื้อโรค
- สารตั้งต้นในการเตรียมสบู่ เช่น O – Cresol, m – Cresol และ p – Cersol Hydroquinone และ Pyrogallol ใช้สำหรับล้างฟิล์มถ่ายรูป

ผลกระทบของฟีนอลต่อคนและสัตว์

การปนเปื้อนของฟีนอลสู่สิ่งแวดล้อมมักมีแหล่งกำเนิดมาจากภาคอุตสาหกรรมที่อาจเกิดการแพร่ออกสู่สิ่งแวดล้อมในกระบวนการผลิต กระบวนการจัดเก็บ กระบวนการขนส่ง และกำจัดของเสีย อุตสากรรมเหล่านั้น ได้แก่ การผลิตพลาสติก การผลิตยากำจัดวัชพืช การฟอกย้อม และสีย้อม อุตสาหกรรมพ่นสีรถยนต์ เป็นต้น หากมีการปนเปื้อนทำให้เกิดอันตรายต่อคน สัตว์ ระบบนิเวศและสิ่งแวดล้อมได้สูง สำหรับความเป็นพิษของฟีนอลแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

2.3.6.2 การเป็นพิษฉับพลัน อันเกิดจากการสัมผัส จะทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังเยื่อบุตา เยื่อบุระบบทางเดินหายใจ มีอาการวิงเวียนศีรษะ อาเจียน ท้องร่วง และได้รับสารฟีนอลเข้าทางปากเพียง 4.8 มิลลิกรัม จะทำให้เสียชีวิตได้ภายใน 15 นาที

2.3.6.3 การเป็นพิษเรื้องรัง อันเกิดจากการสัมผัส และได้รับสารฟีนอลเป็นเวลานานจนเกิดการสะสมในร่างกายระยะยาวแล้วเริ่มปรากฏอาการ เช่น ท้องร่วง เบื่ออาหาร ตับวาย และอาจก่อให้เกิดมะเร็งได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.7 วิตามินอี (Vitamin E)

เป็นวิตามินที่ละลายได้ดีในไขมัน จากโครงสร้างมีได้หลายไอโซเมอร์รูปแบบ α–tocopherol เป็นไอโซเมอร์ที่มีฤทธิ์สูงสุดจากบรรดาไอโซเมอร์ทั้งแปด วิตามินเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญของเมมเบรนซึ่งมีลิพิดเป็นองค์ประกอบ โดยปกป้องไม่ให้เกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน

2.4 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบความไวของเชื้อต่อผลิตภัณฑ์ต้านจุลชีพสามารถทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปนิยมใช้ 2 วิธีหลักๆ คือ Dilution test และ Diffusion test ซึ่งในการทดสอบจำเป็นต้องคำนึงถึงผลกระทบจากสิ่งต่างๆ เช่น ปริมาณเชื้อเริ่มต้น ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง อุณหภูมิ ตลอดจนเชื้อที่ใช้ในการทดสอบเป็นต้น

2.4.1 Dilution test

เป็นการทดสอบหาปริมาณ เพราะสามารถทราบค่าความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่ทำลายเชื้อได้ นิยมใช้กับเชื้อที่เจริญได้ช้า ใช้ทดสอบยืนยันผล Dilution test ที่ให้ผลความไวปานกลางหรือดื้อยาเพื่อที่จะสามารถใช้ยานั้นในจำนวนสูงๆได้ และใช้ทดสอบความไวของเชื้อ Anaerobe การทดสอบนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น

2.4.1.1 Broth dilution method

ทำได้โดยการเจือจางผลิตภัณฑ์ในอาหารเหลวให้ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ลดลงทีละครึ่งตามลำดับ จนมีความเข้มข้นสุดท้ายที่ต้องการ แล้วเติมเชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปเท่ากันทุกหลอด นำไปเพาะเลี้ยงในตู้บ่ม 35-37 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง แล้วนำมาหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย โดยดูจากหลอดที่มีความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่เชื้อไม่เจริญเมื่อดูด้วยตาเปล่า และนำไปหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ โดยนำหลอดเชื้อที่ไม่เจริญทุกหลอดไปเพาะเลี้ยงในอาหารใหม่ ปริมาณผลิตภัณฑ์ในหลอดที่มีความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ไม่มีเชื้อเจริญคือ MBC

การทดสอบด้วยวิธีนี้ค่อนข้างสิ้นเปลืองและใช้เวลามากแต่สามารถอ่านค่าได้ละเอียด ผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อจะมีค่า MIC และ MBC ใกล้เคียงกัน ส่วนผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อมีค่า MIC กับ MBC แตกต่างกัน

2.4.1.2 Agar dilution method

ทำได้โดยการเจือจางผลิตภัณฑ์ให้มีความเข้มข้นต่างกัน แล้วผสมกับอาหารวุ้นเข้าด้วยกัน ขณะที่หลอมเหลวที่อุณหภูมิ 45-55 องศาเซลเซียส เทลงเพลท ให้ผลิตภัณฑ์และวุ้นเข้าด้วยกัน จะสามารถผสมผลิตภัณฑ์กับอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มตามที่ต้องการ เมื่อวุ้นแข็งนำเชื้อที่ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบมาแตะเป็นจุดให้ห่างกันพอสมควร โดยใช้ Loop หรือ Multiple inoculators ให้เริ่มเพาะเชื้อจานที่มีความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ต่ำก่อน ข้อดีของวิธีนี้คือ สามารถที่จะทำการทดสอบเชื้อหลายชนิดบนจานอาหารเดียวกันได้ ถ้ามีเชื้ออื่นๆ ปนเปื้อนก็สามารถมองเห็นได้ แต่ข้อเสีย คือ ไม่สามารถหาค่า MBC ได้

อีกวิธีหนึ่งที่นิยมกันอย่างแพร่หลาย คือ Agar well diffusion ทดสอบได้เพียงเชิงคุณภาพเท่านั้น คือ สามารถบอกได้เพียงว่าเชื้อมีความไวต่อผลิตภัณฑ์ มีความไวปานกลาง หรือไม่ตอบสนองต่อผลิตภัณฑ์

หลักการทั่วไป คือ การเจาะหลุมด้วย Cork borer และเติมสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพให้ซึมลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้ทำการกระจายเชื้อแบคทีเรียในจำนวนที่พอเหมาะ แล้วเพาะเลี้ยงเชื้อให้เจริญเติบโต ตรวจวัดผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์การยับยั้ง ด้วยเวอร์เนียคาร์ลิปเปอร์

2.5 ยาต้านจุลชีพ (Antibiotic)

ยาปฏิชีวนะ คือ สารประกอบเคมีที่ได้มาจากธรรมชาติ เช่น จากเชื้อรา หรือจากการสังเคราะห์ ซึ่งมีผลต่อต้านหรือทำลายจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ตัวอย่างที่ได้จากธรรมชาติ หรือที่เรียกว่า ยาปฏิชีวนะ ได้แก่ Penicillin G ที่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้นมา ได้แก่ ซัลฟา และยาต้านจุลินทรีย์กึ่งสังเคราะห์ หรือที่เรียกว่า ยาปฏิชีวนะกึ่งสังเคราะห์ ได้แก่ Ampicillin

เจนต้ามัยซิน (Gentamycin) จะออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียเหมือนยาในกลุ่ม Aminoglycosides ตัวอื่นๆ กล่าวคือ จะไปยับยั้งการสร้างโปรตีนของเชื้อแบคทีเรีย เชื้อที่ไวต่อยาเจนต้ามัยซินได้แก่ *Escherichia coli, Enterobacter aerogenas, Krebsiella pneumonia, Salmonella sp., Pseudomonas aeruginos., Shigella sp., Mycoplasma, Proteus sp.,* และ *Paracolobactrum arizonae* เป็นต้น

ซิโปรฟลอกซาซิน (Ciprofloxacin) เป็นยากลุ่มฟลูออโรควิโนโลน (Fluoroquinolones) ใช้สำหรับรักษาการติดเชื้อตามส่วนต่างๆของร่างกาย ออกฤทธิ์โดยฆ่าเชื้อแบคทีเรียหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามยาปฏิชีวนะเหล่านี้ไม่เหมาะสมสำหรับการรักษาไข้หวัดหรือการติดเชื้อไวรัส อาจใช้ในกรณีอื่นตามดุลยพินิจแพทย์

2.6 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

2.6.1 Escherichia coli

Escherichia coli มีชื่อย่อว่า *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) รูปร่างเป็นแท่ง (Rod shape) ไม่สร้างสปอร์ เป็น Facultative anaerobe เจริญได้ทั้งที่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae และเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์มประเภท Fecal coliform ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น จึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณลักษณะของอาหารและน้ำ

Escherichia coli หรือ *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น (Micro flora) ที่พบได้ในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น โดยปกติจะไม่ทำอันตรายหรือก่อโรคร้ายแรง เมื่ออยู่ในลำไส้จะช่วยย่อยอาหารที่เรารับประทานเข้า แต่หากเชื้อ *E. coli* ลุกลามเข้าไปสู่ระบบต่างๆของร่างกายจะทำให้เกิดโรคติดเชื้ออย่างรุนแรง เช่น โรคติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะอักเสบ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ และการติดเชื้อในกระเลือด เป็นต้น และมีเชื้อ *E. coli* บางสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการท้องเสียอย่างรุนแรง โดยการปนเปื้อนของเชื้อในอาหารหรือน้ำดื่ม ทั้งนี้เชื้อ *E. coli* ที่สามารถก่อโรคท้องเสียอย่างรุนแรงจะมีกลไกการก่อโรคและสร้างสารพิษได้แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ เช่น Enterotoxigenic *E. coli* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ Enterotoxin ทำให้เกิดอาการท้องร่วงแบบฉับพลัน ถ่ายเหลวเป็นน้ำหรือเชื้อ Enterohaemorhagic *E. coli* ที่สร้างสารพิษ Shiga ทำให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างรุนแรงถ่ายเป็นมูกเลือด ก่อให้เกิดอาการเม็ดเลือดแดงแตกและไตวายเฉียบพลัน

รูปที่ 2.9 เชื้อ *Escherichia coli*

ที่มา https://foodconsulting.co.za/an-introduction-to-escherichia-coli/ สืบค้นวันที่ 30/5/2018

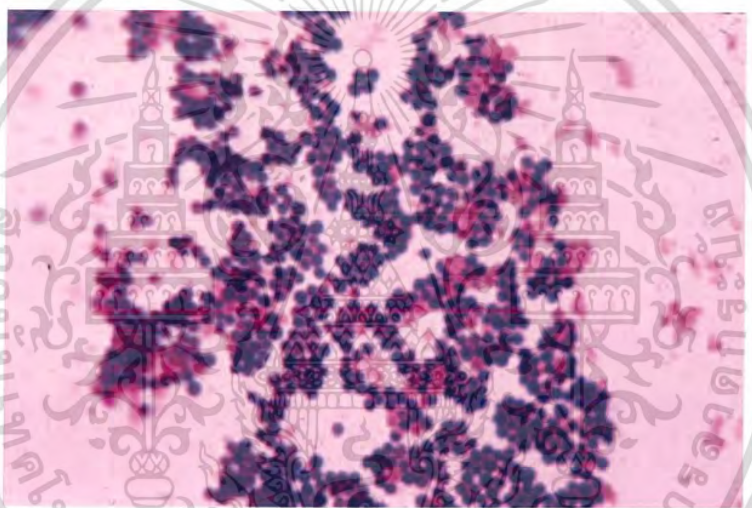
2.6.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus มีชื่อย่อว่า *S. aureus* เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในอาหาร แบคทีเรียชนิดนี้ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) มีรูปร่างทรงกลม (coccus) อยู่รวมกันคล้ายพวงองุ่น ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ส่วนใหญ่ไม่มีแคปซูล ให้ผลบวกในการทดสอบ Catalase และในภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะสลายน้ำตาลกลูโคสได้กรดอินทรีย์ จัดอยู่ในกลุ่ม Facultative anaerobe

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือเจริญได้ทั้งที่มีและไม่มีอากาศ แต่จะเจริญได้ดีดว่าในสภาวะที่มีอากาศและยังสร้างสารพิษ (Toxin) ชนิดเอนเทอโรทอกซิน (Enteroxin) สารพิษนี้มีคุณสมบัติพิเศษคือ สามารถทนความร้อนได้

Staphylococcus aureus ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ชนิด Intoxication ซึ่งเกิดจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษ Enterotoxin ที่เชื้อสร้างขึ้น ปริมาณการปนเปื้อนที่น้อยกว่า 1 ไมโครกรัม จะสามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้องและอ่อนเพลีย ผู้ป่วยบางรายอาจมีอาหารปวดศีรษะ เป็นตะคริวที่กล้ามเนื้อ และมีการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเป็นระยะๆ รวมทั้งมีการเต้นของชีพจรผิดปกติ ซึ่งโดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นภายใน 2-3 วัน ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานพิษของร่างกาย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อและปริมาณสารพิษที่เชื้อสร้างขึ้นในอาหาร รวมทั้งสภาพร่างกายโดยทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อและสารพิษด้วย



รูปที่ 2.10 เชื้อ *Staphylococcus aureus*
ที่มา https://mbbsstudystuff.wordpress.com/2013/10/07/staphylococcus-aureus/
สืบค้นวันที่ 30/5/2018

2.6.3 Bacillus subtilis

Bacillus คือ แบคทีเรียรูปร่างเป็นท่อน (Rod shape) ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) อยู่ในวงศ์ Bacillaceae ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกับ *Clostridium* และ Desulfotomaculum Bacillus เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลล่า (Flaggella) ต้องการออกซิเจนในการเจริญ (Aerobic bacteria) แต่บางชนิดเป็น Facultative Anaerobe Bacillus เป็นแบคทีเรียที่ทนต่อความร้อน จะสร้างเอนโดสปอร์ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม Bacillus เป็น Protiolytic bacteria มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยโปรตีนในอาหารให้เป็นกรดอะมิโน เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย (Microbial

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

spoilage) และทำให้อาหารที่เน่าเสียเกิดกลิ่นเหม็นแบคทีเรียในกลุ่ม Bacillus ส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลางที่อยู่ในช่วง 30-45 องศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง ซึ่งเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของอาหารกระป๋อง (Canned food spoilage) และยังพบว่าบางสายพันธุ์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ เจริญได้ในช่วงค่า pH ที่กว้าง ตั้งแต่ 2 ถึง 11 ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ มีระยะเวลาการแบ่งตัว (Generation time) ประมาณ 25 นาที

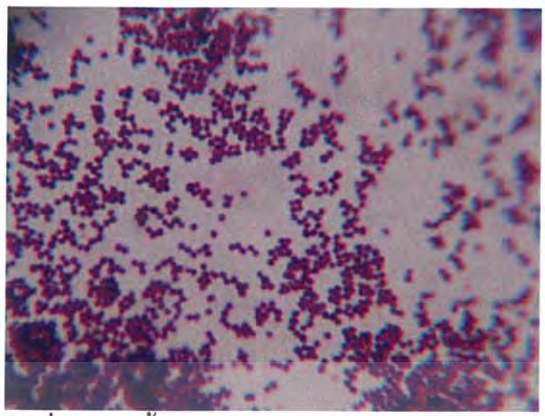
รูปที่ 2.11 เชื้อ *Bacillus subtilis*

ที่มา https://www.pinterest.com/pin/570901690242165289/ สืบค้นวันที่ 30/5/2018

2.6.4 *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis เป็นเชื้อประจำถิ่น (Micro flora) ที่ผิวหนัง โพรงจมูก รูหู ทางเดินปัสสาวะส่วนปลาย ในอดีตไม่ค่อยเป็นสาเหตุของการติดเชื้อ แต่เนื่องจากมีการใช้ Catheters และ Prosthesis อย่างแพร่หลายมากขึ้น จึงพบว่ามีความสำคัญในการติดเชื้อในโรงพยาบาลมากขึ้น นอกจากนี้ยังยากต่อการรักษาเนื่องจาก *Staphylococcus epidermidis* สามารถสร้างไบโอฟิล์มได้ และมีแนวทางการดื้อยาที่ไม่แน่นอนและแตกต่างกับ *S. aureus* พบการดื้อยาต่อกลุ่ม Penicillinase-resistant penicillin และ Cephalosporin มากกว่า *S. aureus* ซึ่งยาทั้งสองกลุ่มนี้ได้ผลดีกับ *S. aureus* การรักษาจึงจำเป็นต้องใช้ผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะเป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) รูปร่างทรงกลม ขนาด 0.5-1.5 ไมโครเมตร อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรืออยู่รวมกันคล้ายพวงองุ่น มีลักษณะโคโลนีขนาดเล็ก สีขาว สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเล็กน้อยได้ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.12 เชื้อ *Staphylococcus epidermidis*

ที่มา https://modmedmicrobes.wikispaces.com/Staphylococcus+epidermidis

สืบค้นวันที่ 30/5/2018

2.6.5 *Salmonella typhimurium*

Salmonella typhimurium เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะรูปท่อน เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลล่า ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส ช่วง pH ในการเจริญอยู่ระหว่าง 4.1-9.0 ค่า Aw (ปริมาณน้ำอิสระในอาหารที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเจริญเติบโต) ต่ำที่สุดสำหรับการเจริญเติบโตประมาณ 0.93-0.95 และ *Salmonella typhimurium* มีความสามารถในการทนความร้อน

Salmonella typhimurium สามารถติดต่อจากสัตว์มาสู่คนและสู่สัตว์อื่นๆได้ เช่น หมู สัตว์ปีก แมลง วัว ควาย สุนัข แมว และม้า เป็นต้น สำหรับการติดเชื้อในคน ส่วนมากจะได้รับเชื้อที่ปะปนมากับน้ำและอาหาร บางครั้งอาจเกิดจากสัตว์เลี้ยงที่อาศัยอยู่ตามอาคารบ้านเรือน ซึ่งเป็นพาหะของเชื้อ หากมีผู้ป่วยเป็นโรค Salmonellosis แล้วทำงานที่เกี่ยวข้องกับการแปรรูปอาหารและมีสุขลักษณะส่วนบุคคลไม่พอดี เช่น ไว้เล็บยาว และออกจากสุขาแล้วไม่ได้ล้างมืออย่างถูกวิธีจะทำให้เชื้อปนเปื้อนไปสู่อาหารได้ ทำให้ผู้ที่รับประทานเข้าไปจะเกิดอาการท้องร่วง

รูปที่ 2.13 เชื้อ *Salmonella typhimurium*

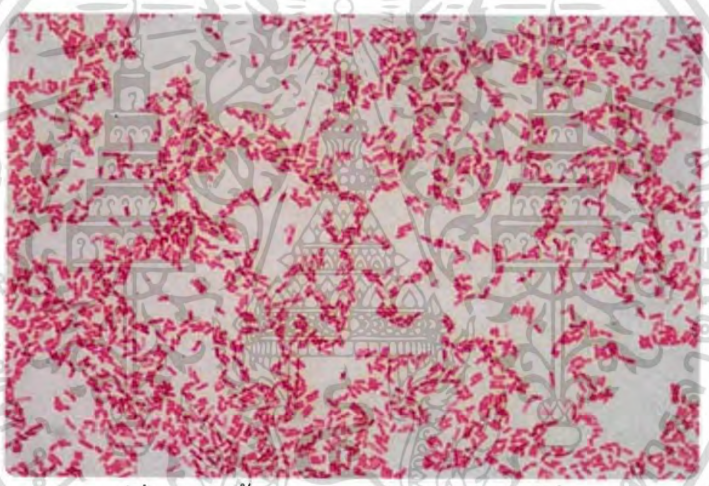
ที่มา http://microbe-canvas.com/Bacteria.php?p=1267 สืบค้นวันที่ 30/5/2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.6 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างแท่ง เจริญในสภาวะที่มีอากาศ เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Pseudomonadaceae สามารถเคลื่อนที่ได้โดย flagellum 1 เส้นที่ ปกติจะพบกระจายในดิน น้ำ ขยะ หรือในพืช และเป็น Micro flora ในลำไส้คน *Pseudomonas aeruginosa* สามารถทำให้เกิดโรคในคนได้ รวมทั้งสัตว์ แมลงและต้นไม้ได้บ้าง

เชื้อ Pseudomonas เป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการติดเชื้อได้หลายประเภท โดยเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* เป็นสายพันธุ์ก่อโรคที่พบได้บ่อยที่สุดการติดเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ชนิดรุนแรงมักเกิดขึ้นภายในโรงพยาบาล และผู้ป่วยอาจมีการติดเชื้อระดับไม่รุนแรงในสภาพแวดล้อมอื่นๆ ได้ ในสหรัฐอเมริกามีการคาดการณ์ว่ามีการติดเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ในสถานพยาบาลมากถึง 51,000 รายต่อปี หรือคิดเป็น 8% ของการติดเชื้อในสถานพยาบาลทั้งหมด



รูปที่ 2.14 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา https://www.news-medical.net/whitepaper/20150526/Type-IV-pili-influence-swarming-of-Pseudomonas-aeruginosa-an-overview.aspx สืบค้นวันที่ 30/5/2018

2.6.7 *Yersinia enterocolitica*

Yersinia enterocolitica คือแบคทีเรียอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae ย้อมติดสีแกรมลบ (Gram negative bacteria) มีลักษณะเป็นท่อนสั้น (Rod-Shaped) มีขนาดเล็กประมาณ 0.5-0.8 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์

Yersinia enterocolitica เป็นแบคทีเรียเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (Psychrotrophic bacteria) เจริญได้ดีที่ 25-30 องศาเซลเซียส สามารถเพิ่มจำนวนได้ในตู้เย็น ถึงแม้ที่อุณหภูมิ 5 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเซียส เจริญได้ทั้งสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ สามารถพบเชื้อได้ในเนื้อสัตว์ น้ำนมดิบ และอาหารดิบที่เตรียมไม่สะอาด

แหล่งที่พบ *Yersinia enterocolitica* พบบ่อยในสัตว์เลี้ยง โดยมีหมูเป็นแหล่งแพร่เชื้อสู่คน และยังพบในทางเดินอาหารของสัตว์ต่างๆ เช่น หมู สุนัข แมว นก หนู หมัดหนู รวมทั้ง สัตว์ป่า กระรอกและมักพบในแหล่งน้ำธรรมชาติ เช่น ห้วย หนอง บึง ทะเลสาบ น้ำอุปโภค บริโภคที่มีการปนเปื้อนจากสิ่งปฏิกูล *Y. enterocolitica* เป็นอันตรายทางชีวภาพ (Biological hazard) เป็นสาเหตุของโรคที่มีอาหารเป็นสื่อ (foodbrone disease) คือโรคเยอซินิโอซีส (Yersiniosis) มักพบในประเทศเขตหนาวปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (Infective dose) คือ 10^4 เซลล์เมื่อผ่านเข้าสู่ทางเดินอาหาร จะเพิ่มจำนวนในลำไส้ ทำให้เกิดโรคเยอซินิโอซีส ซึ่งเกิดจากสารพิษ Enterotoxin ที่ทนต่อความร้อน เรียกว่า *Yersinia enterocolitica* heat stable toxin (YEST) มีอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis) อาการสำคัญคือ ท้องเสีย (Diarrhea) อาจมีการอาเจียน (Vomiting) มีไข้และปวดท้อง อาการคล้ายไส้ติ่งอักเสบ (Appendicitis) ทำให้อาจวินิจฉัย ผิดว่าเป็นไส้ติ่งอักเสบ อาจทำให้เกิดการติดเชื้อที่บริเวณอื่น เช่น ผิวหนังมีผื่นแดง และทางเดินปัสสาวะอักเสบ ระยะเกิดอาการคือ 24 ถึง 48 ชั่วโมง หลังรับประทานอาหารหรือเครื่องดื่มที่ปนเปื้อนเชื้อ แต่อาจเกิดขึ้นหลังจากได้รับเชื้อ 3-7 วัน ส่วนใหญ่ผู้ป่วยจะไม่เสียชีวิตนอกจากมีโรคแทรกซ้อนอื่น ผู้ที่เป็นกลุ่มเสี่ยง คือเด็กทารก คนชรา รวมทั้งผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง

รูปที่ 2.15 เชื้อ *Yersinia enterocolitica*

ที่มา http://microbe-canvas.com/Bacteria.php?p=783 สืบค้นวันที่ 30/5/2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงาน

3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ

ส่วนราก ต้น และใบของผักตบชวา (*Eichhornia crassipes)* จากคลองด้านข้างสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนพฤษภาคม-สิงหาคม ปี พ.ศ. 2560

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

Escherichia coli ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* TISTR 6633, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228, *Salmonella typhimurium* TISTR 1469, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 และ *Yersinia enterocolitica*

3.3 สารเคมี

เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 95 และ 99.99

ไดเมทิลฟอกไซด์ (Dimethyldulfoxied ; DMSO)

2,2-Diphynyl-1-picrylhydraxyl (DPPH)

3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT)

โซเดียมคลอไรด์ (Sodium Chloride ; $NaCl_2$

โพแทสเซียมคลอไรด์ 0.025 M, pH 1.0 (KCL)

โซเดียมอะซิเตท 0.04 M, pH 4.5 ($CH_3COOHNa$)

ไฮโดรคลอริกร้อยละ 37

สารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ร้อยละ 10 ($AlCl_3$)

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1M (NaOH)

สารละลายควอซิติน

กรดแทนนิก (Tannic acid)

Folin-Denis's reagent

แบเรียมคลอไรด์ร้อยละ 1 (Barium Chloride ; $BaCl_2$)

กรดซัลฟลูลิกร้อยละ 1 (Sulfuric Acid ; H_2SO_2)

โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate ; $NaCO_3$)

วิตามินอี (α-tocopherol)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate Buffer ; PBS)

Folin-Ciocalteu's reagent

ยาปฏิชีวนะเจนต้ามันซิน (Gentamicin)

ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน (Ciprofloxacin)

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ Nutrient ; NA

อาหารลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ Muller Hinton Agar ; MHA

McFarland No.0.5

น้ำกลั่น

3.4 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องอบลมร้อน (Hot air oven)

เครื่องปั่น (Blender)

เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (Balance)

ชุดกรองสุญญากาศ

เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporator)

เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis spectrophotometer)

เครื่องอังไอน้ำ (Water bath)

เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer)

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายในไมโครเพลท (Microplate reader)

เครื่องวัดพีเอช (pH-meter)

96 well plate

ไมโครปิเปตทิป (Micropipette tip)

บีกเกอร์ (Beaker)

ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)

ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)

แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)

กระดาษฟอยด์ (Foil)

ช้อนตักสาร

ที่ตั้งหลอดทดลองสแตนเลส

ปากคีบ (Forceps)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลอดทดลอง (Test tube)

ขวดสีชา

กระบอกตวง ขนาด 500 มิลลิลิตร

กระบอกตวง ขนาด 1,000 มิลลิลิตร

กระดาษกรองเบอร์ 1

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การเตรียมสารสกัดผักตบชวา (*Eichhornia crassipes)*

นำผักตบชวา (เก็บจากคลองด้านข้างสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในช่วงเดือนพฤษภาคม-สิงหาคม ปี พ.ศ. 2560) มาแยกส่วนเป็น ส่วนราก ส่วนต้น และส่วนใบ แล้วล้างด้วยน้ำประปาจนสะอาด จากนั้นทำการอบในตู้อบลมร้อนที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน เพื่อลดความชื้นและหยุดกิจกรรมเอนไซม์ เมื่อครบเวลาทำการนำผักตบชวาที่แห้งแล้วแต่ละส่วนมาทำการปั่นละเอียดด้วยเครื่องปั่นและห่อด้วยผ้าขาวบางมัดปากให้สนิท จากนั้นแยกแต่ละส่วนใส่โหลคนละใบพร้อมเติมเอทานอล 95 เปอร์เซนต์ในอัตราส่วน 1:9 เก็บไว้ในที่มืดและรอเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นทำการนำสารสกัดที่ได้มาทำการกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศเพื่อแยกส่วนของตะกอนออกจากสารสกัดด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำสารสกัดใสที่ผ่านการกรองมาเพิ่มความเข้มข้นขึ้นโดยนำไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความดัน 175 มิลลิบาร์ จะได้สารสกัดหยาบจากผักตบชวาส่วนราก ต้น และใบ จากนั้นเก็บสารสกัดหยาบใส่ขวดสีชาและห่อด้วยอะลูมิเนียมฟลอยด์โดยเก็บที่อุณหภูมิห้องจนกว่านำมาใช้ในการทดสอบ

3.5.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.5.2.1 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบผักตบชวาในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยวิธี Agar well diffusion

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทำโดยใช้วิธี Agar Well Diffusion ในการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากผักตบชวา นำเชื้อที่ใช้มาทดสอบ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Yersinia enterocolitica* ทำการทดสอบด้วยวิธีของ Rauha *et al.* โดยทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น โดยการถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ซึ่งมีความเข้มเซลล์ประมาณ 10^8 CFU/ml โดยปิเปตสารแขวนลอยของเซลล์จุลินทรีย์แต่ละชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Agar (MHA) จากนั้นทำการ Swab ด้วยไม้พันสำลีปราศจากเชื้อให้ทั่วผิวหน้า รอให้ผิวหน้าแห้งแล้วเจาะหลุมด้วยที่เจาะ (Cork-borer) ขนาด 6 มิลลิเมตร จำนวน 5 หลุมต่อเพลท โดยให้มีระยะห่างเท่ากัน เตรียมสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของผักตบชวาความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และใช้ไมโครปิเปตปิเปตสารสกัดปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลุม ส่วนละ 1 หลุมต่อเพลทของเชื้อแต่ละชนิด ปิเปตยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และปิเปตยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ขึ้นอยู่กับชนิดเชื้อแบคทีเรีย) ลงในหลุมปริมาตร 20 ไมโครลิตร ของเชื้อแบคทีเรียชนิดละ 1 หลุมเพื่อเป็นตัวควบคุมเชิงบวก Positive control (+) และปิเปตสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ลงในหลุมปริมาตร 20 ไมโครลิตร เพื่อใช้เป็นตัวควบคุมเชิงลบ Negative control (-) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยจะทำการทดสอบสารสกัดกับเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดทั้ง 5 ซ้ำ ตรวจผลกิจกรรมการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) ในหน่วยมิลลิเมตร ด้วยเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์

3.5.2.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบผักตบชวาในการยับยั้งการเจริญและฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Broth dilution (MBC)

เพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร Nutrient Agar (NA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วปรับความขุ่นเท่ากับมาตรฐาน McFarland No.0.5 ในน้ำเกลือที่ปลอดเชื้อ (Normal saline) 0.85 เปอร์เซ็นต์ เจือจางสารสกัดหยาบใน Nutrient Broth (NB) แบบ two-fold dilution ความเข้มข้นหลอดละ 25, 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตรหลอดละ 1 มิลลิลิตร แล้วเติมเชื้อทดสอบหลอดละ 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลค่า Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

นำหลอดทดสอบที่ไม่สามารถเห็นการเจริญของเชื้อทดสอบ Streak plate บนอาหาร NA โดยใช้ห่วงถ่ายเชื้อมาตรฐานขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร ซึ่งสามารถบรรจุของเหลวได้ 0.01 มิลลิลิตร จุ่มลงในหลอดทดสอบดังกล่าวลากเป็นเส้นบนจานอาหาร NA จากนั้นนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยดูการเติบโตของเชื้อทดสอบบนรอย Streak โดยค่า Minimum Bactericidal Concentration (MBC) คือความเข้มข้นของสารที่สามารถฆ่าเชื้อทดสอบได้ 99.99% แต่เนื่องด้วยสารสกัดหยาบทั้ง 3 ส่วนนั้นมีสีที่เข้ม เมื่อนำมาผสมกับ NB และเชื้อแบคทีเรียแล้ว ทำให้การดูผลของค่า MIC เป็นไปได้ยาก จึงได้ทำการเลือกความเข้มข้นทั้งหมดมา Streak ลงอาหาร NA เพื่อหาค่า MBC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2.3 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

วิธีการวิเคราะห์ด้วยสาร DPPH (DPPH reduction scavenging assay) การหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักตบชวา โดยใช้ 2,2-diphenyl-1-picryhydrazyl (DPPH) ตามวิธี Brand-Williams โดยนำสารสกัดหยาบมาละลายด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ร้อยละ 99.9 แล้วปรับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบผักตบชวาโดยเจือจางให้ได้ความเข้มข้นดังนี้ 1.25, 2.5, 5, และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 10 ไมโครลิตรและเติม 2,2-Diphynyl-1-picrylhydraxyl (DPPH) ปริมาตร 190 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของแต่ละส่วนสารสกัดหยาบใน 96 well plate โดยใช้ความเข้มข้นละ 5 หลุม จากนั้นนำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องด้วยไมโครเพลทรีดเดอร์ ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้วิตามินอีความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.9 เป็นตัวควบคุมเชิงลบ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ จากสมการดังนี้

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

A = ค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ (Blank)

B = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

3.5.3 การหาปริมาณสารพฤกษเคมี

3.5.3.1 การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวา

เตรียมสารสกัดหยาบจากส่วน ราก ต้น และใบของผักตบชวาให้มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย จากนั้นใส่สารสกัดหยาบจากผักตบชวาความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลง 96 Well plate หลังจากนั้นใส่สารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตไฮดรัส ความเข้มข้น 75 กรัมต่อลิตร ที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ปิเปตปริมาตร 80 ไมโครลิตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบของผักตบชวา โดยเปรียบเทียบกับปริมาณของสารฟีนอลิกทั้งหมดด้วยกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิคความเข้มข้น 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1, และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (เตรียมโดย 0.01 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวา

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากส่วน ราก ต้น และใบของผักตบชวา โดยวิเคราะห์ตามวิธีของ Kathirvel and Hujatha (2012) โดยปิเปตสารสกัดจากผักตบชวาแต่ละส่วนที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาทีเติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ทิ้งเป็นเวลา 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของควอซิติน จากนั้นรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานควอซิตินที่ระดับความเข้มข้น 10 ถึง 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตรฐานควอซิตินที่ความเข้มข้นต่างๆ แทนสารสกัดจากผักตบชวา ส่วนแบลงก์ใช้เอทานอลในความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัดหยาบ เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของควอซิตินกับค่าการดูดกลืนแสงของควอซิตินจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาตรของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่มีในตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์

3.5.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจาผักตบชวา

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจาก ราก ต้น และใบของผักตบชวา วิเคราะห์ตามวิธีของ Kathirvel and Hujatha (2012) โดยปิเปตสารสกัดจากผักตบชวาแต่ละส่วนที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงในสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ ปริมาตร 7.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Denis's reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายให้ได้ 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นแล้วผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสารประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แทนนินต่อกรัมของสารสกัดหยาบ ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิกที่ระดับความเข้มข้น 62.5, 125, 250, 500 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณของสารประกอบแทนนินทั้งหมดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แทนสารสกัดหยาบจากผักตบชวา ส่วนแบลงก์ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัดหยาบ เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแทนนิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแทนนิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารประกอบแทนนินทั้งหมดที่มีในตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์

3.5.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินรวมในสารสกัดหยาบจากผักตบชวา โดยวิธี pH differential

นำสารละลายปริมาตร 30 ไมโครลิตร (ชั่งสารสกัด 40 มิลลิกรัม ทำการละลายในน้ำ 1,000 ไมโครลิตร) เจือจางสารสกัดตัวอย่าง 1 ต่อ 9 ส่วน ในสารละลายบัฟเฟอร์ ตามการวิเคราะห์ของ Kerio *et al.* (2012) ด้วยวิธี pH differential ใช้ระบบ 2 บัฟเฟอร์ คือ 0.025 M potassium chloride (KCl) ที่ pH 1.0 และ 0.4 M sodium acetate (CH_3COONa) ที่ pH 4.5 นำสารละลายปริมาตร 30 ไมโครลิตร ผสมกับ potassium chloride 270 ไมโครลิตร และนำสารละลายปริมาตร 30 ไมโครลิตร ผสมกับ sodium acetate 270 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยไมโครเพลทรีดเดอร์ที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร ทำวิธีการข้างต้นซ้ำ 5 ครั้ง จากนั้นทำการนำค่าที่ได้มาคำนวณความแตกต่างระหว่างค่าการดูดกลืนแสง

ปริมาณ anthocyanin (mg/l) = (A x MW x DF x 1,000) / (e x 1)

เมื่อ A คือ ความแตกต่างของ Absorbance ที่ pH ที่ต่างกัน

$A = (A_{520}-A_{700})$ ที่ pH 1.0 – $(A_{520}-A_{700})$ ที่ pH 4.5

MW คือ น้ำหนักโมเลกุลของ anthocyanin (449.2)

DF คือ dilution factor

E คือ cyanidin-3-glucoside molar absorbance (26,900)

3.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) Version 23.0 ในการวิเคราะห์ทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากผักตบชวา

สารสกัดหยาบที่ใช้ในการทดลองได้จากการแยกผักตบชวาเป็นส่วน ราก ต้น และใบ นำมาอบแห้ง บดละเอียด แล้วจึงนำมาแช่ในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 7 วัน นำสารละลายที่ผ่านการกรองแล้วมาระเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของผักตบชวา

ตารางที่ 4.1 ลักษณะและปริมาณของสารสกัดหยาบจากผักตบชวา

สารสกัดหยาบจากผักตบชวา	ลักษณะของสารสกัดหยาบ	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	ปริมาณสารสกัด (กรัม)	ร้อยละผลได้
ราก	สีเขียวเข้ม เนื้อสารจับตัวเป็นก้อน	100	11.279	11.279
ต้น	สีน้ำตาลเข้ม เนื้อสารข้นหนืด	100	19.417	19.417
ใบ	สีเขียวเข้ม เนื้อสารข้นหนืด	100	33.344	33.344

ก ข ค

รูปที่ 4.1 ลักษณะของสารสกัดหยาบจาก ราก (ก), ต้น (ข), และใบ (ค) ของผักตบชวา

4.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากผักตบชวา

4.2.1 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหารเบื้องต้น (Agar well diffusion)

จากการทดลองศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของผักตบชวา 3 ส่วนได้แก่ ราก ต้น และใบ ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบจากทั้ง 3 ส่วน ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สายพันธุ์ได้ จึงได้เพิ่มความเข้มข้นที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการทดสอบเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 7 สายพันธุ์ ซึ่งอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* TISTR 6633, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228, *Yersinia enterocoritica* แบคทีเรียแกรมลบได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 และ *Salmonella typhimurium* TISTR 1469 โดยการทดสอบจะนำมาเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวก (Positive Control) คือยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซินความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และใช้ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซินที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และตัวควบคุมเชิงลบคือเอทานอล 95%

ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 50 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)		
	ราก	ต้น	ใบ
50	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}
100	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}
200	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}
Ciprofloxacin	25.77 ±0.75^{a}	23.37 ±3.53^{a}	25.77 ±0.99^{a}
EtOH 95 %	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.2 ทุกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบทั้ง ราก ต้น และใบเมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *E. coli* ไม่พบความสามาถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ มีเพียงยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin เท่านั้นที่สามารถยังยั้งการเจริญได้

การวิจัยของ Haggag *et al.* (2017) ได้ทดสอบคุณสมบัติการยั้บยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยใช้สารสกัดจากผักตบชวาจากประเทศอียิปต์ที่ใช้เอทานอลในการสกัด พบว่าสามารถยั้งยั้งเชื้อ *E. coli* ได้เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง 8.20 มิลลิเมตร ซึ่งมากกว่าผลจากการทดลองนี้ซึ่งอาจมีผลมาจากแหล่งที่เก็บของผักตบชวาที่ต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก ข ค

รูปที่ 4.2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *E. coli* จากสารสกัดหยาบผักตบชวา (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ ที่ความเข้มข้น 1) Ciprofloxacin 2) EtOH 95 % 3) 200 mg/ml 4) 100 mg/ml 5) 50 mg/ml

ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 50 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)		
	ราก	ต้น	ใบ
50	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}
100	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}
200	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}
Ciprofloxacin	24.77 ±1.29^{a}	25.57 ±0.81^{a}	25.20 ±0.17^{a}
EtOH 95 %	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.3 ทุกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบทั้ง ราก ต้น และใบเมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ไม่พบบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ มีเพียงยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin เท่านั้นที่สามารถยังยั้งการเจริญได้

การวิจัยของ Gutiérrez-Morales *et al.* (2017) ได้ทำการทดสอบคุณสมบัติการยั้บยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยใช้สารสกัดจากผักตบชวาประเทศแม็กซิโกที่ใช้เมทานอลในการสกัด พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* มากกว่าผลการทดลองนี้ ซึ่งอาจเกิดจากแหล่งที่เก็บผักตบชวาที่ไม่ตรงกันและการใช้ตัวทำละลายในการสกัดที่ต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก ข ค

รูปที่ 4.3 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* จากสารสกัดหยาบผักตบชวา (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ ที่ความเข้มข้น 1) Ciprofloxacin 2) EtOH 95 % 3) 200 mg/ml 4) 100 mg/ml 5) 50 mg/ml

ตารางที่ 4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 50 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)		
	ราก	ต้น	ใบ
50	8.90 ±1.25^{c}	7.50 ±1.31^{c}	8.17 ±0.72^{bc}
100	8.87 ±0.23^{c}	9.70 ±0.62^{b}	8.17 ±0.72^{bc}
200	11.33 ±0.06^{b}	9.27±0.12^{b}	9.90 ±3.38^{b}
Ciprofloxacin	18.07 ±0.25^{a}	16.87 ±0.71^{a}	15.03 ±0.50^{a}
EtOH 95 %	6.00 ±0.00^{d}	6.00 ±0.00^{d}	6.00 ±0.00^{c}

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.4 พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วน ราก ต้น และใบมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* โดยส่วนรากที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีฤทธิ์มากที่สุดรองจากยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 11.33 มิลลิเมตร มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การวิจัยของ Sanaa *et al.* (2010) ได้ทำการทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยใช้สารสกัดจากผักตบชวาที่ใช้เมทานอลในการสกัด พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้เส้นผ่านศูนย์กลาง 12 มิลลิเมตร ซึ่งมีความใกล้เคียงกับผลในการทดลองนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก ข ค

รูปที่ 4.4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. aureus* จากสารสกัดหยาบผักตบชวา (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ ที่ความเข้มข้น 1) Ciprofloxacin 2) EtOH 95 % 3) 200 mg/ml 4) 100 mg/ml 5) 50 mg/ml

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 50 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)		
	ราก	ต้น	ใบ
50	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}
100	6.00 ±0.00^{b}	6.97 ±1.67^{b}	6.00 ±0.00^{b}
200	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}
Ciprofloxacin	18.33 ±0.55^{a}	21.17 ±2.89^{a}	18.50 ±0.85^{a}
EtOH 95 %	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.5 ทุกความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากส่วน ราก ต้น และใบเมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* พบว่า พบบริเวณยับยั้งการเจริญเพียงเล็กน้อยจากสารสกัดหยาบส่วนต้นที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การวิจัยของ Tony Imunyo Isebe (2016) ได้ทำการทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยใช้สารสกัดจากผักตบชวาที่ใช้น้ำในการสกัดพบว่าไม่สา มารถยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* ได้ซึ่งมีความใกล้เคียงกับผลการทดลองนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก ข ค

รูปที่ 4.5 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* จากสารสกัดหยาบผักตบชวา (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ ที่ความเข้มข้น 1) Ciprofloxacin 2) EtOH 95 % 3) 200 mg/ml 4) 100 mg/ml 5) 50 mg/ml

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 50 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)		
	ราก	ต้น	ใบ
50	6.00 ±0.00^{b}	6.60 ±0.53^{b}	6.00 ±0.00^{b}
100	6.00 ±0.00^{b}	6.67 ±1.15^{b}	6.00 ±0.00^{b}
200	6.00 ±0.00^{b}	6.30 ±0.58^{b}	6.00 ±0.00^{b}
Ciprofloxacin	26.93 ±0.50^{a}	28.43 ±0.32^{a}	27.93 ±0.40^{a}
EtOH 95 %	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{b}

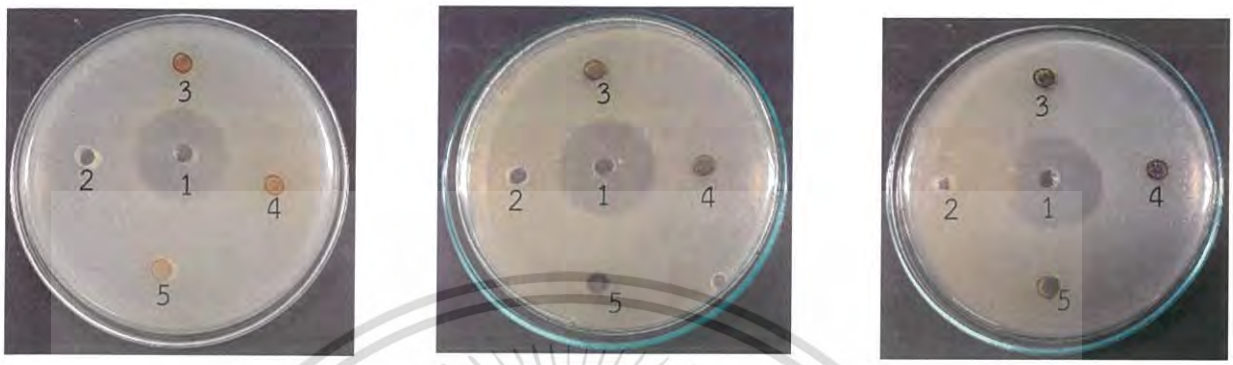
หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.6 พบว่ามีเพียงสารสกัดหยาบจากส่วนต้นและยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin เท่านั้นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การวิจัยของ Haggag *et al.* (2017) ได้ทำการทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยใช้สารสกัดจากผักตบชวาประเทศอียิปต์ที่ใช้เอทานอลในการสกัด พบว่าสามารถยั้งยั้งเชื้อ *P. aeruginosa*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.4 มิลลิเมตร ซึ่งน้อยกว่าผลการทดลองนี้ ซึ่งอาจเกิดจากการที่ในการทดลองดังกล่าวมีแหล่งที่เก็บผักตบชวาแตกต่างกัน



ก ข ค

รูปที่ 4.6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* จากสารสกัดหยาบผักตบชวา (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ข) ส่วนใบ ที่ความเข้มข้น 1) Ciprofloxacin 2) EtOH 95 % 3) 200 mg/ml 4) 100 mg/ml 5) 50 mg/ml

ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 50 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

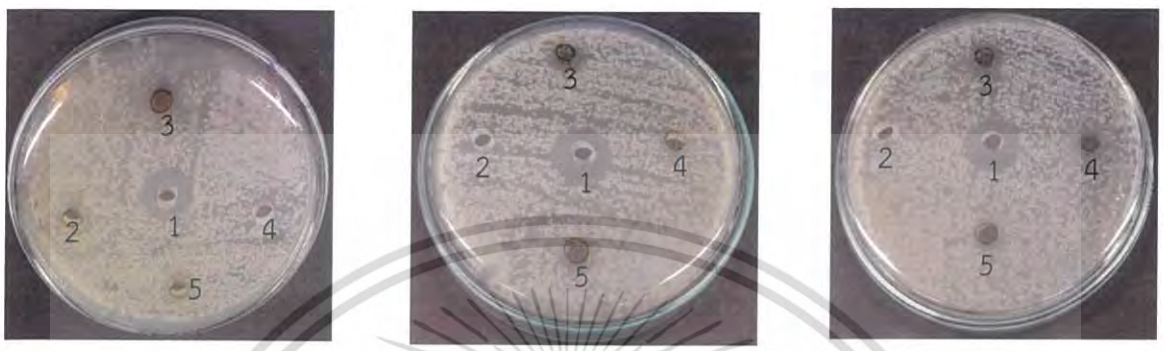
ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	**ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)**		
	ราก	**ต้น**	**ใบ**
50	7.13 ± 1.71^{b}	7.10 ± 1.91^{bc}	9.50 ± 1.66^{b}
100	8.43 ± 0.59^{b}	8.10 ± 1.90^{bc}	8.60 ± 0.96^{b}
200	8.00 ± 1.83^{b}	9.43 ± 1.53^{b}	9.80 ± 0.75^{b}
Ciprofloxacin	15.80 ± 2.00^{a}	17.27 ± 0.71^{a}	15.83 ± 0.50^{a}
EtOH 95 %	6.00 ± 0.00^{b}	6.00 ± 0.00^{c}	6.00 ± 0.00^{c}

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.7 พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วน ราก ต้น และใบมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* โดยส่วนใบที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์มากที่สุดรองจากยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง 9.80 มิลลิเมตร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิจัยของ Haggag *et al.* (2017) ได้ทำการทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยใช้สารสกัดจากผักตบชวาจากประเทศอียิปต์ที่ใช้เอทานอลในการสกัดพบว่าสามารถยั้งยั้งเชื้อ *B. subtilis* ได้เส้นผ่านศูนย์กลาง 10.30 มิลลิเมตร ซึ่งมีความใกล้เคียงกับผลในการทดลองนี้



ก ข ค

รูปที่ 4.7 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* จากสารสกัดหยาบผักตบชวา (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ ที่ความเข้มข้น 1) Ciprofloxacin 2) EtOH 95 % 3) 200 mg/ml 4) 100 mg/ml 5) 50 mg/ml

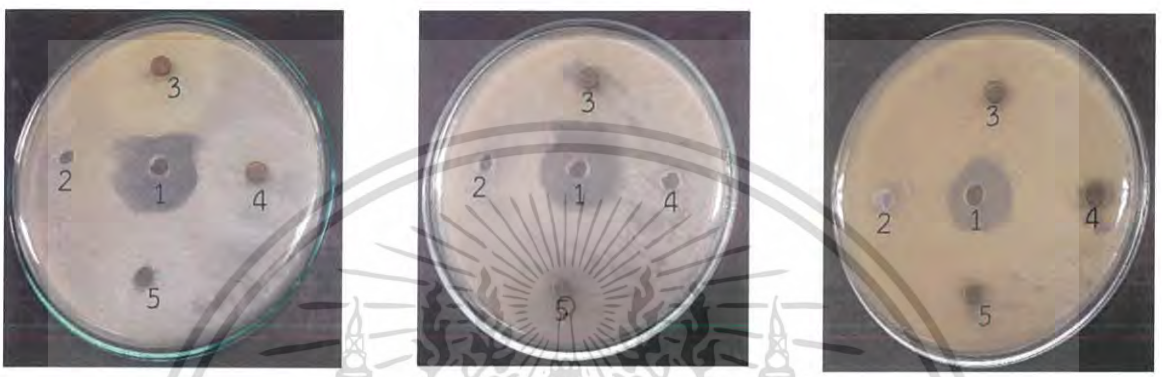
ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Y. enterocolitica* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 50 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	**ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)**		
	ราก	**ต้น**	**ใบ**
50	6.00 ±0.00^{b}	8.90 ±1.23^{bc}	8.60 ±2.51^{b}
100	6.00 ±0.00^{b}	11.87 ±0.49^{b}	10.30 ±2.29^{b}
200	6.00 ±0.00^{b}	11.03 ±2.57^{b}	9.43 ±0.90^{b}
Gentamicin	12.80 ±3.12^{a}	18.50 ±3.94^{a}	18.50 ±3.93^{a}
EtOH 95 %	6.00 ±0.00^{b}	6.00 ±0.00^{c}	6.00 ±0.00^{b}

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.8 พบว่ามีเพียงสารสกัดหยาบจากส่วนต้น ส่วนใบ และยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin เท่านั้นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Y. enterocolitica* โดยมีบริเวณปราศจากเชื้อมากที่สุดเป็นของยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin และรองลงมาเป็นของสารสกัดหยาบส่วนต้นที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



ก ข ค

รูปที่ 4.8 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica* จากสารสกัดหยาบผักตบชวา (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ ที่ความเข้มข้น 1) Ciprofloxacin 2) EtOH 95 % 3) 200 mg/ml 4) 100 mg/ml 5) 50 mg/ml

4.2.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Broth dilution (MBC)

จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Broth dilution เพื่อหาความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบจากผักตบชวาทั้ง 3 ส่วนได้แก่ ราก ต้น และใบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) โดยทดลองใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ที่ความเข้นข้น 25, 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งหลอดที่มีความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียหรือหลอดที่หลังทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วไม่เกิดการขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อจะเป็นค่าความเข้มข้นของค่า MIC แต่เนื่องด้วยสารสกัดหยาบทั้ง 3 ส่วนมีสีที่เข้ม เมื่อนำมาผสมกับอาหาร NB และเชื้อแบคทีเรียแล้วทำการบ่มพบว่าเนื่องจากสีที่เข้ม ทำให้การดูผลของค่า MIC เป็นไปได้ยากจึงได้ทำการเลือกความเข้มข้นทั้งหมดมา Streak ลงอาหาร NA เพื่อหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามาถรฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (MBC) ดังแสดงในตารางที่ 4.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC)

เชื้อทดสอบ	ค่า MBC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ของสารสกัดหยาบ		
	ส่วนราก	ส่วนต้น	ส่วนใบ
E. coli	200	50	200
S. epidermidis	100	50	100
S. aureus	-	-	-
S. typhimurium	-	-	-
P. aeruginosa	100	25	-
B. subtilis	200	100	-
Y. enterocolitica	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ที่ความเข้มข้น ≤ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลตร ไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้

4.2.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Broth dilution (MBC)

ก ข ค

E. coli

รูปที่ 4.9 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบผักตบชวาที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (MBC) (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก ข ค

S. epidermidis

ก ข ค

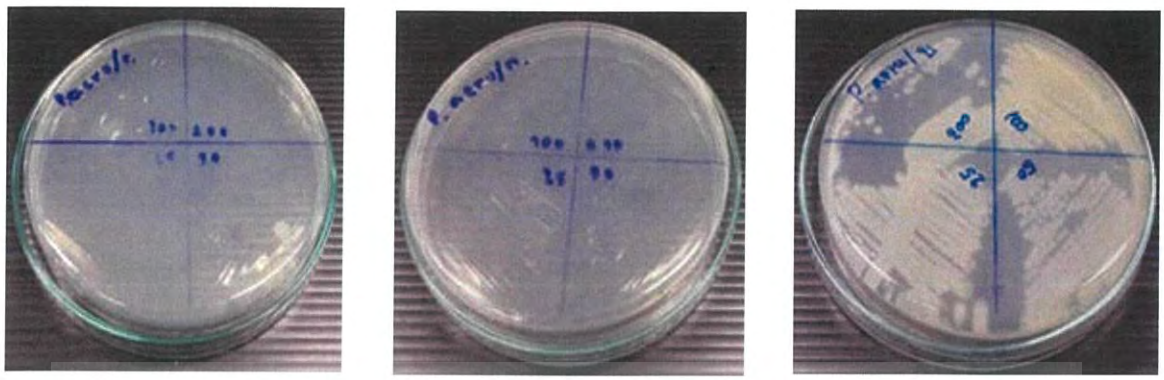
S. aureus

ก ข ค

S. typhimurium

รูปที่ 4.9 (ต่อ) การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบผักตบชวาที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (MBC) (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

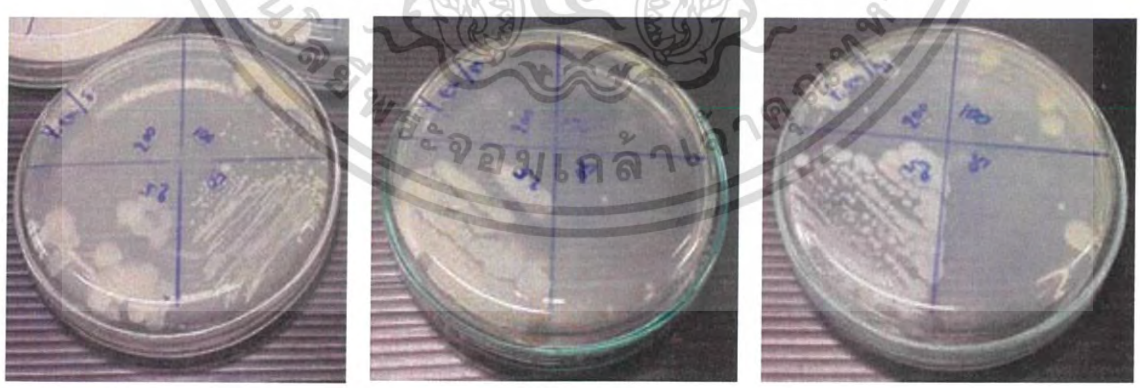


ก ข ค

P. aeruginosa

ก ข ค

B. subtilis



ก ข ค

Y. enterocolitica

รูปที่ 4.9 (ต่อ) การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบผักตบชวาที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (MBC) (ก) ส่วนราก (ข) ส่วนต้น (ค) ส่วนใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากผักตบชวา

นำสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของผักตบชวา ได้แก่ ราก ต้น และใบมาศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging method) แล้วจึงนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร สารต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชเป็นสารที่มีความเสถียรและสามารถรับอิเล็คตรอนได้ ซึ่งสารสกัดหยาบที่ใช้ในการทดสอบจะกำจัดสารต้านอนุมูลอิสระดังกล่าว โดยการให้ไฮโดรเจนทำให้สารละลายเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง

ตารางที่ 4.10 แสดงร้อยละของคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนราก ต้น และใบ

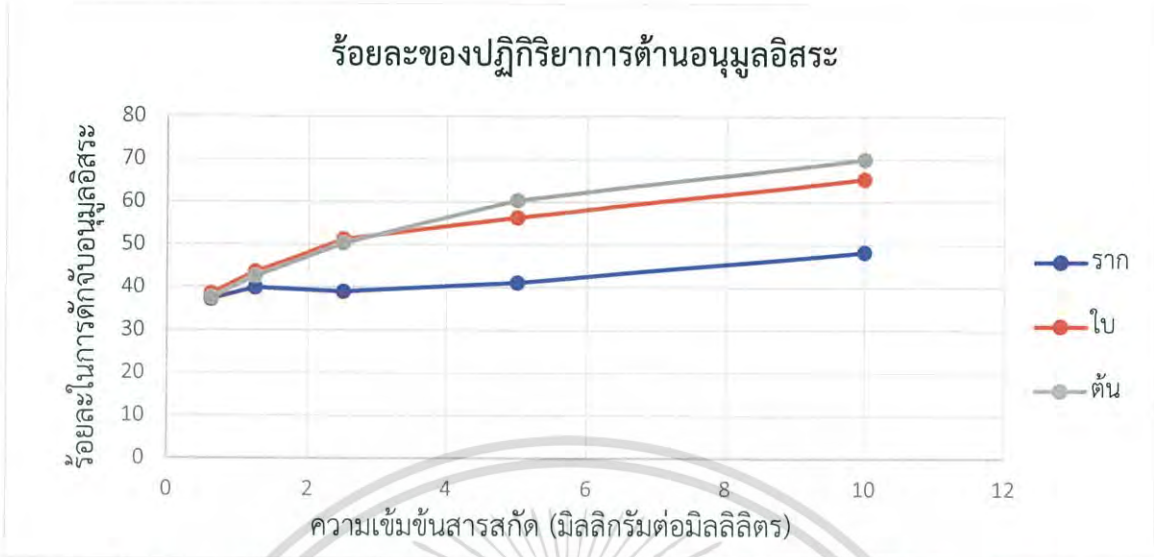
ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละของปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ DPPH		
	ราก	ต้น	ใบ
0.625	37.10 ±1.20^{c}	37.80 ±0.60^{e}	38.48 ±0.61^{e}
1.25	39.98 ±0.96^{b}	42.66 ±1.20^{d}	43.54 ±1.37^{d}
2.5	38.99 ±2.65^{bc}	50.30 ±1.07^{c}	51.21 ±0.80^{c}
5	41.17 ±0.45^{b}	60.52 ±1.05^{b}	56.36 ±1.89^{b}
10	48.21 ±0.60^{a}	70.03 ±0.75^{a}	65.35 ±0.76^{a}

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.10 พบว่าสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นสูงสุด 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของทั้งราก ต้น และใบ มีค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าความเข้มข้นที่ต่ำกว่า โดยที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของต้นมีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด คือ 70.03 ±0.75 ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 รองลงมาคือ รากและใบตามลำดับ จึงสรุปได้ว่า เมื่อความเข้นข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเช่นกัน

การวิจัยของ Ahmed *et al.* (2017) ได้วิเคราะห์คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักตบชวาจากประเทศอียิปต์โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่ามีค่า IC_{50} ที่ได้มากกว่าอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งหมายความว่าคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระลดลงครึ่งหนึ่งจากทั้งหมดของการทดลองนี้มีประสิทธิภาพดีกว่า คาดว่ามีสาเหตุมาจากการที่ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายและไม่มีการแยกส่วนประกอบก่อนนำมาทำการสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 ร้อยละในการดักจับอนุมูลอิสระของ ราก ต้น และใบจากสารสกัดหยาบผักตบชวา

ค่า IC_{50} คือ ความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถดักจับอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด ดังนั้นหากสารสกัดหยาบมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระมาก ค่า IC_{50} จะมีค่าน้อย

ตารางที่ 4.11 แสดงความเข้มข้นที่ทำให้คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระลดลงครึ่งหนึ่งจากทั้งหมด (IC_{50}) ของสารสกัดหยาบจากส่วนราก ต้น และใบของผักตบชวา

สารสกัดหยาบผักตบชวา	IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ราก	12.20
ต้น	3.23
ใบ	3.50

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

โดยจากการศึกษาพบว่า สารสกัดหยาบส่วนต้นมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.23 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การหาสารพฤกษเคมี

4.4.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

จากการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยวิธี Folin-Ciocalteu ในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้สารมาตรฐานคือกรดแกลลิกและแบลงค์เป็นเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีเดอร์ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (ภาคผนวก ค)

ตารางที่ 4.12 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบผักตบชวาส่วนราก ต้น และใบ

สารสกัดหยาบ	mgGAE / g สารสกัด	mgGAE / 100 g น้ำหนักแห้ง
ราก	1,223.00 ±254.18[a]	13,856.99±796.76[c]
ต้น	1,556.00 ±610.88[a]	30,200.66±8,297.49[b]
ใบ	1,383.00 ±296.65[a]	46,128.70±3,771.48[a]

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.12 พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนต้นของผักตบชวามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนอื่นซึ่งมีปริมาณเทียบเท่ากับ 1,556.00 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mgGAE/g สารสกัด) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากส่วนใบและราก ตามลำดับ

การวิจัยของ Haggag *et al.* (2017) ได้วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากผักตบชวาประเทศอียิปต์โดยใช้ตัวทำละลายหลายชนิดและชนิดที่พบปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมดมากที่สุดคือการใช้บิวทานอลเป็นตัวทำละลาย จึงเป็นไปได้ว่าตัวทำละลายมีผลต่อปริมาณฟีนอลิก

4.4.2 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวา

จากการทดลองการวิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวาตามวิธีของ Kathirvel and Sujatha (2012) จะได้ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 แสดงปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวาส่วนราก ต้น และใบ

สารสกัดหยาบ	ปริมาณสารฟลาโวนอยด์	
	mgQE / g สารสกัด	mgQE / 100 g น้ำหนักแห้ง
ราก	107.60 ±28.45[b]	1,228.66 ±65.12[c]
ต้น	73.60 ±22.00[b]	1,429.09 ±427.17[b]
ใบ	207.60 ±5.77[a]	6,938.89 ±774.61[a]

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการทดลองจากตารางที่ 4.13 โดยใช้ควอซิตินเป็นสารมาตรฐาน พบว่า ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากส่วนใบมีมากที่สุด เท่ากับ 207.60 มิลลิกรัมควอซิตินต่อมิลลิกรัมของสารสกัด ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากส่วนรากและต้น ตามลำดับ

การวิจัยของ Haggag *et al.* (2017) ได้วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากผักตบชวาจากประเทศอียิปต์โดยใช้ตัวทำละลายหลายชนิดและที่พบปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดคือการใช้เมทานอลและบิวทานอลเป็นตัวทำละลาย

4.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสานสกัดหยาบจากผักตบชวา

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวา วิเคราะห์โดยวิธี Folin-Denis (Kathirvel and Sujatha,2012) แสดงในตารางที่ 4.14

ตารางที่ 4.14 แสดงปริมาณของสารแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวาส่วนราก ต้น และใบ

สารสกัดหยาบ	ปริมาณของสารแทนนิน	
	mgTAE / g สารสกัด	mgTAE / 100 g น้ำหนักแห้ง
ราก	64.40 ±4.16[b]	718.85 ±34.46[c]
ต้น	64.40 ±2.31[b]	1,263.40 ±44.84[b]
ใบ	72.40 ±3.06[a]	2,436.34 ±138.82[a]

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการวิเคราะห์ โดยใช้กรดแทนนิกเป็นสารมาตรฐาน พบว่าปริมาณของสารแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวาจากส่วนใบพบมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 72.40 มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การวิจัยของ Haggag *et al.* (2017) ได้วิเคราะห์ปริมาณของสารแทนนินของสารสกัดจากผักตบชวาจากประเทศอียิปต์โดยใช้ตัวทำละลายหลายชนิดและชนิดที่พบมากที่สุดคือการใช้เมทานอลและอซิโตนเป็นตัวทำละลาย

4.4.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินรวมที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากผักตบชวา (pH differential)

โดยการวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินรวมที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากส่วน ราก ต้นและใบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการทดสอบด้วยวิธี pH differential โดยทำการเจือจางสารสกัดหยาบตัวอย่าง 1 ใน 9 ส่วนของสารละลายบัฟฟเฟอร์ KCl (0.0025 M, pH 1.0) และ CH_3COONa buffer (0.4 M, pH 4.5) จะได้ผลดังตารางที่ 4.15

ตารางที่ 4.15 แสดงปริมาณสารแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบจากผักตบชวาส่วนราก ต้นและใบ

สารสกัดหยาบ	ปริมาณสารแอนโทไซยานิน (มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อลิตรสารสกัด)
ราก	3.21 ±2.55[a]
ต้น	4.01 ±0.10[a]
ใบ	15.73 ±14.45[a]

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.15 พบว่าปริมาณสารแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบจากผักตบชวาส่วนใบมีค่ามากที่สุด เท่ากับ 15.73 มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อลิตรสารสกัด รองลงมาคือส่วนต้นและรากตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การวิจัยของ Jayanthi *et al.* (2011) ได้วิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินของสารสกัดหยาบจากผักตบชวาที่ใช้ตัวทำละลายหลายชนิดในการสกัดสารโดยมีเอทานอลรวมอยู่ด้วย ในการวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินของสารสกัดหยาบนั้นใช้วิธี NaOH test และรายงานผลเป็นพบหรือไม่พบที่สารสกัดหยาบจากตัวทำละลายชนิดนั้นๆ โดยสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายเอทานอลนั้นสามารถตรวจพบแอนโทไซยานินได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจากสารสกัดส่วน ราก ต้น และใบของผักตบชวาที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวิธี Agar well diffusion กับเชื้อแบคทีเรียทั้ง 7 สายพันธุ์ พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนรากที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*, *P. aeruginosa* และ *B. Subtilis* ในขณะที่สารสกัดหยาบส่วนต้นที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* และ *Y. enterocolitica* และที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. typhimurium* เมื่อพิจารณาถึงสารสกัดหยาบจากส่วนใบพบว่าที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* และ *Y. enterocolitica* จากการทดลองการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Broth dilution เพื่อหาความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบจากผักตบชวาทั้ง 3 ส่วน ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 7 สายพันธุ์ (MIC) โดยลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบส่วนต่างๆ ที่ความเข้นข้น 25, 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบทั้ง 3 ส่วนนั้นมีสีที่เข้ม เมื่อนำมาผสมกับ NB และเชื้อแบคทีเรียแล้ว ทำให้การดูผลของค่า MIC เป็นไปได้ยาก หลังจากนั้นจึงได้นำความเข้มข้นทั้งหมดมา Streak ลงอาหาร NA เพื่อหาค่า MBC โดยค่าความเข้มข้นจากส่วนต่างๆ ของผักตบชวาที่ดีที่สุดต่อเชื้อแต่ละสายพันธุ์ ดังนี้ *E. coli* ส่วนต้นที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, *S. epidermidis* ต้นและใบที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, *P. aeruginosa* ส่วนต้นที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, *B. subtilis* ส่วนต้นที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยที่สารสกัดหยาบจากส่วนราก ต้น และใบของผักตบชวาทุกความเข้มข้นที่ทำการทดลองไม่สามารถกำจัด *S. aureus*, *S. typhimurium* และ *Y. enterocolitica* ได้

จากการศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging method) พบว่าสารสกัดหยาบจากผักตบชวาส่วนต้นมีร้อยละของปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุด อยู่ที่ร้อยละ 70.03 จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารพฤกษเคมี โดยการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่ามีสารสกัดหยาบจากส่วนต้นของผักตบชวามีปริมาณมากที่สุดเทียบเท่ากับ 1,556 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ส่วนการวิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดพบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนใบของผักตบชวามีปริมาณมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่สุดเทียบเท่ากับ 207.60 มิลลิกรัมควอซิตินต่อมิลลิกรัมของสารสกัด ในการวิเคราะห์หาสารประกอบแทนนินทั้งหมด พบในสารสกัดหยาบส่วนใบของผักตบชวาเทียบเท่ากับ 72.40 มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดและเมื่อนำมาวิเคราะห์หาสารแอนโทไซยานินพบว่ามีสารสกัดหยาบส่วนใบของผักตบชวา เท่ากับ 15.73 มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อลิตรของสารสกัด

5.2 ข้อเสนอแนะ

1.จากการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากผักตบชวามีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียบางชนิดดังนั้นจึงสามารถนำมาศึกษาต่อในเรื่องการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารตัวที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบที่ได้ในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ

2. ควรใช้ตัวทำละลายชนิดอื่นเพื่อศึกษาคุณสมบัติที่แตกต่างกันของสารสกัดหยาบจากผักตบชวา

3. เป็นแนวทางในการนำวัชพืชทางน้ำมาทำให้เกิดประโยชน์ เพื่อลดปริมาณและเพิ่มมูลค่าแก่ผักตบชวา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรองทิพย์ เจริญกิตตินุกุล, ชื่นสมุน สังข์สุข, ณัฐวุฒิ นิลโท. 2559. การทดสอบการยั้บยั้งเชื้อจุลินทรีย์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์โดยสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของหน่อไม้ฝรั่ง. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ณัฐกานต์ วงศ์สีสม, จามจุรี จินะตา, บุษบา มะโนแสน, จิรรัชต์ กันทะขู้, สุรีพร วันควร, สุภาวดี ศรีแย้ม. 2557. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. ปีที่ 37 ฉบับที่ 1. 3-15.

นงลักษณ์ ห้วยหงส์ทอง. 2559. การทดสอบสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพรไทยบางชนิดที่ใช้รักษาโรคเบาหวาน. มหาวิทยาลัยบูรพา

เบ็ญจมาศ จิตรสมบูรณ์, ไมตรี สุทธจิตต์, ปิยะเนตร จันทร์ถิระติกุล, ประไพรัตน์ สีพลไกร, สุจินต์ อังกุราวิรุฑธ์. 2557. การตรวจสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของสารแอนติออกซิแดนท์ในเมร็ดมะขามและผลิตภัณฑ์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์, ทรงพร จึงมั่นคง. 2549. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ปีที่ : 8 ฉบับที่ : 2 เลขหน้า : 76-88.

วรพร ศีลศร, ชัยศักดิ์ จันศรีนิยม, มยุรี กัลยาวัฒนกุล. 2554. การเตรียมสารสกัดมาตรฐานกล้วยไม้หวายม่วงแดงเพื่อใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

อชิรวิทย์ จันทร์แก้ว. 2558. องค์ประกอบทางเคมี และฤทธ์ทางชีวภาพของผักเขียด มหาวิทยาลัยบูรพา

อมรรัตน์ สีสุกอง, กัลยาภรณ์ จันตรี, ศรีสุดา หาญภาคภูมิ. 2559. การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากวัชพืชบางชนิด. วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ปีที่ 11 ฉบับที่ 1. 69-82.

Ahmed M. Aboul-Enein, Sanaa M.M. Shanab, Emad A. Shalaby, Malak M. Zahran, David A. Lightfoot and Hany A. El-Shemy. 2014. Cytotoxic and antioxidant properties of active principals isolated from water hyacinth against four cancer cells lines. BMC Complementary and Alternative Medicine, 14 : 397.

Andrea Gutiérrez-Morales, Valente Velázquez-Ordoñez, Ameer Khusroc, Abdelfattah Z.M. Salem, María Elena Estrada-Zúñiga, Mohamed Z.M. Salem, Benjamin Valladares-Carranza, Cristina Burrola-Aguilar. 2017. Anti-staphylococcal properties of

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Eichhornia crassipes, *Pistacia vera*, and *Ziziphus amole* leaf extracts: Isolates from cattle and rabbits. Elsevier. Microbial Pathogenesis 113 181–189.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.. 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Lebensm.-Wiss. u.-Technol.. 28. 25-30 (1995)

Haggag M.W., Abou el ella S.M., Abouziena H.F.. 2017. Phytochemical analysis, antifungal, antimicrobial activities and application of *Eichhornia crassipes* against some plant pathogens. Planta Daninha v35 : e017159560.

A. Kathirvel, V.l Sujatha. 2016. Phytochemical studies, antioxidant activities and identification of active compounds using GC–MS of *Dryopteris cochleata* leaves. Arabian Journal of Chemistry. Volume 9, Supplement 2, Pages S1435-S1442.

P. Jayanthi, P. Lalitha and Shubashini K. Sripathi. 2011. Phytochemical investigation of the extracts of *Eichhornia crassipes* and its solvent fractionates. Journal of Pharmacy Research, 4(5), 1405-1406.

Shanab S.M.M., Shalaby E.A., Lightfoot D.A., El-Shemy H.A. 2010. Allelopathic Effects of Water Hyacinth [*Eichhornia crassipes*]. PLos ONE 5(10) : e13200.doi : 101371 / journal.pone.0013200.

Thamaraiselvi, P. Lalitha and P. Jayanthi. 2012. Preliminary studies on phytochemicals and antimicrobial activity of solvent extracts of *Eichhornia crassipes* (Mart.)Solms. Pelagia Research Library. Asian Journal of Plant Science and Research, 2 (2):115-122.

Tony Imunyo Isebe. 2016. Phytochemical Composition And Antibacterial Activity Of *Eichhornia Crassipes* In Lake Victoria, Kisumu. International Journal of Scientific & Technology Research volume 5, issue 09.

[Online]. Available :

https://www.honestdocs.co/pseudomonas-aeruginosa (สืบค้นเมื่อ 3/7/2018)

[Online]. Available :

http://www.vcharkarn.com/varticle/42381 (สืบค้นเมื่อ 3/7/2018)

[Online]. Available :

http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1311/yersinia-enterocolitica (สืบค้นเมื่อ 3/7/2018)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[Online]. Available :

http://www.thansettakij.com/index.php/content/212173 (สืบค้นเมื่อ 3/7/2018)

[Online]. Available :

http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3200/dpph-assay (สืบค้นเมื่อ3/7/2018)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหาร Natrient Agar, (NA)

Beef extract	3.00	กรัม
Peptone	5.00	กรัม
NaCl	15.00	กรัม
Agar	15.00	กรัม
Distilled Water	1,000.00	กรัม

วิธีเตรียม

1. ชั่งสารตามปริมาณที่ต้องการ

2. ละลายส่วนประกอบต่างๆ ในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร โดยให้ละลายวุ้นก่อนแล้วจึงใส่ส่วนประกอบอื่นๆ คนให้ละลาย แล้วต้มจนกระทั่งส่วนประกอบต่างๆ ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

3. เมื่อเตรียมอาหารเสร็จแล้วนำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อ Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สูตรอาหาร Muller Hinton Ager, (MHA)

Muller Hinton Ager (MHA) เป็นอาหารสำเร็จรูป ปริมาณที่ใช้คือ 38 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร ประกอบด้วย

Beef, infusion form	300	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Casein acid hydrolysate	17.5	กรัม
Agar	17	กรัม
Distilled Water	1	กรัม

ปรับ pH 7.3 ± 0.2

เตรียมโดยทำการชั่งอาหาร 38 กรัม ละลายในน้ำกลั่นโดยอัตราส่วนที่ใช้คือ 38 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายมาตรฐาน McFarland No. 0.5 (CLSI,2006)

0.048 M $BaCl_2$	0.5 มิลลิลิตร
0.18 M H_2SO_4	99.5 มิลลิลิตร

สารละลายมาตรฐาน McFarland No. 0.5 สามารถเตรียมได้โดยใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 9.5 มิลลิลิตร ผสมกับแบเรียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. กรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 เตรียมได้โดยการเติมน้ำใส่ขวดปรับปริมาตรประมาณ 20-30 มิลลิลิตร แล้วเติมกรดซัลฟูริกลงไปปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรในขวดให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2. แบเรียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 เตรียมได้โดยการชั่งแบเรียมคลอไรด์ 1.00 กรัม ละลายในน้ำ 20-30 มิลลิลิตร เทใส่ขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรในขวดให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3. นำสารทั้งสองที่เตรียมมาผสมกันตามสูตรบรรจุในหลอดฝาเกลียว

หมายเหตุ : เตรียมเสร็จแล้วให้พันหลอดฝาเกลียวด้วยพาราฟิล์ม เก็บให้พ้นแสง หากเก็บไว้นานจะเกิดการตกตะกอนของแบเรียมคลอไรด์ได้ ก่อนนำมาใช้จึงควรวอเท็กซ์ก่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐาน มีหลักการคือสารประกอบฟีนอลิกจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Cicocalteu reagent เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงินที่สามารถตรวจสอบได้โดยใช้การวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ที่ความยาวคลื่น 517 นาโน เมตร

1. สารเคมี

1.1 Folin-Cicocalteu reagent

1.2 โซเดียมคาร์บอเนต ($NaCO_3$) ความเข้มข้นความเข้มข้นร้อยละ 7.5

1.3 สารละลายกรดแกลลิก

2. การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้นเริ่มต้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2 นำมาเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1, 0.1, 0.01, 0.001 และ 0.0001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

2.3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ใส่ลงใน 96 well plate ปริมาตร 20 ไมโครลิตร

2.4 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

2.5 เติมสารละลาย Folin-Cicocalteu reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

2.6 นำมาตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

2.7 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

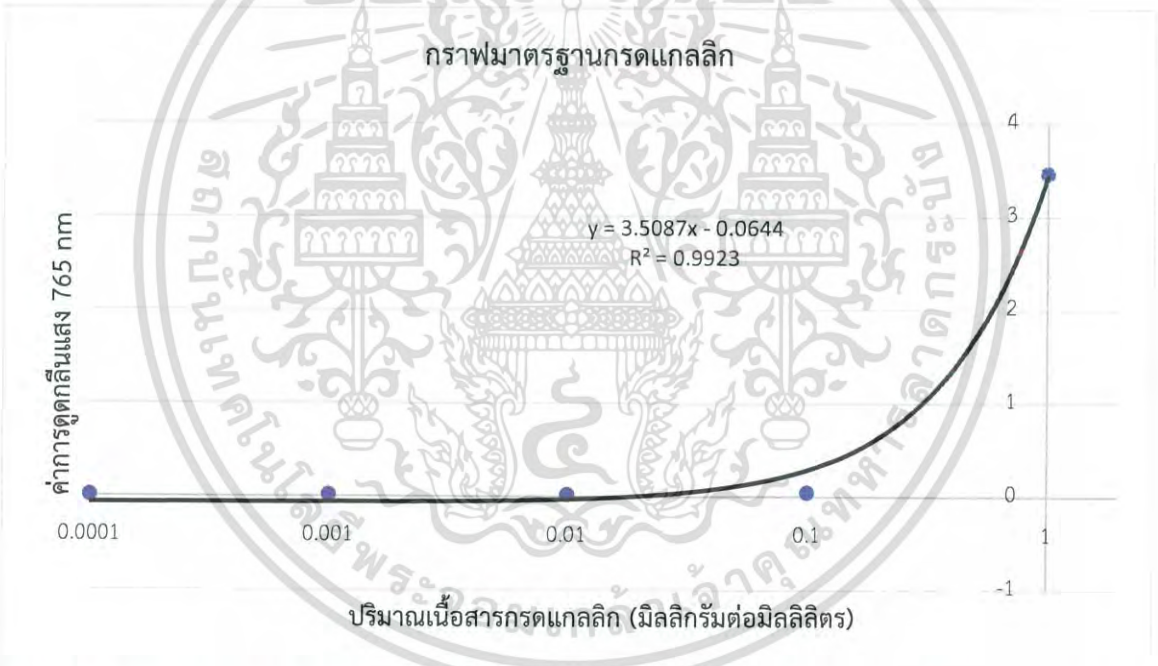
3.1 เตรียมสารสกัดหยาบให้ได้ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2 ปิเปตสารสกัดปริมาตร 20 ไมโครกรัมใส่ลงในหลุม 96 well plate

3.3 ปิเปตสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 80 ไมโครลิตร

3.4 เติมสารละลาย Folin-Cicocalteu reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

3.5 นำมาตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร



รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร กับความเข้มข้นของกรดแกลลิก สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข-1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

ความเข้มข้นกรดแกลลิก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร
1	3.4675
0.1	0.0485
0.01	0.0235
0.001	0.0205
0.0001	0.0165

ตารางที่ ข-2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบจากผักตบชวา

สารสกัดหยาบ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร			ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย	ปริมาณฟีนอลิก (mgGAE/100 g dry weight)	ปริมาณฟีนอลิก (mgGAE/g สารสกัด)
	1	2	3			
ราก	0.376	0.436	0.451	0.421	13,856.99	1,383
ต้น	0.654	0.384	0.406	0.4813	30,200.66	1,556
ใบ	0.349	0.395	0.356	0.3667	46,128.70	1,223

การคำนวณ หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจาก ราก ต้น และใบของผักตบชวา โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบทั้ง 3 ส่วน แทนค่าลงในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกดังนี้

เช่น สารสกัดหยาบจากส่วนรากของผักตบชวา มีค่า $O.D._{765}$ เท่ากับ 0.421

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

$$y = 3.5087x - 0.0644$$

เมื่อ x คือ ความเข้มข้นของกรดแกลลิก (มิลลิกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

แทนค่า $0.421 = 3.5087x - 0.0644$

$0.421 + 0.0644 = 3.5087x$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

x = 0.4854/3.5087

x = 0.1383 มิลลิกรัม

ดังนั้นปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบส่วนราก 0.1 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของสารมาตรฐานกรดแกลลิก 0.1383 มิลลิกรัม

สารสกัด 1,000 มิลลิกรัม จะมีปริมาณเทียบเท่ากับเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ (0.1383×1,000)/0.1

เท่ากับ 1,383 มิลลิกรัม สารสกัด 1 มิลลิกรัม จะมีปริมาณเทียบเท่ากับเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ 1,383/1,000

เท่ากับ 1.383 มิลลิกรัม

เพราะฉนั้น สารสกัดหยาบจากส่วนรากของผักตบชวามีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 1,383 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ DPPH Radical Scavenging Assay

1. การเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ DPPH Radical Scavenging Assay

1.1 เตรียมสารละลายตัวอย่างในเอทานอล 3 ส่วน ได้แก่ ราก ต้น และใบของผักตบชวา

1.2 เตรียมหลอด Eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร จำนวน 10 หลอด โดยเตรียมเอทานอล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จำนวน 1 หลอด และปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ในหลอดที่เหลืออีก 9 หลอด

1.3 ทำการระบุความเข้มข้นของสารละลายที่มีสารสกัดอยู่ และนำมาเจือจางลดความเข้มข้นลงทีละครึ่งหรือวิธี two-fold dilution สารละลายความเข้มข้น 0.625, 1.25, 2.5, 5, และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การเตรียมสารละลาย DPPH ใน Absolute Ethanol

โดยการชั่ง DPPH 0.039 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายความเข้มข้น DPPH 1,000 ไมโครโมล นำมาเจือจางเพื่อลดความเข้มข้นครึ่งหนึ่งโดยใช้ปิเปตดูดสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 1,000 ไมโครโมล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมลงใน Absolute Ethanol ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 500 ไมโครโมล

หมายเหตุ : 1. เตรียมสารละลาย DPPH ทันทีก่อนนนำมาใช้

2. การคำนวณความเข้มข้นของ DPPH (น้ำหนักโมเลกุลของ DPPH = 394.33)

น้ำหนักสาร (กรัม) = 1×10^{-4} โมลต่อลิตร × 394.33 กรัมต่อโมล

= 0.039 กรัมต่อลิตร

3. การเตรียมสารละลายวิตามินอี (α-tocopherol)

เตรียมสารละลายวิตามินอี หรือ α-tocopherol ความเข้มข้น 500 ไมโครโมล โดยทำการชั่งวิตามินอี 0.0043 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของผักตบชวา

ตารางที่ ค-1 การวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จากราก ต้น และใบของผักตบชวาที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด (mg/ml) / ความเข้มข้น	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				
	10	5	2.5	1.25	0.625
ราก	0.174	0.199	0.208	0.203	0.207
	0.176	0.198	0.195	0.198	0.215
	0.172	0.196	0.212	0.204	0.212
เฉลี่ย	0.174	0.198	0.205	0.202	0.211
ต้น	0.098	0.136	0.163	0.197	0.209
	0.101	0.133	0.17	03192	0.207
	0.103	0.129	0.168	0.189	0.211
เฉลี่ย	0.101	0.133	0.167	0.193	0.209
ใบ	0.117	0.142	0.163	0.182	0.201
	0.112	0.139	0.158	0.191	0.205
	0.114	0.151	0.162	0.186	0.203
เฉลี่ย	0.114	0.144	0.161	0.186	0.203

ตารางที่ ค-2 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของวิตามินอี (Positive control)

วิตามินอี	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร
ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์	0.059

ตารางที่ ค-3 ค่าร้อยละฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของวิตามินอี (Positive control)

วิตามินอี	ร้อยละฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ
ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์	82.44048

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

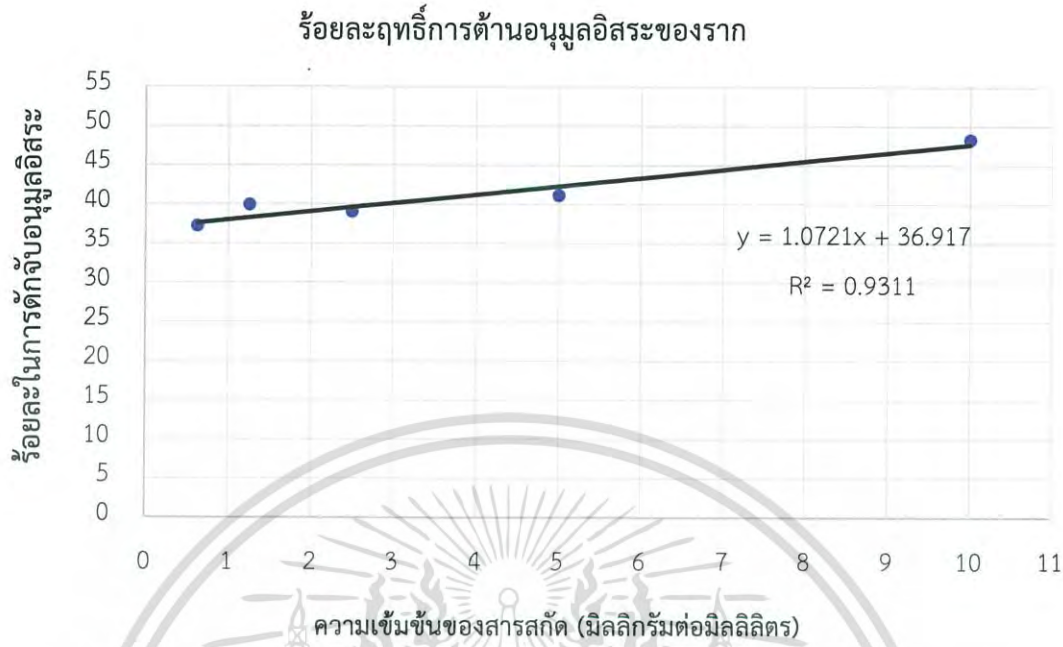
ตารางที่ ค-4 ค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของสารสัดหยาบส่วน ราก ต้น และใบของผักตบชวาที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด (mg/ml) / ความเข้มข้น	ร้อยละฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ				
	10	5	2.5	1.25	0.625
ราก	48.21	40.77	38.1	39.58	38.39
	47.62	41.07	41.96	41.07	36.01
	48.81	41.67	36.90	39.29	36.90
เฉลี่ย	48.21	41.07	38.99	39.88	37.20
ต้น	70.83	59.52	51.49	41.37	37.8
ต้น	69.94	60.42	49.4	42.86	38.39
	69.35	61.61	50.0	43.75	37.20
เฉลี่ย	69.94	60.42	50.3	42.56	37.5
ใบ	64.55	56.97	50.61	44.85	39.09
	66.06	57.88	52.12	42.12	37.88
	65.45	54.24	50.91	43.64	38.48
เฉลี่ย	65.35	56.36	51.21	43.53	38.48

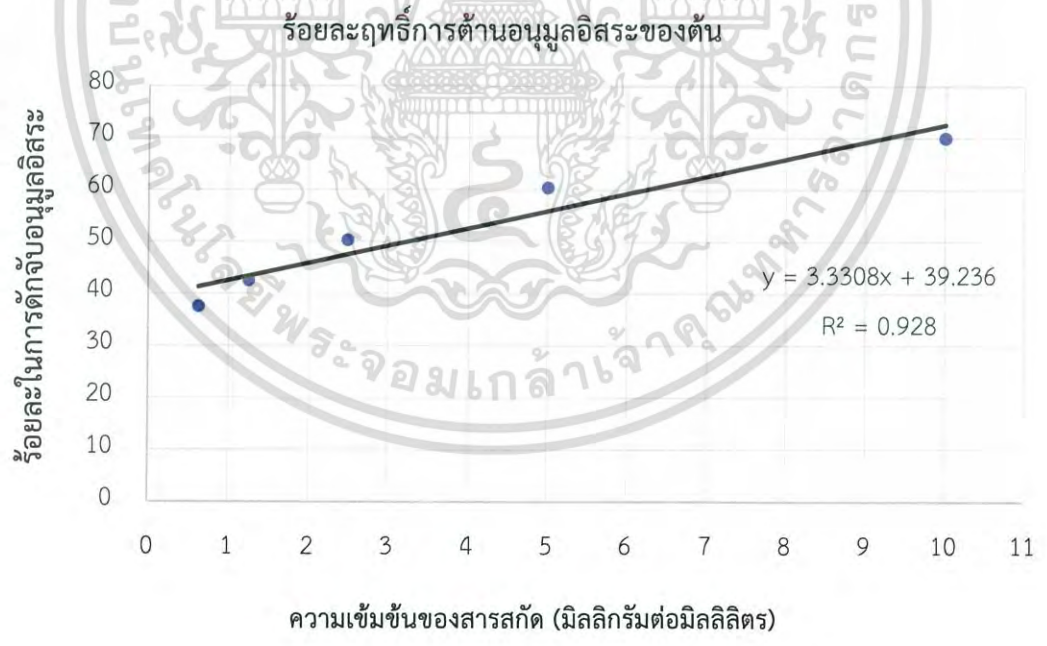
ตารางที่ ค-5 ค่าเฉลี่ยร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วน ราก ต้น และใบของผักตบชวาที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น / สารสกัด	ร้อยละฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ				
	10	5	2.5	1.25	0.625
ราก	48.21	41.07	38.99	39.88	37.20
ต้น	69.94	60.42	50.30	42.56	37.50
ใบ	65.35	56.36	51.21	43.53	38.48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค-1 การแสดงการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนรากของผักตบชวา



รูปที่ ค-2 การแสดงการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนต้นของผักตบชวา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ค-3 การแสดงการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนใบของผักตบชวา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยใช้สารละลายควอซิตินเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์มาตรฐาน ซึ่งสามารถตรวจสอบได้โดยใช้การวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

1. สารเคมี

1.1 สารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30

1.2 สารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5

1.3 สารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10

1.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์

2. การเตรียมกราฟมาตรฐานควอซิติน

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานควอซิตินเข้มข้นเริ่มต้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2 นำมาเจือจางที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 31.25 62.5, 125, 250, 500 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานควอซิตินที่ละลายในเอทานอลที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ใส่ลงหลอดทดลอง 250 ไมโครลิตร

2.4 เติมน้ำกลั่น 1.25 มิลลิลิตร

2.5 เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 75 ไมโครลิตร รอ 5 นาที

2.6 เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 150 ไมโครลิตร รอ 6 นาที

2.7 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 275 ไมโครลิตร

2.8 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ 510 นาโนเมตร

2.9 เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณสารละลายควอซิตินในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

3.1 ชั่งสารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ให้ได้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2 ปิเปตสารสกัดปริมาตร 250 ไมโครลิตร

3.3 เติมน้ำกลั่น 1.25 มิลลิลิตร

3.4 เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร รอ 5 นาที

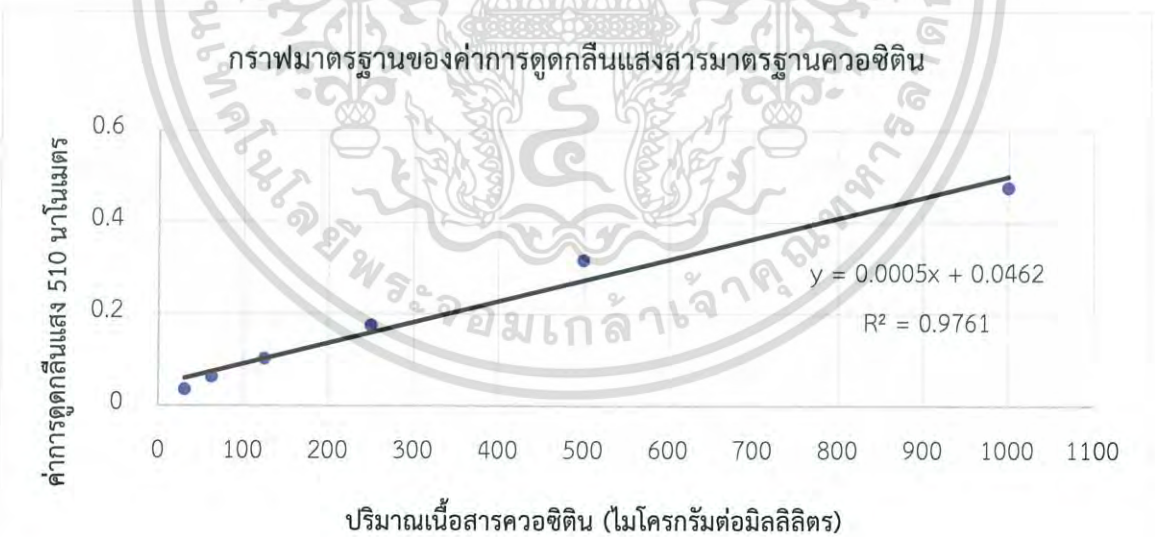
3.5 เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร รอ 6 นาที

3.6 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 275 ไมโครลิตร

3.7 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ 510 นาโนเมตร

3.8 รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด

4 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวา



รูปที่ ง-1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร กับปริมาณเนื้อสารควอซิตินในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานควอซิตินที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

ความเข้มข้นควอซิติน (µg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร			
	1	2	3	เฉลี่ย
31.25	0.052	0.037	0.018	0.036
62.5	0.075	0.07	0.047	0.064
125	0.091	0.102	0.116	0.103
250	0.15	0.235	0.142	0.176
500	0.388	0.318	0.244	0.317

ตารางที่ ง-2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบ ราก ต้น และใบของผักตบชวาที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

สารสกัดหยาบ (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร			
	1	2	3	เฉลี่ย
ราก	0.099	0.104	0.099	0.101
ต้น	0.072	0.083	0.094	0.083
ใบ	0.157	0.16	0.134	0.150

ตารางที่ ง-3 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด (mg of quercetin equivalents (QE/g of extract) ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารจากส่วนต่างๆ ของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบ (mg/ml)	ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมของควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด)			
	1	2	3	เฉลี่ย
ราก	105.60	115.60	105.60	107.60
ต้น	51.60	73.60	95.60	73.60
ใบ	221.60	227.60	175.60	207.60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมการกราฟมาตรฐาน

$y = 0.0005x + 0.0462 \quad R^2 = 0.9761$

เช่น ราก ซ้ำที่ 1 ค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.099

$0.099 = 0.0005x + 0.0462$

$x = 105.6$

ในสมการสารสกัดหยาบความเข้มข้น 1 mg/ml มีฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 105.6 $\mu gQE.g^{-1}$

สารสกัดตัวอย่าง 1 mg มีค่า มิลลิกรัมของควอซิติน 105.6 µg

สารสกัดตัวอย่าง 1,000 mg มิลลิกรัมของควอซิติน เท่ากับ (0.1056 × 1,000 mg)/1mg = 105.60 $mgQE.g^{-1}$

ดังนั้นพบว่า สารสกัดตัวอย่าง 1,000 mg มีค่ามิลลิกรัมของควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด เท่ากับ 105.60 มิลลิกรัมของควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด

ตารางที่ ง-4 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิตินต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง (mg of quercetin equivalents (QE)/100 g dry weight) ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร จากส่วนต่างๆ ของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร

สารสกัดหยาบ (1mg/ml)	ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมของควอซิตินต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)			
	1	2	3	เฉลี่ย
ราก	1,191.06	1,303.85	1,191.06	1,213.62
ต้น	1,001.91	1,429.09	1,856.27	1,429.09
ใบ	7,389.03	7,589.09	5,855.20	6,922.21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบของส่วนต่างๆ จากผักตบชวา

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบของส่วนต่างๆจากผักตบชวา จะวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Denis นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดต่อกรัมของสารสกัด (mg of tannic acid equivalent) (TAE/g of extract)

1. สารเคมี
    1.1 สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30
    1.2 สารละลาย Folin-Denis reagent
    1.3 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 35
    1.4 สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก

2. การเตรียมกราฟมาตรฐานสารละลายกรดแทนนิก
    2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก โดยนำมาชั่ง 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 เป็นตัวทำละลาย
    2.2 ทำการเจือจางสารละลายกรดแทนนิกแบบ two-flow dilution ที่ระดับความเข้มข้น 62.5, 125, 250, 500 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
    2.3 เติมน้ำกลั่นปริมาตร 7.5 มิลลิลิตร
    2.4 เติมสารละลาย Folin-Denis reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร
    2.5 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 35
    2.6 ปรับปริมาตรสารละลายให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น
    2.7 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร
    2.8 สารละลายมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแทนนิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแทนนิก จะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด

3.1 เตรียมสารสกัดหยาบ โดยนำแต่ละส่วนของสารสกัดมาชั่ง 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 เป็นตัวทำละลาย ดูดมาใช้ 50 ไมโครลิตร

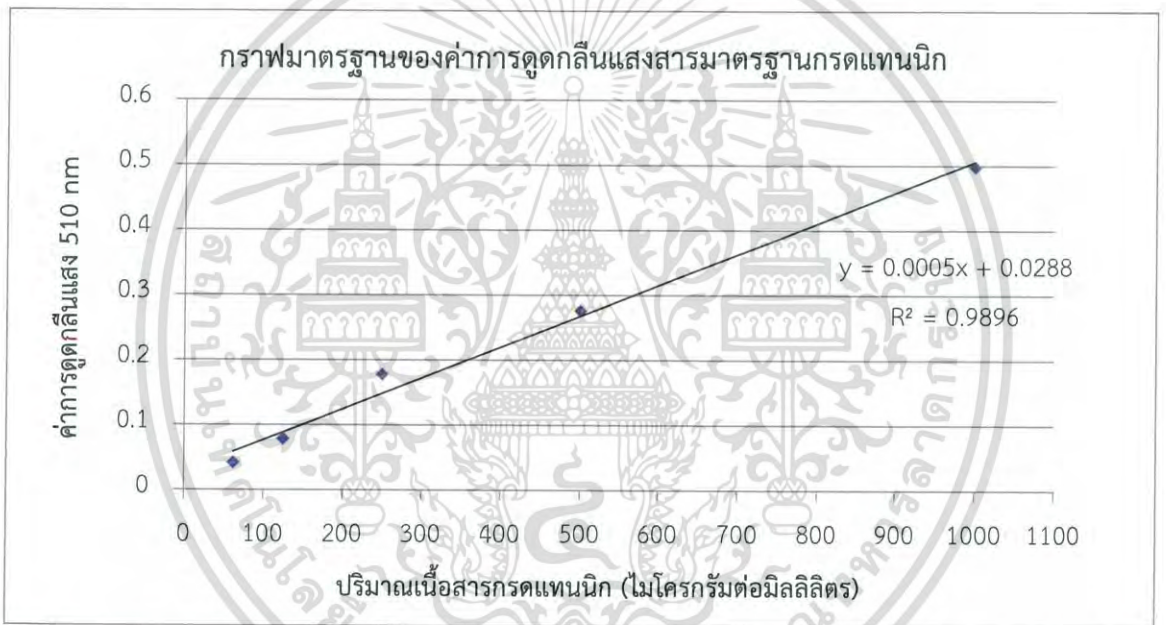
3.2 เติมน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 7.5 มิลลิลิตร

3.3 เติมสารละลาย Folin-Denis reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

3.4 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 35

3.5 ปรับปริมาตรสารละลายให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

3.6 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับค่าของกราฟมาตรฐานของกรดแทนนิก



รูปที่ จ-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณสารละลายกรดแทนนิกในหน่วยไมโครกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมดในส่วนต่างๆของผักตบชวา โดยใช้วิธี pH differential

โดยใช้ระบบ 2 บัฟเฟอร์ คือ 0.025 M potassium chloride (KCl) ที่ pH 1.0 และ 0.4 M sodium acetate (CH_3COONa) ที่ pH 4.5

1. สารเคมี

1.1 โดยใช้ระบบ 2 บัฟเฟอร์ คือ 0.025 M potassium chloride (KCl) ที่ pH 1.0

1.2 sodium acetate (CH_3COONa) 0.4 M ที่ pH 4.5

1.3 potassium chloride หรือ sodium acetate

2. การวิเคราะห์สารประกอบแอนโทไซยานิน

2.1 นำสารละลายของสารสกัด ปริมาตร 30 ไมโครลิตร (ชั่งสารสกัด 40 มิลลิกรัม ละลายในน้ำ 1 มิลลิลิตร)

2.2 เจือจางสารสกัดตัวอย่าง 1 ส่วนใน 9 ส่วนของสารละลายบัฟเฟอร์ โดยวิธี pH differential โดยใช้ 2 ระบบ บัฟเฟอร์ คือ 0.025 M potassium chloride (KCl) ที่ pH 1.0 และ 0.4 M sodium acetate (CH_3COONa) ที่ pH 4.5 ปริมาตร 270 ไมโครลิตรของตัวอย่าง

2.3 ผสมกับ potassium chloride หรือ sodium acetate ปริมาตร 270 ไมโครลิตร

2.4 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และ 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์

จากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณความแตกต่างระหว่างค่าการดูดกลืนแสง

$$A = (A_{520} - A_{700})\ \text{ที่ pH 1.0} - (A_{520} - A_{700})\ \text{ที่ pH 4.5}$$

$$\text{ปริมาณ Anthocyanin (mg/l)} = (A \times MW \times DF \times 1{,}000)/(e \times 1)$$

เมื่อ A คือ ความแตกต่างของ Absorbance ที่ pH แตกต่างกัน

MW คือ น้ำหนักโมเลกุลของแอนโทไซยานิน (449.2)

DF คือ dilution factor

E คือ Cyanidin-3-glucoside molar absorbance (26,900)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ฉ-1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของสารประกอบแอนโทไซยานินจากส่วนต่างๆ ของผักตบชวา

สารสกัดหยาบ	ปริมาณสารแอนโทไซยานิน (มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อลิตรสารสกัด)
ราก	3.21 ±2.55[a]
ต้น	4.01 ±0.10[a]
ใบ	15.73 ±14.45[a]

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช

ผลการทดลอง

1. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธี Agar well diffusion

ตารางที่ ช-1 ผลการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดส่วนต่างๆ ของผักตบชวาที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เชื้อแบคทีเรีย	การทดสอบ	บริเวณการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
E. coli	ราก	6.00	6.00	6.00	6.00
	ต้น	6.00	6.00	6.00	6.00
	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	EtOH 95%	6.00	6.00	6.00	6.00
	Ciprofloxacin	25.8	26.5	25.0	25.77
S. epidermidis	ราก	6.00	6.00	6.00	6.00
	ต้น	6.00	6.00	6.00	6.00
	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	EtOH 95%	6.00	6.00	6.00	6.00
	Ciprofloxacin	23.3	25.3	25.7	24.77
S. aureus	ราก	8.5	7.9	10.3	8.9
	ต้น	8.4	6.00	8.1	7.5
	ใบ	7.7	9.0	7.8	8.17
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Ciprofloxacin	17.5	18.7	18.0	18.07
S. typhimurium	ราก	6.0	6.0	6.0	6.00
	ต้น	6.0	6.0	6.0	6.00
	ใบ	6.0	6.0	6.0	6.00
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Ciprofloxacin	17.8	18.9	18.3	18.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

P. aeruginosa	ราก	6.0	6.0	6.0	6.00
	ต้น	6.8	7.0	6.0	6.6
	ใบ	6.0	6.0	6.0	6.00
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Ciprofloxacin	27.0	26.4	27.4	26.93
B. subtilis	ราก	9.1	6.3	6.0	7.13
	ต้น	9.3	6.0	6.0	7.1
	ใบ	8.8	8.3	11.4	9.5
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Ciprofloxacin	17.1	16.8	13.5	15.8
Y. enterocolitica	ราก	6.0	6.0	6.0	6.00
	ต้น	8.4	8.0	10.3	8.9
	ใบ	11.0	8.8	6.0	8.6
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Gentamicin	13.2	9.5	15.7	12.8

ตารางที่ ช-2 ผลการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดส่วนต่างๆ ของผักตบชวาที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เชื้อแบคทีเรีย	การทดสอบ	บริเวณการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
E. coli	ราก	6.0	6.0	6.0	6.00
	ต้น	6.0	6.0	6.0	6.00
	ใบ	6.0	6.0	6.0	6.00
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Ciprofloxacin	19.3	25.1	25.7	23.37
S. epidermidis	ราก	6.0	6.0	6.0	6.00
	ต้น	6.0	6.0	6.0	6.00
	ใบ	6.0	6.0	6.0	6.00
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Ciprofloxacin	25.7	26.3	24.7	25.57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

S. aureus	ราก	8.6	9.0	9.0	8.87
	ต้น	9.9	9.0	10.2	9.7
	ใบ	7.7	9.0	7.8	8.17
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Ciprofloxacin	16.1	17.0	17.5	16.87
S. typhimurium	ราก	6.0	6.0	6.0	6.00
	ต้น	8.9	6.0	6.0	6.97
	ใบ	6.0	6.0	6.0	6.00
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Ciprofloxacin	23.8	19.7	20.0	21.17
P. aeruginosa	ราก	6.0	6.0	6.0	6.00
	ต้น	8.0	6.0	6.0	6.67
	ใบ	6.0	6.0	6.0	6.00
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Ciprofloxacin	28.8	28.3	28.2	28.43
B. subtilis	ราก	8.2	9.1	8.0	8.43
	ต้น	9.7	8.6	6.0	8.1
	ใบ	7.5	9.3	9.0	8.6
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Ciprofloxacin	17.4	16.5	17.9	17.27
Y. enterocolitica	ราก	6.0	6.0	6.0	6.00
	ต้น	12.1	12.2	11.3	11.87
	ใบ	7.7	11.2	12.0	10.3
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Gentamicin	14.0	21.3	20.2	18.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ช-3 ผลการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดส่วนต่างๆ ของผักตบชวาที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เชื้อแบคทีเรีย	การทดสอบ	บริเวณการยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
E. coli	ราก	6.0	6.0	6.0	6.00
	ต้น	6.0	6.0	6.0	6.00
	ใบ	6.0	6.0	6.0	6.00
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Ciprofloxacin	26.9	25.1	25.3	25.77
S. epidermidis	ราก	6.0	6.0	6.0	6.00
	ต้น	6.0	6.0	6.0	6.00
	ใบ	6.0	6.0	6.0	6.00
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Ciprofloxacin	25.0	25.3	25.3	25.2
S. aureus	ราก	11.3	11.3	11.4	11.33
	ต้น	9.2	9.2	9.4	9.27
	ใบ	12.0	11.7	6.0	9.9
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Ciprofloxacin	14.5	15.1	15.5	15.03
S. typhimurium	ราก	6.0	6.0	6.0	6.00
	ต้น	6.0	6.0	6.0	6.00
	ใบ	6.0	6.0	6.0	6.00
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Ciprofloxacin	19.6	18.0	17.9	18.5
P. aeruginosa	ราก	6.0	6.0	6.0	6.00
	ต้น	7.0	6.0	6.0	6.3
	ใบ	6.0	6.0	6.0	6.00
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Ciprofloxacin	28.3	28.0	27.5	27.93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

B. subtilis	ราก	9.6	8.4	6.0	8.00
	ต้น	7.7	10.6	10.0	9.43
	ใบ	9.9	9.0	10.5	9.8
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Ciprofloxacin	16.3	15.3	15.9	15.83
Y. enterocolitica	ราก	6.0	6.0	6.0	6.00
	ต้น	8.2	13.2	11.7	11.03
	ใบ	10.3	8.5	9.5	9.43
	EtOH 95%	6.0	6.0	6.0	6.00
	Gentamicin	14.0	21.3	20.2	18.5

2. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธี Broth dilution (MBC)

ตารางที่ ช-4 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธี Broth dilution (MBC)

สารสกัด \ เชื้อ			*E. coli*	*S. epidermidis*	*S. aureus*	*S. typhimurium*	*P. aeruginosa*	*B. subtilis*	*Y. enterocolitica*
ราก	ความเข้มข้น	200	N	N	G	G	N	N	G
		100	G	N	G	G	N	G	G
		50	G	G	G	G	G	G	G
		25	G	G	G	G	G	G	G
ต้น	ความเข้มข้น	200	N	N	G	G	N	N	G
		100	N	N	G	G	N	N	G
		50	N	N	G	G	N	G	G
		25	G	G	G	G	N	G	G

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

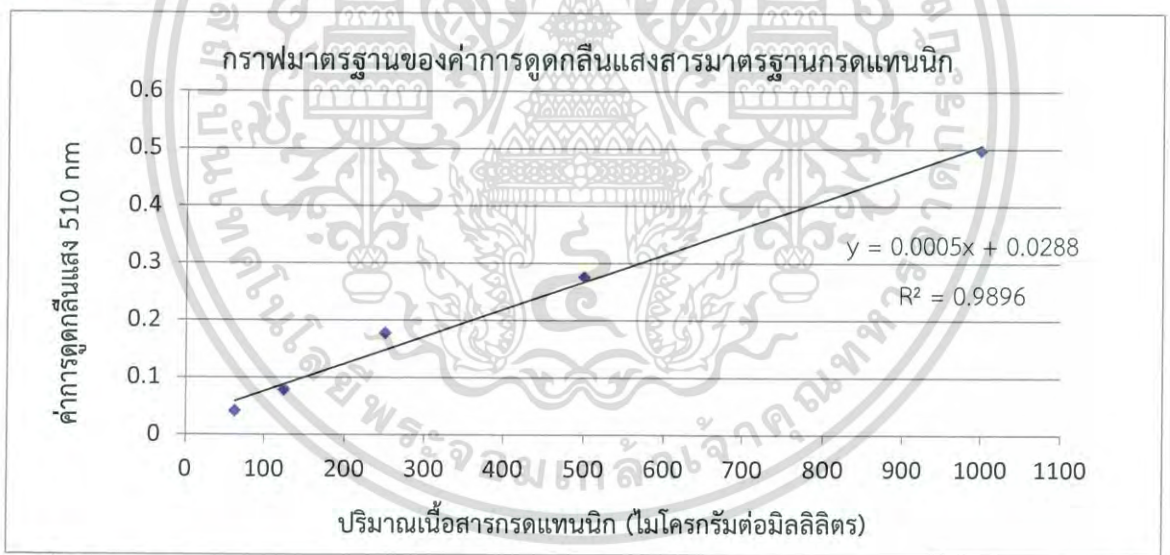
ใบ	ความเข้มข้น	200	N	N	G	G	G	G	G
		100	G	N	G	G	G	G	G
		50	G	N	G	G	G	G	G
		25	G	G	G	G	G	G	G

หมายเหตุ : G คือ มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

N คือ ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

3. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวา

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวา โดยวิธี Folin-Denis (Kathirvel and Sujatha, 2012) โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้กรดแทนนิกเป็นสารละลายมาตรฐาน โดยรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด (mg of tannic acid equivalent (TAE)/g of extract) และใช้เอทานอลร้อยละ 30 เป็นแบลงค์ (blank)



รูปที่ ช-1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร กับปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิกในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ช-5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของผักตบชวา

สารสกัด (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร			เฉลี่ย
	1	2	3	
ราก	0.062	0.061	0.059	0.0606
ต้น	0.062	0.062	0.06	0.0613
ใบ	0.067	0.066	0.063	0.0653

ตารางที่ ช-6 ปริมาณสารแทนนินในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด (mg of tannic acid equivalents (TAE)/g of extract) ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร จากส่วนต่างๆ ของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากสมการกราฟมาตรฐาน

สารสกัด (mg/ml)	ปริมาณสารแทนนิน (มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด)			เฉลี่ย
	1	2	3	
ราก	66.40	64.40	60.40	64.40
ต้น	66.40	66.40	62.40	64.40
ใบ	76.40	74.40	68.40	72.40

จากสมการกราฟมาตรฐาน $y = 0.0005x + 0.0288$, $R^2 = 0.9896$

เช่น รากซ้ำ 1 มีค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.062

$$0.062 = 0.0005x + 0.0288$$

$$x = 66.4$$

ในสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 1 mg/ml มีแทนนินทั้งหมด เท่ากับ 66.4 $\mu gTAE.g^{-1}$

สารสกัดตัวอย่าง 1 mg มีค่ามิลลิกรัมของกรดแทนนิก เท่ากับ 66.4 µg

สารสกัดตัวอย่าง 1,000 mg มีค่ามิลลิกรัมของกรดแทนนิก เท่ากับ (0.0664 mg × 1,000 mg)/1 mg จะได้ เท่ากับ 66.40 $mgTAE.g^{-1}$

ดังนั้น สารสกัดตัวอย่าง 1,000 mg ค่ามิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดเท่ากับ 66.40 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ช-7 ปริมาณสารแทนนินในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg of tannic acid equivalents (TAE)/100 g dry weight) ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร จากส่วนต่างๆ ของผักตบชวา ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากสมการกราฟมาตรฐาน

สารสกัด (mg/ml)	ปริมาณสารแทนนิน (มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง)			เฉลี่ย
	1	2	3	
ราก	748.93	726.37	681.25	726.37
ต้น	1,289.29	1,289.29	1,211.62	1,250.45
ใบ	2,547.48	2,480.79	2,280.73	2,414.11

4. **การวิเคราะห์หาสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากผักตบชวา โดยใช้วิธี pH differential**

ตารางที่ ช-8 ค่าการดูดกลืนแสงของ KCl pH 1.0 ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

สารสกัดหยาบ	1	2	3	เฉลี่ย
ราก	0.557	0.704	1.065	0.775
ต้น	1.259	1.27	1.292	1.274
ใบ	0.528	0.546	0.653	0.575

ตารางที่ ช-9 ค่าการดูดกลืนแสงของ KCl pH 1.0 ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

สารสกัดหยาบ	1	2	3	เฉลี่ย
ราก	0.514	0.527	0.652	0.564
ต้น	1.104	1.176	1.177	1.152
ใบ	0.404	0.455	0.532	0.464

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ช-10 ค่าการดูดกลืนแสงของ CH_3COONa pH 4.5 ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

สารสกัดหยาบ	1	2	3	เฉลี่ย
ราก	0.98	0.995	1.109	1.028
ต้น	1.338	1.352	1.377	1.356
ใบ	0.518	0.556	0.582	0.552

ตารางที่ ช-11 ค่าการดูดกลืนแสงของ CH_3COONa pH 4.5 ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

สารสกัดหยาบ	1	2	3	เฉลี่ย
ราก	0.877	0.894	0.994	0.922
ต้น	1.242	1.269	1.272	1.261
ใบ	0.386	0.481	0.519	0.462

สูตรการคำนวณ $A = (A_{520} - A_{700})$ ที่ pH 1.0 – $(A_{520} - A_{700})$ ที่ pH 4.5

ปริมาณแอนโทไซยานิน (mg/l) = $(A \times MW \times DF \times 1,000)/(e \times 1)$

เมื่อ A คือ ความแตกต่างของ Absorbance ที่ pH แตกต่างกัน

MW คือ น้ำหนักโมเลกุลของแอนโทไซยานิน (449.2)

DF คือ dilution factor

e คือ cyanidin-3-glucoside molar absorbance (26,900)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ช-12 ค่าเฉลี่ยการหาสารประกอบแอนโทไซยานิน (mg cyanidin-3-glucoside/l crude extract)

สารสกัดหยาบ	เฉลี่ย
ราก	15.73
ต้น	4.01
ใบ	3.21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ซ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากผักตบชวา

1.1 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหารเบื้องต้น (Agar well diffusion)

1.1.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean Lower Bound	95% Confidence Interval for Mean Upper Bound	Minimum	Maximum
ราก	200 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	100 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	50 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Ciprofloxacin	3	25.76667	.750555	.433333	23.90218	27.63115	25.000	26.500
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	9.95333	8.189093	2.114415	5.41836	14.48830	6.000	26.500
ต้น	200 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	100 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	50 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Ciprofloxacin	3	23.36667	3.534591	2.040697	14.58626	32.14708	19.300	25.700
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	9.47333	7.313536	1.888347	5.42323	13.52343	6.000	25.700
ใบ	200 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	100 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	50 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Ciprofloxacin	3	25.76667	.986577	.569600	23.31587	28.21746	25.100	26.900
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	9.95333	8.192668	2.115338	5.41638	14.49028	6.000	26.900

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ราก	Between Groups	937.731	4	234.433	2080.763	.000
	Within Groups	1.127	10	.113		
	Total	938.857	14			
ต้น	Between Groups	723.843	4	180.961	72.423	.000
	Within Groups	24.987	10	2.499		
	Total	748.829	14			
ใบ	Between Groups	937.731	4	234.433	1204.277	.000
	Within Groups	1.947	10	.195		
	Total	939.677	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ราก			
Duncan[a]			
		Subset for alpha = 0.05	
VAR00001	N	1	2
200 mg/ml	3	6.00000	
100 mg/ml	3	6.00000	
50 mg/ml	3	6.00000	
EtOH 95%	3	6.00000	
Ciprofloxacin	3		25.76667
Sig.		1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้น

Duncan[a]

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
200 mg/ml	3	6.00000	
100 mg/ml	3	6.00000	
50 mg/ml	3	6.00000	
EtOH 95%	3	6.00000	
Ciprofloxacin	3		23.36667
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ใบ

Duncan[a]

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
200 mg/ml	3	6.00000	
100 mg/ml	3	6.00000	
50 mg/ml	3	6.00000	
EtOH 95%	3	6.00000	
Ciprofloxacin	3		25.76667
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
						95% Confidence Interval for Mean			
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
ราก	200 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	100 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	50 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Ciprofloxacin	3	24.76667	1.285820	.742369	21.57251	27.96082	23.300	25.700
	5.00	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	9.75333	7.785322	2.010161	5.44197	14.06470	6.000	25.700
ต้น	200 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	100 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	50 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Ciprofloxacin	3	25.56667	.808290	.466667	23.55876	27.57457	24.700	26.300
	5.00	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	9.91333	8.107128	2.093251	5.42376	14.40291	6.000	26.300
ใบ	200 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	100 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	50 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Ciprofloxacin	3	25.10000	.173205	.100000	24.66973	25.53027	25.000	25.300
	5.00	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	9.82000	7.908422	2.041946	5.44046	14.19954	6.000	25.300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ราก	Between Groups	845.251	4	211.313	639.050	.000
	Within Groups	3.307	10	.331		
	Total	848.557	14			
ต้น	Between Groups	918.851	4	229.713	1758.005	.000
	Within Groups	1.307	10	.131		
	Total	920.157	14			
ใบ	Between Groups	875.544	4	218.886	36481.000	.000
	Within Groups	.060	10	.006		
	Total	875.604	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ราก			
Duncan[a]			
		Subset for alpha = 0.05	
VAR00001	N	1	2
200 mg/ml	3	6.00000	
100 mg/ml	3	6.00000	
50 mg/ml	3	6.00000	
5.00	3	6.00000	
Ciprofloxacin	3		24.76667
Sig.		1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้น

Duncan[a]

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
200 mg/ml	3	6.00000	
100 mg/ml	3	6.00000	
50 mg/ml	3	6.00000	
5.00	3	6.00000	
Ciprofloxacin	3		25.56667
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ใบ

Duncan[a]

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
200 mg/ml	3	6.00000	
100 mg/ml	3	6.00000	
50 mg/ml	3	6.00000	
5.00	3	6.00000	
Ciprofloxacin	3		25.10000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
						95% Confidence Interval for Mean			
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
ราก	200 mg/ml	3	11.33333	.057735	.033333	11.18991	11.47676	11.300	11.400
	100 mg/ml	3	8.86667	.230940	.133333	8.29298	9.44035	8.600	9.000
	50 mg/ml	3	8.90000	1.249000	.721110	5.79731	12.00269	7.900	10.300
	Ciprofloxacin	3	17.76667	.251661	.145297	17.14151	18.39183	17.500	18.000
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	10.57333	4.142199	1.069511	8.27946	12.86721	6.000	18.000
ต้น	200 mg/ml	3	9.26667	.115470	.066667	8.97982	9.55351	9.200	9.400
	100 mg/ml	3	9.70000	.624500	.360555	8.14866	11.25134	9.000	10.200
	50 mg/ml	3	7.50000	1.307670	.754983	4.25157	10.74843	6.000	8.400
	Ciprofloxacin	3	16.86667	.709460	.409607	15.10427	18.62906	16.100	17.500
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	9.86667	3.919305	1.011960	7.69623	12.03711	6.000	17.500
ใบ	200 mg/ml	3	9.90000	3.380828	1.951922	1.50156	18.29844	6.000	12.000
	100 mg/ml	3	8.16667	.723418	.417665	6.36960	9.96374	7.700	9.000
	50 mg/ml	3	8.16667	.723418	.417665	6.36960	9.96374	7.700	9.000
	Ciprofloxacin	3	15.03333	.503322	.290593	13.78301	16.28366	14.500	15.500
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	9.45333	3.434877	.886881	7.55116	11.35550	6.000	15.500

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ราก	Between Groups	236.849	4	59.212	176.227	.000
	Within Groups	3.360	10	.336		
	Total	240.209	14			
ต้น	Between Groups	209.820	4	52.455	100.232	.000
	Within Groups	5.233	10	.523		
	Total	215.053	14			
ใบ	Between Groups	139.717	4	34.929	13.719	.000
	Within Groups	25.460	10	2.546		
	Total	165.177	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ราก					
Duncan[a]					
		Subset for alpha = 0.05			
VAR00001	N	1	2	3	4
EtOH 95%	3	6.00000			
100 mg/ml	3		8.86667		
50 mg/ml	3		8.90000		
200 mg/ml	3			11.33333	
Ciprofloxacin	3				17.76667
Sig.		1.000	.945	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้น

Duncan[a]

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
EtOH 95%	3	6.00000			
50 mg/ml	3		7.50000		
200 mg/ml	3			9.26667	
100 mg/ml	3			9.70000	
Ciprofloxacin	3				16.86667
Sig.		1.000	1.000	.480	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ใบ

Duncan[a]

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
EtOH 95%	3	6.00000		
100 mg/ml	3	8.16667	8.16667	
50 mg/ml	3	8.16667	8.16667	
200 mg/ml	3		9.90000	
Ciprofloxacin	3			15.03333
Sig.		.143	.233	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
						95% Confidence Interval for Mean			
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
ราก	200 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	100 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	50 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Ciprofloxacin	3	18.33333	.550757	.317980	16.96518	19.70149	17.800	18.900
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	8.46667	5.110726	1.319584	5.63644	11.29689	6.000	18.900
ต้น	200 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	100 mg/ml	3	6.96667	1.674316	.966667	2.80744	11.12590	6.000	8.900
	50 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Ciprofloxacin	3	21.16667	2.285461	1.319512	15.48927	26.84407	19.700	23.800
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	9.22667	6.283592	1.622416	5.74693	12.70640	6.000	23.800
ใบ	200 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	100 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	50 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Ciprofloxacin	3	18.80000	.854400	.493288	16.67755	20.92245	17.900	19.600
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	8.56000	5.309533	1.370916	5.61968	11.50032	6.000	19.600

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ราก	Between Groups	365.067	4	91.267	1504.396	.000
	Within Groups	.607	10	.061		
	Total	365.673	14			
ต้น	Between Groups	536.716	4	134.179	83.583	.000
	Within Groups	16.053	10	1.605		
	Total	552.769	14			
ใบ	Between Groups	393.216	4	98.304	673.315	.000
	Within Groups	1.460	10	.146		
	Total	394.676	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ราก			
Duncan[a]			
		Subset for alpha = 0.05	
VAR00001	N	1	2
200 mg/ml	3	6.00000	
100 mg/ml	3	6.00000	
50 mg/ml	3	6.00000	
EtOH 95%	3	6.00000	
Ciprofloxacin	3		18.33333
Sig.		1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้น

Duncan[a]

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
200 mg/ml	3	6.00000	
50 mg/ml	3	6.00000	
EtOH 95%	3	6.00000	
100 mg/ml	3	6.96667	
Ciprofloxacin	3		21.16667
Sig.		.403	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ใบ

Duncan[a]

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
200 mg/ml	3	6.00000	
100 mg/ml	3	6.00000	
50 mg/ml	3	6.00000	
EtOH 95%	3	6.00000	
Ciprofloxacin	3		18.80000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
						95% Confidence Interval for Mean			
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
ราก	200 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	100 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	50 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Ciprofloxacin	3	26.93333	.503322	.290593	25.68301	28.18366	26.400	27.400
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	10.18667	8.669311	2.238406	5.38576	14.98757	6.000	27.400
ต้น	200 mg/ml	3	6.33333	.577350	.333333	4.89912	7.76755	6.000	7.000
	100 mg/ml	3	6.66667	1.154701	.666667	3.79823	9.53510	6.000	8.000
	50 mg/ml	3	6.60000	.529150	.305505	5.28552	7.91448	6.000	7.000
	Ciprofloxacin	3	28.43333	.321455	.185592	27.63479	29.23187	28.200	28.800
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	10.80667	9.141934	2.360437	5.74403	15.86930	6.000	28.800
ใบ	200 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	100 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	50 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Ciprofloxacin	3	27.93333	.404145	.233333	26.92938	28.93729	27.500	28.300
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	10.38667	9.082547	2.345104	5.35692	15.41641	6.000	28.300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ราก	Between Groups	1051.691	4	262.923	5189.263	.000
	Within Groups	.507	10	.051		
	Total	1052.197	14			
ต้น	Between Groups	1165.949	4	291.487	710.945	.000
	Within Groups	4.100	10	.410		
	Total	1170.049	14			
ใบ	Between Groups	1154.571	4	288.643	8836.000	.000
	Within Groups	.327	10	.033		
	Total	1154.897	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ราก			
Duncan[a]			
		Subset for alpha = 0.05	
VAR00001	N	1	2
200 mg/ml	3	6.00000	
100 mg/ml	3	6.00000	
50 mg/ml	3	6.00000	
EtOH 95%	3	6.00000	
Ciprofloxacin	3		26.93333
Sig.		1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้น

Duncan[a]

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
EtOH 95%	3	6.00000	
200 mg/ml	3	6.33333	
50 mg/ml	3	6.60000	
100 mg/ml	3	6.66667	
Ciprofloxacin	3		28.43333
Sig.		.262	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ใบ

Duncan[a]

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
200 mg/ml	3	6.00000	
100 mg/ml	3	6.00000	
50 mg/ml	3	6.00000	
EtOH 95%	3	6.00000	
Ciprofloxacin	3		27.93333
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
						95% Confidence Interval for Mean			
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
ราก	200 mg/ml	3	8.00000	1.833030	1.058301	3.44650	12.55350	6.000	9.600
	100 mg/ml	3	8.43333	.585947	.338296	6.97776	9.88891	8.000	9.100
	50 mg/ml	3	7.13333	1.709776	.987140	2.88601	11.38065	6.000	9.100
	Ciprofloxacin	3	15.80000	1.997498	1.153256	10.83794	20.76206	13.500	17.100
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	9.07333	3.791808	.979041	6.97350	11.17317	6.000	17.100
ต้น	200 mg/ml	3	9.43333	1.530795	.883805	5.63063	13.23604	7.700	10.600
	100 mg/ml	3	8.10000	1.900000	1.096966	3.38014	12.81986	6.000	9.700
	50 mg/ml	3	7.10000	1.905256	1.100000	2.36708	11.83292	6.000	9.300
	Ciprofloxacin	3	17.26667	.709460	.409607	15.50427	19.02906	16.500	17.900
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	9.58000	4.317440	1.114758	7.18908	11.97092	6.000	17.900
ใบ	200 mg/ml	3	9.80000	.754983	.435890	7.92452	11.67548	9.000	10.500
	100 mg/ml	3	8.60000	.964365	.556776	6.20438	10.99562	7.500	9.300
	50 mg/ml	3	9.50000	1.664332	.960902	5.36557	13.63443	8.300	11.400
	Ciprofloxacin	3	15.83333	.503322	.290593	14.58301	17.08366	15.300	16.300
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	9.94667	3.441733	.888652	8.04070	11.85263	6.000	16.300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ราก	Between Groups	180.056	4	45.014	21.200	.000
	Within Groups	21.233	10	2.123		
	Total	201.289	14			
ต้น	Between Groups	240.791	4	60.198	29.840	.000
	Within Groups	20.173	10	2.017		
	Total	260.964	14			
ใบ	Between Groups	156.791	4	39.198	43.328	.000
	Within Groups	9.047	10	.905		
	Total	165.837	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ราก			
Duncan[a]			
		Subset for alpha = 0.05	
VAR00001	N	1	2
EtOH 95%	3	6.00000	
50 mg/ml	3	7.13333	
200 mg/ml	3	8.00000	
100 mg/ml	3	8.43333	
Ciprofloxacin	3		15.80000
Sig.		.086	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้น

Duncan[a]

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
EtOH 95%	3	6.00000		
50 mg/ml	3	7.10000	7.10000	
100 mg/ml	3	8.10000	8.10000	
200 mg/ml	3		9.43333	
Ciprofloxacin	3			17.26667
Sig.		.114	.083	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ใบ

Duncan[a]

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
EtOH 95%	3	6.00000		
100 mg/ml	3		8.60000	
50 mg/ml	3		9.50000	
200 mg/ml	3		9.80000	
Ciprofloxacin	3			15.83333
Sig.		1.000	.171	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Y. enterocolitica* จากสารสกัดหยาบของผักตบชวา ที่ความเข้มข้นต่างๆ

Descriptives									
						95% Confidence Interval for Mean			
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
ราก	200 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	100 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	50 mg/ml	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Gentamicin	3	12.80000	3.119295	1.800926	5.05124	20.54876	9.500	15.700
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	7.36000	3.052353	.788114	5.66966	9.05034	6.000	15.700
ต้น	200 mg/ml	3	11.03333	2.565801	1.481366	4.65953	17.40714	8.200	13.200
	100 mg/ml	3	11.86667	.493288	.284800	10.64127	13.09206	11.300	12.200
	50 mg/ml	3	8.90000	1.228821	.709460	5.84744	11.95256	8.000	10.300
	Gentamicin	3	18.50000	3.935734	2.272297	8.72310	28.27690	14.000	21.300
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	11.26000	4.674215	1.206877	8.67151	13.84849	6.000	21.300
ใบ	200 mg/ml	3	9.43333	.901850	.520683	7.19301	11.67365	8.500	10.300
	100 mg/ml	3	10.30000	2.286919	1.320353	4.61898	15.98102	7.700	12.000
	50 mg/ml	3	8.60000	2.505993	1.446836	2.37477	14.82523	6.000	11.000
	Gentamicin	3	18.50000	3.935734	2.272297	8.72310	28.27690	14.000	21.300
	EtOH 95%	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
	Total	15	10.56667	4.800843	1.239572	7.90805	13.22529	6.000	21.300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ราก	Between Groups	110.976	4	27.744	14.257	.000
	Within Groups	19.460	10	1.946		
	Total	130.436	14			
ต้น	Between Groups	258.223	4	64.556	13.547	.000
	Within Groups	47.653	10	4.765		
	Total	305.876	14			
ใบ	Between Groups	267.047	4	66.762	12.002	.001
	Within Groups	55.627	10	5.563		
	Total	322.673	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ราก			
Duncan[a]			
		Subset for alpha = 0.05	
VAR00001	N	1	2
200 mg/ml	3	6.00000	
100 mg/ml	3	6.00000	
50 mg/ml	3	6.00000	
EtOH 95%	3	6.00000	
Gentamicin	3		12.80000
Sig.		1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้น

Duncan[a]

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
EtOH 95%	3	6.00000		
50 mg/ml	3	8.90000	8.90000	
200 mg/ml	3		11.03333	
100 mg/ml	3		11.86667	
Gentamicin	3			18.50000
Sig.		.135	.143	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ใบ

Duncan[a]

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
EtOH 95%	3	6.00000	
50 mg/ml	3	8.60000	
200 mg/ml	3	9.43333	
100 mg/ml	3	10.30000	
Gentamicin	3		18.50000
Sig.		.064	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากผักตบชวา

2.1 แสดงร้อยละของคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนราก ต้น และใบของผักตบชวา

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ราก	10 mg/ml	3	48.21429	.595238	.343661	46.73563	49.69294	47.619	48.810
	5 mg/ml	3	41.17063	.454621	.262475	40.04129	42.29998	40.774	41.667
	2.5 mg/ml	3	38.98810	2.645296	1.527262	32.41682	45.55937	36.905	41.964
	1.25 mg/ml	3	39.98016	.956711	.552358	37.60356	42.35676	39.286	41.071
	0.625 mg/ml	3	37.10317	1.202813	.694444	34.11522	40.09113	36.012	38.393
	Total	15	41.09127	4.112357	1.061806	38.81392	43.36862	36.012	48.810
ต้น	10 mg/ml	3	70.03968	.748992	.432430	68.17908	71.90028	69.345	70.833
	5 mg/ml	3	60.51587	1.045204	.603449	57.91944	63.11230	59.524	61.607
	2.5 mg/ml	3	50.29762	1.073081	.619543	47.63194	52.96330	49.405	51.488
	1.25 mg/ml	3	42.65873	1.202813	.694444	39.67078	45.64668	41.369	43.750
	0.625 mg/ml	3	37.79762	.595238	.343661	36.31897	39.27627	37.202	38.393
	Total	15	52.26190	12.182039	3.145389	45.51572	59.00809	37.202	70.833
ใบ	10 mg/ml	3	65.35354	.762610	.440293	63.45911	67.24796	64.545	66.061
	5 mg/ml	3	56.36364	1.892424	1.092591	51.66260	61.06468	54.242	57.879
	2.5 mg/ml	3	51.21212	.801743	.462886	49.22048	53.20376	50.606	52.121
	1.25 mg/ml	3	43.53535	1.366439	.788914	40.14093	46.92978	42.121	44.848
	0.625 mg/ml	3	38.48485	.606061	.349909	36.97931	39.99039	37.879	39.091
	Total	15	50.98990	9.840301	2.540755	45.54052	56.43928	37.879	66.061

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ราก	Between Groups	216.919	4	54.230	27.332	.000
	Within Groups	19.841	10	1.984		
	Total	236.761	14			
ต้น	Between Groups	2068.417	4	517.104	561.337	.000
	Within Groups	9.212	10	.921		
	Total	2077.629	14			
ใบ	Between Groups	1341.561	4	335.390	238.200	.000
	Within Groups	14.080	10	1.408		
	Total	1355.641	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ราก				
Duncan[a]				
		Subset for alpha = 0.05		
VAR00001	N	1	2	3
0.625 mg/ml	3	37.10317		
2.5 mg/ml	3	38.98810	38.98810	
1.25 mg/ml	3		39.98016	
5 mg/ml	3		41.17063	
10 mg/ml	3			48.21429
Sig.		.132	.100	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบ						
Duncan[a]						
		Subset for alpha = 0.05				
VAR00001	N	1	2	3	4	5
0.625 mg/ml	3	38.48485				
1.25 mg/ml	3		43.53535			
2.5 mg/ml	3			51.21212		
5 mg/ml	3				56.36364	
10 mg/ml	3					65.35354
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

3 การหาสารพฤกษเคมี

3.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากราก ต้น และใบของผักตบชวา

Descriptives								
Phenolic								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
ราก	3	.13834	.011311	.006530	.11024	.16644	.126	.147
ต้น	3	.15554	.042733	.024672	.04938	.26169	.128	.205
ใบ	3	.12286	.007064	.004078	.10531	.14040	.118	.131
Total	9	.13891	.026484	.008828	.11855	.15927	.118	.205

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA					
Phenolic					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.002	2	.001	1.200	.364
Within Groups	.004	6	.001		
Total	.006	8			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Phenolic		
Duncan[a]		
		Subset for alpha = 0.05
สารสกัดหยาบ	N	1
ใบ	3	.12286
ราก	3	.13834
ต้น	3	.15554
Sig.		.185
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 แสดงปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากราก ต้น และใบของผักตบชวา

Descriptives

Flavonoid

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ราก	3	108933.33333	5773.502692	3333.333333	94591.15757	123275.50910	105600.000	115600.000
ต้น	3	73600.00000	22000.000000	12701.705922	18948.97034	128251.02966	51600.000	95600.000
ใบ	3	208266.66667	28448.784391	16424.913326	137595.96851	278937.36483	175600.000	227600.000
Total	9	130266.66667	63150.613615	21050.204538	81724.80795	178808.52538	51600.000	227600.000

ANOVA

Flavonoid

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	29250666666.667	2	14625333333.333	33.072	.001
Within Groups	2653333333.333	6	442222222.222		
Total	31904000000.000	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Flavonoid			
Duncan[a]			
		Subset for alpha = 0.05	
สารสกัดหยาบ	N	1	2
ต้น	3	73600.00000	
ราก	3	108933.33333	
ใบ	3		208266.66667
Sig.		.085	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 แสดงปริมาณของสารแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากราก ต้น และใบของผักตบชวา

Descriptives								
Tannin								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ราก	3	63733.33333	3055.050463	1763.834207	56144.16727	71322.49940	60400.000	66400.000
ต้น	3	65066.66667	2309.401077	1333.333333	59329.79636	70803.53697	62400.000	66400.000
ใบ	3	73066.66667	4163.331999	2403.700850	62724.37664	83408.95669	68400.000	76400.000
Total	9	67288.88889	5206.833117	1735.611039	63286.56266	71291.21512	60400.000	76400.000

ANOVA					
Tannin					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	152888888.889	2	76444444.444	7.167	.026
Within Groups	64000000.000	6	10666666.667		
Total	216888888.889	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Tannin			
Duncan[a]			
สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ราก	3	63733.33333	
ต้น	3	65066.66667	
ใบ	3		73066.66667
Sig.		.635	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 แสดงปริมาณสารแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบจากราก ต้น และใบของผักตบชวา

Descriptives								
Antocyanin								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
ราก	3	15.73035	27.159410	15.680493	-51.73737	83.19806	-9.017	44.786
ต้น	3	4.00773	4.209013	2.430075	-6.44804	14.46350	1.503	8.867
ใบ	3	3.30638	5.020675	2.898688	-9.16567	15.77843	-1.202	8.717
Total	9	7.68149	15.220791	5.073597	-4.01825	19.38122	-9.017	44.786

ANOVA					
Antocyanin					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	292.267	2	146.133	.562	.598
Within Groups	1561.113	6	260.186		
Total	1853.380	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Antocyanin		
Duncan[a]		
สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ใบ	3	3.30638
ต้น	3	4.00773
ราก	3	15.73035
Sig.		.396
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้