ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบใบแก้ว (*Murraya paniculata* L.) ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์

EFFICIENCY OF *Murraya paniculata* L. LEAVES CRUDE EXTRACT AS ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES

กฤชนนท์ สิกขะโต

เกษศิรินทร์ สมเพ็ชร

ขนิษฐา พุ่มสถิตย์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFICIENCY OF *Murraya paniculata* L. LEAVES CRUDE EXTRACT AS ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES

KRITCHANON SIKKATO
GESSIRIN SOMPACH
KHANITTHA POOMSATIT

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบใบแก้ว (*Murraya paniculata* L.) ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ Efficiency of *Murraya paniculata* L. Leaves Crude Extract as Antioxidant and Antimicrobial Activities
ชื่อนักศึกษา	นายกฤชนนท์ สิกขะโต รหัสนักศึกษา 56050803 นางสาวเกษศิรินทร์ สมเพ็ชร รหัสนักศึกษา 56050804 นางสาวขนิษฐา พุ่มสถิตย์ รหัสนักศึกษา 56050806
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. วรกฤต วรนันทกิจ

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

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา ประธานกรรมการ	
ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการ	
ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบใบแก้ว (*Murraya paniculata* L.) ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์
ชื่อนักศึกษา	นายกฤชนนท์ สิกขะโต รหัสนักศึกษา 56050803
	นางสาวเกษศิรินทร์ สมเพ็ชร รหัสนักศึกษา 56050804
	นางสาวขนิษฐา พุ่มสถิตย์ รหัสนักศึกษา 56050806
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ

บทคัดย่อ

แก้วเป็นพืชสมุนไพรที่มีการใช้เป็นยารักษาโรค และนำมาใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในอาหาร ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากใบแก้ว โดยใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ เอทานอล 95%, 70%, 50% และน้ำ เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่า สารสกัดหยาบน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.23 mg/ml สารสกัดหยาบเอทานอล 95% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเทียบเท่ากับ 51.99±0.36 µgGAE/g extract และสารสกัดหยาบเอทานอล 95% มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุดเทียบเท่ากับ 68.01±2.16 mgQUE/g extract ตามลำดับ สำหรับการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งจุลินทรีย์ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ 99% (MBC) โดยสารสกัดหยาบเอทานอล 95% และ 70% มีค่า MIC ต่อเชื้อ *Candida albicans* ATCC 90028 และ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ต่ำสุดเท่ากันเท่ากับ 6.25 mg/ml และสารสกัดหยาบเอทานอล 70% และ 50% มีค่า MBC ต่อเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 และ *M. luteus* TISTR 2374 ต่ำสุดเท่ากันเท่ากับ 12.5 mg/ml นอกจากนี้การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง GC-MS ของสารสกัดหยาบที่ได้จากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด พบองค์ประกอบทางเคมีที่เหมือนกัน ได้แก่ Hexadecanamide, 9-Octadecenamide, 2-Methoxy-4-vinylphenol และ Quinic acid ผลการศึกษาที่ได้ครั้งนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านเภสัชกรรม และเกษตรกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำสำคัญ : แก้ว สารสกัดหยาบ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์

Title	Efficiency of *Murraya paniculata* L. Leaves Crude Extract as Antioxidant and Antimicrobial Activities		
Students	Mr. Kritchanon	Sikkato	Student ID 56050803
	Miss Gessirin	Sompach	Student ID 56050804
	Miss Khanittha	Poomsatit	Student ID 56050806
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2016		
Advisor	Asst.Prof.Dr.Worakrit Worananthakij		

Abstract

Murraya paniculata L. is a medicinal herb that is used as a medicine and a flavoring agent in foods. Therefore, the aim of the present study was to analyze the chemical composition and biological activities of *Murraya paniculata* L. leaves crude extract. For this, four different solvents of varying polarity viz. 95%, 70%, 50% ethanol and water were used. Four solvent extractions were study by monitoring the antioxidant activity, total phenolic content and total flavonoid content of the extracts. The highest antioxidant activity was achieved with aqueous extract (IC_{50} = 2.23 mg/ml). The highest content of phenolic and flavonoid is 95% ethanol (51.99±0.36 μgGAE/g extract and 68.01±2.16 mgQUE/g extract, respectively). The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of all extract were evaluated. *Candida albicans* ATCC 90028 and *Micrococcus luteus* TISTR 2374 were the most sensitive organism at 95%, 70% ethanol and MIC value was 6.25 mg/ml. *Bacillus subtilis* ATCC 6633 and *M. luteus* TISTR 2374 were the lowest concentration that can completely kill the microorganism at 70%, 50% ethanol and MBC value was 12.5 mg/ml. Moreover, the chemical composition of four different solvent crude extracts was analyzed by GC-MS. Hexadecanamide, 9 - Octadecenamide, 2 - Methoxy-4 - vinylphenol and Quinic acid were found in all crude extract. These results can be applied for pharmaceutical and agricultural.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Keywords: *Murraya paniculata* L., Crude extract, Antioxidant, Antimicrobial

กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงงานพิเศษในหัวข้อเรื่อง ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบใบแก้ว (*Murraya paniculata* L.) ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ โครงงานพิเศษนี้จะสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีไม่ได้หากไม่ได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลต่อไปนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรกฤต วรนันทกิจ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษเล่มนี้ที่ให้ความรู้และคำแนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ตรวจสอบแก้ไขปรับปรุงข้อบกพร่องต่างๆ ให้มีความเรียบร้อยและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้นด้วยความเอาใจใส่อย่างดีเสมอมา ตลอดจนให้กำลังใจมาโดยตลอดระยะเวลาในการทำโครงงานพิเศษ นอกจากนี้ผู้จัดทำโครงงานพิเศษต้องขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา ประธานกรรมการสอบ และดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการสอบ ที่ให้ความกรุณาในการให้คำแนะนำ แก้ไขปรับปรุงข้อบกพร่องของโครงงานพิเศษเล่มนี้ให้ถูกต้อง และมีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ประสิทธิ์ประสาทวิชา ความรู้ และประสบการณ์ให้กับคณะผู้จัดทำโครงงานพิเศษตลอดหลักสูตรการศึกษา

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์ ช่วยเหลือ แนะนำ ในการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในโครงงานพิเศษ และขอขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัวสิกขะโต ครอบครัวสมเพ็ชร และครอบครัวพุ่มสถิตย์ เป็นอย่างสูงที่มีส่วนช่วยเป็นกำลังใจ และสนับสนุนให้การทำโครงงานพิเศษนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์ของรายงานฉบับนี้ คณะผู้จัดทำขอมอบเป็นกตัญญูกตเวทิตาแด่บุพการี บูรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้คณะผู้จัดทำเป็นผู้มีการศึกษาและประสบความสำเร็จมาจนตราบเท่าทุกวันนี้

กฤชนนท์ สิกขะโต
เกษศิรินทร์ สมเพ็ชร
ขนิษฐา พุ่มสถิตย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข

กิตติกรรมประกาศ ..... ค

สารบัญ ..... ง

สารบัญตาราง ..... ช

สารบัญรูป ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2

1.3 ขอบเขตงานวิจัย 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 แก้ว (*Murraya paniculata* L.) 3

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ 3

2.1.2 การขยายพันธุ์และปลูกเลี้ยง 4

2.1.3 การใช้ประโยชน์ 4

2.2 สารสกัดหยาบ 4

2.2.1 วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร 4

2.2.2 คุณสมบัติของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร 5

2.3 สารสำคัญในพืชสมุนไพร 6

2.3.1 คูมาริน (Coumarin) 6

2.3.2 เอไมด์ (Amides) 7

2.3.3 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) 7

2.3.4 เทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) 8

2.3.5 อัลคาลอยด์ (Alkaloids) 8

2.3.6 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) 9

2.3.7 แทนนิน (Tannin) 10

2.4 อนุมูลอิสระ 10

2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ 11

2.6 จุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไป 12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6.1 *Bacillus subtilis* 12
2.6.2 *Candida albicans* 13
2.6.3 *Escherichia coli* 13
2.6.4 *Micrococcus luteus* 13
2.6.5 *Pseudomonas aeruginosa* 14
2.6.6 *Staphylococcus aureus* 14
2.7 จุลินทรีย์ก่อโรคในปลานิล 14
2.7.1 *Aeromonas hydrophila* 14
2.7.2 *Pseudomonas* sp. 15
2.7.3 *Streptococcus* sp. 15
2.7.4 *Streptococcus agalactiae* 15
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 16
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 20
3.1 พืชที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย 20
3.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ 20
3.2.1 เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไป 20
3.2.2 เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในปลานิล 20
3.3 อุปกรณ์ 20
3.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบ 20
3.3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 21
3.3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ 21
3.4 สารเคมี 21
3.4.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบ 21
3.4.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 22
3.4.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ 22
3.5 วิธีดำเนินงานวิจัย 22
3.5.1 การเตรียมตัวอย่างพืชและการสกัดสารสกัดหยาบจากพืช 22
3.5.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ 23
3.5.3 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion 24
3.5.4 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งจุลินทรีย์ 25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.5.5 การหาค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ 99%.....25

3.5.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบ.....26

3.5.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ.....26

บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....27

4.1 ปริมาณผลได้ของสารสกัดหยาบใบแก้ว.....27

4.2 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH.....27

4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด.....28

4.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด.....30

4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion.....31

4.5.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว.....34

4.5.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* ATCC 90028 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว.....35

4.5.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว.....36

4.5.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว.....37

4.5.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว.....38

4.5.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว.....39

4.5.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ของสารสกัดหยาบใบแก้ว.....40

4.5.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้ว.....41

4.5.9 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Streptococcus* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้ว.....42

4.5.10 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ของสารสกัดหยาบใบแก้ว.....43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.5.11 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์โดยใช้ยาปฏิชีวนะ Streptromycin sulfate 44

4.6 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง Gas chromatography-Mass spectrometry (GC-MS) 47

4.6.1 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเอทานอล 95% 51

4.6.2 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเอทานอล 70% 51

4.6.3 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเอทานอล 50% 52

4.6.4 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบน้ำ 53

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 55

5.1 สรุปผลการวิจัย 55

5.2 ข้อเสนอแนะ 56

เอกสารอ้างอิง 57

ภาคผนวก 63

ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ 64

ภาคผนวก ข การเตรียมสารละลายเคมีที่ใช้ทดสอบ 65

ภาคผนวก ค ภาพสถานที่เก็บตัวอย่างพืช 67

ภาคผนวก ง ข้อมูลผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 68

ภาคผนวก จ การคำนวณและตารางการวิเคราะห์ทางสถิติ 74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ผลได้ของการสกัดสารสกัดหยาบใบแก้ว 27

4.2 ค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูล DPPH ของสารสกัดหยาบ
เอทานอล 95%, 70%, 50% และน้ำ 28

4.3 ค่าการยับยั้งอนุมูล DPPH ที่ 50% (IC_{50}) ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 28

4.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบแก้ว 29

4.5 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบแก้ว 30

4.6 บริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบใบแก้ว 31

4.7 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์
(Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 45

4.8 ค่าความเข้มข้นที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ 99%
(Minimum Bactericidal Concentration, MBC) 46

4.9 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง Gas chromatography-Mass
spectrometry (GC-MS) 47

ง.1 ค่าร้อยละการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดหยาบใบแก้ว
ที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอล 95 % 68

ง.2 ค่าร้อยละการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดหยาบใบแก้ว
ที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอล 70 % 68

ง.3 ค่าร้อยละการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดหยาบใบแก้ว
ที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอล 50 % 69

ง.4 ค่าร้อยละการกำจัดอนุมูล DPPH ของสารสกัดหยาบใบแก้ว
ที่ใช้ตัวทำละลายน้ำ 69

ง.5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบใบแก้ว
ที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 70

ง.6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิก 70

ง.7 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร
ของสารสกัดหยาบใบแก้ว ที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 72

ง.8 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานเควอซิติน 73

จ.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละการยับยั้งอนุมูล DPPH 74

จ.2 การจัดกลุ่มของข้อมูลร้อยละการยับยั้งอนุมูล DPPH ของสารสกัดหยาบ
ในแต่ละความเข้มข้น 75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

จ.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 77
จ.4 การจัดกลุ่มของข้อมูลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 77
จ.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 78
จ.6 การจัดกลุ่มของข้อมูลปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 78
จ.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 79
จ.8 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น 80
จ.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Candida albicans* ATCC 90028 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 81
จ.10 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Candida albicans* ATCC 90028 ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น 82
จ.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Escherichia coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 84
จ.12 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Escherichia coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น 85
จ.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 86
จ.14 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น 87
จ.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 89
จ.16 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น 90
จ.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 91
จ.18 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น 92
จ.19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

จ.20 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น 94
จ.21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 96
จ.22 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น 97
จ.23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Steptococcus* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 98
จ.24 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Steptococcus* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น 99
จ.25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Steptococcus agalactiae* ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 101
จ.26 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Steptococcus agalactiae* ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น 102

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของแก้ว 3
2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดแบบต่างๆ 5
2.3 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มคูมาริน (Coumarin) 7
2.4 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มเอไมด์ (Amide) 7
2.5 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) 8
2.6 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มเทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) 8
2.7 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มอัลคาลอยด์ (Alkaloide) 9
2.8 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) 9
2.9 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มแทนนิน (Tannin) 10
4.1 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 34
4.2 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* ATCC 90028 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 35
4.3 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 36
4.4 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 37
4.5 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 38
4.6 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 39
4.7 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 40
4.8 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 41
4.9 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Streptococcus* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 42
4.10 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ของสารสกัดหยาบใบแก้ว 43
4.11 บริเวณยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทดสอบโดยยาปฏิชีวนะ Streptromycin sulfate 44
4.12 โครมาโตแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเอทานอล 95% 51
4.13 โครมาโตแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเอทานอล 70% 52
4.14 โครมาโตแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเอทานอล 50% 52
4.15 โครมาโตแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบน้ำ 53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

ง.1 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน
กรดแกลลิกและค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร..... 71
ง.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละในการต้านอนุมูลอิสระ
กับความเข้มของกรดแอสคอบิกที่ความเข้มข้นต่างๆ..... 71
ง.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละในการต้านอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของ
สารสกัดหยาบจากตัวทำละลาย 4 ชนิด 72
ง.4 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน
เควอซิตินและค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร..... 73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สภาพเศรษฐกิจที่เปลี่ยนแปลงไปในปัจจุบันอันเนื่องมาจากระบบทุนนิยมที่ให้ความสำคัญกับการพัฒนาทางด้านวัตถุมากกว่าการใส่ใจคุณภาพชีวิตของผู้บริโภคและการดำเนินธุรกิจโดยขาดความรับผิดชอบ อีกทั้งที่อยู่อาศัยของประชากรไม่เหมาะสมและไม่เอื้อต่อการสร้างสุขภาพที่ดี นอกจากนี้พฤติกรรมการบริโภครสหวาน มัน เค็มมากเกินไป บริโภคผักผลไม้น้อย และขาดการออกกำลังกายอย่างเพียงพอ รวมทั้งการบริโภคเนื้อสัตว์ เช่น ปลา ที่มีการใช้ยาปฏิชีวนะเกินขนาดและการไม่มีระยะหยุดยา ทำให้เกิดการสะสมสารปฏิชีวนะเหล่านี้ในตัวผู้บริโภคที่รับประทาน (ทัศนีย์ และจิตรา, 2559) ปัจจัยเหล่านี้ส่งผลกระทบต่อสุขภาพทำให้สถิติการเกิดโรคเพิ่มมากขึ้น (คณะอนุกรรมการสถิติสาขาสุขภาพ และคณะทำงานสถิติสาขาสุขภาพ, 2558) ทำให้มีการใช้ยาและสารเคมีสังเคราะห์ในการรักษาโรคมากขึ้น ซึ่งเป็นอันตรายต่อร่างกายของมนุษย์ ดังนั้นจึงมีการนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชสมุนไพรมาประยุกต์ใช้ในการป้องกันและรักษาโรคแทนการใช้ยาและสารเคมีสังเคราะห์เพื่อให้เกิดผลข้างเคียงที่เป็นอันตรายลดลงทั้งในมนุษย์ และในสัตว์ (Gautam และคณะ, 2012b)

พืชสมุนไพรเป็นแหล่งสารพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญมากมาย เช่น เทอร์พีนอยด์ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งจุลินทรีย์ (พิชญดา, 2552) สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ต้านอักเสบ ยับยั้งจุลินทรีย์ และเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย และคูมาริน มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ต้านมะเร็ง ลดการแข็งตัวของเลือด (พิชิต, 2558) ด้วยความหลากหลายทางพฤกษเคมีของพืชสมุนไพรจึงจำเป็นต้องมีการคัดเลือกพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเหมาะสม

ต้นแก้ว (*Murraya paniculata* L.) หรือ Andaman saitinwood, Chinese box tree หรือ Orange jessamine เป็นไม้พุ่มที่มีขนาดกลางสูงประมาณ 8-12 ฟุต ออกดอกสีขาวมีกลิ่นหอมตลอดปีและใบมีรูปร่างคล้ายไข่ (Ng และคณะ, 2012) นิยมปลูกประดับทั่วไปในงานภูมิทัศน์เมืองและสวนในบ้าน สามารถจัดเข้ากับสวนสไตล์ต่างๆได้ดีด้วยใบเป็นสีเขียวเข้ม การปลูกเลี้ยงได้ทั้งในที่แจ้งในร่มและริมทะเล (ธีรนาฏ และคณะ, 2557) พบได้ทั่วไปในเขตร้อนชื้นของคาบสมุทรอินโดจีนในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และแอฟริกาตะวันออก รวมถึงในประเทศไทย นอกจากการปลูกเพื่อประดับตกแต่งแล้วยังมีการนำใบของต้นแก้วมาใช้เป็นยาตั้งแต่อดีต เช่น ในทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้นำสารละลายจากเปลือกมาเป็นส่วนผสมในการทำยาแก้พิษงู นอกจากนั้นใบและรากยังมีการนำมาใช้เป็นยาพื้นบ้านเพื่อรักษาอาการปวดท้อง ปวดฟัน แก้ไอ ท้องเสีย โรคเก๊าต์ โรคบิด โรคไขข้ออักเสบและโรคฮิสทีเรีย เป็นต้น (Zhu และคณะ, 2015) ในการศึกษาด้านพฤกษเคมีในใบแก้ว ประกอบด้วย ฟลาโวนอยด์ ซินนาเมต คูมาริน อัลคาลอยด์ และน้ำมันหอมระเหย (Menezes และคณะ, 2015) ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารพฤกษเคมีเหล่านี้เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญที่ได้รับความสนใจจากนักวิจัยทั่วโลก ดังนั้น การทำโครงงานพิเศษครั้งนี้จึงทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบแก้วที่ใช้เอทานอล 95%, 70%, 50% และน้ำเป็นตัวทำละลาย เพื่อเป็นแนวทางในการนำสารสกัดหยาบใบแก้วมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในด้านการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบใบแก้ว
2) เพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบแก้ว
3) เพื่อตรวจสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไป และก่อโรคในปลานิล

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ทำการเก็บตัวอย่างใบแก้วจากต้นแก้วที่ปลูกบริเวณโดยรอบสระว่ายน้ำสมเด็จพระเทพฯ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร และทำการสกัดสารสกัดหยาบใบแก้ว (*Murraya paniculata* L.) โดยใช้เอทานอล 95%, 70%, 50% และน้ำเป็นตัวทำละลาย เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดหยาบใบแก้วด้วยเครื่อง Gas Chromatography-Mass Spectrometry ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไป ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 90028, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* TISTR 2374, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในปลานิล ได้แก่ *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas* sp., *Streptococcus* sp. และ *Streptococcus agalactiae*

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ทราบถึงองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดหยาบใบแก้ว และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไป และจุลินทรีย์ก่อโรคในปลานิล

2) ทราบถึงชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของใบแก้ว

3) สามารถนำผลที่ได้จากงานวิจัยนี้ไปประยุกต์เพื่อใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่มีความปลอดภัย และผลข้างเคียงน้อยกว่าการใช้สารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แก้ว (*Murraya paniculata* L.)

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

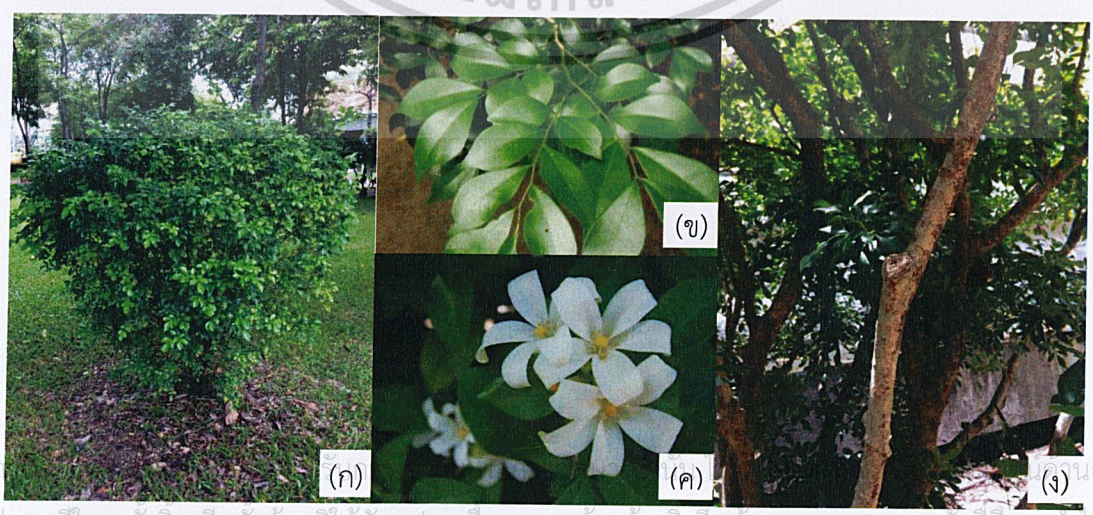
ชื่อวิทยาศาสตร์: *Murraya paniculata* L.

ชื่อวงศ์: Rutaceae

ชื่อสามัญ: Andaman Satinwood, Chinese Box, Cosmetic Bark Tree, Orange Jessamine, Orange Jasmine, Satin-wood

ชื่อพื้นเมือง: แก้วขาว (ภาคกลาง), แก้วพริก (ภาคเหนือ), แก้วลาย (จังหวัดสระบุรี), แก้วขี้ไก่ (จังหวัดยะลา), ตะไหลแก้ว (ภาคเหนือ) และจ๊าพริก (จังหวัดลำปาง)

แก้ว เป็นไม้พุ่มยืนต้น มีถิ่นกำเนิดในประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลี อินเดีย ศรีลังกา พม่า มาเลเซีย และภูมิภาคอินโดจีน สามารถพบได้ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย ขึ้นอยู่ตามป่าดิบแล้ง เขาหินปูน และบนที่ราบระดับต่ำไปจนถึงพื้นที่สูง 600 เมตรจากระดับน้ำทะเล (จิรายุพิณ และคณะ, 2543) ต้นสูงประมาณ 20 ฟุต เปลือกต้นสีขาวเทาแตกเป็นร่องตามยาว ใบยาวประมาณ 1 นิ้ว ออกรวมกันเป็นแผง แผงละ 5-9 ใบ เรียงสลับกันจากเล็กไปหาใหญ่ สีเขียวเข้มเป็นมัน หนา และแข็ง เมื่อขยี้ใบแล้วดมพบว่ากลิ่นคล้ายผิวส้ม มีช่อดอกสั้น สีขาว กลิ่นหอม ออกเป็นช่อใหญ่ตามปลายกิ่งหรือปลายยอด ช่อหนึ่งมีดอกประมาณ 10-15 ดอก แต่ละดอกมี 5 กลีบ ดอกบานเต็มที่มีขนาดกว้างประมาณ 1 นิ้ว ปลายกลีบมนและเรียวยาว (รูปที่ 2.1) ออกดอกพราวทั้งต้นโดยออกประมาณปีละ 5-6 ครั้ง (วรรณา, 2546)



เอกสาร... ...ของการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของแก้ว: (ก) ต้นแก้ว, (ข) ใบ, (ค) ดอก และ (ง) ลำต้น

2.1.2 การขยายพันธุ์และปลูกเลี้ยง: เพาะเมล็ด ปักชำ ตอนกิ่ง ปลูกลงแปลงในที่ร่มหรือกลางแจ้ง (ปิยะ และคณะ, 2546)

2.1.3 การใช้ประโยชน์: ปลูกเป็นไม้ดอกไม้ประดับโชว์ทรงพุ่ม นิยมปลูกตามริมรั้วตัดแต่งเป็นทรงรูปสัตว์ หรือปลูกเป็นแปลงแล้วตัดให้แตกกิ่งแน่นทึบเพื่อใช้คลุมพื้นดิน (ปิยะ และคณะ, 2546)

2.2 สารสกัดหยาบ

สารสกัดหยาบ (Crude extract) หมายถึง การแยกสารบางชนิดออกจากสารผสมโดยใช้ตัวทำละลายสกัดออกมา โดยทั่วไปมักเป็นสารสกัดเบื้องต้นจากพืชที่ยังไม่ถึงขั้นสารบริสุทธิ์ กรรมวิธีการสกัดไม่ยุ่งยากซับซ้อน โดยการนำพืชที่ต้องการสกัดแช่ไว้ในตัวทำละลายแล้วนำไปกรอง จากนั้นนำสารละลายที่สกัดได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออก ซึ่งการสกัดสารจากพืชสามารถทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่ต้องการสกัด คุณสมบัติของสารในการทนต่อความร้อน และชนิดของตัวทำละลายที่จะใช้ (จารุวรรณ, 2559)

2.2.1 วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร

การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรต้องคำนึงถึงสารสำคัญในพืช โดยโครงสร้างของเนื้อเยื่อพืชที่มีลักษณะอ่อนนุ่ม เช่น ดอก ใบ นิยมสกัดด้วยวิธีการหมัก หากเป็นพืชที่มีเนื้อเยื่อที่แข็งแรงและเหนียว เช่น เปลือก ราก นิยมใช้วิธีการการสกัดแบบต่อเนื่อง เป็นต้น นอกจากนี้ต้องพิจารณาความคงตัวของสารสำคัญในพืชสมุนไพรต่อความร้อนด้วย หากเป็นสารที่ไม่ทนต่อความร้อนควรใช้วิธีการหมักหรือวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง (อุดมเดชา, 2556) วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชสามารถทำได้ดังนี้

2.2.1.1 วิธีการหมัก

วิธีการหมัก (maceration) เป็นวิธีสกัดสารสำคัญจากพืชโดยการหมักพืชกับตัวทำละลายจนเนื้อเยื่อของพืชอ่อนนุ่มโดยตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบในพืชออกมาได้ซึ่งการหมักพืชกับตัวทำละลายต้องหมักในภาชนะที่มีฝาปิดสนิท วิธีนี้มีข้อดี คือ สารไม่ถูกทำลายจากความร้อน แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก (เรณู, 2559)

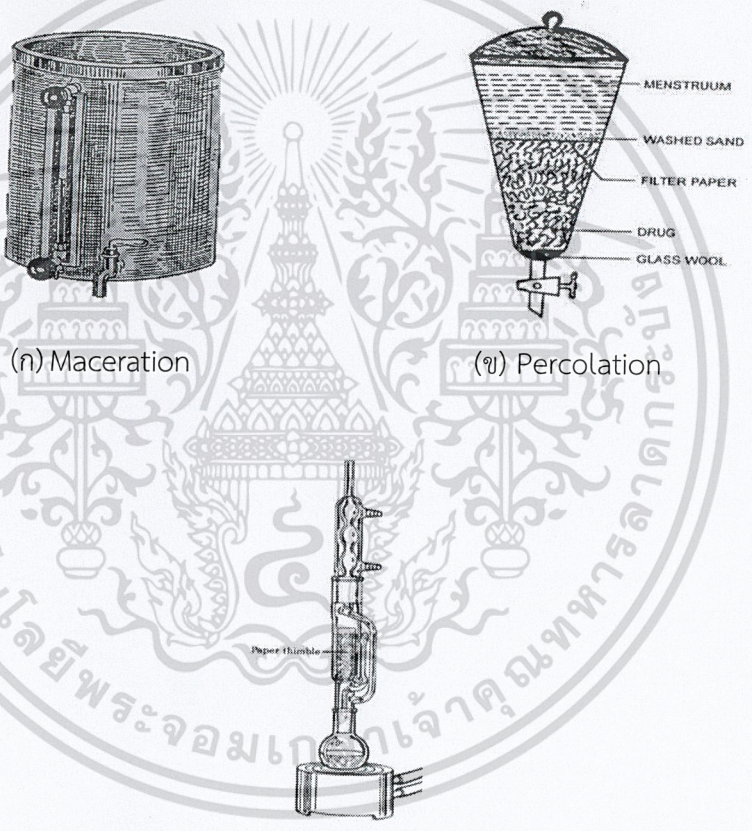
2.2.1.2 วิธีการหมักแบบต่อเนื่อง

วิธีการหมักแบบต่อเนื่อง (percolation) เป็นวิธีสกัดสารสำคัญจากพืชโดยใช้เครื่องเพอร์โคเลเตอร์ (percolator) เป็นการปล่อยให้ตัวทำละลายไหลผ่านผงสมุนไพรอย่างช้าๆ พร้อมกับการละลายสารสำคัญออกมา ซึ่งเป็นวิธีการสกัดที่ดีสำหรับการสกัดสารจากพืชสมุนไพรแบบสมบูรณ์โดยไม่ต้องใช้ความร้อน แต่วิธีนี้มีข้อเสีย คือ สิ้นเปลืองตัวทำละลายและใช้เวลาในการสกัดนาน ดังนั้นจึงมีการดัดแปลงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารโดยใช้เพอร์โคเลเตอร์ต่อกันหลายตัวและให้มีการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายเข้าหากัน (อุดมเดชา, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.3 วิธีการสกัดด้วยซอกเลตเอกซ์แทรกเตอร์

วิธีการสกัดด้วยซอกเลตเอกซ์แทรกเตอร์ (soxhlet extractor) เป็นวิธีที่ใช้ได้ดีกับพืชสมุนไพรที่เป็นผงละเอียด โดยต้มให้เดือดแล้วไอของสารละลายจะไปหมุนเวียนไหลผ่านพืชสมุนไพรและพาตัวสารออกมาพร้อมกับตัวทำละลาย จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปเข้ากระบวนการกลั่นแบบ reflux เพื่อแยกตัวทำละลายที่ผสมอยู่ออกให้หมดด้วยเครื่อง rotary evaporator ข้อดีของวิธีการนี้คือประหยัดตัวทำละลายและใช้เวลาน้อย (วารีรัตน์, 2557) แต่มีข้อเสียคือ ไม่เหมาะที่จะใช้กับองค์ประกอบที่ไม่ทนต่อความร้อน และตัวทำละลายที่ใช้ไม่ควรเป็นของผสม เพราะจะเกิดการแยกตัวทำละลายแต่ละชนิดเนื่องจากมีจุดเดือดต่างกัน จะทำให้ได้ผลการสกัดที่ไม่ดี (อุดมเดชา, 2556)



(ก) Maceration (ข) Percolation

(ค) Soxhlet Extraction

รูปที่ 2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดแบบต่างๆ

ที่มา: (ก) เรณู, 2559 (ข) อุดมเดชา, 2556 (ค) http://www.chemistry.sc.chula.course.pdf (สืบค้นวันที่ 7 มิถุนายน 2560)

2.2.2 คุณสมบัติของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร

ตัวทำละลายที่เหมาะสมควรเป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดีพอไม่ระเหยง่ายหรือยากจนเกินไป ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด ราคาไม่แพงมาก โดยในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลือกใช้ตัวทำละลายอาศัยหลักเกณฑ์ คือ สารละลายและตัวทำละลายมีคุณสมบัติความมีขั้วคล้ายคลึงกัน ละลายสารที่ต้องการออกมาได้มากที่สุดโดยทำให้สารที่ไม่ต้องการออกมาได้น้อย ตัวทำละลายที่นิยมใช้ ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเทอร์ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ แอลกอฮอล์ และน้ำ (กันย์ชลา , 2556)

2.2.2.1 ปิโตรเลียมอีเทอร์ เป็นตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำสุด นิยมใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดส่วนประกอบที่เป็นไขมันในอาหาร เพราะสารสกัดที่ได้จะเป็นลิปิดอิสระ (free lipid) มากกว่าการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ เนื่องจากการสกัดด้วยแอลกอฮอล์จะได้สารสกัดที่มีส่วนประกอบอื่นที่ติดอยู่กับไขมันปนอยู่ด้วย

2.2.2.2 เฮกเซน เหมาะสำหรับกลุ่มสารที่ไม่มีขั้ว มักใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับกำจัดไขมันจากสมุนไพร ข้อดีคือ ราคาถูก

2.2.2.3 คลอโรฟอร์ม เป็นตัวทำละลายที่ดี แต่ละลายสารที่ต้องการออกมาได้น้อย เกิดอิมัลชั่น (Emulsion) ง่าย ถ้าใช้สกัดสารที่เป็นด่างแก่ อาจทำให้เกิดปฏิกิริยาดีคอมโพส (Decompose) ทำให้ได้กรดเกลือ

2.2.2.4 อีเทอร์ มีคุณสมบัติในการละลายน้อยกว่าคลอโรฟอร์ม แต่ละลายสารที่ต้องการออกมาได้ดีกว่าคลอโรฟอร์ม ข้อเสียคือระเหยและเกิดออกซิไดซ์ได้ง่าย

2.2.2.5 แอลกอฮอล์ ที่นิยมใช้มากคือ เมทานอลและเอทานอล เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่ดี อีกทั้งยังใช้เป็นตัวทำละลายเอนไซม์ในพืชได้อีกด้วย

2.2.2.6 น้ำ เป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสูงสุด นิยมใช้สกัดสารที่มีกลิ่น และสารกลุ่ม แทนนิน ซาโปนิน เป็นต้น ข้อดีของการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายคือ สารที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วต่ำจะไม่ละลายออกมา

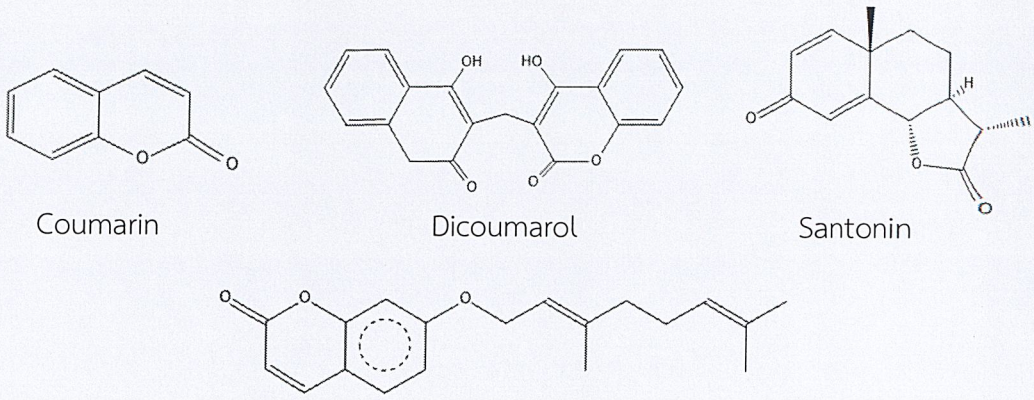
2.3 สารสำคัญในพืชสมุนไพร

สารสำคัญในพืชสมุนไพร สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ สารปฐมภูมิ (Primary metabolite) และสารทุติยภูมิ (Secondary metabolite) โดยสารปฐมภูมิเป็นสารเคมีพื้นฐานที่พบในพืชชั้นสูงทั่วไป พบได้ในพืชเกือบทุกชนิด เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับเมทาบอลิซึมที่จำเป็นของเซลล์ ส่วนใหญ่เป็นสารที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช และกระบวนการชีวสังเคราะห์กรดอะมิโนบางชนิด ส่วนสารทุติยภูมิเป็นสารประกอบที่เกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ในพืชเป็นสารประกอบที่พบแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิดและแต่ละฤดู สารเหล่านี้จะแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างชัดเจน (พิชญดา, 2552) สารทุติยภูมิมีหลายชนิด เช่น

2.3.1 คูมาริน (Coumarin)

สารประเภทคูมารินเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพดีในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านมะเร็ง ลดการแข็งตัวของเลือดหรือฤทธิ์ในการขยายหลอดเลือด (พิชิต, 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



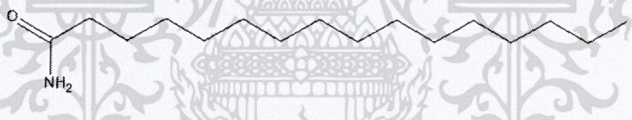
Coumarin Dicoumarol Santonin

7-geranyloxycoumarin

รูปที่ 2.3 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มคูมาริน

2.3.2 เอไมด์ (Amides)

สารประกอบเอไมด์มักพบในส่วนของผล เปลือกผล ลำต้น และส่วนราก เป็นสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และลดภาวะน้ำตาลในเลือด เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างทางเคมีจะพบเอไมด์จำพวก olefinic alkmide ซึ่งเกิดจากการรวมตัวกันของกรดไขมันกับสารประกอบไอโซบิวทิลเอมีน (พิชิต, 2558)



Hexadecanamide

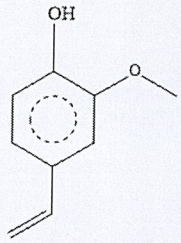
9-Octadecenamide

รูปที่ 2.4 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มเอไมด์

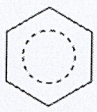
2.3.3 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound)

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป พบได้มากในผักสีเขียว ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น มีคุณสมบัติเป็นสารอินทรีย์ที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติกที่มีจำนวน Hydroxyl group อย่างน้อยหนึ่งโมเลกุล สามารถละลายได้ในน้ำ โดยสารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (ศรัณยา, 2550)

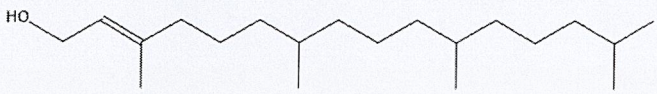
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



2-Methoxy-4-vinylphenol



Phenol

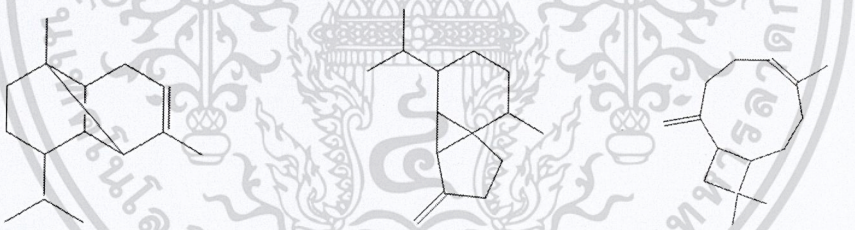


Phytol

รูปที่ 2.5 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก

2.3.4 เทอร์พีนอยด์ (Terpenoids)

เทอร์พีนอยด์เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ประกอบด้วยหน่วยไอโซพรีน (isoprene unit) หรือเรียกว่า ไอโซพรีนอยด์ (isoprenoids) โดยมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งจุลินทรีย์ ซึ่งสารกลุ่มนี้พบกระจายอยู่ทั่วไปในสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะพืชชั้นสูง นอกจากนี้ยังพบในเชื้อรา แมลง จุลินทรีย์ และสิ่งมีชีวิตในทะเล (พิชญดา, 2552)



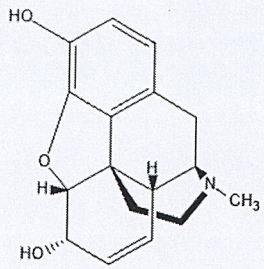
α-Copaene β-Cubebene β-Caryophyllene

รูปที่ 2.6 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มเทอร์พีนอยด์

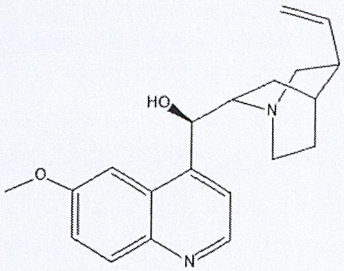
2.3.5 อัลคาลอยด์ (Alkaloids)

อัลคาลอยด์เป็นกลุ่มสารอินทรีย์ที่พบมากในพืชชั้นสูง มีประโยชน์ในการรักษาโรคต่างๆ เช่น ใช้เป็นยาระงับปวด ยาชาเฉพาะที่ ยาแก้ไอ แก้หอบหืด ยารักษาแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้ ยาลดความดัน ตลอดจนยาที่ควบคุมการเต้นของหัวใจ (พอตา, 2559)

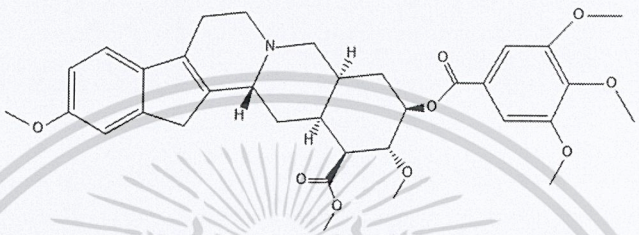
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Morphine



Quinine

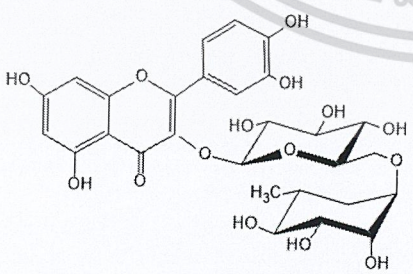


Reserpine

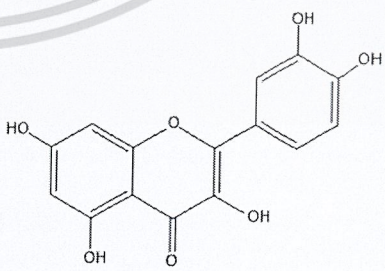
รูปที่ 2.7 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มอัลคาลอยด์

2.3.6 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบโพลีฟีนอล (Polyphenolic compound) จำพวกฟีนิลโครเมนและอนุพันธ์ พบมากในธรรมชาติ โดยมักพบเป็นเม็ดสีในส่วนต่างๆของพืช เป็นสารประกอบที่ให้สีสันของดอกไม้ ผลไม้ และใบไม้หลายเฉดสี นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันอันตรายจากรังสีอัลตราไวโอเลต (UV) จากดวงอาทิตย์ด้วย เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพใช้รักษาโรคเส้นเลือดฝอยเปราะ ต้านการอักเสบและต้านไวรัสโดยออกฤทธิ์เป็นทั้ง Anti-infactive และ Antireplicative ของไวรัสหลายชนิด นอกจากนี้ฟลาโวนอยด์บางชนิดยังมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย (วาทินี, 2559)



Rutin



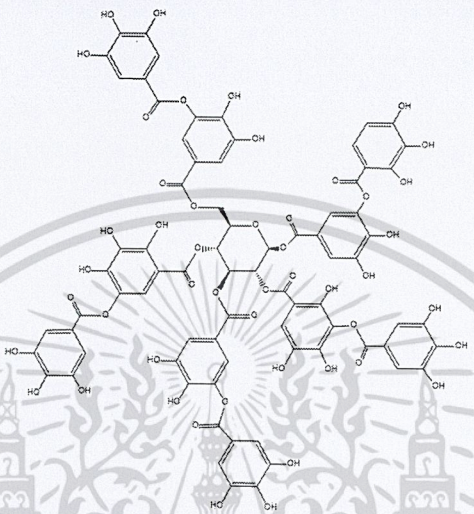
Quercetin

รูปที่ 2.8 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.7 แทนนิน (Tannin)

แทนนินเป็นสารที่พบในพืชทั่วไป มีรสฝาด มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน และสามารถตกตะกอนโปรตีนได้มีฤทธิ์ฝาดสมาน และฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย พบในใบฝรั่ง เนื้อของกล้วยน้ำว้าดิบ นอกจากนี้มีสารอินทรีย์ที่พบในพืชทั่วไป เช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน กรดอินทรีย์ สเตอรอยด์ สารเรซิน สารกัมวิตามิน แต่บางอย่างก็มีฤทธิ์ทางยา เช่น เป็นยาระบาย เป็นต้น (อชิรวิทย์, 2558)



Tannin

รูปที่ 2.9 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มแทนนิน

2.4 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radical) คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่มีคู่หรืออิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electron) อยู่ในวงนอกสุดทำให้ไม่เสถียรและไวต่อการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นที่อยู่รอบๆ เช่น การแย่งจับหรือการเพิ่มอิเล็กตรอนหนึ่งตัวให้กับสารอื่น ทำให้สารนั้นสูญเสียหรือได้รับอิเล็กตรอนและเกิดเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ที่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นได้ ปฏิกิริยาที่เกิดจึงเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) โดยอนุมูลอิสระมีทั้งชนิดที่เป็นกลางทางไฟฟ้า (neutral radical) และชนิดที่มีประจุไฟฟ้าโดยมีประจุเป็นบวก (radical cation,$R^{\bullet+}$) และลบ (radical anion, $R^{\bullet-}$) เช่น อนุมูลเพอร์ออกซี (peroxy radical, $ROO^{\bullet}$) อนุมูลไฮดรอกซี (hydroxy radical,$^{\bullet}OH$) อนุมูลแอลคอกซี (alkoxy radical,$RO^{\bullet}$) อนุมูลซุเพอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion radical,$O_2^{-\bullet}$) และอนุมูลไพริไดนิล (pyridinyl radical,$NAD^{\bullet+}$) เป็นต้น ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้เกิดได้จากปัจจัยทั้งภายในและภายนอกร่างกาย โดยปัจจัยภายในร่างกาย เช่น เมตาบอลิซึมภายในเซลล์ ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดจากกระบวนการหายใจระดับเซลล์ที่มีการปลดปล่อยอนุมูลของออกซิเจนที่มีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยา (reactive oxygen species) การออกกำลังกาย สภาวะทางอารมณ์และพยาธิสภาพของร่างกาย เป็นต้น ส่วนปัจจัยภายนอกร่างกาย ได้แก่ อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือมีธาตุเหล็กในปริมาณสูงจะเกิดการออกซิไดส์ในระหว่างกระบวนการแปรรูปและเก็บรักษา สารกันบูด ยาฆ่าแมลง คลื่นความร้อน แสงอัลตราไวโอเลต รังสีแกมม่า และมลพิษในอากาศ (ไนตรัสออกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ ฝุ่น) เป็นต้น และเมื่อร่างกายมีการสร้างหรือได้รับอนุมูลอิสระจากภายนอกร่างกายจะมีกลไกในการกำจัดอนุมูลอิสระเพื่อป้องกันไม่ให้อยู่ในภาวะเกินสมดุลและเกิดอันตรายต่อร่างกาย (อนุชิตา, 2555 และ ศิริธร, 2557) โดยแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่

2.4.1 ประเภทป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระโดยใช้เอนไซม์ในร่างกายที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น เอนไซม์ซุเพอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) เอนไซม์กลูตาไทโอนเพอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) และเอนไซม์คาตาเลส (catalase) เป็นต้น

2.4.2 ประเภทสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้โดยตรง เช่น uric acid และ bilirubin มีสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ขณะที่วิตามินอี (tocopherol) บีตา-แคโรทีน (beta-carotene) วิตามินซี ยูบิควิโนน (ubiquinone) สารประกอบฟีนอลิก และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ มีความสามารถในการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่

2.4.3 ประเภทสารที่ทำหน้าที่คีเลทโลหะ (metal chelators) เช่น ทรานเฟอร์ริน (transferrin) เฟอร์ริติน (ferritin) แลคโตเฟอร์ริน (lactoferrin) และอัลบูมิน (albumin) เป็นต้น ซึ่งสามารถจับกับโลหะที่เร่งปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระได้

2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) หมายถึง โมเลกุลของสารที่สามารถป้องกันหรือชะลอกระบวนการเกิดออกซิเดชันที่ทำให้เกิดสารที่อันตรายต่อเซลล์ของร่างกาย โดยสารต้านอนุมูลอิสระจะเข้าไปยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ด้วยการเข้าจับกับอนุมูลอิสระและยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (ศิริธร, 2557) โดยสารต้านอนุมูลอิสระมีหลายชนิดและแต่ละชนิดมีหน้าที่แตกต่างกันออกไป ดังนี้

2.5.1 สารต้านอนุมูลอิสระทั่วไป (general antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระทั่วไปจะมีบทบาทสำคัญในการทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระแล้วกลายเป็นสารประกอบที่เฉื่อยต่อปฏิกิริยา โดยทั่วไปกลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระเพอร์ออกซีและแอลคอกซี ที่เกิดจากการสลายตัวของสารประกอบเพอร์ออกไซด์

2.5.2 สารช่วยให้สารประกอบเพอร์ออกไซด์มีความคงตัว (peroxide stabilizer)

สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มนี้จะมีบทบาทในการป้องกันหรือยับยั้งการสลายตัวของสารประกอบเพอร์ออกไซด์ไปเป็นอนุมูลอิสระ

2.5.3 สารเสริมฤทธิ์ (synergists)

สารเสริมฤทธิ์เป็นสารที่ไม่มีกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระ แต่มีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมให้สารต้านอนุมูลอิสระสามารถทำงานได้ดีขึ้น ในลักษณะการรวมพลังให้เกิดผลลัพธ์ที่ดีขึ้นกว่าเดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.4 สารคีเลต (chelating agent)

สารคีเลตหรือสารจับโลหะจะเป็นสารที่ทำหน้าที่ในการจับกับโลหะที่เป็นตัวกระตุ้นให้สารประกอบเพอร์ออกไซด์สลายตัวไปเป็นอนุมูลอิสระ เมื่อสารคีเลตจับกับโลหะจะเกิดเป็นสารประกอบที่เฉื่อยต่อปฏิกิริยา ส่งผลให้โลหะไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาต่อได้

2.5.5 สารจับออกซิเจนซิงเกลต (singlet oxygen quencher)

สารจับอออกซิเจนซิงเกลตหรือสารจับออกซิเจนเดี่ยว มีบทบาทในการเปลี่ยนซิงเกลตออกซิเจนหรือออออกซิเจนที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว (singlet oxygen) ที่อยู่ในสถานะถูกกระตุ้น (excited state) ไปเป็นทริพเลตออกซิเจนหรือออกซิเจนที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว 2 ตัว (triplet oxygen) ที่อยู่ในสถานะพื้น (ground state) ซึ่งมีความเสถียร

2.6 จุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไป

จุลินทรีย์ก่อโรคคือชื่อทั่วไปของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุหลักของการเจ็บป่วยและโรคติดต่อมากมาย จุลินทรีย์นี้เป็นได้ทั้ง microscopic bacteria, sub-microscopic viruses หรือ โปรโตซัวขนาดใหญ่ โดยทั่วไปแล้วจุลินทรีย์ก่อโรคมักมาจากสัตว์เลือดอุ่นและมนุษย์และสามารถพบได้จากแหล่งน้ำ เช่น น้ำจากการทำปศุสัตว์ ตลอดจนแหล่งที่มีการเกิดมลพิษแบบชัดเจน เช่น โรงบำบัดน้ำเสีย (Whitehead และคณะ, 2016) ซึ่งโรคที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเหล่านี้เป็นปัญหาด้านสุขภาพที่สำคัญอย่างหนึ่ง โดยก่อให้เกิดการเจ็บป่วยในมนุษย์ 14 ล้านคน ได้รับการรักษาในโรงพยาบาล 60,000 คน และเสียชีวิต 1,800 คน เป็นประจำทุกปี (Yan และคณะ, 2017) ปัจจุบันจึงได้มีการศึกษาเพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเหล่านี้ขึ้น ยกตัวอย่างจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เช่น

2.6.1 *Bacillus subtilis*

B. subtilis เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปแท่ง อยู่ในกลุ่ม strict aerobe หรือ facultative anaerobe พบอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือเรียงตัวเป็นสาย มีความสามารถในการสร้างสปอร์ภายในเซลล์ ซึ่งสปอร์สามารถทนความร้อนได้สูงและทนความแห้งได้ดี อุณหภูมิในการเติบโตอยู่ระหว่าง 35-75 องศาเซลเซียส ก่อให้เกิดโรคปอดบวมชนิดรุนแรง การติดเชื้อในกระแสเลือด โรคลิ้นหัวใจอักเสบ การติดเชื้อของแผลผ่าตัด และโรคท้องร่วง (ภัทรชัย, 2549 และ บุษกร, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 *Candida albicans*

C. albicans มีลักษณะเป็นโคโลนีกลม ทึบแสง สีขาวครีม สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 25-37 องศาเซลเซียส เป็นยีสต์ที่มีรูปร่างหลายรูปแบบตั้งแต่ยีสต์เซลล์เดี่ยว (Unicellular yeast) ถึงเส้นใยแท้จริง (True hyphae) ขึ้นกับระยะเวลาของการเจริญ อาหาร และสภาวะแวดล้อม รูปแบบยีสต์มีลักษณะรูปกลมถึงรูปรี ขนาดประมาณ 3.5-6 × 6-10 ไมโครเมตร สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Asexual Reproduction) โดยการแตกหน่อ (Budding) และอาจสร้าง Pseudomycelium โดยการแตกหน่อติดๆกันยาวออกเป็นเส้น รูปแบบเส้นใยเกิดจากการงอกของ Germ tube จากเซลล์ยีสต์ เมื่อ Germ tube งอกยาวออกไปเรื่อยๆจะเกิดผนังกั้นเซลล์ซึ่งมีความยาวไม่จำกัด *C. albicans* ทำให้เกิดโรค Candidiasis ในมนุษย์ ซึ่งเกิดตามผิวหนัง เล็บ เยื่อบุช่องปาก ช่องคลอด ทางเดินอาหาร เยื่อบุหัวใจ และสมอง โรคนี้พบได้ในทุกวัย พบมากในเด็กอ่อน คนอ้วน ผู้สูงอายุ หญิงตั้งครรภ์ คนที่กินยาปฏิชีวนะนานๆ และคนที่เป็นโรคเอดส์ (สโรชา, 2559)

2.6.3 *Escherichia coli*

E. coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง ที่อยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน เคลื่อนที่โดยใช้ Paritrichous flagella ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 10-40 องศาเซลเซียส โดยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 35-37 องศาเซลเซียส มีแหล่งอาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น อีกทั้งยังพบในสิ่งแวดล้อม เช่น น้ำ อากาศ ดิน และพืช ก่อให้เกิดโรคเมื่อได้รับเชื้อภายใน 18-24 ชั่วโมง ผู้ป่วยจะมีอาการอุจจาระร่วงบ่อยครั้ง อุจจาระเป็นมูกเลือด ปวดท้อง มีอาการชีด เนื่องจากสารพิษของเชื้อไปทำลายเม็ดเลือดแดง จึงเกิดภาวะไตวายได้ แต่ผู้ติดเชื้อบางรายอาจไม่แสดงอาการของโรคแต่สามารถถ่ายทอดไปให้ผู้อื่นได้ (วารีรัตน์, 2557)

2.6.4 *Micrococcus luteus*

M. luteus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม เรียงตัวเป็นกลุ่ม โดยส่วนใหญ่พบอยู่เป็นกลุ่ม 4 เซลล์ ที่เรียกว่า Tetrad อาศัยประจำถิ่นบนผิวหนังและเยื่อเมือกบุผิว รวมถึงพบได้ในสิ่งแวดล้อมทั่วไป สามารถเติบโตได้ในที่มีเกลือสูงถึง 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นแบคทีเรียในกลุ่มมีโซโทรป (mesotroph) อุณหภูมิในการเติบโตอยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส การก่อโรคในคนพบได้น้อย ส่วนใหญ่เป็นการติดเชื้อฉวยโอกาสในผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องและสัมพันธ์กับการใส่อุปกรณ์ทางการแพทย์เข้าสู่ร่างกาย สามารถก่อโรคติดเชื้อของระบบทางเดินหายใจ ระบบประสาท และการติดเชื้อในกระแสเลือด (ภัทรชัย, 2549 และบุษกร, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.5 *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ขนาดประมาณ 0.6×2 ไมโครเมตร สามารถเคลื่อนที่ได้ และมักพบลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว, เป็นคู่ และบางครั้งพบเป็นสายสั้นๆ สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37-42 องศาเซลเซียส พบได้ทั่วไปในธรรมชาติและมักพบในบริเวณที่ชื้นในโรงพยาบาล เชื้อสามารถเกาะในร่างกายของคนปกติ และดำรงชีวิตเป็น saprophyte อย่างไรก็ตาม เชื้อสามารถเกิดโรคได้เมื่อระบบป้องกันตัวของโฮสต์ผิดปกติ (อรอนงค์, 2555)

2.6.6 *Staphylococcus aureus*

S. aureus เป็นเชื้อแกรมบวก รูปร่างกลม มีการเรียงตัวเป็นกลุ่มที่ไม่แน่นอนคล้ายองุ่น ในอาหารเหลวมักพบเป็นรูปร่างกลมเดี่ยว, เป็นคู่, เป็นสี่ (tetrad) และเป็นโซ่ เชื้อเมื่ออายุน้อยจะติดสีแกรมบวก เมื่ออายุมากขึ้นหลายเซลล์จะติดสีแกรมลบ เชื้อ staphylococci ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้และไม่สามารถสร้างสปอร์ โดยเชื้อสามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียภายใต้สภาวะ aerobe หรือ microaerophilic โดยสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (อรอนงค์, 2555) สามารถพบได้โดยง่ายในจมูก, ระบบทางเดินหายใจส่วนบน และผิวหนัง และเป็นสาเหตุของการติดเชื้อในโรงพยาบาล นอกจากนั้นผลของการต้านยาปฏิชีวนะหลายตัวของเชื้อทำให้เกิดการควบคุมและการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ *S. aureus* ได้ยาก (Hong และคณะ, 2017)

2.7 จุลินทรีย์ก่อโรคในปลานิล

ปลานิลเป็นปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยโดยมีมูลค่าผลผลิตต่อปีสูงสุดในบรรดาสัตว์น้ำจืดทั้งหมด เนื่องจากเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย ขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว แต่ปัญหาในการเพาะเลี้ยงปลานิลคือ ปลามีภูมิคุ้มกันต่ำจึงทำให้อ่อนแอและเกิดโรคง่าย (อนุสรณ์, 2556) ซึ่งโรคของปลานั้นอาจเกิดจากไวรัส แบคทีเรีย ซึ่งโรคติดเชื้อแบคทีเรียนับเป็นโรคที่สำคัญและพบได้มากในปลา โดยจะเข้าทำลายอวัยวะภายในของปลา และทำลายอวัยวะภายนอก (อุดมลักษณ์, 2556) ยกตัวอย่างจุลินทรีย์ก่อโรคในปลานิล เช่น

2.7.1 *Aeromonas hydrophila*

A. hydrophila มีรูปร่างเป็นแท่ง ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ ไม่มีแคปซูล มีขนาดความกว้าง 0.3-1.0 ไมโครเมตร ยาวประมาณ 1.0-4.0 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้โดยใช้โพลาร์แฟลกเจลลา (polar flagella) มักอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว หรือเป็นคู่ สามารถเจริญได้ทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนและสภาพที่ไม่มีออกซิเจน เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลางระหว่าง 25-40 องศาเซลเซียส เชื้อนี้จัดเป็นเชื้อฉวยโอกาสที่สำคัญที่สุดเชื้อหนึ่งที่ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อและเน่าเปื่อยตามตัวและผิวหนังปลา เกิดการตกเลือด ทำให้ปลามีอาการเลือดออก เลือดคั่ง เป็นแผลลึก ผิวตัวมีสีเข้มขึ้น ตาโปน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาจมีอาการคั่งของของเหลวภายในช่องท้อง เนื่องจากไตไม่สามารถทำงานได้อย่างปกติ โดยไม่สามารถขับน้ำออกสู่ภายนอกได้ ทำให้ตัวปลาบวมพอง ผิวหนังยืดขยายจนเกิดอาการเกล็ดปลาตั้ง พอง (Dropsy) และอาจตายในที่สุด (กัลยา, 2551)

2.7.2 *Pseudomonas* sp.

Pseudomonas sp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ มีลักษณะเป็นท่อนตรงหรือโค้งเล็กน้อย มีขนาดความกว้าง 0.5-1.0 ไมโครเมตร ยาวประมาณ 1.5-5.0 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้โดยใช้แส้ เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา สามารถสร้างสารเรืองแสงได้ (fluorescent pigments) โดยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มนี้พบทั่วไปในน้ำจืด ส่วนน้ำกร่อยและน้ำทะเลก็มีอยู่บ้าง การติดเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. ส่วนมากเป็นลักษณะ Secondary Infection คือ ปลาอ่อนแอและเครียดเนื่องจากสภาพแวดล้อมต่างๆ ปลาที่ป่วยติดเชื้อซูโดโมแนส จะมีสีแดงบริเวณโคนครีบ ในปาก ขากรรไกรล่าง และรอบๆทวารหนัก อาการภายในพบว่าจะมีการตกเลือดที่เยื่อบุช่องท้องและอวัยวะภายใน ในลำไส้มีของเหลวปนเลือด ตกเลือดในกล้ามเนื้อ (ชัชณาภรณ์ และคณะ, 2556)

2.7.3 *Streptococcus* sp.

Streptococcus sp. เป็นแบคทีเรียกลุ่มใหญ่ ติดสีแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ มีรูปร่างกลม (cocci) ขนาดเล็กกว่า 2 ไมครอน มักอยู่ติดกันเป็นสายโซ่ หรือเป็นคู่ และมีเพียงบางชนิดเท่านั้นที่สร้างแคปซูล โดยส่วนมากแล้วเชื้อแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือไม่มีออกซิเจนก็ได้ และอาศัยการหมักดำรงชีวิต นอกจากนี้ยังต้องอาศัยสารบางอย่างช่วยให้เจริญเติบโต และช่วยในการแยกเชื้อ (ชื่นชนก และคณะ, 2555) ปลาที่ติดเชื้อจะมีอาการว่ายน้ำแบบไม่มีทิศทาง สีลำตัวเข้มขึ้น ตาขุ่นขาว มีตุ่มฝีที่บริเวณใต้คาง มีเลือดออกในลูกตาและบริเวณผิวตัวรอบๆ ช่องขับถ่ายมีเลือดคั่ง หากปลาติดเชื้อเป็นเวลานาน ตาจะโปนออกมาและเปลี่ยนเป็นขุ่นขาว ในลำไส้จะมีของเหลวมากขึ้นและมีการบวม (นิลุบล และคณะ, 2544)

2.7.4 *Streptococcus agalactiae*

S. agalactiae เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม (cocus) หรือรูปไข่ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2-3 ไมโครเมตร ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างแคปซูล ไม่มีเอนไซม์คะตาเลส (catalase) ต้องการออกซิเจนปริมาณน้อย และสามารถเจริญในที่ไม่มีออกซิเจนได้ เชื้อนี้สามารถก่อให้เกิดโรคแก่ลูกปลานิลในโรงเพาะฟักจนถึงปลาขนาดใหญ่ การเกิดโรคมักเกิดในช่วงหน้าแล้งอุณหภูมิน้ำสูง ปลาที่ติดเชื้อสเตรปโตคอกคัสมักพบอาการในปลาขนาดใหญ่ที่มีน้ำหนักตัวมากกว่า 300 กรัม อาการป่วยที่เด่นชัดมี 2 รูปแบบ คือ อาการป่วยแบบเฉียบพลัน โดยปลาจะว่ายน้ำผิดปกติ ไม่มีทิศทาง สูญเสียการทรงตัว บางตัวอาจแสดงอาการควงสว่าน ลักษณะภายนอกที่เด่นชัดคือ ท้องขยายใหญ่ ตาโปน เป็นต้น และอาการป่วยแบบเรื้อรัง อาจพบปลาที่ติดเชื้อลอยตัวอยู่บริเวณผิว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำ มีสีลำตัวเข้มขึ้นในปลานิลสีดำ หรือซีดลงในปลานิลสีแดง มีอาการภายนอก เช่น ตุ่มหางบริเวณคอดหาง หรือใต้คาง เป็นต้น (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2553)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุรพงศ์ และบรรลือ (2559) ศึกษาสารสกัดเมทานอลจากดอกไม้หอม 5 ชนิด ได้แก่ ดาหลา พิกุล แก้ว บัวหลวง และกุหลาบ เพื่อหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยพบว่าแก้วมีปริมาณผลได้ทั้งหมดเท่ากับ 8.7±0.73 จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่าแก้วมีค่า EC_{50} เท่ากับ 1442.24±13.22 และ 508.04±79.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่าแก้วมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดต่ำที่สุด จากการศึกษาพบว่าการต้านอนุมูลอิสระน้อยจะแปรผันตรงต่อปริมาณสารฟีนอลิกที่น้อยตามไปด้วย โดยกุหลาบพบสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด

ภัสสร์พัณณ์ และคณะ (2551) สารสกัดหยาบของพืชสมุนไพร 10 ชนิด ได้แก่ กล้วยน้ำว้า ข่า ใบแก้ว ใบขี้เหล็ก ใบชะพลู ใบฝรั่ง ใบยูคาลิปตัส ใบสาบเสือ ใบโหระพา และมะเขือพวง ที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ด้วยวิธีการหมักโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล การสกัดโดยใช้วิธีการ Freeze dry โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย และการสกัดโดยวิธี soxhlet extraction โดยใช้เอทานอลและอะซิเตรทเป็นตัวทำละลาย พบว่า สารสกัดหยาบใบแก้วสามารถยับยั้งได้ 100% ในระดับความเข้มข้น 2500 ppm และสามารถฆ่าเชื้อราได้ที่ความเข้มข้น 5000 ppm แต่เมื่อสกัดสารด้วยวิธี freeze dry และวิธี soxhlet extraction พบว่า สารสกัดหยาบใบแก้วไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *Colletotrichum* sp.

Bovornvattanangkul และคณะ (2016) ศึกษาสารสกัดของใบแก้วที่สกัดด้วยน้ำที่เวลา 0.5, 1, 3, 5 และ 24 ชั่วโมง เพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีปริมาณมากที่สุดและใช้เพื่อทดสอบความเป็นพิษต่อ *Artemia salina* ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน คือ 0, 5, 50, 100, 500, 2500 และ 5000 ppm และหาความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการตาย 50 และ 90 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50} , LC_{90}) ภายใน 24 ชั่วโมง จากการศึกษาพบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดตามระยะเวลาการสกัด คือ 13.71±3.46, 136.08±7.47, 124.86±10.61, 146.66±9.01 และ 129.65±3.53 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด โดยปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุดอยู่ที่เวลา 5 ชั่วโมง มีค่า LC_{50} และ LC_{90} เท่ากับ 2572.03 และ 4565.79 ppm ตามลำดับ ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและค่าการตาย เท่ากับ 0.9977 จากการทดสอบแสดงเห็นว่าเมื่อความเข้มข้นของสารเพิ่มมากขึ้นเปอร์เซ็นต์การตายจะเพิ่มมากขึ้นด้วย

Patel และ Sharma (2016) ทำการศึกษาสารสกัดใบแก้วและต้นแก้ว โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas citri* ซึ่งก่อให้เกิดโรคใบจุดในพืชตระกูลส้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยใช้วิธี Agar well diffusion จากการศึกษาพบว่าสารสกัดเมทานอลของพืชชนิดนี้มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตเมื่อเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะมาตรฐาน พบว่าสารสกัดใบแก้วที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณที่เกิดการยับยั้ง 25 มิลลิเมตร เปรียบเทียบกับบริเวณที่เกิดการยับยั้งของยาปฏิชีวนะมาตรฐานคือ 32 มิลลิเมตร ซึ่งมีความใกล้เคียงกัน ดังนั้นสารสกัดหยาบใบแก้วมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas citri* ได้

Zhu และคณะ (2015) ทำการศึกษาสารสกัดหยาบจากแก้วโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย เพื่อหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟลาโวนอยด์ จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, Superoxide anion radical scavenging activity, Hydroxyl radical scavenging activity, H_2O_2 scavenging activity พบว่า reducing, lipid peroxidation, Hydroxyl radical scavenging activity ในปริมาณ 0.26 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 0.023 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.302 มิลลิกรัมต่อมมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ trolox การวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, Superoxide anion radical scavenging และ H_2O_2 scavenging activity ของสารสกัดได้ 0.93 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 0.581 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.47 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และพบว่าสารสกัดเมทานอลจากแก้วมีฟลาโวนอยด์ในปริมาณที่สูง (375 มิลลิกรัมรูทินต่อกรัมสารสกัด) จากการศึกษาสารสกัดหยาบของแก้วแสดงให้เห็นว่าแก้วมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูง

Khatun และคณะ (2014) ทำการศึกษาสารสกัดหยาบจากใบแก้วโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย เพื่อหาองค์ประกอบทางเคมี ความเป็นพิษ thrombolytic activity และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จากการศึกษาพบว่าองค์ประกอบทางเคมีที่พบในสารสกัดหยาบได้แก่ อัลคาลอยด์ reducing sugar ซาโพนิน และแทนนิน การทดสอบค่าความเป็นพิษพบว่าค่า LC_{50} และค่า LC_{90}ของสารสกัดเท่ากับ 1.27 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 5.09 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมากกว่าสารมาตรฐานที่มีค่า LC_{50} และ LC_{90} เท่ากับ 0.09 และ 4.83 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH สารสกัดหยาบเมทานอลจากใบแก้วแสดงค่า LC_{50} 1.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ LC_{90} 4.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทำการเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอบิกที่แสดงค่า IC_{50} 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ ค่า IC_{90} 3.58 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้นข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น การศึกษา thrombolytic activity พบว่าสารสกัดให้ค่ากิจกรรม 15.78% เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานที่ให้ค่ากิจกรรม 76.50±0.82% ดังนั้น การศึกษานี้จึงเป็นการสนับสนุนการใช้แก้วในการเป็นยาแผนโบราณ

Menezes และคณะ (2014) ทำการศึกษาสารสกัดหยาบใบแก้วโดยใช้น้ำผสมเอทานอลเป็นตัวทำละลายในอัตราส่วน 1:1 ใช้เวลาในการสกัด 72 ชั่วโมง เพื่อหาปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ ผลการศึกษาพบว่าผลได้ของสารสกัดคือ 7.6% ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดคือ 66.5 ถึง 398.8 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดคือ 0.3 ถึง 31.1 มิลลิกรัมควอซิทินต่อกรัมสารสกัด และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas*

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

aeruginosa, *Shigella flexneri* และ *Staphylococcus aureus* คือความเข้มข้นของสารสกัดมากกว่า 1024 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม

Mita และคณะ (2013) ทำการศึกษาสารสกัดจาก *M. paniculata* ที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่แตกต่างกัน เพื่อหาสารประกอบฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ความเป็นพิษ thrombolytic activity การยับยั้งจุลินทรีย์ และ membrane stabilizing activity จากการศึกษาพบว่าสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดอยู่ระหว่าง 0.2-52.99 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด โดยสารสกัดหยาบจากคาร์บอนเตทตระคลอไรด์พบสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด 52.99±0.32 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ในการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 72.51-250.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดหยาบจากคาร์บอนเตทตระคลอไรด์พบค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด IC_{50} เท่ากับ 72.51±0.69 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT ค่า IC_{50} เท่ากับ 27.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และกรดแอสคอบิกค่า IC_{50} เท่ากับ 5.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดพบว่า LC_{50} อยู่ในช่วง 0.471-5.4009 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์มีค่า LC_{50} สูงที่สุด การทดสอบ thrombolytic activity แสดงค่ากิจกรรมที่ 66.77% โดยสารสกัดเมทานอลแสดงค่ากิจกรรมสูงที่สุดคือ 27.94±0.23% การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี disc diffusion ทดสอบกับจุลินทรีย์ 13 ชนิด พบว่าไม่เกิดการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 13 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับ Ciprofloxacin

Gautam และคณะ (2012a) ทำการศึกษาสารพฤกษเคมีในสารสกัดจากใบของ *M. paniculata* โดยทำการหมักผงใบพืชกับปิโตรเลียมอีเทอร์เพื่อสกัดไขมัน และทำการสกัดเพิ่มด้วย 50% เอทานอล เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที นำสารละลายที่ได้ไปกรองและทำให้เข้มข้นโดยการระเหยตัวทำละลายออก ทำการทดสอบหาคาร์โบไฮเดรต ไกลโคไซด์ ไขมันและน้ำมัน โปรตีนและกรดอะมิโน ซาโฟนิน ไฟโทสเตอรอล อัลคาลอยด์ สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ จากการศึกษาพบว่าสารสกัดใบแก้วที่ได้เป็นสารละลายกึ่งแข็งสีเขียวออกดำ ผลได้เท่ากับ 9.5% โดยมวล และประกอบไปด้วย อัลคาลอยด์ คาร์โบไฮเดรต โปรตีนและกรดอะมิโน สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ซึ่งไม่พบน้ำมันและไขมัน ซาโฟนิน และมูซิเลก การศึกษาในครั้งนี้จึงแสดงให้เห็นในทางวิทยาศาสตร์ว่าการใช้ใบแก้วแบบดั้งเดิมและสารพฤกษเคมีที่ทดสอบสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาในอนาคตต่อไปได้

Gautam และคณะ (2012b) ศึกษาสารสกัดใบแก้วโดยใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ ปิโตรเลียมอีเทอร์ เมทานอล เอทานอล และน้ำผสมแอลกอฮอล์ เพื่อหาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ โดยทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดด้วยวิธี disc diffusion และหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) และ minimum bactericidal concentration (MBC) ด้วยวิธี dilution method หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้ Folin-Ciocuteau และหาปริมาณฟลาโวนอยด์โดยใช้อลูมิเนียมคลอไรด์ จากการศึกษาพบว่าสารสกัดใบแก้วมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยโซนใสที่เกิดจากการยับยั้งของสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ เมทานอล เอทานอล และน้ำผสมแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 200 อยู่ในช่วง 8-12, 9-14, 8-11 และ 8-11 มิลลิเมตร ตามลำดับโดยสารสกัดเมทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งมากที่สุด และมีค่า MIC MBC อยู่ในช่วง 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดเมทานอลมีปริมาณฟีนอลิกสูงสุดตามมาด้วยสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ เอทานอล และน้ำผสมแอลกอฮอล์ ในขณะที่สารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์มีปริมาณฟลาโวนอยล์สูงที่สุดตามด้วยสารสกัดเมทานอล

Mahida และ Mohan (2007) ทำการศึกษาสารสกัดจากพืชด้วยวิธีการสกัดเย็น โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ใช้เวลาในการสกัด 12 ชั่วโมง และคัดเลือกพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Salmonella typhi* และ *S. paratyphi* A จากการศึกษาพบว่าฤทธิ์ยับยั้งเชื้อของสารสกัดเมทานอลของแก้ว (*Murraya paniculata* (Linn.) Jack) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าบริเวณที่เกิดการยับยั้งของ *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Salmonella typhi* และ *S. paratyphi* A คือ 0, 2, 0 และ 1 มิลลิเมตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 พืชที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย

เก็บตัวอย่างใบแก้วจากบริเวณโดยรอบสระว่ายน้ำสมเด็จพระเทพฯ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร โดยเก็บตัวอย่างในช่วงวันที่ 6-7 กุมภาพันธ์ 2560 ในการเก็บตัวอย่างจะคัดเลือกลักษณะใบที่ไม่แก่หรืออ่อนจนเกินไป แล้วนำมาล้างน้ำประปาให้สะอาดและผึ่งให้แห้ง จากนั้นเก็บไว้ในที่พ้นแสงเพื่อใช้ในการดำเนินงานวิจัยต่อไป

3.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

3.2.1 เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไป

Bacillus subtilis ATCC 6633

Candida albicans ATCC 90028

Escherichia coli ATCC 25922

Micrococcus luteus TISTR 2374

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

Staphylococcus aureus TISTR 118

3.2.2 เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในปลานิล

Aeromonas hydrophila

Pseudomonas sp.

Streptococcus agalactiae

Streptococcus sp.

3.3 อุปกรณ์

3.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบ

3.3.1.1 ตู้อบแห้งแบบสุญญากาศ

3.3.1.2 เครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ

3.3.1.3 ตู้อบลมร้อน

3.3.1.4 เครื่องปั่น

3.3.1.5 กระบอกตวง

3.3.1.6 ขวดโหลพลาสติกสำหรับหมัก

3.3.1.7 ถาดสแตนเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.1.8 ขวดแก้วสีชาสำหรับเก็บตัวอย่าง

3.3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.3.2.1 เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท

3.3.2.2 เครื่องวัดการดูดกลืนแสงของสาร

3.3.2.3 หลอดไมโครทิวป์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

3.3.2.4 หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร

3.3.2.5 หลอดทดลองแก้ว

3.3.2.6 ไมโครปิเปต

3.3.2.7 ปิเปตแก้ว

3.3.2.8 ไมโครเวลเพลท

3.3.2.9 ขวดปรับปริมาตร

3.3.2.10 บีกเกอร์แก้ว

3.3.2.11 เครื่องเขย่า

3.3.2.12 แท่งคนสาร

3.3.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์

3.3.3.1 หม้อนึ่งอัดไอ

3.3.3.2 ตู้ปลอดเชื้อ

3.3.3.3 ตู้บ่มเชื้อ

3.3.3.4 จานเลี้ยงเชื้อ

3.3.3.5 Syringe filter membrane

3.3.3.6 ไม้พันสำลี

3.3.3.7 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.3.3.8 จุกคอร์กขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 มิลลิเมตร

3.3.3.9 เวอร์เนียคาลิปเปอร์

3.3.3.10 ไมโครเวลเพลท

3.3.3.11 ออโตปิเปต

3.3.3.12 แท่งแก้วรูปตัวแอล

3.4 สารเคมี

3.4.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบ

3.4.1.1 เอทานอล

3.4.1.2 น้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.4.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ด้วยวิธี DPPH

1. DPPH (2,2-diphenyl-1-picryhydrazyl)
2. DMSO (Dimethyl Sulfoxide)
3. Absolute ethanol
4. Ascorbic acid

3.4.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

1. Folin-Ciocalteu reagent
2. DMSO (Dimethyl Sulfoxide)
3. 7.5% $NaCO_3$
4. Gallic acid

3.4.2.3 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

1. DMSO (Dimethyl Sulfoxide)
2. 5% $NaNO_2$
3. 10% $AlCl_3$
4. 1 M NaOH
5. น้ำกลั่น

3.4.3 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์

3.4.3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Mueller-Hinton agar (MHA)
2. Sabouraud Dextrose Agar (SDA)
3. Nutrient agar (NA)
4. Nutrient broth (NB)

3.4.3.2 ยาปฏิชีวนะ Streptomycin sulfate

3.4.3.3 Normal saline solution

3.5 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.5.1 การเตรียมตัวอย่างพืชและการสกัดสารสกัดหยาบจากพืช

นำตัวอย่างใบแก้วที่เก็บได้ 10 กิโลกรัม ทำการล้างให้สะอาดแล้วไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จนน้ำหนักคงที่ เมื่อได้ตัวอย่างที่อบแห้งแล้ว 3.770 กิโลกรัม นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นจนละเอียดและนำไปเก็บในที่แห้งเพื่อเตรียมสกัดสารสกัดในขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.1.1 การสกัดสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลและน้ำ

นำตัวอย่างผงใบแก้ว จำนวน 250 กรัม ห่อด้วยผ้าขาวบางเป็นลูกประคบลูกละ 50 กรัม ใส่ลงในขวดโหลพลาสติกสำหรับหมัก จากนั้นเติมตัวทำละลายปริมาตร 2 ลิตร (อัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1 ต่อ 8) โดยตัวทำละลายที่ใช้ ได้แก่ เอทานอล 95% 70% 50% และน้ำ ทำการเขย่าให้เข้ากันและบ่มในที่มืดเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง และทำการเขย่าวันละ 2 ครั้ง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้กรองด้วยกระดาษ whatman เบอร์ 1 โดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศ แล้วนำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary Evaporator) โดยใช้อุณหภูมิ water bath 40 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างพืชที่ทำการสกัดไปแช่ตัวทำละลายเพื่อทำการสกัดซ้ำอีกครั้ง เมื่อได้สารสกัดหยาบแล้วนำไปชั่งน้ำหนักคำนวณหา % yield (จารวี และสุบงกช, 2012) สารสกัดหยาบที่ได้เก็บใส่ขวดสีชาห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{weight of extract recovered}}{\text{weight of fresh dry plant}} \times 100$$

3.5.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ

3.5.2.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging

เตรียมสารสกัดหยาบจากแต่ละตัวทำละลาย โดยใช้ Dimethyl Sulfoxide (DMSO) เป็นตัวทำละลายที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นให้มีความเข้มข้น 5, 2.5, 1.25, 0.63 และ 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ absolute ethanol ในการเจือจาง จากนั้นปิเปตสารสกัดที่ได้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picryhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 180 ไมโครลิตร ใส่ลงใน 96 ไมโครเวลเพลท นำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ในการทดลองใช้ absolute ethanol เป็น Blank และใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐาน คำนวณหาร้อยละการยับยั้งอนุมูล DPPH (สุธิรา และคณะ, 2559)

$$\%\text{inhibition} = \frac{\text{Abs. control - Abs. sample}}{\text{Abs. control}} \times 100$$

นำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่า Inhibition concentration (IC_{50}) หรือค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลง 50% โดยใช้โปรแกรม GraphPad Prism (http://download.cnet.com/GraphPad-Prism/3000-2053_4-8453.html)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

ชั่งตัวอย่างสารสกัดหยาบจากแต่ละตัวทำละลาย 10 มิลลิกรัม ละลายใน DMSO 1 มิลลิลิตร จะได้สารสกัดที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางสารสกัดที่ได้ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยปิเปตสารสกัดมา 60 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง และเติม 7.5% $NaCO_3$ ปริมาตร 240 ไมโครลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นปิเปตสารละลายที่ได้ลงใน 96 ไมโครเวลเพลท บ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก รายงานผลเป็นหน่วยมิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมสารสกัด

3.5.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

เตรียมสารสกัดหยาบจากแต่ละตัวทำละลายให้มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย จากนั้นปิเปตสารละลายที่ได้ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร และเติม 5% $NaNO_2$ ปริมาตร 150 ไมโครลิตร แล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม 10% $AlCl_3$ ปริมาตร 300 ไมโครลิตร และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที แล้วเติม 1 M NaOH ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 550 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของเควอซิติน

3.5.3 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion

3.5.3.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ

เตรียมสารสกัดหยาบจากแต่ละตัวทำละลายให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 100, 200, 300 และ 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย และทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองด้วย Syringe filter membrane ขนาด 0.22 ไมครอน

3.5.3.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ

จุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไปที่ใช้ในการทดสอบทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 90028, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* TISTR 2374, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในปลานิลทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas* sp., *Streptococcus agalactiae* และ *Streptococcus* sp.

3.5.3.3 การทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์โดยการนำเชื้อจุลินทรีย์มาเลี้ยงในอาหารเหลว Nutrient broth (NB) สำหรับแบคทีเรีย และ Sabouraud Dextrose Agar (SDA) สำหรับยีสต์ บ่มที่อุณหภูมิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อที่ได้มาทำการ streak ลงบนอาหารแข็งในหลอดทดลอง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง จากนั้นเตรียมสารละลายเชื้อใน 0.85% Normal saline solution โดยปรับความเข้มข้นให้เท่ากับ McFarland No. 0.5 จากนั้นจุ่มไม้พันสำลีปราศจากเชื้อลงในเชื้อจุลินทรีย์ที่ปรับความเข้มข้นแล้ว บิดสำลีกับผนังหลอดทดลองให้สำลีหมาด นำไม้พันสำลีมาทำการ swab ลงบนผิวหน้าอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) ที่เตรียมไว้สำหรับแบคทีเรีย และอาหาร Sabouraud Dextrose Agar (SDA) สำหรับยีสต์ หลังจากนั้นเจาะหลุมโดยใช้ที่เจาะจุกค็อกเบอร์ 4 ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 มิลลิเมตร ลงบนอาหารแข็งจานละ 5 หลุม หยดสารสกัดที่ต้องการทดสอบลงในหลุมๆละ 40 ไมโครลิตร ใช้ DMSO เป็น negative control และใช้ยาปฏิชีวนะ Streptomycin sulfate เป็น positive control สำหรับแบคทีเรีย จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง อ่านผลโดยวัดขนาดบริเวณโซนใสที่เกิดขึ้นรอบหลุม (inhibition zone) ด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์ หน่วยเป็นมิลลิเมตร ดังสูตร

ขนาดของโซนใส = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสกับหลุม – ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของหลุม (มิลลิเมตร)

3.5.4 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งจุลินทรีย์

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) ทำได้โดยนำสารสกัดหยาบใบแก้วมาทำการเจือจางด้วยอาหารเหลวแบบ two-fold dilution ให้ได้ความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56 และ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมลงในไมโครเวลเพลทหลุมละ 100 ไมโครลิตร และเติมอาหารเหลวหลุมละ 95 ไมโครลิตร แล้วเติมเชื้อที่ใช้ทดสอบหลุมละ 5 ไมโครลิตร ทำการเขย่าที่ความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 วินาที นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ซึ่งค่า MIC ได้จากการสังเกตความใสของอาหารเลี้ยงเชื้อ (Karaman และคณะ, 2003)

3.5.5 การหาค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ 99%

การหาค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ 99% (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) ทำได้โดยนำสารที่ได้จากหลุมที่เกิดการยับยั้งในวิธี MIC ไปทำการ Spread plate บนอาหารแข็ง Nutrient Agar สำหรับแบคทีเรีย และ Sabouraud Dextrose Agar สำหรับยีสต์ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง โดยค่า MBC คือความเข้มข้นที่ทำให้จุลินทรีย์ไม่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Karaman และคณะ, 2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.6 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบ

นำสารสกัดหยาบที่ได้มาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS) (Hewlett Packard 247 HP6890/5973) ที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทำการวิเคราะห์โดยใช้คอลัมน์ DB-5 ขนาด 30 m. × 250 µm. × 0.25 µm อุณหภูมิเริ่มต้น 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และปรับอุณหภูมิเพิ่มขึ้นในอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที จนกระทั่งถึง 150 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นปรับอุณหภูมิเพิ่มขึ้นในอัตรา 10 องศาเซลเซียสต่อนาที จนกระทั่งอุณหภูมิสุดท้ายเป็น 260 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที อุณหภูมิของสารที่เข้าเท่ากับ 250 องศาเซลเซียส ช่วงมวลในการวิเคราะห์ 30-500 atomic mass unit (Yang และคณะ, 2009)

3.5.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการทดลองรายงานเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยมีการวางแผนการทดลองเป็นแบบสุ่ม (completely randomized design ; CRD) และวิเคราะห์ผลการศึกษาโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) โดยเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี Duncan's Multiple-Range Test. (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป IBM SPSS Statistics (https://www.ibm.com/us-en/marketplace/spss-statistics)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ปริมาณผลได้ของสารสกัดหยาบใบแก้ว

จากการสกัดสารสกัดหยาบจากตัวอย่างใบแก้วที่ทำให้แห้งแล้ว 250.00 กรัม โดยใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ เอทานอล 95%, 70%, 50% และน้ำ พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอล 50% ให้ปริมาณผลได้ของสารสกัดมากที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบน้ำ สารสกัดหยาบเอทานอล 95% และสารสกัดหยาบเอทานอล 70% โดยมีค่าผลได้ต่อน้ำหนักแห้ง เท่ากับ 14.87%, 14.37%, 12.88% และ 11.37% ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลได้ของการสกัดสารสกัดหยาบใบแก้วที่ใช้ตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด

ชนิดสารสกัด	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	ปริมาณสารสกัดหยาบ (กรัม)	ค่าผลได้ (%)
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	250.00	32.19	12.88
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	250.00	28.43	11.37
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	250.00	37.17	14.87
สารสกัดหยาบน้ำ	250.00	35.93	14.37

4.2 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (Scavenging activity on DPPH radical)

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเอทานอล 95%, 70%, 50% และน้ำ ที่ความเข้มข้น 5, 2.5, 1.25, 0.63 และ 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader และคำนวณร้อยละการยับยั้งอนุมูล DPPH ของสารสกัดหยาบใบแก้ว ดังแสดงในตารางที่ 4.2 โดยพบว่า สารสกัดหยาบน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH มากที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.23 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบเอทานอล 70%, 50% และ 95% มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.66, 2.70 และ 2.86 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งค่า IC_{50} ได้จากการคำนวณโดยใช้โปรแกรม GraphPad Prism ดังแสดงในตารางที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูล DPPH ของสารสกัดหยาบเอทานอล 95% 70% 50% และน้ำ

สารสกัด	% Inhibition				
	ความเข้มข้น				
	5	2.5	1.25	0.63	0.31
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	66.18±0.74^{a}	46.12±1.38^{a}	27.83±0.38^{c}	14.31±0.49^{c}	5.02±1.01^{c}
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	68.93±0.38^{a}	48.99±0.49^{a}	33.70±0.42^{a}	15.60±0.80^{b}	9.48±0.76^{a}
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	67.34±1.27^{a}	47.65±0.85^{a}	27.83±0.11^{c}	14.37±0.46^{c}	7.65±0.11^{b}
สารสกัดหยาบน้ำ	55.47±9.81^{b}	46.36±3.31^{a}	32.35±1.17^{b}	18.17±0.55^{a}	9.30±0.69^{a}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรภาษาอังกฤษในแนวตั้งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n=3)

ตารางที่ 4.3 ค่าการยับยั้งอนุมูล DPPH ที่ 50% (IC_{50}) ของสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด

สารสกัด	ค่า IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	2.86
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	2.66
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	2.70
สารสกัดหยาบน้ำ	2.23

จากผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH พบว่า สารสกัดหยาบน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH สูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Chew และคณะ (2011) ที่กล่าวว่า สารสกัดหยาบเอทานอล 60% มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 100% จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วสูงจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงด้วยเช่นกัน

4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader แล้วทำการเปรียบเทียบปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอล 95% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด โดยมีค่าเทียบเท่ากับ 51.99±0.36 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบน้ำ สารสกัดหยาบเอทานอล 70% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเทียบเท่ากับ 38.57±1.17, 36.76±0.43 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดตามลำดับ และสารสกัดหยาบ 50% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุด โดยมีค่าเทียบเท่ากับ 36.62±0.81 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด

ชนิดสารสกัด	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด)
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	51.99±0.36[a]
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	36.76±0.43[c]
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	36.62±0.81[c]
สารสกัดหยาบน้ำ	38.57±1.17[b]

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรภาษาอังกฤษในแนวตั้งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n=3)

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่า สารสกัดหยาบเอทานอล 95% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบน้ำ สารสกัดหยาบเอทานอล 70% และสารสกัดหยาบเอทานอล 50% ตามลำดับ โดยที่สารสกัดหยาบเอทานอล 70% และ 50% ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sayar และคณะ (2014) รายงานว่าสารสกัดหยาบใบแก้วที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดหยาบใบแก้วที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำผสมแอลกอฮอล์ โดยพืชที่มีสารประกอบฟีนอลิกประเภทมีขั้วจะถูกสกัดได้ง่ายด้วยตัวทำละลายที่มีขั้ว โดยองค์ประกอบของตัวทำละลายมีผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น ความหนาแน่น ความหนืด และค่าคงที่ไดอิเล็กทริก ซึ่งมีผลต่อการแพร่และอัตราเร็วในการสกัด (Tsakona และคณะ, 2012) นอกจากนี้สารสกัดจากตัวทำละลายอินทรีย์ที่ความเข้มข้น 50% พบว่ามีสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าสารสกัดจากตัวทำละลายอินทรีย์บริสุทธิ์ ซึ่งสารสกัดน้ำผสมแอลกอฮอล์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าตัวทำละลายอื่นๆ เนื่องจากน้ำทำให้ตัวอย่างพืชบวมและช่วยเพิ่มความสามารถในการสกัดโดยตัวทำละลายจะเข้าถึงเนื้อเยื่อพืชได้ดี (Bhebhe และคณะ, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoid content)

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่มีในสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer แล้วทำการเปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์ที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบกับกราฟมาตรฐานเควอซิติน พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอล 95% มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด โดยมีค่าเทียบเท่ากับ 68.01±2.16 มิลลิกรัมเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบเอทานอล 70% สารสกัดหยาบน้ำ มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเทียบเท่ากับ 39.23±0.39, 19.34±0.04 มิลลิกรัมเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ และสารสกัดหยาบเอทานอล 50% มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดน้อยที่สุด โดยมีค่าเทียบเท่ากับ 0.82±0.19 มิลลิกรัมเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด

ชนิดสารสกัด	ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (มิลลิกรัมเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด)
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	68.01±2.16[a]
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	39.23±0.39[b]
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	26.47±0.13[c]
สารสกัดหยาบน้ำ	19.34±0.04[d]

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรภาษาอังกฤษในแนวตั้งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n=3)

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่า สารสกัดหยาบเอทานอล 95% มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Anwar และคณะ (2012) กล่าวว่า การใช้เอทานอล 80% เป็นตัวทำละลายในการสกัดทำให้ได้ปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุดและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ชี้ให้เห็นว่าการใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วในการสกัดสามารถสกัดสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ได้ดี นอกจากนี้ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่พบในสารสกัดที่ได้จากผลิตภัณฑ์ทางธรรมชาติขึ้นอยู่กับชนิดของพืช คุณลักษณะของสารพฤกษเคมีในพืชนั้น และประสิทธิภาพของตัวทำละลายที่ใช้ในกระบวนการสกัด (Adaramola และคณะ, 2016)

จากผลการทดลองฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH, วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่าสารที่สกัดหยาบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการใช้

ที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่มีความเข้มข้นของเอทานอลสูงจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูง แต่มีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH ต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Tiwari และคณะ (2011) ที่กล่าวว่า สารสกัดหยาบเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าสารสกัดหยาบน้ำ โดยแปรผันตรงกับความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลาย ซึ่งเอทานอลมีความสามารถในการแทรกเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์พืช และละลายสารสำคัญภายในเซลล์พืชออกมาได้ดี

4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion

จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากเอทานอล 95%, 70%, 50% และน้ำ ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไป 6 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 90028, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* TISTR 2374, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และจุลินทรีย์ก่อโรคในปลานิล 4 ชนิด คือ *Aeromonas hydrophila, Pseudomanas* sp., *Streptococcus* sp. และ *Streptococcus agalactiae* โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดตั้งแต่ 100-400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบจากใบแก้วที่ใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกันสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไปและเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในปลานิลได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 บริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบใบแก้วที่ใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกันในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อทดสอบ/สารสกัด	ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้ง ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มิลลิเมตร)				
	Positive control	ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
		100	200	300	400
Bacillus subtilis ATCC 6633	16.45±0.40				
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%		6.94±0.55^{c}	6.14±0.91^{b}	6.79±0.56^{b}	6.40±0.72^{b}
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%		11.07±0.63^{a}	8.82±2.12^{a}	9.93±1.24^{a}	9.27±0.21^{a}
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%		10.66±0.53^{b}	8.83±1.14^{a}	9.60±0.96^{a}	9.25±1.08^{a}
สารสกัดหยาบน้ำ		2.66±0.34^{d}	3.21±0.36^{c}	3.84±0.50^{c}	4.90±1.01^{c}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 (ต่อ) บริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบใบแก้วที่ใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกันในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อทดสอบ/สารสกัด	ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้ง ±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มิลลิเมตร)				
	Positive control	ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
		100	200	300	400
Candida albicans ATCC 90028	NT				
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%		2.78±0.41^{a}	3.15±0.46^{a}	3.12±0.65^{b}	3.39±0.41^{a}
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%		2.36±0.45^{b}	2.74±0.53^{b}	2.04±0.78^{c}	2.53±0.31^{b}
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%		2.41±0.58^{b}	2.56±0.56^{b}	3.83±0.52^{a}	2.01±0.4^{c}
สารสกัดหยาบน้ำ		-	1.82±0.43^{c}	2.30±0.56^{c}	2.47±0.33^{b}
Escherichia coli ATCC 25922	14.87±0.35				
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%		7.48±0.85^{b}	8.20±1.79^{b}	7.83±0.76^{c}	6.80±0.38^{b}
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%		10.68±1.22^{a}	10.57±1.04^{a}	11.02±0.55^{b}	9.80±0.39^{a}
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%		10.18±0.48^{a}	11.39±1.10^{a}	11.60±0.47^{a}	10.10±0.51^{a}
สารสกัดหยาบน้ำ		3.26±0.84^{c}	3.80±1.27^{c}	4.22±0.48^{d}	4.61±0.83^{c}
Micrococcus luteus TISTR 2374	15.86±1.15				
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%		6.58±0.50^{c}	6.44±1.37^{b}	6.65±1.27^{b}	5.77±0.80^{b}
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%		9.81±0.68^{a}	8.84±0.57^{a}	9.51±0.97^{a}	8.44±0.64^{a}
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%		9.22±0.78^{b}	8.33±0.54^{a}	9.98±1.78^{a}	7.98±0.40^{a}
สารสกัดหยาบน้ำ		1.67±0.44^{d}	2.95±0.62^{c}	3.86±0.43^{c}	0.43±3.98^{c}
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	14.66±0.47				
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%		-	-	3.76±0.47^{b}	-
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%		-	1.77±0.40^{c}	1.82±0.31^{c}	-
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%		-	2.53±0.20^{b}	2.24±0.32^{d}	2.33±0.31^{b}
สารสกัดหยาบน้ำ		-	2.39±0.28^{a}	4.36±0.38^{a}	3.70±0.47^{a}
Staphylococcus aureus TISTR 118	14.48±0.30				
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%		8.02±1.52^{c}	8.81±0.96^{b}	9.59±1.07^{c}	7.89±0.74^{b}
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%		10.95±0.76^{a}	11.64±0.77^{a}	11.36±0.59^{a}	9.78±1.00^{a}
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%		9.92±1.24^{b}	11.43±0.64^{a}	10.39±1.01^{b}	9.37±0.93^{a}
สารสกัดหยาบน้ำ		3.04±0.90^{d}	2.55±0.53^{c}	3.13±0.84^{d}	4.77±0.45^{c}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 (ต่อ) บริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบใบแก้วที่ใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกันในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อทดสอบ/สารสกัด	ค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้ง ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มิลลิเมตร)				
	Positive control	ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
		100	200	300	400
Aeromonas hydrophila	9.98±0.45				
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%		3.22±1.19^{a}	3.42±0.86^{a}	2.09±0.68^{b}	3.25±0.85^{b}
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%		2.36±1.21^{a}	1.69±0.91^{c}	1.83±0.87^{b}	1.84±0.74^{c}
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%		2.34±0.87^{a}	1.46±0.38^{c}	2.05±0.76^{b}	1.26±0.38^{d}
สารสกัดหยาบน้ำ		2.69±1.40^{a}	2.77±0.56^{b}	3.69±0.73^{a}	5.11±0.34^{a}
Pseudomonas sp.	7.10±0.49				
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%		2.59±0.38^{a}	2.63±0.44^{a}	3.65±0.43^{a}	3.06±0.24^{b}
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%		2.38±0.36^{a}	1.85±0.31^{b}	2.09±0.24^{b}	1.67±0.37^{d}
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%		1.45±0.77^{b}	1.22±0.37^{c}	2.22±0.54^{b}	2.34±0.60^{c}
สารสกัดหยาบน้ำ		-	1.86±0.55^{b}	3.50±0.50^{a}	4.79±0.47^{a}
Streptococcus sp.	16.81±0.54				
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%		6.03±0.89^{c}	6.42±0.54^{b}	6.52±0.74^{c}	5.56±0.37^{b}
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%		10.39±0.72^{a}	9.35±1.31^{a}	9.35±0.99^{a}	8.95±0.40^{a}
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%		8.85±1.01^{b}	8.88±1.08^{a}	8.36±0.89^{b}	8.86±0.70^{a}
สารสกัดหยาบน้ำ		2.02±0.35^{d}	2.65±0.27^{c}	2.39±1.34^{d}	3.49±2.49^{c}
Streptococcus agalactiae	16.57±0.94				
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%		4.74±0.61^{b}	4.90±0.41^{b}	5.24±0.59^{ab}	4.23±0.40^{b}
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%		6.27±0.81^{a}	5.77±0.24^{a}	5.53±0.35^{a}	5.83±0.61^{a}
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%		4.96±0.48^{b}	5.11±0.39^{b}	4.92±0.32^{b}	5.85±0.73^{a}
สารสกัดหยาบน้ำ		1.73±0.22^{c}	1.76±0.48^{c}	2.57±0.41^{c}	2.93±1.04^{c}

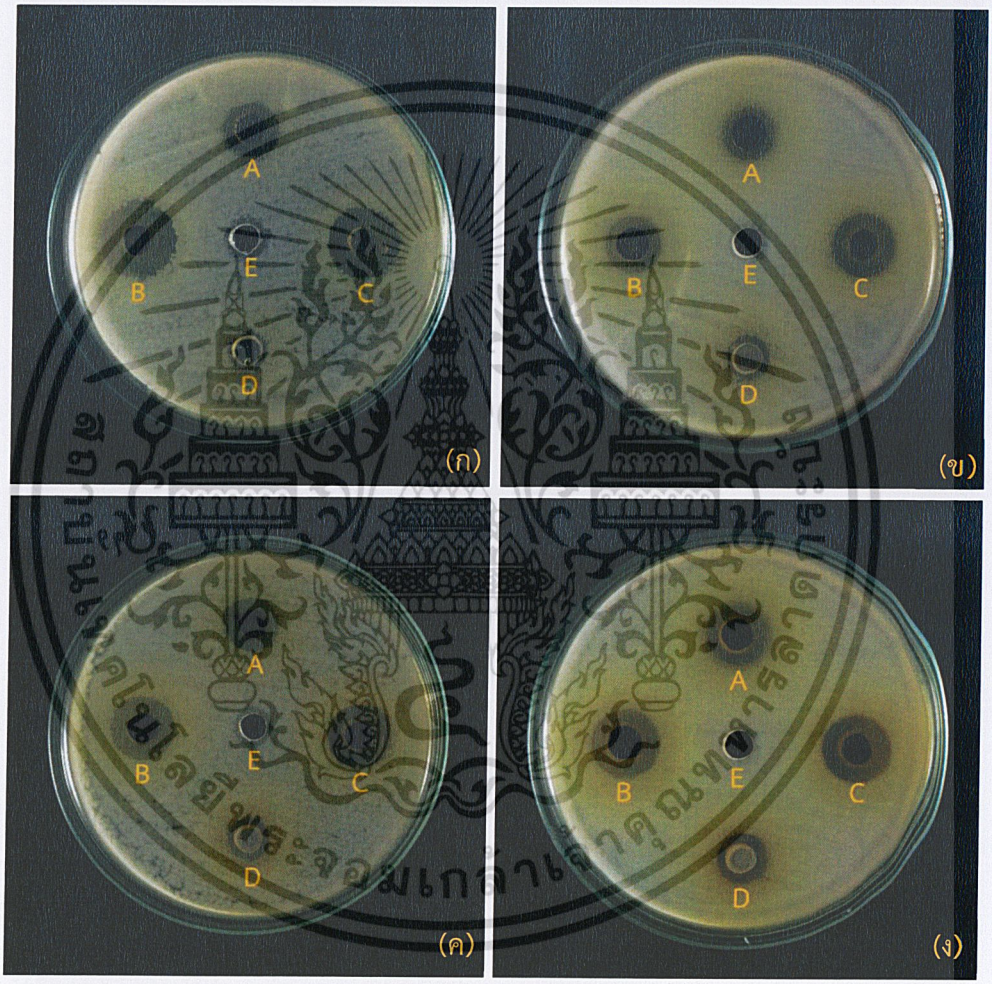
หมายเหตุ – คือ ไม่เกิดการยับยั้ง NT คือ ไม่ทำการทดสอบ

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และตัวอักษรภาษาอังกฤษในแนวตั้งที่ต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (n=15)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว

จากการนำสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 พบว่าสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ได้ทุกความเข้มข้น โดยสารสกัดหยาบเอทานอล 70% มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์มากที่สุด มีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 8.82-11.07 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบเอทานอล 50%, 95% และสารสกัดหยาบน้ำ โดยมีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 8.83-10.66, 6.14-6.94 และ 2.66-4.90 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.1

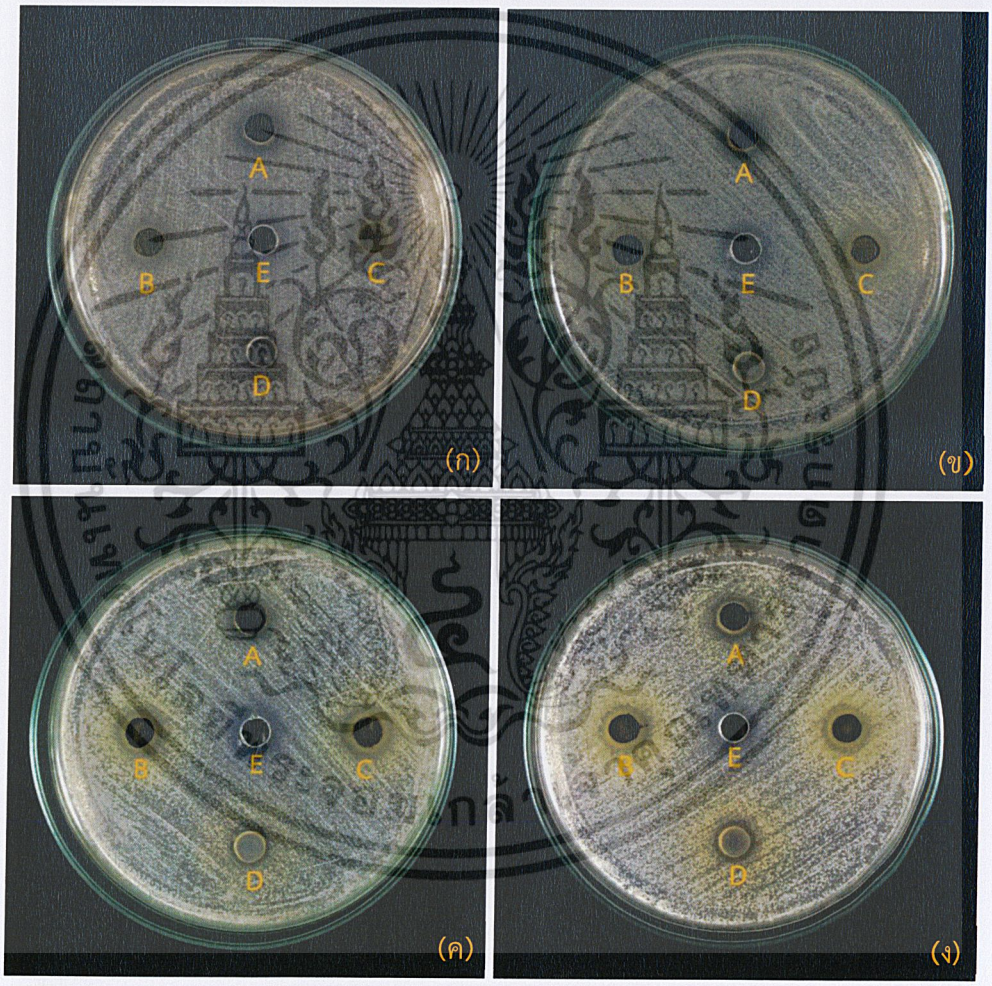


รูปที่ 4.1 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด ((ก) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ข) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ค) ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ง) ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร A : สารสกัดหยาบเอทานอล 95%, B : สารสกัดหยาบเอทานอล 70%, C : สารสกัดหยาบเอทานอล 50%, D : สารสกัดหยาบน้ำ, E : negative control : Dimethyl Sulfoxide)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Candida albicans* ATCC 90028 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว

จากการนำสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง *Candida albicans* ATCC 90028 พบว่าสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อเชื้อ *Candida albicans* ATCC 90028 ได้ทุกความเข้มข้น โดยสารสกัดหยาบเอทานอล 50% มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์มากที่สุด มีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 2.01-3.83 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบเอทานอล 95%, 70% และสารสกัดหยาบน้ำ มีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 2.93-3.39, 2.04-2.74 และ 1.82-2.47 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.2

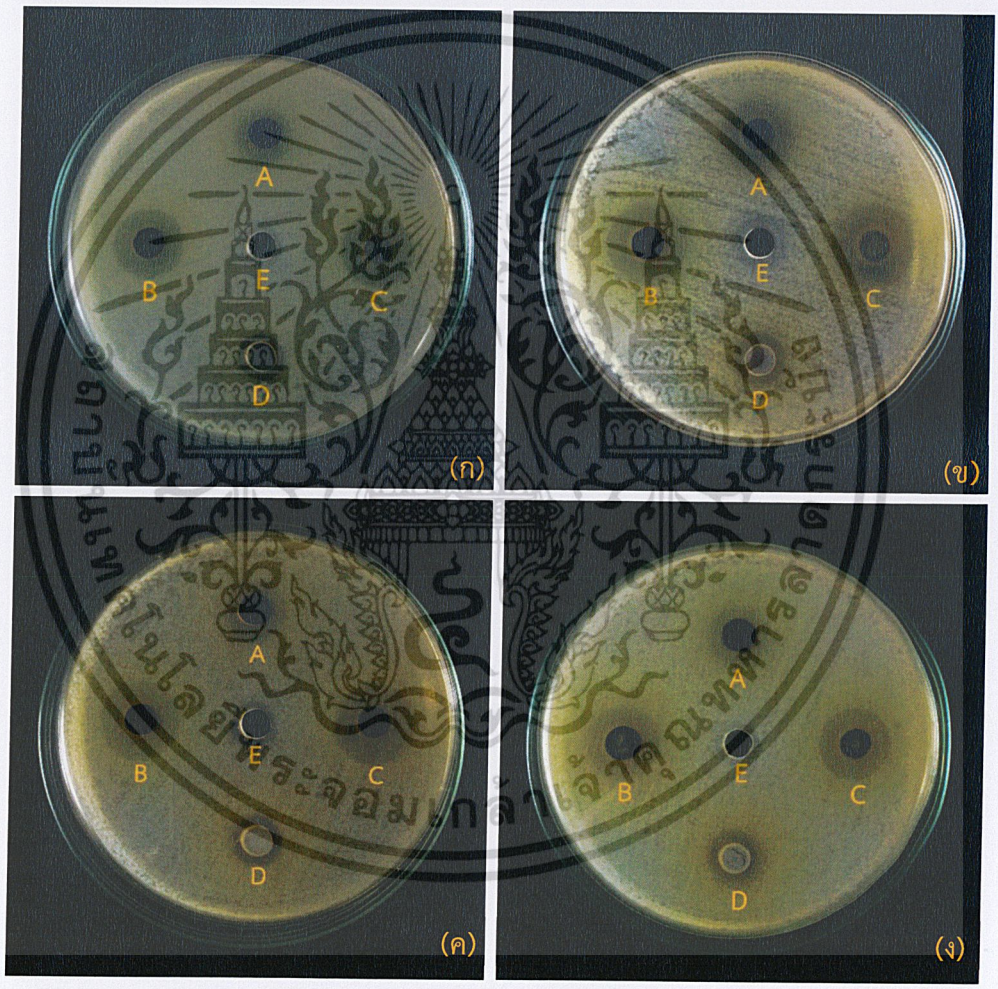


รูปที่ 4.2 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* ATCC 90028 ของสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด ((ก) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ข) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ค) ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ง) ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร A : สารสกัดหยาบเอทานอล 95%, B : สารสกัดหยาบเอทานอล 70%, C : สารสกัดหยาบเอทานอล 50%, D : สารสกัดหยาบน้ำ, E : negative control : Dimethyl Sulfoxide)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว

จากการนำสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง *Escherichia coli* ATCC 25922 พบว่าสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922 ได้ทุกความเข้มข้น โดยสารสกัดหยาบเอทานอล 50% มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์มากที่สุด โดยมีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 10.10-11.60 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบเอทานอล 70%, 95% และสารสกัดหยาบน้ำ โดยมีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 9.80-11.02, 6.80-8.20 และ 3.26-4.61 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.3

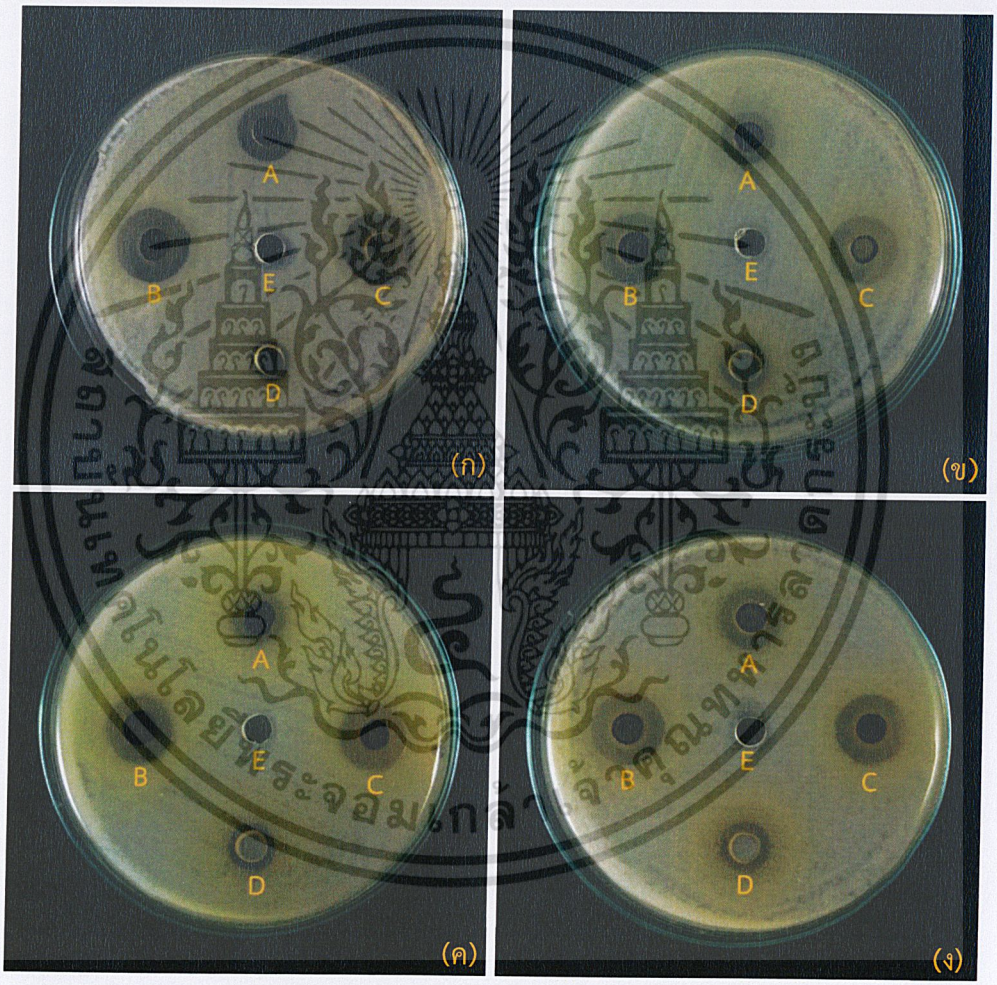


รูปที่ 4.3 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด ((ก) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ข) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ค) ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ง) ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร A : สารสกัดหยาบเอทานอล 95%, B : สารสกัดหยาบเอทานอล 70%, C : สารสกัดหยาบเอทานอล 50%, D : สารสกัดหยาบน้ำ, E : negative control : Dimethyl Sulfoxide)

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว

จากการนำสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง *Micrococcus luteus* TISTR 2374 พบว่าสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ได้ทุกความเข้มข้น โดยสารสกัดหยาบเอทานอล 50% มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์มากที่สุด มีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 7.89-9.98 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบเอทานอล 70%, 95% และสารสกัดหยาบน้ำ โดยมีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 8.44-9.81, 5.77-6.65 และ 0.43-3.86 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.4

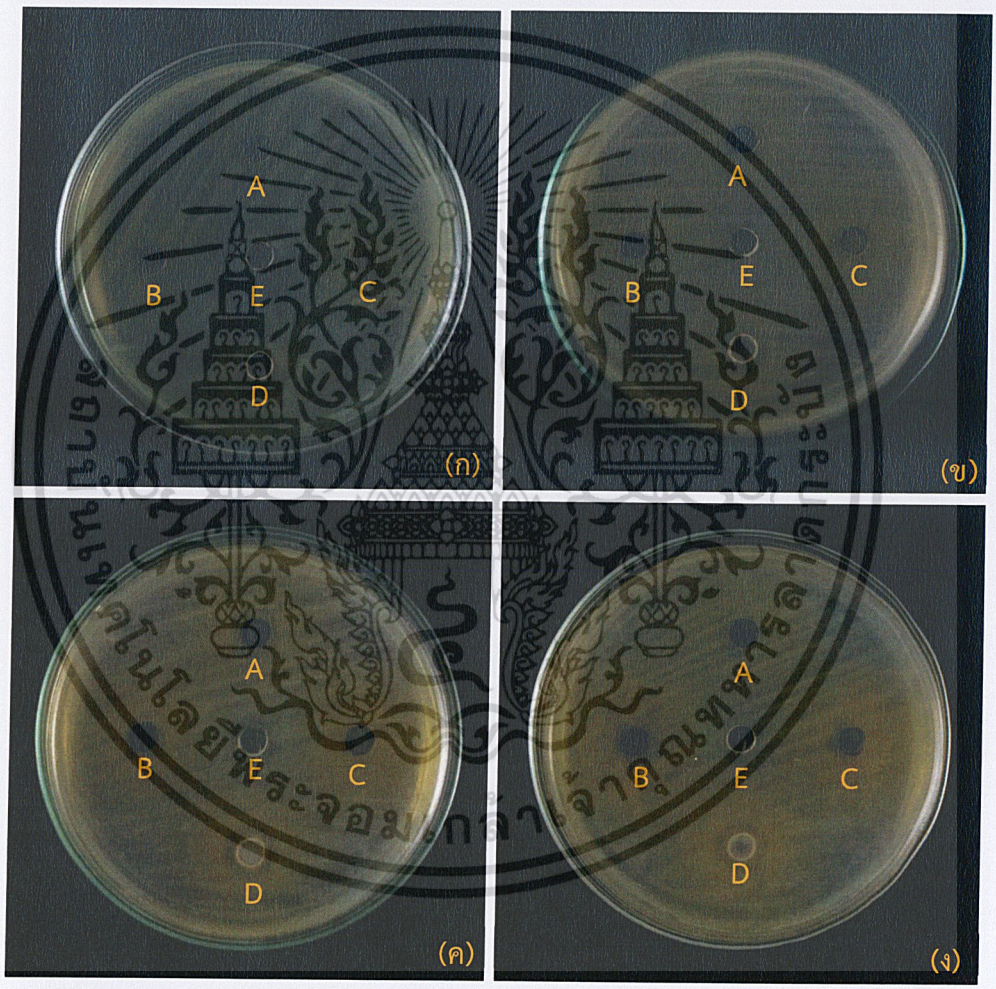


รูปที่ 4.4 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ของสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด ((ก) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ข) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ค) ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ง) ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร A : สารสกัดหยาบเอทานอล 95%, B : สารสกัดหยาบเอทานอล 70%, C : สารสกัดหยาบเอทานอล 50%, D : สารสกัดหยาบน้ำ, E : negative control : Dimethyl Sulfoxide)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว

จากการนำสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 พบว่าสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ได้ที่ความเข้มข้น 200-400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดหยาบน้ำมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์มากที่สุด มีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 2.39-4.36 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบเอทานอล 50%, 95% และสารสกัดหยาบเอทานอล 70% โดยมีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 2.24-2.53, 3.76 และ 1.77-1.82 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.5

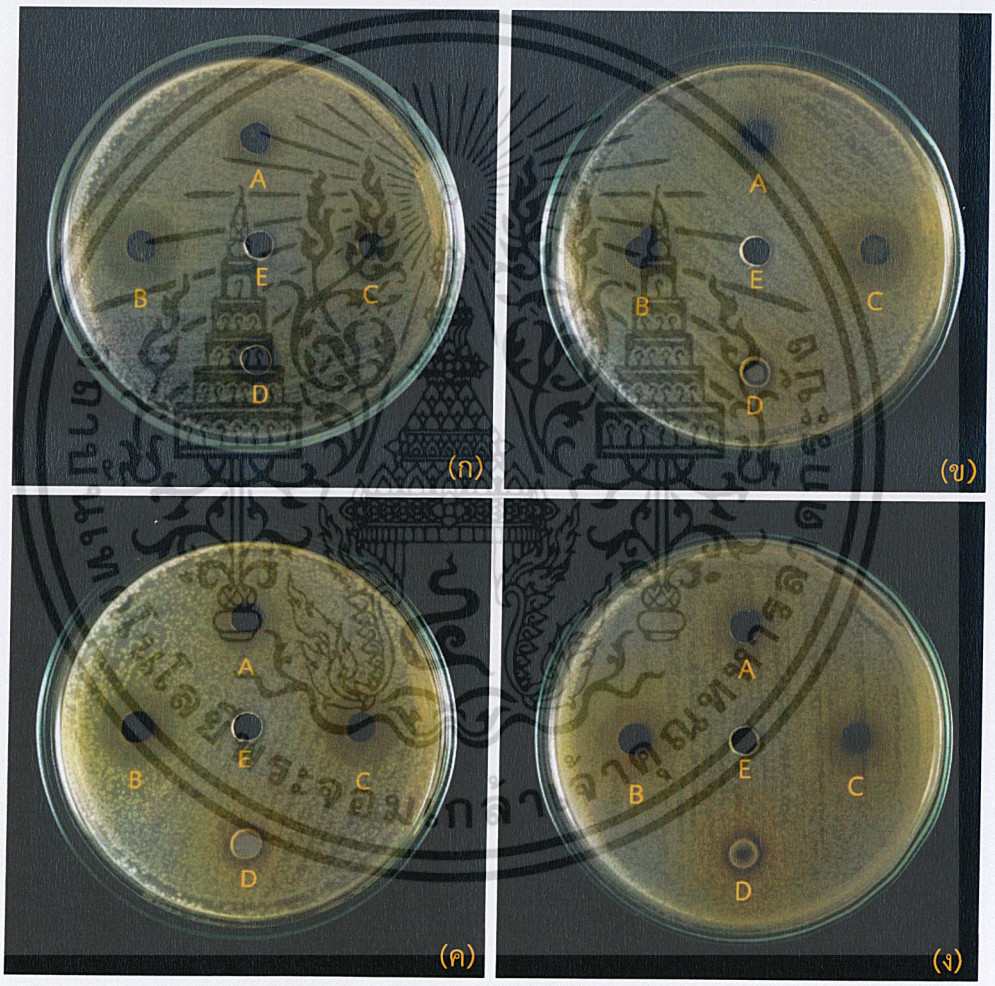


รูปที่ 4.5 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ของสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด ((ก) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ข) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ค) ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ง) ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร A : สารสกัดหยาบเอทานอล 95%, B : สารสกัดหยาบเอทานอล 70%, C : สารสกัดหยาบเอทานอล 50%, D : สารสกัดหยาบน้ำ, E : negative control : Dimethyl Sulfoxide)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ของสารสกัดหยาบใบแก้ว

จากการนำสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* TISTR 118 พบว่าสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ได้ทุกความเข้มข้น โดยสารสกัดหยาบเอทานอล 70% มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์มากที่สุด มีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 9.78-11.64 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบเอทานอล 50%, 95% และสารสกัดหยาบน้ำ โดยมีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 9.37-11.42, 7.89-9.59 และ 2.55-4.77 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.6

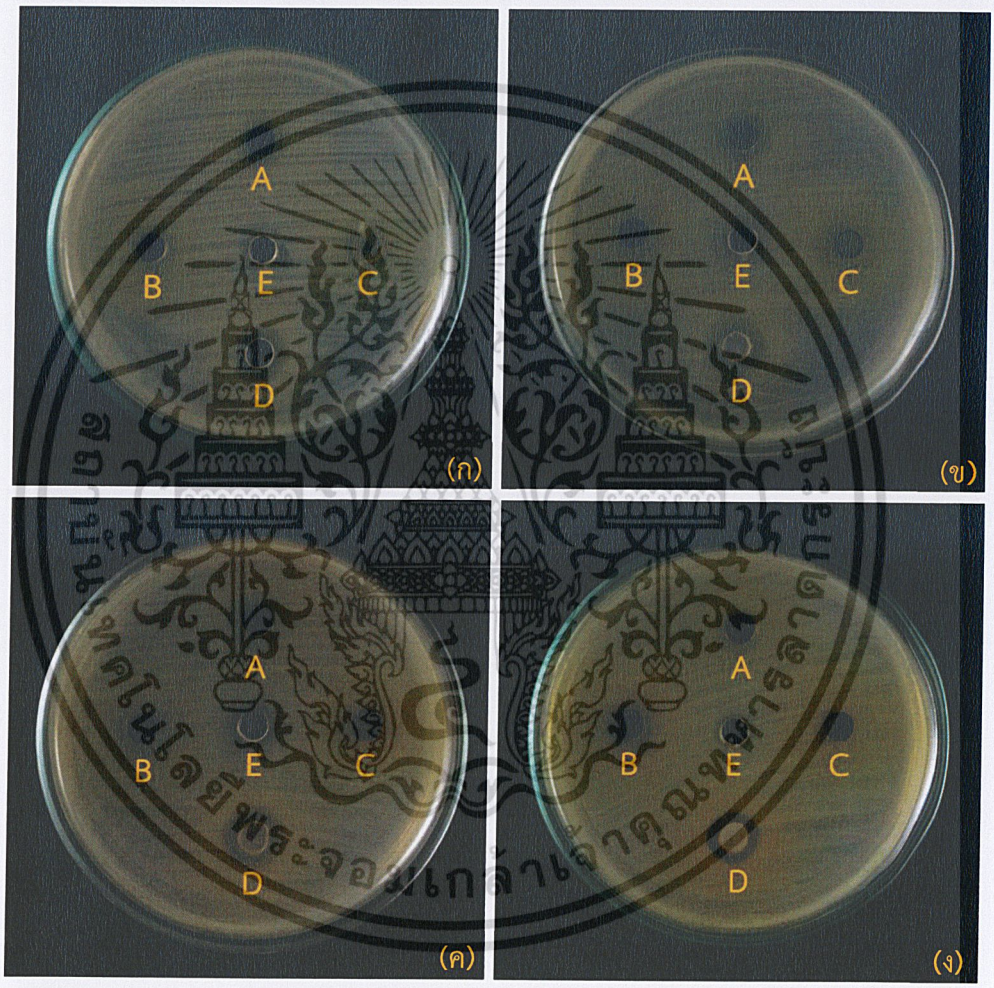


รูปที่ 4.6 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ของสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด ((ก) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ข) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ค) ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ง) ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร A : สารสกัดหยาบเอทานอล 95%, B : สารสกัดหยาบเอทานอล 70%, C : สารสกัดหยาบเอทานอล 50%, D : สารสกัดหยาบน้ำ, E : negative control : Dimethyl Sulfoxide)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ของสารสกัดหยาบใบแก้ว

จากการนำสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* พบว่าสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ได้ทุกความเข้มข้น โดยสารสกัดหยาบน้ำ มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์มากที่สุด มีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 2.69-5.11 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบเอทานอล 95%, 70% และสารสกัดหยาบเอทานอล 50% โดยมีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 2.09-3.42, 1.69-2.36 และ 1.26-2.34 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.7

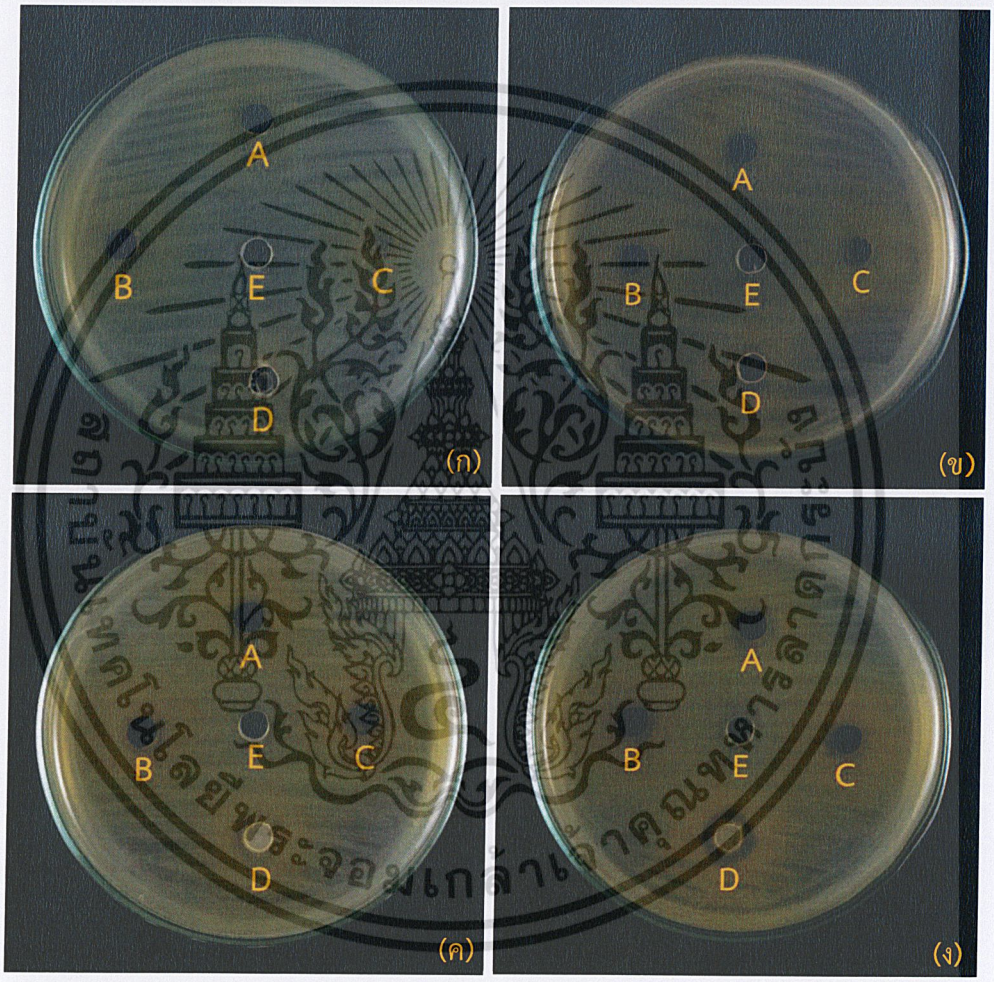


รูปที่ 4.7 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ของสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด ((ก) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ข) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ค) ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ง) ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร A : สารสกัดหยาบเอทานอล 95%, B : สารสกัดหยาบเอทานอล 70%, C : สารสกัดหยาบเอทานอล 50%, D : สารสกัดหยาบน้ำ, E : negative control : Dimethyl Sulfoxide)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้ว

จากการนำสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas* sp. พบว่าสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas* sp. ได้ทุกความเข้มข้น โดยสารสกัดหยาบน้ำ มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์มากที่สุด มีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 1.44-4.73 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบเอทานอล 95%, 50% และสารสกัดหยาบเอทานอล 70% โดยมีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 2.59-3.65, 1.10-2.69 และ 1.56-2.38 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.8

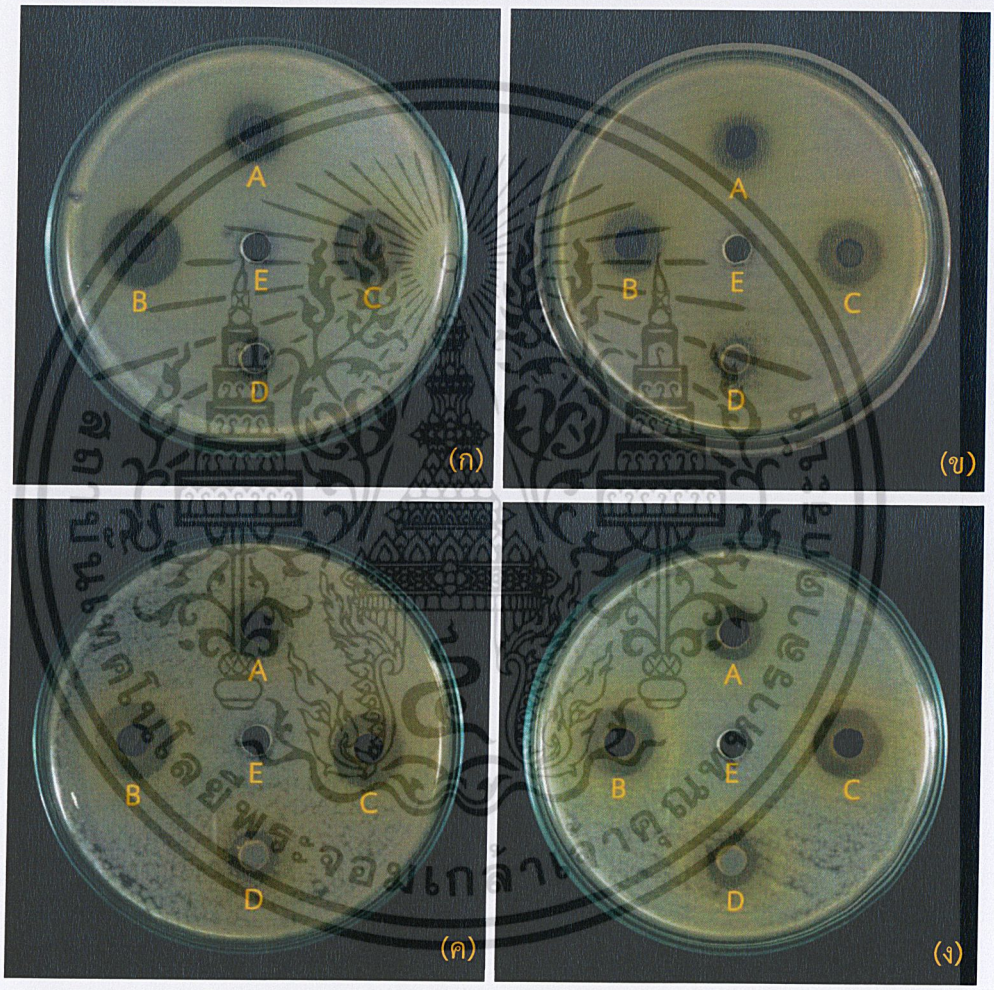


รูปที่ 4.8 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด ((ก) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ข) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ค) ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ง) ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร A : สารสกัดหยาบเอทานอล 95%, B : สารสกัดหยาบเอทานอล 70%, C : สารสกัดหยาบเอทานอล 50%, D : สารสกัดหยาบน้ำ, E : negative control : Dimethyl Sulfoxide)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.9 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Streptococcus* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้ว

จากการนำสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง *Streptococcus* sp. พบว่าสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Streptococcus* sp.ได้ทุกความเข้มข้น โดยสารสกัดหยาบเอทานอล 70% มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์มากที่สุด โดยมีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 8.95-10.39 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบเอทานอล 50%, 95% และสารสกัดหยาบน้ำ โดยมีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 8.36-8.88, 5.56-6.52 และ 2.20-3.49 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.9

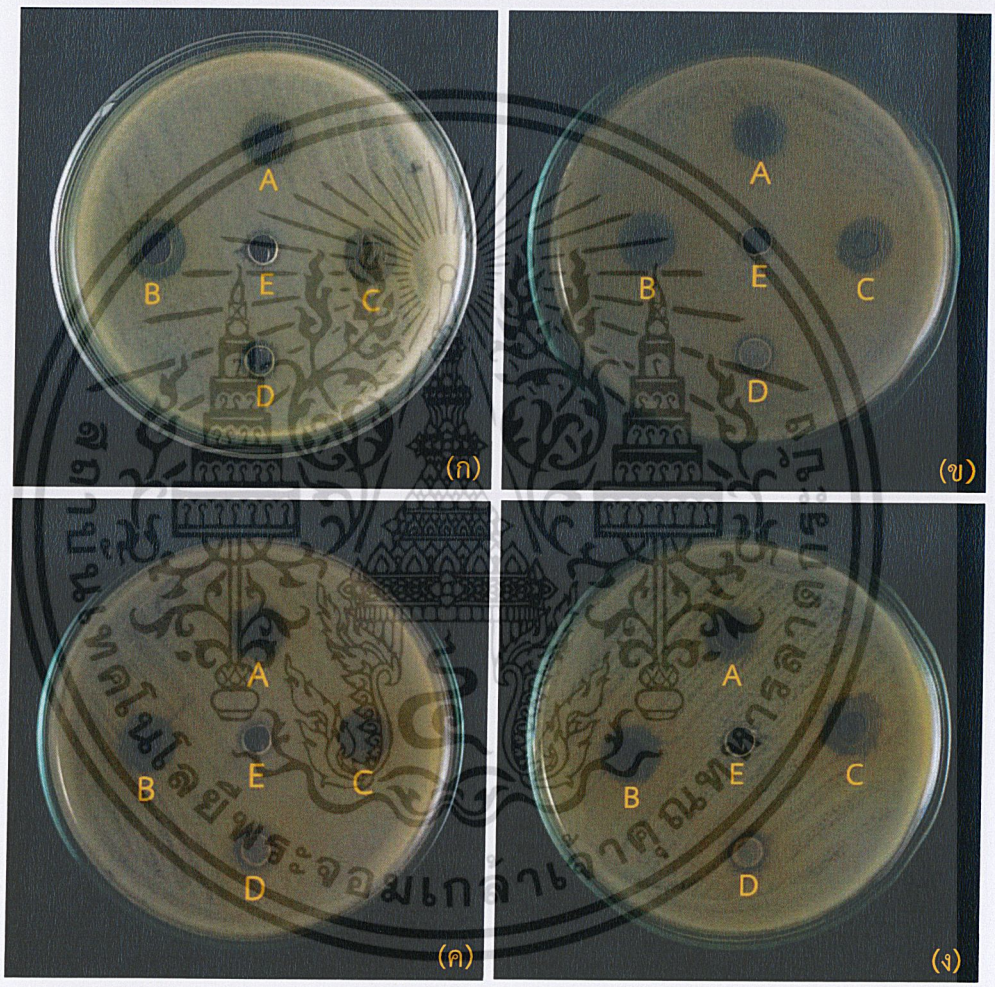


รูปที่ 4.9 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Streptococcus* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด ((ก) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ข) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ค) ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ง) ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร A : สารสกัดหยาบเอทานอล 95%, B : สารสกัดหยาบเอทานอล 70%, C : สารสกัดหยาบเอทานอล 50%, D : สารสกัดหยาบน้ำ, E : negative control : Dimethyl Sulfoxide)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.10 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ของสารสกัดหยาบใบแก้ว

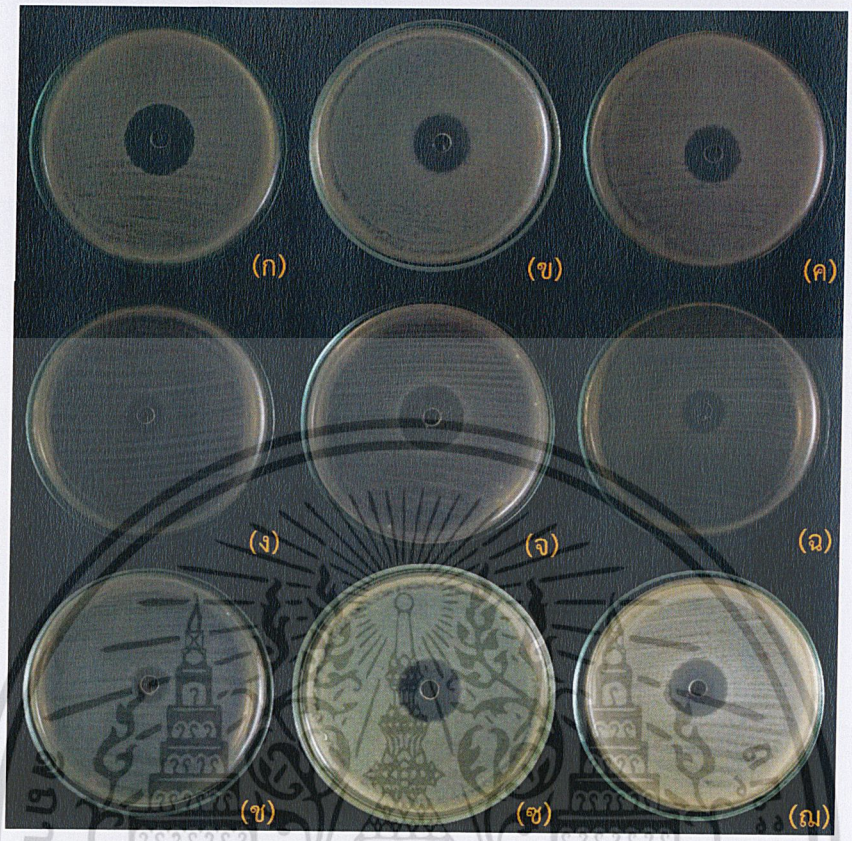
จากการนำสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง *Streptococcus agalactiae* พบว่าสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ได้ทุกความเข้มข้น โดยสารสกัดหยาบเอทานอล 70% มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์มากที่สุด โดยมีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 5.53-6.27 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบเอทานอล 50%, 95% และสารสกัดหยาบน้ำ โดยมีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 4.92-5.85, 4.23-5.24 และ 1.73-2.93 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.10



รูปที่ 4.10 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Streptococcus agalactiae* ของสารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลาย 4 ชนิด ((ก) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ข) ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ค) ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ง) ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร A : สารสกัดหยาบเอทานอล 95%, B : สารสกัดหยาบเอทานอล 70%, C : สารสกัดหยาบเอทานอล 50%, D : สารสกัดหยาบน้ำ, E : negative control : Dimethyl Sulfoxide)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.11 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์โดยใช้ยาปฏิชีวนะ Streptromycin sulfate



รูปที่ 4.11 บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทดสอบโดยใช้ยาปฏิชีวนะ Streptromycin sulfate

(ก) *Bacillus subtilis* ATCC 6633
(ข) *Escherichia coli* ATCC 25922
(ค) *Micrococcus luteus* TISTR 2374
(ง) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
(จ) *Staphylococcus aureus* TISTR 118
(ฉ) *Aeromonas hydrophila*
(ช) *Pseudomanas* sp.
(ซ) *Streptococcus* sp.
(ฌ) *Streptococcus agalactiae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ (MIC) พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอล 95% มีค่า MIC ต่อเชื้อ *Candida albicans* ATCC 90028 ต่ำสุดเท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบเอทานอล 70% มีค่า MIC ต่อเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ต่ำสุดเท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบเอทานอล 50% มีค่า MIC ต่อเชื้อ *Candida albicans* ATCC 90028 ต่ำสุดเท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบน้ำมีค่า MIC ต่อเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ต่ำสุดเท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.7 และจากการทดสอบหาค่าความเข้มข้นที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ 99% (MBC) พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอล 95% มีค่า MBC ต่อเชื้อ *Streptococcus* sp. ต่ำสุดเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบเอทานอล 70% มีค่า MBC ต่อเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 และ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ต่ำสุดเท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบเอทานอล 50% มีค่า MBC ต่อเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ต่ำสุดเท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบน้ำมีค่า MBC ต่อเชื้อที่ใช้ทดสอบทั้งหมดมากกว่า 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.7 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC)

เชื้อทดสอบ	ค่า MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ของสารสกัดหยาบ			
	เอทานอล 95%	เอทานอล 70%	เอทานอล 50%	น้ำ
Bacillus subtilis ATCC 6633	50	12.5	25	25
Candida albicans ATCC 90028	6.25	25	12.5	50
Escherichia coli ATCC 25922	25	25	25	100
Micrococcus luteus TISTR 2374	50	6.25	25	50
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	100	100	100	100
Staphylococcus aureus TISTR 118	50	12.5	50	50
Aeromonas hydrophila	50	50	50	50
Pseudomonas sp.	100	100	100	100
Streptococcus sp.	50	25	25	50
Streptococcus agalactiae	50	50	50	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ค่าความเข้มข้นที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ 99% (Minimum Bactericidal Concentration, MBC)

เชื้อทดสอบ	ค่า MBC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ของสารสกัดหยาบ			
	เอทานอล 95%	เอทานอล 70%	เอทานอล 50%	น้ำ
Bacillus subtilis ATCC 6633	>100	12.5	12.5	>100
Candida albicans ATCC 90028	>100	>100	100	>100
Escherichia coli ATCC 25922	>100	>100	>100	>100
Micrococcus luteus TISTR 2374	>100	12.5	25	>100
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	>100	>100	>100	>100
Staphylococcus aureus TISTR 118	>100	>100	>100	>100
Aeromonas hydrophila	>100	100	100	>100
Pseudomonas sp.	>100	>100	>100	>100
Streptococcus sp.	100	25	25	>100
Streptococcus agalactiae	>100	>100	>100	>100

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไป 6 ชนิดและจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในปลานิล 4 ชนิด พบว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95%, 70%, 50% และน้ำ มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบทุกชนิด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gautum และคณะ (2012b) รายงานว่า สารสกัดหยาบใบแก้วจากตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ เมทานอล เอทานอล และน้ำผสมแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคในมนุษย์ เช่น *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *S. flexinerrii*, *S. aureus* และ *S. sonneii* โดยสารสกัดใบแก้วมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มอัลคัลลอยด์ ฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก โดยกลไกการออกฤทธิ์ของสารประกอบฟีนอลิก คือ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดความเสียหาย ทำให้องค์ประกอบภายใน เช่น โปรตีน กลูตาเมท โพแทสเซียม และฟอสเฟตรั่วออกมาภายนอกเซลล์ของแบคทีเรีย กลไกการออกฤทธิ์ของฟลาโวนอยด์ คือ ยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก การทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ และกระบวนการเมทาบอลิซึม จึงทำให้สารสกัดใบแก้วมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ (Sayar และคณะ, 2014) นอกจากนี้ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียขึ้นอยู่กับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด โครงสร้างของสารประกอบในสารสกัด ซึ่งสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกันจะมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และมีปริมาณที่แตกต่างกันด้วย จึงเป็นผลทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแตกต่างกันอีกด้วย (Padalia และ Chanda, 2015)

4.6 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง Gas chromatography-Mass spectrometry (GC-MS)

การวิเคราะห์เชิงคุณภาพและปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยองค์ประกอบทางเคมีที่สกัดได้จากสารสกัดหยาบจากใบแก้วที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ เอทานอล 95%, 70%, 50% และน้ำ มีสภาพความเป็นขั้วที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้เครื่อง GC-MS ในการวิเคราะห์ ดังแสดงในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง Gas chromatography-Mass spectrometry (GC-MS)

R.T. (min)	Compound	ปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดหยาบ (%)			
		เอทานอล 95%	เอทานอล 70%	เอทานอล 50%	น้ำ
20.65	2-Methoxy-4-vinylphenol	0.684	2.979	3.746	8.743
22.14	α-Copaene	0.202	-	-	-
22.52	β-Cubebene	0.631	-	-	-
23.29	trans-Caryophyllene	3.821	-	-	-
24.16	α-Humulene	0.384	-	-	-
24.85	Germacrene D	1.976	-	-	-
25.24	Germacrene B	0.275	-	-	-
25.60	Phenol	-	-	-	0.368
25.76	α-Amorphene	0.115	-	-	-
25.92	delta-Cadinene	0.105	-	-	-
26.64	Undecylenic Acid	-	-	-	5.618
27.02	3,4-Dimethoxy-2-methylbenzaldehyde	-	-	0.441	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 (ต่อ) ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง Gas chromatography-Mass spectrometry (GC-MS)

R.T. (min)	Compound	ปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดหยาบ (%)			
		เอทานอล 95%	เอทานอล 70%	เอทานอล 50%	น้ำ
27.02	2, 6-Dimethyl-3-(methoxymthyl)-p-benzoquinone	-	-	-	1.576
27.05	1,4-Dihydrophenanthrene	-	0.388	-	-
27.30	(+)-spathulenol	0.619	-	-	-
27.42	(-)-Caryophyllene oxide	0.215	-	-	-
28.10	Quinic acid	1.176	13.644	15.313	16.071
28.50	1,4-Cycloheptadiene	0.247	-	-	-
28.55	α-Cadinol	0.254	-	-	-
28.80	1,4-Methono-1H-indene	0.208	-	-	-
29.35	cis-Z-α-Bisabolene epoxide	0.633	-	-	-
31.45	(-)-trans Pinane	0.313	-	-	-
32.89	Hexadecanoic acid	1.135	0.546	0.464	-
33.25	Hexadecanoic acid ethyl ester	0.987	2.227	0.381	-
34.47	Phytol	5.083	2.203	0.496	-
34.72	Bicyclo [4.3.1]dec-1(9)-ene	-	-	0.363	-
34.72	11,14,17-Eicosatrienoic acid	-	0.638	-	-
34.74	9,12,15-Octadecatrien-1-ol	2.227	-	-	-
35.004	9,12,15-Octadecatrienoic acid ethyl ester	2.059	-	-	-
35.006	Ethyl linoleolate	-	-	1.191	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 (ต่อ) ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง Gas chromatography-Mass spectrometry (GC-MS)

R.T. (min)	Compound	ปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดหยาบ (%)			
		เอทานอล 95%	เอทานอล 70%	เอทานอล 50%	น้ำ
35.01	9,12,15-Octadecatrienoic acid	-	5.907	-	-
35.13	Hexadecanamide	0.736	0.795	1.407	1.921
35.79	7-Methoxy-8-(2-oxo-3-methylbutyl) coumarin	-	-	-	0.523
35.83	7-Methoxy-8-(2-formyl-2-methylpropyl)coumarin	8.236	2.731	2.873	-
36.10	5,7-Dimethoxy-2-(prop-2'-enyl)-1,4-naphthoquinone	5.375	-	-	-
36.11	Murrialongin	-	10.22	5.885	-
36.20	9-Anthracenecarbonitrile	-	-	-	0.703
36.43	3-oxo-isocostic acid	-	6.877	-	-
36.43	Cyclohepta[a]phenalen-7,12-dione	-	-	10.75	-
36.46	2H-Naphtho[1,8-bc]furan-6,7-dione	28.307	-	-	-
36.75	9-Octadecenamide	9.496	16.593	26.446	38.276
37.25	N,N-Dimethyl-2-phenylcyclopropanethioamide	-	-	2.37	-
37.254	2-Amino-4-hydroxy-6,7,8-trimethylpteridine	8.376	-	-	-
37.254	N,O-permethyl-N-acetylglycyl tyrosinamide	-	5.146	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

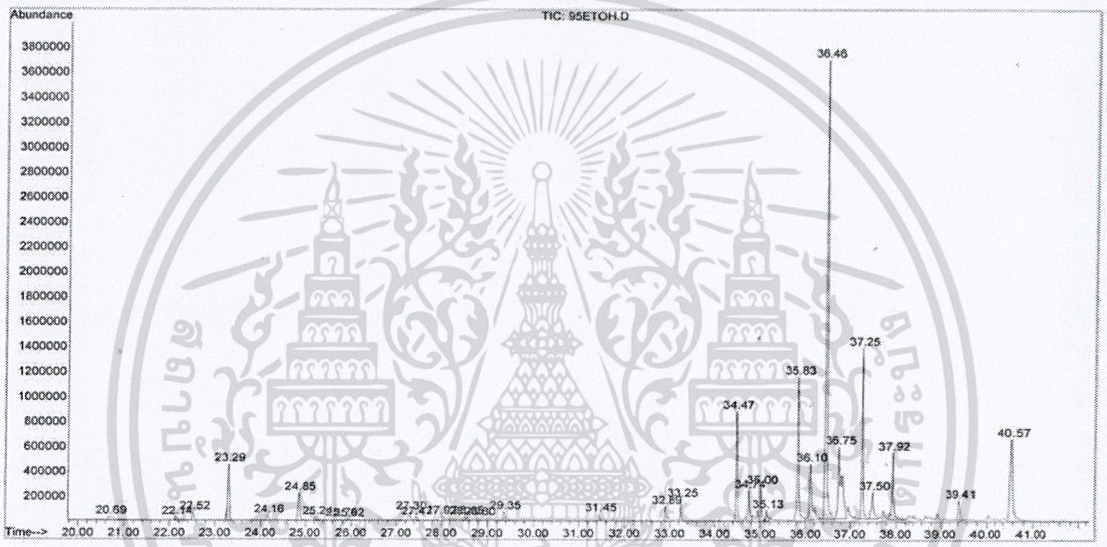
ตารางที่ 4.9 (ต่อ) ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง Gas chromatography-Mass spectrometry (GC-MS)

R.T. (min)	compound	ปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดหยาบ (%)			
		เอทานอล 95%	เอทานอล 70%	เอทานอล 50%	น้ำ
37.487	3-Methoxy-6-Bromo-1, 2, 4-Triazine 1-oxide	-	-	-	21.933
37.496	1,3-Dioxa-2,4,6-trisilacyclohexane	2.407	-	-	-
37.498	3-Methoxy-6-bromo-1,2,4-triazine 1-oxide	-	-	14.927	-
37.51	(Z)-3-(Dimethylphenylsilyl) acrilic Acid Methyl Ester	-	16.447	-	-
37.92	5,7-Dimethoxy-8-(2'-keto-3-methylbutyl)coumarin	4.556	1.966	2.578	-
38.31	Dihydro-indolopyridocoline	-	-	0.774	-
38.68	9-Octadecenamide	-	0.933	1.64	1.66
38.91	Pyrido[3,2-d]pyrimidine-2	-	0.549	-	-
38.92	2-Isobenzazol	-	-	0.642	-
39.42	2H-1-Benzopyran-2-one	1.639	0.848	-	-
40.032	5-Nitrobenzofuran-2-carboxylic acid	-	1.91	-	-
40.034	Hexahydropyridine	-	-	1.709	-
40.04	2-Propen-1-one	-	-	-	2.608
40.56	2,4-Dinitro-6-(2-Butyl)-Phenyl-.beta.,.beta.-Dimethylacrylsaeureester	7.526	6.454	5.585	-
	Total identified (%)	100.003	100.001	99.981	100.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6.1 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเอทานอล 95%

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบใบแก้วด้วยเครื่อง GC-MS โดยอาศัย Mass fragmentation ของ MS เทียบกับฐานข้อมูล พบว่าสารสกัดหยาบเอทานอล 95% มีองค์ประกอบทางเคมีหลัก ได้แก่ 2 H-Naphtho[1,8-bc]furan-6,7-dione 28.307%, 9-Octadecenamide 9.496%, 2-Amino-4-hydroxy-6,7,8-trimethylpteridine 8.376%, 7-Methoxy-8-(2-formyl-2-methylpropyl)coumarin 8.236% และ 2,4-Dinitro-6-(2-Butyl)-Phenyl-.beta.,.beta.-Dimethylacrylsaeureester 7.526% โดยมี Retention time ในนาทีที่ 36.46, 36.75, 37.25, 35.83 และ 40.57 ตามลำดับ (รูปที่ 4.12)

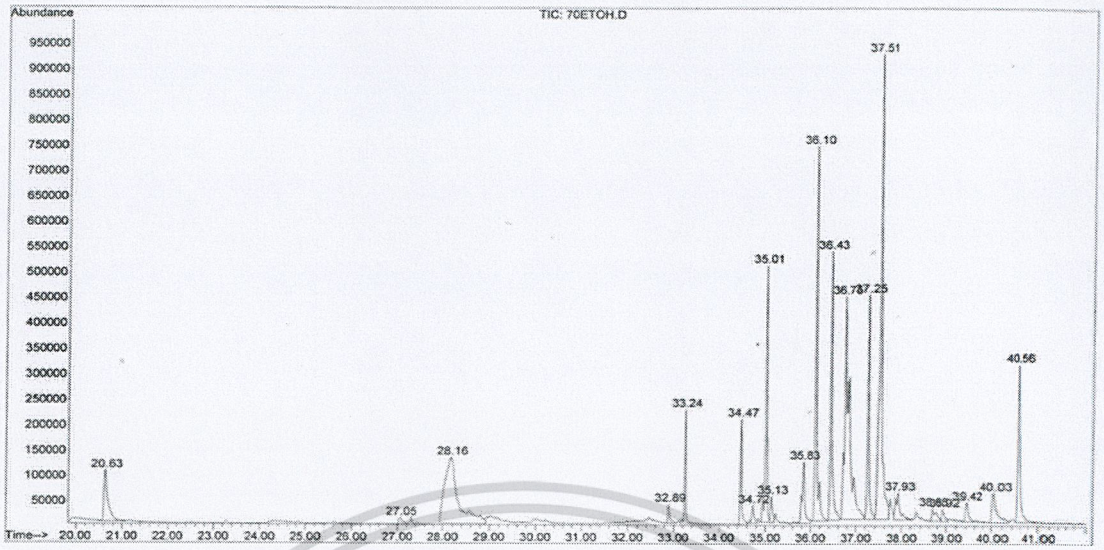


รูปที่ 4.12 โครมาโตแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเอทานอล 95%

4.6.2 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเอทานอล 70%

สารสกัดหยาบเอทานอล 70% มีองค์ประกอบทางเคมีหลัก ได้แก่ 9-Octadecenamide 16.593% (Z)-3-(Dimethylphenylsilyl) acrilic Acid Methyl Ester 16.447% Quinic acid 13.644% Murrialongin 10.22% และ 3-oxo-isocostic acid 6.877% โดยมี Retention time ในนาทีที่ 36.75 37.51 28.16 36.10 และ 36.43 ตามลำดับ (รูปที่ 4.13)

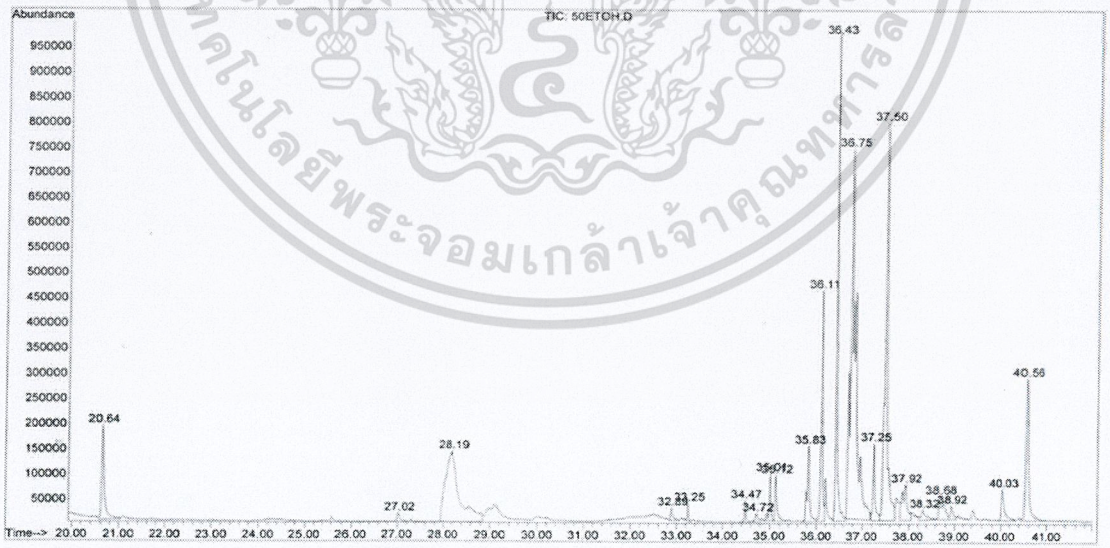
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 โครมาโตแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเอทานอล 70%

4.6.3 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเอทานอล 50%

สารสกัดหยาบเอทานอล 70% มีองค์ประกอบทางเคมีหลัก ได้แก่ 9-Octadecenamide 26.446% Quinic acid 15.313% 3-Methoxy-6-bromo-1,2,4-triazine 1-oxide 14.927% Cyclohepta[a]phenalen-7,12-dione 10.75% และ Murrialongin 5.885% โดยมี Retention time ที่นาทีที่ 36.75 28.19 37.50 36.43 และ 36.11 ตามลำดับ (รูปที่ 4.14)

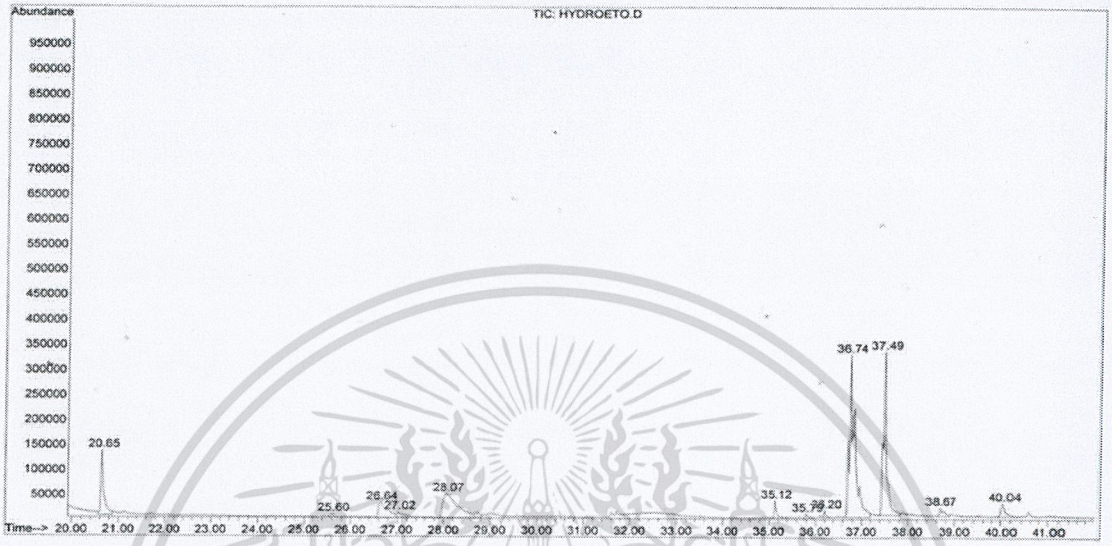


รูปที่ 4.14 โครมาโตแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเอทานอล 50%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6.4 ผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบน้ำ

สารสกัดหยาบน้ำมีองค์ประกอบทางเคมีหลัก ได้แก่ 9-Octadecenamide 38.276% 3-Methoxy-6-Bromo-1, 2, 4-Triazine 1-oxide 21.933% และ Quinic acid 16.071% โดยมี Retention time ที่นาทีที่ 36.74 37.49 และ 28.07 ตามลำดับ (รูปที่ 4.15)



รูปที่ 4.15 โครมาโตแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบน้ำ

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด พบองค์ประกอบทางเคมีที่เหมือนกันในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ 2-Methoxy-4-vinylphenol, Quinic acid อยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก และ Hexadecanamide, 9-Octadecenamide อยู่ในกลุ่มเอไมด์ โดยปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดหยาบแปรผันตรงกับความมีขั้วของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด คือ เอทานอล 95%, 70%, 50% และน้ำ ตามลำดับจากขั้วน้อยไปมาก ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH ที่พบว่าสารสกัดหยาบน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH สูงสุด อาจเนื่องมาจากปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีที่พบเหมือนกันในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดของสารสกัดหยาบน้ำมีมากที่สุด และเนื่องจากพบเฉพาะ 2H-Naphtho[1,8-bc]furan-6,7-dione ในสารสกัดหยาบเอทานอล 95% ในปริมาณสูง ซึ่งอยู่ในกลุ่มอัลคาลอยด์ อาจเป็นผลให้สารสกัดหยาบเอทานอล 95% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด นอกจากนี้ยังพบองค์ประกอบทางเคมีในสารสกัดหยาบใบแก้วที่อยู่ในกลุ่มเอไมด์ เช่น N,N-Dimethyl-2-phenylcyclopropanethioamide และ N,O-permethyl-N-acetylglycyl tyrosinamide เป็นต้น กลุ่มสารประกอบฟีนอลิก เช่น phenol และ Phytol เป็นต้น กลุ่มเทอร์พีนอยด์ เช่น Germacrene D และ trans-Caryophyllene เป็นต้น และกลุ่มคูมาริน เช่น 7-Methoxy-8-(2-oxo-3-methylbutyl)coumarin และ 7-Geranyloxycoumarin เป็นต้น เป็นผลให้สารสกัดหยาบมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ (Tiwari และคณะ, 2011) โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของภรภัทร (2554) ที่รายงานว่า ตัวทำละลายเมทานอลมีสมบัติความมีขั้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใกล้เคียงกับองค์ประกอบทางเคมีในกระเทียม ทำให้สารสกัดเมทานอลพบปริมาณสารองค์ประกอบทางเคมีสูงที่สุด นอกจากนี้ เมธิน และคณะ (2559) รายงานว่า สารจำพวกฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบที่มีหมู่ไฮดรอกซิลซึ่งเป็นหมู่ฟังก์ชันที่ทำให้ความมีขั้วของโมเลกุลของสารมากขึ้น จึงสามารถละลายออกมากับตัวทำละลายที่มีขั้วมาก เช่น เมทานอล ทำให้ได้สารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในปริมาณสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบใบแก้ว (*Murraya paniculata* L.) ด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ เอทานอล 95%, 70%, 50% และน้ำ พบว่า สารสกัดหยาบเอทานอล 50% ให้ปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด เท่ากับ 14.87% รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบน้ำ สารสกัดหยาบเอทานอล 95% และสารสกัดหยาบเอทานอล 70% โดยมีเปอร์เซ็นต์ผลได้ เท่ากับ 14.87%, 14.37%, 12.88% และ 11.37% ตามลำดับ

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical scavenging พบว่า สารสกัดหยาบน้ำ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.23 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบเอทานอล 70%, 50% และสารสกัดหยาบเอทานอล 95% โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.66 2.70 และ 2.86 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-ciocalteu พบว่า สารสกัดหยาบเอทานอล 95% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด เทียบเท่ากับ 51.99±0.36 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบน้ำ เอทานอล 70% และ 50% โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เทียบเท่ากับ 38.57±1.17, 36.76±0.43 และ 36.52±0.81 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ในส่วนของการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่า สารสกัดหยาบเอทานอล 95% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด เทียบเท่ากับ 68.01±2.16 มิลลิกรัมเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบเอทานอล 70% น้ำ และสารสกัดหยาบเอทานอล 50% โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เทียบเท่ากับ 39.23±0.39, 19.34±0.04 และ 0.82±0.19 มิลลิกรัมเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไปด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่า สารสกัดหยาบเอทานอล 95%, 70%, 50% และสารสกัดหยาบน้ำมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไปทั้ง 6 ชนิด โดยสารสกัดหยาบเอทานอล 70% มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 สูงที่สุดที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบที่ได้จากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ส่วนการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในปลานิล พบว่า สารสกัดหยาบที่ได้จากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด ดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในปลานิลทั้ง 4 ชนิด โดยสารสกัดหยาบเอทานอล 70% มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Streptococcus* sp. สูงที่สุดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบน้ำที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas* sp. จากผลการทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งจุลินทรีย์ (MIC) ของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หยาบเอทานอล 95% และ 70% มีค่า MIC ต่อเชื้อ *Candida albicans* ATCC 90028 และ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ต่ำสุดเท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเท่ากัน และค่าความเข้มข้นที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ 99% (MBC) ของสารสกัดหยาบเอทานอล 70% และ 50% มีค่า MBC ต่อเชื้อ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 และ *M. luteus* TISTR 2374 เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเช่นเดียวกัน

ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง GC-MS ของสารสกัดหยาบที่ได้จากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด พบองค์ประกอบทางเคมีที่เหมือนกัน ได้แก่ 2-Methoxy-4-vinylphenol, Quinic acid, Hexadecanamide และ 9-Octadecenamide โดยสารสกัดหยาบน้ำมีปริมาณสูงที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบเอทานอล 50% สารสกัดหยาบเอทานอล 70% และสารสกัดหยาบเอทานอล 95% ตามลำดับ จากผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายเป็นปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบใบแก้วในการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งจุลินทรีย์

5.2 ข้อเสนอแนะ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของงานวิจัยนี้ ศึกษาเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ดังนั้นจึงควรศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีอื่นๆเพิ่มเติม เพื่อให้ทราบถึงสารออกฤทธิ์ที่มีความแม่นยำมากยิ่งขึ้น เช่น การทดสอบด้วยวิธี FRAP, ORAC และ ABTS เป็นต้น และควรทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ เนื่องจากเคยมีรายงานวิจัยอื่นๆ ที่ระบุว่าสารสกัดหยาบใบแก้วมีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งได้

นอกจากนี้ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างสารสำคัญของพืชที่ต้องคำนึง ได้แก่ ธรรมชาติของพืช สภาวะแวดล้อมในการเจริญเติบโต ฤดูกาล ช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างพืช และโรคพืช ซึ่งการเก็บตัวอย่างพืชนั้นต้องทำในระยะเวลาที่เหมาะสม เพื่อให้ได้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กันย์ชลา แก้วอุพัย. 2556. “ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเอื้องหมายนาจากป่าพรุสิรินธร จังหวัดนราธิวาส.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา, มหาวิทยาลัยบูรพา.

กัลยา ไชยสิทธิ์ตระกูล. 2551. “การผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อ *Aeromonas hydrophila*.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

คณะกรรมการวิชาการพิจารณามาตรฐานสินค้าเกษตร. 2553. **การชันสูตรโรคสเตรปโทคอกคัสในปลานิล.**

คณะอนุกรรมการสถิติสาขาสุขภาพและคณะทำงานสถิติสาขาสุขภาพ. 2558. **แผนพัฒนาสถิติสาขาสุขภาพ ฉบับที่ 1.**

จารวี สุขประเสริฐ และสุบงกช ทรัพย์แตง. 2555. “การศึกษาผลของตัวทำละลายในการสกัดสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรีย.” กรมวิทยาศาสตร์บริการ. 1(1) : 99-109.

จารุวรรณ แซ่เอง. 2559. “ผลของสารสกัดจากใบพืชบางชนิดต่อการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืชและพืชปลูกบางชนิด.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาศึกษา, มหาวิทยาลัยบูรพา.

จิรายุพิณ จันทรประสงค์ และวชิรพรศ์ หวลบุตตา. 2542. **ไม้ต้นประดับ.** 2. กรุงเทพฯ. อมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์ พับลิชชิ่ง.

ชัชณาภรณ์ กสิฤกษ์, ชุติมา วิฑูรสุนทร และณิศศา อินยอด. 2556. “การทดสอบคุณสมบัติของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่แยกได้จากลำไส้ปลานิลแดง.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ชื่นชนก แก้วนรินทร์, ทิพย์วัลย์ ขาวอ่อน และภัทรสิริ คำขาว. 2555. “การศึกษาแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในปลานิลแดงที่เลี้ยงในกระชัง.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ทัศนีย์ นลวชัย และจิตรา ดวงแก้ว. 2559. “ผลของสารสกัดสมุนไพรไทยต่อการยับยั้งเจริญเติบโตของเชื้อ *Aeromonas hydrophila*.” แก่นเกษตร 44 (ฉบับพิเศษ 1) : 124-129.

ธีรนาฏ กาลปักษ์, ประพฤติ พรหมสมบูรณ์ และสัจจา ก้อนพราหม. 2557. “อายุการใช้งานของแก้วในสภาพน้ำท่วมขัง.” แก่นเกษตร 42 (ฉบับพิเศษ 3) : 567-572.

นิลุบล กิจอันเจริญ, ปรียา หวังสมนึก, สินีนาฏ ศิริ และนงนุช สุวรรณเพ็ง. 2544. “การพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยหาเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในปลาน้ำจืดเศรษฐกิจโดยเทคนิค PCR.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาประมง, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

บุษกร อุตรภชาติ. 2552. **จุลชีววิทยาทางอาหาร.** พิมพ์ครั้งที่ 4. สงขลา. : นำศิลป์โฆษณา.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปิยะ เฉลิมกลิ่น, รังสิมา ตัณฑเลขา, กมลวรรณ เอี่ยมกุล และชัยเชษฐ์ ตันถิ่นทอง. 2546" **หอมกลิ่นดอกไม้ในเมืองไทย.** กรุงเทพฯ : จัรวัฒน์ เอ็กซ์เพรส.

พอตา ชัยกิจ. 2559. "การทดสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมี การต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของชุมเห็ดเทศ." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา, มหาวิทยาลัยบูรพา.

พิชญดา ฉายแสง. 2552. "การผลิตและการเสริมสร้างมูลค่าของน้ำมันหอมระเหยจากเศษเหลือไม้เทพทาโร." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พิชิต สุดตา. 2558. "การใช้ประโยชน์ทางยาพื้นบ้าน สารพฤกษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของมะข่วง." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี, มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี.

ภรภัทร ตั้งวรกิตติ์ และรังสินี โสธรวิทย์. 2554. "ปัจจัยที่มีผลต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากกระเทียม." หน้า 720-728. ใน **การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 8.** นครปฐม : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน.

ภัทรชัย กีรติสิน. 2549. **ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์.** กรุงเทพฯ : วี.เจ. พริ้นติ้ง.

ภัสสร์พัณณ์พ ศรีวิชัย, วิลาวรรณ ศิริพูนวิวัฒน์, ดนุวัต เพ็งอ้น และกานรวีต์ ขยัน. 2551. "สารสกัดอย่างหยาบของพืชสมุนไพรบางชนิดที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum.*" มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

เมธิน ผดุงกิจ, พรพรรณ เหล่าวชิระสุวรรณ, เนตรชนก จอมคำสิงห์ และวริท จันทะศรี. 2559. "การตรวจสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกำลังวัวเถลิง." การประชุมวิชาการ "มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ครั้งที่ 12". 312-319.

เรณู คำหอม. 2559. "การทดสอบสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของปีบ." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา, มหาวิทยาลัยบูรพา.

วรรณา แต้. 2546. **ไม้ประดับสวน.** กรุงเทพฯ : แม็ค.

วาทินี เสล่าราษฎร์. 2559. "การสกัด การตรวจสอบสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และต้านเชื้อแบคทีเรียของทุเรียนเทศ." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา, มหาวิทยาลัยบูรพา.

วารีรัตน์ หนูหีต. 2557. "การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัสโดยใช้สารสกัดจากพืชตระกูลขิง." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการ สิ่งแวดล้อม , มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ศรัณยา ลาภส่งผล. 2550. "ผลของสภาวะการอบแห้งต่อสารประกอบระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสและสารประกอบฟีนอลิกในลำไยอบแห้งพร้อมเปลือกและชาลำไย." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร, มหาวิทยาศิลปากร.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศิริธร ศิริอมรพรรณ. 2557. **สารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร.** กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์

สโรชา ประสงค์ผลชัย. 2559. "ศักยภาพของราที่แยกได้จากนาเกลือต่อการยับยั้งราสาเหตุโรคแอนแทรกโนสและคุณสมบัติทางเทคโนโลยีชีวภาพบางประการ." ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต , มหาวิทยาลัย บูรพา.

สุธิรา มณีฉาย และประสบอร รินทอง. 2559. "ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซินเนสของสารสกัดเมทานอลจากดอกถั่วแระและดอกส้มป่อย." วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 44(1) : 142-152.

สุรพงศ์ รัตนะ และบรรลือ สังข์ทอง. 2559. "ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเมทานอลจากดอกไม้หอมห้าชนิด." หน้า 359-365. ใน **การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยมหาสารคามวิจัย ครั้งที่ 12.** มหาสารคาม : มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

อชิรวิทย์ จันทร์แก้ว. 2558. "องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของผักเขียด." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา, มหาวิทยาลัยบูรพา.

อนุชิตา มุ่งงาม. 2555. **แอนติออกซิแดนท์ในพืช.** มหาสารคาม : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

อนุสรณ์ ช่วยทอง. 2556. "ผลของจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์เฉพาะถิ่นต่อการเจริญเติบโตและการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในปลานิล." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง, มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

อรอนงค์ พริ้งศุลกะ. 2555. **จุลชีววิทยาทางการแพทย์: แบคทีเรียก่อโรค.** กรุงเทพ : จรัลสนิทวงศ์การพิมพ์.

อุดมเดชา พลเยี่ยม. 2556. "การศึกษาโครงสร้างทางเคมีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากมะเดื่อ." รายงานวิจัยคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร.

Adaramola, B. and Onigbinde, A. 2016. "Effect of Extraction Solvent on the Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Capacity Of Clove Bud." *Journal of Pharmacy and Biological Science.* 11(3) : 33-38.

Anwar, F. and Przybylski, R. 2012. "Effect of solvents extraction on total phenolics and antioxidant activity of extract from (*Linum usitatissimum* L.)." *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria.* 11(3) : 293-301.

Bhebhe, M., Fuller, T.N., Chipurura, B. and Muchuweti, M. 2016. "Effect of Solvent Type on Total phenolic Content and Free Radical Scavenging Activity of Black Tea and Herbal Infusions." *Food Analytical Methods*. 9 : 1060-1067.

Bovornvattanangkul, T. and Jiraungkoorskul, W. 2016. "Evaluation of total phenolic compound and cytotoxic activity of *Murraya paniculata*." *International Food Research Journal*. 23(3) : 1207-1211.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chew, K.K., Ng, S.Y., Thoo, Y.Y., Khoo, M.Z., Wan Aida, W.M. and Ho, C.W. 2011. "Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Centella asiatica* extracts." *International Food Research Journal*. 18: 571-578.

Gautam, M.K. and Goel, R.K. 2012a. "Exploration of preliminary phytochemical studies of leaves of *Murraya paniculata* (L.)." *International Journal of Pharmacy and Life Sciences*. 3(8) : 1871-1874.

Gautam, M.K., Gangwar, M., Nath, G., Rao, C.V. and Goel, R.K. 2012b. " In-vitro antibacterial activity on human pathogens and total phenolic, flavonoid contents of *Murraya paniculata* Linn. Leaves." *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2(3) : 1-4.

Hong, S.J., Kim, S.K., Ko, E.B., Yun, C.H. and Han, S.H. 2017. "Wall teichoic acid is an essential component of *Staphylococcus aureus* for the induction of human dendritic cell maturation." *Molecular Immunology*. 81 : 135-142.

Karaman, I., Sahin, F., Gulluce, M., Ogutcu, H., Sengul, M. and Adiguzel, A. 2003. "Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L.." *Journal of Ethnophamacology*. 85 : 231-235.

Khatun, A., Rahman, M. and Jahan, S. 2014. "Preliminary phytochemical, cytotoxic, thrombolytic and antioxidant activities of the methanol extract of *Murraya exotica* Linn. Leaves." *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*. 14 : 223-229.

Mahida, Y. and Mohan, J.S.S. 2007. "Screening of plants for their potential antimicrobial activity against *Staphylococcus* and *Salmonella* spp.." Natural *Product Radiance*. 6(4) : 301-305.

Menezes, I.R.A., Santana, T.I., Varela, V.J.C., Saraiva, R.A., Matias, E.F.F., Boligon, A.A., Athayde, M.L., Coutinho, H.D.M., Costa, J.G.M. and Rocha, J.B.T. 2015. "Chemical composition and evaluation of acute toxicological, antimicrobial and modulatory resistance of the extract of *Murraya paniculata*. " *Pharmaceutical Biology*. 53(2) : 185-191.

Mita, T.A., Shihan, M.H., Rahman, M., Sharmin, T., Maleque, M., Alvi, M.R.U.H. and Chowdhury, S.R. 2013. "In Vitro antioxidant, Cytotoxic, Thrombolytic, Antimicrocial and Membrane Stabilizing Activities of *Murraya paniculata*." *American Journal of Research Communication*. 1(5) : 226-237.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ng, M.K., Abdulhadi-Noaman, Y., Cheah, Y.K., Yeap, S.K. and Alitheen, N.B. 2012. "Bioactivity studies and chemical constituents of *Murraya paniculata* (Linn.) Jack." *International Food Research Journal.* 19(4) : 1307-1312.

Padalia, H. and Chanda, S. 2015. " Antimicrobial Efficacy of Different Solvent Extracts of *Tagetes erecta* L. Flower, Alone and in Combination with Antibiotics." *Applied Microbiology* : Open Access. 1(1) : 1-10. http://dx.doi.org/10.4172/2471-9315.1000106

Patel, S. and Sharma, A. 2016. "Antibacterial Activity of Methanolic Extract of Medicinal Plant *Murraya paniculata (Linn.)* against *Xanthomonas citri.*" *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences.* 5(9) : 198-204.

Sayar, K., Paydar, M. and Murphy, B.P. 2014. "Pharmacological properties and Chemical Constituents of *Murraya paniculata* (L.) Jack." *Medicinal and Aromatic Plants.* 3(4) : 1-6.

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G. and Kaur, H. 2011. "Phytochemical screening and Extraction." *Internationale Pharmaceutica Science.* 1(1) : 98-106.

Tsakona, S., Galanakis, C.M. and Gekas, V. 2012. "Hydro-Ethanolic Mixtures for the Recovery of Phenols from Mediterranean Plant Materials." *Food Bioprocess Technology.* 5 : 1384-1393.

Whitehead, P.G., Leckie, H., Rankinen, K., Butterfield, D., Futter, M.N. and Bussi, G. 2016. "An INCA model for pathogens in rivers and catchments: Model structure, sensitivity analysis and application to the River Thames catchment, UK." *Science of the Total Environment.* http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.128.

Yan, M., Li, W., Zhou, Z., Peng, H., Luo, Z. and Xu, L. 2017. "Direct detection of various pathogens by loop-mediated isothermal amplification assays on bacterial culture and bacterial colony." *Microbial Pathogenesis.* 102 : 1-7.

Yang, J.F., Yang, C.H., Chang, H.W., Yang, C.S., Lin, C.W. and Chuang, L.Y. 2009. "Antioxidant and antibacterial properties of *Pericarpium trichosanthis* against nosocomial drug resistant strains of *Acinetobacter baumannii* in Taiwan." *Journal of Medicinal Plant Research.* 3(11) : 982-991.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zhu, C.H., Lei, Z.L. and Luo, Y.P. 2015. "Studies on antioxidative activities of methanol extract from *Murraya paniculata*." *Food Science and Human Wellness*. 4 : 108-114.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหาร Nutrient Agar (NA)

Peptic digest of animal tissue	5.00	กรัม
Sodium chloride	5.00	กรัม
Yeast extract	2.00	กรัม
Beef extract	1.00	กรัม
Agar	15.00	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

ชั่งส่วนประกอบของอาหารตามปริมาณที่ต้องการเตรียม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ต้มจนกระทั่งส่วนประกอบต่างๆละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปทำการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

สูตรอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA)

Meat infusion from	300.00	กรัม
Acid hydrolysate of casein	17.50	กรัม
Starch	1.50	กรัม
Agar	17.00	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

ปรับ pH 7.4 ± 0.2

ชั่งส่วนประกอบของอาหารตามปริมาณที่ต้องการเตรียม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ต้มจนกระทั่งส่วนประกอบต่างๆละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปทำการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

สูตรอาหาร Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

Dextrose	40.00	กรัม
Mycological, peptone	10.00	กรัม
Agar	15.00	กรัม

ปรับ pH 5.6 ± 0.2

ชั่งส่วนประกอบของอาหารตามปริมาณที่ต้องการเตรียม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ต้มจนกระทั่งส่วนประกอบต่างๆละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปทำการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารละลายเคมีที่ใช้ทดสอบ

1. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

1. เตรียมสารละลาย DPPH ใน Absolute Ethanol โดยการชั่ง DPPH ปริมาณ 0.0197 กรัม ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตรด้วยขวดปรับปริมาตร จะได้สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 500 ไมโครโมลาร์ นำไปเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ก่อนนำไปใช้

2. เตรียมสารละลายตัวอย่างในไดเมทิลซัลฟอกไซด์ความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 5 2.5 1.25 0.63 และ 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วย Absolute Ethanol

3. เตรียมสารละลายกรดแอสคอร์บิกใน Absolute Ethanol ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.1 0.08 0.06 0.04 0.02 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents)

1.1 สารเคมี

1.1.1 Folin-Ciocalteu reagent

1.1.2 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 7.5

1.1.3 สารละลายกรดแกลลิก

1.2 การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

1.2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

1.2.2 นำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.025 0.05 0.1 0.15 0.20 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร

1.2.3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงใน 96-well plate

1.2.4 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 100 ไมโครลิตร

1.2.5 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

1.2.6 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.7 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัม

3. การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoid contents)

3.1 สารเคมี

3.1.1 สารละลายโซเดียมไนเตรท ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5

3.1.2 สารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10

3.1.3 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์

3.2 การเตรียมกราฟมาตรฐานเควอซิทิน

3.2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานเควอซิทินความเข้มข้นเริ่มต้น 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2.2 นำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 1000, 500, 250, 100, 50, 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2.3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานเควอซิทินที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง

3.2.4 เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร

3.2.5 เติมสารละลายโซเดียมไนเตรท ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที

3.2.6 เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 300 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง 6 นาที

3.2.7 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

3.2.8 เติมน้ำกลั่นปริมาตร 550 ไมโครลิตร

3.2.9 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer

3.2.10 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของเควอซิทินในหน่วยมิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ภาพสถานที่เก็บตัวอย่างพืช

รูปภาคผนวก ค.1 พื้นที่เก็บตัวอย่างจากบริเวณโดยรอบสระว่ายน้ำสมเด็จพระเทพฯ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

ลักษณะพื้นที่เก็บตัวอย่างมีลักษณะภูมิประเทศที่อุดมสมบูรณ์ โดยต้นแก้วปลูกบริเวณรอบสระว่ายน้ำสมเด็จพระเทพฯ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร มีการดูแลตัดแต่งทรงพุ่ม และรดน้ำเป็นประจำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

1. ข้อมูลผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดหยาบใบแก้ว

ตารางภาคผนวก ง.1 ค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบใบแก้วที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอล 95%

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/ml)	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% Inhibition
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
5	0.182	0.189	0.182	0.184	66.18
2.5	0.285	0.298	0.298	0.294	46.12
1.25	0.394	0.395	0.391	0.393	27.83
0.63	0.469	0.468	0.464	0.467	14.31
0.31	0.512	0.523	0.518	0.518	5.02

ตารางภาคผนวก ง.2 ค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบใบแก้วที่ ใช้ตัวทำละลายเอทานอล 70%

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/ml)	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% Inhibition
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
5	0.17	0.167	0.171	0.169	68.93
2.5	0.28	0.279	0.275	0.278	48.99
1.25	0.364	0.36	0.36	0.361	33.70
0.63	0.462	0.463	0.455	0.460	15.60
0.31	0.49	0.498	0.492	0.493	9.48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง.3 ค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบใบแก้วที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอล 50%

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/ml)	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% Inhibition
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
5	0.182	0.17	0.182	0.178	67.34
2.5	0.28	0.288	0.288	0.285	47.65
1.25	0.393	0.393	0.394	0.393	27.83
0.63	0.469	0.467	0.464	0.467	14.37
0.31	0.503	0.503	0.504	0.503	7.65

ตารางภาคผนวก ง.4 ค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบใบแก้วที่ใช้ตัวทำละลายน้ำ

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/ml)	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% Inhibition
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
5	0.348	0.345	0.304	0.332	39.02
2.5	0.275	0.249	0.245	0.256	52.97
1.25	0.365	0.376	0.365	0.369	32.35
0.63	0.443	0.449	0.446	0.446	18.17
0.31	0.496	0.497	0.49	0.494	9.30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ข้อมูลผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบแก้ว

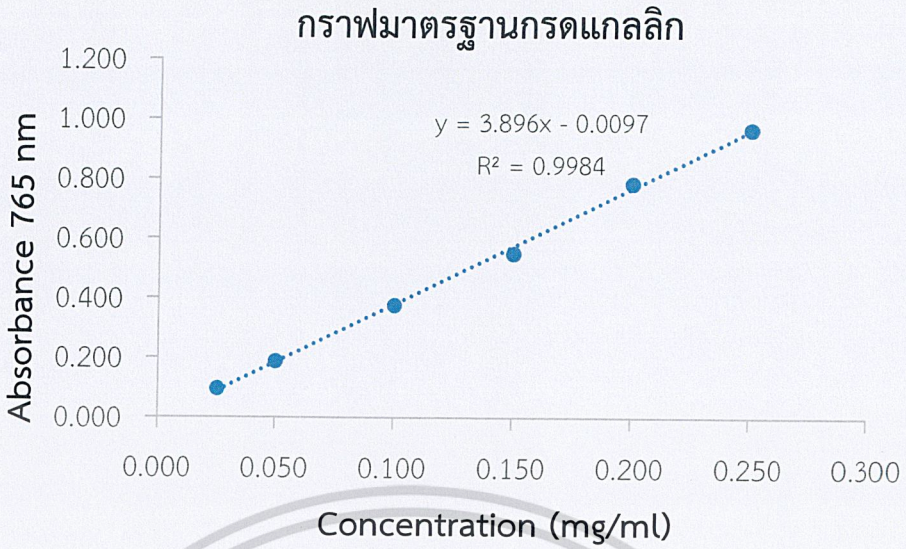
ตารางภาคผนวก ง.5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของสารสกัดใบแก้วที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร				ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	0.497	0.500	0.493	0.497	51.99
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	0.353	0.345	0.347	0.348	36.76
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	0.356	0.344	0.341	0.347	36.62
สารสกัดหยาบน้ำ	0.361	0.358	0.379	0.366	38.57

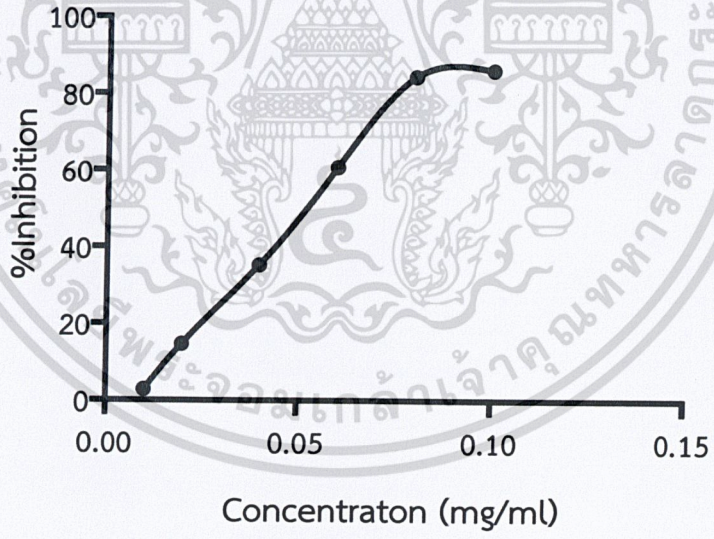
ตารางภาคผนวก ง.6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของกรดแกลลิก (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร
0.025	0.095
0.050	0.188
0.100	0.376
0.150	0.550
0.200	0.785
0.250	0.967

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

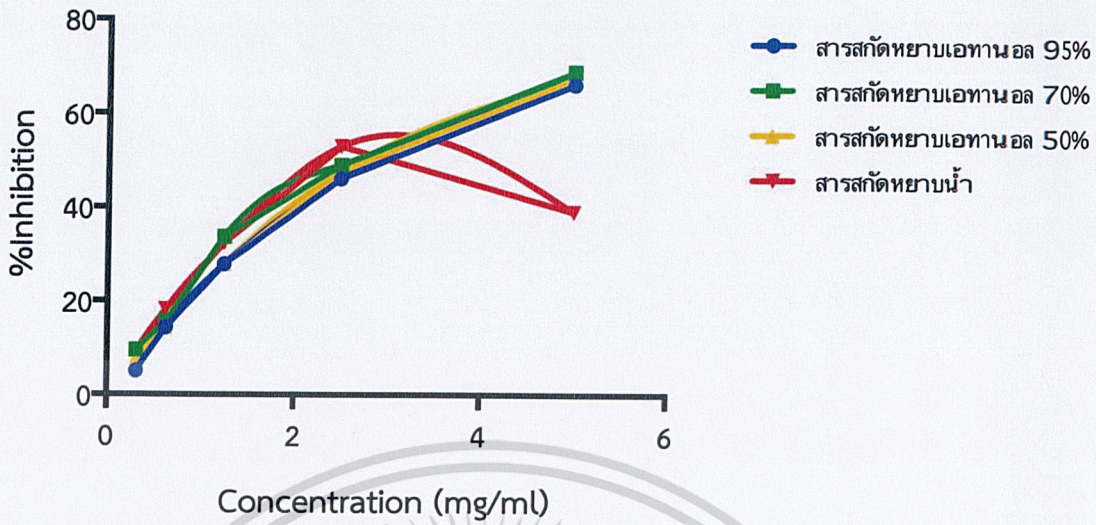


รูปภาคผนวก ง.1 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก และค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร



รูปภาคผนวก ง.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละในการต้านอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของกรดแอสคอบิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก ง.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละในการต้านอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากตัวทำละลาย 4 ชนิด

3. ข้อมูลผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบใบแก้ว

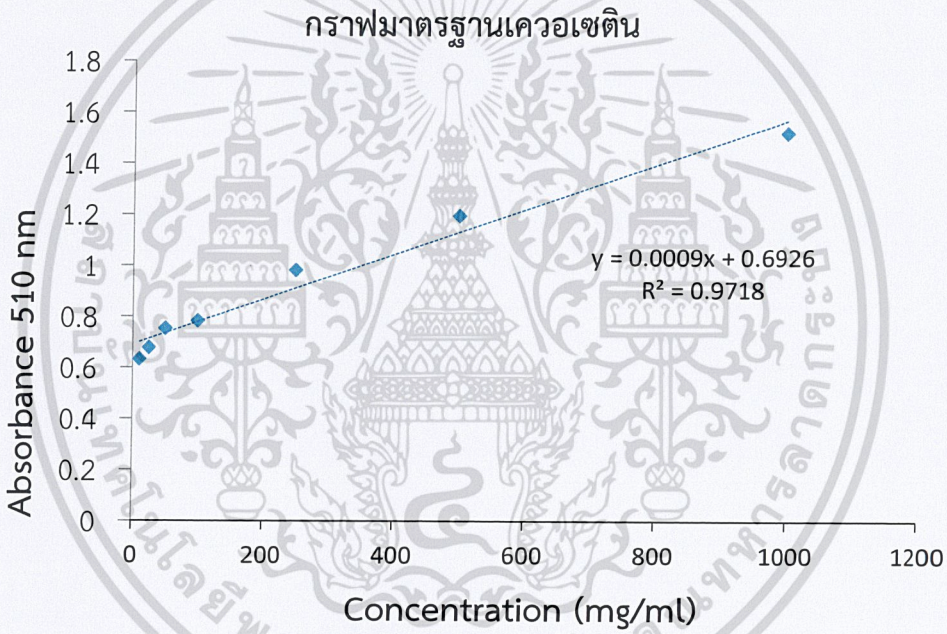
ตารางภาคผนวก ง.7 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบใบแก้วที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร				มิลลิกรัมเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	1.007	1.001	0.988	0.999	68.01
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	1.046	1.049	1.042	1.046	39.23
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	1.049	1.052	1.049	1.050	26.47
สารสกัดหยาบน้ำ	0.953	0.954	0.954	0.954	19.34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง.8 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานเควอซิตินที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของเควอซิติน (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร
1000	1.522
500	1.196
250	0.982
100	0.783
50	0.754
25	0.678



รูปภาคผนวก ง.4 กราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเควอซิตินและค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การคำนวณและตารางการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางภาคผนวก จ.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละการยับยั้งอนุมูล DPPH โดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5 mg/ml	336.034[a]	3	112.011	4.549	0.039
	2.5 mg/ml	15.756[b]	3	5.252	1.524	0.281
	1.25 mg/ml	83.709[c]	3	27.903	65.799	0
	0.63 mg/ml	29.293[d]	3	9.764	28.059	0
	0.31 mg/ml	38.423[e]	3	12.808	24.393	0
Intercept	5 mg/ml	49894.624	1	49894.624	2026.1	0
	2.5 mg/ml	26823.835	1	26823.835	7782.86	0
	1.25 mg/ml	11110.602	1	11110.602	26200.1	0
	0.63 mg/ml	2924.377	1	2924.377	8403.59	0
	0.31 mg/ml	741.198	1	741.198	1411.65	0
Extract	5 mg/ml	336.034	3	112.011	4.549	0.039
	2.5 mg/ml	15.756	3	5.252	1.524	0.281
	1.25 mg/ml	83.709	3	27.903	65.799	0
	0.63 mg/ml	29.293	3	9.764	28.059	0
	0.31 mg/ml	38.423	3	12.808	24.393	0
Error	5 mg/ml	197.008	8	24.626		
	2.5 mg/ml	27.572	8	3.447		
	1.25 mg/ml	3.393	8	0.424		
	0.63 mg/ml	2.784	8	0.348		
	0.31 mg/ml	4.2	8	0.525		
Total	5 mg/ml	50427.665	12			
	2.5 mg/ml	26867.164	12			
	1.25 mg/ml	11197.704	12			
	0.63 mg/ml	2956.454	12			
	0.31 mg/ml	783.821	12			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น มีให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.1 (ต่อ) การวิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละการยับยั้งอนุมูล DPPH โดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Total	5 mg/ml	533.041	11			
	2.5 mg/ml	43.329	11			
	1.25 mg/ml	87.102	11			
	0.63 mg/ml	32.077	11			
	0.31 mg/ml	42.623	11			

ตารางภาคผนวก จ.2 การจัดกลุ่มของข้อมูลร้อยละการยับยั้งอนุมูล DPPH ของสารสกัดหยาบในแต่ละความเข้มข้น โดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset	
		1	2
สารสกัดหยาบน้ำ	3	55.47	
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	3		66.18
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	3		67.34
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	3		68.93
Sig.		1	0.533

ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset
		1
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	3	46.12
สารสกัดหยาบน้ำ	3	46.36
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	3	47.65
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	3	48.99
Sig.		0.113

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	3	27.83		
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	3	27.83		
สารสกัดหยาบน้ำ	3		32.36	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	3			33.70
Sig.		1	1	1

ความเข้มข้น 0.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	3	14.31		
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	3	14.37		
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	3		15.60	
สารสกัดหยาบน้ำ	3			18.17
Sig.		0.904	1	1

ความเข้มข้น 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	3	5.02		
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	3		7.65	
สารสกัดหยาบน้ำ	3			9.30
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	3			9.48
Sig.		1	1	0.769

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

ANOVA					
สารสกัด	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	491.183	3	163.728	279.422	0
Within Groups	4.688	8	0.586		
Total	495.87	11			

ตารางภาคผนวก จ.4 การจัดกลุ่มของข้อมูลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

สารสกัด	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	3	36.62		
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	3	36.76		
สารสกัดหยาบน้ำ	3		38.57	
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	3			51.99
Sig.		0.83	1	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดย ออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

ANOVA					
สารสกัด	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4149.659	3	1383.220	1142.095	0
Within Groups	9.689	8	1.211		
Total	4159.348	11			

ตารางภาคผนวก จ.6 การจัดกลุ่มของข้อมูลปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

สารสกัด	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
สารสกัดหยาบน้ำ	3	19.34			
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	3		26.47		
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	3			39.23	
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	3				68.01
Sig.		1	1	1	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบใบแก้วโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	100 mg/ml	690.653[a]	3	230.218	848.449	0
	200 mg/ml	322.805[b]	3	107.602	63.463	0
	300 mg/ml	363.073[c]	3	121.024	160.285	0
	400 mg/ml	212.305[d]	3	70.768	103.444	0
Intercept	100 mg/ml	13199.3	1	13199.3	48644.9	0
	200 mg/ml	11345.7	1	11345.7	6691.64	0
	300 mg/ml	12680.3	1	12680.3	16793.9	0
	400 mg/ml	12533.4	1	12533.4	18320.3	0
Extract	100 mg/ml	690.653	3	230.218	848.449	0
	200 mg/ml	322.805	3	107.602	63.463	0
	300 mg/ml	363.073	3	121.024	160.285	0
	400 mg/ml	212.305	3	70.768	103.444	0
Error	100 mg/ml	15.195	56	0.271		
	200 mg/ml	94.948	56	1.695		
	300 mg/ml	42.283	56	0.755		
	400 mg/ml	38.311	56	0.684		
Total	100 mg/ml	13905.1	60			
	200 mg/ml	11763.4	60			
	300 mg/ml	13085.7	60			
	400 mg/ml	12784	60			
Corrected Total	100 mg/ml	705.848	59			
	200 mg/ml	417.753	59			
	300 mg/ml	405.356	59			
	400 mg/ml	250.616	59			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.8 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น โดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset			
		1	2	3	4
สารสกัดหยาบน้ำ	15	9.66			
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		13.94		
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			17.66	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15				18.07
Sig.		1	1	1	1

ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	10.21		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		13.14	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			15.82
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			15.83
Sig.		1	1	0.99

ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	10.84		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		13.79	
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			16.60
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			16.93
Sig.		1	1	0.30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	11.90		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		13.40	
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			16.25
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			16.27
Sig.		1	1	0.95

ตารางภาคผนวก จ.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Candida albicans* ATCC 90028 ของสารสกัดหยาบใบแก้วโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	100 mg/ml	1016.880[a]	3	338.96	1919.71	0
	200 mg/ml	13.761[b]	3	4.587	18.608	0
	300 mg/ml	29.952[c]	3	9.984	24.571	0
	400 mg/ml	14.917[d]	3	4.972	37.456	0
Intercept	100 mg/ml	3045.225	1	3045.23	17246.7	0
	200 mg/ml	5492.032	1	5492.03	22278.7	0
	300 mg/ml	5788.694	1	5788.69	14246	0
	400 mg/ml	5529.408	1	5529.41	41650.6	0
Extract	100 mg/ml	1016.88	3	338.96	1919.71	0
	200 mg/ml	13.761	3	4.587	18.608	0
	300 mg/ml	29.952	3	9.984	24.571	0
	400 mg/ml	14.917	3	4.972	37.456	0
Error	100 mg/ml	9.888	56	0.177		
	200 mg/ml	13.805	56	0.247		
	300 mg/ml	22.755	56	0.406		
	400 mg/ml	7.434	56	0.133		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.9 (ต่อ) การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Candida albicans* ATCC 90028 ของสารสกัดหยาบใบแก้วโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Total	100 mg/ml	4071.993	60			
	200 mg/ml	5519.598	60			
	300 mg/ml	5841.401	60			
	400 mg/ml	5551.76	60			
Corrected Total	100 mg/ml	1026.768	59			
	200 mg/ml	27.566	59			
	300 mg/ml	52.707	59			
	400 mg/ml	22.352	59			

ตารางภาคผนวก จ.10 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Candida albicans* ATCC 90028 ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น โดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	0		
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15		9.35	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15		9.36	
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15			9.78
Sig.		1	0.92	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	8.82		
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15		9.56	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15		9.74	
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15			10.15
Sig.		1	0.34	1

ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15	9.04		
สารสกัดหยาบน้ำ	15	9.30		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		10.12	
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			10.83
Sig.		0.28	1	1

ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15	9.01		
สารสกัดหยาบน้ำ	15		9.47	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15		9.53	
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15			10.39
Sig.		1	0.69	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Escherichia coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบใบแก้วโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	100 mg/ml	520.015[a]	3	173.338	220.043	0
	200 mg/ml	522.202[b]	3	174.067	97.869	0
	300 mg/ml	518.633[c]	3	172.878	520.427	0
	400 mg/ml	306.954[d]	3	102.318	327.217	0
Intercept	100 mg/ml	13323.58	1	13323.6	16913.5	0
	200 mg/ml	14395.79	1	14395.8	8093.99	0
	300 mg/ml	14727.61	1	14727.6	44335.7	0
	400 mg/ml	13190.99	1	13191	42185.2	0
Extract	100 mg/ml	520.015	3	173.338	220.043	0
	200 mg/ml	522.202	3	174.067	97.869	0
	300 mg/ml	518.633	3	172.878	520.427	0
	400 mg/ml	306.954	3	102.318	327.217	0
Error	100 mg/ml	44.114	56	0.788		
	200 mg/ml	99.6	56	1.779		
	300 mg/ml	18.602	56	0.332		
	400 mg/ml	17.511	56	0.313		
Total	100 mg/ml	13887.71	60			
	200 mg/ml	15017.59	60			
	300 mg/ml	15264.84	60			
	400 mg/ml	13515.45	60			
Corrected Total	100 mg/ml	564.129	59			
	200 mg/ml	621.803	59			
	300 mg/ml	537.235	59			
	400 mg/ml	324.465	59			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.12 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้งยับยั้ง *Escherichia coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น โดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	10.26		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		14.48	
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			17.18
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			17.68
Sig.		1	1	0.13

ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	10.80		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		15.20	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			17.57
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			18.39
Sig.		1	1	0.1

ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset			
		1	2	3	4
สารสกัดหยาบน้ำ	15	11.22			
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		14.83		
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			18.02	
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15				18.60
Sig.		1	1	1	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	11.61		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		13.80	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			16.80
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			17.10
Sig.		1	1	0.137

ตารางภาคผนวก จ.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ของสารสกัดหยาบใบแก้วโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	100 mg/ml	618.391[a]	3	206.13	543.958	0
	200 mg/ml	320.585[b]	3	106.862	149.333	0
	300 mg/ml	362.876[c]	3	120.959	81.582	0
	400 mg/ml	192.714[d]	3	64.238	133	0
Intercept	100 mg/ml	11457.3	1	11457.3	30234.8	0
	200 mg/ml	11161.3	1	11161.3	15597.3	0
	300 mg/ml	12611.5	1	12611.5	8505.97	0
	400 mg/ml	11004.5	1	11004.5	22783.9	0
Extract	100 mg/ml	618.391	3	206.13	543.958	0
	200 mg/ml	320.585	3	106.862	149.333	0
	300 mg/ml	362.876	3	120.959	81.582	0
	400 mg/ml	192.714	3	64.238	133	0
Error	100 mg/ml	21.221	56	0.379		
	200 mg/ml	40.073	56	0.716		
	300 mg/ml	83.029	56	1.483		
	400 mg/ml	27.048	56	0.483		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.13 (ต่อ) การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ของสารสกัดหยาบใบแก้วโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Total	100 mg/ml	12096.9	60			
	200 mg/ml	11522	60			
	300 mg/ml	13057.4	60			
	400 mg/ml	11224.3	60			
Corrected Total	100 mg/ml	639.612	59			
	200 mg/ml	360.659	59			
	300 mg/ml	445.905	59			
	400 mg/ml	219.762	59			

ตารางภาคผนวก จ.14 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้งยับยั้ง *Micrococcus luteus* TISTR 2374 ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้นโดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset			
		1	2	3	4
สารสกัดหยาบน้ำ	15	8.67			
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		13.58		
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			16.22	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15				16.81
Sig.		1	1	1	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	9.95		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		13.44	
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			15.33
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			15.84
Sig.		1	1	0.11

ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	10.86		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		13.65	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			16.51
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			16.98
Sig.		1	1	0.30

ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	10.98		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		12.77	
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			14.98
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			15.44
Sig.		1	1	0.08

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ของสารสกัดหยาบใบแก้วโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	100 mg/ml	0.000[a]	3	0	0	0
	200 mg/ml	1048.474[b]	3	349.491	5074.59	0
	300 mg/ml	65.917[c]	3	21.972	156.111	0
	400 mg/ml	1518.717[d]	3	506.239	6454.09	0
Intercept	100 mg/ml	0	1	0	0	0
	200 mg/ml	3086.398	1	3086.4	44814.2	0
	300 mg/ml	6052.113	1	6052.11	42999.2	0
	400 mg/ml	1504.503	1	1504.5	19181.1	0
Extract	100 mg/ml	0	3	0	0	0
	200 mg/ml	1048.474	3	349.491	5074.59	0
	300 mg/ml	65.917	3	21.972	156.111	0
	400 mg/ml	1518.717	3	506.239	6454.09	0
Error	100 mg/ml	0	56	0		
	200 mg/ml	3.857	56	0.069		
	300 mg/ml	7.882	56	0.141		
	400 mg/ml	4.392	56	0.078		
Total	100 mg/ml	0	60			
	200 mg/ml	4138.73	60			
	300 mg/ml	6125.912	60			
	400 mg/ml	3027.613	60			
Corrected Total	100 mg/ml	0	59			
	200 mg/ml	1052.331	59			
	300 mg/ml	73.799	59			
	400 mg/ml	1523.11	59			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.16 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้งยับยั้ง *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น โดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset			
		1	2	3	4
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15	0.00			
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15		8.77		
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			9.53	
สารสกัดหยาบน้ำ	15				10.39
Sig.		1	1	1	1

ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset			
		1	2	3	4
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15	8.82			
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15		9.24		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15			10.76	
สารสกัดหยาบน้ำ	15				11.36
Sig.		1	1	1	1

ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15	0.00		
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15	0.00		
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15		9.33	
สารสกัดหยาบน้ำ	15			10.70
Sig.		1	1	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ของสารสกัดหยาบใบแก้วโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	100 mg/ml	555.226[a]	3	185.075	139.895	0
	200 mg/ml	809.111[b]	3	269.704	486.94	0
	300 mg/ml	624.686[c]	3	208.229	258.275	0
	400 mg/ml	232.282[d]	3	77.427	118.289	0
Intercept	100 mg/ml	13515.6	1	13515.6	10216.2	0
	200 mg/ml	14616.6	1	14616.6	26389.7	0
	300 mg/ml	14632.5	1	14632.5	18149.3	0
	400 mg/ml	13410.2	1	13410.2	20487.3	0
Extract	100 mg/ml	555.226	3	185.075	139.895	0
	200 mg/ml	809.111	3	269.704	486.94	0
	300 mg/ml	624.686	3	208.229	258.275	0
	400 mg/ml	232.282	3	77.427	118.289	0
Error	100 mg/ml	74.086	56	1.323		
	200 mg/ml	31.017	56	0.554		
	300 mg/ml	45.149	56	0.806		
	400 mg/ml	36.655	56	0.655		
Total	100 mg/ml	14144.9	60			
	200 mg/ml	15456.7	60			
	300 mg/ml	15302.3	60			
	400 mg/ml	13679.1	60			
Corrected Total	100 mg/ml	629.312	59			
	200 mg/ml	840.128	59			
	300 mg/ml	669.835	59			
	400 mg/ml	268.938	59			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.18 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้งยับยั้ง *Staphylococcus aureus* TISTR 118 ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น โดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset			
		1	2	3	4
สารสกัดหยาบน้ำ	15	10.04			
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		15.14		
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			16.92	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15				17.95
Sig.		1	1	1	1

ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	9.55		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		15.81	
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			18.43
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			18.64
Sig.		1	1	0.46

ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset			
		1	2	3	4
สารสกัดหยาบน้ำ	15	10.13			
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		16.59		
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			17.39	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15				18.36
Sig.		1	1	1	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	11.77		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		14.89	
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			16.37
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			16.78
Sig.		1	1	0.18

ตารางภาคผนวก จ.19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* ของสารสกัดหยาบใบแก้วโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	100 mg/ml	7.551[a]	3	2.517	1.799	0.158
	200 mg/ml	38.143[b]	3	12.714	25.039	0
	300 mg/ml	33.104[c]	3	11.035	19.024	0
	400 mg/ml	132.485[d]	3	44.162	115.067	0
Intercept	100 mg/ml	5589.47	1	5589.47	3994.9	0
	200 mg/ml	5227.23	1	5227.23	10294.4	0
	300 mg/ml	5318.72	1	5318.72	9169.47	0
	400 mg/ml	5839.88	1	5839.88	15216.3	0
Extract	100 mg/ml	7.551	3	2.517	1.799	0.158
	200 mg/ml	38.143	3	12.714	25.039	0
	300 mg/ml	33.104	3	11.035	19.024	0
	400 mg/ml	132.485	3	44.162	115.067	0
Error	100 mg/ml	78.352	56	1.399		
	200 mg/ml	28.435	56	0.508		
	300 mg/ml	32.483	56	0.58		
	400 mg/ml	21.492	56	0.384		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.19 (ต่อ) การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* ของสารสกัดหยาบใบแก้วโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Total	100 mg/ml	5675.38	60			
	200 mg/ml	5293.81	60			
	300 mg/ml	5384.31	60			
	400 mg/ml	5993.86	60			
Corrected Total	100 mg/ml	85.903	59			
	200 mg/ml	66.578	59			
	300 mg/ml	65.587	59			
	400 mg/ml	153.978	59			

ตารางภาคผนวก จ.20 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Aeromonas hydrophila* ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น โดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset
		1
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15	9.34
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15	9.36
สารสกัดหยาบน้ำ	15	9.69
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15	10.22
Sig.		0.07

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15	8.46		
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15	8.69		
สารสกัดหยาบน้ำ	15		9.77	
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15			10.42
Sig.		0.39	1	1

ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset	
		1	2
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15	8.83	
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15	9.05	
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15	9.09	
สารสกัดหยาบน้ำ	15		10.69
Sig.		0.38	1

ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset			
		1	2	3	4
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15	8.26			
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15		8.84		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15			10.25	
สารสกัดหยาบน้ำ	15				12.11
Sig.		1	1	1	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้วโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	100 mg/ml	950.489[a]	3	316.83	1465.78	0
	200 mg/ml	15.116[b]	3	5.039	27.612	0
	300 mg/ml	30.569[c]	3	10.19	52.662	0
	400 mg/ml	81.355[d]	3	27.118	141.824	0
Intercept	100 mg/ml	2818.0[9]	1	2818.09	13037.6	0
	200 mg/ml	4741.39	1	4741.39	25983.4	0
	300 mg/ml	5840.87	1	5840.87	30186.6	0
	400 mg/ml	5959.47	1	5959.47	31166.8	0
Extract	100 mg/ml	950.489	3	316.83	1465.78	0
	200 mg/ml	15.116	3	5.039	27.612	0
	300 mg/ml	30.569	3	10.19	52.662	0
	400 mg/ml	81.355	3	27.118	141.824	0
Error	100 mg/ml	12.104	56	0.216		
	200 mg/ml	10.219	56	0.182		
	300 mg/ml	10.836	56	0.193		
	400 mg/ml	10.708	56	0.191		
Total	100 mg/ml	3780.68	60			
	200 mg/ml	4766.73	60			
	300 mg/ml	5882.27	60			
	400 mg/ml	6051.53	60			
Corrected Total	100 mg/ml	962.593	59			
	200 mg/ml	25.335	59			
	300 mg/ml	41.404	59			
	400 mg/ml	92.063	59			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.22 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Pseudomonas* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น โดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	0		
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15		8.45	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			9.38
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15			9.59
Sig.		1	1	0.22

ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15	8.22		
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15		8.85	
สารสกัดหยาบน้ำ	15		8.86	
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15			9.63
Sig.		1	0.94	1

ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset	
		1	2
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15	9.09	
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15	9.22	
สารสกัดหยาบน้ำ	15		10.50
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		10.65
Sig.		0.43	0.37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset			
		1	2	3	4
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15	8.67			
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15		9.36y4		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15			10.06	
สารสกัดหยาบน้ำ	15				11.79
Sig.		1	1	1	1

ตารางภาคผนวก จ.23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Steptococcus* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้วโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	100 mg/ml	608.023[a]	3	202.674	331.953	0
	200 mg/ml	423.385[b]	3	141.128	172.819	0
	300 mg/ml	426.282[c]	3	142.094	138.516	0
	400 mg/ml	320.235[d]	3	106.745	57.134	0
Intercept	100 mg/ml	11462	1	11462	18773.3	0
	200 mg/ml	11463.7	1	11463.7	14037.9	0
	300 mg/ml	11188.1	1	11188.1	10906.4	0
	400 mg/ml	11282.8	1	11282.8	6038.94	0
Extract	100 mg/ml	608.023	3	202.674	331.953	0
	200 mg/ml	423.385	3	141.128	172.819	0
	300 mg/ml	426.282	3	142.094	138.516	0
	400 mg/ml	320.235	3	106.745	57.134	0
Error	100 mg/ml	34.191	56	0.611		
	200 mg/ml	45.731	56	0.817		
	300 mg/ml	57.447	56	1.026		
	400 mg/ml	104.627	56	1.868		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.23 (ต่อ)การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Steptococcus* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้วโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Total	100 mg/ml	12104.2	60			
	200 mg/ml	11932.8	60			
	300 mg/ml	11671.8	60			
	400 mg/ml	11707.6	60			
Corrected Total	100 mg/ml	642.214	59			
	200 mg/ml	469.116	59			
	300 mg/ml	483.729	59			
	400 mg/ml	424.862	59			

ตารางภาคผนวก จ.24 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Steptococcus* sp. ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น โดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset			
		1	2	3	4
สารสกัดหยาบน้ำ	15	9.02			
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		13.03		
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			15.85	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15				17.39
Sig.		1	1	1	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	9.65		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		13.42	
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			15.88
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			16.35
Sig.		1	1	0.16

ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset			
		1	2	3	4
สารสกัดหยาบน้ำ	15	9.39			
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		13.52		
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			15.36	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15				16.35
Sig.		1	1	1	1

ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	10.49		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		12.56	
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			15.86
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			15.95
Sig.		1	1	0.85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของฤทธิ์ยับยั้ง *Steptococcus agalactiae* ของสารสกัดหยาบใบแก้วโดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	100 mg/ml	165.792[a]	3	55.264	169.176	0
	200 mg/ml	143.828[b]	3	47.943	312.99	0
	300 mg/ml	82.136[c]	3	27.379	146.113	0
	400 mg/ml	89.290[d]	3	29.763	55.177	0
Intercept	100 mg/ml	7826.354	1	7826.35	23958.4	0
	200 mg/ml	7777.321	1	7777.32	50773.8	0
	300 mg/ml	8027.498	1	8027.5	42840.8	0
	400 mg/ml	8230.959	1	8230.96	15258.9	0
Extract	100 mg/ml	165.792	3	55.264	169.176	0
	200 mg/ml	143.828	3	47.943	312.99	0
	300 mg/ml	82.136	3	27.379	146.113	0
	400 mg/ml	89.29	3	29.763	55.177	0
Error	100 mg/ml	18.293	56	0.327		
	200 mg/ml	8.578	56	0.153		
	300 mg/ml	10.493	56	0.187		
	400 mg/ml	30.208	56	0.539		
Total	100 mg/ml	8010.44	60			
	200 mg/ml	7929.727	60			
	300 mg/ml	8120.127	60			
	400 mg/ml	8350.457	60			
Corrected Total	100 mg/ml	184.085	59			
	200 mg/ml	152.405	59			
	300 mg/ml	92.629	59			
	400 mg/ml	119.498	59			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ.26 การจัดกลุ่มของข้อมูลฤทธิ์ยับยั้ง *Steptococcus agalactiae* ของสารสกัดหยาบใบแก้วในแต่ละความเข้มข้น โดยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95.0

ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	8.73		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		11.74	
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15		11.96	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			13.27
Sig.		1	0.29	1

ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	8.76		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		11.90	
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15		12.11	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			12.77
Sig.		1	0.14	1

ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	9.57		
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15		11.92	
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		12.24	12.24
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			12.53
Sig.		1	0.05	0.07

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด	N	Subset		
		1	2	3
สารสกัดหยาบน้ำ	15	9.93		
สารสกัดหยาบเอทานอล 95%	15		11.23	
สารสกัดหยาบเอทานอล 70%	15			12.83
สารสกัดหยาบเอทานอล 50%	15			12.85
Sig.		1	1	0.93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้