กิจกรรมของสารสกัดจากสมุนไพรในการต้านอนุมูลอิสระและจุลินทรีย์ในช่องปาก

ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF MEDICINAL PLANT EXTRACTS AGAINST ORAL MICROORGANISMS

กนกวรรณ รัตนแสงสุข

ธวัลรัตน์ ชัยเชษฐอมร

นฤมล เมฆเจริญลาภ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF MEDICINAL PLANT EXTRACTS AGAINST ORAL MICROORGANISMS

KANOKWAN RATTANASAENGSUK

THAWANRAT CHAICHETAMORN

NARUEMON MEKJALEONLAP

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2019

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ กิจกรรมของสารสกัดจากสมุนไพรในการต้านอนุมูลอิสระและจุลินทรีย์ในช่องปาก
(Antioxidant and antimicrobial activities of medicinal plant extracts against oral microorganism)

ชื่อนักศึกษา นางสาวกนกวรรณ รัตนแสงสุข นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 59050795

นางสาวธวัลรัตน์ ชัยเชษฐอมร นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 59050841

นางสาวนฤมล เมฆเจริญลาภ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 59050843

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา 2562

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2562

คณะกรรมการ	ลายมือชื่อ
กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ	
ประธานกรรมการ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล	
กรรมการ ผศ.ดร.สมพิศ สอนโยธา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	กิจกรรมของสารสกัดจากสมุนไพรในการต้านอนุมูลอิสระและจุลินทรีย์ในช่องปาก (Antioxidant and antimicrobial activities of medicinal plant extracts against oral microorganism)
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกนกวรรณ รัตนแสงสุข นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 59050795
	นางสาวธวัลรัตน์ ชัยเชษฐอมร นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 59050841
	นางสาวนฤมล เมฆเจริญลาภ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 59050843
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา	2562
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

บทคัดย่อ

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ตรวจหาสมบัติทางพฤกษเคมี ได้แก่ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารพฤกษเคมีต่าง ๆ รวมทั้งกิจกรรมการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปากของสารสกัดจากสมุนไพร 5 ชนิด ได้แก่ อบเชย (*Cinnamomum verum*) ว่านน้ำ (*Acorus calamus*) กระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa*) ขิง (*Zingiber officinale*) และข่าเล็ก (*Alpinia officinarum*) ที่สกัดด้วยเอทานอล สารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ได้แก่ สารสกัดอบเชย ได้ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Phosphomolybdenum assay เท่ากับ 1,152.58 มิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมของสารสกัด และค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีไนตริกออกไซด์เท่ากับร้อยละ 39.64 ส่วนสารสกัดจากว่านน้ำ ข่าเล็ก และกระเจี๊ยบแดง ก็มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นเดียวกัน นอกจากนี้สารสกัดจากอบเชย ขิง และข่าเล็ก ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนินทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดจากว่านน้ำ และกระเจี๊ยบแดง ส่วนสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์สูงที่สุด ได้แก่ สารสกัดกระเจี๊ยบแดง และสารสกัดว่านน้ำก็มีแอลคาลอยด์ค่อนข้างสูง สำหรับฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืช พบว่าเชื้อ *Candida albicans* และ *Lactobacillus casei* ถูกยับยั้งได้ดีที่สุดโดยสารสกัดอบเชย (MIC (Minimum Inhibitory Concentration) เท่ากับ 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) เชื้อ *Lactobacillus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

plantarum ถูกยับยั้งได้ดีที่สุดโดยสารสกัดว่านน้ำ (MIC เท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และในการทดลองนำสารสกัดจากพืชที่ความเข้มข้นร้อยละ 6, 8 และ 10 มาประยุกต์ใช้ในการผลิตน้ำยาบ้วนปากและศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ โดยเทคนิค agar diffusion ผลปรากฏว่า สารสกัดจากอบเชยและขิงที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 มีผลยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* ได้ดี ขณะที่น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 และ 10 มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. casei* ได้ดี

การทดสอบผลของสารสกัดอบเชย และ cinnamaldehyde ต่อเวลาในการทำลายเชื้อ *C. albicans* ใน phosphate buffered saline (PBS) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าการใช้สารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 8 เท่าของ MIC (24 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และ cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 4 เท่าของ MIC (0.08 โมลต่อลิตร) มีผลในการทำลายเชื้อ *C. albicans* ได้ดีที่สุดโดยทำให้จำนวนเชื้อลดลง 1.68 และ 2.71 log cycle ที่เวลา 24 ชั่วโมงของการบ่มตามลำดับ นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดอบเชย และ cinnamaldehyde ต่อการรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans* ใน phosphate buffered saline (PBS) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ผลปรากฏว่า การเติมสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 8 เท่าของ MIC มีผลทำให้เกิดการรั่วโปรตีนออกจากเซลล์มากที่สุด (1.26 เท่าของปริมาณโปรตีนที่เวลาเริ่มต้นของการบ่ม) อย่างไรก็ตาม การเพิ่มความเข้มข้นของ cinnamaldehyde ไม่มีผลต่อการรั่วของโปรตีนที่ออกจากเซลล์

คำสำคัญ : สมบัติทางพฤกษเคมี กิจกรรมการต้านไบโอฟิล์ม น้ำยาบ้วนปาก การทดสอบการรั่วของโปรตีน *Candida albicans*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antioxidant and antimicrobial activities of medicinal plant extracts against oral microorganism
Students	Miss Kanokwan Rattanasaengsuk
	Miss Thawanrat Chaichetamorn
	Miss Naruemon Mekjaleonlap
Degree	Bachelor of Science
Major	Industrial Microbiology
Academic Year	2019
Advisor	Associate Professor Dr. Suree Nanasombat

ABSTRACT

In this study, phytochemical properties (antioxidant activity and contents of some phytochemical components) as well as antimicrobial activity of 5 medicinal plant extracts including cinnamon (*Cinnamomum verum*), sweet flag (*Acorus calamus*), Roselle (*Hibiscus sabdariffa*), ginger (*Zingiber officinale*), lesser galangal (*Alpinia officinarum*) against oral pathogenic microorganisms were evaluated. Plant extracts with strongest antioxidant activity were cinnamon extracts (1,152.58 mg vitamin C/g extract by phosphomolybdenum assay and 39.64% inhibition by nitric oxide radical scavenging assay). The extracts of sweet flag, lesser galangal and roselle extracts also had quite strong antioxidant activity. In addition, cinnamon, ginger and lesser galangal extracts contained higher amount of total phenolics, flavonoids and tannins than those of sweet flag and roselle extracts. The extracts with highest content of total alkaloids were roselle extract. Sweet flag extract also had relatively high total alkaloids. For antimicrobial activity of plant extracts, cinnamon extract displayed strong inhibitory activity against *Candida albicans* and *Lactobacillus casei* (4 and 5 mg/ml MIC (Minimum Inhibitory Concentration, respectively)). *Lactobacillus plantarum* was

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

sensitive to sweet flag extract (5 mg/ml MIC). Moreover, all plant extracts at 6, 8 and 10% concentration were used to formulate mouthrinse products, and they were tested for their antimicrobial activity by agar diffusion method. The extracts of cinnamon and ginger at 10% concentration in mouthrinse formulations could strongly inhibit the growth of *C. albicans*, while roselle extract at 8 and 10% showed best inhibitory effect against *L. casei*

Effect of cinnamon extract and cinnamaldehyde on time killing effect in phosphate buffered saline (PBS) at 30° of *C. albicans* was studied. The cinnamon extract at 24 mg/ml (8 times of value) and cinnamaldehyde at 0.08 mol/l (4 times of value) exhibited best killing effect by decreasing *C. albicans* viable counts of 2.68 and 2.71 log cycles after 24 hour incubation, respectively. In addition, effect of cinnamon extract and cinnamaldehyde on cellular protein leakage of *C. albicans* in PBS at 30° was also investigated. Cinnamon extract at the concentration of 8 times of MIC resulted in highest cellular protein leakage (1.26 times of protein content at the beginning of incubation period). However, increasing concentration of cinnamaldehyde in PBS did not affect protein leakage.

Keywords : phytochemical properties, antibiofilm activity, Protein leakage, mouthrinse, *Candida albicans*.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษารองศาสตราจารย์ ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ ที่ให้คำแนะนำตลอดจนได้ทำการถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์ในการปฏิบัติงานที่ดีให้แก่ผู้จัดทำ ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณประธานสอบโครงงานพิเศษ รศ.ดวงใจ โอชัยกุลและผศ.ดร.สมพิศ สอนโยธา กรรมการสอบโครงงานพิเศษรวมทั้งคำแนะนำ ตรวจสอบ ชี้แนะในการแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมืออุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้สถานที่เพื่อปฏิบัติงานวิจัยและอำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงาน

ขอกราบขอบพระคุณพระบิดามารดาของผู้จัดที่เป็นกำลังใจและให้คำปรึกษาในการทำโครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนและพี่ๆ ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่อง ให้ข้อคิดเห็น กำลังใจและมิตรภาพที่ดีตลอดมา

และที่สำคัญที่สุด ขอขอบพระคุณ Neo Culture Technology (NCT) Unit U, 127 และ Dream, We are your vision (Way V) โดยเฉพาะ นา แจมิน หลิว หยางหยาง Girls' Generation, IZ*ONE คุณเอก Heartrocker ทีมโบ๊ะบ๊ะแฟมิลี่ทุกคนและคุณ Choi Si Won ที่เป็นกำลังใจที่สำคัญที่สุดในการใช้ชีวิตและทำโครงงานพิเศษนี้

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้ในโครงงานพิเศษนี้

กนกวรรณ รัตนแสงสุข

ธวัลรัตน์ ชัยเชษฐอมร

นฤมล เมฆเจริญลาภ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	V
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	XII
สารบัญรูป	XIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ขอบเขต	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 สมุนไพรไทย	5
2.2 สมุนไพรที่ยับยั้งจุลินทรีย์ในช่องปาก	5
2.3 สมุนไพรที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย	7
2.3.1 ว่านน้ำ	7
2.3.2 ข่าเล็ก	8
2.3.3 กระเจี๊ยบแดง	9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 ขิง 9

2.3.5 อบเชย 10

2.4 องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรไทย 11

2.4.1 primary metabolite 11

2.4.1.1 คาร์โบไฮเดรต 11

ก. โมโนแซคคาร์ดไรด์ 11

ข. โอลิโกแซคคาร์ไรด์ 13

ค. ไตรแซคคาร์ไรด์ 14

ง. โพลิแซคคาร์ไรด์ 15

2.4.2 secondary metabolite 18

2.4.2.1 อัลคาลอยด์ 18

2.4.2.2 ไกลโคไซด์ 19

ก. cardiac glycoside 19

ข. anthraquinone glycoside 19

ค. saponin glycoside 20

ง. flavoniod glycoside 20

2.4.2.3 น้ำมันหอมระเหย 21

2.4.2.4 แทนนิน 21

2.5 จุลินทรีย์ในช่องปาก 21

2.5.1 *Candida albicans* 22

2.5.2 Lactic acid bateria 26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2.1 *Lactobacillus plantarum* 26

2.5.2.2 *Lactobacillus casei* 27

2.5.3 *Porphylomonas gingivalis* 27

2.5.4 *Staphylococcus aureus* 28

2.6 โรคที่เกิดจากจุลินทรีย์ในช่องปาก 28

2.6.1 ฟันผุ 28

2.6.2 โรคปริทันต์ 29

2.6.3 มะเร็งในช่องปาก 30

2.7 อนุมูลอิสระ 30

2.7.1 คุณสมบัติทางเคมีของสมุนไพรในการต้านอนุมูลอิสระ 31

2.7.2 oxidative stress 31

2.7.3 สารต้านอนุมูลอิสระ 32

2.7.3.1 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ 32

2.7.3.2 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ 33

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 33

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 35

3.1 อุปกรณ์ 35

3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง 35

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง 35

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง 35

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง 37

3.2 วิธีการทดลอง 37

3.2.1 การศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดสมุนไพร 37

3.2.1.1 การวิเคราะห์หาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 37

ก. วิธีทดสอบการกำจัดอนุมูลอิสระ NO 37

ด้วยวิธี nitric oxide redical scavenging efficacy

ข. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดสมุนไพร 38

ด้วยวิธี phosphomolybdenum

3.2.1.2 การหาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีชนิดอื่น 39

ก. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 39

ในสารสกัดสมุนไพร

ข. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ 40

ทั้งหมดในสารสกัดสมุนไพรไทย

ค. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด 41

ในสารสกัดสมุนไพร

ง. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ 41

ทั้งหมดในสารสกัดสมุนไพร

3.2.2 การศึกษากิจกรรมต้านจุลินทรีย์โดยสารสกัดสมุนไพร 42

3.2.2.1 การเตรียมสารสกัดสมุนไพรด้วยเอทานอล 42

3.2.2.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ 43

3.2.2.3 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ 44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธีเจืองจางในอาหาร

(agar dilution method)

3.2.2.4 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านไบโอฟิล์ม 45

3.2.2.5 การวิเคราะห์ time kill 45

3.2.2.6 การหาการรั่วของโปรตีน 46

3.2.3 การพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปาก 46

3.2.3.1 วิธีการทำน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสมุนไพร 46

3.2.3.2. การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ 46

ของสารสกัดสมุนไพรจากน้ำยาบ้วนปากด้วยวิธีการแพร่

บนวุ้นอาหาร (agar diffusion method)

3.2.4 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ .47

3.2.4.1 ผลการวิเคราะห์ time kill และการรั่วของโปรตีน 47

3.2.4.2 ผลการวิเคราะห์ antibiofilm 47

3.2.4.3 ผลการวิเคราะห์น้ำยาบ้วนปาก 47

บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 48

4.1 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดสมุนไพร 48

4.2 การยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพร 58

ด้วยวิธีเจืองจางในอาหาร (agar dilution method)

4.3 กิจกรรมการต้านไบโอฟิล์ม 62

4.4 การวิเคราะห์ Time kill 64

4.5 การรั่วของโปรตีน 66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 การยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของน้ำยาบ้วนปาก ด้วยวิธีการแพร่บนอาหารแข็ง (agar diffusion method) 67

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 72

เอกสารอ้างอิง 74

ภาคผนวก ก 90

ภาคผนวก ข 95

ภาคผนวก ค 106

ภาคผนวก ง 115

ภาคผนวก จ 138

ภาคผนวก ฉ 140

ภาคผนวก ช 144

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 สมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง	36
4.1 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	57
4.2 สมบัติการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพร ด้วยวิธีเจืองจางในอาหาร (agar dilution method)	62
4.5 แสดงปริมาณโปรตีนที่รั่วออกจากเซลล์ของ *C. albicans*	67
4.6 แสดงผลของน้ำยาบ้วนปากที่เติมสารสกัดสมุนไพร	71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ว่านน้ำ	8
2.2 ข่าเล็ก	8
2.3 กระเจี๊ยบแดง	9
2.4 ขิง	10
2.5 อบเชย	10
2.6 น้ำตาลกลูโคส กาแลกโตส ฟรักโตส	13
2.7 โครงสร้างน้ำตาลซูโครส มอลโตส แลคโตส	15
2.8 โครงสร้างไตรแซคคาร์ไรด์	15
2.9 โครงสร้างของอะไมโลส (amylase) และ อะไมโลเพคติน (amylopectin)	16
2.10 โครงสร้างของไกลโคเจน (glycogen)	17
2.11 โครงสร้างของเซลลูโลส (cellulose)	17
2.12 โครงสร้างของ reserpine quinine และ morphine	18
2.13 โครงสร้างของ cardiac glycoside	19
2.14 โครงสร้างของ anthraquinone glycoside	19
2.15 โครงสร้างของ aaponin glycoside	20
2.16 โครงสร้างของพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิก	20
2.17 โครงสร้างของแทนนิน (tannin)	21
2.18 เชื้อจุลินทรีย์ในช่องปากบุกรุกเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ได้โดยตรงและโดยอ้อม	23
2.19 รูปร่างของ *C. albicans* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.20 วงจรชีวิตในการสร้างไบโอฟิล์มของ *C. albicans* 26

2.21 รูปร่างของ *P. gingivalis* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 27

4.3 ผลของสารสกัดสมุนไพรและสารบริสุทธิ์ต่อการต้านฟิล์มชีวภาพของ *C. albicans* 64

4.4 ผลของสารสกัดอบเชยและ cinnamaldehyde ต่อการทำลายเชื้อ *C. albicans* 65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัญหาสุขภาพที่เกี่ยวข้องกับช่องปาก (oral pathogen) มีความสำคัญและส่งผลต่อการดำเนินชีวิตโดยเฉพาะโรคในช่องปาก 2 ชนิดที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อในช่องปาก คือ โรคฟันผุ (dental caries) และโรคปริทันต์ (periodontitis) (Lu และคณะ, 2019) โรคฟันผุ เป็นโรคที่พบสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียที่สร้างไบโอฟิล์ม ไบโอฟิล์มที่เกิดขึ้นบนผิวฟันเกี่ยวข้องกับการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus* และ *Streptococcus* เชื้อเหล่านี้สามารถเกาะติดและสะสมบริเวณผิวฟันโดยการสร้างสาร extracellular polysaccharides จากน้ำตาลซูโครส ลักษณะเฉพาะของแบคทีเรียชนิดนี้จำเป็นต่อการสร้างและพัฒนาเป็นไบโอฟิล์ม (Bowen และคณะ, 2018) ส่วนโรคปริทันต์เป็นโรคที่มีการอักเสบของ periodontal tissue และอาจนำไปสู่การสูญเสียฟัน ซึ่งโรคนี้ส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากแบคทีเรียโดยเฉพาะ แบคทีเรียแกรมลบ หนึ่งในแบคทีเรียแกรมลบที่สำคัญก็คือ *Porphyromonas gingivalis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่เป็นสาเหตุสำคัญของโรคปริทันต์ (Hajishengalis, 2015) นอกจากจะพบแบคทีเรียดังกล่าวในช่องปากแล้วยังพบฟังไจได้ถึง 85 สปีชีส์ ในบรรดาฟังไจเหล่านี้ *Candida* เป็นหนึ่งในฟังไจที่สำคัญ เมื่อสมดุลของจุลินทรีย์ในช่องปากเปลี่ยนไป *Candida* จะหาโอกาสที่จะกระทำต่อเนื้อเยื่อในช่องปาก เชื้อ *Candida* สามารถสร้างไบโอฟิล์มร่วมกับเชื้อ *Streptococcus* ในการแสดงบทบาทของการก่อโรค โดยเฉพาะ *Candida albicans* ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างไบโอฟิล์มที่สำคัญในช่องปาก (Lu และคณะ, 2019; Gulati และ Nobile, 2016) *C. albicans* เป็นหนึ่งใน *Candida* หลายๆสปีชีส์ที่แยกได้จากมนุษย์และเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อยีสต์ในช่องปากโดยส่วนใหญ่ (Ellepola และคณะ, 1998) ยิ่งกว่านั้นมีรายงานว่ามีความเชื่อมโยงระหว่างโรคในช่องปากเช่น โรคปริทันต์และโรคเรื้อรังต่างๆ รวมถึงโรคหลอดเลือดหัวใจ มะเร็งลำไส้ เบาหวาน อัลไซเมอร์ รวมทั้งโรคติดเชื้อในทางเดินหายใจ นอกจากนี้การมีอยู่ของแบคทีเรียก่อโรคในช่องปากและผลพลอยได้จากกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียในช่องปากอาจมีผลต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายซึ่งจะช่วยส่งเสริมการเกิดโรคเรื้อรัง ในช่องปากเป็นจุดสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อและดูแลรักษาสุขภาพช่องปาก การใช้ยาปฏิชีวนะเป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมเชื้อก่อโรคในช่องปาก ยาปฏิชีวนะหลายชนิดที่ใช้เช่น ampicillin, chlorhexidine และ vancomycin เป็นต้น มีรายงานว่าก่อให้เกิดผลข้างเคียงที่คาดไม่ถึง เช่น การ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดื้อยา ท้องเสีย เป็นต้น (Schmiege และคณะ, 2020) ดังนั้นการนำพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียมาใช้ควบคุมแบคทีเรียก่อโรคในช่องปากจึงเป็นทางเลือกที่ปลอดภัยกว่า

การใช้พืชสมุนไพรซึ่งมีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ เป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมจุลินทรีย์แทนการใช้ยาปฏิชีวนะ พืชสมุนไพรหลายชนิดสามารถใช้ในการควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปากได้ (Chinsembu, 2016) ซึ่งในปัจจุบันกำลังเป็นที่สนใจในการนำพืชที่อุดมไปด้วยสารสำคัญ (bioactive compounds) ซึ่งมีสมบัติการต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial property) ตัวอย่างเช่น α- asarone ในว่านน้ำ (*Acorus calamus* Linn) (Devi S และ Ganjewala, 2009) cinnamaldehyde และ eugenol ในอบเชย (*Cinnamomum verum* J. Presl) (Vazirian และคณะ, 2015) protocatechuic acid ในกระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa*) (Liu และคณะ, 2005) gingerol และ shogaol ในขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) (Semwal และคณะ, 2015) และ galangin ในข่าเล็ก (*Alpinia officinarum* Hance) (Cushnie และคณะ, 2007) ดังนั้นจึงน่าสนใจที่จะนำสมุนไพรเหล่านี้มาทดลองยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปาก ซึ่งได้มีรายงานการวิจัยการนำพืชสมุนไพรมาใช้ในการป้องกันโรคฟันผุ (Allaker และ Douglas, 2009) โรคปริทันต์ (Park และคณะ, 2003 ; Allaker และ Douglas, 2009 ; Cai และคณะ, 2000)

โดยทั่วไปการทำฟันมีค่าใช้จ่ายสูง ในประเทศที่กำลังพัฒนาอาจมีการบริการด้านทันตกรรมไม่เพียงพอ ดังนั้นจึงหันมาใช้สมุนไพรเพื่อสุขภาพช่องปากที่ดี ได้มีรายงานว่าประมาณร้อยละ 80 ของประชากรในประเทศที่กำลังพัฒนาได้มีการใช้ตำรับสมุนไพรดั้งเดิมสำหรับการดูแลรักษาสุขภาพ (Kim, 2005) เพื่อป้องกันโรคต่าง ๆ ในช่องปาก โดยทั่วไปน้ำยาบ้วนปากส่วนใหญ่ใช้ประโยชน์ในการต้านจุลชีพ ต้านการอักเสบ ลดอาการฟันผุ และใช้บรรเทาอาการปวด (John และคณะ 2013) จากการศึกษาส่วนใหญ่ได้แสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำยาบ้วนปากในเด็ก มีผลทำให้มีฟันผุมีจำนวนลดลง (Lobo และคณะ 2008) ในหลาย ๆ ประเทศได้ประสบความสำเร็จในการนำพืชสมุนไพรมาประยุกต์ใช้ทำน้ำยาบ้วนปาก (Vonasorn และคณะ 2013; Sharma และคณะ 2014; Hassana และคณะ 2018) ว่านน้ำเป็นพืชที่มีรายงานว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียและยีสต์หลายชนิดที่ก่อให้เกิดโรคในช่องปากซึ่งอาจสามารถป้องกันโรคฟันผุและโรคปริทันต์ (Phongpaichit และคณะ 2005; Devi S และ Ganjewala 2009; Rajput และคณะ 2013) เช่นเดียวกันกับกระเจี๊ยบ ขิง ข่าเล็ก และอบเชยที่มีรายงานว่าสามารถป้องกันโรคในช่องปากได้เช่นเดียวกัน (Cushnie และคณะ 2007; Avci และคณะ 2020 ; Aly และคณะ 2011 ; Srividya และคณะ 2010 ; Hoover, 2013 ; Vazirian และคณะ 2015; Paliwal และคณะ 2018) ดังนั้นจึงน่าสนใจที่จะนำสมุนไพรเหล่านี้มาใช้ในการพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปากเพื่อสุขภาพที่ดีของช่องปาก

กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ เป็นกิจกรรมหนึ่งที่มีความสำคัญของพืชที่มีสารสกัดโพลีฟีนอล ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (flavonoid), phenolic acids, lignans, stilbenes (Kumar และ Goelb, 2019) จากหลายการศึกษาได้ชี้ให้เห็นว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเป็นผลมาจากการที่พืชมีสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหล่านี้เป็นองค์ประกอบ (Tanweer และคณะ, 2016) โดยสารกลุ่มนี้มีบทบาทในการป้องกันองค์ประกอบของเซลล์จาก การทำลายโดยปฏิกิริยาออกซิเดทีฟ (oxidative damage) ดังนั้นจึงสามารถลดความเสี่ยงจากการเป็นโรคเรื้อรังที่มีสาเหตุมาจากภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) โดยการทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (free redical scarvengers) (Neha และคณะ, 2019) ความสัมพันธ์ของสารต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรกับสุขภาพกำลังได้รับความสนใจที่เพิ่มขึ้นต่อนวัตกรรมด้านอาหาร มีรายงานว่าพืชสมุนไพรหลายชนิดเป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติเช่น อบเชย (*Cinnamomum zeylanicum*) (Kallel และคณะ, 2019) ข่าเล็ก (*Alpinia officinarum*) (Srividya และคณะ, 2010) ขิง (*Zingiber officinale*) (Tanweer และคณะ, 2016) กระเจี๊ยบแดง *(Hibiscus sabdariffa)* (Hakimeh และคณะ, 2016) ว่านน้ำ (*Acorus calamus)* (Muthulakshmi และคณะ, 2015) เป็นต้น นอกจากนี้พืชสมุนไพรดังกล่าวจะมีผลดีทางด้านการป้องกันโรคเรื้อรังแต่ด้านอุตสาหกรรมอาหาร การที่สมุนไพรที่มีสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีผลดีในแง่ของการชะลอการเสื่อมคุณภาพจากกระบวนการออกซิเดชัน ของไขมัน (lipid peroxidation) และการหืน (oxidative rancidification) (Pokorny และคณะ, 2000) การที่ร่างกายได้รับ lipid peroxide จะทำให้เกิดผลเสียต่อร่างกายโดย lipid peroxide จะสร้างสารพิษที่มีส่วนประกอบของ malondialdehyde, cholesterol การสะสมของกรดคาร์บอนิล แอลกอฮอล์ และกรดหลายชนิด (Vieira และคณะ, 2017) ดังนั้นการใช้สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสิ่งจำเป็น ถึงแม้ว่าจะมีการใช้สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ เช่น butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA) เป็นต้น แต่จากการศึกษาพบว่าสารเหล่านี้มีผลเสียต่อสุขภาพ เช่น ทำให้เกิดเนื้องอก เป็นพิษต่อระบบภูมิคุ้มกันและอาการแพ้ต่าง ๆ (Carocho และคณะ, 2014) เพราะอย่างนั้นจึงต้องใช้สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษากิจกรรม การต้านอนุมูลอิสระและสารพฤกษศาสตร์ทางเคมีรวมทั้งกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปาก เพื่อคัดเลือกหาสมุนไพรที่มีกิจกรรมดังกล่าวสูงเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ทำน้ำยาบ้วนปาก

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. เพื่อศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและสมบัติทางพฤกษเคมีของสมุนไพรไทย
2. เพื่อศึกษาคุณสมบัติการต้านแบคทีเรียก่อโรคในช่องปาก
3. เพื่อประยุกต์ใช้สารสกัดในการผลิตน้ำยาบ้วนปากที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคในช่องปาก

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ทำการศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ วิเคราะห์สารประกอบในสมุนไพร และทำการหาปริมาณความเข้มข้นของสมุนไพรต่างๆ ที่มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคภายในช่องปาก เพื่อเป็นแนวทางในการทำน้ำยาบ้วนปากสูตรสมุนไพรได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทำให้ทราบถึงคุณสมบัติทางด้านพฤษเคมี เช่น กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบแทนนิน สารประกอบแอลคาลอยด์ ทั้งหมด เป็นต้น รวมถึงกิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ในช่องปากของสารสกัดสมุนไพรไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สมุนไพรไทย

สมุนไพรไทย คือ ผลผลิตที่ได้จากธรรมชาติที่มีอยู่ในประเทศไทย ได้แก่ พืช สัตว์ และ แร่ธาตุ ที่สามารถใช้เป็นยารักษาโรคหรือบำรุงร่างกาย โดยการทา ดม ดื่ม กิน อาจใช้ต้น ใบ ราก ดอก หรือ ทุก ๆ ส่วนของสมุนไพรชนิดนั้น ๆ เพื่อทำเป็นยารักษาโรค โดยอาจต้องผ่านกระบวนการบางอย่าง ก่อนนำมาใช้ เช่น บด ต้ม คั้น ตากแห้ง เป็นต้น หากนำเอาสมุนไพรตั้งแต่สองชนิดขึ้นไปมาผสม รวมกันซึ่งจะเรียกว่า ยา ในตำรับยา (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2563)

2.2 สมุนไพรที่ยับยั้งจุลินทรีย์ในช่องปาก

สมุนไพร มีความหมายต่อชีวิตมนุษย์ในทางสุขภาพซึ่งจะหมายถึงการส่งเสริมสุขภาพ และการรักษาโรคสมุนไพร จากการประยุกต์ใช้สมุนไพรที่มีอยู่ตามภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศ ในรูปแบบที่ต่างกันออกไปตามองค์ความรู้และภูมิปัญญาท้องถิ่น การใช้สมุนไพรจึงไม่ถูกจำกัดอยู่เฉพาะการรักษาโรคเท่านั้น แต่ยังรวมถึงการนำมาใช้ในชีวิตประจำวันอีกด้วย เช่น เกี่ยวกับสุขภาพช่องปาก จากภูมิปัญญาเดิมมีการดูแลรักษาช่องปาก บรรเทาอาการอักเสบในช่องปาก และลดการอักเสบที่เกิดขึ้นกับเหงือก โดยการใช้สมุนไพรต่าง ๆ มาช่วย ได้แก่ ข่อย มังคุด ชุมเห็ดเทศ ฟ้าทะลายโจร ว่านหางจระเข้ ผักคราดหัวแหวน กานพลู มะขามป้อม โหระพา กระชาย เป็นต้น (Parichat, 2563)

มีรายงานเกี่ยวกับศักยภาพของการใช้สารสกัดจากพืช น้ำมันหอมระเหย และสารประกอบจากธรรมชาติเป็นสารป้องกันการเกิดฟิล์มชีวภาพในทันตกรรม รวมถึงการยับยั้งตั้งแต่จุดกำเนิดของฟิล์มชีวภาพตลอดจนกลไกการทำงาน การยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดฟิล์มชีวภาพนั้นประสบความสำเร็จโดยใช้สารสกัดจาก *Salvadora persica* (ข่อย หรือ toothbrush tree), *Juglans regia* L. (วอลนัท หรือ Persian walnut), *Vaccinium macrocarpon* Aiton (แครนเบอร์รี่ หรือ cranberry), *Camellia sinensis* (L.) *Kuntze* (ชา หรือ tea), *Morus alba* L. (ลูกหม่อน หรือ mulberry), *Trachyspermum ammi* Sprague (เทียนเยาวพาณี หรือ ajowan), *Piper betle* L. (พลู หรือ betel vine), *Vitis vinifera* L. (องุ่น หรือ grape), *Azadirachta indica* A. Juss. (สะเดา หรือ neem), *Sanguinaria canadensis* L. (red puccoon), *Myristica fragrans* Houtt. (จันทร์เทศ หรือ nutmeg), *Kaempferia pandurata* Roxb. (กระชาย หรือ Fingerroot), *Pistacia atlantica* Desf. (พิสตาชีโอ หรือ pistachio), *Pistacia vera* Mill. (พิสตาชีโอ หรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

pistachio), *Achyranthes aspera* Guss. (หญ้าพันงู หรือ Prickly chaff-flower), *Artocarpus lakoocha* Roxb. (มะหาด หรือ lok hat), *Polygonum cuspidatum* Willd. ex Spreng., *Helichrysum litoreum* Guss., *Rosmarinus officinalis* L. (โรสแมรี่ หรือ rosemary), *Mentha spicata* L. (สะระแหน่ หรือ kitchen mint) และ *Eugenia caryophyllata* Thunb. (กานพลู หรือ clove) (Chinsembu, 2016)

ก่อนหน้านี้มีการทดลองศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปาก สามารถลดการสร้างฟิล์มชีวภาพ ลดการเกาะติดแน่นกับผิวฟันของคราบพลัค (dental plaque) และบรรเทาอาการเจ็บปวดจากโรคในช่องปาก ซึ่งได้แก่ *Abies canadensis* (L.). Mill., *Albizia julibrissin* Durazz., *Drosera peltata* Willd (หญ้าไฟตะกาด หรือ shield sundew มี plumbagin ซึ่งเป็นส่วนผสมต่อต้านเอชไอวี) *Ginkgo biloba* L. (แปะก๊วย หรือ Ginkgo), *Juniperus virginiana* L. (ไม้ซีดาร์ หรือ Red Cedar), *P. virginiana* Mill., *Sassafras albidum* (Nutt.) Nees, *T. vulgare* L. และ *Thuja plicata* Donn ex D. Don. พืชชนิดอื่นที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อโรคในช่องปาก ได้แก่ *Ageratum conyzoides* Sieber ex Steud., *Annona senegalensis* Pers., *Breynia nivosa* (W. Bull) Small. *Harungana madagascariensis* Poir (ฮารงก้า หรือ Harunga) *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. (อิมมอคแทล หรือ Immortelle) และ *Piper cubeba* Bojer. (พริกหาง หรือ tailed pepper) (Chinsembu, 2016)

หลายปีที่ผ่านมา น้ำยาบ้วนปากของ Listerine ที่มีส่วนผสมของเมนทอล (menthol) เมธิลซาลิไซเลต (methyl salicylate) ยูคาลิปตัล (eucalyptol) และ ไทมอล (thymol) มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยที่เมทิลซาลิไซเลตและเมนทอลทำหน้าที่เป็นสารทำความสะอาดและยาชาเฉพาะที่ (local anesthetic) ตามลำดับ ยาต้านจุลชีพ ยูคาลิปตัส เป็นของเหลวอินทรีย์ ไม่มีสี มีวงอีเธอร์ (cyclic ether) และ monoterpenoid (Chinsembu, 2016)

Thymol หรือ 2-isopropyl-5-methylphenol คือ สารอนุพันธ์ในกลุ่มโมโนเทอร์พีน ฟีนอล (monoterpene phenol derivative) ของ cymene และเป็นไอโซเมอร์ของ carvacrol เป็นยาต้านจุลชีพและน้ำยาฆ่าเชื้อ (antiseptic) ที่ใช้กันทั่วไปในการเตรียมงานด้านทันตกรรมเพื่อยับยั้งแบคทีเรียที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็น (foul-odor producing bacteria) จากการศึกษาพบว่า Thymol สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ทนต่อยาปฏิชีวนะได้ เช่น เพนนิซิลิน ที่สำคัญกว่านั้นมีรายงานว่า Thymol ยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพและทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง คือ มีฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ (anti-mutagenic) ต้านมะเร็ง (anti-tumor) สารต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ (Chinsembu, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตภัณฑ์ทั่วไป เช่น นม น้ำผึ้ง ชา *Vaccinium macrocarpon* (แครนเบอร์รี่) เห็ดที่บริโภคได้ *Coffea arabica* L. (กาแฟทั่วไป) *Hordeum vulgare* L. (barley coffee) *Vitis vinifera* L. (องุ่น) และไวน์แดงปราศจากแอลกอฮอล์ เป็นอาหารและเครื่องดื่มธรรมชาติที่สามารถยับยั้งการยึดเกาะของแบคทีเรียในช่องปาก (buccal cavity) *Rosmarinus officianalis* L. (โรสแมรี) และ *Salvia officianalis* L. (เสจ) มีประโยชน์ในการใช้เป็นสารลดคราบจุลินทรีย์ (antiplaque agents) ในการเตรียมงานทันตกรรม (Chinsembu, 2016)

ผลิตภัณฑ์สุขอนามัยในช่องปากได้ผสมสารสกัดจาก *Melaleuca alternifolia* Cheel (น้ำมันต้นชา หรือ tea tree oil) *Aloe vera* (L.) Burm f. (ว่านหางจระเข้) miswak สะระแหน่ (peppermint) และน้ำผึ้งมานูก้า (manuka honey) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการต้านจุลชีพ น้ำมันต้นชาในออสเตรเลียมีคุณสมบัติต้านการอักเสบช่วยบรรเทาโรคปริทันต์ได้ ในประเทศออสเตรเลียน้ำมันต้นชาซึ่งมีฤทธิ์ต้านอักเสบใช้บรรเทา periodontal disease และ alternifolia oil มักถูกเติมลงในยาสีฟัน แม้ว่าจะทำให้เกิดความเป็นพิษในแมว แบรนด์ยาสีฟัน Aloe Dent Triple Action เป็นยาสีฟันที่มีส่วนผสมของว่านหางจระเข้ แบรนด์ยาสีฟันอินเดียชื่อว่า Meswak ที่มีมูลค่า 3.2 ล้านเหรียญสหรัฐในปี ค.ศ. 2007 ผลิตจากสารสกัดมิสวาก (miswak) ยาสีฟัน Pepsodent มีชาเขียว Manuka Health New Zealand ก็ผลิตยาสีฟันและน้ำยาบ้วนปากที่มีเมนทอลอ่อน ๆ พรอพโพลิสธรรมชาติ (natural propolis) และน้ำผึ้งมานูก้า (manuka honey) ไรน์ (rhein) ลูกเกด (raisins) ทับทิม (pomegranate) คาโมไมล์ (chamomile) น้ำผึ้ง พรอพโพลิส (propolis) น้ำมันหอมระเหย ชาเขียว แท่งเคี้ยว (chewing sticks) โปรไบโอติก ไนซิน และเห็ดที่บริโภคได้ เป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่สำคัญในการลดการติดเชื้อในช่องปากและปรับปรุงสุขภาพช่องปาก ได้มีการกล่าวถึงการใช้ผลิตภัณฑ์พืชในทางทันตกรรม (Chinsembu, 2016)

2.3 สมุนไพรที่เกี่ยวของกับงานวิจัย

2.3.1 ว่านน้ำ

ว่านน้ำมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Acorus calamus* L. อยู่ในวงศ์ Acoraceae มีลักษณะเป็นพรรณไม้ขนาดเล็ก มีความสูงของต้นประมาณ 50-80 เซนติเมตร เหง้าเป็นรูปทรงกระบอกค่อนข้างแบน ลักษณะเป็นข้อ ๆ มองเห็นชัด ผิวนอกเป็นสีน้ำตาลอ่อนหรือสีน้ำตาลอมชมพู เนื้อภายในเป็นสีเนื้อแก่ มีกลิ่นหอม รสเผ็ดร้อนฉุนและขม ขยายพันธุ์โดยวิธีการแยกหน่อ มักพบขึ้นเองตามบริเวณริมหนองน้ำ ออกดอกเป็นช่อ สีเหลืองออกเขียว มีสรรพคุณ เหง้าว่านน้ำมีสรรพคุณเป็นยาบำรุงธาตุ ยาหอม แก้ธาตุพิการ ช่วยทำให้เจริญอาหาร บำรุงหัวใจ บำรุงประสาทแก้อาการวิงเวียนศีรษะป็นยาระบาย ช่วยรักษาโรคบิด บิดในเด็ก รักษาอาการลำไส้อักเสบ ช่วยขับระดูของสตรี ใช้รักษาแผลมีหนอง ช่วยขับปัสสาวะ เป็นต้น (www.medthai.com/ว่านน้ำ/)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.1 ว่านน้ำ

ที่มา : https://www.medthai.com/ว่านน้ำ/ (วันที่15 ก.พ. 2563)

2.3.2 ข่าเล็ก

ข่าเล็กหรือข่าป่ามีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Alpinia conchigera* Griff จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae มีลักษณะเป็นไม้ล้มลุก ลำต้นใต้ดินเป็นเหง้า เห็นข้อปล้องชัดเจน ใบสีเขียวเป็นมัน เส้นใบเรียงตัวขนานแบบขนนก ขอบใบเป็นคลื่น ดอกช่อ ออกที่ปลายยอด ก้านดอกยาว ดอกย่อย มีขนาดเล็ก กลีบดอกสีขาวกระน้ำตาล กลีบขนาดใหญ่สุดมีริ้วสีแดง ผลรูปร่างกลมรี เมื่อสุกเป็นสีส้ม มีสรรพคุณ แก้ปวดท้อง แก้จุกเสียดแน่นเฟ้อ ใช้ทาเวลาถูกแมลงกัดต่อย แก้วิงเวียน แก้ฝีดาษ ฝีเส้น ฝีทราย ฝีฝักบัว แก้เกลื้อนน้อย เกลื้อนใหญ่ ขับพยาธิในลำไส้ (www.creditonhand.com/Herb-Drug-Vitamins/230/47)

รูปที่ 2.2 ข่าเล็ก

ที่มา : https://www.creditonhand.com/Herb-Drug-Vitamins/230/47.html (วันที่15 ก.พ. 2563)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 กระเจี๊ยบแดง

กระเจี๊ยบแดงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Hibiscus sabdariffa* L. อยู่ในวงศ์ Malvaceae มีลักษณะ ลักษณะลำต้นเป็นไม้พุ่ม สูงประมาณ 50-180 เซนติเมตร มีสีม่วงอมแดง เป็นใบเลี้ยงเดี่ยว ออกดอก เป็นดอกเดี่ยวตามซอกใบ กลีบดอกชมพู หรือเหลือง และผลจะมีปลายแหลม ผลอ่อนจะเป็นสีเขียว ส่วนผลแก่จะแตกออกเป็น 5 แฉก เมล็ดสีน้ำตาล ตัวผลจะมีกลีบเลี้ยงสีแดงหนาชุ่มน้ำหุ้มเอาไว้ มีสรรพคุณ ใช้เป็นยาลดไขมันในเส้นเลือดและช่วยลดน้ำหนัก ใช้เป็นยาบำรุงธาตุ บำรุงกำลัง แก้อาการอ่อนเพลีย รักษาโรคเบาหวาน ลดความดันโลหิต ช่วยแก้อาการคอแห้ง กระหายน้ำ ช่วยแก้อาการร้อนใน ช่วยรักษาแผลในกระเพาะอาหาร เป็นต้น (www.medthai.com/กระเจี๊ยบแดง/)

รูปที่ 2.3 กระเจี๊ยบแดง

ที่มา : https://www.medthai.com/กระเจี๊ยบแดง/ (วันที่15 ก.พ. 2563)

2.3.4 ขิง

ขิงมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Zingiber officinale* Roscoe อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae มีลักษณะพืชล้มลุก ขึ้นเป็นกอ มีเหง้าใต้ดินเป็นข้อ ๆ เนื้อในสีขาวหรือเหลืองอ่อน ปลายสุดของข้อจะเป็นที่แทงยอดหรือลำต้นเทียม มีกาบหรือโคนใบหุ้ม ลักษณะใบ เป็นใบเดี่ยว ออกเรียงสลับกันเป็นสองแถว โคนใบสอบแคบและจะเป็นกาบหุ้มลำต้นเทียม ดอกช่อ ทรงกระบอก แทงขึ้นมาจากเหง้า กลีบดอกสีเหลืองอมเขียว มีสรรพคุณ แก้อาการเมารถเมาเรือ แก้ปัญหาผมขาดร่วง ช่วยลดอาการท้องอืด บรรเทาอาการคลื่นไส้ อาเจียน บรรเทาอาการไมเกรน ลดความเสี่ยงของการเกิดความดันโลหิตสูง ลดระดับน้ำตาลในเลือด ช่วยป้องกันโรคมะเร็ง เป็นต้น (www.honestdocs.co/benefits-of-ginger)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.4 ขิง

ที่มา : https://www.honestdocs.co/benefits-of-ginger (วันที่15 ก.พ. 2563)

2.3.5 อบเชย

อบเชยชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Cinnamomum verum* J. Presl อยู่ในวงศ์ Lauraceae มีลักษณะ เป็นไม้ต้น เปลือกต้นและใบมีกลิ่นหอม กิ่งอ่อนมีขนสั้น ๆ ใบเดี่ยว ขอบใบเรียบ ผิวใบด้านบนเกลี้ยงเป็นมันด้านล่างมีคาบสีขาวเล็กน้อย ดอกช่อแยกแขนงออกที่ซอกใบและปลายกิ่ง สีขาวแกมเหลือง ด้านนอกมีขนหนาแน่น สรรพคุณ แก้อ่อนเพลีย แก้ใจหวิว ใจสั่น บำรุงกำลัง บำรุงร่างกาย แก้จุกแน่นและท้องเสีย รักษาโรคเบาหวาน แก้อาการปวดศีรษะ แก้อาการคัดจมูก ทำให้หายใจสะดวก ขับลม แก้ท้องอืดเฟ้อ เป็นต้น (www.honestdocs.co/cinnamon-cinnamon-toast)

รูปที่ 2.5 อบเชย

ที่มา : https://www.honestdocs.co/cinnamon-cinnamon-toast (วันที่15 ก.พ. 2563)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรไทย

2.4.1 Primary metabolite

สารเมแทบอไลท์ปฐมภูมิ เป็นสารที่มีอยู่ในพืชชั้นสูงทั่วไป พบในพืชทุกชนิด เป็นผลิตผลที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง เช่น คาร์โบไฮเดรท ไขมัน โปรตีน เม็ดสี (pigment) และเกลืออนินทรีย์ (inorganic salt) เป็นต้น (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2558)

2.4.1.1 คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)

คาร์โบไฮเดรตเป็นสารชีวโมเลกุลที่สำคัญที่เป็นองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด มีสูตรเคมีคือ $(CH_2O)_n$ ซึ่ง $n \geq 3$ คาร์โบไฮเดรตจัดเป็นสารประกอบโพลีไฮดรอกซีแอลดีไฮด์ (polyhydroxyaldehyde) หรือ โพลีไฮดรอกซีคีโตน (polyhydroxyketone) ซึ่งการที่มีหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลนั้น ทำให้เกิดการวางตัวกัน และยังสามารถทำปฏิกิริยาหรือสร้างพันธะกับสารอื่น ๆ ได้ ดังนั้น คาร์โบไฮเดรตจึงมีความหลากหลายทั้งในด้านของโครงสร้างทางเคมี และบทบาททางชีวภาพอีกด้วย มอนอเมอร์ของคาร์โบไฮเดรต คือ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหรือโมโนแซคคาร์ไรด์ (Khampeerada, 2017)

ก. โมโนแซคคาร์ไรด์(monosaccharide)

โมโนแซคคาร์ไรด์ เป็นมอนอเมอร์ของคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ ประกอบด้วยธาตุคาร์บอน 3-8 อะตอม สามารถละลายน้ำได้ดีและมีรสหวาน เป็นน้ำตาลที่มีขนาดโมเลกุลเล็กที่สุดไม่สามารถถูกย่อยให้เล็กลงกว่านี้ได้ ร่างกายสามารถดูดซึมนำไปใช้ได้ทันที น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวสามารถแบ่งได้เป็นหลายชนิด ซึ่งแต่ละชนิดอาจมีสูตรโมเลกุลเหมือนกัน แต่มีสูตรโครงสร้างที่แตกต่างกันได้ เช่น ไรโบส ไลโซส ไซโลส และอะราบิโนส ซึ่งต่างก็มีสูตรโมเลกุลเป็น $C_5H_{10}O_5$ เหมือนกัน แต่มีสูตรโครงสร้างที่แตกต่างกัน (Khampeerada, 2017)

ก.1 น้ำตาลเพนโทส (pentose)

น้ำตาลเพนโทสเป็นน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม น้ำตาลที่สำคัญ ได้แก่ น้ำตาลไรโบส (ribose sugar) มีสูตรโมเลกุล เป็น $C_5H_{10}O_5$ น้ำตาลไรโบส เป็นส่วนประกอบสำคัญในโมเลกุลของอาร์เอ็นเอ (ribonucleic acid ; RNA) ซึ่งมีความสำคัญในการสังเคราะห์ไรโบโซมและโปรตีน นอกจากนี้ยังเป็นส่วนประกอบของสารพลังงานสูง ATP (adenosine triphosphate) และ NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) และ NADP (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) ซึ่งมีความสำคัญในกระบวนการหายใจและการสังเคราะห์สารหลายชนิด น้ำตาลดีออกซี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไรโบส (deoxyribose sugar) มีสูตรโมเลกุลเป็น $C_5H_{10}O_4$ โดยมีการดึงอะตอมของออกซิเจนออกจากคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 2 ของน้ำตาลไรโบส ทำให้มีออกซิเจนน้อยกว่าน้ำตาลไรโบส 1 อะตอม น้ำตาลดีออกซีไรโบส มีความสำคัญเพราะเป็นส่วนประกอบของดีเอ็นเอ (deoxyribonucleic acid ; DNA) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญอยู่ในโครโมโซม (chromosome) โดยทำหน้าที่ควบคุมกิจกรรมต่างๆ ของเซลล์ เช่น การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม การสังเคราะห์ RNA ซึ่งมีความจำเป็นต่อการสังเคราะห์โปรตีนอีกทีหนึ่งน้ำตาลทั้งสองชนิดนี้ไม่มีความจำเป็นในแง่ของการให้พลังงานแก่ร่างกายมากนัก และไม่ใช่สารจำเป็นที่ต้องได้รับจากอาหาร เนื่องจากร่างกายสามารถสร้างได้จากสารนี้ได้จากวิถีเพนโตส (pentose pathway) (ประสงค์, 2541)

ก.2 น้ำตาลเฮกโซส (hexose)

น้ำตาลเฮกโซส น้ำตาลเฮกโซสจัดเป็นน้ำตาลที่มีความสำคัญในทางโภชนาการ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และกาแลคโตส

ก.2.1 กลูโคส (glucose)

กลูโคสมีสูตรโมเลกุลเป็น $C_6H_{12}O_6$ กลูโคสเป็นน้ำตาลที่มีความสำคัญมากที่สุด เดิมพบในน้ำองุ่นจึงเรียกชื่อว่า น้ำตาลองุ่น (grape sugar) อาหารทั่ว ๆ ไป จะมีกลูโคสอิสระอยู่เพียงเล็กน้อย แต่จะพบกลูโคสเป็นหน่วยย่อย หรือโมเลกุลย่อย เช่น แป้ง ไกลโคเจน นอกจากนี้ยังเป็นหน่วยย่อยของไดแซ็กคาไรด์ (disaccharide) ที่พบบ่อย ได้แก่ น้ำตาลซูโครส (sucrose) น้ำตาลแลกโตส (lactose) น้ำตาลมอลโตส (maltose) ซึ่งได้จากการย่อยแป้ง กลูโคสมีความสำคัญเนื่องจากเป็นศูนย์กลางของคาร์โบไฮเดรตที่ให้พลังงานแก่ร่างกาย เมื่อน้ำตาลกลูโคสละลายน้ำจะขดเป็นวงหกเหลี่ยม โดยใช้หมู่คาร์บอนิล (C-O) ของคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ของคาร์บอนตำแหน่งที่ 5 ทำให้มีลักษณะเป็นวง เรียกว่า แอโนเมอร์ (anomer) นอกจากนี้กลูโคสยังมีสมบัติในการรีดิวซ์สารละลายเบเนดิกต์ (benedict solution) ซึ่งเป็นสารละลายที่มีคิวปริก (Cu^{2+}) ในเบส (Cu^{2+} ใน $NaHCO_3$ ในเกลือซิเตรต) ให้เป็นคิวปรัส (Cu^{+}) ให้ตะกอนสีอิฐของคิวปรัสออกไซด์ (Cu^{+}) เนื่องจากกลูโคสมี หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ในคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 เป็นอิสระน้ำตาลกลูโคสมีชื่อทางการค้าหรืออุตสาหกรรมว่า น้ำตาลเด็กซ์โทรส (dextrose) เนื่องจากสารละลายของน้ำตาลกลูโคสจะบิดเบนแสงโพลาไรซ์ในแนวระนาบไปทางขวา (ประสงค์, 2541)

ก.2.2 ฟรุกโตส (fructose)

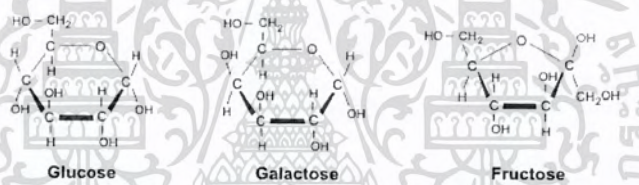
ฟรุกโตสเป็นมอโนแซ็กคาไรด์ที่ละลายได้ดีมากในน้ำ ทำให้ตกผลึกได้ยากมีรสหวานมากกว่าน้ำตาลทรายและน้ำตาลกลูโคส พบในผลไม้สุกทั่ว ๆ ไปจึงได้ชื่อว่าน้ำตาลผลไม้ (fruit sugar) ฟรักโทสเป็นน้ำตาลกลุ่มคีโตเฮกโซส (ketohexose) มีหมู่คีโตนอยู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 มีสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โมเลกุลเป็น $C_6H_{12}O_6$ เช่นเดียวกับกลูโคสจึงเป็นไอโซเมอร์ (isomer) กับกลูโคส เมื่อละลายน้ำจะขดเป็นวงห้าเหลี่ยม เกิดจากการเกาะกันของหมู่คีโตนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 หมู่ไฮดรอกซิลของคาร์บอนตำแหน่งที่ 5 ชื่อทางการค้าหรืออุตสาหกรรมของฟรักโทส คือ ลีวูโลส (laevulose) โดยสารละลายของฟรักโทสจะบิดเบนแสงโพลาไรซ์ไปทางซ้าย (ประสงค์, 2541)

ก.2.3 กาแลคโตส (galactose)

กาแลคโตสเป็นมอโนแซ็กคาไรด์ที่มีโครงสร้างคล้ายกลูโคส โดยหมู่ไฮดรอกซิลของคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 สลับข้างกับกลูโคสเพียงตำแหน่งเดียวและการเบนแสงก็จะไปทางขวาเช่นเดียวกับกลูโคส ในธรรมชาติมักไม่พบกาแลคโตสเป็นอิสระแต่จะพบเป็นหน่วยย่อยของน้ำตาลแลคโตส (lactose) ซึ่งเป็นน้ำตาลที่พบในน้ำนม และน้ำตาลแลคโตสยังเป็นส่วนประกอบสำคัญในกาแลกโตลิพิด (galactolipid) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญอยู่ในเยื่อเซลล์ของเซลล์สมองและเซลล์ประสาท (ประสงค์, 2541)



รูปที่ 2.6 น้ำตาลกลูโคส กาแลกโตส ฟรักโตส

ที่มา : https://www.ontrack-media.net/biology/bm1l1rimage11.jpg (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

ข. โอลิโกแซคคาร์ไรด์ (oligosaccharide)

มอโนแซ็กคาไรด์ ตั้งแต่ 2-10 โมเลกุลมาจับรวมกันเป็นลูกโซ่เชื่อมด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) ที่สำคัญ (ประสงค์, 2541) ได้แก่

ข.1 ไดแซคคาร์ไรด์ (disaccharide)

ไดแซคคาร์ไรด์ เป็นน้ำตาลที่ประกอบด้วยมอโนแซ็กคาไรด์ 2 โมเลกุล เชื่อมต่อกันตัวยพันธะไกลโคซิดิก มอโนแซ็กคาไรด์ที่เชื่อมต่อกันอาจเป็นชนิดเดียวหรือต่างชนิดกันก็ได้ และเมื่อย่อยสลายไดแซ็กคาไรด์จะได้มอโนแซ็กคาไรด์ 2 โมเลกุล ไดแซ็กคาไรด์ที่สำคัญ (ประสงค์, 2541) ได้แก่

ข.1.1 ซูโครส (sucrose)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซูโครสเป็นน้ำตาลที่ได้จากอ้อยและบีท (cane sugar และ beet sugar) ที่รู้จักกันดีก็คือน้ำตาลทราย ซูโครสประกอบด้วยกลูโคส และฟรักโทส อย่างละโมเลกุลเชื่อมโยงกันด้วยพันธะ 1-2 ไกลโคซิดิก (1-2 glycosidic bond) ซูโครสไม่มีคุณสมบัติในการเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลซูโครสมีสมบัติในการบิดแสงโพลาไรซ์ไปทางขวา แต่เมื่อไฮโดรไลซิส ซูโครสจะให้สารละลายผสมของกลูโคสและฟรักโทส ซึ่งมีสมบัติในการบิดแสงไปทางซ้าย จึงเรียกน้ำตาลซูโครสว่าน้ำตาลอินเวิร์ต (invert sugar) ซึ่งเป็นชื่อเรียกทางการค้า การแยกซูโครสด้วยน้ำจะเกิดขึ้นเร็วมากขึ้น ถ้ามีน้ำย่อยอินเวอร์เทส (invertase) สารละลายที่ได้จะมีสมบัติในการรีดิวซ์ด้วย (ประสงค์, 2541)

ข.1.2 มอลโตส (maltose)

มอลโตส หรือเรียกว่า มอลต์ชูการ์ (malt sugar) ประกอบด้วย น้ำตาลกลูโคส 2 โมเลกุล เชื่อมต่อกันด้วยพันระ 1–4 ไกลโคซิดิก (1-4 glycosidic bond) มอลโตสยังมีสมบัติเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ เนื่องจากยังมีหมู่ -OH ของคาร์บอนตำแหน่งที่หนึ่งของกลูโคสเป็นอิสระอยู่ น้ำตาลชนิดนี้มักไม่ค่อยพบในธรรมชาติ แต่ได้จากการสลายแป้งโดยน้ำย่อยอะไมเลส (amylase) ที่พบในธรรมชาติจะพบได้ในข้าวบาร์เลย์หรือข้าวมอลต์ (malt) ที่กำลังจะงอก ใช้ทำเครื่องดื่มพวกเบียร์และอาหารสำหรับเด็ก (ประสงค์, 2541)

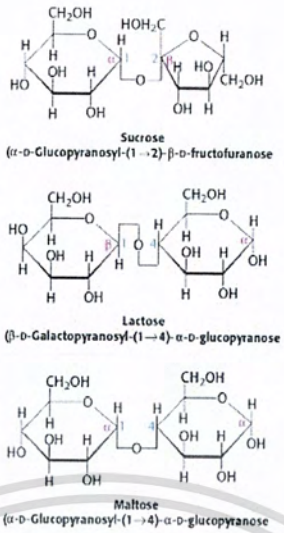
ข.1.3 แลคโตส (lactose)

แลคโตส เป็นน้ำตาลที่พบในน้ำนมจึงเรียกว่า น้ำตาลนม (milk sugar) ของสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยนม ประกอบด้วยกลูโคสและกาแลกโตสอย่างละโมเลกุลเกาะกันด้วยพันธะ 1-4 ไกลโคซิดิก (1-4 glycosidic bond) มีสมบัติเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ แบคทีเรียสามารถเปลี่ยนน้ำตาลแลกโตสให้เป็นกรดแลกติกได้จึงทำให้นมมีรสเปรี้ยว (ประสงค์, 2541)

ค. ไตรแซคคาร์ไรด์ (trisaccharide)

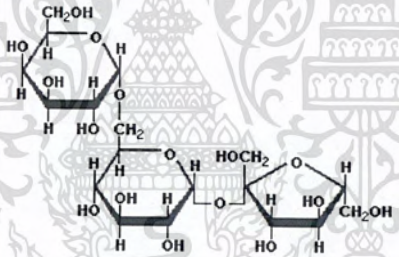
ไตรแซคคาร์ไรด์ ประกอบด้วยมอนอแซคคาร์ไรด์ 3 โมเลกุล ที่พบในธรรมชาติ คือ ราฟิโนส ซึ่งพบในน้ำตาลจากหัวบีท และอ้อย ประกอบด้วยกลูโคส กาแลคโตส และฟรุกโตส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก ไม่มีคุณสมบัติในการรีดิวซ์ (ประสงค์, 2541)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 โครงสร้างน้ำตาลซูโครส มอลโตส แลคโตส

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/650/disaccharide (วันที่ 16 ก.พ. 2563)



รูปที่ 2.8 โครงสร้างไตรแซคคาร์ไรด์

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2218/raffinose (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

ง. โพลีแซคคาร์ไรด์ (polysaccharide)

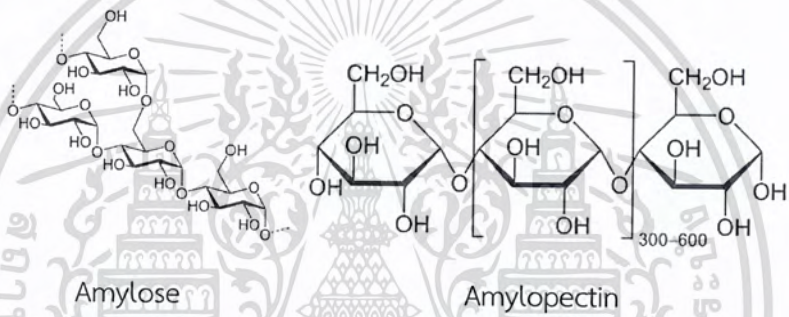
โพลีแซคคาร์ไรด์ เป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เกิดจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวมาเรียงต่อกันเป็นสายยาว ละลายน้ำได้ยากหรือไม่ละลายเลย โพลีแซคคาร์ไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่และเป็นกลุ่มที่ไม่มีรสหวาน (Khampeerada, 2017)

ง.1. แป้ง (starch)

แป้ง (starch) เป็นพอลิแซ็กคาไรด์สะสมอยู่ในพืช เช่น หัวเผือก หัวมัน เมล็ดข้าวแป้ง ยังแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ อะไมโลส (amylose) มีอยู่ในแป้งประมาณ 10-25 เปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลูโคส หลายร้อยหลายพันหน่วยต่อกันด้วยพันธะ 1-4 ไกลโคซิดิก (1-4 glycosidic bond) เป็นโซ่ยาวไม่แตกกิ่งหรือแขนง อะไมโลสเป็นผงสีขาว ไม่มีรสหวาน เมื่ออยู่ในน้ำจะขุ่นขาว เมื่อทำปฏิกิริยากับไอโอดีนจะให้สีน้ำเงินเข้ม น้ำย่อยที่ย่อยอะไมโลส คือ อะไมเลส (amylase) จะย่อยอะไมโลสให้เป็นเด็กซ์ทริน (dextrin) มอลโทส และกลูโคส อะไมโลเพกติน (amylopectin) ประกอบด้วยกลูโคสต่อกันด้วยพันธะ 1–4 ไกลโคซิดิก แตกแขนงเป็นโซ่กิ่งด้วยพันธะ 1-6 ไกลโคซิดิก แต่ละแขนงหรือโซ่กิ่งจะประกอบตัวด้วยกลูโคสประมาณ 12 หน่วยย่อยและการแตกกิ่งจะห่างกันประมาณ 24-30 หน่วย จึงมีการแตกกิ่งครั้งหนึ่ง อะไมโลเพคตินทำปฏิกิริยากับไอโอดีนจะให้สีม่วงแดง เมล็ดพืชที่ผิวมีลักษณะลื่นเป็นมัน (waxy) เช่น ข้าวโพด (maize) ข้าวเจ้า (rice) จะมีแป้งชนิดอะไมโลเพกตินเกือบทั้งหมด และอะไมโลเพกตินจะไม่ละลายน้ำ (ประสงค์, 2541)



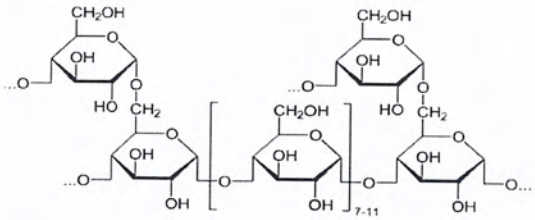
รูปที่ 2.9 โครงสร้างของอะไมโลส (amylase) และ อะไมโลเพคติน (amylopectin)

ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/แป้ง_(สารอาหาร) (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

ง.2 ไกลโคเจน (glycogen)

ไกลโคเจน เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สะสมอยู่ในกล้ามเนื้อลายและตับสัตว์ จะทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของมนุษย์ ไกลโคเจนมีโครงสร้างคล้ายคลึงกับอะไมโลเพกติน คือ มีการแตกแขนงประมาณ 8-12 หน่วยต่อการแตกกิ่งหนึ่งครั้ง และแต่ละโซ่กิ่งมีกลูโคสประมาณ 12-18 หน่วยย่อย เมื่อทำปฏิกิริยากับไอโอดีนจะให้สีม่วงแดง เช่นเดียวกับอะไมโลเพกติน กลูโคสที่เหลือใช้ในร่างกายจะสร้างเป็นไกลโคเจนโดยกระบวนการไกลโคเจนิซิส (glycogenesis) และเมื่อไกลโดเจนถูกไฮโดรไลซ์ (hydrolyse) จะได้กลูโคส ซึ่งเรียกว่า กระบวนกาไกลโคเจโนไลซิส (glycogenolysis) (ประสงค์, 2541)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

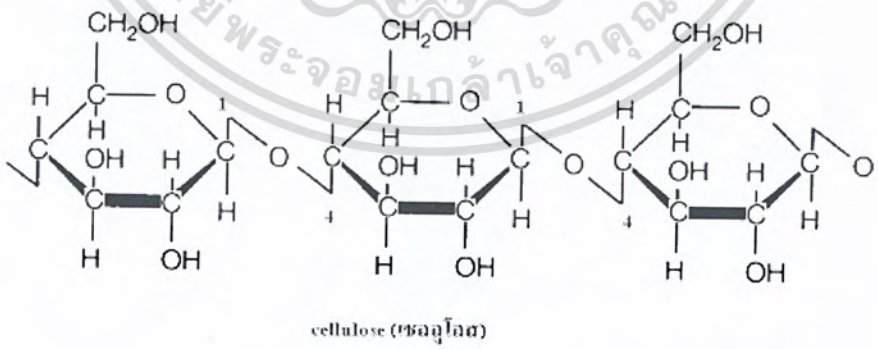


รูปที่ 2.10 โครงสร้างของไกลโคเจน (glycogen)

ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/ไกลโคเจน (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

ง.3 เซลลูโลส (cellulose)

เซลลูโลสเป็นสารที่พบในผนังเซลล์ของพืช ดังนั้นเซลลูโลสจึงเป็นสารอินทรีย์ที่มีมากที่สุดในโลก และมีมากกว่าครึ่งหนึ่งของสารอินทรีย์ทั้งหมด เซลลูโลสประกอบด้วย กลูโคส เรียงตัวเป็นโซ่ยาวประมาณ 3,000 หน่วย ต่อกันด้วยพันธะเบต้า 1-4 ไกลโคซิดิก (ß 1-4 glycosidic bond) ซึ่งต่างจากแป้งซึ่งเป็นพันธะแอลฟา 1-4 ไกลโคซิดิก (α 1-4 glycosidic bond) เซลลูโลสมีความคงตัวสูง และทนทานต่อการสลายด้วยกรด เอนไซม์อะไมเลสในคนเราไม่สามารถย่อยเซลลูโลสได้ ดังนั้นเราจึงไม่สามารถใช้เซลลูโลสเป็นแหล่งพลังงานได้ แต่มีข้อดี คือ เซลลูโลสช่วยเพิ่มปริมาณกากอาหาร ช่วยในการขับถ่ายในระบบย่อยอาหาร ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น วัว ควาย มีแบคทีเรียซึ่งสามารถผลิตน้ำย่อย เซลลูเลส ย่อยเซลลูโลสให้เป็นกลูโคสได้ ดังนั้น วัว ควาย จึงใช้เซลลูโลสเป็นแหล่งพลังงานได้ (ประสงค์, 2541)



รูปที่ 2.11 โครงสร้างของเซลลูโลส (cellulose)

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0612/cellulose (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

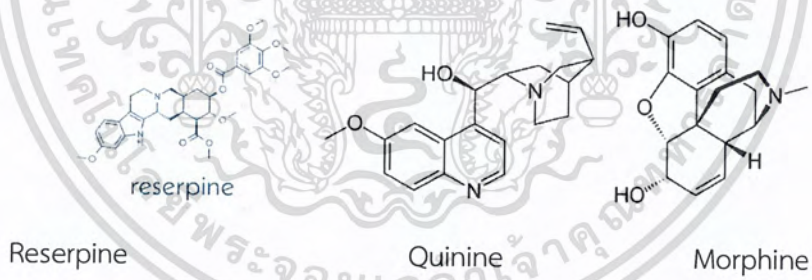
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 Secondary metabolite

สารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ พบต่างกันในพืชแต่ละชนิด โดยเกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) ที่มีเอนไซม์ (enzyme) เข้าร่วม สารประกอบประเภทนี้มีแอลคาลอยด์ (alkaloid) แอนทราควิโนน (Anthraquinone) และน้ำมันหอมระเหย (essential oil) เป็นต้น ส่วนใหญ่สารพวก secondary metabolite มีจะสรรพคุณทางยา (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2558)

2.4.2.1 อัลคาลอยด์ (Alkaloid)

อัลคาลอยด์เป็นสารอินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นด่างและมีไนโตรเจน (nitrogen) มีรสขม ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำลายอินทรีย์ (organic solvent) เป็นสารที่พบมากในพืชสมุนไพร แต่ปริมาณสารจะต่างกันไปตามฤดูกาล มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในหลายระบบ ตัวอย่างเช่น reserpine ในรากระย่อม สรรพคุณลดความดันเลือด สาร Quinine ในเปลือกต้นซิงโคนา (cinchona) มีสรรพคุณรักษาโรคมาเลเรียและสารmorphine ในยางของผลฝิ่น มีสรรพคุณระงับอาการปวด (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2558)



Reserpine Quinine Morphine

รูปที่ 2.12 โครงสร้างของ Reserpine Quinine และ Morphine

ที่มา : https://www.shutterstock.com/th/image-vector/reserpine-alkaloid-molecule-isolated-rauwolfia-serpentina-687034861 (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2.2 ไกลโคไซด์ (Glycoside)

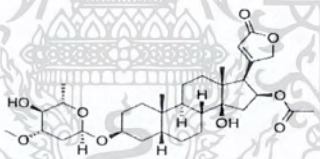
ไกลโคไซด์เป็นสารประกอบที่พบมากในพืชสมุนไพร มีโครงสร้างแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นน้ำตาลกับส่วนที่ไม่ได้เป็นน้ำตาล (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2558)

ก. Cardiac glycoside

คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ มีฤทธิ์ต่อระบบกล้ามเนื้อหัวใจและระบบการไหลเวียนของโลหิต เช่น สารในใบยี่โถ (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2558)

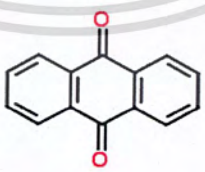
ข. Anthraquinone glycoside

แอนทราควิโนนไกลโคไซด์เป็นยาระบาย (laxative) ยาฆ่าเชื้อ (antibiotic) และสีย้อม สารนี้มีในใบชุมเห็ดเทศ เมล็ดชุมเห็ดไทย ใบขี้เหล็ก ใบมะขามแขก เป็นต้น (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2558)



รูปที่ 2.13 โครงสร้างของ Cardiac glycoside

ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (วันที่ 16 ก.พ. 2563)



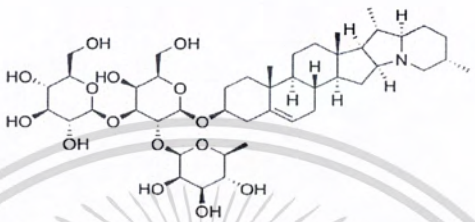
รูปที่ 2.14 โครงสร้างของ Anthraquinone glycoside

ที่มา : http://www.agro.cmu.ac.th/absc/data/57/57-014.pdf (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค. Saponin glycoside

ซาโปนินไกลโคไซด์เมื่อละลายกับน้ำจะได้ฟองคล้ายสบู่ เป็นสารตั้งต้นการผลิตยา ประเภทสเตอรอยด์ เช่น ลูกประคำดีควาย (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2558)

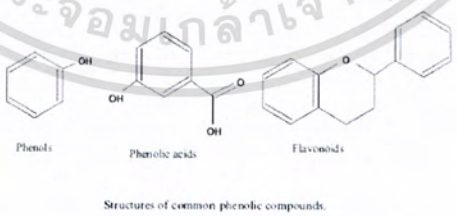


รูปที่ 2.15 โครงสร้างของ Saponin glycoside

ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/ซาโปนิน (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

ง. Flavonoid glycoside

ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์เป็นสีที่พบในดอกและผลของพืช ทำเป็นสีย้อมหรือสีแต่งอาหาร บางชนิดใช้เป็นยา เช่น สารสีในดอกอัญชัน (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2558)



รูปที่ 2.16 โครงสร้างของพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิก

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compounds (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

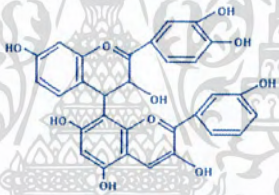
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2.3 น้ำมันหอมระเหย (Volatile oil หรือ Essential oil)

น้ำมันหอมระเหยเป็นสารที่มีอยู่ในพืช มีลักษณะเป็นน้ำมันได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam distillation) มีกลิ่นรสเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายในอุณหภูมิปกติ เบากว่าน้ำ น้ำมันนี้เป็นส่วนผสมของสารเคมีหลายชนิด มักเป็นส่วนประกอบของพืชสมุนไพรที่เป็นเครื่องเทศ คุณสมบัติทางเภสัชวิทยามักช่วยขับลมและฆ่าเชื้อโรคและเชื้อรา (Flatulence และ antibacterial, antifungal) พบในพืชสมุนไพร เช่น กระเทียม ขิง ข่า ตะไคร้ มะกรูด ไพร ขมิ้น เป็นต้น (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2558)

2.4.2.4 แทนนิน (Tannin)

แทนนินเป็นสารที่พบในพืชทั่วไป มีรสฝาด มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน และสามารถตกตะกอนโปรตีนได้ มีฤทธิ์ฝาดสมานและมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย พบในใบฝรั่ง เนื้อของกล้วยน้ำว้าดิบ (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี, 2558)



รูปที่ 2.17 โครงสร้างของแทนนิน (Tannin)

ที่มา : https://www.siamchemi.com/แทนนิน (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

2.5 จุลินทรีย์ในช่องปาก

ช่องปากเป็นสภาพแวดล้อมที่มีความซับซ้อนที่ห้อมล้อมไปด้วยแหล่งที่อยู่ของจุลินทรีย์ขนาดเล็กที่แตกต่างกัน เช่น ฟัน (teeth) เยื่อบุกระพุ้งแก้ม (buccal mucosa) เพดานอ่อนและแข็ง (soft and hard palate) และลิ้น (tongue) ที่ก่อให้เกิดเชื้อที่แตกต่างหลากหลายสายพันธุ์ตามระบบนิเวศ (รูปที่ 2.18) จุลินทรีย์จำนวนมากได้อาศัยอยู่ในปากซึ่งคือแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส แบคทีเรียเป็นประชากรหลักที่อาศัยอยู่ในปาก โดยส่วนใหญ่จะประกอบด้วยแบคทีเรียของ *Firmicutes, Bacillus, Proteobacteria* และ *Actinomycetes* จะแตกต่างกับเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ที่ชนิดของเชื้อแบคทีเรียไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ อาหารและสภาพแวดล้อมมีผลกระทบอย่างมากต่อจุลินทรีย์ในลำไส้ แต่มีผลกระทบน้อยที่สุดต่อองค์ประกอบของแบคทีเรียในช่องปาก คนที่มีสุขภาพดีจากประเทศต่างๆ จะมีเชื้อจุลินทรีย์ในช่องปากที่คล้ายคลึงกัน ในปากของมนุษย์เราสามารถพบเชื้อราจำนวนมากถึง 85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

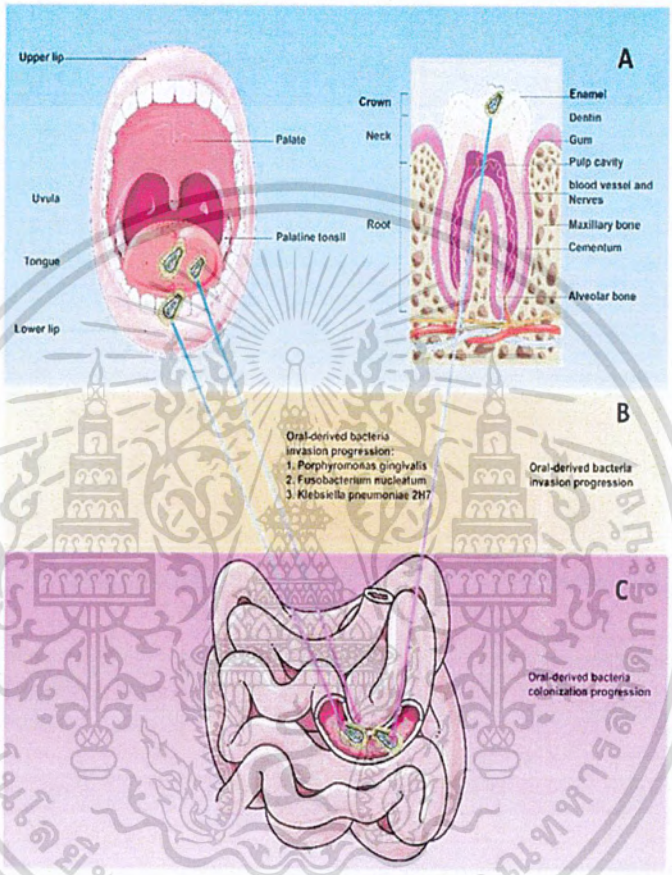
ชนิด ในบรรดาเชื้อราเหล่านี้เชื้อราที่สำคัญที่สุดก็คือ *Candida* ซึ่งเชื้อ *Candida* นั้นจะแป็นกลางหรือไม่ก่อผลเสีย เมื่อเชื้อจุลินทรีย์ในช่องปากอยู่ในสภาวะปกติ อย่างไรก็ตามเมื่อเชื้อจุลินทรีย์ในช่องปากมีการเสียสมดุล เชื้อ *Candida* จะหาโอกาสทำลายเนื้อเยื่อในช่องปาก *Candida* สามารถสร้างแผ่นไบโอฟิล์มคล้ายกับ *Streptococcus* โดยมีบทบาททำให้เกิดโรค ไวรัสโดยส่วนใหญ่จะเรียกว่า “ฟาจ” (phages) ยังเป็นส่วนหนึ่งของเชื้อจุลินทรีย์ในช่องปาก ฟาจในช่องปากจะยังคงอยู่ตลอดช่วงอายุ ไวรัสชนิดอื่นๆที่ไม่ใช่ไวรัสพื้นฐานในช่องปากอาจปรากฏในปากเมื่อมีเชื้อโรคบางอย่างในร่างกายมนุษย์ ไวรัสที่พบบ่อยที่สุดคือไวรัสคางทูม (Mumps virus) และเอชไอวี (HIV) แบคทีเรียในช่องปากเป็นองค์ประกอบหลักของจุลินทรีย์ในช่องปาก แบคทีเรียในช่องปากที่พบบ่อย ได้แก่ *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis, Staphylococcus* และ *Lactobacillus* โดย *S. mutans* เป็นองค์ประกอบหลักของเชื้อจุลินทรีย์ในช่องปากและเป็นหนึ่งในองค์ประกอบหลักของคราบจุลินทรีย์ทางทันตกรรม (dental plaque) นอกจากนี้ยังเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดหลักในฟันผุ ซึ่งเป็นโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้นในเนื้อเยื่อแข็งของฟันและมีการเกิดขึ้นสูงที่สุดในหมู่โรคในช่องปาก *P. gingivalis* เป็น non-glycolytic Gram-negative bacteriumที่ไม่ใช้ออกซิเจน และเป็นเชื้อก่อโรคปริทันต์ (periodontal pathogen) การรักษาโรคที่เกิดจาก *P. gingivalis* อาจทำให้เหงือกเป็นสาเหตุให้เกิดการหลุดร่วงของฟัน เชื้อ *Lactobacillus* จัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถหมักน้ำตาลเพื่อผลิตกรดแลคติก เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในร่างกายและเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของโฮสต์ โยเกิร์ตมีเชื้อแลคโตบาซิลลัส เชื้อ *Lactobacillus* หมักน้ำตาลและผลิตกรดแลคติกจำนวนมากซึ่งสามารถทำให้เกิดโรคฟันผุได้ง่าย (Lu และคณะ,2019)

2.5.1 *Candida albicans*

C. albicans มีรูปร่างกลมรี ขนาด 3.5-6.0×6.0-10 ไมโครเมตร เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-37 องศาเซลเซียส ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Sabouraud Dextrose Agar ค่อนข้างกลม สีขาวครีม เป็นเชื้อราประจำถิ่นของผิวหนังและเนื้อเยื่อในช่องปาก ลำคอ อาจรวมไปถึงหลอดอาหาร กระเพาะอาหาร ลำไส้ และที่อวัยวะเพศ ซึ่งก่อให้เกิดโรค Candidiasis โดยมีสาเหตุมาจากภาวะการติดเชื้อซ้ำซ้อน การรักษาการติดเชื้อแบคทีเรียด้วยยาปฏิชีวนะเป็นระยะเวลานาน หรือพบในสัตว์ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ มีภาวะขาดสารอาหาร และมักพบการติดเชื้อจากการใส่ท่อสวนปัสสาวะเป็นเวลานาน โรคจากการติดเชื้อรา *Candida* นี้ ถ้าเกิดที่เยื่อเมือกในช่องปาก ลำคอ คอหอย จะเรียกว่า เชื้อราในช่องปาก (Oropharyngeal Candidiasis) ถ้าเกิดที่หลอดอาหารจะเรียกว่า เชื้อราในหลอดอาหาร (Esophageal Candidiasis) ถ้าเกิดที่หลอดอาหารจะเรียกว่า เชื้อราในหลอดอาหาร (Esophageal Candidiasis) นอกจากนี้ *C. albicans* ก่อให้เกิดโรคในสัตว์ หลายชนิด เช่น โรค Thrush ในสัตว์ปีก ซึ่งเป็นสาเหตุให้สัตว์ปีกมีอาการปอดบวม ส่งผลต่อระบบทางเดิน หายใจ และทางเดินอาหาร โดยพบอาการอักเสบที่ บริเวณปากและหลอดอาหาร จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ลูกสัตว์ปีกมีอัตราการตายที่สูงมาก ทั้งนี้ยังมีรายงานการเกิดโรคเต้านมอักเสบในโคนม การเกิดแผลเปื่อยในกระเพาะอาหารของม้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และหมู ในส่วนของสุนัขและแมวมักเกิดโรคปากอักเสบ มีการติดเชื้อในระบบสืบพันธุ์ และเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรค Pyothorax ในแมวตามมา (คมสันและดวงดาว, 2561; https://medthai.com/เชื้อราในช่องปาก/)



รูปที่ 2.18 เชื้อจุลินทรีย์ในช่องปากบุกรุกเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ได้โดยตรงและโดยอ้อม

(A) โครงสร้างพื้นฐานของช่องปาก

(B) ความก้าวหน้าของแบคทีเรียในช่องปากที่ได้จากการบุกรุก

(C) ความก้าวหน้าของการเกิดอาณานิคมที่ได้รับจากแบคทีเรียในช่องปาก

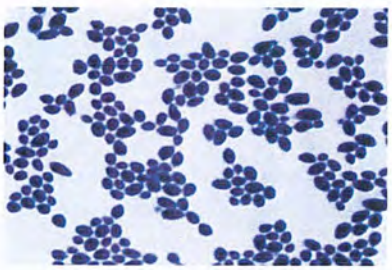
ที่มา : Lu และคณะ (2019)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1.1 การพัฒนาฟิล์มชีวภาพของ *C. albicans*

ความรู้ส่วนใหญ่ของเราเกี่ยวกับการสร้างฟิล์มชีวภาพ (Biofilm) ของ *C. albicans* เริ่มต้นมาจากการศึกษาฟิล์มชีวภาพจากเชื้อชนิดเดียว (monospecies Biofilm) ซึ่งได้ทำการศึกษาคุณลักษณะในหลอดทดลอง (In vitro) และในระบบร่างกาย (In vivo) และประกอบด้วยสี่ขั้นตอนการพัฒนาที่แตกต่างกัน (รูปที่ 2.20) การสร้างแผ่นชีวภาพของ *C. albicans* เริ่มต้นด้วยการยึดเกาะของเซลล์ยีสต์บนพื้นที่ผิวแข็ง (ในห้องปฏิบัติการซึ่งใช้แผ่นซิลิโคนขนาดเล็กที่เป็นวัสดุของสายสวนเส้นเลือดทั่วไป (intravascular catheters) หรือ microtiter ชนิดโพลีสไตรีน) โดยทั่วไปแล้วการเจริญของ *C. albicans* จะถูกเพิ่มเข้าไปในพื้นผิวแข็งเพื่อเริ่มขั้นตอนการเกาะติด (60-90 นาที) และเซลล์ที่ไม่ยึดติดหรือไม่เกาะติดกันจะถูกชะล้างออกไป (รูปที่ 2.20A) ในขั้นตอนนี้มักเรียกว่าขั้นตอน "การก่อตัว (seeding)" โดยขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่จำเป็นสำหรับการพัฒนาแผ่นฟิล์มชีวภาพปกติตามมาด้วยขั้นตอนพัฒนาไบโอฟิล์ม (Biofilm Development) ซึ่งประกอบด้วยการเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell proliferation) และและการเกิดเส้นสายระยะแรก (early-stage filamentation) (รูปที่ 2.20B) ตามด้วยการเจริญเติบโตของฟิล์มชีวภาพ (biofilm maturation) เป็นผลทำให้เกิดเครือข่ายที่ซับซ้อนของเซลล์ที่มีหลายรูปแบบรวมถึง Hyphal Cell (กลุ่มของเซลล์ทรงกระบอก) Pseudohyphal Cell (เซลล์รูปไข่ต่อกันปลายหนึ่งไปยังอีกปลายหนึ่ง (ellipsoidal cells joined end to end)) และเซลล์ยีสต์กลม ทำให้แผ่นฟิล์มชีวภาพมีลักษณะหนาและมีโครงสร้างพร้อมให้การปกป้องจากการบาดเจ็บทางเคมีและทางกายภาพ (รูปที่ 2.20C) โดยปกติแผ่นฟิล์มชีวภาพที่โตเต็มที่เกิดขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง และสามารถมองเห็นได้ด้วยตาในรูปของโครงสร้างพื้นผิวที่มีลักษณะมัวๆ (cloudy surface structure) ปกคลุมบนพื้นผิวแข็งและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ในรูปของ Organized collection กลุ่มเซลล์ประเภทต่างๆ อาหารที่ใช้เจริญเติบโตจะถูกเขย่าอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาของการพัฒนาฟิล์มชีวภาพ เพื่อป้องกันไม่ให้เซลล์ที่ลอยตัวอิสระลอยตัวบนพื้นผิวหรือไหลอย่างต่อเนื่องผ่านฟิล์มชีวภาพ เพื่อเลียนแบบสภาพการไหลทั่วไปที่มีอยู่ในสายสวน (catheters) ขั้นตอนสุดท้ายของการพัฒนาฟิล์มชีวภาพนั้นเรียกว่าขั้นตอนการกระจายตัว (dispersal stage) ซึ่งเซลล์ยีสต์ทรงกลมบางส่วนแยกตัวออกจากฟิล์มชีวภาพไปเจริญในสถานที่แห่งใหม่ (รูปที่ 2.20D) รูปแบบของการเกิดขึ้นของไบโอฟิล์ม *C. albicans* ในหลอดทดลองหลากหลายรูปแบบได้ถูกรายงานไว้และการศึกษาได้มุ่งเน้นไปที่การวิเคราะห์ผลกระทบของสารตั้งต้นประเภทต่างๆ อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีคุณสมบัติทางโภชนาการและการมีอยู่ของสภาวะการไหลหรือสภาวะคงที่ (static conditions) ต่อการพัฒนาฟิล์มชีวภาพในห้องปฏิบัติการ ฟิล์มชีวภาพของ *C. albicans* สามารถถูกพัฒนาขึ้นบนพื้นผิวที่แตกต่างกันและในอาหารเลี้ยงเชื้อประเภทต่าง ๆ ซึ่งบ่งบอกถึงความแข็งแกร่งโดยธรรมชาติของการพัฒนาฟิล์มชีวภาพไปสู่สภาพแวดล้อมที่หลากหลาย (Gulati และ Nobile, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.19 รูปร่างของ *C. albicans* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

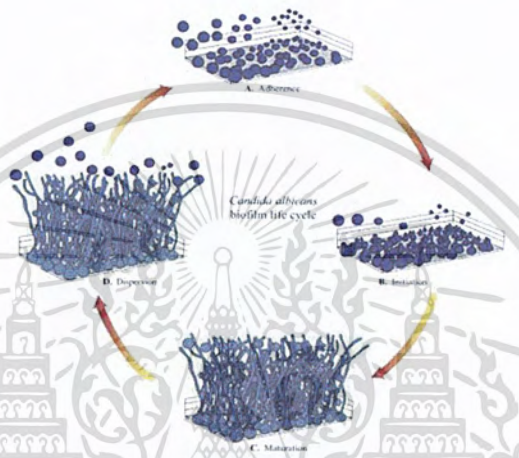
ที่มา : https://microbeonline.com/candida-albicans-pathogenesis-diagnosis/

โดยทั่วไปการสร้างไบโอฟิล์มโดย *C. albicans* ในหลอดทดลองสัมพันธ์อย่างดีกับรูปแบบของไบโอฟิล์มในร่างกาย (in vivo biofilm model) และรูปแบบไบโอฟิล์มนอกร่างกาย (ex vivo biofilm model) เขาได้ทดลองใช้เวลาเท่าๆกันในขั้นตอนการพัฒนาฟิล์มชีวภาพพบว่าได้ผลเช่นเดียวกับฟิล์มชีวภาพที่ดึงมาจากผู้ป่วยที่ติดเชื้อ ตัวอย่างเช่นฟิล์มชีวภาพของ *Candida* ที่ได้จากผู้ป่วยโรคปากอักเสบสาเหตุจากฟันเทียม (denture stomatitis patients) จากผู้ที่ป่วยด้วยสายสวนหลอดเลือดติดเชื้อ (infected intravascular catheters) ยืนยันการมีอยู่ของยีสต์ เส้นใยและเมทริกซ์นอกเซลล์ ข้อดีอย่างหนึ่งของแบบจำลองในร่างกาย (in vivo model) คือ โอกาสในการศึกษาการสร้างฟิล์มชีวภาพ *C. albicans* ในสภาพที่มีระบบภูมิคุ้มกันของโฮสต์ซึ่งสามารถให้ข้อมูลเชิงลึก (mechanistic insights) เพิ่มเติมเกี่ยวกับกลไกของการมีปฏิสัมพันธ์ของโฮสต์ – เชื้อโรค ลักษณะของไบโอฟิลม์ในหนูและกระต่าย ที่มีสายสวนหลอดเลือดดำส่วนกลาง สายสวนปัสสาวะแบบคาไว้ (indwelling urinary catheter models) และตัวอย่างหนูที่ปากอักเสบ (rat denture stomatitis models) มีความคล้ายคลึงกับโครงสร้างไบโอฟิล์มในหลอดทดลอง รวมถึงเซลล์ยีสต์จำนวนมากในบริเวณฐานและ hyphae และ extracellular matrix ขยายไปทั่วไบโอฟิล์ม เยื่อเมือกในช่องคลอดของหนูตัวอย่าง (เยื่อบุช่องคลอดที่ฉีดเชื้อด้วย *C. albicans* ในหนูที่มีชีวิต) และแบบจำลองนอกร่างกายของหนู (ช่องคลอดที่ถูกตัดออกจากหนูตายแล้วที่ติดเชื้อ *C. albicans*) (Gulati และ Nobile, 2016)

ในแผ่นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้แสดงถึงลักษณะของฟิล์มชีวภาพที่คล้ายกันกับเซลล์ยีสต์ hyphae และเมทริกซ์ ทั่วทั้งไบโอฟิล์มที่เกิดขึ้นบนชั้นเยื่อเมือก animal models อื่น ๆ สำหรับการติดตามการสร้างไบโอฟิล์มรวมถึงเยื่อเมือกในช่องปากหนู (rodent oral mucosal) การใส่ท่อในช่องปาก (oropharyngeal) ใต้ผิวหนัง (subcutaneous) และแบบจำลองผิวไหม้ (burn wound models) การพัฒนารุ่นใหม่นั้นกำลังดำเนินการอยู่และจะช่วยเราในการแสดงภาพความก้าวหน้าทางโลกและระยะเวลาของการติดเชื้อไบโอฟิล์มในสัตว์ที่ยังมีชีวิตโดยการใช้วิธีการถ่ายภาพเรืองแสง (bioluminescence imaging) ยกตัวอย่างเช่นเมื่อไม่นานมานี้ codon optimized *C. albicans*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

luciferase bioreporter ถูกนำมาใช้ในแบบจำลองการอักเสบบริเวณปากช่องคลอด (vulvovaginal candidiasis) เพื่อสังเกตการก่อตัวของไบโอฟิล์มในเวลาจริงในช่องคลอด (vaginal lumen) ของ *C. albicans* แบบอื่นๆ รวมถึงแบบไบโอฟิล์มที่เรืองแสง ได้แก่ แบบจำลองในลำคอ (oropharyngeal) เกี่ยวกับผิวหนัง (cutaneous) เกี่ยวกับใต้ผิวหนัง (subcutaneous) และการสอดใส่ของสายสวน (implanted catheter) (Gulati และ Nobile, 2016)



รูปที่ 2.20 วงจรชีวิตในการสร้างไบโอฟิล์มของ *C. albicans*

(A) คือ การยึดเกาะของเซลล์ยีสต์กลมกับพื้นผิว

(B) คือ การเริ่มต้นของการสร้างไบโอฟิล์ม โดยการแพร่เป็นชั้นพื้นผิวให้เซลล์เกิดการยึดเกาะ

(C) คือ การเจริญเติบโตเต็มที่ของฟิล์มชีวภาพ บริเวณที่มีความซับซ้อนของเซลล์ที่มีหลากหลายรูปร่างและถูกห่อหุ้มในextracellular matrix

(D) คือการแพร่กระจาย เซลล์ยีสต์ทรงกลมจะปล่อยให้ฟิล์มชีวภาพที่โตเต็มที่ไปเจริญในที่ใหม่

ที่มา : Gulati และ Nobile, 2016

2.5.2 Lactic acid bacteria

2.5.2.1 *Lactobacillus plantarum*

แบคทีเรียแกรมบวกประเภท Facultatively heterofermentative lactobacillli เซลล์เป็นรูปท่อน ขนาด 0.9-1.2 x 3-8 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างเอนไซม์คะตาเลส มักอยู่เดี่ยวๆหรือเรียงตัวเป็นคู่ ต้องการแคลเซียมเพนโททิเนต (calcium pentotinate) ไนอะซิน (niacin) ในการเจริญเติบโต แยกได้จากผลิตภัณฑ์นม ผักดอง ผลิตภัณฑ์มะเขือเทศเน่าเสีย ช่องปาก และอุจจาระคน (อัจฉรา, 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2.2 *Lactobacillus casei*

แบคทีเรียแกรมบวก เป็น Facultatively heterofermentative lactobacillli เซลล์เป็นรูปท่อน ขนาด 0.7-1.1 x 2.0-4.0 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างเอนไซม์คะตาเลส ต้องการสารเร่งการเจริญเติบโต เช่น ไรโบฟลาวิน (riboflavin) กรดโฟลิก (folic acid) แคลเซียมแพนโททิเนต (calciumpentotinate) ไนอะซิน (niacin) แยกได้จากนม เนย ผลิตภัณฑ์นม มีบทบาทในการหมัก (อัจฉรา, 2559) แบ่งเป็น 4 กลุ่มย่อย คือ *L. casei* subsp. *casei*, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. casei* subsp. *rhamnosus* และ *L. casei* subsp. *toleran*

2.5.2.3 *Porphyromonas gingivalis*

P. gingivalis เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ มีลักษณะรูปร่างเป็นแท่ง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.3 ถึง 0.5 ไมครอน ไม่เคลื่อนไหว ไม่สร้างสปอร์ ไม่สามารถย่อยสลายน้ำตาล สามารถสร้างโคโลนีได้เมื่อเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเลือดเป็นส่วนผสมโดยโคโลนีในระยะเริ่มแรกจะมีสีขาวครีม จากนั้นภายใน 4 ถึง 8 วัน จะมีสีเข้มขึ้นจนเป็นสีแดงเข้มถึงสีดำ โดยเริ่มจากบริเวณขอบของโคโลนี ซึ่งความเข้มของโคโลนีนั้นมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของโปรโตฮีมที่เชื้อผลิตขึ้น เชื้อชนิดนี้ สามารถผลิตเอ็นไซม์และโปรตีน มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับการเกิดพยาธิสภาพของโรคปริทันต์โดยทำให้โรคมีความรุนแรงและนำไปสู่การทำลายของเนื้อเยื่อปริทันต์และกระดูกเบ้าฟัน ในเนื้อเยื่อปริทันต์ที่มีสภาพปกติจะไม่พบเชื้อชนิดนี้ แต่ระหว่างที่โรคปริทันต์มีการดำเนินไปจนเป็นโรคปริทันต์อักเสบ สามารถพบเชื้อก่อโรคชนิดนี้ได้ เชื้อชนิดนี้ถูกพบได้บ่อยในบริเวณที่มีระดับความลึกของร่องลึกปริทันต์มาก ๆ (deep periodontal pockets) โดยเฉพาะบริเวณที่ยังคงมีการดำเนินของโรค (active sites) (ศรินทิพย์ อังศุโภไคย, 2550)

รูปที่ 2.21 รูปร่างของ *P. gingivalis ภายใต้กล้องจุลทรรศน์*

ที่มา : https://perioprosthocc.wordpress.com/2016/01/25/porphyromonas-gingivalis-the-bacteria-of-periodontitis-ii-microorganisms-treatment/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2.4 *Staphylococcus aureus*

S. aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น หรือเป็นคู่ หรือเป็นสายสั้น ๆ ไม่เคลื่อนที่ โคโลนีกลม ขอบเรียบ นูนมีสีเหลืองหรือสีทอง เจริญเติบโตได้ดีในสภาพมีออกซิเจนมากกว่าในสภาพไม่มีออกซิเจน มีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต คือ 35-40 องศาเซลเซียส ช่วง pH หรือความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ที่ 7-7.5 บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารพิษ เอนเทอโรทอกซิน ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทนต่อความร้อนได้ดีและเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยในมนุษย์ สารพิษชนิดนี้ทนความร้อนถึงระดับ 143.3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9 วินาที (www.nfi.or.th/foodsafety/upload/damage/pdf/staphylococcus_aureus2.pdf)

2.6 โรคที่เกิดจากจุลินทรีย์ในช่องปาก

2.6.1 ฟันผุ (Caries)

โรคฟันผุ (dental caries) เป็นโรคติดเชื้อเรื้อรังที่พบบ่อยที่สุดในช่องปาก แบคทีเรียเป็นเชื้อโรคหลักและทำให้เกิดอาการ รวมถึงการทำลายเนื้อเยื่อ (hard tissue) ของฟัน อัตราการเกิดของโรคฟันผุมีอัตราสูงและช่วงอายุของที่เป็น (disease range) โรคนั้นกว้าง เกิดขึ้นได้ตลอดช่วงอายุของมนุษย์ โรคฟันผุพบได้สูงในเด็กมากกว่าในผู้ใหญ่และมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับเชื้อจุลินทรีย์ในช่องปาก การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าการกินของหวานเป็นประจำก่อนเข้านอนเป็นปัจจัยเสี่ยงสำหรับโรคฟันผุในเด็กเชื้อสายจีน เทคโนโลยีการหาลำดับยีน (sequencing technology) ล่าสุดระบุว่า *Prevotella* spp., *Lactobacillus* spp., *Dialister* spp. และ *Filifactor* spp. อาจจะมีส่วนร่วมในการเกิดโรคและให้ทำเกิดโรคฟันผุได้ เมื่อเปรียบเทียบกับบุคคลที่มีสุขภาพดี เชื้อจุลินทรีย์ในช่องปากบนพื้นผิวของฟันผุแสดงถึงความซับซ้อนที่เพิ่มขึ้นและความหลากหลายที่ลดลง อาจเป็นเพราะสภาพแวดล้อมที่เป็นกรด ลักษณะเหล่านี้แสดงออกใน เชื้อจุลินทรีย์ในน้ำลาย (salivary microbiota) ที่แสดงการเพิ่มขึ้นของเชื้อ *S. acidophilus* ในฟันที่ผุ เมื่อไหร่ก็ตามที่ผู้คนไม่ได้รับประทานอาหาร เชื้อแบคทีเรียจะได้รับสารอาหารจากน้ำลาย (saliva) ของเราและน้ำเหลืองเหงือก (gingival crevicular fluid) ซึ่งอุดมไปด้วยไกลโคโปรตีน (glycoproteins) ไกลโคโปรตีนเหล่านี้จะถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียกลายเป็นน้ำตาลและโปรตีน แบคทีเรียสามารถได้รับพลังงานเพื่อความอยู่รอดโดยการเผาผลาญน้ำตาลและโปรตีนเหล่านี้ ในระหว่างการเผาผลาญ น้ำตาลและโปรตีนจะถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียกลายเป็นกรดหรือโมเลกุลพื้นฐานขนาดเล็ก กรดและโมเลกุลพื้นฐานขนาดเล็กเหล่านี้จะทำให้เป็นกลาง เมื่อโฮสต์ไม่ได้รับประทานอาหารโดยปล่อยให้ปากอยู่ในสภาวะที่เป็นกลาง อย่างไรก็ตามเมื่อน้ำตาลหรือแป้งถูกนำข้าสู่ร่างกาย แบคทีเรียจะผลิตกรดออกมาก การผลิตกรดเพียงเล็กน้อยจะเริ่มต้นการกัดกร่อนฟัน โดยทั่วไปแล้ว ความเร็วที่ฟันจะถูกกัดกร่อนนั้นเทียบได้กับความเร็วในการงอก (regenerate) ของฟัน อย่างไรก็ตาม ถ้าน้ำตาลหรือสตาร์ช (starch) ในปาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่ได้ถูกทำความสะอาดในภายหลัง อัตราการสึกกร่อนจะสูงกว่าความเร็วที่ฟันจะซ่อมแซมตัวเอง ดังนั้นฟันผุจึงเกิดขึ้น (Lu และคณะ,2019)

2.6.2 โรคปริทันต์ (Periodontitis)

โรคปริทันต์อักเสบเรื้อรัง (Chronic periodontitis) เป็นโรคปริทันต์เรื้อรังชนิดหนึ่งที่พบได้บ่อยในคนแทบทุกช่วงวัย และแพร่กระจายจากโรคเหงือกอักเสบไปจนถึงเนื้อเยื่อปริทันต์ในระดับลึก (deep periodontal) คราบแบคทีเรีย (dental plaque bacteria) เป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดเกิดโรคปริทันต์ (gingivitis) dental plaque ประกอบด้วย พลัค (plaque) และคราบจุลินทรีย์บริเวณผิวฟันเหนือเหงือก (subgingival plaque) ซึ่งเป็นระบบนิเวศขนาดเล็กที่มีแบคทีเรียบนผิวฟันหรือร่องลึกปริทันต์ (periodontal pocket) ความสัมพันธ์ระหว่างเจ้าบ้าน (host) และจุลินทรีย์เป็นตัวกำหนดลักษณะความรุนแรงและอัตราการลุกลามของโรค ดังนั้นลักษณะของเชื้อโรค และการแพร่กระจายของจุลินทรีย์จากโรคปริทันต์จึงเป็นสิ่งสำคัญ โรคปริทันต์ทำให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อปริทันต์ (เนื้อเยื่อสนับสนุนทางทันตกรรม (dental support tissues) เช่น เหงือก (gums) และกระดูกเบ้ารากฟัน (alveolar bone)) และถือเป็นปัจจัยเสี่ยงที่เป็นไปได้สำหรับโรคบางชนิด (systemic diseases) ปากเหมาะอย่างยิ่งสำหรับการอยู่รอดของจุลินทรีย์ เนื่องจากมีสภาวะเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ การศึกษาล่าสุดพบว่ามีปริมาณของ *Fusobacterium nucleatum* ค่อนข้างสูงในน้ำลายของผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบ พบว่ามีปริมาณของ *Carbachia, Clostridium, Porphyromonas, Helicobacter, Actinomycetes, Eugenia, Tannella, Hurdella, Micromonas* และ *Streptococcus pneumoniae* ในผู้ป่วยโรคปริทันต์อักเสบอย่างมีนัยสำคัญสูงกว่าคนทั่วไปที่มีสุขภาพดี ในทางตรงกันข้ามมีปริมาณของ *Neisseria, Corynebacterium, Carbonophilic* และ *Actinomycetes* ในช่องปากของผู้ป่วยปริทันต์อักเสบต่ำกว่าในคนที่สุขภาพดี การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของจุลินทรีย์ในช่องปากในผู้ป่วยที่มีโรคปริทันต์อักเสบ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างของยีนที่ทำหน้าที่การแสดงออกของยีน (Lu และคณะ , 2019)

การศึกษาการเกิดโรคของโรคปริทันต์เมื่อเร็ว ๆ นี้ นักวิจัยพบการเพิ่มขึ้นของเซลล์หน่วยความจำ Th17 (memory Th17 cell) ในเนื้อเยื่อในช่องปากใกล้กับเหงือกของผู้ป่วยที่มีโรคปริทันต์อักเสบ ในทำนองเดียวกันในโมเดลหนูทดลองของโรคปริทันต์อักเสบ (mouse model of periodontitis) เซลล์ Th17 ในแผลอักเสบ (local inflammatory lesions) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งแตกต่างจากเซลล์ Th17 ในช่องปากที่ไม่มีการอักเสบของ IL-6 และไม่มีการอักเสบจากจุลินทรีย์ในช่องปาก การเพิ่มขึ้นของเซลล์ Th17 ที่เกี่ยวข้องกับปริทันต์อักเสบขึ้นอยู่กับความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ในช่องปาก และขึ้นอยู่กับ IL-6 และ IL23 การสะสมของเซลล์ Th17 และเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil จำเป็นสำหรับการอักเสบของเนื้อเยื่อในหนูทดลองของโรคปริทันต์อักเสบ และการยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสร้างความแตกต่างของเซลล์ Th17 สามารถบรรเทาการอักเสบ ดังนั้นความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ในช่องปากนำไปสู่การเพิ่มเซลล์ Th17 เพื่อส่งเสริมการเกิดโรคปริทันต์ (Lu และคณะ, 2019)

2.6.3 มะเร็งในช่องปาก

มะเร็งในช่องปากเป็นก้อนเนื้อร้ายที่เกิดขึ้นในปาก ซึ่งส่วนใหญ่ก้อนเนื้อส่วนใหญ่เป็นมะเร็งชนิดสเควมัสเซลล์ (squamous cell carcinoma) เรียกว่า mucosal variation ในการปฏิบัติทางคลินิก (clinical practice) มะเร็งในช่องปากหมายรวมถึง มะเร็งเหงือก (gingival cancer) มะเร็งลิ้น (tongue cancer) soft and hard sputum cancer มะเร็งกราม (jaw cancer) มะเร็งช่องปาก (oral cancer) มะเร็งคอหอยหลังช่องปาก (oropharyngeal cancer) มะเร็งต่อมน้ำลาย (salivary gland cancer) มะเร็งริมฝีปาก (lip cancer) มะเร็งไซนัสแมกซิลลา (maxillary sinus cancer) และมะเร็งที่เกิดขึ้นบนเยื่อบุใบหน้า (cancer occurring in the facial mucosa) (Lu และคณะ,2019)

มะเร็งในช่องปากเป็นหนึ่งในก้อนเนื้อร้ายที่พบได้บ่อยที่สุดที่ศีรษะและคอ ทั้งพันธุกรรมและอุปนิสัยในการใช้ชีวิตล้วนมีผลต่อการพัฒนาของมะเร็งในช่องปาก จากการวิจัยล่าสุดแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ในช่องปากกับมะเร็งในช่องปาก จุลินทรีย์จำเพาะที่เจริญที่ผิวและในเนื้อเยื่อของมะเร็งช่องปากนั้นมีองค์ประกอบที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากจุลินทรีย์ปกติที่อยู่ในช่องปาก (normal mucosal microorganisms) Gingival carbon dioxide phagocytic bacteria เพรดนิโซโลน (prednisone) และ *Streptococcus mutans* ในน้ำลายของผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งในช่องปาก (oral squamous cell carcinoma) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แบคทีเรียทั้งสามนี้ (*Streptococcus, Haemophilus* และ *Neisseria*) อาจใช้เป็นตัวชี้วัดในการวินิจฉัยโรคมะเร็งในช่องปาก (oral squamous cell carcinoma) (Lu และคณะ, 2019)

2.7 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radical) หมายถึง อะตอมหรือโมเลกุลที่มี unpaired electron อย่างน้อย 1 electron เกิดขึ้นได้เมื่อพันธะระหว่างอะตอมแตกออก อนุมูลอิสระนั้นไม่เสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับ โมเลกุลข้างเคียงเพื่อทำให้ตัวเองเสถียรขึ้น ผลที่ตามมาคือโมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะ กลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ซึ่งจะเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) สิ่งที่นำมาใช้บอกระดับความเป็นพิษคือความสามารถในการ oxidized สารชีวโมเลกุลในร่างกาย สารที่มีความสามารถในการ oxidized สารชีวโมเลกุลในร่างกายเรียกว่า Reactive species (RS) ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะอยู่ในรูปของ reactive oxygen species (ROS) และยังพบในรูปของ reactive chlorine species และ reactive nitrogen species ตามโมเลกุลที่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยา oxidation อาจจะพบได้ในรูปของ lipid radical หรือ genetic radical

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

RS นั้นไม่จำเป็นว่าจะต้องอยู่ในรูปของ free radical เสมอไป สารประกอบบางโมเลกุลที่อยู่ในรูป non-radical แต่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา oxidation เช่น H_2O_2 ก็จัดเป็น RS เช่นกัน (อธิป, 2559)

2.7.1 คุณสมบัติทางเคมีของสมุนไพรในการต้านอนุมูลอิสระ

พืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยา ได้แก่ กานพลู มีสารอัลคาลอยด์ (alkaloid) และน้ำมันหอมระเหยจาก ใบพลูมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. และมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา มะรุมมีสารต้านออกซิเดชั่นชนิดต่าง ๆ และมีรายงานว่าน้ำคั้นสดจากมะรุมมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* ได้ กานพลูมีสารสำคญ คือ ยูจีนอล (eugenol) สารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจากกานพลูมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด และมีผลต้านเชื้อราและยีสต์ที่ทำให้อาหารเสียได้ อบเชยมีสารกลุ่มน้ำมันหอมระเหยมีองค์ประกอบหลักเป็น cinnamaldehyde มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* และพบสารกลุ่มชาลโคน คือ methylhydroxy chalcone polymer มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ สมอไทยมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้ออแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* และ *E. coli* ATCC 25922 ขิงมีสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ สารแทนนินและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

S. aureus และ *E. coli* เป็นแบคทีเรียประจำ ถิ่นที่พบได้ในร่างกายของมนุษย์โดย *S. aureus* พบได้ ตามผิวหนังและรูจมูก เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อที่ผิวหนัง บาดแผล และอาหารเป็นพิษ ส่วน *E. coli* พบ ได้ในระบบทางเดินอาหาร เป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ และเชื้อบางสายพันธุ์ก่อโรคอุจจาระร่วง มีรายงานการศึกษาสารสกัดพืชสมุนไพรชนิดต่าง ๆ สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นสารกันเสียในอาหารและเครื่องดื่ม และจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารซึ่งเป็นสาเหตุให้อาหารเน่าเสีย บางชนิดก่อโรคทางเดินอาหาร เช่น *S. aureus* และ *E. coli* O157: H7 ที่เป็นแบคทีเรียสาเหตุ การระบาดของโรคอาหารเป็นพิษในหลายประเทศทั่วโลก ผู้ที่ติดเชื้อจะมีอาการท้องเสีย ถ่ายอุจจาระเป็นน้ำหรืออาการลำไส้ใหญ่อักเสบมีเลือดออก (haemorrhagic colitis : HC) โดยเฉพาะเด็กเล็กและผู้สูงอายุมีความเสี่ยงสูงที่จะเกิดกลุ่มอาการฮีโมไล ติกยูรีมิก (hemolytic uremic syndrome: HUS) หรือที่เรียกวากลุ่มอาการเม็ดเลือดแดงแตกตามมาทำให้เสียชีวิตได้ (วาสนา, 2561)

2.7.2 Oxidative stress

ภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุล (Oxidative stress) เกิดจากการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระและสารเกี่ยวข้องที่เป็นผลิตผลหรือความบกพร่องของการป้องกันอันตรายจากการเกิดออกซิเดชั่น เนื่องจากปริมาณเอนไซม์ที่ทำหน้าต้านการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวลดลง หรือการทำงานที่ผิดปกติ หรือมีระดับสารต้านออกซิเดชั่นที่ลดลง ซึ่งสาเหตุดังกล่าวอาจพบร่วมกันได้ อนุมูลอิสระที่มีบทบาทสำคัญต่อเซลล์ ได้แก่ อนุมูลอิสระออกซิเจน และ อนุมูลอิสระไนโตรเจน ก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของอนุมูลอิสระอันมีความไวต่อชีวโมเลกุลภายในเซลล์ ได้แก่ ไขมัน โปรตีน น้ำตาล และกรดนิวคลิอิก

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่งผลให้เซลล์ถูกทำลาย อนุมูลอิสระมีความสำคัญต่อกระบวนการเกิดมะเร็ง ได้แก่ เป็นสารก่อมะเร็ง ทำให้เซลล์มะเร็งมีคุณสมบัติสามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ ยับยั้งกระบวนการอะพอพโทซิส (apoptosis) ลุกลามและแพร่กระจายได้ มีหลายการศึกษาที่พบระดับอนุมูลอิสระสูงขึ้นในผู้ป่วยมะเร็งและสัมพันธ์กับระยะของโรครวมทั้งเป็นปัจจัยบ่งบอกพยากรณ์โรคที่ไม่ดีร่วมด้วย สารต้านออกซิเดชั่นเป็นหนึ่งกลไกที่เซลล์ใช้ในการป้องกันและทำลายผลของอนุมูลอิสระที่อันตรายต่อเซลล์ ส่วนใหญ่พบว่าผู้ป่วยมะเร็งมีระดับสารต้านออกซิเดชั่นต่ำซึ่งเกิดจากการบริโภคที่ลดลงของผู้ป่วยมะเร็งเองหรือการที่เซลล์มะเร็งและเซลล์ปกตินำมาใช้ในการทำลายผลของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นปริมาณมาก แต่อย่างไรก็ตามผลการศึกษาทางคลินิกที่นำสารต้านออกซิเดชั่นมาใช้ในการป้องกันการเกิดมะเร็ง หรือการรักษาเสริมเพื่อหวังผลเพิ่มประสิทธิภาพของการรักษามะเร็งนั้น (โกสินทร์, 2557)

2.7.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือสารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยา oxidation ด้วยเหตุที่ reactive oxygen species เกิดขึ้นมาจากกระบวนการต่างๆในการดำรงชีวิต ดังนั้นร่างกายจึงต้องสร้างสารต้านอนุมูล อิสระขึ้นมาเพื่อกำจัดและลดความรุนแรงของ reactive oxygen species ที่เกิดขึ้นด้วย เช่น co-enzyme Q10 alpha-lipoic acid เป็นต้น โดยปกติแล้วการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายนั้นมีอย่างเพียงพอต่อการเกิดอนุมูลอิสระขึ้นภายในร่างกาย แต่หากมีสภาวะผิดปกติในร่างกาย เช่นความเครียด การนอนดึกติดต่อกันนานๆ การ รับประทานยาที่มีผลลด antioxidant enzyme หรือสภาวะโรคต่าง ๆ ก็อาจจะทำให้การสร้างอนุมูลอิสระ เพิ่มขึ้นจนเสียสมดุลระหว่าง antioxidant และ อนุมูลอิสระเกิดเป็นภาวะ oxidative stress อนุมูลอิสระที่ ไม่ได้ถูกกำจัดจะไปทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อทำให้เป็นต้นเหตุของการเกิดโรคต่างๆได้ เช่น เป็นต้นเหตุของ ภาวะหลอดเลือดอุดตัน มะเร็ง Parkinson รวมถึงอาการอักเสบต่างๆ จะเห็นได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระใน ร่างกายนั้นมีความสำคัญในการป้องกันการเกิดโรคและความเสื่อมของร่างกายเป็นอย่างมาก (อธิป, 2559)

2.7.3.1 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ

สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ พบได้ในสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ ซึ่งเป็นได้ทั้งเอนไซม์ วิตามิน และสารอื่น ๆ ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่เป็นวิตามิน เช่น vitamin C เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไซโตพลาสซึม vitamin E เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไซโตพลาสซึมและเมมเบรน ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่เป็นเอนไซม์ ได้แก่ glutathione peroxidase, glutathione reductase และ glutathione transferase ซึ่งทำหน้าที่ให้โมเลกุลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นออกซิเจนและน้ำ ส่วนเอนไซม์ superoxide dismutase สามารถเปลี่ยน (O^{2-}) เป็น H_2O_2 สารต้านอนุมูลอิสระอื่น ๆ ได้แก่ carotenoid และ ubiquinones เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถป้องกันอนุมูลอิสระออกซิเจนทั้งภายในและภายนอกเซลล์ (บุหรัน, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในสภาวะปกติร่างกายของมนุษย์จะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณสารอนุมูลอิสระให้อยู่ในสภาวะสมดุล และอีกส่วนได้จากสารต้านอนุมูลอิสระที่รับประทานเข้าไป จำพวกวิตามิน เบต้าแคโรทีน และแคโรทีนอยด์ รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งสารดังกล่าวได้จากพืชผักและผลไม้ ตัวอย่างอาหารที่มีเบต้าแคโรทีนสูง ได้แก่ ผักใบเขียว เช่น ตำลึง และผักบุ้ง อาหารที่มีสีเหลือง เช่น แครอท มะละกอสุก มะเขือเทศ ฟักทอง อาหารที่มีวิตามินซีสูง (vitamin C หรือ ascorbic acid) สูง ได้แก่ พืช ผักสีเขียว และผลไม้รสเปรี้ยว เช่น ฝรั่ง มะขามป้อม ส้ม มะนาว สับปะรด (วิตามินซีจากพืชผักดังกล่าวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แรงมาก และละลายน้ำได้ดี) วิตามินอี (vitamin E หรือ tocopherol) ละลายในน้ำมันได้ดี โดยวิตามินอีพบได้ในน้ำมันจากเมล็ดพืชชนิดต่าง ๆ เช่น รำละเอียดในพวกธัญพืชที่ไม่ขัดขาว ข้าวโพด ข้าวกล่อง ถั่วแดง ถั่วเหลือง ผักกาดหอม เมล็ดทานตะวันงา และน้ำมันรำข้าว (บุหรัน, 2556)

2.7.3.2 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์

สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ทางเคมี โดยเป็นสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ Propyl gallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylate hydroxynisole, BHT (butylated hydroxytoluene), และ teritiary butylhydroquinone สารสังเคราะห์ดังกล่าวนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติเปลี่ยนแปลงไป สารสังเคราะห์นี้มีสภาพคงตัวกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ แต่มีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยในการบริโภค (บุหรัน, 2556)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Baipai และคณะ (2017) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการกำจัดอนุมูลอิสระของสารประกอบทางชีวภาพditerpenoid สารประกอบtaxoquinone ที่แยกได้จาก *Metasequoia glyptostroboides* ผลที่ได้คือ สารtaxoquinone แสดงค่าอย่างมีนัยสำคัญและสารต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสาร จากการทดสอบโดยใช้วิธี NO radical scavenging assay พบว่าค่าที่ได้เท่ากับร้อยละ 72.42 เมื่อเปรียบเทียบกับสารประกอบมาตรฐานแอสคอร์บิคแอซิดและ α-tocopherol / butylated hydroxyanisole จะได้เท่ากับร้อยละ 74.62 และร้อยละ 78.61 ตามลำดับ

Ghanea และคณะ (2018) ได้ศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระ, ต่อต้านโรคเบาหวาน, ศักยภาพในการยับยั้ง acetylcholinesterase และการประเมินของ alkaloids จากสายพันธุ์ *Crinum* โดยทำการวิเคราะห์หาปริมาณฟลีนอกลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และแอลคาลอยด์ทั้งหมด จากผลการศึกษาพบว่ามีปริมาณของสารที่ทำการวิเคราะห์สูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kathirvel และ Sujatha (2012) ได้ศึกษาเกี่ยวกับพฤกษเคมีและกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ใบของ เฟิร์น (*Dryopteris cochleata*) ด้วยวิธี GC-MS โดยทำการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน จากการศึกษาพบว่า เมื่อสกัดพืชด้วยเอทิลอะซิติลเลส คลอโรฟอร์มและเมทานอล มีปริมาณฟีนอลิกปริมาณ 90.45 และ 28.64 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ สำหรับปริมาณฟลาโวนอยด์ เมื่อสกัดพืชด้วยเอทิลอะซิติลเลส คลอโรฟอร์มและ เมทานอล พบว่ามีปริมาณฟลาโวนอยด์ 145.78, 122.56 และ 77.71 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แทนนินมีค่าประมาณ 102.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Prieto และคณะ (1999) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระผ่านการก่อตัวของPhosphomolybdenum ด้วยวิธีวิธีสเปคโตรโฟโตเมทรี : จำเพาะกับการกำหนดค่าของวิตามินอี พบว่าวิตามินอีและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยรวมได้เท่ากับ 195.5±9.8 นาโนโมลต่อกรัม และ 378.8±20.0 นาโนโมลอัลฟาโทโคฟีรอลต่อกรัม สำหรับเมล็ดข้าวโพด และ 101.9±15.9 นาโนโมลต่อกรัม.และ 248.7±16.6 นาโนโมลอัลฟาโทโคฟีรอลต่อกรัม. สำหรับเมล็ดถั่วเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

สมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ สมุนไพรสด 2 ชนิด ได้แก่ ขิง (ตลาดแย้มเจริญรัตน์, มกราคม, 2563) และข่าเล็ก (facebook: บ้านสวนผักกูด, ธันวาคม, 2562) นำไปทำตามวิธีการในข้อ 3.2.2.1 และสมุนไพรแห้ง 3 ชนิด ได้แก่ ว่านน้ำ (เยาวราช, มกราคม, 2563) อบเชย (ตลาดแย้มเจริญรัตน์, มกราคม, 2563) และกระเจี๊ยบแดง (ตลาดแย้มเจริญรัตน์, มกราคม, 2563) (ดังตารางที่ 3.1)

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อแบคทีเรียที่นำมาใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Escherichia coli* DMST 4212 ได้จากศูนย์เก็บรักษาและรวมรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Lactobacillus plantarum* TISTR 050 และยีสต์ที่นำมาใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Candida albicans* TISTR 5579 ได้จากศูนย์จุลินทรีย์สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย *Lactobacillus casei* BCC 4380 ได้จาก BIOTEC Culture Collection (BCC) ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (National Center for Genetic Engineering and Biotechnolog) และ *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 ได้จาก American Type Culture Collection PO Box 1549 Manassas, VA 20108 USA

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ Malt Extract broth (MEB, Becto, Becton, Dickinson and Company, USA), Malt Extract Agar (MEA, Becto, Becton, Dickinson and Company, USA), Tryptic Soy Agar (TSA, Becto, Becton, Dickinson and Company, USA), de Man Rogosa and Sharpe agar (MRS, Difco, Becton, Dickinson and Company, USA), Columbia Blood Agar Base (CBA, Difco,Becton, Dickinson and Company, USA), Mueller Hinton Agar (MHA, Difco, Becton, Dickinson and Company, USA), Yeast Mannitol Agar,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ATCC® Medium 2722 และ Brain Heart Infusion Broth Yeast Extract peptone Dextrose Broth

ตารางที่ 3.1 สมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อพืช	ชื่อสามัญ	วงศ์	ส่วนที่นำมาใช้
Acorus calamus Linn	ว่านน้ำ	Sweet Flag	Acoraceae	เหง้า
Alpinia officinarum Hance	ข่าเล็ก	Lesser Galangal	Zingiberaceae	เหง้า
Cinnamomum verum J. Presl	อบเชย	Cinnamon	Lauraceae	เปลือก
Hibiscus sabdariffa	กระเจี๊ยบแดง	Roselle	Malvaceae	ดอก
Zingiber officinale Roscoe	ขิง	Ginger	Zingiberacea	เหง้า

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ α-tocophoral (Sigma-aldrich, Germany), ascorbic acid (Sisco research Laboratories, india), Butylated hydroxytoluene (BHT), Dimethyl sulfoxide (DMSO), Sulfuric acid, Sodium phosphate, Ammonium molybdate, Ethanol, Sodium nitropusside, Phosphate buffer saline pH=7.4, Sulfanilamide, Phosphoric acid, Napthylethylenediamine dihydrochloride, Bromocresol green solution, Phosphate buffer solution, Sodium hydroxide, Citric acid, Chloroform, Tannic acid (Sigma-aldrich, China), Sodium carbonate, Folin-Denis's reagent (Fluka, Switzerland) Folin-ciocalteu's reagent (Sisco research Laboratories, india), Gallic acid (Fluka, Spain), Aluminum chloride, Catechin (Sigma-aldrich, China), Potassium acetate, cinnamaldehyde (Sigma-aldrich, USA), α-asarone (Tokyo chemical industry, Japan), galangin (Tokyo, chemical industry, Japan), kaempferide (Tokyo, chemical industry, Japan), chlorhexidine dihydrochloride (Tokyo, chemical industry, Japan), artopine (Sigma-aldrich, USA), crystal violet (Panreac, spain), Menadione (Sigma-aldrich, China), Fluconazole (Siam bheasach, Thailand), Hemin (Sigma-aldrich, Netherland) Eugenol (Sigma-aldrich, USA),

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำยาบ้วนปาก C-20 chlorhexidine (ประกอบด้วย chlorhexidine gluconate solution equivalent to chlorhexidine gluconate 0.2 กรัม) ผลิตโดย Osoth inter laboratories co. ltd, Thailand และListerine Original (ประกอบด้วย water, alcohol (ethanol), benzoic acid, poloxmer 407, eucalybtol, methyl salicylate, menthol, sodium benzoate, caramel) ผลิตโดย บริษัท จอห์นสัน แอนด์ จอห์นสัน (ไทย) จำกัด, ประเทศไทย, tartrazine (Sigma-aldrich, USA), น้ำมันยูคาลิปตัส, menthol (Ajax Finechem, Australia), sorbitol (Sigma-aldrich, USA), salt.

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

อุปกรณ์ และเครื่องมือต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ ขวดปรับปริมาตร 96 well-plate ขวด Duran ปิเปตต์ Wash Bottle ลูปเขี่ยเชื้อ ตู้บ่มเชื้อ ตู้ laminar air flow หม้อนึ่งอัดไอ (Autoclave, HVE-50, Hirayama, Bec Thai, Thailand) เครื่องชั่งสาร เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Evaporator, Heidolph, Hei-Vap, fisher scientific, Germany) เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer, Genie 2, Scientific Industries, scientific industry, USA) พาสเจอร์ปิเปตต์ กรวยแยก เครื่องเขย่าสาร (Obital Shaker, SI Series, HYSC LAB, Scilution, Thailand) Microtube ตู้เขี่ยเชื้อไร้อากาศ (anaerobic charmber, Bactron, Sheldon Manufacturing, US) โถไร้อากาศ (anaerobic jar) เครื่อง spectrophotometer (Shimazu, UV-1800, Japan) เครื่อง microplate reader (FLUOstar Omega, BMG Labtech, Germany) ตู้อบสุญญากาศ (vacuum dryer chamber) (VD, Binder, Germany)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดสมุนไพร

3.2.1.1 การวิเคราะห์หาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

ก. วิธีทดสอบการกำจัดอนุมูลอิสระ NO ด้วยวิธี Nitric oxide radical scavenging efficacy

วิธีทดสอบการกำจัดอนุมูลอิสระ NO ด้วยวิธี Nitric oxide radical scavenging efficacy ทำตามวิธีของ Baipai และคณะ (2017) ปิเปตสารละลายโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ (sodium nitroprusside) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาไลน์ (PBS) พีเอช 7.4 (ภาคผนวก ข.) ใส่ในหลอดทดลอง ปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วผสมกับสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ในที่มีแสง ดูดของผสมนี้ครึ่งหนึ่งหรือประมาณ 1.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดใหม่และเติม Griss Reagent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ภาคผนวก ข.) ลงไปปริมาตรเท่ากัน (สารละลายซัลฟานิลาไมล์ (sulfanilamide) ความเข้มข้นร้อยละ 1 ในสารละลายกรดฟอสฟอริก ความเข้มข้นร้อยละ 5 ผสมกับสารละลายเอ็น-(1-แนฟทิล) เอทิลีนไดอะมีน ไดไฮโดรคลอไรด์ (N-1-naphthyl ethylenediamine dihydrochloride) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 30 นาที ในที่มืด นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 546 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer (Shimazu, UV-1800, Japan) และนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาแทนค่าในสมการเพื่อหาค่า radical scavenging (%) (ภาคผนวก ง.) ตามสูตรดังนี้

$$\% \text{ Radical Scavenging} = \frac{(\text{Acontrol} - \text{Asample})}{\text{Acontrol}} \times 100$$

$A_{Control}$ = ค่าดูดกลืนแสง Control

A_{Sample} = ค่าดูดกลืนแสงที่มีสารสกัด

มีการใช้สารละลายกรดแอสคอร์บิกเป็นสารละลายมาตราฐาน โดยใช้ความเข้มข้นเท่ากับ 2,000, 1500, 975, 500, 100, 50, 25, 5 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวก ข.) สำหรับ Control จะไม่ใส่สารสกัด และ Blank จะใช้สารละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัด และสำหรับชุดควบคุมเชิงบวกใช้ butylated hydroxytoluene, galangin, kaempferide, วิตามินอี (α-tocopherol) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รวมทั้ง cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 7.5477 โมลต่อลิตร และ Eugenol ความเข้มข้น 6.4332 โมลต่อลิตรแทนการใช้สารสกัด

ข. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธี Phosphomolybdenum

การวิเคราะห์สาร Total antioxidant capacity ด้วยวิธี Phosphomolybdenum ทำตามวิธีการของ Prieto และคณะ (1999) ดังนี้นำสารสกัดพืชความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงไปในหลอด eppendorf เติมสารละลาย reagent solution (กรดซัลฟิวริก (sulfuric) ความเข้มข้น 0.6 โมลาร์ โซเดียมฟอสเฟต (di-sodium hydrogen phosphate anhydrous) ความเข้มข้น 28 มิลลิโมลาร์ แอมโมเนียมโมลิบเดต (ammonium molybdate) ความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์) (ภาคผนวก ข.) นำหลอดไปเขย่าหรือปิดฝาและบ่มในอ่างน้ำร้อน อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส 90 นาที หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นลงในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง spectrophotometer (Shimazu, UV-1800, Japan) นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดจากสมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตราฐานของกรดแอสคอร์บิก และรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมของสารสกัด (µg Vitamin C/g Extract) (ภาคผนวก ง.)

ทำการเตรียมสารละลายมาตราฐานของกรดแอสคอร์บิก ที่ความเข้มข้น 2,000, 1500, 975, 500, 100, 50, 25, 5 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวกที่ ข.) ทำการทดลองตามวิธีข้างต้น โดยใช้กรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แทนสารสกัดสมุนไพร และ blank โดยทำการผสมสารละลาย reagent solution ปริมาตร 1 มิลลิลิตรกับสารละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร นำไปเขย่าและทำตามเงื่อนไขเดียวกันกับสารสกัด และทำกราฟมาตราฐาน กราฟที่ได้จะเป็นกราฟเส้นตรง นำสมการมาหาค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดจากสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิด และสำหรับชุดควบคุมเชิงบวกใช้ butylated hydroxytoluene, galangin, kaempferide, วิตามินอี (α-tocopherol) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รวมทั้ง cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 7.5477 โมลต่อลิตร และ eugenol ความเข้มข้น 6.4332 โมลต่อลิตรแทนการใช้สารสกัด

3.2.1.2 การหาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีชนิดอื่น

ก. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดสมุนไพร

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสมุนไพรจะวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-ciocalteu (Singleton, 1999) โดยปิเปตสารสกัดสมุนไพรไทยแต่ละชนิดที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร น้ำบริสุทธิ์คุณภาพสูงปริมาตร 6 มิลลิลิตร และสารละลายโฟลิน-ซิโอแคลทู (Folin-ciocaltue reagent) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติมน้ำบริสุทธิ์คุณภาพสูงปริมาตร 1.9 มิลลิลิตรและสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตรลงในหลอด ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer (Shimazu, UV-1800, Japan) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นั้นมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตราฐานกรดแกลลิก รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg of gallic acid equivalent (GAE)/g of extract) (ภาคผนวก ง.)

ทำการเตรียมสารละลายมาตราฐานของกรดแกลลิก (Fluka, Spain) ที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวกตารางที่ ข.1) โดยทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธีการเดียวกับวิธีข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตราฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แทนสารสกัดสมุนไพร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สร้างกราฟมาตราฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสง จะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตราฐานเพื่อใช้คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ และสำหรับชุดควบคุมเชิงบวกใช้ ascorbic acid, butylated hydroxytoluene, galangin, kaempferide, วิตามินอี (α-tocopherol) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รวมทั้ง cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 7.5477 โมลต่อลิตร และ eugenol ความเข้มข้น 6.4332 โมลต่อลิตรแทนการใช้สารสกัด

ข. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดสมุนไพรไทย

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสมุนไพรจะวิเคราะห์ด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetric (Kathirvel และ Sujatha, 2012) โดยปิเปตต์สารสกัดสมุนไพรไทยแต่ละชนิดที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร น้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วเติมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตรลงไป ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer (Shimazu, UV-1800, Japan) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นั้นมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตราฐานคาเทชิน รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด (mg of catechin acid equivalent (CE)/g of extract) (ภาคผนวก ง.)

ทำการเตรียมสารละลายมาตราฐานคาเทชิน (Sigma-Aldrich, China) ที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวกตารางที่ ข.2) โดยทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วยวิธีการเดียวกับวิธีข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตราฐานคาเทชินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แทนสารสกัดสมุนไพร และใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัดสมุนไพรเป็นแบลงก์ (blank) แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างกราฟมาตราฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคาเทชินกับค่าการดูดกลืนแสง จะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตราฐานเพื่อใช้คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่มีในตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ และสำหรับชุดควบคุมเชิงบวกใช้ ascorbic acid, butylated hydroxytoluene, galangin, kaempferide, วิตามินอี (α-tocopherol) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รวมทั้ง cinnamaldehyde ความเข้มข้น 7.5477 โมลต่อลิตร และ eugenol ความเข้มข้น 6.4332 โมลต่อลิตรแทนการใช้สารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดสมุนไพร

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดจากสมุนไพรไทย จะวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin Denis (Kathirvel และคณะ, 2016) ทำได้โดยปิเปตต์สารสกัดสมุนไพรไทยแต่ละชนิดที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ปรับปริมาตรเป็น 7.5 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จากนั้นเติมสารละลายโฟลิน-เดนิช (Folin-Denis's reagent, Fluka, Switzerland) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นทำการปรับปริมาตรสารละลายให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น แล้วผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำตัวอย่างสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรด้วยเครื่อง spectrophotometer (Shimazu, UV-1800, Japan) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นั้นมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบแทนนินจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตราฐานกรดแทนิก รายงานผลในหน่วยไมโครกรัมของกรดแทนนิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด (µg of tannic acid equivalent (TAE)/mg of extract) (ภาคผนวก ง.)

ทำการเตรียมสารละลายมาตราฐานของกรดแทนนิก (Sigma-Aldrich, China) ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25, 10 และ 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวกที่ 5.1ข.) ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบแทนนินด้วยวิธีการเดียวกับวิธีข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตราฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แทนสารสกัดสมุนไพรไทย ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 เป็นแบลงก์ (blank) เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรด้วยเครื่อง spectrophotometer (Shimazu, UV-1800, Japan) แล้วนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตราฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแทนนิกกับค่าการดูดกลืนแสง จะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตราฐานเพื่อใช้คำนวณหาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดที่มีในตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ และสำหรับชุดควบคุมเชิงบวกใช้ ascorbic acid, butylated hydroxytoluene, galangin, kaempferide, วิตามินอี (α-tocopherol) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รวมทั้ง cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 7.5477 โมลต่อลิตร และ eugenol ความเข้มข้น 6.4332 โมลต่อลิตรแทนการใช้สารสกัด

ง. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ทั้งหมดในสารสกัดสมุนไพร

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ทั้งหมดจากสมุนไพรไทย จะวิเคราะห์ด้วยวิธี ทำปฏิกิริยากับ Bromocresol green (Shamsa และคณะ, 2008) ดัดแปลงโดยทำการชั่งสารสกัดสมุนไพรไทย 1 มิลลิกรัม ละลายในกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 2 นอร์มอล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำมากรอง จากนั้นถ่ายสารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในกรวยแยก (separatory funnel) นำสารละลายที่ได้มาทำการล้างด้วยโคโรฟอร์ม ปริมาตร 10 มิลลิลิตร 3 ครั้ง ปรับพีเอชให้เป็นกลางด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ทำการเติมโบรโมกรีซอลกรีน ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และ ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 4.7) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการเขย่าอย่างแรง จนเกิดสารประกอบเชิงซ้อน จากนั้นนำมาสกัดด้วยโคโรฟอร์ม ปริมาตร 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ ทำการปรับปริมาตรสารละลายให้มีได้ 10 มิลลิลิตรด้วยขวดปรับปริมาตร (volumatic flask) แล้วผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำตัวอย่างสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตรด้วยเครื่อง spectrophotometer (Shimazu, UV-1800, Japan) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นั้นมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบแอลคาลอยด์จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตราฐานของอะโทรพีน รายงานผลในหน่วยไมโครกรัมของอะโทรพีนต่อไมโครกรัมของสารสกัด (µg of atropine acid equivalent (AE)/µg of extract) (ภาคผนวก ง.)

การทำกราฟมาตราฐานของอะโทรพีน (atropine, Sigma-aldrich, USA) ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ด้วยวิธีการเดียวกับวิธีข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตราฐานกรดอะโทรพีนที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในปริมาตร 1.2, 1, 0.8, 0.4 และ 0 มิลลิลิตร แทนสารสกัดสมุนไพรไทย ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 เป็นแบลงก์ (blank) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตรแล้วนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตราฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอะโทรพีนกับค่าการดูดกลืนแสง จะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตราฐานเพื่อใช้คำนวณหาปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ทั้งหมดที่มีในตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ และสำหรับชุดควบคุมเชิงบวกใช้ ascorbic acid, butylated hydroxytoluene, galangin, kaempferide, วิตามินอี (α-tocopherol) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รวมทั้ง cinnamaldehyde ความเข้มข้น 7.5477 โมลต่อลิตร และ eugenol ความเข้มข้น 6.4332 โมลต่อลิตรแทนการใช้สารสกัด

3.2.2 การศึกษากิจกรรมต้านจุลินทรีย์โดยสารสกัดสมุนไพร

3.2.2.1 การเตรียมสารสกัดสมุนไพรด้วยเอทานอล

การเตรียมสารสกัดสมุนไพร 5 ชนิดดังตารางที่ 3.1 ทำได้โดยการนำสมุนไพรชนิดต่างๆ คือ ว่านน้ำ ข่าเล็ก อบเชย กระเจี๊ยบแดง และขิง มาหั่นหรือฝานให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วทำให้แห้งโดยการใช้ตู้อบ จากนั้นนำสมุนไพรที่อบแห้งแล้วมาปั่นให้เป็นผงละเอียด ชั่งสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ปริมาณ 15 กรัม ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 85 ปริมาตร 150 มิลลิลิตรลงไป นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองครั้งแรกด้วยผ้าขาวบาง แล้วกรองอีกครั้งด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4:เส้นผ่าศูนย์กลาง 125 มิลลิเมตร นำสารที่ได้จากการกรองไประเหยเพื่อเอาเอทานอลออกโดยการใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Heidolph, Hei-Vap, fisher scientific, Germany) จะได้สารสกัดหยาบ จากนั้นนำบรรจุลงในขวดสีชาที่ปิดทับด้วยอลูมิเนียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟอยล์แล้วนำไปวางไว้ในตู้อบลมร้อนแบบสุญญากาศ (vacuum dryer chamber) (VD, Binder, Germany) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมง จนเอทานอลที่ปะปนกับสารสกัดจะระเหยออกจนหมดแล้วจะได้เป็นสารสกัดแห้ง จากนั้นเจือจางสารสกัดด้วยสารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 เพื่อใช้ในขั้นตอนการวิเคราะห์ โดยทำการเตรียม stock solution ของสารสกัดที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2.2.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้อากาศ ได้แก่ *E. coli* DMST 4212, *S. aureus* TISTR 118, *L. casei* BCC 4380, *L. plantarum* TISTR 050 จากหลอด stock culture ทำได้โดยเขี่ยเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิดแรกในอาหาร TSB ขณะที่เชื้อ *L. casei* และ *L. plantarum* ถ่ายลงบนอาหาร MRS Broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนเชื้อยีสต์ *C. albicans* TISTR 5579 ทำการเขี่ยเชื้อลงในอาหาร MEB บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อด้วยวิธี simple streak ลงบนอาหารแข็ง โดยที่ *S. aureus* และ *E. coli* ลงบนอาหาร TSA *L. casei* และ *L. plantarum* ลงบนอาหาร MRS Agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วน *C. albicans* ลงบนอาหาร MEA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

หลังจากบ่มเชื้อครบเวลาแล้วทำการปรับปริมาณเชื้อโดยการเขี่ยเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* มาลงในอาหาร TSB *L. casei* และ *L. plantarum* ใช้อาหาร MRS broth และ *C. albicans* ลงในอาหาร MEB ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำหลอดเชื้อไปบ่มโดยที่ *S. aureus, E. coli, L. casei* และ *L. plantarum* บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ *C. albicans* บ่มที่อุณหภูมิ 30 องซาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เมื่อบ่มครบเวลาแล้วเก็บเกี่ยวเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสออกให้เหลือแต่ตะกอนเซลล์ จากนั้นเติมสารละลายสารละลายเปปโตนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตรเท่าปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการผสมให้เข้ากันกับตะกอนเซลล์ด้วยเครื่องผสมสารละลาย แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที ทำการล้างเซลล์ทั้งหมด 3 จากนั้นนำตะกอนเซลล์ที่ได้มาเติมสารละลายเปปโตนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทำการปรับความเข้มข้นของเซลล์โดยเทียบความขุ่นของสารแขวนลอยเซลล์ให้มีความขุ่นเท่ากับความขุ่นของสารละลายมาตรฐาน McFarland เบอร์ 2 ในกรณีของเชื้อ *S. aureus, E. coli* และ *C. albicans* ซึ่งจะทำให้ได้ความเข้มข้นของเซลล์สุดท้ายเท่ากับ 10^8, 10^8 และ 10^7 CFUต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สำหรับกรณีของเชื้อ *L. casei* และ *L. plantarum* จะใช้ McFarland เบอร์ 3 ซึ่งจะทำให้ได้ความเข้มข้นของเซลล์สุดท้ายเท่ากับ 10^8 และ 10^9 CFUต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

สำหรับการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ไร้อากาศ *P. gingivalis* ATCC 33277 ทำได้โดยทำการคืนสภาพการทำแห้งแบบเยือกแข็งโดยการใช้แอลกอฮอลล์เช็ดรอบภาชนะที่บรรจุเชื้อ แล้วใช้ปากคีบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ปราศจากเชื้อคีบดึงจุกปิดภาชนะออก ปิเปตอาหารเหลว ATCC® Medium 2722 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรลงไป จากนั้นใช้พาสเจอร์ปิเปตต์ดูดอาหารเหลวที่ผสมกับเชื้อแล้วลงในหลอดอาหารเหลว ATCC® Medium 2722 ปริมาตร 6 มิลลิลิตร พร้อมกับปิเปตมาอีก 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหารแข็ง Columbia Blood Agar Base และ Brain heart infusion ที่เติมเลือด 5% วิตามิน Menadione ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ Hemin ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการเขี่ยเชื้อด้วยเทคนิค simple streak และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน ที่สภาวะไร้อากาศ

3.2.2.3 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธีเจือจางในอาหาร (agar dilution method)

การทดลองหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ของสารสกัดสมุนไพรไทยในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration หรือ MIC) ด้วยวิธี agar dilution ทำตามวิธีการของ Wiegand และคณะ (2008) โดยเริ่มจากทำการเจือจางสารสกัดจาก stock solution ที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดสมุนไพรไทย (ตามตารางที่ 3.1) ปิเปตสารสกัดในปริมาตรที่แตกต่างกันในแต่ละระดับความเข้มข้น สารสกัดเมื่อรวมกับปริมาตรอาหาร จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายอยู่ในช่วง 5-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวกที่ ค.1) โดยปริมาตรรวมของสารสกัดเป็น 250 ไมโครลิตร จากนั้นใส่อาหารแข็ง Malt Extract Agar (MEA) สำหรับเชื้อ *C. albicans* อาหาร Tryptic Soy Agar (TSA) สำหรับเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* อาหาร De Man, Rogosa and Sharpe agar (MRS) สำหรับเชื้อ *L. plantarum* และ *L. casei* ปริมาตร 2250 ไมโครลิตรลงไปในหลอดทดลอง รอจนอาหารแข็ง จากนั้นถ่ายเชื้อที่มีความเข้มข้นประมาณ 10^5-10^6 CFUต่อมิลลิลิตรลงบนผิวหน้าอาหารด้วยวิธี simple streak บ่มที่อุณภูมิ 30 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมง สำหรับ *C. albicans* ที่ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง สำหรับ *E. coli, S. aureus, L. casei* และ *L. plantarum* และ การทดลองทำทั้งหมด 3 ซ้ำ นอกจากนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อดังกล่าวด้วยสาร active compounds ที่เป็นส่วนประกอบในสารสกัดทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ α-asarone ที่ความเข้มข้นสุดท้ายรวมปริมาตรอาหารอยู่ในช่วง 5-0.078 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้นสุดท้ายรวมปริมาตรอาหารอยู่ในช่วง 0.01-0.38 โมลต่อลิตร eugenol ที่ความเข้มข้นสุดท้ายรวมปริมาตรอาหารอยู่ในช่วง 0.01-0.32 โมลต่อลิตร kaempferide ที่ความเข้มข้นสุดท้ายรวมปริมาตรอาหารอยู่ในช่วง 0.1-0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร galangin ที่ความเข้มข้นสุดท้ายรวมปริมาตรอาหารอยู่ในช่วง 0.2-0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยา chlorhexidine dihydrochloride (CHD) ที่ความเข้มข้นสุดท้ายรวมปริมาตรอาหารอยู่ในช่วง 0.781-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และยา Fluconazole ที่ความเข้มข้นสุดท้ายรวมปริมาตรอาหารอยู่ในช่วง 5-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมเชิงบวก โดยทำตามวิธีข้างต้นแล้วใช้ยาแทนสารสกัดพืช โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ การทดลองหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรไทยในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (minimum bactericidal

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

concentration หรือ MBC) หรือฆ่ายีสต์ (minimum fungicidal concentration หรือ MFC) ทำได้โดยทำการเขี่ยเชื้อจากบริเวณผิวหน้าอาหารของหลอดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อจากการทดลองหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) มาลากด้วยเทคนิค simple streak บนผิวหน้าอาหารหลอดใหม่ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อและทำการบ่มตามชนิดของเชื้อตามวิธีข้างต้น เพื่อตรวจสอบหากการเจริญของเชื้อหลอดที่ไม่มีการเจริญคือความเข้มข้นของสมุนไพรที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้

3.2.2.4 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านไบโอฟิล์มของ *C. albicans*

การวิเคราะห์การหากิจกรรมการต้านฟิล์มชีวภาพ ทำตามวิธีการของ Tabbene และคณะ (2015) ดังนี้ ทำการบ่มเชื้อ *C. albicans* (ค่าความเข้มข้นเท่ากับ 10^7 CFUต่อมิลลิลิตร) กับอาหารเหลว Yeast Extract peptone Dextrose (YPD broth) ผสมกับสารสกัด (ภาคผนวกที่ ค.2) ซึ่งความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดสมุนไพรอยู่ระหว่าง 2.09-88.88 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นสุดท้ายของ α-asarone อยู่ระหว่าง 1.3-44.44 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร cinnamaldehyde อยู่ระหว่าง 0.03-3.35 โมลต่อลิตร eugenol อยู่ระหว่าง 0.02-2.86 โมลต่อลิตร galangin อยู่ระหว่าง 0.88-0.006 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร kaempferide อยู่ระหว่าง 0.001-0.44 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสุดท้ายของยา Fluconazole อยู่ระหว่าง 1.29-133.33 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อรอให้เชื้อเกิดการสร้างฟิล์มชีวภาพมาเกาะที่บริเวณก้นของไมโครเพลท ทำการยับยั้งการสร้างฟิล์มชีวภาพ ทำโดยใช้วิธีการ crystal violet assay คือ ทำการทิ้งของเหลวในหลุมให้หมด และล้างด้วย phosphate buffer saline (PBS) ปริมาตร 200 ไมโครลิตรต่อหลุม ทำทั้งหมด 3 ครั้ง เพื่อขจัดเซลล์ที่ไม่ติดกับหลุม จากนั้นตรึงเซลล์ที่ติดกับหลุมด้วยเมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 99 ปริมาตร 200 ไมโครลิตรต่อหลุม ทิ้งไว้ 15 นาที เทเมทานอลทิ้ง เติมคริสตัลไวโอเลต ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ปริมาตรหลุมละ 200 ไมโครลิตร ทิ้งไว้อีก 15 นาที จากนั้นดูดสีส่วนเกินออก แล้วล้างหลุมด้วยน้ำปราศจากไอออนที่ปลอดเชื้อ เติมกรดอะซิติก ความเข้มข้นร้อยละ 33 ปริมาตรละ 200 ไมโครลิตร ลงไปในหลุมที่มีเซลล์ติดสีอยู่และถูกย้อมสีแล้ว จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader (FLUOstar Omega, BMG Labtech, Germany) ที่ 595 นาโนเมตร โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.2.5 การศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดอบเชยและ cinnamaldehyde ต่อระยะเวลาในการทำลายเชื้อ *C. albicans* (Time kill assay)

การศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดอบเชยและ cinnamaldehyde ต่อระยะเวลาในการทำลายเชื้อ *C. albicans* ทำตามวิธีของ Klepser และคณะ (1998) ดังนี้ ทำการถ่ายเชื้อยีสต์ความเข้มข้นของเซลล์ 10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร ลงใน phosphate buffer saline (PBS) ที่เติมสารสกัดอบเชยที่มีความเข้มข้น 1, 4 และ 8 เท่าของค่า MIC และตัวควบคุมเชิงบวกได้แก่ cinnamaldehyde ซึ่งเป็นสารบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 2 และ 4 เท่าของค่า MIC (ภาคผนวก ค.3) ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเซลเซียส ในสภาพเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที และเก็บตัวอย่าง ที่เวลา 0, 2, 4, 6 และ 24 ชั่วโมง ปริมาตร 25 ไมโครลิตร เพื่อนำมาเจือจางแล้วตรวจนับจำนวนด้วยวิธี spread plate บนอาหาร Malt Extract Agar (MEA) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.2.6 การหาการรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans*

การตรวจวัดการรั่วโปรตีนออกจากเซลล์ ทำตามวิธีการของ Zhang และคณะ (2017) ซึ่งทำได้ผสมเซลล์ของ *C. albicans* ที่อยู่ในระยะ log phase (ความเข้มข้นเซลล์ 10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร) เข้ากับ phosphate buffer saline (PBS) (ตารางภาคผนวกที่ ค.4) ที่เติมสารสกัดอบเชยที่มีความเข้มข้น 1, 4 และ 8 เท่าของค่า MIC และตัวควบคุมเชิงบวกได้แก่ cinnamaldehyde ซึ่งเป็นสารบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 2 และ 4 เท่าของค่า MIC ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในสภาพเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที (จากการทดลองข้อ 3.2.2.5) และเก็บตัวอย่าง ที่เวลา 0, 2, 4, 6 และ 24 ชั่วโมง จากหลอดเดียวกับการวิเคราะห์Time kill จากนั้นนำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนตัวเซลล์ แยกเอาส่วนใสออกมาปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปวิเคราะห์หาโปรตีนด้วยวิธี Bradford (Zhang และคณะ, 2017) โดยนำไปค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตรด้วยเครื่อง spectrophotometer (Shimazu, UV-1800, Japan) นำค่าที่ได้มาเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Bovine Serum Albumin (BSA) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.3 การพัฒนาสูตรน้ำยาบ้วนปาก

3.2.3.1 วิธีการทำน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสมุนไพร

น้ำยาบ้วนปากทั้งหมด 5 สูตรที่มีส่วนผสมของว่านน้ำ อบเชย ข่าเล็ก ขิง กระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นร้อยละ 6, 8 และ 10 เตรียมโดยการผสมกับสารผสมพื้นฐานซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Vonasorn และคณะ (2013) ทั้งนี้ส่วนผสมพื้นฐานดังกล่าวสามารถรับประทานจะเติมในปริมาตรและความเข้มข้นเท่ากันในน้ำยาบ้วนปากที่เติมสารสกัดต่างชนิดกันทั้ง 5 สูตร

3.2.3.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรจากน้ำยาบ้วนปากด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหาร (agar diffusion method)

การทดลองการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของน้ำยาบ้วนปากจากสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหาร ทำตามวิธีของ Yim และคณะ (2013) โดยเทอาหาร Yeast Extract Manitol Agar สำหรับเชื้อ *C. albicans* อาหาร Muller Hinton Agar สำหรับเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* อาหาร MRS สำหรับเชื้อ *L. plantarum* และ *L. casei* ลงในเพลทให้หนาประมาณ 4 มิลลิเมตร นำไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุ่มลงในหลอดของเชื้อที่ผ่านการปรับความขุ่นของ Mcfarland แล้วนำมาถู (swab) บนอาหารให้ทั่วผิวหน้าในจานเพาะเชื้อ หมุนจานเพาะเชื้อ 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเพื่อทำการ ถู (swab) อีกครั้ง รอให้แห้งประมาณ 3-5 นาที หลังจากนั้นนำแผ่นกรองขนาด 6 มิลลิเมตร (whatman, Life sciences, UK) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาวางลงบนผิวหน้าอาหารให้ห่างกัน ประมาณ 2.4 เซนติเมตร จนทั่วจานเพาะเชื้อ หยดน้ำยาบ้วนปากแต่ละสูตรที่แตะละความเข้มข้นลงบนแผ่นกรอง แผ่นละ 15 ไมโครลิตร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อ *C. albicans* เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อ *E. coli, S. aureus, L. plantarum* และ *L. casei* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีการใช้ยา Fluconazole เป็นตัวควบคุมเชิงบวกสำหรับเชื้อ *C.albicans* และยา chlorhexidine dihydrochloride (Tokyo chemical industry, Japan) สำหรับเชื้อ *E. coli, S. aureus, L. casei* และ *L. plantarum* ตรวจผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้งในหน่วยมิลลิเมตร ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.2.4 การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

3.2.4.1 ผลการวิเคราะห์ Time kill และการรั่วของโปรตีน

นำผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำของจำนวนเชื้อและปริมาณโปรตีนที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ analysis variance (ANOVA) และ Duncan's multiple range test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลแต่ละทรีทเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$) ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 25.0 (IBM) (ภาคผนวก ช)

3.2.4.2 ผลการวิเคราะห์ antibiofilm

นำผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำของค่าร้อยละในการยับยั้งการสร้างฟิล์มชีวภาพที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ analysis variance (ANOVA) และ Duncan's multiple range test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลแต่ละทรีทเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$) ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 25.0 (IBM) (ภาคผนวก ช)

3.2.4.3 ผลการวิเคราะห์น้ำยาบ้วนปาก

นำผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางในการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ analysis variance (ANOVA) และ Duncan's multiple range test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลแต่ละทรีทเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$) ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 25.0 (IBM) (ภาคผนวก ช)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดสมุนไพร

4.1.1 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

4.1.1.1 การหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดโดย Phosphomolybdenum assay

จากการศึกษาสมบัติกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย โดยทำการศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรไทยทั้ง 5 ชนิด ด้วยวิธี Phosphomolybdenum assay วิธีนี้ใช้ในการหา total antioxidant capacity ของสารสกัดจากพืช ซึ่งเป็นการวัดความสามารถของสารสกัดพืชในการรีดิวซ์ Molybdenum (VI) oxide ให้กลายเป็นไอออน molybdenum (V) oxide ที่มีสีเขียวและ pH เป็นกรด ถ้าค่าการรีดิวซ์ยิ่งสูง แสดงว่ากิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดก็จะยิ่งมากเช่นกัน (Prieto และคณะ, 1999) จากการทดลองพบว่า สารสกัดสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดได้แก่ อบเชย ซึ่งมีค่า 1,152.58 มิลลิกรัมของวิตามินซีต่อกรัมของสารสกัด (ตารางที่ 4.3) เช่นเดียวกับสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde และ eugenol ที่พบได้ในเปลือกของอบเชยที่มีกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงเช่นกันซึ่งมีค่าเท่ากับ 176.54 และ 165.54 มิลลิกรัมของวิตามินซีต่อโมลด้วยวิธีโมลิบดีนัม ตามลำดับ ทั้งนี้อบเชยยังมีค่าสูงใกล้เคียงกับกิจกรรมดังกล่าวของสาร BHT ซึ่งได้เท่ากับ 1,276.29 มิลลิกรัมของวิตามินซีต่อกรัม และสำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก α-tocopherol ซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์ได้สูงมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด เท่ากับ 1,222.51 มิลลิกรัมวิตามินซีต่อกรัม ส่วนสมุนไพรที่มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระที่สูงรองลงมา คือ ว่านน้ำ และ กระเจี๊ยบแดง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1,030.07 และ 824.05 มิลลิกรัมของวิตามินซีต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกรดแอสคอร์บิกที่มีค่าเท่ากับ 1,006.70 มิลลิกรัมของวิตามินซีต่อกรัมของกรดแอสคอร์บิก ส่วนสารสกัดที่มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างต่ำคือ ข่าเล็ก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 618.38 มิลลิกรัมของวิตามินซีต่อกรัมของสารสกัด ทั้งนี้สารบริสุทธิ์ที่ทำการทดลองแล้วมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระปานกลางคือ kaempferide และ galangin ที่พบได้ในข่าเล็ก มีค่าเท่ากับ 763.23 และ 668.38 มิลลิกรัมของวิตามินซีต่อกรัมด้วยวิธีโมลิบดีนัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.1.2 การศึกษากิจกรรมการยับยั้งอนุมูลไนตริกออกไซด์

ในการวิเคราะห์หากิจกรรมการยับยั้งอนุมูลไนตริกออกไซด์ด้วยวิธี Nitric oxide radical scavenging efficacy มีหลักการคือ สาร nitric oxide เป็นหนึ่งในสารต้านอนุมูลอิสระหลาย ๆ ชนิด ที่ก่อให้เกิดการอักเสบและส่งผลไปยังการเกิดโรคหลาย ๆ ชนิด วิธีนี้จะเป็นวิธีที่ทดสอบตัวอย่างสารสกัดพืชในการยับยั้งการเกิด nitric oxide ซึ่งจะแสดงค่าการยับยั้งออกมาในรูปแบบของค่าร้อยละ โดยที่ค่าร้อยละมาก แสดงว่ามีอัตราการยับยั้ง nitric oxide ได้สูง (www.smj.ejnal.com/) โดยสารละลายโซเดียมไนโตรพลัสไซด์จะสร้าง nitric oxide ได้ต่อเมื่อโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ทำปฏิกิริยากับออกซิเจน ทำให้เกิดไอออนของไนไตรท์ และสามารถทดสอบได้โดยการใช้สารละลาย Griess reagent โดยที่สารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัด จะส่งผลให้เกิดการผลิต nitric oxide ลดลงจากนั้น สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูในระหว่างการ diazotization ของไนตริกไอออนกับซัลฟานิลาไมด์ และการทำปฏิกิริยากับแนฟทิลเอทิลีนไดอามีนไดไฮโดรคอลไลน์ (NED) ในภายหลัง ผลจากการทดลองตามตารางที่ 4.3 พบว่าสารสกัดจากอบเชยถึงแม้จะมีค่าการยับยั้งอนุมูลไนตริกออกไซด์ (ร้อยละ 39.64) ซึ่งมากกว่าสารสกัดจากสมุนไพรชนิดอื่นๆแต่ก็ยังมีค่าต่ำกว่าสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde และeugenol ที่มีค่าสูง ซึ่งมีค่ากิจกรรมการยับยั้งอนุมูลไนตริกออกไซด์ได้ร้อยละ 48.37 และ43.04 ตามลำดับ ชี้ให้เห็นว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของอบเชยมาจากฤทธิ์ของสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในอบเชย แต่ยังน้อยกว่าสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก คือ α-tocopherol และ BHT ที่มีค่าเท่ากับร้อยละ 51.05 และ 53.14 ตามลำดับ สารที่มีกิจกรรมการยับยั้งอนุมูลไนตริกออกไซด์รองลงมา คือ ข่าเล็ก และ กระเจี๊ยบแดง ซึ่งมีค่าเท่ากับร้อยละ 32.69 และ 30.12 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับ ascorbic acid ที่ค่ามากกว่าซึ่งได้ค่าร้อยละ 51.52 สารสกัดที่มีกิจกรรมการยับยั้งอนุมูลไนตริกออกไซด์ต่ำ คือ ขิง มีค่าเท่ากับร้อยละ 20.18 ทั้งนี้สารบริสุทธิ์ที่พบในขิง คือ galangin มีค่าการยับยั้งอนุมูลไนตริกออกไซด์เท่ากับร้อยละ 44.84 และยังมีค่ามากกว่า kaempferide (ร้อยละ 43.06) ด้วยเหตุนี้กิจกรรมการยับยั้งของข่าเล็กจึงเป็นไปได้ที่จะมาจากสารสำคัญซึ่งก็คือ galangin และ kaempferide ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kose และคณะ (2015); Abubakar และคณะ (2018)

4.1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบของสารสกัดจากสมุนไพรไทย

4.1.2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ในการวิเคราะห์หาส่วนประกอบของฟีนอลิกในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรด้วยวิธี Folin-ciocalteu ซึ่งจะวิเคราะห์หาความเข้มข้นของสารประกอบทั้งหมดที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ในโมเลกุล สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะทำปฏิกิริยากับสาร Folin-ciocalteu ซึ่งประกอบด้วย phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents สารดังกล่าวจะถูกรีดิวซ์โดย phenolic hydroxyl group ของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เกิดเป็น phosphotungstic phosphormoly-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

bdic complex ซึ่งมีสีน้ำเงิน (http://kpi.msu.ac.th/upload/ag_tor_ref_byval) หลังจากทำการทดลองแล้วพบว่าสมุนไพรที่มีสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด คือ อบเชย ซึ่งมีค่าเท่ากับ 339.30 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด สมุนไพรที่มีสารประกอบฟีนอลิกรองลงมาได้แก่ ขิง ข่าเล็ก และว่านน้ำ ค่าที่ได้จะอยู่ที่ 201.75, 150.88 และ 130.88 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ สมุนไพรที่มีส่วนประกอบของฟีนอลิกน้อยที่สุด คือ กระเจี๊ยบแดง มีค่าเท่ากับ 116.84 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก คือ α-tocopherol และ BHT มีสารประกอบฟีนอลิก 83.51 และ 86.32 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าสารประกอบฟีนอลิกในสมุนไพร สำหรับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในสารบริสุทธิ์ keampferide พบว่ามีค่าสูงมาก 1,603.51 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัม ซึ่งสูงกว่าค่าที่วิเคราะห์ได้ในสมุนไพรทุกชนิดโดย cinnamaldehyde และ eugenol ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบได้ในเปลือกของอบเชย (Lee และคณะ, 2002) มีค่าเท่ากับ 128.17 และ654.50 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อโมล ตามลำดับ

4.1.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

วิธีการวิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยวิธี Aluminium Chloride Colorimetric โดยโซเดียมไนไตรท์ (sodium nitrite) จะทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลบนวงฟีนอลเกิดเป็นหมู่คีโตน (ketone) จากนั้นอะลูมิเนียมไอออนจะไปจับกับหมู่คีโตน บนวงฟีนอลของฟลาโวนอยด์เกิดเป็นโครงสร้างเชิงซ้อน เมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นเบสจะเกิดเป็นสารที่มีสีแดง จากการทดลองพบว่าสารสกัดสมุนไพรที่มีสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด คือ อบเชย ที่มีค่าเท่ากับ 255.30 มิลลิกรัมคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด สารสกัดสมุนไพรที่มีสารประกอบฟลาโวนอยด์รองลงมา คือ ขิง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 94.10 มิลลิกรัมคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด และสารสกัดสมุนไพรที่มีสารฟลาโวนอยด์ในปริมาณน้อย ได้แก่ ข่าเล็ก กระเจี๊ยบแดง และว่านน้ำ พบว่าได้ค่า 44.48, 32.13 และ 22.95 มิลลิกรัมคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก คือ α-tocopherol และ BHT พบว่ามีค่าสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 20.33 และ 13.99 มิลลิกรัมคาเทชินต่อกรัม ตามลำดับ และ ascorbic acid ได้ค่าเท่ากับ 13.66 มิลลิกรัมคาเทชินต่อกรัม ส่วน eugenol และ cinnamaldehyde พบว่า eugenol มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ค่อนข้างสูง (203.86 และ 63.25 มิลลิกรัมคาเทชินต่อโมล ตามลำดับ) ซึ่งสูงกว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของ galangin และ kaemferide ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงด้วยเนื่องจากสารประกอบสารฟลาโวนอยด์เป็นสารกลุ่มย่อยในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก (Blasa และคณะ, 2010) ซึ่งปริมาณสารดังกล่าวที่สูงนี้สัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่มีปริมาณสูงมากในอบเชย ตามด้วย cinnamaldehyde และ galangin (63.25 มิลลิกรัมคาเทชินต่อโมล และ 232.35 มิลลิกรัมคาเทชินต่อกรัม ตามลำดับ) โดยสารบริสุทธิ์ทั้ง 3 ชนิด เป็นสารสำคัญที่พบได้ในอบเชยและข่าเล็ก ตามลำดับ (Bhagavathy และ Latha, 2015; Eumkeb และคณะ, 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด

ในการวิเคราะห์สารประกอบแทนนินทั้งหมดด้วยวิธี Folin Denis ซึ่งจะวัดปริมาณความเข้มข้นของสารประกอบทั้งหมดที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ในโมเลกุล สารประกอบแทนนินทั้งหมดจะทำปฏิกิริยากับ Folin-ciocaltue reagent ซึ่งประกอบด้วย phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents สารดังกล่าวจะถูกรีดิวซ์โดย phenolic hydroxyl group ของสารประกอบแทนนินทั้งหมด เกิดเป็น phosphotungstic-phosphomolybdic complex ซึ่งเป็นสีน้ำเงิน พบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบแทนนินมากที่สุด คือ อบเชย (681.17 ไมโครกรัมกรดแทนนิกต่อมิลลิกรัมของตัวอย่าง) ยังพบว่าสารบริสุทธิ์ของ cinnamaldehyde และ eugenol ที่พบได้ในเปลือกอบเชยก็มีปริมาณสารแทนนินที่สูงเช่นกันซึ่งมีค่าเท่ากับ 90.13 และ 104.64 มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อโมล ตามลำดับ รองลงมาคือ ขิง และ ข่าเล็ก ซึ่งปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 497.84 และ 469.14 ไมโครกรัมกรดแทนนิกต่อมิลลิกรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ สารสกัดสมุนไพรที่มีสารประกอบแทนนินรองลงมาได้แก่ กระเจี๊ยบแดง และ ว่านน้ำ มีสารประกอบแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 111.42 และ 104.01 ไมโครกรัมกรดแทนนิกต่อมิลลิกรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก คือ α-tocopherol และ BHT ซึ่งมีสารประกอบแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 70.68 และ 73.46 ไมโครกรัมกรดแทนนิกต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ โดยจะพบว่าสารสกัดทุกตัวจะมีสารประกอบแทนนินมากกว่าสาร α-tocopherol และ BHT สำหรับ ascorbic acid มีปริมาณสารประกอบแทนนินเท่ากับ 493.82 ไมโครกรัมกรดแทนนิกต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าข่าเล็ก กระเจี๊ยบแดง และว่านน้ำ ทั้งนี้พบว่า galangin (493.77 ไมโครกรัมกรดแทนนิกต่อมิลลิกรัม) ซึ่งเป็นสาระสำคัญในขิงและข่าเล็ก (Kose และคณะ, 2015) มีปริมาณแทนนินที่น้อยกว่า kaempferide ซึ่งเป็นสารสำคัญในข่าเล็ก (546.30 ไมโครกรัมกรดแทนนิกต่อมิลลิกรัม) (Abubakar และคณะ, 2018)

แทนนินเป็นโพลีเมอร์ของกรดฟีนอลิก (phenolic acid) หรือฟลาโวนอยด์ (flavonoid) มีอยู่ตามธรรมชาติ มีทั้งชนิดที่เป็นไฮโดรไลซ์แทนนินแทนนินและนอนไฮโดไลซ์แทนนินหรือคอนเดนส์ หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า โปรแอนโทรไซยานิดิน (proanthocyanidins) ส่วนใหญ่เป็นโพลิเมอร์ของฟลาโวนอยด์ แทนนินเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพแต่แทบจะไม่ถูกดูดซึมโดยลำไส้ เนื่องจากสามารถทำให้สารนี้มีความซับซ้อนและทำให้โปรตีนตกตะกอนและยับยั้งเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยอาหาร (Blasa และคณะ, 2010)

4.1.2.4. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี โบรโมครีซอลกรีน (bromocresol green) อาศัยการทำปฏิกิริยากับโบรโมครีซอลกรีน (bromocresol green) และเกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีเหลือง (Shamsa และคณะ, 2008) หลังจากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์มากที่สุด คือ กระเจี๊ยบแดง ซึ่งมีค่าของสารประกอบแอลคาลอยด์เท่ากับ 37.39 ไมโครกรัมสมมูลของอะโทรพีนต่อไมโครกรัมสารสกัด สมุนไพรที่มีสารประกอบแอลคาลอยด์ที่ค่อนข้างมาก คือ ว่านน้ำ พบว่ามีค่าเท่ากับ 25.51 ไมโครกรัมสมมูลของอะโทรพีนต่อไมโครกรัมสารสกัด และสมุนไพรที่มีสารประกอบแอลคาลอยด์น้อยรองลงมาได้แก่ อบเชย และ ขิง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 9.69 ไมโครกรัมสมมูลของอะโทรพีนต่อไมโครกรัมสารสกัด สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก คือ α-tocopherol และ BHT ซึ่งมีสารประกอบแอลคาลอยด์เท่ากับ 72.60 และ 70.91 ไมโครกรัมสมมูลของอะโทรพีนต่อไมโครกรัม ตามลำดับ โดยพบว่าสาร α-tocopherol และ BHT มีปริมาณสารแอลคาลอยด์มากกว่าสารสกัดจากสมุนไพรทุกชนิด โดยสารบริสุทธิ์ที่มีปริมาณสารแอลคาลอยด์มากที่สุด คือ eugenol มีค่าเท่ากับ 15.91 มิลลิกรัมสมมูลของอะโทรพีนต่อโมล รองลงมาคือ cinnamaldehyde และ kaempferide ซึ่งมีค่าเท่ากับ 11.85 มิลลิกรัมสมมูลของอะโทรพีนต่อโมล และ 69.39 ไมโครกรัมสมมูลของอะโทรพีนต่อไมโครกรัม ตามลำดับ สำหรับ ascorbic acid มีปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ เท่ากับ 72.24 ไมโครกรัมสมมูลของอะโทรพีนต่อไมโครกรัม

สารแอลคาลอยด์ คือ เป็นสารประกอบที่มีไนโตรเจน พบมากในพืชหลายกลุ่ม สารอัลคาลอยด์เกือบทุกชนิดมีฤทธิ์เป็นด่างและถูกจัดว่าเป็นสารทางเภสัชกรรม สารประกอบพื้นฐานของอัลคาลอยด์เปลี่ยนมาจากกรดอะมิโน ซึ่งประกอบด้วยวงแหวนเฮเทอโรไซคลิกที่มีอะตอมของไนโตรเจน 1 วง หรือมากกว่า ในทางปฏิบัติพบว่า สารทุติยภูมิส่วนใหญ่ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบมักถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มของอัลคาลอยด์ อัลคาลอยด์ส่วนใหญ่มาจากกรดอะมิโนที่มีวงแหวนอะโรมาติก (aromatic amino acid) ได้แก่ ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ไทโรซีน (tyrosine) เป็นต้น (Brielmann และคณะ, 2006)

ส่วนใหญ่แอลคาลอยด์ จะมีรสขมและมีผลต่อสรีรวิทยาของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น มอร์ฟีน (morphine) ซึ่งใช้เป็นยาระงับอาการปวด เรสเซอพีน (reserpine) ช่วยลดความดันโลหิต อะโทรพีน (atopine) .ใช้คลายกล้ามเนื้อ ดังนั้นยาที่ใช้ในการรักษาโรคส่วนใหญ่ในปัจจุบัน (รวมทั้งยาเสพติด) นั่นล้วนมีพื้นฐานมาจากอัลคาลอยด์ทั้งสิ้น (Brielmann และคณะ, 2006)

จากการวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด พบว่าสารสกัดจากอบเชยและ cinnamaldehyde มีค่ามีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดสูง ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Sudan และคณะ (2013) ซึ่งได้ค้นพบว่าสารสกัดอบเชยบริเวณเปลือกมีปริมาณกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ (IC50) จากวิธี DPPH เท่ากับ 111.5, 289.5 และ 122 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอล คลอโรฟอร์ม และน้ำ ตามลำดับ และเช่นเดียวกับงานวิจัยของ Vidanagamage และคณะ (2016) ซึ่งได้รายงานว่าเปลือกของอบเชย มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดด้วยวิธี DPPH ร้อยละ 81.33 กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดของ cinnamaldehyde พบว่ามีค่าสูงตามการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายงานของ Rao และ Gan (2014) ที่รายงานว่ามีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 65-80 และเมื่อเราศึกษากิจกรรมการยับยั้งอนุมูลไนตริกออกไซด์ของสารสกัดอบเชยและ eugenol พบว่ามีค่าที่สูง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lee และคณะ (2002) ที่รายงานว่าพบกิจกรรมการยับยั้งอนุมูลไนตริกออกไซด์ของสารสกัดจากเปลือกอบเชยที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร เท่ากับร้อยละ 91.3 และ eugenol ที่ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร มีค่าเท่ากับร้อยละ 103.8 นอกจากนี้ยังพบว่าค่าของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดอบเชยมีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ จากผลการทดลองครั้งนี้พบว่าสารสกัดอบเชยมีสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในปริมาณสูง ซึ่งปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่มากจะสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bhagavathy และ Latha (2015) ซึ่งรายงานว่าสารสกัดจากเปลือกอบเชยที่มีการสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 70 มีสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เท่ากับ 176.7 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และ 153.2 มิลลิกรัมคาเทชินต่อกรัมสารสกัดตามลำดับ และจากการจำแนกชนิดสาระสำคัญในเปลือกอบเชยด้วยเทคนิค GC-MS พบว่าเป็น cinnamaldehyde, cinnamyl alcohol, coumarin, hexanoic acid, oleic acid รวมทั้ง eugenol จากการทดลองพบว่าปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ของ eugenol มีค่าที่สูงมากเช่นกันเมื่อเทียบกับสารบริสุทธิ์ชนิดอื่น ๆ นอกจากนี้ยังพบว่าอบเชยมีศักยภาพในการดูแลสุขภาพและการรับประทานอบเชยเป็นประจำสามารถช่วยรักษาสมดุลระหว่างการสร้าง reactive oxygen species และระบบการป้องกันของร่างกายจากภาวะความไม่สมดุลของการเกิดอนุมูลอิสระและโรคอื่น ๆ เช่น มะเร็ง (Sudan และคณะ, 2013) การที่สารสกัดจากอบเชยมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงอาจเป็นเพราะมีสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ แอลคาลอยด์ (alkaloid) แอนโทไซยานิน (anthocyanins) ซาโปนิน (saponin) และ แทนนิน (tannin) เป็นต้น (Mazimba และคณะ, 2015) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้พบว่าปริมาณสารแทนนินในสารสกัดของอบเชย มีปริมาณสูงสุดจากสารสกัดพืชทั้งหมด 5 ชนิดที่ใช้ในการทดลอง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mazimba และคณะ (2015) พบว่าสารสกัดอบเชยประกอบด้วย แทนนิน ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน แอลคาลอยด์ และซาโปนินในปริมาณมาก เป็นต้น

สารสกัดว่านน้ำมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่ค่อนข้างสูงรองลงมาจากอบเชย มีความสอดคล้องกับงานของ Subathra และ Poonguzhali (2012) ที่มีการรายงานว่าสารสกัดจากเหง้าของว่านน้ำมีค่าการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 0.25 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด ที่ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี phosphomolybdenum assay โดยใช้ตัวทำละลายคือ น้ำ พบว่ามีการนำไปใช้เป็นยาทางธรรมชาติ ใช้ในการต่อต้านริ้วรอย รักษาโรคและมีคุณสมบัติการป้องกันโรค (กิจกรรมต้านการอักเสบ เบาหวาน CVD ฯลฯ) เป็นต้น และจากการทดลองนี้พบว่าสารสกัดจากว่านน้ำมีปริมาณแทนนินทั้งหมดค่อนข้างน้อย ซึ่งเป็นไปตามการรายงานของ Nanda และคณะ (2014) ที่ได้รายงานว่าสารสกัดจากเหง้าของว่านน้ำที่มีการสกัดด้วยอะซิโตนมีปริมาณสารแทนเพียง 2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด แต่จากผลการวิเคราะห์ในการทดลองนี้ที่พบว่าสารสกัดจากว่านน้ำมีปริมาณสารแอลคาลอยด์ที่ค่อนข้างมาก ซึ่งตามรายงานของ Muthulakshmi และคณะ (2015) ที่มีการรายงานว่าพบแอลคาลอยด์ในสารสกัดจากเหง้าของว่านน้ำที่สกัดด้วยเอทิล อะซีเตท (ethyl acetate) และมักไม่ค่อยพบสารแทนนินที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ นอกจากนี้สารสกัดว่านน้ำยังมีสารชนิดอื่นเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ กรดอะมิโน เทอร์พีนอยด์ คาโบไฮเดรต โปรตีน glucoside, asarone, essential oil, alkaloid และ eugenol เป็นต้น (Deepak และ Kundan, 2017)

ในการวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดกระเจี๊ยบแดง พบว่าได้ค่าที่ค่อนข้างสูงตรงตามงานวิจัยของ Prabhakaran และคณะ (2018) ซึ่งทำการหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 90 ด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ค่าร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ 76.78 ทั้งนี้เมื่อหากิจกรรมการยับยั้งอนุมูลไนตริกออกไซด์ พบว่ากระเจี๊ยบแดงมีค่าที่ไม่สูงมากนัก ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Prabhakaran และคณะ (2018) ที่มีการรายงานว่าในการผลิต NO ของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงที่สกัดโดยใช้ตัวทำละลายคือ เอทานอล ร้อยละ 90 มีค่าสูงถึงร้อยละ 90.58 และพบว่าสารกัดกระเจี๊ยบแดง มีปริมาณสารแอลคาลอยด์ที่มาก ซึ่งเป็นไปตาม Okereke และคณะ (2015) ซึ่งมีการรายงานว่า พบปริมาณแอลคาลอยด์ในกระเจี๊ยบแดงที่สกัดด้วยเอทานอลที่ค่อนข้างมากเมื่อเทียบกับการใช้น้ำ ปิโตรเลียม อีเทอร์ และเอทิล อะซิเตท เป็นตัวสกัด ซึ่งได้ค่าเท่ากับร้อยละ 2.14 ทั้งนี้กระเจี๊ยบแดงจึงจัดเป็นสมุนไพรที่มีกิจกกรมการต้านอนุมูลอิสระสูง สามารถนำไปพัฒนาเป็นยาต้านการอักเสบ และเป็นแอลคาลอยด์ กลุ่ม sanguinarine ในกระเจี๊ยบแดงยังมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพและยับยั้งการเกาะติดของแบคทีเรียบนพื้นผิวของฟันอีกด้วย (Barbieri และคณะ, 2017) รวมทั้ง Rocha และคณะ (2014) รายงานว่าประเจี๊ยบแดงประกอบด้วยสารโพลีฟีนอล ชนิดฟลาโวนอล (flavonol) และฟลาโวนอล (flavonol) ในรูปพื้นฐานหรือในรูปของโพลีเมอร์ ฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆที่พบในกระเจี๊ยบแดง ได้แก่ sabdaritin, sabdaritrin, gossypitrin, gossytrin, quercetin luteolin โดยเฉพาะกรดโปรโตคาเทคชูอิค (protocatechuic acid) ที่เป็นสารที่สำคัญในกระเจี๊ยบแดงและยังมีคลอโรจีนิกเอซิด (chlorogenic acid) ที่เป็นสารประกอบฟีนอลิกและมีอยู่ทั้งในดอกและใบกระเจี๊ยบแดง คลอโรจีนิกเอซิดอยู่ในกลุ่มของเอสเทอร์จากซินนามิกชนิดทรานส์ (Clifford และคณะ, 2003)

จากผลการวิเคราะห์หากิจกรรมต้านสารอนุมูลอิสระในสารสกัดขิง พบว่าได้ค่าค่อนข้างน้อย ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Yusuf และคณะ (2018) ที่รายงานว่าปริมาณกิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระจากขิง (IC_{50}) ด้วยวิธี DPPH โดยใช้ตัวทำละลายคือ เมทานอล ได้ค่าเท่ากับ 47.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และยังพบสารประกอบหลายชนิด ได้แก่ ฟีนอล อัลคาลอยด์ ซาโปนิน ไกลโคไซด์ terpenoids แอนทราควิโนน ฟลาโวนอยด์ แทนนิน เป็นต้น โดยจากการทดลองพบปริมาณสารแทนนิน ที่ค่อนข้างมาก ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Hasona และคณะ (2017) ที่รายงานว่าพบปริมาณสาร

เอกสารนี้ [illegible] ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แทนนินปริมาณมากในสารสกัดขิงที่ใช้ตัวทำละลายคือ เอทานอล นอกจากนี้เราพบว่าขิงมีปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่ค่อนข้างมาก พบว่าตรงกับงานวิจัยของ Bekkouch และคณะ (2019) ที่รายงานว่ามีปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 15.34 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และ 4.20 มิลลิกรัมเควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด โดยการใช้วิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method และ อาศัยการก่อตัวของFlavonoid-aluminum ตามลำดับ และมีการใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ทั้งนี้ขิงมีกิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติสูง โดยเฉพาะ วิตามิน แคโรทีนอยด์ และฟีนอลิก (เช่น 6-gingerol, 6-shogaol และ 6-paradol) ที่เกี่ยวข้องกับสารต้านอนุมูลอิสระ (Bekkouch และคณะ, 2019) และยังช่วยในการลดปัญหาสุขภาพเรื้อรัง เช่น มะเร็ง โรคระบบประสาทและหลอดเลือด สามารถใช้เป็นยาต้านจุลชีพและยังมีสารต้านอนุมูลอิสระที่มีแนวโน้มต้านการอักเสบของตับ (Hasona และคณะ, 2017)

จากการวิเคราะห์หากิจกรรมการยับยั้งอนุมูลไนตริกออกไซด์ของข่าเล็ก พบว่ามีปริมาณกิจกรรมการยับยั้งอนุมูลไนตริกออกไซด์ที่ค่อนข้างมากรองจากอบเชย ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Kose และคณะ (2015) ซึ่งพบว่าข่าเล็กมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นกัน นอกจากนี้ยังตรงกับงานวิจัยของ Win และคณะ (2019) โดยรายงานว่ามีกิจกรรมการยับยั้งอนุมูลไนตริกออกไซด์เท่ากับร้อยละ 63.44 ด้วยวิธี Nitric oxide (NO) radical scavenging assay โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย นอกจากนี้กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข่าเล็กยังสัมพันธ์กับกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของ galangin และkaempferide ซึ่งมีค่าสูง ชี้ให้เห็นว่ากิจกรรมนี้เป็นผลมาจากกิจกรรมของสารสำคัญในข่าเล็กเนื่องจากข่าเล็กยังมีส่วนประกอบของสารอื่นๆ เช่น แอลคาลอยด์ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน กรดอะมิโน สเตียรอยด์ รวมทั้ง galangin และkaempferide เป็นต้น (Srividya และคณะ, 2010; Eumkeb และคณะ, 2011) จากการทดลองพบว่าข่าเล็กมีปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ที่ค่อนข้างน้อยซึ่งเป็นไปตามการรายงานของ Srividya และคณะ (2010) ที่มีการรายงานไว้ว่ามีปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 50.1 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และ 54.02 มิลลิกรัมคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ โดยการใช้ไฮโดรแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย ในการทดลองนี้พบว่าสารสกัดข่าเล็กมีแอลคาลอยด์ 7.72 ไมโครกรัมกรดแทนนิกต่อมิลลิกรัมสารสกัด ซึ่งมีรายงานว่าพบ alkaloid ชนิด diaryheptanoid ที่มี pyridine ring ที่ชื่อว่า officinin B และalpinin A และยังมีการค้นพบ flavonoids บางชนิดในเหง้าของข่าเล็กซึ่งพบว่าเป็น apigenin, galangin, galangin-3-methyl ester, kaempferide และ pinocenbrine (Abubakai และคณะ, 2018) และยังมีปริมาณสารแทนนินที่ค่อนข้างมาก ซึ่งเป็นไปตามงานวิจัยของ Alasmary และคณะ (2019) ที่รายงานว่าพบแทนนิน ร้อยละ 20.17 เหง้าของข่าเล็กยังถูกใช้เป็นยาสมุนไพรเพราะมีสารต้านอนุมูลอิสระ ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง การยับยั้งการเจริญของเอนไซม์ ยับยั้งการผลิตไนตริกออกไซด์ และมีการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาจึงนำไปใช้ในการรักษาโรค เช่น บรรเทาไข้และลดอาการปวดท้อง เป็นต้น ทั้งนี้ส่วนใหญ่สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข่าเล็ก ได้แก่ flavonoids และ terpenes และพบว่ามีการแสดงถึงกิจกรรมทางชีวภาพที่สำคัญ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเหง้าข่าเล็ก ประกอบด้วย ฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ และเฮปทานอยด์ น้ำมันหอมระเหย และยังมีการออกฤทธิ์ทางต้านการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Heo และคณะ, 2001) งานวิจัยนี้การที่ galangin มีสารประกอบฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิกปานกลาง ซึ่ง Heo และคณะ (2001) รายงานว่า galangin มีส่วนประกอบของฟลาโวนอยด์ ชนิดฟลาโวนอล ที่มีความเข้มข้นในปริมาณสูงใน galangal ดังนั้นข่าเล็กจึงมีความสำคัญในด้านอาหารและในอุตสาหกรรมสมุนไพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 พฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

	Antioxidant activity		Total tannin content	Total Alkaloid	Total Phenolic	Total Flavonoid
	Phosphomolybdenum (mg Vitamin C/g Extract หรือ /mol) ± SD	NO (ร้อยละ ± SD)	(µg TAE/mg extract หรือ /mol) ± SD	(µg AE/ug extract หรือ /mol) ± SD	(mg GAE /g Extract หรือ /mol) ± SD	(mg CE/g extract หรือ /mol) ± SD
สารสกัด						
ว่านน้ำ	1,030.07 ± 2.32	28.41 ± 1.87	104.01 ± 2.14	25.51 ± 6.82	130.88 ± 1.61	22.95 ± 0.32
ข่าเล็ก	618.38 ± 1.66	32.69 ± 1.76	469.14 ± 6.95	7.81 ± 0.31	150.88 ± 1.22	44.48 ± 0.19
อบเชย	1,152.58 ± 3.38	39.64 ± 1.70	681.17 ± 5.88	10.12 ± 3.56	339.30 ± 1.61	255.30 ± 0.50
กระเจี๊ยบแดง	824.05 ± 3.87	30.12 ± 1.76	111.42 ± 1.07	37.39 ± 0.10	116.84 ± 1.05	32.13 ± 0.33
ขิง	647.59 ± 0.79	20.18 ± 2.10	497.84 ± 5.34	9.69 ± 2.10	201.75 ± 0.61	94.10 ± 0.33
สารบริสุทธิ์						
Cinnamaldehyde	176.54 ± 0.07	48.37 ± 1.36	90.13 ± 0.92	11.85 ± 1.48	128.17 ± 0.78	63.25 ± 0.09
Eugenol	165.54 ± 0.29	43.04 ± 1.49	104.64 ± 0.50	15.91 ± 2.74	654.50 ± 0.00	203.86 ± 0.00
galangin	668.38 ± 0.79	44.84 ± 1.42	473.77 ± 3.74	66.48 ± 10.18	790.53 ± 1.82	232.35 ± 0.83
Kaempferide	763.23 ± 1.19	43.06 ± 1.28	546.30 ± 3.21	69.39 ± 5.14	1603.51 ± 1.61	190.93 ± 0.50
BHT	1,276.29 ± 1.36	53.14 ± 1.16	73.46 ± 6.95	70.91 ± 0.63	86.32 ± 1.05	13.99 ± 0.19
α-tocopherol	1,222.51 ± 2.44	51.05 ± 1.11	70.68 ± 1.07	72.60 ± 0.10	83.51 ± 1.61	20.33 ± 0.33
Ascorbic acid	1,006.70 ± 0.00	51.52 ± 1.29	493.83 ± 4.27	72.24 ± 0.63	168.07 ± 2.65	13.66 ± 0.50

หมายเหตุ : BHT คือ Butylated hydroxytoluene ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ; ความเข้มข้นของ cinnamaldehyde และ eugenol เท่ากับ 7.5477 โมลต่อลิตร และ 6.4332 โมลต่อลิตร ตามลำดับ ; หน่วยของ cinnamaldehyde และ eugnol คือ มิลลิกรัมต่อโมล (mg/mol)

4.2 การยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธีเจือจางในอาหาร (agar dilution method)

จากผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ จำนวน 5 ชนิด ของสารสกัดจากสมุนไพรด้วยวิธี agar dilution (ตารางที่ 4.2) พบว่าสารสกัดหยาบจากอบเชยมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของยีสต์ *C. albicans* ได้ดีกว่าสารสกัดชนิดอื่นๆ (ค่า MIC เท่ากับ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ขณะที่สารสกัดจากว่านน้ำสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ค่า MIC เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงที่ค่า MIC เท่ากับ 60 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ข่าเล็กที่ค่า MIC เท่ากับ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และขิงที่ค่า MIC เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียโดยสารสกัดจากพืชพบว่า *L. casei* ไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากสมุนไพรอบเชย ข่าเล็ก และกระเจี๊ยบแดง (ค่า MIC เท่ากับ 5, 10 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ขณะที่ *S. aureus* ถูกยับยั้งการเจริญจากสารสกัดสมุนไพรขิง ว่านน้ำและข่าเล็ก (ค่า MIC เท่ากับ 5, 10 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ส่วนเชื้อ *L. plantarum* ค่อนข้างไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากว่านน้ำได้มากที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และสำหรับเชื้อ *E. coli* พบว่าค่อนข้างไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง (ค่า MIC เท่ากับ 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) (ตารางที่ 4.2) สำหรับผลการตรวจสอบของยาคลอเฮกซิดีน ไดไฮโดรคลอไรด์ที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกพบว่าเชื้อ *S. aureus* ถูกยับยั้งโดยคลอเฮกซิดีน ไดไฮโดรคลอไรด์ได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 0.08 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือ *E. coli* และ *L. plantarum* (ค่า MIC เท่ากับ 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สำหรับสารบริสุทธิ์ α-asarone สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans, L. casei* และ *S. aureus* ได้ดีที่ค่า MIC เท่ากับ 0.31 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สาร cinnamaldehyde ไวต่อการยับยั้ง *C. albicans* มากที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 0.02 โมลต่อลิตร) เช่นเดียวกับฤทธิ์ยับยั้งของสาร eugenol ที่พบว่าเชื้อ *C. albicans* ไวต่อการถูกยับยั้งด้วย eugenol มากที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 0.02 โมลต่อลิตร) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าฤทธิ์ยับยั้งของสารสกัดของอบเชยที่มี cinnamaldehyde และ eugenol เป็นส่วนประกอบ ส่วนหนึ่งมาจากสารสำคัญชนิดนี้ในอบเชย สำหรับฤทธิ์ยับยั้งของ cinnamaldehyde และ eugenol ต่อแบคทีเรียชนิดอื่นที่ทดสอบ พบว่าเชื้อค่อนข้างต้านทานต่อสารทั้งสองนี้ โดยมีค่า MIC 0.05 โมลต่อลิตร สำหรับสาร kaempferide สามารถยับยั้ง *L. plantarum* ได้ดีที่ค่า MIC เท่ากับ 0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับเชื้อชนิดอื่น ๆ ที่พบว่าถูกยับยั้งที่ค่า MIC เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารบริสุทธิ์ galangin พบว่าเชื้อส่วนใหญ่ถูกยับยั้งการเจริญโดย galangin ที่ค่า MIC เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยกเว้นเชื้อ *L. plantarum* ที่ค่อนข้างต้านทานต่อ galangin (ค่า MIC เท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งสัมพันธ์กับการต้านทานการถูกยับยั้งของ *L.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

plantarum โดยสารสกัดจากขิง เนื่องจาก galangin เป็นสารสำคัญที่พบได้ในขิง (Kose และคณะ, 2015)

สำหรับฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากว่านน้ำที่สามารถยับยั้งเชื้อ *L. plantarum, S. aureus* และ *C. albicans* ได้ พบว่าสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Devi S และ Ganjewala (2009) ที่ได้ทำการทดสอบทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเหง้าแห้งของว่านน้ำที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันได้แก่ ปิโตรเลียมอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม เฮกเซน และเอทิลอะซิเตท พบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทมีประสิทธิภาพมากที่สุด โดยสารสกัดจากเหง้าของว่านน้ำที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตทสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* MTCC901 และ *E. coli* NCIM ซึ่งได้ MIC เท่ากับ 16 และ 42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และสารสกัดนี้สามารถยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* MTCC3017 และ *C. albicans* NCIM ได้ที่ค่า MIC ระดับเดียวกัน คือ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การที่สารสกัดจากเหง้าของงว่านน้ำสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้หลายชนิด คาดว่าอาจเป็นผลมาจากการมีสารออกฤทธิ์ (active compounds) หลายชนิดเป็นสารสำคัญในว่านน้ำ Rahamoz-Haghighi และคณะ (2014) ได้ทำการวิเคราะห์หาสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากว่านน้ำด้วยเทคนิคจึงทำการวิเคราะห์สารประกอบด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟ-แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Gas chromatography-Mass spectrometry) พบว่าในน้ำมันหอมระเหยว่านน้ำนั้นมีสารสำคัญ 47 ชนิด โดยพบว่ามีสารประกอบหลักคือ dehydroxy-isocalamendiol, Anethole, trans-anethole และสารอื่นอีกหลายชนิดรวมทั้งสาร trans-isoelemicin ,cis-asarone หรือ β-asarone และ Isoelemicin ซึ่งถ้าเปรียบเทียบสารที่พบกับ library database พบว่าเป็น anethole, cymene, asarone, camphor, carvacol, γ-cadinene, β-cedrene, terpinolene, linalool, zingiberene, limonene, eugenol, s-carvone, cinnamaldehyde, γ-cedrene และ terpinen-4-ol ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญในการต้านการเจริญของจุลินทรีย์และยังพบว่าสารสกัดจากเหง้าของว่านน้ำสามารถยับยั้ง *Staphylococcus epidermidis, S. aureus* และ *E. coli* ได้ สำหรับ β-asarone และ α-asarone ที่เป็นสารประกอบในว่านน้ำ มีรายงานว่าสารประกอบทั้ง 2 นี้มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ดังการรายงานของ Devi S และ Ganjewala (2009) ซึ่งได้พบว่า β-asarone และ α-asarone สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *C. albicans* ได้ โดย β-asarone และ α-asarone สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* MTCC901 ได้ที่ค่า MIC เท่ากับ 16 และ 8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และยับยั้ง *C. albicans* (2 สายพันธุ์ คือ MTCC3017 และ NCIM ได้ที่ค่า MIC เท่ากับ 2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่า β-asarone มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีกว่า α-asarone และเช่นเดียวกัน Pongpaichit และคณะ (2005) พบว่าสารสกัดจากเหง้าของว่านน้ำด้วยเมทานอลที่ละลายในเอทิลอะซิเตทแล้วแยกด้วยเทคนิคควิกคอลัมน์โครมาโตกราฟี (quick column chromatography) โดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเมทานอลเป็นตัวชะ แยกสารได้ทั้งหมด 9 ลำดับ (fractions) เมื่อทำการทดสอบ

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์พบว่าลำดับ (fraction) ที่ 3 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ดีที่สุดโดยใน fraction นี้มีสารประกอบหลักคือ β-asarone จึงใช้ β-asarone มาทดสอบ MIC พบว่า β-asarone ที่ได้จากเหง้าของว่านน้ำนั้นมีฤทธิ์ในการต้านการเจริญของเชื้อราที่ดีกว่าแบคทีเรียโดยมีความสามารถในยับยั้งเชื้อรา *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum* และ *Penicillium marneffei* ได้ (MIC เท่ากับ 0.2-0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* (MIC เท่ากับ 5-10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และยับยั้งยีสต์ *C. albicans, Cryptococcus neoformans* และ *Saccharomyces cerevisiae* (MIC เท่ากับ 0.12, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ McGaw (2001) ที่ทำการแยก β-asarone ออกจากเหง้าของว่านน้ำ รวมถึงทำการสกัดเหง้า ราก และใบของว่านน้ำด้วยเอทานอล โดยพบว่าสารสกัดจากเหง้าของว่านน้ำ 1.14 กรัม มี β-asarone 15.6 มิลลิกรัม คิดเป็นร้อยละ 1.4 ของสารสกัดหรือร้อยละ 0.09 ของเหง้าว่านน้ำและยังได้ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเหง้า รากและใบของว่านน้ำ พบว่าสารสกัดจากเหง้านั้นมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *S. aureus* ได้ดีกว่าสารสกัดจากรากและใบ ค่า MIC ในการยับยั้ง *B. subtilis* ของสารสกัดจากเหง้า รากและใบของว่านน้ำมีค่าเท่ากับ 0.78, 1.56 และ 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับขณะที่ค่า MIC *S. aureus* ของสารสกัดจากเหง้า รากและใบของว่านน้ำเท่ากับ 1.56, 3.13 และ 3.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

สำหรับฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากข่าเล็กที่นำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อ *C. albicans, E.coli* และ *S. aureus* จากการศึกษาพบว่ามีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดข่าเล็กที่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* เท่ากับ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร *E. coli* เท่ากับ 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ *S. aureus* เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการศึกษาของ Aly และคณะ (2011) พบว่ามีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดข่าเล็กที่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* เท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร *E. coli* เท่ากับ 75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ *S. aureus* เท่ากับ 75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากการศึกษาของ Cushnie และคณะ (2007) พบว่าการที่ข่าเล็กสามารถยับยั้งเชื้อได้ เนื่องจากมีสารประกอบสำคัญ ได้แก่ galangin จากการศึกษาการใช้ galangin ที่มีความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเลี้ยงกับเชื้อ *S. aureus* เป็นเวลา 60 นาที พบว่าสารดังกล่าวมีผลทำให้เซลล์มีลักษณะเกาะกลุ่มเป็นก้อนขนาดใหญ่ และมีระยะบ่มตัวที่ค่อนข้างสั้น (60 นาที) สมมติฐานที่ว่า galangin แทรกซึมผ่านส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ใน phospholipid bilayer ของเยื่อหุ้มแบคทีเรีย ทำให้เกิดความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ไซโตพลาสซึมและทำให้เซลล์เกิดการเกาะกลุ่มกัน

ในส่วนของสารสกัดจากอบเชย eugenol และ cinnamaldehyde ที่นำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อ *C. albicans* จากการศึกษาพบว่ามีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารจากอบเชย เท่ากับ 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร eugenol เท่ากับ 0.0093 โมลต่อลิตร และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cinnamaldehyde เท่ากับ 0.0109 โมลต่อลิตร จากการศึกษาของ Vazirian และคณะ (2011) พบว่ามีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากอบเชยในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* และ *E. coli* คือ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการศึกษาของ Pires และคณะ (2011) น้ำมันอบเชยมีส่วนประกอบของ cinnamaldehyde ร้อยละ 54 เนื่องจาก cinnamaldehyde มีคุณสมบัติเป็นไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ทำให้สามารถแทรกเข้าไปใน lipid bilayer ของเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งก่อให้เกิดการรบกวนและเพิ่มการซึมผ่านของโปรตอน จากนั้นเกิดการรั่วไหลของออร์แกเนลภายในเซลล์ เกิดการกำจัดโมเลกุลและไอออนที่สำคัญ และนำไปสู่การตายของเซลล์จุลินทรีย์

สำหรับสารสกัดจากขิงที่นำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อ *C. albicans, E.coli* และ *S. aureus* จากการศึกษาพบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดขิงที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli,* และ *S. aureus* มีค่ามากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และไม่พบการยับยั้งในเชื้อ *C. albicans* ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sukandar และคณะ (2016) พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดขิงที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* มีค่ามากกว่า 2048 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ความเข้มข้นของเชื้อ 0.5 McFarland standards (5×10^5 CFU ต่อมิลลิลิตร) จากการศึกษาของ Sasidharan และคณะ (2010) สำหรับเชื้อ *C. albicans* มีค่าน้อยกว่า 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นของเชื้อ 0.5 McFarland standards และจากการศึกษาของ Ababutain (2011) พบว่าน้ำมันหอยระเหยที่สกัดได้จาก *Z. Officinale* นั้นสร้างความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียและก่อให้เกิดความเสียหายต่อยีสต์ เนื่องจากชั้น lipopolysaccharide (LPS) ของแบคทีเรียแกรมลบในเยื่อหุ้มชั้นนอก มีความสามารถในการกันน้ำสูงซึ่งทำหน้าที่เป็นเกราะป้องกันการซึมผ่านที่รุนแรงกับโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ โมเลกุลของน้ำสามารถส่งผ่านผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกได้ง่ายกว่าผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกที่มีเพียง peptidoglycan ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Lan-ciotti (2014) ที่มีรายงานว่าผลการต้านจุลชีพขององค์ประกอบน้ำมันหอมระเหยขึ้นอยู่กับความสามารถในการกันน้ำ

สำหรับสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงนั้น มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* รวมทั้ง *L. casei* ได้ดี ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของ Sulistyani และคณะ (2016) ที่ได้ทำการทดลองนำสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงมาใช้ในการต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในช่องปาก โดยสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงนั้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Fusobacterium nucleatum, Prevotella intermedia* และ *Porphyromonas gingivalis* ได้ รวมทั้งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. casei* ได้ที่ค่า MIC เท่ากับ 28.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การที่สารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้นั้น อาจเป็นผลมาจากการมีกรดอินทรีย์ปริมาณสูง ซึ่งประกอบไปด้วย citric acid, hydroxycitric acid, hibiscus acid, malic acid และ tartaric acid เป็นสารประกอบหลัก และมี oxalic acid กับ ascorbic acid เป็นสารประกอบรอง ซึ่งใน hibiscus acid นั้นมี citric acid ประกอบอยู่ 12-20% malic acid 2-9% tartaric acid 8% และมี ascorbic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

acid (Vitamin C) 0.02-0.05% (Rocha และคณะ, 2014) จากการศึกษาของ Victor และคณะ (2006) พบว่าความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อ *C. albicans* มีค่าเท่ากับ 8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เชื้อ *E. coli* มีค่าเท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และในเชื้อ *S. aureus* มีค่าเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการศึกษาของ Marjorie และคณะ (1999) ฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจาก *H. sabdariffa* เกิดจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นสารประกอบประเภทฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารฟีโนลิกไฮดรอกซิเลตที่พืชสังเคราะห์ขึ้นเพื่อตอบสนองต่อการติดเชื้อจุลินทรีย์ กิจกรรมการยับยั้งเชื้ออาจเกิดจากโปรตีนที่ซับซ้อนนอกเซลล์ และโปรตีนที่ละลายน้ำได้ที่ผนังเซลล์แบคทีเรียซึ่งตรงกับการศึกษาของ Garcia และคณะ (2006) ที่พบว่าโพลิฟีนอลของพืชสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้

ตารางที่ 4.2 สมบัติการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธีเจืองจางในอาหาร (agar dilution method)

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)				
	C. albicans	*E. coli*	*L. casei*	*L. plantarum*	*S. aureus*
สารสกัดพืช					
ว่านน้ำ	10	40	20	5	10
ข่าเล็ก	20	40	10	40	10
อบเชย	4	60	5	10	20
กระเจี๊ยบแดง	60	12	10	40	20
ขิง	10	60	40	40	5
สารบริสุทธิ์					
α-asarone	0.31	5	0.31	1.25	0.31
cinnamaldehyde	0.02	0.05	0.05	0.05	0.05
eugenol	0.02	0.04	0.04	0.04	0.04
kaempferide	0.1	0.1	0.1	0.02	0.1
galangin	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1
positive control					
CHD	0.63	0.16	0.31	0.16	0.08
fluconazole	> 100	-[a]	-[a]	-[a]	-[a]

[a] ไม่ได้ทำการทดลอง ; [b] หน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดสมุนไพร α-asarone, kaempferide, galangin และ CHD ; [c] หน่วยโมลต่อลิตรของ cinnamaldehyde และ eugenol ; CHD : chlorhexidine dihydrochloride

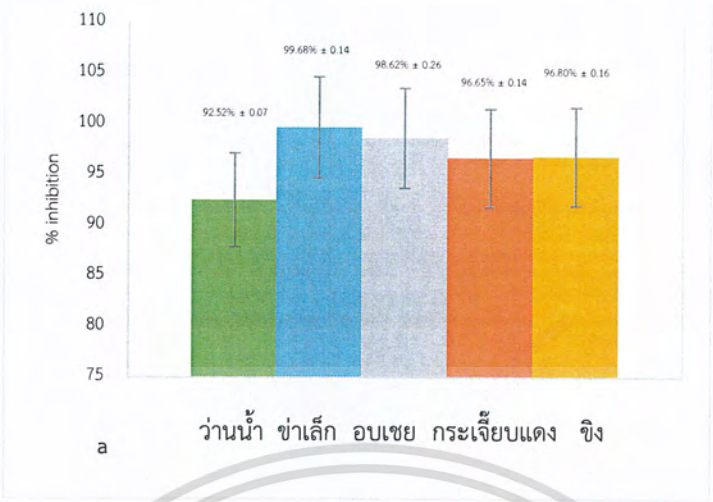
4.3 ผลการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านฟิล์มชีวภาพของ *C. albicans*

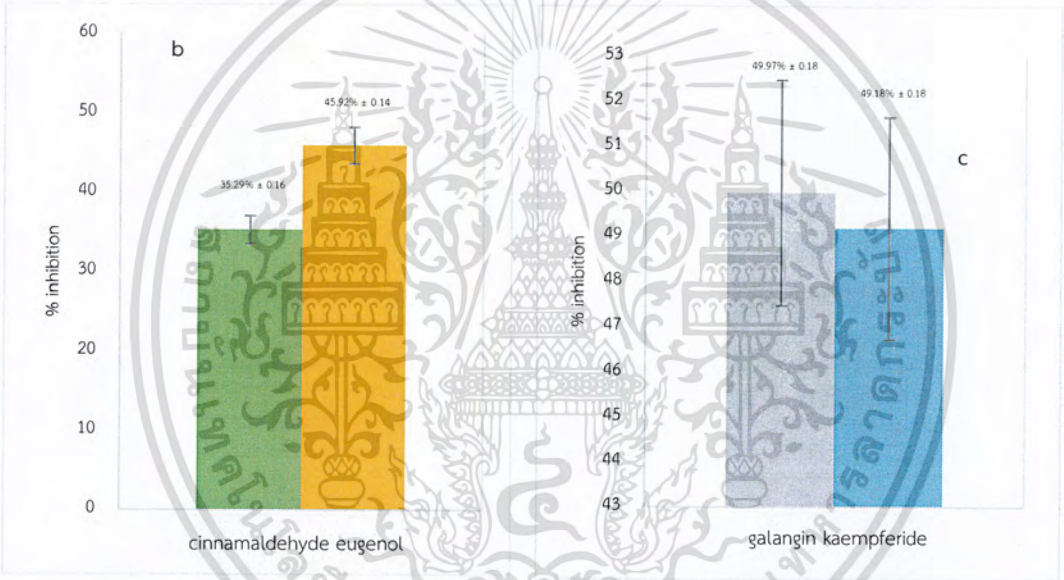
จากการทดลองหากิจกรรมการต้านฟิล์มชีวภาพ เมื่อใช้สารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นสุดท้าย เท่ากับ 3.76 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดที่สามารถต้านฟิล์มชีวภาพได้ดีที่สุด คือ ข่าเล็ก และอบเชย (ร้อยละ 99.68 และ 99.48 ตามลำดับ) รองลงมา คือ ขิง กระเจี๊ยบแดง และว่านน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(96.803, 96.65 และ 92.52 ตามลำดับ) สำหรับสารบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ของ galangin และ kaempferide สามารถยับยั้งการสร้างฟิล์มชีวภาพได้ร้อยละ 49.96 และ 49.18 ตามลำดับ สำหรับ cinnamaldehyde และ eugenol ที่ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร ยับยั้งฟิล์มชีวภาพได้ร้อยละ 66.33 และ 35.29 ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.3 นอกจากนี้ยา fluconazole ที่ความเข้มข้น 74.07 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยับยั้งฟิล์มชีวภาพได้ร้อยละ 99.70 จากผลการศึกษา จะเห็นได้ว่าสารสกัดอบเชยมีฤทธิ์ต้านการสร้างฟิล์มชีวภาพดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดพืชชนิดอื่น นักวิจัยหลายท่านได้เคยรายงานว่าน้ำมันอบเชย cinnamadehyde และ eugenol สามารถยับยั้งการสร้างฟิล์มชีวภาพของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ และ *Candida* spp. ได้ (Kim และคณะ, 2015 ; Banu และคณะ, 2018 ; Khan และ Admad, 2012) และจากการศึกษาของ Kim และคณะ (2015) ได้มีการตรวจสอบผลของน้ำมันอบเชย cinnamaldehyde และ eugenol ต่อเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope ; SEM) พบว่าสารดังกล่าวสามารถยั้งการสร้าง frimbiae ของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ นอกจากนี้ผลการทดลองของ Banu และคณะ (2018) ได้ชี้ให้เห็นว่าน้ำมันอบเชยสามารถลดการสร้างฟิล์มชีวภาพของเชื้อ *Candida* 3 สายพันธุ์ เมื่อทำการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบคอนโฟคอน (Confocal Microscopy) โดยพบว่ามีผลต่อชั้นเอ็กโซโพลีแซคคาร์ไรด์ของเชื้อ *Candida* เมื่อตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope ; SEM) ฟิล์มชีวภาพประกอบไปด้วยกลุ่มของเซลล์จุลินทรีย์ที่ยึดติดกับพื้นผิว โดยกระจายตัวอยู่ในเมทริกซ์ชั้นนอก (Extracellular matrix) (Noble และ Johnson, 2015) ลักษณะสำคัญของฟิล์มชีวภาพ คือ ช่วยเพิ่มความทนทานต่อการทำลายเซลล์จุลินทรีย์ด้วยวิธีทางกายภาพ เคมี และยา (Hall-Stoodley และคณะ, 2004) จากการศึกษาของ คีตยา (2556) พบว่าในข่าเล็กมี galangin ปริมาณ 3.38 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อสกัดด้วยอะซิโตนความเข้มข้นร้อยละ 80 นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากข่าเล็ก สามารถยับยั้งการสร้างฟิล์มชีวภาพของ *C. albicans* ได้ เมื่อสังเกตุด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope ; SEM) พบว่าสารสกัดจากข่าเล็กมีผลทำให้เซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และผนังเซลล์ถูกทำลายจนเกือบหมด (spheroplast) และเซลล์ตายในที่สุด การสร้างฟิล์มชีวภาพของ *P. aeruginosa* นั้นมีส่วนสำคัญเกี่ยวกับการติดเชื้อ และการดื้อยาต้านจุลชีพ จากการศึกษาพบว่าขิงมีประสิทธิภาพในยับยั้งการสร้างฟิล์มชีวภาพ และสามารถฆ่าเชื้อ *P. aeruginosa* ที่ดื้อยา โดยที่ขิงมีผลต่อผนังเซลล์ (Chakotiya และคณะ, 2017) สารสกัดหยาบของขิงสารสกัดหยาบของขิงมีคุณสมบัติในการลดอาการฟันผุที่เกิดจาก *Streptococcus mutans* และยังสามารถยับยั้งความรุนแรงที่ก่อให้เกิดโรคได้ สำหรับการต้านฟิล์มชีวภาพพบว่าปริมาณของฟิล์มชีวภาพมีปริมาณลดลงในระหว่างช่วงการเจริญของเชื้อ นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการสังเคราะห์กลูแคน และการยึดเกาะของ *S. mutans* (Hasan และคณะ, 2015) ขิงสดช่วยยับยั้งการสะสมของคราบจุลินทรีย์ (inhibit plaque) ที่เกิดจากไวรัสระบบทางเดินหายใจของมนุษย์ (Respiratory Syncytial Virus ; RSV) (Chang และคณะ, 2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้





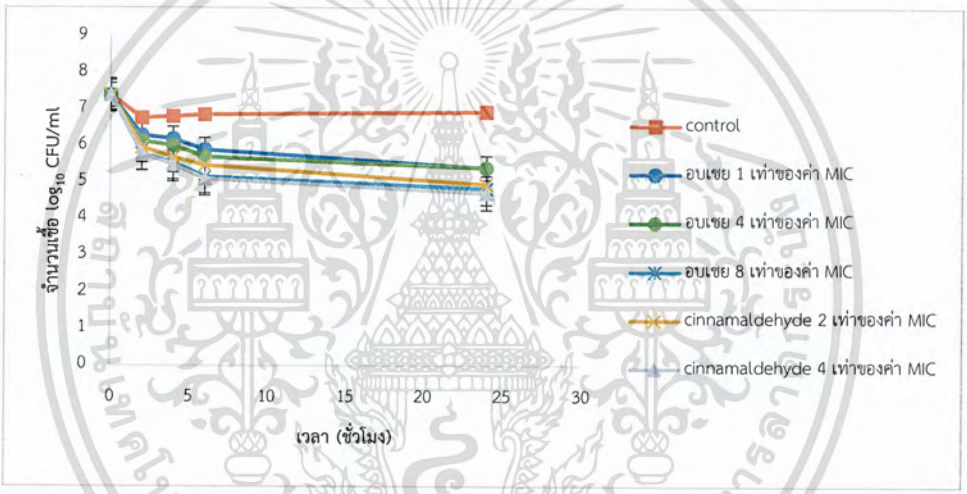
รูปที่ 4.3 ผลของสารสกัดสมุนไพรและสารบริสุทธิ์ต่อการต้านฟิล์มชีวภาพของ *C. albicans*; a สารสกัดสมุนไพร ได้แก่ ว่านน้ำ ข่าเล็ก อบเชย กระเจี๊ยบแดง และขิง ที่ความเข้มข้น 3.76 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร; b สารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde และ eugenol ที่ความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร; c สารบริสุทธิ์ kaempferide และ galangin ที่ความเข้มข้น 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4.4 ผลการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดอบเชยและ Cinnamaldehyde ต่อระยะเวลาในการทำลายเชื้อ *C. albicans* (Time kill assay)

จากการทดลองศึกษาผลของสารสกัดอบเชย (1, 4 และ 8 เท่าของค่า MIC หรือ 4, 16 และ 24 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และสารบริสุทธิ์ cinanamaldehyde (2 และ 4 เท่าของค่า MIC หรือ 0.04 และ 0.08 โมลต่อลิตร) ที่ความเข้มข้นต่างกันในการทำลายเชื้อ *C. albicans* พบว่าจำนวนเชื้อ *C. albicans* ในทุกทรีตเมนต์ที่เติมสารยับยั้งค่อย ๆ ลดลงตามระยะเวลาของการบ่มที่เพิ่มขึ้น โดยจำนวนเชื้อในทุกทรีตเมนต์ที่เติมสารยับยั้งลดลงมากกว่าจำนวนเชื้อในชุดควบคุมซึ่งไม่ได้เติมสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยับยั้งที่ทุกช่วงเวลาของการบ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) ดังรูปที่ 4.1 เมื่อเปรียบเทียบผลของการเติมสารสกัดอบเชยและ cinnamaldehyde จะเห็นได้ว่า สารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 8 เท่าของค่า MIC และ cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 2 และ 4 เท่าของค่า MIC มีผลในการทำลายเชื้อได้ดีกว่าสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 1 และ 4 เท่าของค่า MIC จะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาการบ่มครบ 24 ชั่วโมง สารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 8 เท่าของค่า MIC และ cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 4 เท่าของค่า MIC สามารถลดจำนวนเชื้อได้มากที่สุด โดยมีจำนวนเชื้อลดลง 2.68 และ 2.71 log cycle ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนเชื้อเริ่มต้น ซึ่งจำนวนเชื้อที่ลดลงนี้ ลดลงมากกว่าการเติมสารยับยั้งทรีตเมนต์อื่น ๆ ($P < 0.05$) นอกจากนี้การเติม Cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 2 เท่าของค่า MIC ก็สามารถลดจำนวนเชื้อได้เช่นกัน โดยมีจำนวนเชื้อ 2.50 log cycle เมื่อเทียบกับจำนวนเชื้อเริ่มต้น



รูปที่ 4.4 ผลของสารสกัดจากอบเชยและ Cinnamaldehyde ต่อทำลายเชื้อ *C. albicans* ใน Phosphate buffer saline เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ; ■ Control ; • อบเชย (4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ; • อบเชย (16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ; ✻ อบเชย (8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ; ✕ อบเชย (24 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ; × Cinnamaldehyde (0.04 โมลต่อลิตร) ; ▲ Cinnamaldehyde (0.08 โมลต่อลิตร)

โรคติดเชื้อจาก *Candida* (candidiasis) เป็นการติดเชื้อยีสต์ฉวยโอกาส (opportunistic yeast infection) ที่พบบ่อยที่สุดในโลก ซึ่งก่อให้เกิดการติดเชื้อในช่องปาก ผิวหนัง และการติดเชื้อในเยื่อบุ (mucocutaneous infection) โดยเฉพาะ septicemia, endocarditis, meningitis และ peritonitis ส่วนมากการติดเชื้อมักพบในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง (immunopromised persons) เชื้อ *Candida* ที่ทำให้เกิดโรคได้มาก คือ *C. albicans* ยีสต์ชนิดนี้มีอยู่ได้ในหลายลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphological state) ซึ่งรวมถึงรูปแบบที่แตกหน่อ ในรูปที่สร้างเส้นใยเทียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(pseudohyphal) และในรูปของเส้นใยที่แท้จริง (true hyphal forms) ความสามารถในการเปลี่ยนรูประหว่างรูปที่แตกหน่อไปสู่รูปที่เป็นเส้นใย เรียกว่า budded to hyphal forms transition เป็นสิ่งสำคัญในการก่อในเกิดความรุนแรงของโรค (virulence) (Toenjes และคณะ,2005) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการสร้าง germ tube ของ *C. albicans* เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดโรค (Calderone และ Fonzi, 2011 ; Pozzatti และคณะ, 2010 ; Brunke และ Hube, 2013) มีรายงานว่าน้ำมันหอยระเหยและสารสกัดจากพืชหลายชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* (Martins และคณะ, 2010) สามารถยับยั้งการสร้าง germ tube ได้ (Pozzatti และคณะ, 2010) สามารถยับยั้งการแตกหน่อของเซลล์ยีสต์ (Nakamura และคณะ, 2004) และสามารถยับยั้งการสร้างเส้นใยของ *Candida* species ได้ (Banu และคณะ, 2018)

4.5 ผลการหาการรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans*

จากการศึกษาการรั่วของโปรตีนออกจากเซลล์ *C. albicans* ในสารละลาย phosphate buffer saline (PBS) ที่เติมสารสกัดอบเชยที่มีความเข้มข้น 1, 4 และ 8 เท่าของค่า MIC และในสารละลายที่เติม cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 2 และ 4 เท่าของค่า MIC และบ่มที่ 30°C เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ผลปรากฏว่าจากทุกทรีตเมนต์ที่ทำการทดลอง เมื่อระยะเวลาของการบ่มเพิ่มขึ้น มีผลให้ปริมาณการรั่วของโปรตีนออกจากเซลล์เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.5) จะเห็นได้จากเมื่อระยะเวลาการบ่มผ่านไป 24 ชั่วโมง ปริมาณโปรตีนที่รั่วออกจากเซลล์ในชั่วโมงที่ 24 มากกว่าปริมาณการรั่วของโปรตีนที่ชั่วโมงเริ่มต้นของระยะเวลาการบ่มของทุกทรีตเมนต์ที่มีการเติมสารยับยั้งอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และเมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นของสารสกัดอบเชยและ cinnamaldehyde ต่อการรั่วของโปรตีน พบว่าการเติมสารสกัดอบเชยความเข้มข้น 8 เท่าของค่า MIC มีผลทำให้เกิดการรั่วโปรตีนออกจากเซลล์มากที่สุด (1.26 เท่า ของปริมาณโปรตีนเริ่มต้น) เมื่อเทียบกับความเข้มข้นที่ต่ำกว่า อย่างไรก็ตามการเพิ่มความเข้มข้นของ cinnamaldehyde ไม่มีผลทำให้โปรตีนรั่วออกจากเซลล์มากขึ้น ปริมาณการรั่วของโปรตีนในหลอดที่เติม cinnamaldehyde 2 และ 4 เท่าของค่า MIC มีปริมาณโปรตีนที่รั่วเพิ่มขึ้นเพียง 1.4-1.5 เท่า หลังการบ่ม 24 ชั่วโมงเมื่อเทียบกับปริมาณโปรตีนที่เวลาเริ่มต้น จากการที่พบปริมาณโปรตีนในหลอดที่มีการเติมสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้นต่างกัน อาจเป็นผลมาจากสาระสำคัญที่มีอยู่ในอบเชย ดังเช่นการศึกษาของ Vazirian และคณะ (2011) ได้มีรายงานเกี่ยวกับปริมาณสารประกอบในน้ำมันอบเชย โดยพบว่ามี cinnamaldehyde และ eugenol เป็นสารประกอบหลัก (ร้อยละ 79.73 และ 2.37 ตามลำดับ) สารประกอบหลักของน้ำมันอบเชยที่สกัดจากเปลือก คือ cinnamaldehyde ร้อยละ 56-68 ในขณะที่น้ำมันอบเชยที่สกัดจากส่วนของใบ จะมี eugenol ร้อยละ 60-77 (Ribeiro-Santos และคณะ, 2017) cinnamaldehyde เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และรา เชื่อว่ากิจกรรมการยับยั้งนี้ เป็นการยับยั้งเอนไซม์ ATPase และการสังเคราะห์ผนังเซลล์ (Julanar และคณะ, 2013 ; Bang และคณะ, 2000) จากการศึกษาของ Xiaomei และคณะ (2004) ได้รายงานว่า

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cinnamaldehyde ได้ทำให้เชื้อราเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา รวมถึงสปอร์ และเส้นใย นอกจากนี้ Wang และคณะ (2012) ได้ศึกษากลไกการต้านเชื้อราของน้ำมันอบเชยในการยับยั้งเชื้อ *Candida* จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope ; SEM) พบว่าน้ำมันอบชยสามารถทำให้ลักษณะของเซลล์ *C. albicans* เปลี่ยนแปลงไป หลังจากบ่มเป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง และพบว่าเกิดลักษณะผิดปกติที่ผนังเซลล์ ออร์แกเนลล์ภายในถูกทำลาย และเซลล์แตกในที่สุด และยังพบว่าหลังจากทรีตด้วยน้ำมันอบเชย 48-72 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission Electron Microscope ; TEM) พบว่าผนังเซลล์ถูกทำลาย ออร์แกเนลล์ภายในถูกทำลาย จากการทดลองนี้พบว่ามีการรั่วโปรตีน หลังจากบ่ม *C. albicans* ที่มีน้ำมันอบเชยและ cinnamaldehyde อาจเป็นเพราะผนังเซลล์และโครงสร้างภายในถูกทำลาย ทำให้มีการรั่วขององค์ประกอบของเซลล์ รวมทั้งโปรตีนภายในเซลล์ออกมาภายนอก

ตารางที่ 4.5 ผลของสารสกัดอบเชย สารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ต่อปริมาณโปรตีนที่รั่วออกจากเซลล์ของ *C. albicans* ใน PBS ที่อุณหภูมิ 30°C

ชั่วโมงที่	ปริมาณโปรตีนที่รั่วออกจากเซลล์ (ไมโครกรัม) ± SD					
	Control	อบเชย			Cinnamaldehyde	
		1 เท่า MIC	4 เท่า MIC	8 เท่า MIC	2 เท่า MIC	4 เท่า MIC
0	677.83 ± 2.31^{dC}	696.17 ± 5.77^{cD}	707.50 ± 2.60^{bE}	728.50 ± 4.33^{aE}	675.67 ± 2.02^{dE}	667.00 ± 7.79^{eE}
2	687.83 ± 4.04^{eAB}	716.50 ± 6.93^{cC}	753.00 ± 1.73^{bD}	763.67 ± 4.62^{aD}	701.00 ± 2.59^{dD}	686.33 ± 6.64^{eD}
4	689.17 ± 5.77^{fAB}	718.33 ± 4.04^{eBC}	765.50 ± 1.73^{bC}	795.17 ± 5.77^{aC}	712.50 ± 2.60^{cC}	719.67 ± 2.31^{cC}
6	664.33 ± 3.17^{eD}	728.83 ± 5.48^{dB}	811.50 ± 0.87^{cB}	829.00 ± 1.73^{aB}	739.33 ± 4.62^{bB}	735.50 ± 5.19^{bcdB}
24	681.83 ± 2.02^{eBC}	775.50 ± 7.79^{cA}	875.00 ± 6.93^{bA}	916.67 ± 5.48^{aA}	775.83 ± 6.35^{cA}	760.00 ± 0.87^{dA}

หมายเหตุ : ความเข้มข้น 1, 4 และ 8 เท่าของค่า MIC ของสารสกัดอบเชยมีความเข้มข้นเท่ากับ 4, 16 และ 24 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ; ความเข้มข้น 2 และ 4 เท่าของค่า MIC ของ Cinnamaldehyde มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.04 และ 0.08 โมลต่อลิตร ตามลำดับ ^{a,b,c} เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนที่รั่วออกจากเซลล์ในแต่ละความเข้มข้น ; ^{A,B,C} เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนที่รั่วออกจากเซลล์ในแต่ละช่วงเวลา ที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับร้อยละ 95 โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

4.6 การยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของน้ำยาบ้วนปากด้วยวิธีการแพร่บนอาหารแข็ง (agar diffusion method)

จากการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นร้อยละ 6, 8 และ 10 ที่ใช้เป็นส่วนผสมในน้ำยาบ้วนปากต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans, E. coli, L. casei, L. plantarum, S. aureus* และ *P. gingivalis* ดังตารางที่ 4.6 พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรแต่ละชนิดที่ใช้ความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นร้อยละ 10 ส่วนมากมีผลทำให้เกิดโซนการยับยั้งเชื้อ (*C. albicans, E. coli, L. casei, L. plantarum, S. aureus* และ *P. gingivalis*) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางกว้างกว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 และร้อยละ 6 สำหรับการยับยั้งเชื้อ *C. albicans* น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารสกัดอบเชยและขิงที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 ให้โซนยับยั้งที่กว้างกว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 6 และ 8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 ให้โซนยับยั้ง 7.00 มิลลิเมตร ซึ่งมากกว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 6 (6.00 มิลลิเมตร) เพียงเล็กน้อยและสารสกัดขิงที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 ทำให้เกิดโซนยับยั้ง (8.33 มิลลิเมตร) ซึ่งกว้างกว่าที่ความเข้มข้นร้อยละ 6 (6.83 มิลลิเมตร)

สำหรับเชื้อ *L. casei* น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารสกัดกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้นร้อยละ 6 สามารถยับยั้งการเจริญของ *L. casei* ได้ โดยทำให้เกิดโซนยับยั้ง (6.50 มิลลิเมตร) ที่แคบกว่าความเข้มข้นร้อยละ 8 และ 10 ($P< 0.05$) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่เท่ากับ 9-10 มิลลิเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดว่านน้ำและอบเชย ก็มีผลยับยั้ง *L. casei* ได้ดี (ดังตารางที่ 4.6) สำหรับเชื้อ *S. aureus* พบว่าสารสกัดว่านน้ำที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 และ 10 เกิดโซนการยับยั้งกว้างที่สุด ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 13.33-16 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดชนิดอื่น ๆ

การศึกษาผลของสารสกัดจากขิงที่เป็นส่วนผสมของน้ำยาบ้วนปาก พบว่าส่วนใหญ่ทำให้เกิดโซนการยับยั้งเชื้อทุกชนิดที่ทดสอบ โดยมีโซนกว้างกว่าโซนการยับยั้งที่เกิดขึ้นเฉพาะการใช้ส่วนผสมพื้นฐานอย่างเดียวซึ่งไม่ได้เติมสารสกัดสมุนไพร ส่วนการใช้สารสกัดสมุนไพรชนิดอื่นที่ทุกระดับความเข้มข้น พบว่าทำให้เกิดโซนการยับยั้งเชื้อ *L. casei, S. aureus* และ *E. coli* ได้กว้างกว่าโซนการยับยั้งโดยส่วนผสมพื้นฐาน

จากผลการทดลองพบว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากข่าเล็กความเข้มข้นร้อยละ10 (โซนการยับยั้ง 8.83 มิลลิเมตร) และสารสกัดอบเชยที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 6-10 (โซนการยับยั้ง 8.67-10.33 มิลลิเมตร) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. casei* ได้ดีกว่าน้ำยาบ้วนปาก Listerine (โซนการยับยั้ง 6.83 มิลลิเมตร) อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเช่นเดียวกันน้ำยาบ้วนปากที่เติมสารสกัดจากข่าเล็กและอบเชยที่ความเข้มข้นร้อยละ 8 และ 10 มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. plantarum* ได้ดีกว่าน้ำยาบ้วนปาก Listerine แต่อย่างไรก็ตามน้ำยาบ้วนปากตรา Listerine ยับยั้งการเจริญของ *C. albicans* ได้ดีกว่าการใช้สารสกัดจากพืชที่ทดสอบที่ทุกระดับความเข้มข้น น้ำยาบ้วนปากทางการค้า (C20) มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทุกชนิดได้ดีกว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีสารสกัดจากสมุนไพรและ Listerine เนื่องจากน้ำยาบ้วนปาก C20 มีส่วนประกอบของ Antibiotic (chlorhexidine gluconate 0.12 %) เป็นองค์ประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะนำสารสกัดจากสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อในช่องปากได้ดีกว่าหรือเทียบเท่ากับน้ำยาบ้วนปากทางการค้า (Listerine) ไปประยุกต์ใช้ในการเป็นส่วนผสมของน้ำยาบ้วนปากทางการค้าเพื่อส่งเสริมการต่อต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในช่องปากได้

จากการพิจารณาค่าความเป็นกรดด่างของน้ำยาบ้วนปากสูตรต่าง ๆ จะเห็นได้ว่าน้ำยาบ้วนปากที่ส่วนผสมของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงมีค่าความเป็นกรดมากที่สุด (pH เท่ากับ 2.08) ในขณะที่น้ำยาบ้วนปากที่ส่วนผสมของสารสกัดจากขิงมีค่าความเป็นด่างสูงที่สุด (pH เท่ากับ 5.43) เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเดียวกันที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ค่าความเป็นกรดด่างจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น โดยสูตรที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดง มีค่าความเป็นกรดสูง เพราะมีส่วนประกอบของกรดไฮบิสคัส (hibiscus acid) โดยที่ดอกกระเจี๊ยบแดงนั้นมีสีแดงเป็นเพราะมีส่วนประกอบของแอนโธไซยาไซยานิน (anthocyanins) ซึ่งเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์

ในการทดลองครั้งนี้ น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของขิงที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 สามารถยับยั้ง *C. albicans* ได้ดีกว่าสารสกัดจากสมุนไพรชนิดอื่น Vonasorn และคณะ (2013) ก็ได้ทดลองนำสารสกัดจากพืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกับขิง (Zingiberaceae) คือ *Bosenbergia pandurata* (กระชาย) มาเป็นส่วนผสมในน้ำยาบ้วนปาก พบว่า น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมจากเหง้าสดของกระชาย สามารถยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* ได้ เช่นเดียวกันกับ Waty และคณะ (2018) ที่ได้ทำการทดลองนำเปลือกของ *Cinnamomum burmannii* (อบเชยชวา) มาเป็นส่วนผสมในน้ำยาบ้วนปากเพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ ซึ่งส่วนใหญ่คือสายพันธุ์ *Streptococcus* sp. พบว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของอบเชยชวา ที่ pH เท่ากับ 6.97 สามารถลดจำนวนเชื้อแบคทีเรียในปากได้ นอกจากนี้ ผลการทดลองนี้ได้ยืนยันว่าสารสกัดจากสมุนไพรส่วนใหญ่ที่ใช้เป็นส่วนผสมในน้ำยาบ้วนปากสามารถยับยั้ง *L. casei* และ *L. plantarum* ได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Hassan และคณะ (2018) ที่ได้ทำการทดลองใช้น้ำยาบ้วนปากที่ผลิตขึ้น ซึ่งมีส่วนผสมของสารสกัดจากใบชาเขียว (ร้อยละ 0.5) หรือสารสกัดจากใบฝรั่ง (ร้อยละ 0.5) พบว่า น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากใบชาเขียวและใบฝรั่ง ช่วยลดจำนวน *Lactobacillus* ในน้ำลายของบุคคลที่ทำการทดลองได้ดี หลังจากการใช้น้ำยานี้ในการบ้วนปาก

ดอกกระเจี๊ยบแดงนิยมนำมาใช้ทำเครื่องดื่ม ชา รวมทั้งแยม เยลลี่ ของหวานชนิดต่าง ๆ องค์ประกอบทางโภชนาการของดอกกระเจี๊ยบแดงสดผันแปรตามพันธุ์ สิ่งแวดล้อม และสภาวะในการเก็บเกี่ยว จากการศึกษาเร็วนี้ ๆ ได้รายงานว่าดอกกระเจี๊ยบแดงสด ประกอบด้วยโปรตีน (1.9 กรัมต่อ 100 กรัม) ไขมัน (0.1 กรัมต่อ 100 กรัม) คาร์โบไฮเดรต (12.3 กรัมต่อ 100 กรัม) และเส้นใย (2.3 กรัมต่อ 100 กรัม) นอกจากนี้เต็มไปด้วยวิตามินซี (14 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) เบต้าแคโรทีน (300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม) แคลเซียม (1.72 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) และเหล็ก (57 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) (Ismail และ Nazri, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลของน้ำยาบ้วนปากที่เติมสารสกัดสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในช่องปาก

สารสกัด	pH	สีของน้ำยาบ้วนปาก	เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง (มิลลิเมตร) ± S.D					
			C. albicans	*E. coli*	*L. casei*	*L. plantarum*	*S. aureus*	*P. gingivalis*
ว่านน้ำ								
6%	3.40 ± 0.01	เหลืองอมน้ำตาลอ่อน	6.00 ± 0.00^{g}	10.67 ± 0.58^{bcd}	8.67 ± 0.58^{bc}	6.83 ± 0.58^{d}	9.67 ± 1.53^{c}	6.00 ± 0.00
8%	3.47 ± 0.01	เหลืองอมน้ำตาล	6.00 ± 0.00^{g}	11.33 ± 1.15^{bc}	9.83 ± 0.29^{ab}	7.33 ± 0.29^{bcd}	13.33 ± 2.52^{b}	6.00 ± 0.00
10%	3.50 ± 0.01	เหลืองอมน้ำตาลเข้ม	6.67 ± 0.05^{efg}	12.67 ± 1.15^{ab}	10.00 ± 0.50^{ab}	7.67 ± 0.58^{bcd}	16.00 ± 1.00^{a}	6.00 ± 0.00
ข่าเล็ก								
6%	4.51 ± 0.01	เหลืองอมน้ำตาลอ่อน	6.50 ± 0.50^{fg}	10.00 ± 1.73^{cde}	7.67 ± 0.58^{cd}	7.83 ± 1.04^{bcd}	7.00 ± 0.87^{efg}	6.00 ± 0.00
8%	4.51 ± 0.01	เหลืองอมน้ำตาล	7.00 ± 1.00^{def}	10.67 ± 2.31^{bcd}	8.00 ± 0.50^{cd}	8.17 ± 0.76^{bcd}	7.67 ± 1.04^{defg}	6.00 ± 0.00
10%	4.53 ± 0.01	เหลืองอมน้ำตาลเข้ม	7.67 ± 0.58^{cd}	14.33 ± 1.15^{a}	8.83 ± 0.29^{bc}	8.50 ± 0.50^{bcd}	8.50 ± 0.50^{cdef}	6.00 ± 0.00
อบเชย								
6%	3.77 ± 0.01	น้ำตาลอมเหลืองอ่อน	6.00 ± 0.00^{g}	7.67 ± 0.58^{ef}	8.67 ± 0.58^{bc}	7.67± 0.76^{bcd}	8.67 ± 0.28^{cde}	6.00 ± 0.00
8%	3.91 ± 0.01	น้ำตาลอมเหลือง	6.33 ± 0.29^{fg}	8.67 ± 0.58^{def}	8.83 ± 0.76^{bc}	8.17 ± 0.76^{bcd}	9.50 ± 0.50^{c}	6.00 ± 0.00
10%	3.89 ± 0.01	น้ำตาลอมเหลืองเข้ม	7.00 ± 0.00^{def}	9.67 ± 0.58^{cde}	10.33 ± 0.58^{ab}	8.83 ± 2.08^{b}	9.83 ± 0.58^{c}	6.00 ± 0.00
กระเจี๊ยบแดง								
6%	2.13 ± 0.01	แดง	6.00 ± 0.00^{g}	7.17 ± 0.29^{g}	6.50 ± 0.50^{d}	7.00 ± 0.50^{cd}	6.83 ± 0.29^{fg}	6.00 ± 0.00
8%	2.10 ± 0.00	แดงเข้ม	6.17 ± 0.29^{fg}	8.33 ± 0.58^{def}	9.00 ± 2.00^{abc}	7.83 ± 0.76^{bcd}	7.17 ± 0.58^{efg}	6.00 ± 0.00
10%	2.08 ± 0.01	แดงเข้มมาก	6.83 ± 0.29^{efg}	8.67 ± 0.76^{def}	10.00 ± 2.00^{ab}	7.83 ± 0.29^{bcd}	7.67 ± 0.58d^{efg}	6.00 ± 0.00
ขิง								
6%	5.37 ± 0.01	เหลืองอมน้ำตาลอ่อน	6.83 ± 0.29^{efg}	10.00 ± 1.73^{cde}	8.00 ± 2.00^{cd}	7.83 ± 0.76^{bcd}	8.67 ± 0.58^{cde}	6.00 ± 0.00
8%	5.40 ± 0.01	เหลืองอมน้ำตาล	7.50 ± 0.50^{de}	10.67 ± 1.15^{bcd}	8.83 ± 0.00^{bc}	8.17 ± 1.26^{bcd}	9.33 ± 0.76^{cd}	6.00 ± 0.00
10%	5.43 ± 0.01	เหลืองอมน้ำตาลเข้ม	8.33 ± 0.58^{c}	14.00 ± 2.65^{a}	9.33 ± 0.76^{abc}	8.67 ± 0.76^{bc}	10.00 ± 0.50^{c}	6.00 ± 0.00
base*	5.35 ± 0.02	เหลืองสด	6.67 ± 0.29^{efg}	8.33 ± 0.28^{def}	6.83 ± 0.29^{d}	8.00 ± 1.00^{bcd}	6.50 ± 0.00^{g}	6.00 ± 0.00
C20	5.46 ± 0.03	ชมพูอ่อน	11.33 ± 0.58^{a}	11.67 ± 0.58^{bc}	10.67 ± 1.53^{a}	11.67 ± 1.04^{a}	15.00 ± 1.00^{a}	6.00 ± 0.00
Listerine	4.13 ± 0.03	เหลืองอ่อน	9.5 ± 0.50^{b}	8.17 ± 0.29^{ef}	6.83 ± 0.29^{d}	8.33 ± 0.58^{bcd}	7.17 ± 0.76^{efg}	6.00 ± 0.00

หมายเหตุ : ^{a,b,c} เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้งในแต่ละความเข้มข้นของน้ำยาบ้วนปากที่เติมสารสกัดสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดต่อเชื้อ ที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับร้อยละ 95 โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test : base* คือส่วนประกอบพื้นฐานซึ่งประกอบด้วย tween 20, tartazine, menthol, salt น้ำมันยูคาลิปตัส สารละลาย sorbitol และ ethanol ; Listerine สูตรดั้งเดิม

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาด้านพฤกษเคมีทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี Phosphomolybdenum assay และหากิจกรรมการยับยั้งอนุมูลไนตริกออกไซด์ด้วยวิธี Nitric oxide radical scavenging efficacy ผลปรากฏว่าสารสกัดจากอบเชยและว่านน้ำ มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่สูง (1,152 และ 1,030 มิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ) และสารสกัดกระเจี๊ยบแดง มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระได้ปานกลาง (824.05 มิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมของสารสกัด) ส่วนสมุนไพรที่มีกิจกรรมการยับยั้งอนุมูลไนตริกออกไซด์ได้สูง คือ อบเชยและข่าเล็ก (ร้อยละ 39.64 และ 32.69) ทั้งนี้อบเชยยังมีปริมาณสารแทนนินที่มากที่สุด (682.87 ไมโครกรัมกรดแทนนิกต่อมิลลิกรัมของตัวอย่าง) รองลงมา คือ ขิงและข่าเล็ก (496.30 และ 467.13 ไมโครกรัมกรดแทนนิกต่อมิลลิกรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ) นอกจากนั้นอบเชยและขิงยังมีปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในปริมาณมาก ซึ่งปริมาณสารฟีนอลิกเท่ากับ 339.30 และ 201.75 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ และมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์เท่ากับ 255.30 และ 94.10 มิลลิกรัมคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ รองลงมาคือ ข่าเล็ก ซึ่งมีปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เท่ากับ 150.88 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัม และ 94.10 มิลลิกรัมคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ทั้งหมด พบว่ากระเจี๊ยบแดงและว่านน้ำมีปริมาณแอลคาลอยด์ที่สูง ซึ่งมีค่าเท่ากับ 37.36 ไมโครกรัมสมมูลของอะโทรพีนต่อไมโครกรัมสารสกัด และ 23.54 ไมโครกรัมสมมูลของอะโทรพีนต่อไมโครกรัมสารสกัด ตามลำดับ

สำหรับการศึกษาสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดสมุนไพรทั้ง 5 ชนิด ด้วยการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยวิธี Agar dilution หากิจกรรมการต้านฟิล์มชีวภาพของเชื้อ *C. albicans* (Anti-biofilm) วิเคราะห์ผลความเข้มข้นของสารสกัดอบเชยและ cinnamaldehyde ต่อระยะเวลาในการทำลายเชื้อ *C. albicans* (time-kill assay) วิเคราะห์การรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans* ทดสอบน้ำยาบ้วนปากที่เติมสารสกัดจากสมุนไพรเพื่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในช่องปาก ด้วยวิธี agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

diffusion method ผลปรากฏว่าอบเชย และว่านน้ำสามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ได้ดีที่สุด โดยได้ค่า MIC เท่ากับ 4 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อบเชย กระเจี๊ยบแดงและข่าเล็ก สามารถยับยั้งเชื้อ *L. casei* ได้ดี มีค่า MIC เท่ากับ 4, 10 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับเชื้อ *S. aureus* ถูกยับยั้งได้ดีโดยสารสกัดจากขิง ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดว่านน้ำที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งเชื้อ *L. plantarum* และเชื้อ *E. coli* ถูกยับยั้งได้ดีจากกระเจี๊ยบแดงที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการทดลองพบว่าสามารถยับยั้งการสร้างฟิล์มชีวภาพของเชื้อ *C. albicans* ได้ถึงร้อยละ 99.68 จากการใช้สารสกัดจากข่าเล็กที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.18 เท่าของ MIC ในอาหาร yeast extract peptone dextrose นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ time kill เราพบว่าเชื้อ *C. albicans* ลดลงอย่างเห็นได้ชัดในชั่วโมงที่ 2 และลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 24 จากการเลี้ยงใน phosphate buffered saline โดยใช้สารสกัดอบเชยและ cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 8 และ 4 เท่าของค่า MIC ตามลำดับ (ลดลง 2.68 และ 2.71 log cycle ตามลำดับ) และยังพบการรั่วของโปรตีนออกจากเซลล์ของ *C. albicans* ในปริมาณมากในชั่วโมงที่ 24 ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึง 1.26 เท่าของปริมาณโปรตีนเริ่มต้น โดยการใช้อบเชยที่ความเข้มข้น 8 เท่าของค่า MIC ส่วนผลทดสอบการยับยั้งเชื้อจากน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสมุนไพรในปริมาณ 6, 8 และ 10% พบว่าน้ำยาบ้วนปากที่มีสารสกัดขิง และข่าเล็ก ความเข้มข้นร้อยละ 10 สามารถยับยั้งเชื้อ *C. albians* ได้ดี (8.33 และ 7.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ) น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของข่าเล็ก 10% สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุด (14.33 มิลลิเมตร) น้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของอบเชย 10% สามารถยับยั้งเชื้อ *L. casei* และ *L. plantarum* ได้ดีที่สุด (10.33 และ 8.83 มิลลิเมตร ตามลำดับ) เชื้อ *S. aureus* ถูกยับยั้งได้ดีจากน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของว่านน้ำ 10% (16.00 มิลลิเมตร) และสำหรับเชื้อ *P. gingivalis* ไม่ถูกยับยั้งจากน้ำยาบ้วนปากที่ผสมสารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดที่ความเข้มข้น 10%

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองนี้พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรหลายชนิด เช่น อบเชยและว่านน้ำ มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระและออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในช่องปากได้ดี ซึ่งคาดว่าสมุนไพรเหล่านี้จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ผสมในผลิตภัณฑ์น้ำยาบ้วนปากเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพทางด้านการยับยั้งเชื้อและการต้านอนุมูลอิสระที่ดีมากยิ่งขึ้น ทำให้มีการต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

โกสินทร์ วิระษร. กุลธิดา กล้ารอด. ประณิธิ หงส์ประภาส. และ พัชรี บุญศิริ. (2557). ภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุลและสารต้านออกซิเดชั่นกับโรคมะเร็ง. *ศรีนครินทร์เวชศาสตร์*, 29(2), 207-219.

คมสัน สัจจะสถาพรและดวงดาว ขันบุตรศรี. (2561). การจำแนกชนิดของแคนดิดา อัลบิแคนส์ที่เพาะแยกจากสิ่งส่งตรวจทางการสัตวแพทย์ด้วยวิธีทั่วไป. *วารสารวิทยาศาสตร์สุขภาพสัตว์และเทคโนโลยี, 2,* 31-37.

คีตยา ฮูเวอร์. (2556). ฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Candida albicans* ของสารสกัดจากข่าเล็ก. *ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีวเวชศาสตร์) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี*

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

ศรินทิพย์ อังศุโภไคย. (2550). การแสดงออกของพาร์-2 ในเซลล์เอ็นยึดปริทันต์ของมนุษย์เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยเชื้อก่อโรคปริทันต์. *ปริญญานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ปริทันตวิทยา) มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ*

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 21,* 275-286.

ประสงค์ หลำสะอาด. (2541). ชีววิทยา ม. 4 เล่ม 1. *เคมีเป็นพื้นฐานของสิ่งมีชีวิต.* (หน้า 85-97). กรุงเทพ. บริษัท สำนักพิมพ์ พ.ศ. พัฒนา จำกัด.

วัชราภรณ์ ประภาสะโนบล และพิชิต สุดตา. (2560). ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และแอลคาลอยด์ของสารสกัดลำต้นนกกระลิงแดง. *วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 45,* 531-542.

วาสนา เนียมแสวง. (2561). พฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชที่มีสรรพคุณทางยา. *วรสารวิทยาศาสตร์แห่งมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี, 14,* 57-65.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัจฉรา เพิ่ม. (2559). การเพิ่มการรอดชีวิตและกิจกรรมเมทาบอลิซึมของเชื้อ *Lactobacillus plantarum* TISTR1465 โดยวิธีการห่อหุ้มร่วมกับ ว่านหอมแดง. *คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา*

Ababutain, I. M. (2011). Antimicrobial activity of ethanolic extracts from some medicinal plant. *Journal of Basic and Applied Sciences, 5(11),* 678-683.

Abubakar, I. B., Malami, I., & Yahaya, Y. (2018). A review on the ethnomedicinal uses, phytochemistry and pharmacology of *Alpinia officinarum* Hance. *Journal of Ethnopharmacol*, *224*, 45-62.

Alasmary, F. A., Assirey, E. A., & El-Meligy, R. M. (2019). Analysis of *Alpina officinarum* Hance, chemically and biologically. *Journal of Saudi Pharmaceutical Journal, 27,* 1107-1112.

Allaker, R. P., & Douglas, C. W. (2009). Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related diseases. *International Journal of Antimicrobial Agents, 33*, 8-13.

Aly, M. M., & Gumgumjee, M. N. (2011). Antimicrobial efficacy of *Rheum palmatum*, *Curcuma longa* and *Alpinia officinarum* extracts against some pathogenic microorganisms. *Journal of Biotechnology, 10(56),* 12056-12063.

Avci, A. G., Avci, E., Cilak, O, G., & Cevher, S, C. (2020). Antimicrobial and antioxidant activities of *Zingiber officinale* (ginger) and *Alpinia officinarum* (galangal). *Journal of Science and Engineering, 7(1),* 45-49.

Baipai, V. K., Baek, K. H., & Kang, S. C. (2017). Antioxidant and free radical scavenging activities of taxoquinone, a diterpenoid isolated from *Metasequoia glyptostroboids. Journal of South Afarican of Botany, 111*, 93-98.

Band, K. H., Lee, D. W., Park, H. M. & Rhee, Y. H. (2000). Inhibition of fungal cell wall synthesizing enzymes by trans-cinnamaldehyde. *Journal of Bioscience Biotechnology Biochemical, 64(5),* 1061-1063.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Banu, F. S., Rubini, D., Shanmugavelan, P., Murugan, R., Gowrishankar, S., Pandian, K. S. & Nithyanand, P. (2018). Effect of patchouli and cinnamon essential oils on biofilms and hyphae formation by *Candida* species. *Journal de Mycologie, 28,* 332-339.

Barbieri, Ramona., Coppo, Erika., & Marchese, Anna. (2017). Phytochemicals for human disease: an update on plant-derived compounds antibacterial activity. *Journal of Microbiological Research, 196*, 44-68.

Basri, Aida Maryam., Taha, Hussein., & Ahmad, Norhayati. (2017). A review on the pharmacological activities and phytochemicals of *Alpinia officinarum* (galangal) extracts derived from bioassay-guided fractionation and isolation. *Journal of Pharmacognosy Reviews, 11*, 43-56.

Bhagavathy, S., & Latha, S. (2015). Anticarcinogenic effects of *Cinnamomum verum* on hl60 leukemia cell lines. *Journal of Pharmacy Research, 12*, 650-661.

Blasa, M., Gennari, L., & Angelino, D. (2010). Fruit and vegetable antioxidants in health. In R. R Watson, & V. R. Preedy (Eds.), *Bioactive food in promoting health: fruit and vegetable* (pp. 37-58). New York, USA: Elsevier Inc.

Bowen, W. H., Burne, R. A., & Wu, H. (2018). Oral biofilms: pathogens, matrix, and polymicrobial interactions in microenvironments. *Journal of Trends Microbiol, 26,* 229–242.

Brielmann, H. L., Setzer, W. N., & Kaufman, P. B. (2006). Phytochemical: the chemical compound of plant. In L. J. Cseke (Eds), Natural product from plants (pp. 2-42). Boca Raton: Taylor & Fracis Group, LLC.

Brunke, S. & Hube, B. (2013). Two unlike cousins *Candida albicans* and *C. glabrata* infection strategie. *Journal of Cell Microbiology, 15(5),* 701-708.

Bui, F. Q., Almeida, C., & Huynh, B. (2017). Association between periodontal pathogens and systemic disease. *Journal of Biomedical Journal*, *42*, 27-35.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cai, L., Wei, G. X., van der Bijl, P., & Wu, C. D. (2000). Namibian chewing stick, *Diospyros lycioides*, contains antibacterial compounds against oral pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48*, 909-914.

Chang, J. S., Wang, K. C., Yeh, C. F., Shieh, D. E. & Chiang, L. C. (2013). Fresh ginger (*Zingiber officinale*) has anti-viral activity against human respiratory syncytial virus in human respiratory tract cell lines. *Journal of Ethnopharmacology, 145(9),* 146-151.

Chakotiya, A. S., Tanwar, A., Narula, A. & Sharma, R. K. (2017). *Zingiber officinale*: Its antibacterial activity on *Pseudomonas aeruginosa* and mode of action evaluated by flow cytometry. *Journal of Microbial Pathogenesis, 107,* 254-260.

Chinsembu, K. C. (2016). Plants and other natural products used in the management of oral infections and improvement of oral health. *Acta Tropica, 154*, 6-18.

Carocho, M., Barreiro, M. F., & Morales, P. (2014). Adding molecules to food, pros and cons: a review on synthetic and natural food additives. *Journal of Comprehensive reviews in food science and food safety, 13*, 377-399.

Calderone, A. R. & Fonzi, A. W. (2001). Virulence factors of *Candida albicans. trend in Microbiology, 9(7),* 327-335.

Clifford, M. N., Johnston, K. L., & Knight, K. L. (2003). Hierarchical scheme for lc-msn identification of chlorogenic acids. *Journal of Agricultural. Food Chemistry, 51*, 2900-2911.

Cushnie, T., Hamilton, V., Chapman, D., Taylor, P. & Lamb, A. (2007). Aggregation of *Staphylococcus aureus* following treatment with the antibacterial flavonol galangin. *Journal of Applied Microbiology, 103,* 1562-1567.

Devi S, A. & Ganjewala, D. (2009). Antimicrobial activity of *Acorus calamus* (L.) rhizome and leaf extract. *Acta Biologica Szegediensis, 53(1)*, 45-49.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dzidic, M., Collado, M. C., & Abrahamsson, T. (2018). Oral microbiome development during childhood: an ecological succession influenced by postnatal factors and associated with tooth decay. *Journal of The ISME, 12,* 2292–2306.

Ellepola, A. N., & Samaranayake, L. P. (1998). The effect of limited exposure to antifungal agents on the germ tube formation of oral *Candida albicans*. *Journal of oral pathology & medicine, 27,* 213-219.

Endo, H. E., Cortez, G. A. D., Nakamura, U. T., Nakamura, V. C. & FILHO, D. P. B. (2010). Potent antifungal activity of extracts and pure compound isolate from pomegranate peels and synergism with fluconazole against *Candida albicans*. *Research in Microbiology, 161,* 534-540.

Garcia, A. J., Ros, G., Vidal, G. L., Periago, J. (2006). Acute intake of phenolic-rich juice improves antioxidant status in healthy subjects. *Journal of Nutrition, 26,* 330-339.

Ghanea, S. G., Attara, U. A., Yadavb, P. B., & Lekhakv, M. M., (2018). Antioxidant, anti-diabetic, acetylcholinesterase inhibitory potential and estimation of alkaloids (lycorine galantamine) from crinum species: an important source of anticancer and anti-alzheimer drug. *Journal of Industrial Crops and Product, 125,* 168-177.

Gulati, M., & Nobile, C. J. (2016). *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. Journal of *Microbes and Infection, 18,* 310-321.

Hajishengallis, G. (2015). Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Journal of Author manuscript, 15,* 30–44.

Hakimeh, O., Shahryar, S., & Majid, B. (2016). Antioxidant activities, polyphenolic composition and their correlation analysis on *Hibiscus sabdarifa* L. (sabdariffa) calices. *Journal of Herbal Drugs, 7,* 89-96.

Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W. & Stoodley, P. (2004). Bacteria biofilm: from the natural environment to infectious diseases, *Nature Reviews Microbiology, 2,* 95-108

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hasan, S., Danishuddin, M. & Khan, A. U. (2015). Inhibitory effect of *Zingiber officinale* towards *Streptococcus mutans* virulence and caries development: *in vitro* and *in vivo* studies. *Journal of BMC Microbiology, 15(1), 1-14.*

Hassan, S. A., Metwalli, N. E., Ibrahim, G. G. & Aly, M. A. (2018). Comparison of the efficacy of mouth rinses camellia sinensis extract, guava leaves extract and sodium fluoride solution, on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* in children (an *in vivo* study). *Journal of Future Dental, xxx(xxxx),* 1-5.

Hasona, Nabil A., & Ahmed, Mohammed Q. (2017). Antioxidant and ameliorative effects of *Zingiber officinale* against aluminum chloride toxicity. *Journal of Chinese Medicine, 1,* 124-131.

Heo, M. Y., Sohn, S. J., & Au. W. W. (2001). Anti-genotoxicity of galangin as a cancer chemopreventive agant candidate. Mutat. Res. 488, 135-150.

Hoover, K. (2013). Antifungal activity of *Alpinia officinarum* Hance against *Candida albicans. Science in Biomedical Sciences Suranaree University of Technology.*

John, N. R., Gala, V. C., & Sawant, C. S. (2013). Inhibitory effects of plant extracts on multi-species dental biofilm formation in-vitro. *International Journal of Pharma and Bio Sciences, 4(2),* 487-495.

Julnar, U., Sawsan, K., Pascale, B., Yolla, B. M. & Hania N. C. (2003). Comparative study on the effect of cinnamon and clove extracts and their main components on different of ATPase. *Journal of Human and Experimental Toxicology, 22(3),* 35-62.

Kallel, I., Hadrich, B., & Gargouri, B. (2019). Optimization of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) essential oil extraction: evaluation of antioxidant and antiproliferative effects. *Journal of Hindawi, 11,* 1-9.

Kathirvel, A., & Sujatha, V. (2012). In vitro assessment of antioxidant and antibacterial properties of *Terminalia chebula* Retz. leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2,* S788-S795.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kathirvel, A., & Sujatha, V. (2016). Phytochemical studies, antioxidant activities and identification of active compounds using GC–MS of *Dryopteris cochleate* leaves. *Arabian Journal of Chemistry, 9,* S1435-S1442.

Khan, M. S. & Ahmad, I. (2012). Antibiofilm activity of certain phytocompounds and their synergy with fluconazole against *Candida albicans* biofilm. *Journal of Antimicrobiology, 67,* 618-621.

Kim, H. S. (2005). Do not put too much value on conventional medicines. *Journal of Ethnopharmacology, 100,* 37-39.

Kim, Y. G., Lee, J. H., Kim, S. I., Baek, K. H. & Lee, J. T. (2015). Cinnamon bark oil and its components inhibit biofilmformation and toxin production. *International Journal of Food Microbiology, 195,* 30-39.

Klepser, M. E., Ernst, E. J., & Ernst, M. E. (1998). Influence of test conditions on antifungal time-kill curve results: proposal for standardized methods. *Journal of Antimicrobial Agent and Chemotherapy, 42,* 1207-1212.

Kose, L. P., Gulgin, I., & Goren, A. C. (2015). LC–MS/MS analysis, antioxidant and anticholinergic properties of galanga (*Alpinia officinarum* Hance) rhizomes. *Journal of Industrial crops and products, 74,* 712-721.

Kumar, N., & Goelb, N. (2019. Phenolic acids: natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Journal of Biotechnology Reports, 24,* 2-7.

Kumar, S. N., Aravind, S. R., Sreelekha, T. T., Jacob, J. & Kumar, B. S. D. (2015). Asarones from *Acorus calamus* in combination with azoles and amphotericin b: a novel synergistic combination to compete against human pathogenic *Candida* species *in vitro. Journal of Biochem Biotechnology, 175,* 3683–3695.

Lamfon, H., Porter, S. R., & McCullough, M. (2003). Formation of *Candida Albicans* biofilms on non-shedding oral surfaces. *Journal of* Eur J Oral Sci, *111,* 465-71.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lan-ciotti, R., Gianotti, A., Patngnani, N., Belleti, N., Guerzoni, M. F. & Gardini, F. (2004). Use of natural aroma compounds to improve shelf-life of minimally processed fruits. *Trends in Food Science & Technology, 15,* 201-208.

Liu, K., Tsao, S., & Yin, M. (2005). In vitro antibacterial activity of *roselle calyx* and protocatechuic acid. *Phytotherapy Research*, *19,* 942-945.

Lobo, P. L. D., Carvalho, C. B. M., Fonseca, S. G. C., Castro, R. S. L., Monteiro, A. J., Fonteles, M. C., & Fonteles, C. S. R. (2008). Sodium fluoride and chlorhexidine effect in the inhibition of *mutans streptococci* in children with dental caries: a randomized, double-blind clinical trial. *Journal of Oral Microbiology and Immunology, 23(6),* 486-491.

Locke, J. B., Almaguer, A. L., & Donatelli, J. L. (2018). Time-kill kinetics of rezafungin (cd101) in vagina-simulative medium for fluconazole-susceptible and fluconazole-resistant *Candida albicans* and non-*albicans Candida* species. *Journal of Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology, 1,* 1-10.

Lu, M., Xuan, S., & Wang, Z. (2019). Oral microbiota: a new view of body health. *Journal of Food Science and Human Wellness, 8,* 8-15.

Mamta, S., & Jyoti, S. (2012). Phytochemical screening of *Acorus calamus* and *Lantana camara*. *Journal of Pharmacy. 3*, 324-326

Marjorie, C. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Journal of Clinical Microbiology,* 12, 564-582.

Martins, N., Barros, L., Henriques, M. & Silva, S. (2015). Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida* species. *Journal of Industrail Crops and Product, 74,* 648-670.

McGaw, L., Jäcker, A., & Staden, J. V. (2001). Isolation of ß-asarone, an antibacterial and anthelmintic compound, from *Acorus calamus* in south africa. *Journal of Botany, 68*, 31-35.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Moreti, D. L. C., Leandro, L. F., & Moraes, T. da S. (2017). *Mikania glomerata* Sprengel extract and its major compound ent-kaurenoic acid display activity against bacteria present in endodontic infections. *Journal of Anearobe, 47*, 201-208.

Muthulakshmi, T., Saleh, A. M., Kumari, N. V., & Priya, K. M. (2015). Screening of phytochemicals and *in vitro* antioxidant activity of *Acorus Calamus*. *Journal of Drug Development & Research, 7(1)*, 44-51.

Mazimba, O., Wale, K., & Kwape, T. E. (2015). *Cinnamomum verum*: ethylacetate and methanol extracts antioxidant and antimicrobial activity. *Journal of medicinal plants studies. 3,* 28-32.

Nakamura, C. V., Ishida, K., Faccin, L. C., Filho, B. P., Cortez, D. A. & Rozental, S. (2004). In vitro activity of essential oil from *Ocimum gratissimum* L. against four *Candida* species. *Researcg in Microbiology, 155(5),* 79-86.

Nanda, B. L., G, Sayeeda Nigar Sultana., & Radhakrishnan, Thulasi T. (2014). Determination of phytochemicals and antioxidant activity of *Acorus calamus* rhizome. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics, 4*, 117-121.

Neha, k., Haider, M. R., & Pathak, A. (2019). Medicinal prospects of antioxidants: a review. *Journal of Medicinal Chemistry, 178*, 687-704.

Nobile, C. J. & Johnson, A. D. (2015). *Candida albicans* biofilms and human disease. *Nature Reviews Microbiology, 69,* 71-92.

Nostro, A., Scaffaro, R., D'Arrigo, M., Botta, L., Filocamo, A., Marino, A. & Bisignano, G. (2012). Study on carvacrol and cinnamaldehyde polymeric films: mechanical properties, release kinetics and antibacterial and antibiofilm activities. *Journal of Applied Microbiology Biotechnology, 96,* 1029-1038.

Nuryastutia, T., Setiawatib, S., Ngatidjanc, N., Mustofac, M., Juminad, J., Fitriastutie, D. & Mardjand, M.I.D. (2018). Antibiofilm activity of (1)-n-2methoxybenzyl-1,10-phenanthrolinium bromide against *Candida albicans. Journal de Mycologie Medicale, 28,* 367-373.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Okereke, CN., Iroka, FC., & Chukwuma, MO. (2015). Phytochemical analysis and medicinal uses of *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Herbal Medicine*, *6*, 16-19.

Ooi, S. M. L., Li, Y., Kam, S. L., Wang, H., Wong, T. L. E. & Ooi, E. C. V. (2006). Antimicrobial activities of cinnamon oil and cinnamaldehyde from the chinese medicinal herb *Cinnamomum cassia* Blume. *The American Journal of Chinese Medicine*, *34(3),* 511–522.

Park, K. M., You, J. S., Lee, H. Y., Baek, N. I., & Hwang, J. K. (2003). Kuwanon g: an antibacterial agent from the root bark of *Morus alba* against oral pathogens. *Journal of Ethnopharmacology, 84*, 181-185.

Paliwal, R., Madungurum, M. A., & Dahiru, N. (2018). Phytochemical analysis, physiochemical activity and antibacterial effects of *Cinnamon zeylanicum* (dalchini) extracts. *Journal of Engineering Sciences & Research Technology, 7(4),* 162-170.

Phongpaichit, S., Pujenjob, N., Rukachaisirikul, V. & Ongsakul, M. (2005). Antimicrobial activities of the crude methanol extract of *Acorus calamus* Linn. *Songklanakarin Journal of Science and Technology, 27,* 517-523.

Pires, R. H., Montanari, L. B., Martins, H. G. C., Zaia, E. J., Almeida, M. F. A., Matsumoto, M. T., Jose, M. & Giannini, M. (2011). Anticandidal efficacy of cinnamon oil against planktonic and biofilm cultures of *Candida parapsilosis* and *Candida orthopsilosis. Journal of Mycopathologia, 172,* 453–464.

Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. (2000) . Antioxidant in food. (1st ed.) Cambridge: Woodhead publishing limited, (Chapter 2).

Pozzati, P., Loreta, E. S., Mario, N. D. A., Rossato, L., Santurio, J. M. & Alves, S. H. (2010). Activities of essential oils in the inhibition of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* germ tube formation. *Journal de Mycologie, 20,* 185-189.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Prabhakaran, D., Rajeshkanna, A., & Senthamilselvi, M. M. (2018). *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory of the flower extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. *Journal of Phamacy, 9,* 11.

Prieto, P., Pineda, M. & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin e. *Journal of Analytical Biochemistry,* 269, 337-341.

Rahamoz-Haghighio, S., Asadi, H. M., Riahi-Madvar, A., & Baghizadeh, A. (2014). Antibacterial effect of *Acorus calamus* extractions against gram positive and negative bacteria. *Journal of Ethno-Pharmaceutical Products, 2014,* 1-7.

Rajput, S. B., & Karuppayil, S. M. (2013). Asarone, an active principle of *Acorus calamus* rhizome, inhibits morphogenesis, biofilm formation and ergosterol biosynthesis in *Candida albicans*. *Journal of Phytomedicine, 20,* 139-142.

Rao, P. V., & Gan., S. (2014). Cinnamon: a multifaceted medicinal plant. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 1,* 1-12.

Rocha, I. D. C., Bonnlaender, B., & Sievers, H. (2014) . *Hibiscus sabdariffa* L. a phytochemical and pharmacological review. *Journal of Food Chemistry, 165,* 424-443.

Sasidhara, D. & Menon, A. N. (2010). Comparative chemical composition and antimicrobial activity fresh & dry ginger oils (*Zingiber officinale* Roscoe). *Journal of Current Pharmaceutical Research, 2(4),* 40-43.

Schmiege, D., Evers, M., & Kistemann, T. (2020). What drives antibiotic use in the community? a systematic review of determinants in the human outpatient sector. *Journal of Hygieneand Environmental Health, 226,* 1-11.

Semwal, R. B., Semwal, D. K., Combrinck, S., & Viljoen A. M. (2015). Gingerols and shogaols: important nutraceutical principles from ginger. *Phytochemistry, 117,* 554-568.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology, 299,* 152-178.

Sharma, R., Hebbal, M., Ankola, A. V., Murugaboopathy, V., & Shetty, J. S. (2014). Effect of two herbal mouthwashes on gingival health of school children. Journal of Traditional and complementary medicine, *4(4),* 272-278.

Shamsa, F., Monsef, H., Ghamooshi, R., & Verdian-rizi, M. (2008). Spectrophotometric determination of total alkaloids in some iranian medicinal plants. *Journal of Pharmaceutical Science, 32,* 17-20.

Subha, T. S. & Gnanamani, A. (2008). *Candida* biofilm perfusion using active fractions of *Acorus calamus*. *Journal of Animal & Plant Sciences, 4(2),* 363-371

Subathra, K., & Poonguzhali, T. V. (2012). In vitro studies on antioxidant and free radical scavenging activities of aqueous extract of *Acorus calamus* L. *Journal of PG and Research Department of Botany. 1*, 169-173.

Sudan, R., Bhagat, M., & Gupta, S. (2013). Comparative analysis of cytotoxic and antioxidant potential of edible *Cinnamomum verum* (bark) and *Cinnamomum tamala* (indian bay leaf). *Journal of Free Radicals and Antioxidants. 3*, 570-573.

Sulistyani, H., Fujita, M., Miyakawa, H. & Nakazawa, F. (2016). Effect of roselle calyx extract on *in vitro* viability and biofilm formation ability of oral pathogenic bacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 9(2),* 119-124.

Srividya, A. R., Dhanabal, S. P., & Misra, V. K. (2010). Antioxidant and antimicrobial activity of *Alpinia officinarum*. *Journal of Pharmaceutical Sciences, 72,* 1-148.

Sukandar, E. Y., Kurniati, N. F., Wikaningtyas, P. & Agprikani, D. (2016). Antibactrial interaction of combination of ethanolic extract of *Zingiber officinale* Var Rubbum rhizome, *Boesenbergia pandurate* rhizome, and *Stevia Rebaudiana* leaves with certain antibiotics against infectious mouth microbial. *Journal of* Pharmacology and Clinical Pharmacy Research, *9(1),* 332-335.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tabbene, O., Azaiez, S., & Di Grazia, A. (2015). Bacillomycin d and its combination with amphotericin b: promising antifungal compounds with powerful antibiofilm activity and wound-healing potency. *Journal of Applied Microbiology, 120,* 289–300.

Tanweer, S., Shehzad, A., & Butt, M. S. (2016). Radical scavenging linked antioxidant comparison and quantification of conventional and supercritical fluid ginger extracts. *Journal of Nutrition & Food Sciences, 6,* 1-7.

Toenjes, K. A., Munsee, S. M., Ibrahin, A. S., Jeffrey, R., Edward, J. E. & Johnson, D. I. (2005). Small-molecule inhibitors of the budded-to-hyphal-form transition in the pathogenic yeast *Candida albicans. Journal of Antimicrobiology Agents Chemother, 49(9),* 63-72.

Vazirian, M., Alehabib, S., Jamalifar, H., Fazeli, M, R., Najarian A, Toosi., & Khanavi, M. (2015). Antimicrobial effect of cinnamon (*Cinnamomum verum* J. Presl) bark essential oil in cream-filled cakes and pastries. *Journal of Pharmacognosy, 2(4),* 11-16

Victor, M. García, N. Rojas, G., Zepeda, L. G., Aviles, M., Fuentes, M., Herrera, A. & Jiménez, E. (2006). Antifungal and antibacterial activity of four selected mexican medicinal plants. *Journal of Pharmaceutical Biology, 44(4),* 297-300.

Vidanagamage, S. A., Pathiraje, P.M.H.D., & Perera, O.D.A.N. (2016). Effects of cinnamon (*Cinnamomum verum*) extract on functional properties of butter. *Journal of Procedia Food Science. 6*, 132–142.

Vieira, S. A., Zhang, G., & Dacker, E. A. (2017). Biological implications of lipid oxidation products. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 3*, 339-351.

Vonasorn, A., Chuntranuluck, S., Setthapun, W., & Rakwichian, W. (2013). Development of mouth care product mixing with *Boesenbergia pandurata* extract for inhibiting of *Streptococcus mutans*. *Asian Journal of Applied Sciences, 6(2)*, 90-98.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wang, G. S., Deng, J. H., Ma, Y. H., Shi, M. & Li, B. (2012). Mechanisms, clinically curative effects, and antifungal activities of cinnamon oil and pogostemon oil complex against three species of *Candida. Journal of Traditional Chinese Medical, 32(1),* 19-24.

Waty, S., Suryanto, D., & Yurnaliza. (2018). Antibacterial activity of cinnamon ethanol extract (*cinnamomum burmannii*) and its application as a mouthwash to inhibit *Streptococcus* growth. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (EES), 130, 1-7.*

Weigand, I., Hilpert, K. & Hancock, R. E. W. (2008). Agar and broth dilution method to determine the minimal inhibitory concentration (mic) of antimicrocbial substances. *Nature Protocol, 3,* 163-175.

William, E. M., Driver, S. B., & Baxter, K. (2013). Stockley's herbal medicines interactions: a guide to the interactions of herbal medicines, dietary supplements and nutracaeuticals with conventional medicines. *London: Pharmaceutical Press.*

Win, H. H., Moe, T. S., & Hlaing, T. T. (2019). Indigenous myanmar medicinal plants and comparison of their *in vitro* antioxidant, antiglycation, and antimicrobial activities. *Journal of Cogent Biology, 5,* 2-14.

Xie, X.-M., Fang, J.-R. & Xu, Y. (2004). Study of antifungal effect of cinnamaldehyde and citral on *Aspergillus flavus. Journal of Food Science, 25(9),* 32-34.

Yim, N. H., Jung, Y. P., & Cho, W K.. (2013). Screening of aqueous extracts of medicinal herbs for antimicrobial activity against oral bacteria. *Journal of Integrative Medicine Research, 2,* 18-24.

Yusuf, A. A., Lawal, B., & Abubakar, A. N. (2018). In-vitro antioxidants, antimicrobial and toxicological evaluation of nigerian *Zingiber officinale. Journal of Biochemistry, 4,* 1-8.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zhang, Y., Wanga, B. Y., Zhua, X., Caoc, P., Weic, S. & Lua, Y. (2017). Antibacterial and antibiofilm activities of eugenol from essential oil of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr.& L. M. Perry (clove) leaf against periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Microbial Pathogenesis, 113*, 396-402.

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก : https://medthai.com/เชื้อราในช่องปาก/ (วันที่ 9 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: www.nfi.or.th/foodsafety/upload/damage/pdf/staphylococcus_aureus2.pdf (วันที่ 9 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://www.medthai.com/ว่านน้ำ/ (วันที่15 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://www.creditonhand.com/Herb-Drug-Vitamins/230/47.html (วันที่15 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://www.medthai.com/กระเจี๊ยบแดง/ (วันที่15 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://www.honestdocs.co/benefits-of-ginger (วันที่15 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://www.honestdocs.co/cinnamon-cinnamon-toast (วันที่ 15 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://th.wikipedia.org/wiki/สมุนไพร (วันที่15 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://sites.google.com/site/smunphirphunbanbyparichat/menu (วันที่15 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://www.ontrack-media.net/biology/bm1l1rimage11.jpg (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/650/disaccharide (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2218/raffinose (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://th.wikipedia.org/wiki/แป้ง_(สารอาหาร) (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://th.wikipedia.org/wiki/ไกลโคเจน (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0612/cellulose (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://www.shutterstock.com/th/image-vector/reserpine-alkaloid-molecule-isolated-rauwolfia-serpentina-687034861 (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://th.wikipedia.org/wiki/คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.agro.cmu.ac.th/absc/data/57/57-014.pdf (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://th.wikipedia.org/wiki/ซาโปนิน (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compounds (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://www.siamchemi.com/แทนนิน (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. Khampeerada, 2017 สืบค้นจาก: https://sites.google.com/site/tk401it01/kharbohidert (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี 2558 สืบค้นจาก: https://www.rakbankerd.com/agriculture/page.php?id=617&s=tblplant (วันที่ 16 ก.พ. 2563)

[ออนไลน์]. อธิป สกุลเผือก 2559 สืบค้นจาก: https://ccpe.pharmacycouncil.org/index.php?option=article_detail&subpage=article_detail&id=204 (วันที่ 16 ก.พ. 25

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.smj.ejnal.com/ (วันที่ 10 มิ.ย. 2563)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://kpi.msu.ac.th/upload/ag_tor_ref_byval (วันที่ 10 มิ.ย. 2563)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. **Yeast extract peptone Dextrose Agar (YPD)** ประกอบด้วย

Yeast Extract	10	กรัม
Peptone	20	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Agar	15	กรัม
Water	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ: สำหรับ YPDB ทำเหมือน YPD แต่ไม่ใส่ Agar

2. **Malt extract agar (MEA)** ประกอบด้วย

Malt Extract	20	กรัม
Glucose	20	กรัม
Peptone	10	กรัม
Agar	20	กรัม
Water	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. **de Man rogosa and sharpe agar (MRS)** ประกอบด้วย

MRS	50	กรัม
Agar	15	กรัม
Water	1000	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. **Tryptic soy agar (TSA)** ประกอบด้วย

TSA	40	กรัม
Agar	15	กรัม
Water	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

5. **Columbia blood agar base ที่เติมเลือดความเข้มข้นร้อยละ 15 วิตามินมีนาไดโอน และฮีมิน** ประกอบด้วย

CBA	44	กรัม
เลือด	50	มิลลิลิตร
วิตามินมีนาไดโอน	1	มิลลิลิตร
วิตามินฮีมิน	10	มิลลิลิตร
Agar	15	กรัม
Water	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ: เมื่อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอเรียบร้อยแล้ว วางอาหารไว้อุณหภูมิห้องจนอาหารมีอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ให้ใส่วิตามินมีนาไดโอน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และฮีมิน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 และ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ และเติมเลือด 50 มิลลิลิตร (ถ้าเลือดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแสดงว่าอาหารมีอุณหภูมิสูงเกินไป) ค่อย ๆ วนขวดอาหารช้า ๆ ไม่ให้เกิดฟอง จนอาหาร เลือด และวิตามินเป็นเนื้อเดียวกัน

6. **Mueller hinton agar (MHA)** ประกอบด้วย

MHA	38	กรัม
Agar	15	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Water	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

7. **Yeast extract manitol agar (YMA)** ประกอบด้วย

YM	41.8	กรัม
Agar	15	กรัม
Water	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

8. **ATCC® medium 2722** ประกอบด้วย

TSB	30	กรัม
Yeast Extract	5	กรัม
L-Cysteine Hydrochloride	5	กรัม
Hemin Stock	10	มิลลิลิตร
Menadione (K_3)	1	มิลลิลิตร
Agar	15	กรัม
DI Water	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ 1 : ใส่วิตามินทั้งหมดหลังจากอาหารผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ และรอให้อาหารอุณหภูมิลดลง (ประมาณ 70 – 80 องศาเซลเซียส)

หมายเหตุ 2 : ความเข้มข้นสุดท้ายของวิตามินมีนาไดโอนและฮีมิน เท่ากับ 1 และ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. **Hemin stock (ใช้ใน ATCC® Medium 2722)** ประกอบด้วย

Hemin	0.5	กรัม
K_2HPO_4	1.74	กรัม
DI Water	100	มิลลิลิตร

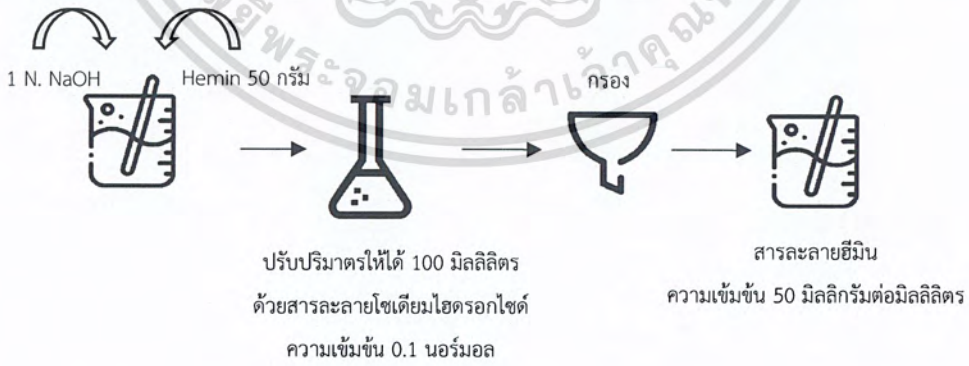
10. **Brain heart infusion broth (BHI)** ประกอบด้วย

BHI	37	กรัม
Agar	15	กรัม
Water	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

11. **การเตรียม stock solution ของสารละลายฮีมิน (hemin)**

ทำการเตรียม stock solution ของสารละลายฮีมิน ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำได้โดยชั่งฮีมิน 50 มิลลิกรัม ลงในบีกเกอร์ เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ปริมาตรเล็กน้อย คนให้ละลาย เทลงในขวดปรับปริมาตร ปรับให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จากนั้นกรองผ่านตัวกรอก (filter) ปลอดเชื้อที่บรรจุกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร เก็บในภาชนะปิดสนิทและพ้นแสงแดด ดังนี้

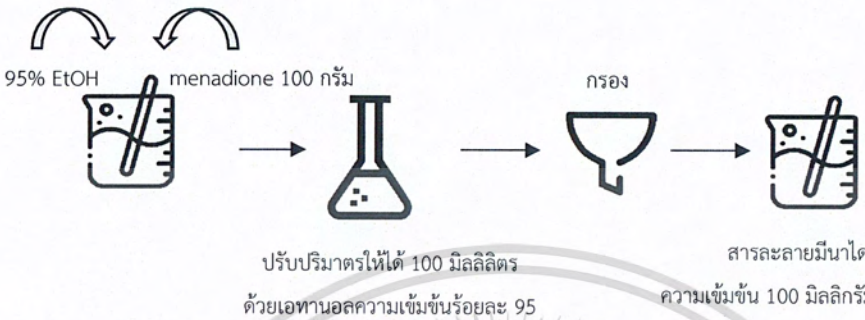


12. **การเตรียม Stock Solution ของสารละลายมีนาไดโอน (menadione)**

ทำการเตรียม stock solution ของสารละลายมีนาไดโอน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมใน สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำได้โดยชั่งมีนาไดโอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 100 มิลลิกรัม ลงในบีกเกอร์ เติมสารละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตรเล็กน้อย คนให้ละลาย เทลงในขวดปรับปริมาตร ปรับให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 จากนั้นกรอกผ่านตัวกรอก (filter) ปลอดเชื้อที่บรรจุกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร เก็บในภาชนะปิดสนิทและพ้นแสงแดด



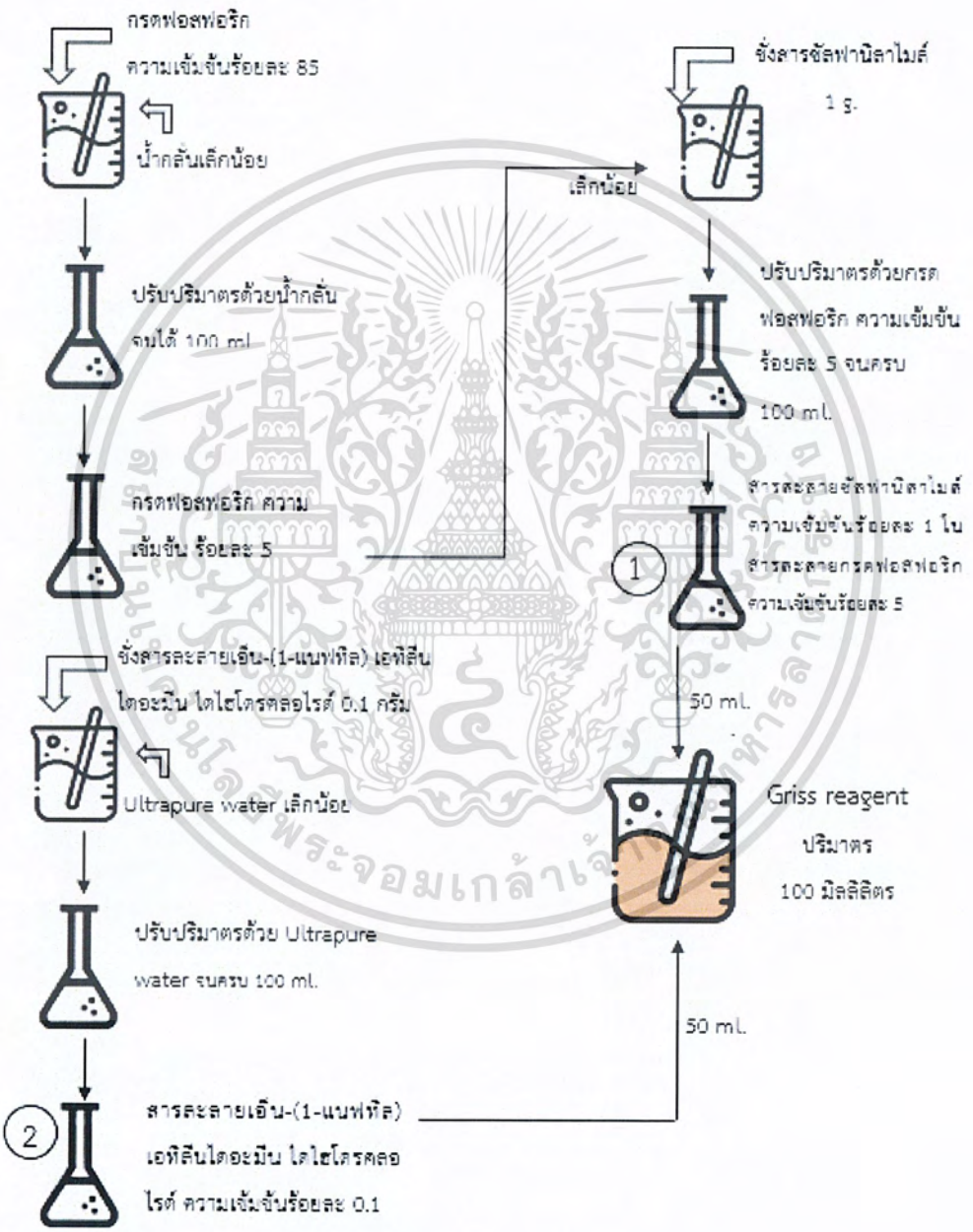
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การเตรียมสารละลาย

1. วิธีการเตรียมสารละลายที่ใช้ในวิธี nitric oxide radical scavenging efficacy

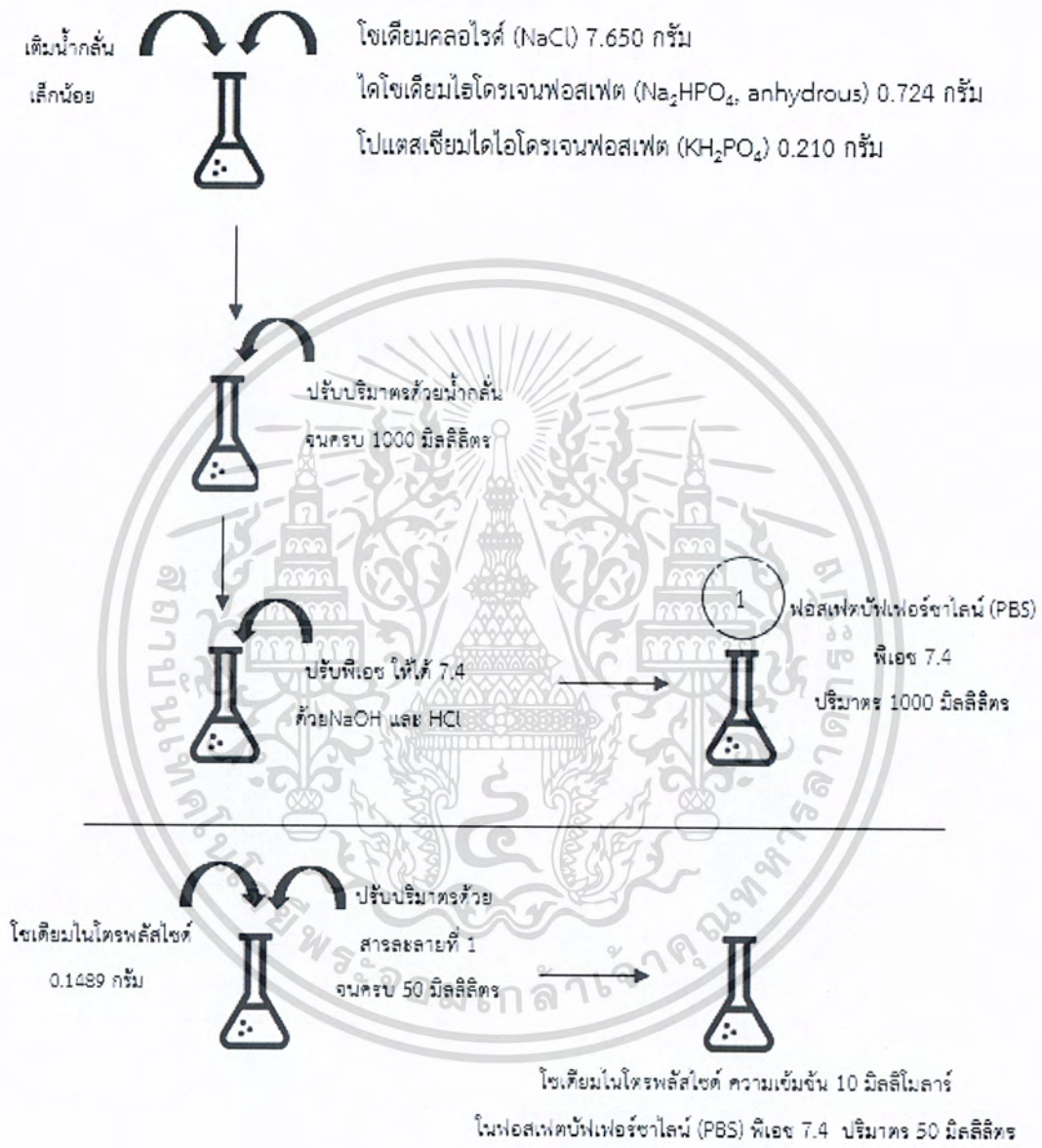
1.1. การเตรียม griss reagent



<u>รูปวิธีการเตรียม griss reagent</u>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วิธีการเตรียมโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ (sodium nitroprusside) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาไลน์ (PBS) พีเอช 7.4 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร



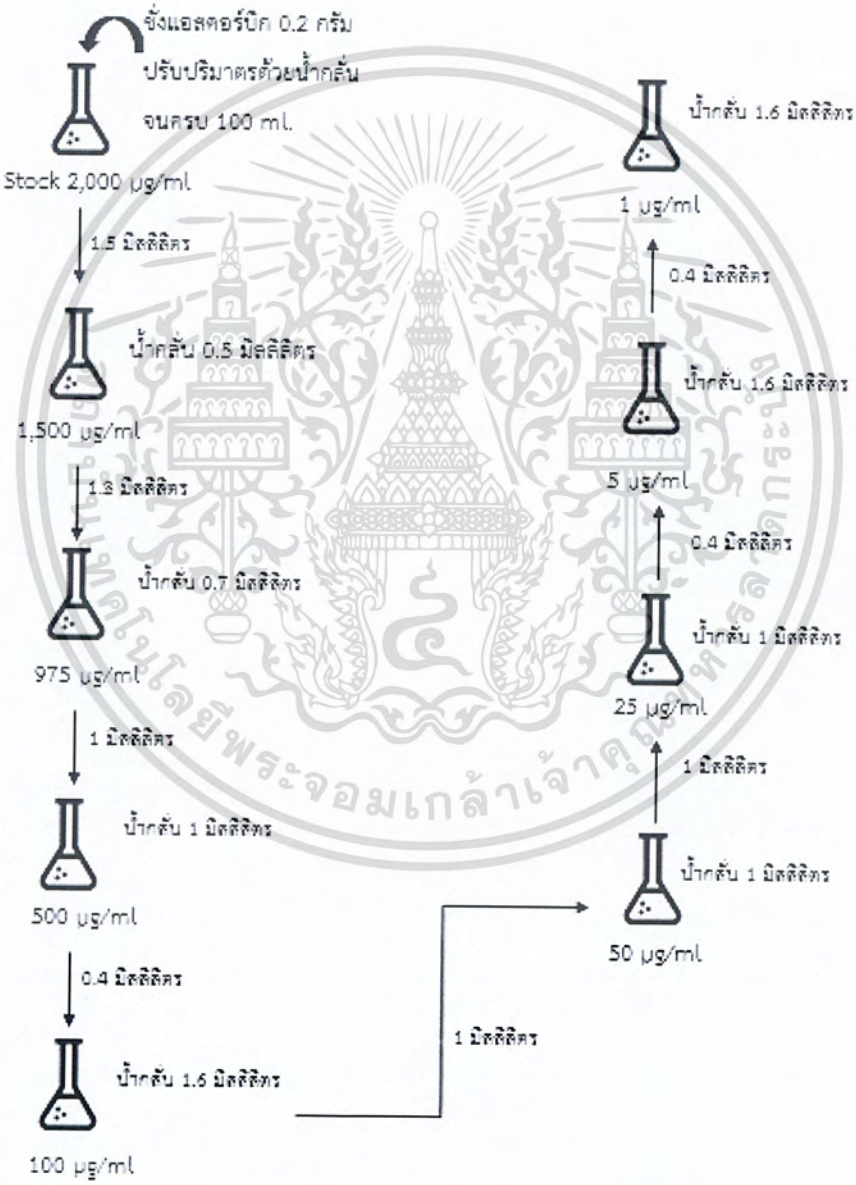
<u>รูปวิธีการเตรียม sodium nitroprusside</u>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วิธีการเตรียมสารละลายที่ใช้ในวิธี phosphomolybdenum เพื่อหาสารต้านอนุมูลอิสระ

2.1 สารละลายมาตราฐานของกรดแอสคอร์บิก

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแอสคอร์บิก ทำการเตรียมสารละลายมาตราฐานกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้น 2,000 , 1,500 , 1,000 , 500 , 100 , 50 , 25 , 5 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ดังนี้

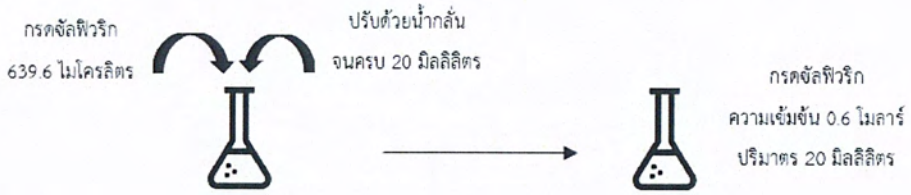


รูปการเตรียมสารละลายมาตราฐานของกรดแอสคอร์บิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

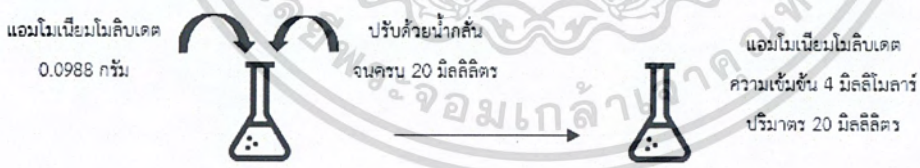
2.2 วิธีการเตรียมสาร reagent solution

2.2.1 การเตรียมกรดซัลฟิวริก (sulfuric acid) ความเข้มข้น 0.6 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร



2.2.2 การเตรียมโซเดียมฟอสเฟต (Na_2HPO_4) ความเข้มข้น 28 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

2.2.3 การเตรียมแอมโมเนียมโมลิบเดต (ammonium molybdate) ความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.4 นำสารละลายในข้อ2.2.1 ถึง 2.2.3 มาผสมกันในอัตราส่วน 1:1:1

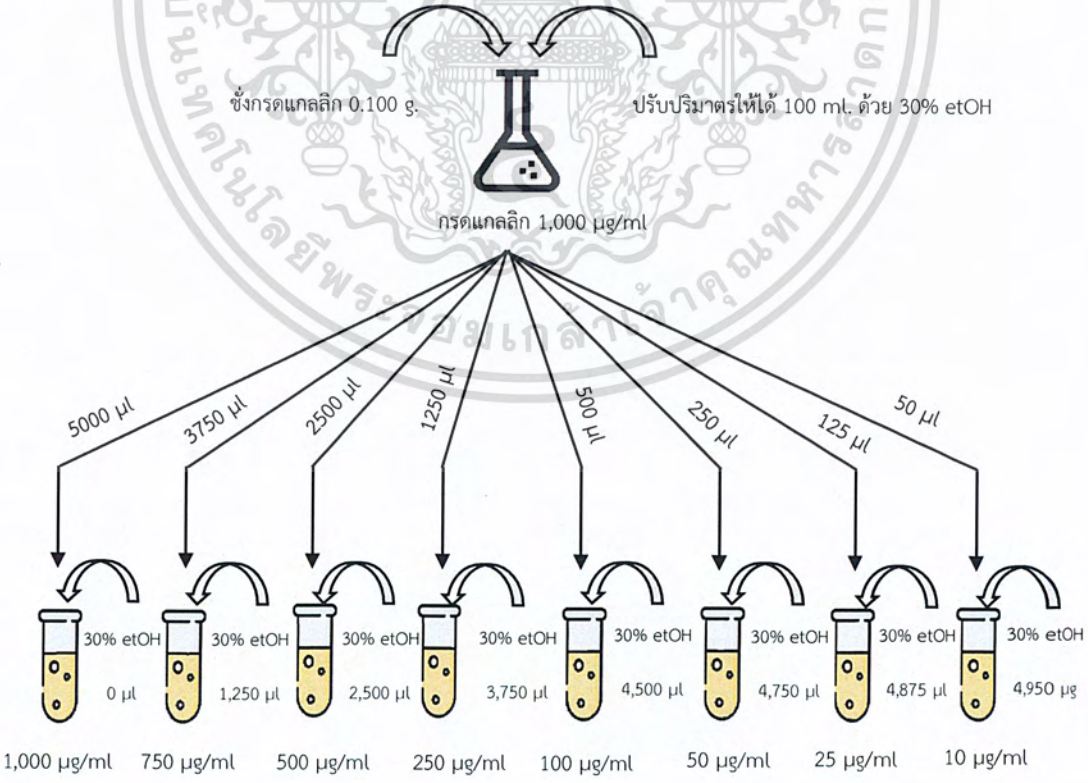
แอมโมเนียมโมลิบเดต ความเข้มข้น 4 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
โซเดียมฟอสเฟต ความเข้มข้น 28 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
กรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 0.6 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

Reagent Solution ปริมาตร 60 มิลลิลิตร

3. วิธีการเตรียมสารละลายเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดสมุนไพร

3.1. สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20

ทำการเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 น้ำหนักโดยปริมาตร (20% (w/v) Na_2CO_3) คิดได้จากสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 20 กรัม

ดังนั้น ในการเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะต้องชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 20 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นทำการปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร

ตารางที่ ข.1 การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นต่าง ๆ

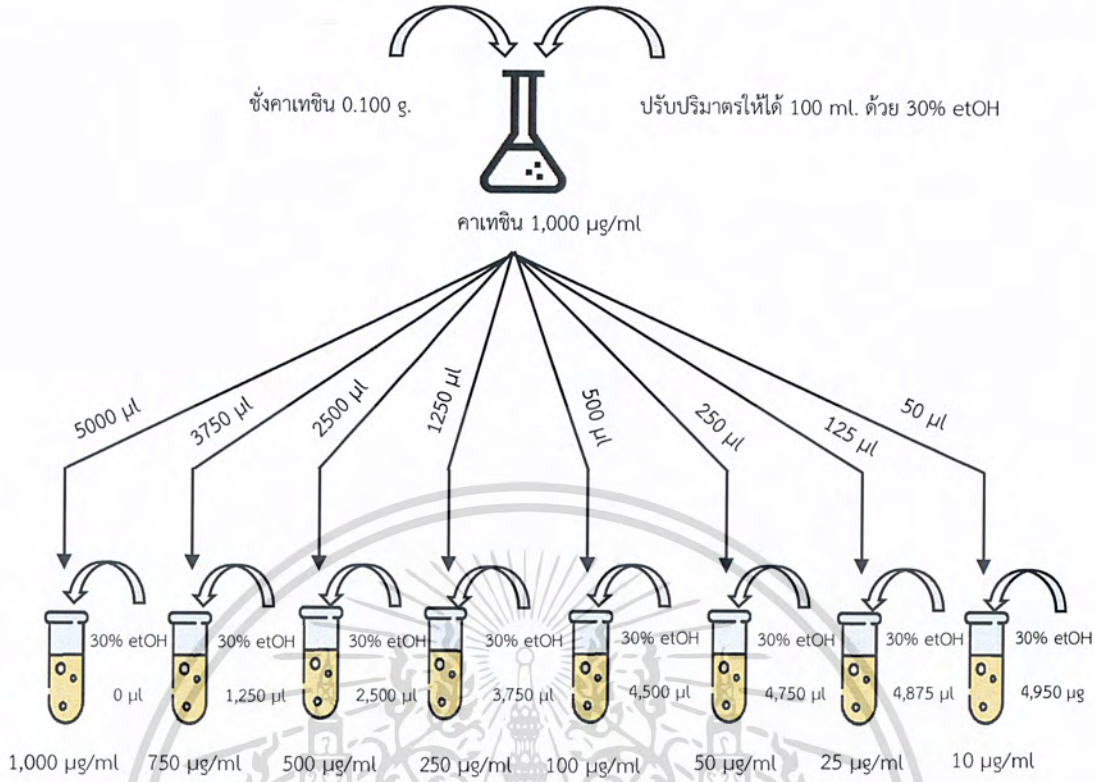
ความเข้มข้นที่ต้องการ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาตรกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ไมโครลิตร)	ปริมาตรเอทานอล (ไมโครลิตร)
1000	5000	-
750	3750	1250
500	2500	2500
250	1250	3750
100	500	4500
50	250	4750
25	125	4875
10	50	4950

4. วิธีการเตรียมสารละลายเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดสมุนไพร

4.1. สารละลายมาตรฐานคาเทชิน

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



4.2. สารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5

ทำการเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 น้ำหนักโดยปริมาตร (5% (w/v) $NaNO_2$) คิดได้ดังนี้

จากสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้สารละลายโซเดียมไนไตรท์ 5 กรัม

ถ้าเตรียมสารละลายปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะใช้สารละลายโซเดียมไนไตรท์ 0.5 กรัม

ดังนั้น ในการเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะต้องชั่งโซเดียมไนไตรท์ 0.5 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นทำการปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร

4.3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์

มวลโมเลกุลของโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีค่าเท่ากับ 40 กรัมต่อโมล

$$\text{จากสูตร } M = \frac{(wt.(g))}{(M.W.)\times\frac{1}{L}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{จะได้ } 1 = \frac{(wt.(g))}{40 \times \frac{(100\ ml.)}{(1000\ ml.)}}$$

ดังนั้น การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ จะต้องชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นทำการปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร

ตารางที่ ข.2 การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานคาเทชินความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นที่ต้องการ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาตรคาเทชิน ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ไมโครลิตร)	ปริมาตรเอทานอล (ไมโครลิตร)
1000	5000	-
750	3750	1250
500	2500	2500
250	1250	3750
100	500	4500
50	250	4750
25	125	4875
10	50	4950

4.4. สารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10

ทำการเตรียมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 น้ำหนักโดยปริมาตร (10% (w/v) $AlCl_3$) คิดได้ดังนี้

จากสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้สารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ 10 กรัม

ถ้าเตรียมสารละลายปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะใช้สารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ 1 กรัม

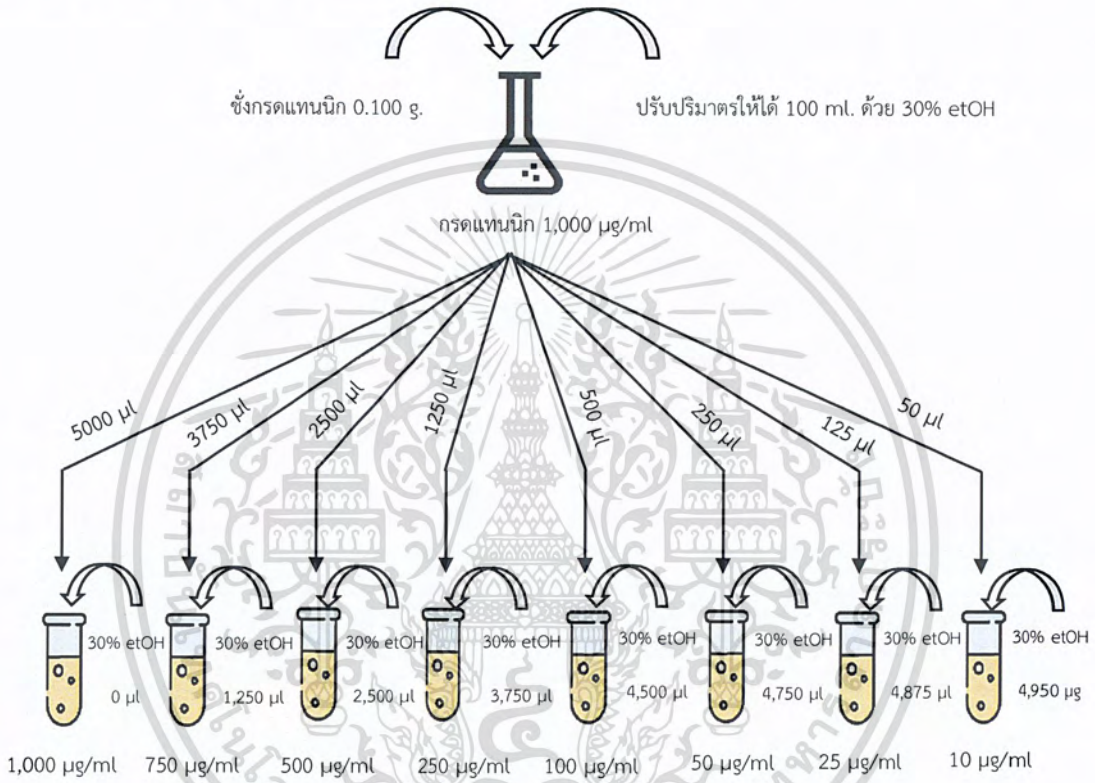
ดังนั้น ในการเตรียมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะต้องชั่งอะลูมิเนียมคลอไรด์ 1 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นทำการปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. วิธีการเตรียมสารละลายเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรไทย

5.1. สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25, 10 และ 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ดังนี้



5.2. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 35

ทำการเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 35 น้ำหนักโดยปริมาตร (35% (w/v) Na_2CO_3) คิดได้ดังนี้

จากสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 35 กรัม

ถ้าเตรียมสารละลายปริมาตร 200 มิลลิลิตร จะใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 70 กรัม

ดังนั้น ในการเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จะต้องชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 70 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นทำการปรับปริมาตรให้ได้ 200 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3 การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นที่ต้องการ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาตรกรดแทนนิก ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ไมโครลิตร)	ปริมาตรเอทานอล (ไมโครลิตร)
1000	5000	-
750	3750	1250
500	2500	2500
250	1250	3750
100	500	4500
50	250	4750
25	125	4875
10	50	4950
0	-	5000

6. วิธีการเตรียมสารละลายเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรไทย

6.1. สารละลายมาตรฐานอะโทรพีน (atropine)

ทำการเตรียมสารละลายอะโทรพีนความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ทำได้โดยการชั่งอะโทรพีน 1 มิลลิกรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นทำการปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาต

6.2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 นอร์มอล

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 นอร์มอลเตรียมได้โดย

จากสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 8 กรัม

ถ้าเตรียมสารละลายปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.8 กรัม

ดังนั้น ในการเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 นอร์มอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จะต้องชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.8 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นทำการปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร

6.3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอลเตรียมได้โดย

จากสารละลายปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.4 กรัม

ถ้าเตรียมสารละลายปริมาตร 200 มิลลิลิตร จะใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 0.8 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น ในการเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จะต้องชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.8 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นทำการปรับปริมาตรให้ได้ 200 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร

6.4. สารละลายโบรโมกลีซอลกรีน ความเข้มข้น 1×10^{-4} โมลต่อลิตร

ชั่งโบรโมกลีซอลกรีน 13.96 กรัม เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2 นอร์มอล ปริมาตร 3 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

6.5. สาระลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 4.7

ชั่งไดโซเดียมฟอสเฟต (Na_2HPO_4) 14.31 กรัม ละลายในน้ำกลั่นเพียงเล็กน้อย จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 200 มิลลิลิตร ทำการปรับค่า pH ให้ได้ 4.7 ด้วยกรดซิตริก

6.6. สารละลายกรดซิตริก ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

ชั่งกรดซิตริก 4.202 กรัม ละลายในน้ำกลั่นเพียงเล็กน้อย จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

7. การคำนวณหาความเข้มข้นเริ่มต้นของ cinnamaldehyde และ eugenol

7.1 ความเข้มข้นของ cinnamaldehyde

สาร C_9H_8O : มวลโมเลกุล 132.16 กรัมต่อโมล ความหนาแน่น 1.05 กรัมต่อลิตร ความบริสุทธิ์ร้อยละ 95 หาความเข้มข้นของ cinnamaldehyde

จาก $$C = \frac{\% \times 10 \times Density}{Mw}$$

$$C = \frac{95\% \times 10 \times 1.05}{132.16} = 7.5477\ M$$

ดังนั้น cinnamaldehye มีความเข้มข้นเริ่มต้นในขวด เท่ากับ 7.5477 โมลต่อลิตร

7.2 ความเข้มข้นของ eugenol

สาร $C_{10}H_{10}O_2$: มวลโมเลกุล 164.20 กรัมต่อโมล ความหนาแน่น 1.05 กรัมต่อลิตร ความบริสุทธิ์ร้อยละ 95 หาความเข้มข้นของ eugenol

จาก $$C = \frac{\% \times 10 \times Density}{Mw}$$

$$C = \frac{99\% \times 10 \times 1.067}{164.20} = 6.4332\ M$$

ดังนั้น eugenol มีความเข้มข้นเริ่มต้นในขวด เท่ากับ 6.4332 โมลต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

ตารางการคำนวณความเข้มข้น

ตารางภาคผนวกที่ ค.1 ตารางคำนวณสำหรับการศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยวิธีเจืองจางในอาหาร (agar dilution method)

stock solution (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		ปริมาตรน้ำกลั่น (ไมโครลิตร)	ปริมาตรอาหาร (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้าย (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาตร (ไมโครลิตร)			
สารสกัด				
1,000	250	0	2250	100
1,000	200	50	2250	80
1,000	150	100	2250	60
1,000	125	125	2250	50
1,000	100	150	2250	40
1,000	75	175	2250	30
1,000	62.5	187.5	2250	25
1,000	50	200	2250	20
1,000	25	225	2250	10
1,000	12.5	237.5	2250	5
1,000	10	240	2250	4
α-asarone				
100	250	0	2250	10
100	125	125	2250	5
100	62.5	187.5	2250	2.5
100	31.2	218.8	2250	1.25
100	15.6	234.4	2250	0.625
100	7.8	242.2	2250	0.3125
cinnamaldehyde				
7.5477	250	0	2250	0.75
7.5477	125	125	2250	0.38
7.5477	62.5	187.50	2250	0.19
7.5477	31.2	218.75	2250	0.09
7.5477	15.6	234.38	2250	0.04
7.5477	7.8	242.109	2250	0.02
eugenol				
6.4332	250	0	2250	0.64
6.4332	125	125	2250	0.32
6.4332	62.50	187.50	2250	0.16
6.4332	31.25	218.75	2250	0.08
6.4332	15.63	234.38	2250	0.04
6.4332	7.81	242.19	2250	0.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

stock solution (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		ปริมาตรน้ำกลั่น (ไมโครลิตร)	ปริมาตรอาหาร (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้าย (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาตร (ไมโครลิตร)			
kaempferide				
1	250	0	2250	0.1
1	200	50	2250	0.08
1	150	100	2250	0.06
1	100	150	2250	0.04
1	50	200	2250	0.02
galangin				
2	250	0	2250	0.2
2	225	25	2250	0.18
2	200	50	2250	0.16
2	175	75	2250	0.14
2	150	100	2250	0.12
2	125	125	2250	0.1
CHD				
5	250	0	2250	50
5	125	125	2250	25
5	62.5	187.5	2250	12.5
5	31.2	218.8	2250	6.25
5	15.6	234.4	2250	3.125
5	7.8	242.2	2250	1.562
5	3.9	246.1	2250	0.781
fluconazole				
500	250	0	2250	100
500	200	50	2250	80
500	150	100	2250	60
500	100	150	2250	40
500	50	200	2250	20
500	25	225	2250	10

หมายเหตุ : สารสกัดสมุนไพรที่ใช้ได้แก่ ว่านน้ำ ข่าเล็ก อบเชย กระเจี๊ยบแดง และขิง ; cinnamaldehyde และ eugenol มีหน่วยเป็นโมลต่อลิตร ; CHD คือchlorhexidine dihydrochloride

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

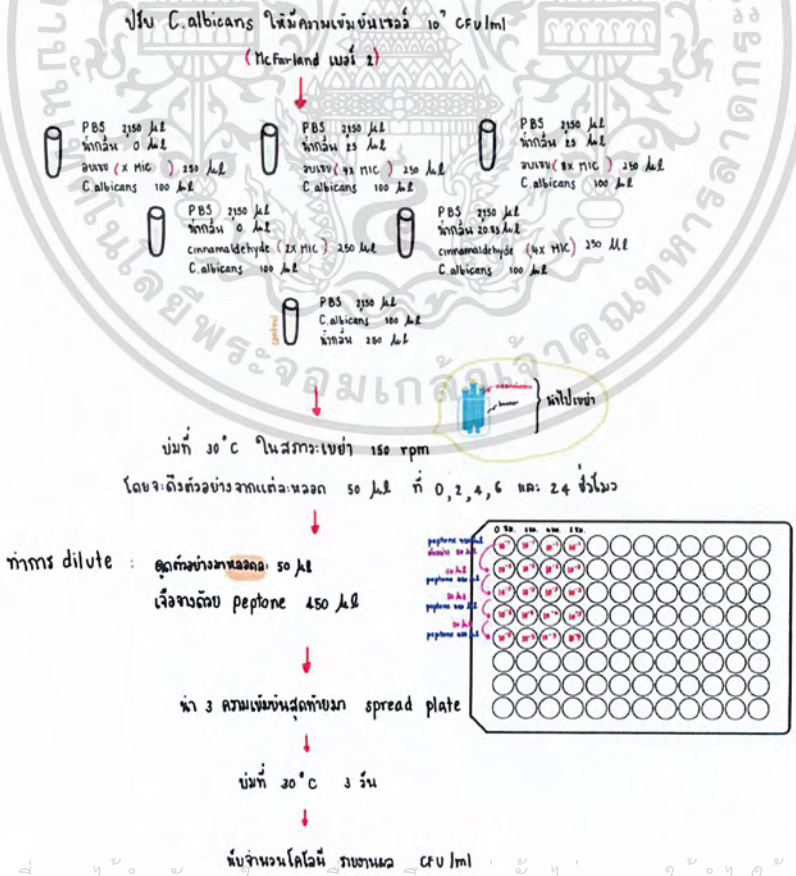
ตารางภาคผนวก ค.2 ตารางแสดงความเข้มข้นสุดท้ายในแต่ละหลุมที่ใช้วิเคราะห์หากิจกรรมการต้านฟิล์มชีวภาพ

หลุม	ความเข้มข้นสุดท้าย (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	จำนวนเท่า MIC	หลุม	ความเข้มข้นสุดท้าย (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	จำนวนเท่า MIC	หลุม	ความเข้มข้นสุดท้าย (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	จำนวนเท่า MIC	หลุม	ความเข้มข้นสุดท้าย (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	จำนวนเท่า MIC
	สารสกัดว่านน้ำ			α-asarone			fluconazole			สารสกัดกระเจี๊ยบแดง	
A1	88.88	8.8	A2	44.44	143.35	A3	133.33	-	A3	88.88	1.48
B1	49.38	4.9	B2	24.66	79.55	B3	74.07	-	B3	49.38	0.82
C1	27.43	2.7	C2	13.70	44.19	C3	32.92	-	C3	27.43	0.45
D1	15.23	1.5	D2	4.61	14.87	D3	14.63	-	D3	15.23	0.25
E1	6.77	0.6	E2	4.23	13.65	E3	6.50	-	E3	6.77	0.11
F1	3.76	0.3	F2	2.35	7.58	F3	2.89	-	F3	3.76	0.06
G1	2.09	0.2	G2	1.30	4.19	G3	1.29	-	G3	2.09	0.03
	สารสกัดขิง			สารสกัดข่าเล็ก			สารสกัดอบเชย			eugenol	
A4	88.88	8.88	A5	88.88	4.44	A6	88.88	22.22	A7	2.86	143
B4	49.37	4.93	B5	49.37	2.46	B6	49.37	12.34	B7	1.27	63.5
C4	27.43	2.74	C5	27.43	1.37	C6	27.43	6.85	C7	0.56	28
D4	15.23	1.52	D5	15.23	0.76	D6	15.23	3.8	D7	0.25	12.5
E4	6.77	0.67	E5	6.77	0.33	E6	6.77	1.69	E7	0.11	5.5
F4	3.76	0.37	F5	3.76	0.18	F6	3.76	0.94	F7	0.04	0.2
G4	2.09	0.2	G5	2.09	0.1	G6	2.09	0.52	G7	0.02	0.1
	cinnamaldehyde			galangin			kaempferide				
A8	3.35	335	A9	0.88	8.88	A10	0.444	4.44			
B8	1.49	89.5	B9	0.39	3.90	B10	0.195	1.95			
C8	0.66	33	C9	0.173	1.73	C10	0.084	0.84			
D8	0.29	14.5	D9	0.076	0.76	D10	0.038	0.38			
E8	0.13	6.5	E9	0.034	0.34	E10	0.012	0.12			
F8	0.05	2.5	F9	0.015	0.15	F10	0.001	0.01			
G8	0.03	1.5	G9	0.006	0.06	G10					

ภาคผนวกที่ ค.2 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านไบโอฟิล์มของ *C. albicans*

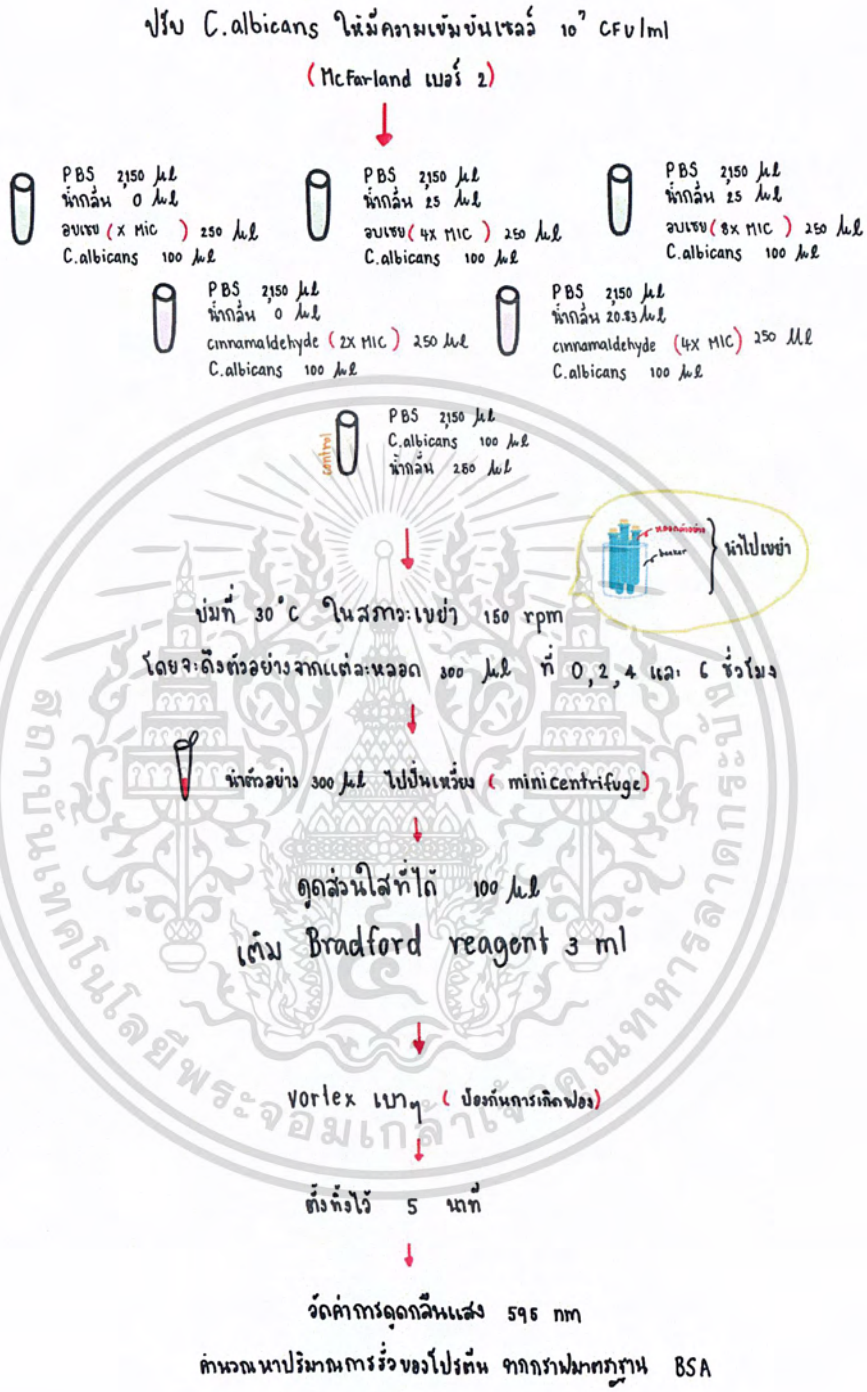
1. ปิเปตสารสกัดว่านน้ำ (200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ในหลุมที่ A1 สารบริสุทธิ์ α-asarone (100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ใส่หลุมที่ A2 และยาฟลูโคนาโซล (300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ใส่หลุมที่ A3 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร
2. เติมอาหาร YDPB ลงไปในหลุม A1-A10
3. ดูดของเหลวจากหลุมดังกล่าวไปยังหลุมที่ B1-B10 ตามลำดับ 100 ไมโครลิตร ดูดขึ้นดูดลงเพื่อผสมให้เข้ากัน
4. ดูดของเหลวจากหลุม B1-B9 ใส่ในหลุม C1-C10 ตามลำดับ 100 ไมโครลิตร ดูดขึ้นดูดลงเพื่อผสมให้เข้ากัน ทำการเจือจางเช่นนี้จนถึงหลุมที่ H1-H10 โดยหลังจากผสมอาหารกับสารต่าง ๆ แล้วให้ปิเปตทิ้ง 100 ไมโครลิตร
5. เติมเชื้อลงไปหลุมละ 20 ไมโครลิตรในแต่ละหลุม จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายดังตารางภาคผนวกที่ ค.2

ภาคผนวกที่ ค.3 การศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดอบเชยและ cinnamaldehyde ต่อระยะเวลาในการทำลายเชื้อ *C. albicans* (time kill assay)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ ค.4 การหาการรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans*



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

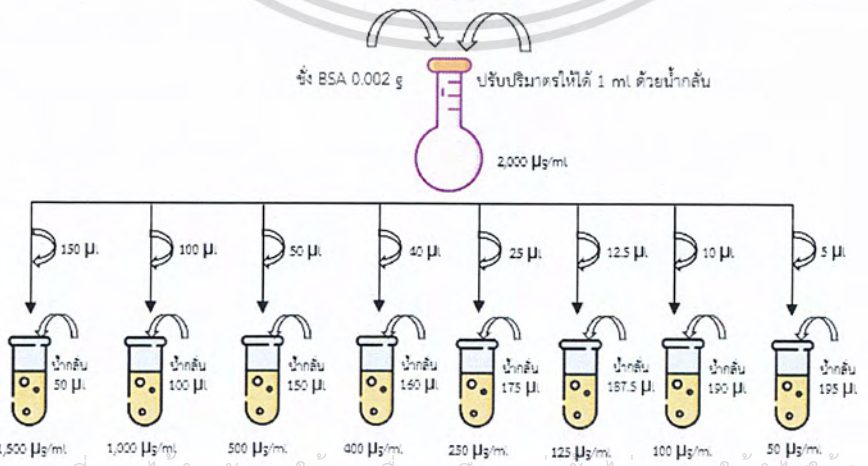
ตารางที่ ค.3.1 ปริมาตรของ stock solution ของสารยับยั้ง น้ำกลั่น และ phosphate buffer saline ที่เติมลงในหลอด สำหรับวิเคราะห์ time kill และการรั่วโปรตีนของ *C. albicans*

	ความเข้มข้นของ stock solution	ปริมาตรของสารสกัด (ไมโครลิตร)	ปริมาตรน้ำกลั่น (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้าย	ปริมาตร PBS (ไมโครลิตร)
อบเชย	1000	24	996	24	9000
	1000	16	984	16	9000
	1000	4	976	4	9000
Cinnamaldehyde	7	5.71	997.15	0.04	9000
	7	2.85	994.29	0.02	9000

หมายเหตุ : สารสกัดอบเชยมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ; cinnamaldehyde มีหน่วยเป็นโมลต่อลิตร

ตารางภาคผนวกที่ ค.4.1 ปริมาตรของ stock solution ของ bovine serum albumin และน้ำกลั่นที่เติมลงในหลอดทดลอง สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของ bovine serum albumin ในการวิเคราะห์การรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans*

ความเข้มข้น stock solution ของ BSA (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ปริมาตรของ BSA (ไมโครลิตร)	ปริมาตรน้ำกลั่น (ไมโครลิตร)	ปริมาตรรวม (ไมโครลิตร)	ความเข้มข้นสุดท้าย (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)
2000	200	0	200	2000
2000	150	50	200	1500
2000	100	100	200	1000
2000	50	150	200	500
2000	40	160	200	400
2000	25	175	200	250
2000	12.5	187.5	200	125
2000	10	190	200	100
2000	5	195	200	50



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. วิธีการเตรียม bradford protein reagent

Bradford protein reagent ประกอบด้วย

<u>ส่วนผสม</u>	**ความเข้มข้นสุดท้าย**
1. Coomassie brilliant blue g-250	0.01% w/v
2. Ethanol	4.7% w/v
3. 8.5% w/v phosphoric acid	8.5% w/v

การเตรียม protein reagent ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ทำได้โดย

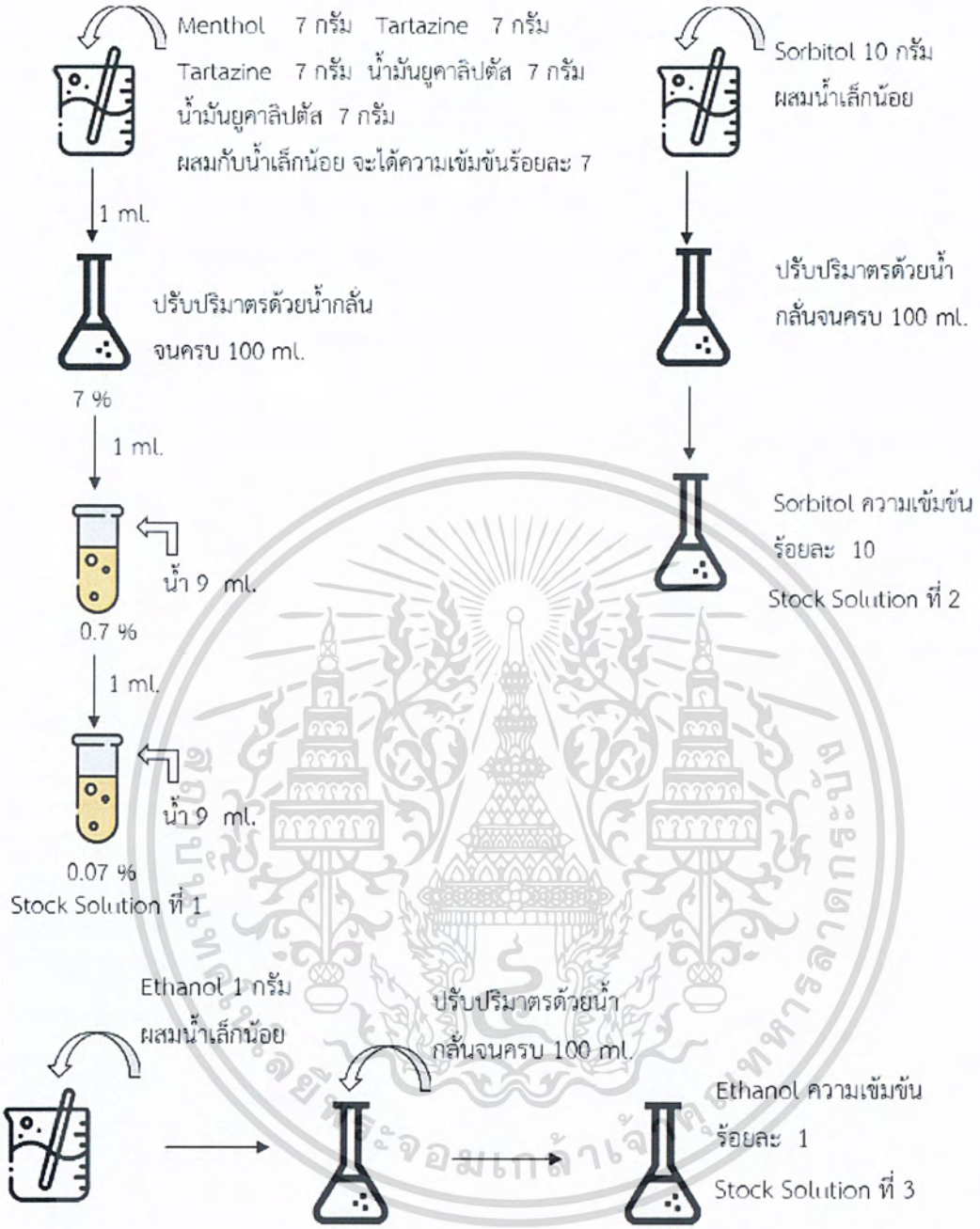
ชั่งสาร coomassie brilliant blue g-250 100 มิลลิกรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปละลายด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมกรดฟอสฟอริก ความเข้มข้นร้อยละ 85 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำใส่ในขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 1 ลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ 1 ลิตร ผสมให้เข้ากันดีจะได้ Bradford reagent เทใส่ขวดสีชาเก็บไว้ใช้ได้นาน ก่อนใช้ควรผสม Reagent นี้ให้เข้ากันดี โดยกลับขวดซ้ำๆหลายๆครั้งแต่ห้ามเขย่าขวดเพราะจะทำให้เกิดฟอง

8. การเตรียมน้ำยาบ้วนปาก

8.1 การเตรียมส่วนผสมพื้นฐานของน้ำยาบ้วนปาก

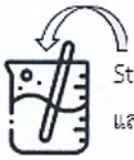
การเตรียมส่วนผสมพื้นฐานของน้ำยาบ้วนปากทำได้โดยผสมสารละลาย surfactant หรือ tween 20, tartazine, menthol, malt และน้ำมันยูคาลิปตัส ความเข้มข้นร้อยละ 0.07 ผสมกับสารละลาย sorbitol ความเข้มข้นร้อยละ 10 และ ethanol ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยการเตรียม stock solution ที่ 1 , 2 และ 3 ดังภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



วิธีการเตรียมส่วนผสมพื้นฐานของน้ำยาบ้วนปากทำได้โดยปิเปต stock solution ที่ 1 ปริมาณเล็กน้อย มาผสมกับ stock solution ที่ 2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และ stock solution ที่ 3 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และนำไปปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรด้วย stock solution ที่ 1 จนได้ 10 มิลลิลิตร ดังรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Stock solution ที่ 3 ปริมาตร 0.1 ml.
และ Stock solution ที่ 2 ปริมาตร 1 ml.
ผสมกับ Stock solution ที่ 1 เล็กน้อย

ปรับปริมาตรด้วย Stock solution ที่ 1
จนครบ 10 ml.

Tween 20 ร้อยละ 0.07	Menthol ร้อยละ 0.07
Tartazine ร้อยละ 0.07	Salt ร้อยละ 0.07
น้ำมันยูคาลิปตัส ร้อยละ 0.07	Sorbital ร้อยละ 10
Ethanol ร้อยละ 1	

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

การคำนวณ

1. วิธีทดสอบการกำจัดอนุมูลอิสระ NO ด้วยวิธี nitric oxide radical scavenging efficacy

การวิเคราะห์การกำจัดอนุมูลอิสระ NO โดยวิธี nitric oxide radical scavenging efficacy สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ สารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้น 2,000, 1,500, 975, 500, 100, 50, 25, 5 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดสมุนไพร โดยในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จะมีเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิก ดังนี้

สารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลอง จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองจะมีเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ

$$\frac{1{,}000\ \mu g\ \times 0.5\ ml}{1\ ml} = 500\ \mu g$$

สารละลายมาตราฐานกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ

$$\frac{500\ \mu g\ \times 0.5\ ml}{1\ ml} = 250\ \mu g$$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 2,000, 1500, 975, 500, 100, 50, 25, 5 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ในการทดลองปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิกในหลอดทดลองเท่ากับ 1,000, 750, 487.5, 250, 50, 25, 12.5, 2.5 และ 0.5 ไมโครกรัม ตามลำดับ นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 546 นาโนเมตร และนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณแสดงค่าเป็นเปอร์เซ็นต์การกำจัดสารต้านอนุมูลอิสระ NO (% radical scavenging) ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ 1.1 การคำนวณการกำจัดอนุมูลอิสระ NO ของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 546 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาแทนค่าในสมการ ดังนี้

ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 0.668 ค่าดูดกลืนแสงค่า control (ไม่ใส่สารสกัด) เท่ากับ 2.845

$$\% \text{ Radical scavenging} = \frac{(\text{Acontrol} - \text{Asample})}{\text{Acontrol}} \times 100$$

$A_{Control}$ = ค่าดูดกลืนแสง Control

A_{Sample} = ค่าดูดกลืนแสงที่มีสารสกัด

$$\% \text{ Radical scavenging} = \frac{2.845-0.668}{2.845} \times 100 = 76.52$$

ดังนั้น เปอร์เซ็นต์การกำจัดสารต้านอนุมูลอิสระ NO ของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเท่ากับ 76.52 %

ตารางที่ ง.1 ตารางเปอร์เซ็นต์การกำจัดสารต้านอนุมูลอิสระ NO ของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นกรดแอสคอร์บิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	OD_{546}			% redical Scarvenging	% redical Scarvenging	% redical Scarvenging	
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
1	2.491	2.496	2.498	12.443	12.205	8.162	10.937
5	2.384	2.391	2.383	16.204	15.899	12.390	14.831
25	2.278	2.289	2.279	19.930	19.486	16.213	18.543
50	2.057	2.059	2.057	27.698	27.577	24.375	26.550
100	1.856	1.866	1.864	34.763	34.365	31.471	33.533
500	1.657	1.653	1.654	41.757	41.857	39.191	40.935
975	1.357	1.358	1.359	52.302	52.234	50.037	51.524
1500	1.235	1.233	1.238	56.591	56.630	54.485	55.902
2000	0.668	0.659	0.66	76.520	76.820	75.735	76.359

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ 1.2 การคำนวณการกำจัดอนุมูลอิสระ NO ของสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 546 นาโนเมตร ของอบเชยมาแทนค่าในสมการ ดังนี้

ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดอบเชย เท่ากับ 1.684 ค่าดูดกลืนแสงค่า control (ไม่ใส่สารสกัด) เท่ากับ 2.845

$$\%\ \text{Radical scavenging} = \frac{(\text{Acontrol} - \text{Asample})}{\text{Acontrol}} \times 100$$

$A_{control}$ คือ ค่าดูดกลืนแสง control

A_{Sample} คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดหรือสารมาตรฐาน

$$\%\ \text{Radical scavenging} = \frac{(2.845-1.684)}{2.845} \times 100 = 40.80$$

ดังนั้น เปอร์เซ็นต์การกำจัดสารต้านอนุมูลอิสระ NO ของสารสกัดอบเชย มีค่าเท่ากับร้อยละ 40.80 ซึ่งเมื่อเทียบเปอร์เซ็นต์กับสารละลายมาตราฐานกรดแอสคอร์บิกแล้ว พบว่าสารละลายอบเชยมีค่าใกล้เคียงกับสารละลายมาตราฐานกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดย phosphomolybdenum Assay

การวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วย phosphomolybdenum Assay สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ สารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้น 2,000, 1,000, 500, 250, 100, 50, 25, 5 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดสมุนไพร โดยในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จะมีเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิก ดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลอง จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองจะมีเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ

$$\frac{1{,}000\ \mu g \times 0.1\ ml}{1\ ml} = 100\ \mu g$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>สารละลายมาตราฐานกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิกเท่ากับ

$$\frac{500\ \mu g \times 0.1\ ml}{1\ ml} = 50\ \mu g$$

รูปที่ 1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิกในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

ดังนั้น สารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้น 2,000, 1500, 975, 500, 100, 50, 25, 5 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ในการทดลองปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิกในหลอดทดลองเท่ากับ 200, 150, 97.5, 50, 10, 5, 2.5, 0.5 และ 0.1 ไมโครกรัมตามลำดับ นำมาพลอตกราฟมาตราฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิกในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้

ตัวอย่างที่ 2.1 การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากอบเชย คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบอบเชยแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารสะลายกรดแอสคอร์บิก ดังนี้

สารสกัดหยาบจากอบเชย มีค่า $O.D_{695}$ เท่ากับ 2.243

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแอสคอร์บิก y = 0.0194x

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิก

y คือ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แทนค่า 2.243 = 0.0194x

X = 2.243 / 0.0194

X = 115.62 ไมโครกรัมของกรดแอสคอร์บิก

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณกรดแอสคอร์บิกในสารสกัดหยาบ 0.1 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับ ปริมาณเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิกเท่ากับ 115.62 ไมโครกรัม

สารสกัด 1000 mg (1 g.) จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ $\frac{115.62\ \mu g \times 1000\ \text{mg}}{0.1\ \text{mg}}$

เท่ากับ 1,156,200 µg

หรือเท่ากับ 1,156,200 / 1,000 เท่ากับ 1,156.2 mg

ดังนั้น สารสกัดหยาบจากอบเชย มีปริมาณกรดแอสคอร์บิกที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 1,156,200 ไมโครกรัมของกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมของสารสกัด หรือ 1,156.2 มิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมของสารสกัด

การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดของสาร cinnamondehyde จากความเข้มข้นเริ่มต้น 7.5477 โมล/ลิตร สามารถคิดได้ดังนี้

ใน 1 ลิตร (1,000 มิลลิลิตร) มี cinnamaldehyde เท่ากับ 7.5477 โมล

ถ้าใน 0.1 มิลลิลิตร จะมี cinnamaldehyde เท่ากับ $\frac{7.5477\ \text{mol} \times 0.1\ ml}{1000\ ml}$

เท่ากับ 0.00075477 โมล

สาร cinnamondehyde มีค่า $O.D_{695}$ เท่ากับ 2.586

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแอสคอร์บิก y = 0.0194x

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิก

y คือ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร

แทนค่า 2.586 = 0.0194x

X = 2.586 / 0.0194

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

X = 133.30 ไมโครกรัมของกรดแอสคอร์บิก

ดังนั้น ปริมาณกรดแอสคอร์บิกในสาร cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 0.00075477 โมล ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิกเท่ากับ 133.30 ไมโครกรัมของกรดแอสคอร์บิก

cinnamondehyde 1 โมล เทียบเท่ากับกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ $\frac{133.30\ \mu g}{0.00075477\ mol}$

เท่ากับ 176,610.0931 µg

หรือ เท่ากับ $\frac{176,610.0931\ \mu g}{1000}$

เท่ากับ 176.61 mg

ดังนั้น สาร cinnamondehyde มีปริมาณกรดแอสคอร์บิกที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 176,610.0931 ไมโครกรัมของกรดแอสคอร์บิกต่อโมล หรือ 176.61 มิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิกต่อโมล

การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดของสาร eugenol จากความเข้มข้นเริ่มต้น 6.4332 โมล/ลิตร สามารถคิดได้ดังนี้

ใน 1 ลิตร (1,000 มิลลิลิตร) มี eugenol เท่ากับ 6.4332 โมล

ถ้าใน 0.1 มิลลิลิตร จะมี eugenol เท่ากับ $\frac{6.4332\ \text{mol} \times 0.1\ \text{ml}}{1000\ \text{ml}}$

เท่ากับ 0.00064332 โมล

สาร eugenol มีค่า $O.D_{695}$ เท่ากับ 2.063

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแอสคอร์บิก y = 0.0194x

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิก

y คือ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร

แทนค่า 2.063 = 0.0194x

X = 2.063 / 0.0194

X = 106.34 ไมโครกรัมของกรดแอสคอร์บิก

ดังนั้น ปริมาณกรดแอสคอร์บิกในสาร eugenol ที่ความเข้มข้น 0.00064332 โมล ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแอสคอร์บิกเท่ากับ 106.34 ไมโครกรัมของกรดแอสคอร์บิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

eugenol 1 โมล เทียบเท่ากับกรดแอสคอร์บิก เท่ากับ $\frac{106.34\ \mu g}{0.00064332\ mol}$

เท่ากับ 165,298.7626 µg

หรือ เท่ากับ $\frac{165,298.7626\ \mu g}{1000}$

เท่ากับ 165.30 mg

ดังนั้น สาร eugenol มีปริมาณกรดแอสคอร์บิกที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 165,298.7626 ไมโครกรัมของกรดแอสคอร์บิกต่อโมล หรือ 165.30 มิลลิกรัมของกรดแอสคอร์บิกต่อโมล

3. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพร

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 150, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับการใช้สารสกัดสมุนไพร ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลอง จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลอง จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ

$$\frac{1,000\ \mu g \times 0.1\ ml}{1\ ml} = 100\ \mu g$$

<u>สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

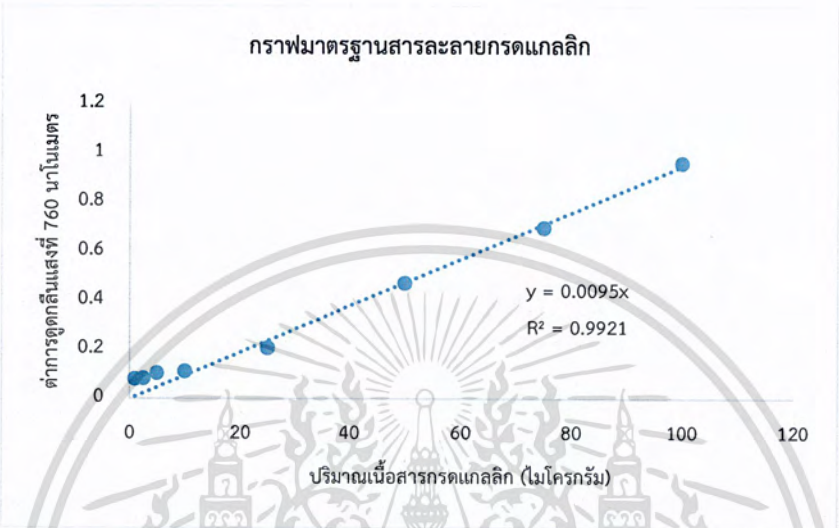
ในหลอดทดลอง จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลอง จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ

$$\frac{750\ \mu g \times 0.1\ ml}{1\ ml} = 75\ \mu g$$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ในการทดลองปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แกลลิกอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 100, 75, 50, 25, 10, 5, 2.5 และ 1 ไมโครกรัมตามลำดับ นำมาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาตรเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้



รูปที่ 2 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ตัวอย่างที่ 3.1 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรจากอบเชย คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของสารสกัดสมุนไพรจากอบเชย แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายคาเทชิน ดังนี้

สารสกัดสมุนไพรจากอบเชย มีค่า $O.D_{760}$ เท่ากับ 0.321

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

$$y = 0.0095x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

แทนค่า

$$0.321 = 0.0095x$$

$$x = \frac{0.321}{0.0095}$$

$$x = 33.789 \text{ ไมโครกรัมของกรดแกลลิก}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบจากสมุนไพร ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดสมุนไพร 0.1 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ 33.789 ไมโครกรัม

สารสกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ $\frac{33.789\ \mu g \times 1\ mg}{0.1\ mg}$

เท่ากับ 337.894 µg GAE

สารสกัด 1,000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ 337.894 x 1,000

เท่ากับ 337,894 µg

หรือเท่ากับ 337,894 / 1,000 เท่ากับ 337.891 mg

ดังนั้น สารสกัดสมุนไพรจากอบเชยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 337.89 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

ตัวอย่างที่ 3.2 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารบริสุทธิ์ eugenol คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของสารบริสุทธิ์ eugenol แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายคาเทชิน ดังนี้

สารบริสุทธิ์ eugenol มีค่า $O.D_{760}$ เท่ากับ 4.000

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

$$y = 0.0095x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

แทนค่า $4.000 = 0.0095x$

$$x = \frac{4.000}{0.0095}$$

$x = 421.053$ ไมโครกรัมของกรดแกลลิก

โดยการทดลองจะใช้สารบริสุทธิ์ eugenol ความเข้มข้น 6.4332 โมลต่อลิตร ที่ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารบริสุทธิ์ เท่ากับ 0.00064332 โมล ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อโมลของสารบริสุทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารบริสุทธิ์ 0.1 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ 421.053 ไมโครกรัม

สารบริสุทธิ์ 1 mol จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ $\frac{421.053\ \mu g \times 1000 ml}{6.4332\ mol \times 0.1 ml}$

เท่ากับ 654499.5206 µg GAE/mol

เท่ากับ 654499.5206 /1,000

เท่ากับ 654.4995206 mg/mol

ดังนั้น สารบริสุทธิ์ eugenol มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 654.50 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อโมลของสารบริสุทธิ์

ตัวอย่างที่ 3.3 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายคาเทชิน ดังนี้

สารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde มีค่า $O.D_{760}$ เท่ากับ 0.914

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

$$y = 0.0095x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

แทนค่า $0.914 = 0.0095x$

$$x = \frac{0.914}{0.0095}$$

$$x = 96.211 \text{ ไมโครกรัมของกรดแกลลิก}$$

โดยการทดลองจะใช้สารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ความเข้มข้น 7.5477 โมลต่อลิตร ที่ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารบริสุทธิ์ เท่ากับ 0.00075477 โมล ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อโมลของสารบริสุทธิ์

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารบริสุทธิ์ 0.1 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ 96.211 ไมโครกรัม

สารบริสุทธิ์ 1 mol จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ $\frac{96.211\ \mu g \times 1000 ml}{7.5477\ mol \times 0.1 ml}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ 127469.9926 µg GAE/mol

เท่ากับ 127469.9926/1,000

เท่ากับ 127.4699926 mg/mol

ดังนั้น สารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 127.47 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อโมลของสารบริสุทธิ์

4. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพร

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ สารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 150, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับการใช้สารสกัดสมุนไพร ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จะมีเนื้อสารของคาเทชินดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลอง จะมีสารละลายมาตรฐานคาเทชินความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลอง จะมีเนื้อสารของคาเทชิน เท่ากับ

$$\frac{1{,}000\ \mu g\ \times 0.225\ ml}{1\ ml} = 250\ \mu g$$

<u>สารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

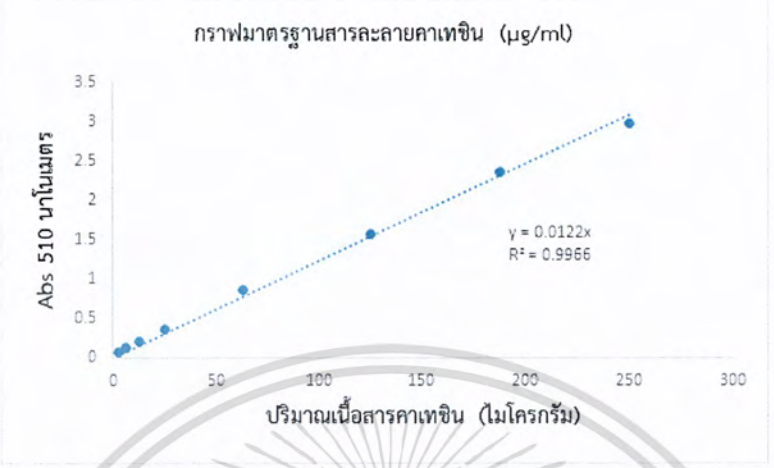
ในหลอดทดลอง จะมีสารละลายมาตรฐานคาเทชินความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลอง จะมีเนื้อสารของคาเทชิน เท่ากับ

$$\frac{750\ \mu g\ \times 0.25\ ml}{1\ ml} = 187.5\ \mu g$$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานคาเทชินที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ในการทดลองปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของคาเทชินอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 250, 187.5, 125, 62.5, 25, 12.5, 6.5 และ 2.5 ไมโครกรัมตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำมาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรกับปริมาตรเนื้อสารของคาเทชินในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้



รูปที่ 3 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของคาเทชินในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ตัวอย่างที่ 4.1 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรจากอบเชย คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารสกัดสมุนไพรจากอบเชย แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายคาเทชิน ดังนี้

สารสกัดสมุนไพรจากอบเชย มีค่า $O.D_{510}$ เท่ากับ 0.779

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายคาเทชิน

$$y = 0.0122x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของคาเทชิน (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

แทนค่า

$$0.779 = 0.0122x$$

$$x = \frac{0.779}{0.0122}$$

$$x = 63.852 \text{ ไมโครกรัมของคาเทชิน}$$

โดยการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบจากสมุนไพร ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.25 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดสมุนไพร 0.25 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของคาเทชินเท่ากับ 63.852 ไมโครกรัม

สารสกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของคาเทชิน เท่ากับ $\frac{63.852\ \mu g \times 1\ mg}{0.25\ mg}$

เท่ากับ 255.41 µg CE

ถ้า สารสกัด 1,000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของคาเทชิน เท่ากับ 255,410 µg

หรือ เท่ากับ 255,410 / 1000 เท่ากับ 255.41 mg

ดังนั้น สารสกัดสมุนไพรจากอบเชยมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 255.41 มิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารสกัด

ตัวอย่างที่ 4.2 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารบริสุทธิ์ eugenol คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารบริสุทธิ์ eugenol แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายคาเทชิน ดังนี้

สารบริสุทธิ์ eugenol มีค่า $O.D_{510}$ เท่ากับ 4.000

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายคาเทชิน

$$y = 0.0122x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของคาเทชิน (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

แทนค่า $4.000 = 0.0122x$

$$x = \frac{4.000}{0.0122}$$

$x = 327.869$ ไมโครกรัมของคาเทชิน

โดยการทดลองจะใช้สารบริสุทธิ์ ความเข้มข้น 6.4332 โมลต่อลิตร ที่ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารบริสุทธิ์ เท่ากับ 0.0016083 โมล ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารบริสุทธิ์

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารบริสุทธิ์ 0.25 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของคาเทชินเท่ากับ 327.869 ไมโครกรัม

สารบริสุทธิ์ 1 mol จะมีปริมาณเนื้อสารของคาเทชิน เท่ากับ $\frac{327.869\ \mu g \times 1000\ ml}{6.4332\ mol \times 0.25\ \text{ml}}$

เท่ากับ 203860.5064 µg GAE/mol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ 203860.5064 /1,000

เท่ากับ 203.8605064 mg/mol

ดังนั้น สารบริสุทธิ์ Eugenol มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 203.861 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อโมลของสารบริสุทธิ์

ตัวอย่างที่ 4.3 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายคาเทชิน ดังนี้

สารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde มีค่า $O.D_{510}$ เท่ากับ 1.454

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายคาเทชิน

$$y = 0.0122x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของคาเทชิน (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

แทนค่า

$$1.454 = 0.0122x$$

$$x = \frac{1.454}{0.0122}$$

$$x = 119.180 \text{ ไมโครกรัมของคาเทชิน}$$

โดยการทดลองจะใช้สารบริสุทธิ์ ความเข้มข้น 7.5477 โมลต่อลิตร ที่ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารบริสุทธิ์ เท่ากับ 0.001886925 โมล ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของคาเทชินต่อกรัมของสารบริสุทธิ์

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารบริสุทธิ์ 0.25 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของคาเทชินเท่ากับ 119.180 ไมโครกรัม

สารบริสุทธิ์ 1 mol จะมีปริมาณเนื้อสารของคาเทชิน เท่ากับ $\frac{119.180\ \mu g \times 1000\ ml}{7.5477\ mol \times 0.25\ \text{ml}}$

เท่ากับ 63161.1367µg GAE/mol

เท่ากับ 63161.1367 /1,000

เท่ากับ 63.1611367 mg/mol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น สารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 63.161 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อโมลของสารบริสุทธิ์

5. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพร

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดสมุนไพร โดยในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ดังนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จะมีเนื้อสารของกรดแทนนิก ดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลอง จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ดังนั้นในหลอดทดลอง จะมีเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ

$$\frac{1{,}000\ \mu g\ \times 50 \mu l}{1\ ml} = 50\ \mu g$$

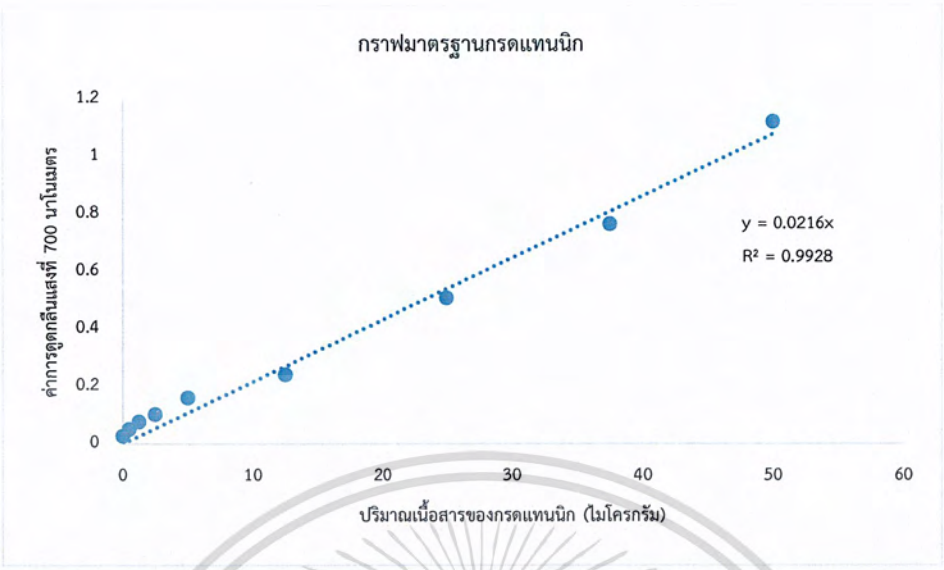
<u>สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลอง จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ดังนั้นในหลอดทดลอง จะมีเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ

$$\frac{750\ \mu g\ \times 50\ \mu l}{1\ ml} = 37.5\ \mu g$$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ในการทดลองปริมาตร 50 ไมโครลิตร จะมีเนื้อสารของกรดแทนนิกอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 50, 37.5, 25, 12.5, 5, 2.5, 1.25 และ 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำมาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรกับปริมาตรเนื้อสารของกรดแทนนิกในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิกในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด

ตัวอย่างที่ 5.1 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรจากว่านน้ำ คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ของสารสกัดสมุนไพรจากว่านน้ำแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิก ดังนี้

สารสกัดสมุนไพรจากว่านน้ำ มีค่า $O.D_{700}$ เท่ากับ 0.115

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิก

$$y = 0.0216x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

แทนค่า $0.115 = 0.02163x$

$x = 0.115 / 0.0216$

$x = 5.324$ ไมโครกรัมของกรดแทนนิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบจากสมุนไพร ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.05 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบแทนนินในสารสกัดสมุนไพร 0.05 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิกเท่ากับ 5.324 ไมโครกรัม

สารสกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ $\frac{5.324\ \mu g \times 1\ mg}{0.05\ mg}$

เท่ากับ 106.48 µg

สารสกัด 1,000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ 106.48 × 1,000

เท่ากับ 106,480 µg

หรือ เท่ากับ 106,480 / 1000 เท่ากับ 106.48 mg

ดังนั้น สารสกัดสมุนไพรจากว่านน้ำมีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 106.48 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อของสารสกัด

ตัวอย่างที่ 5.2 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ของสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิก ดังนี้

ปิเปต cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 7.5477 โมลต่อลิตร มา 50 ไมโครลิตร

1 ลิตร มี 7.5477 โมล

1,000,000 ไมโครลิตร มี 7.5477 โมล

ดังนั้น 50 ไมโครลิตร มี $\frac{7.5477\ x\ 50}{1{,}000{,}000}$ = 3.77385×10^{-4} โมล

สารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde มีค่า $O.D_{700}$ เท่ากับ 0.726

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิก y = 0.0216x

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

แทนค่า 0.726 = 0.02163x

x = 0.726 / 0.0216

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

x = 33.61 ไมโครกรัมของกรดแทนนิก

โดยการทดลองจะใช้สารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ความเข้มข้น 7.5477 โมลต่อลิตรที่ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบแทนนินในสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde 0.05 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิกเท่ากับ 33.61 ไมโครกรัม

สารบริสุทธิ์ 1 mol จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ $\frac{33.61\ x\ 20,000}{7.5477\ x\ 1,000}$

เท่ากับ 89.0602 mg

ดังนั้น สารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde มีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 89.0602 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อโมลของสารบริสุทธิ์

ตัวอย่างที่ 5.3 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารบริสุทธิ์ eugenol คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ของสารบริสุทธิ์ eugenol แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิก ดังนี้

ปิเปต eugenol ที่ความเข้มข้น 7.5477 โมลต่อลิตร มา 50 ไมโครลิตร

1 ลิตร มี 6.4332 โมล

1,000,000 ไมโครลิตร มี 6.4332 โมล

ดังนั้น 50 ไมโครลิตร มี $\frac{6.4332\ x\ 50}{1,000,000}$ = 3.2166×10^{-4} โมล

สารบริสุทธิ์ eugenol มีค่า $O.D_{700}$ เท่ากับ 0.731

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิก

y = 0.0216x

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

แทนค่า 0.731 = 0.02163x

x = 0.731 / 0.0216

x = 33.84 ไมโครกรัมของกรดแทนนิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยการทดลองจะใช้สารบริสุทธิ์ eugenol ความเข้มข้น 6.4332 โมลต่อลิตรที่ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารบริสุทธิ์ eugenol เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบแทนนินในสารบริสุทธิ์ eugenol 0.05 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิกเท่ากับ 33.84 ไมโครกรัม

สารบริสุทธิ์ 1 mol จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ $\frac{33.84\ x\ 20{,}000}{6.4332\ x\ 1{,}000}$

เท่ากับ 105.2043 mg

ดังนั้น สารบริสุทธิ์ eugenol มีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 105.2043 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อโมลของสารบริสุทธิ์

6. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพร

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ทั้งหมด สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ สารละลายมาตรฐานอะโทรพีนที่ความเข้มข้น 100, 80 และ 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดสมุนไพร โดยในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานอะโทรพีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานอะโทรพีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ จะมีปริมาณเนื้อสาร ดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานมีอะโทรพีนที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม</u>

ในหลอดทดลอง จะมีสารละลายมาตรฐานอะโทรพีนความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลอง จะมีเนื้อสารของอพโทรพีน เท่ากับ

$$\frac{100\ \mu g}{1\ ml} X\ 1\ ml = 100\ \mu g$$

<u>สารละลายมาตรฐานมีอะโทรพีนที่ความเข้มข้น 80 ไมโครกรัม</u>

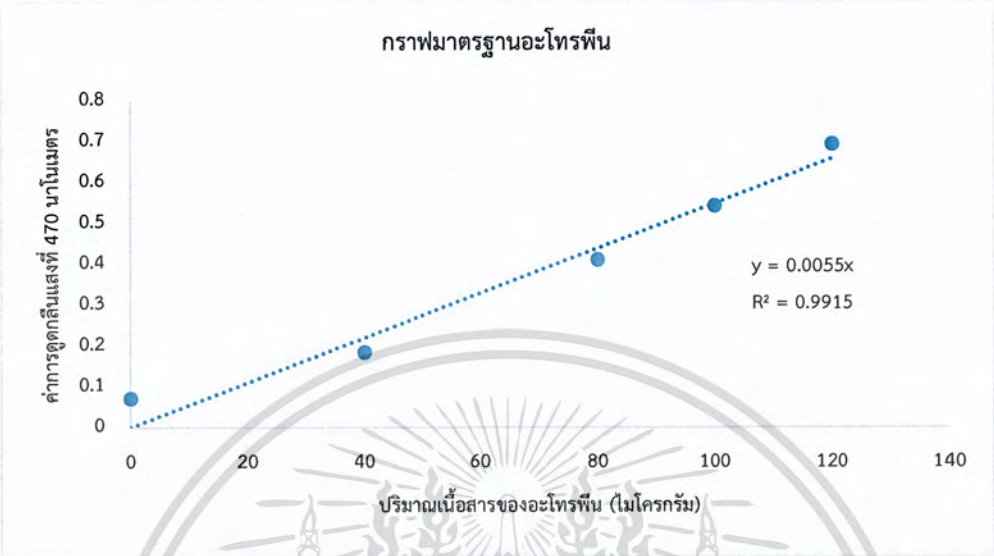
ในหลอดทดลอง จะมีสารละลายมาตรฐานอะโทรพีนความเข้มข้น 80 ไมโครกรัม ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลอง จะมีเนื้อสารของอะโทรพีน เท่ากับ

$$\frac{100\ \mu g}{1\ ml} X\ 1ml = 80\ \mu g$$

ดังนั้นสารละลายอะโทรพีนที่ความเข้มข้น 100, 80 และ 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ในการทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของอะโทรพีนอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 100, 80 และ

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

40 ไมโครกรัม ตามลำดับ นำมาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตรกับปริมาตรเนื้อสารของอะโทรพีนในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้



รูปที่ 5 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของอะโทรพีนในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ทั้งหมด

ตัวอย่างที่ 6.1 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรจากกระเจี๊ยบแดง คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร ของสารสกัดสมุนไพรจากกระเจี๊ยบแดง แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายอะโทรพีน ดังนี้

สารสกัดสมุนไพรจากกระเจี๊ยบ มีค่า $O.D_{470}$ เท่ากับ 0.205

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายอะโทรพีน

$$y = 0.0055x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของอะโทรพีน (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

แทนค่า $0.205 = 0.0055x$

$x = 0.205/0.0055$

$x = 37.27$ ไมโครกรัมของอะโทรพีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบจากสมุนไพร ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของอะโทรพีนต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ในสารสกัดสมุนไพร 1 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของอะโทรพีนเท่ากับ 37.27 ไมโครกรัม

สารสกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของอะโทรพีน เท่ากับ $\frac{37.27\ \mu g \times 1\ mg}{1\ mg}$

เท่ากับ 37.27 µg

สารสกัด 1,000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของอะโทรพีน เท่ากับ 37.27 × 1,000

เท่ากับ 37,270 µg

หรือ เท่ากับ 37,270 / 1000 เท่ากับ 37.27 mg

ดังนั้น สารสกัดสมุนไพรจากกระเจี๊ยบแดงมีปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 37.27 มิลลิกรัมของอะโทรพีนต่อกรัมของสารสกัด

ตัวอย่างที่ 6.2 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ทั้งหมดของสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร ของสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายอะโทรพีน ดังนี้

ปิเปต cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 7.5477 โมลต่อลิตร มา 1,000 ไมโครลิตร

1 ลิตร มี 7.5477 โมล

1,000,000 ไมโครลิตร มี 7.5477 โมล

ดังนั้น 1,000 ไมโครลิตร มี $\frac{7.5477\ x\ 1{,}000}{1{,}000{,}000}$ = 7.5477×10^{-3} โมล

สารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde มีค่า $O.D_{470}$ เท่ากับ 0.421

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายอะโทรพีน y = 0.0055x

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของอะโทรพีน (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

แทนค่า 0.421 = 0.0055x

x = 0.421 / 0.0055

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

x = 76.54 ไมโครกรัมของอะโทรพีน

โดยการทดลองจะใช้สารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ความเข้มข้น 7.5477 โมลต่อลิตรที่ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde เท่ากับ 1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของอะโทรพีนต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ในสารสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde 1 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของอะโทรพีนเท่ากับ 76.54 ไมโครกรัม

สารบริสุทธิ์ 1 mol จะมีปริมาณเนื้อสารของอะโทรพีน เท่ากับ $\frac{76.54\ x\ 1{,}000}{7.5477\ x\ 1{,}000}$

เท่ากับ 10.1408 mg

ดังนั้น สารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde มีปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 10.1408 มิลลิกรัมของอะโทรพีนต่อโมลของสารบริสุทธิ์

ตัวอย่างที่ 6.3 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ทั้งหมดของสารบริสุทธิ์ eugenol คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร ของสารบริสุทธิ์ eugenol แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายอะโทรพีน ดังนี้

ปิเปต eugenol ที่ความเข้มข้น 7.5477 โมลต่อลิตร มา 1,000 ไมโครลิตร

1 ลิตร มี 6.4332 โมล

1,000,000 ไมโครลิตร มี 6.4332 โมล

ดังนั้น 1,000 ไมโครลิตร มี $\frac{6.4332\ x\ 1{,}000}{1{,}000{,}000} = 6.4332 \times 10^{-3}$ โมล

สารบริสุทธิ์ eugenol มีค่า $O.D_{470}$ เท่ากับ 0.451

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายอะโทรพีน y = 0.0055x

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของอะโทรพีน (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

แทนค่า 0.451 = 0.0055x

x = 0.451/0.0055

x = 82 ไมโครกรัมของอะโทรพีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยการทดลองจะใช้สารบริสุทธิ์ eugenol ความเข้มข้น 6.4332 โมลต่อลิตรที่ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารบริสุทธิ์ eugenol เท่ากับ 1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของอะโทรพีนต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ในสารสารบริสุทธิ์ eugenol 1 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของอะโทรพีนเท่ากับ 82 ไมโครกรัม

สารบริสุทธิ์ 1 mol จะมีปริมาณเนื้อสารของอะโทรพีน เท่ากับ $\frac{82 \text{ x } 1{,}000}{6.4332 \; x \; 1{,}000}$

เท่ากับ 12.7464 mg

ดังนั้น สารบริสุทธิ์ eugenol มีปริมาณสารประกอบแอลคาลอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 12.7464 มิลลิกรัมของอะโทรพีนต่อโมลของสารบริสุทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

วิธีการทดลองเพิ่มเติม

1. การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพร

1.1. การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธีการแพร่บนอาหารแข็ง (agar diffusion method)

การทดลองการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหาร ทำตามวิธีการของ Yim และคณะ, 2013 ซึ่งจะทำโดยการเทอาหาร Yeast Mannitol Agar (YMA) สำหรับเชื้อ *C. albicans* อาหาร Muller hinton agar (MHA) สำหรับเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* อาหาร De Man, rogosa and sharpe agar (MRS) สำหรับเชื้อ *L. plantarum* และ *L. casei* อาหาร columbia blood Agar ที่มีเลือด 5 % และวิตามินฮีมินและมีนาไดโอน สำหรับเชื้อ *P.gingivalis* ลงในเพลทให้มีความหนาประมาณ 4 มิลลิเมตร นำไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุ่มลงในหลอดของเชื้อที่ผ่านการปรับความขุ่นของ Mcfarland แล้วนำมาถู (swab) ลงบนอาหารให้ทั่วผิวหน้าอาหารในจานเพาะเชื้อ หมุนจานเพาะเชื้อ 60 องศาเพื่อทำการถู (swab) อีกครั้ง รอให้แห้งประมาณ 3-5 นาที หลังจากนั้นนำกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (whatman, Life sciences, UK) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาวางลงบนผิวหน้าอาหารให้ห่างกัน ประมาณ 2.4 เซนติเมตร จนทั่วจานเพาะเชื้อ หยดสารสกัดลงบนแผ่นกรอง แผ่นละ 15 ไมโครลิตร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อ *C. albicans เป็นเวลา 3 วัน* ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อ *E. coli S. aureus L. plantarum L. casei* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในสภาวะไร้อากาศ สำหรับเชื้อ *P. gingivalis* เป็นเวลา 15 วัน มีการใช้ยา fluconazole เป็นตัวควบคุมเชิงบวก สำหรับเชื้อ *C. albicans* และใช้ยา Chlorhexidine dichloromethane (CHD, Tokyo chemical industry, Japan) สำหรับเชื้อ *P. gingivalis* ตรวจผลโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้งในหน่วยมิลลิเมตร ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

1.2. การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธีเจือจางในอาหาร (agar dilution method)

การทดลองหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ของสารสกัดสมุนไพรไทยในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration หรือ MIC) ด้วยวิธี agar dilution ทำตามวิธีการของ Collins และคณะ (2001) โดยเริ่มจากทำการเจือจางสารสกัดจาก stock solution ที่ความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดสมุนไพรไทย (ตามตารางที่ 3.1) ปิเปตสารสกัดในปริมาตรที่แตกต่างกันในแต่ละระดับความเข้มข้น สารสกัดเมื่อรวมกับปริมาตรอาหาร จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายอยู่ในช่วง 5-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาคผนวกที่ ค.1) โดยปริมาตรรวมของสารสกัดเป็น 250 ไมโครลิตร จากนั้นใส่อาหารแข็ง columbia blood agar ที่มีเลือด 5% วิตามิน Menadione ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ hemin ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับเชื้อ *P. gingivalis* บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ใช้ยา chlorohexidine dihydrochloride (CHD) (Tokyo, chemical industry, Japan) ที่ความเข้มข้นสุดท้ายรวมปริมาตรอาหารอยู่ในช่วง 0.78-50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมเชิงบวก โดยทำตามวิธีข้างต้นแล้วใช้ยาแทนสารสกัดพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

1. การคำนวณหาปริมาณร้อยละของสารสกัด

จากปริมาณของผงสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง 45 กรัม (รวม 3 ฟลาสก์ ฟลาสก์ละ 15 กรัม) สามารถคำนวณหาปริมาณร้อยละของสารสกัดพืชต่าง ๆ ได้ดังนี้

$$\text{ปริมาณสารสกัดหยาบ} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดที่ได้ (กรัม)}}{\text{ปริมาณพืชที่ใช้ในการสกัด (กรัม)}} \times 100\%$$

$$\text{ปริมาณร้อยละของสารสกัดว่านน้ำ} = \frac{4.109 \text{ กรัม}}{45 \text{ กรัม}} \times 100\%$$

$$= 9.10\ \%$$

$$\text{ปริมาณร้อยละของสารสกัดข่าเล็ก} = \frac{5.031 \text{ กรัม}}{45 \text{ กรัม}} \times 100\%$$

$$= 11.2\ \%$$

$$\text{ปริมาณร้อยละของสารสกัดอบเชย} = \frac{9.056 \text{ กรัม}}{45 \text{ กรัม}} \times 100\%$$

$$= 20.12\ \%$$

$$\text{ปริมาณร้อยละของสารสกัดกระเจี๊ยบแดง} = \frac{12.98 \text{ กรัม}}{45 \text{ กรัม}} \times 100\%$$

$$= 28.84\ \%$$

$$\text{ปริมาณร้อยละของสารสกัดของขิง} = \frac{4.263 \text{ กรัม}}{45 \text{ กรัม}} \times 100\%$$

$$= 9.5\ \%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ปริมาณร้อยละของสารสกัดว่านน้ำการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธีการแพร่บนอาหารแข็ง(agar diffusion method)

ตารางที่ ฉ.2 สมบัติการยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธีการแพร่บนอาหารแข็ง (agar diffusion method)

สารสกัด	เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง (มิลลิเมตร)
	C. albicans
ว่านน้ำ	-[a]
ข่าเล็ก	-[a]
อบเชย	-[a]
กระเจียบแดง	-[a]
ขิง	-[a]
α-asarone	10.5
cinnamaldehyde	38
eugenol	38
fluconazole	32.5

หมายเหตุ : สารสกัดสมุนไพรไทยที่ใช้มีความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารบริสุทธิ์ α-asarone ที่ใช้มีความเข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร Cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 1.75 โมลต่อลิตร Eugenol ที่ความเข้มข้น 1.5 โมลต่อลิตร และยา Fluconazole ที่ใช้มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ; [a] ไม่พบการยับยั้ง

3. ผลการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านฟิล์มชีวภาพของ *C. albicans*

ตารางที่ ฉ.3 ผลการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านฟิล์มชีวภาพของ *C. albicans* เมื่อบ่มด้วยสารสกัดสมุนไพรและสารบริสุทธิ์

สาร	ความเข้มข้นสุดท้าย (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	% Biofilm inhibition ± SD
ว่านน้ำ		
0.30 MIC	3.76	92.52 ± 0.07[d]
ข่าเล็ก		
0.18 MIC	3.76	99.68 ± 0.14[a]
อบเชย		
0.94 MIC	3.76	98.62 ± 0.26[a]
กระเจียบแดง		
0.06 MIC	3.76	96.65 ± 0.14[c]
ขิง		
0.37 MIC	3.76	96.80 ± 0.16[c]
α-asarone		
4.1 MIC	1.30	99.18 ± 0.12[b]
cinnamaldehyde		
6.5 MIC	0.13	35.29 ± 0.16[f]
eugenol		
5.5 MIC	0.11	45.92 ± 0.14[h]
kaempferide		
0.38 MIC	0.038	49.18 ± 0.18[g]
galangin		
0.34 MIC	0.034	49.97 ± 0.18[e]
fluconazole	133.33	99.18 ± 0.08[b]

หมายเหตุ : [a,b,c] เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสารสกัดสมุนไพรและสารบริสุทธิ์ในการต้านฟิล์มชีวภาพ ที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับร้อยละ 95 โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

เอกสารนี้ถือเป็นลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือนำไปใช้ในการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ผลการศึกษาผลของความเข้มข้นของสารสกัดอบเชยและ cinnamaldehyde ต่อระยะเวลาในการทำลายเชื้อ *C. albicans* (time kill assay)

ตารางที่ ฉ.4 ผลของสารสกัดจากอบเชยและ cinnamaldehyde ต่อการทำลายเชื้อ *C. albicans* ใน Phosphate buffer saline เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ชั่วโมงที่	จำนวนเชื้อ (log_{10} CFU/ml) ± SD					
	Control	อบเชย			cinnamaldehyde	
		1 เท่า MIC	4 เท่า MIC	8 เท่า MIC	2 เท่า MIC	4 เท่า MIC
0	7.40 ± 0.00^{A}	7.40 ± 0.00^{A}	7.40 ± 0.00^{A}	7.40 ± 0.00^{A}	7.40 ± 0.00^{A}	7.40 ± 0.00^{A}
2	6.26 ± 0.94^{aA}	5.93 ± 0.79^{aB}	5.82 ± 0.75^{aB}	5.59 ± 0.57^{aB}	5.69 ± 0.67^{aB}	5.49 ± 0.67^{aB}
4	6.32 ± 0.91^{aA}	5.80 ± 0.79^{aB}	5.66 ± 0.73^{aB}	5.38 ± 0.49^{aB}	5.49 ± 0.60^{aB}	5.26 ± 0.56^{aB}
6	6.36 ± 0.94^{aA}	5.62 ± 0.67^{abB}	5.49 ± 0.60^{abB}	5.09 ± 0.27^{bB}	5.29 ± 0.58^{abB}	4.98 ± 0.45^{bB}
24	6.42 ± 0.95^{aA}	5.20 ± 0.48^{bB}	5.26 ± 0.50^{bB}	4.87 ± 0.24^{bB}	4.89 ± 0.52^{bB}	4.73 ± 0.29^{bB}

หมายเหตุ : ^{a,b,c} เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสารสกัดสมุนไพรและสารบริสุทธิ์ในการลดจำนวนเชื้อต่อชั่วโมง ; ^{A,B,C} เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างจำนวนเชื้อในแต่ละชั่วโมงต่อสารสกัดสมุนไพรและสารบริสุทธิ์ ที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับร้อยละ 95 โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของน้ำยาบ้วนปากด้วยวิธีการแพร่บนอาหารแข็ง (agar diffusion method)

ตารางที่ ฉ.5 ผลของน้ำยาบ้วนปากที่เติมสารสกัดสมุนไพรแบบผสมต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในช่องปาก

สารสกัด (ความเข้มข้นร้อยละ 10)	pH	เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง (มิลลิเมตร) ± S.D					
		C. albicans	*E. coli*	*L. casei*	*L. plantarum*	*S. aureus*	*P. gingivalis*
ข่า + ว่านน้ำ	4.09 ± 0.01	6.00 ± 0.00	6.67 ± 0.58^{b}	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00	15.00 ± 1.00^{a}	6.00 ± 0.00
ข่า + อบเชย	4.12 ± 0.01	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00^{b}	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00	11.67 ± 1.15^{b}	6.00 ± 0.00
ข่า + กระเจี๊ยบ	2.30 ± 0.10	6.00 ± 0.00	8.00 ± 1.00^{a}	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00	7.67 ± 0.58^{c}	6.00 ± 0.00
ข่า + ขิง	4.34 ± 0.01	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00^{b}	6.00 ± 0.00	6.00 ± 0.00	7.00 ± 1.73^{c}	6.00 ± 0.00

หมายเหตุ : ^{a,b,c} เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้งในแต่ละความเข้มข้นของน้ำยาบ้วนปากที่เติมสารสกัดสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดต่อเชื้อ ที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับร้อยละ 95 โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Tes

ภาคผนวก ช

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

1. การรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans*

1.1 ผลของสารสกัดอบเชยและสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ต่อการรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans* ในชั่วโมงที่ 0

Descriptives

Result

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	677.8333	2.30940	1.33333	672.0965	683.5702	676.50	680.50
อบเชย 1 เท่า MIC	3	696.1667	5.77350	3.33333	681.8245	710.5088	689.50	699.50
อบเชย 4 เท่า MIC	3	707.5000	2.59808	1.50000	701.0460	713.9540	706.00	710.50
อบเชย 8 เท่า MIC	3	728.5000	4.33013	2.50000	717.7434	739.2566	726.00	733.50
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3	675.6667	2.02073	1.16667	670.6469	680.6864	674.50	678.00
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3	667.0000	7.79423	4.50000	647.6381	686.3619	662.50	676.00
Total	18	692.1111	22.10241	5.20959	681.1198	703.1024	662.50	733.50

ANOVA

Result

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8046.778	5	1609.356	74.854	.000
Within Groups	258.000	12	21.500		
Total	8304.778	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result						
Duncan[a]						
		Subset for alpha = 0.05				
Sample	N	1	2	3	4	5
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3	667.0000				
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3		675.6667			
control	3		677.8333			
อบเชย 1 เท่า MIC	3			696.1667		
อบเชย 4 เท่า MIC	3				707.5000	
อบเชย 8 เท่า MIC	3					728.5000
Sig.		1.000	.578	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1.2 ผลของสารสกัดอบเชยและสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ต่อการรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans* ในชั่วโมงที่ 2

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	687.8333	4.04145	2.33333	677.7938	697.8729	685.50	692.50
อบเชย 1 เท่า MIC	3	716.5000	6.92820	4.00000	699.2894	733.7106	708.50	720.50
อบเชย 4 เท่า MIC	3	753.0000	1.73205	1.00000	748.6973	757.3027	752.00	755.00
อบเชย 8 เท่า MIC	3	763.6667	4.61880	2.66667	752.1929	775.1404	761.00	769.00
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3	701.0000	2.59808	1.50000	694.5460	707.4540	698.00	702.50
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3	686.3333	6.63953	3.83333	669.8398	702.8268	682.50	694.00
Total	18	718.0556	31.45720	7.41453	702.4123	733.6989	682.50	769.00

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16543.444	5	3308.689	142.309	.000
Within Groups	279.000	12	23.250		
Total	16822.444	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result						
Duncan[a]						
		Subset for alpha = 0.05				
Sample	N	1	2	3	4	5
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3	686.3333				
control	3	687.8333				
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3		701.0000			
อบเชย 1 เท่า MIC	3			716.5000		
อบเชย 4 เท่า MIC	3				753.0000	
อบเชย 8 เท่า MIC	3					763.6667
Sig.		.710	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1.3 ผลของสารสกัดอบเชยและสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ต่อการรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans* ในชั่วโมงที่ 4

Descriptives								
Result								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
control	3	689.1667	5.77350	3.33333	674.8245	703.5088	682.50	692.50
อบเชย 1 เท่า MIC	3	718.3333	4.04145	2.33333	708.2938	728.3729	716.00	723.00
อบเชย 4 เท่า MIC	3	765.5000	1.73205	1.00000	761.1973	769.8027	764.50	767.50
อบเชย 8 เท่า MIC	3	795.1667	5.77350	3.33333	780.8245	809.5088	788.50	798.50
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3	712.5000	2.59808	1.50000	706.0460	718.9540	711.00	715.50
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3	719.6667	2.30940	1.33333	713.9298	725.4035	717.00	721.00
Total	18	733.3889	36.90989	8.69974	715.0340	751.7437	682.50	798.50

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22963.611	5	4592.722	280.948	.000
Within Groups	196.167	12	16.347		
Total	23159.778	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result					
Duncan[a]					
		Subset for alpha = 0.05			
Sample	N	1	2	3	4
control	3	689.1667			
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3		712.5000		
อบเชย 1 เท่า MIC	3		718.3333		
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3		719.6667		
อบเชย 4 เท่า MIC	3			765.5000	
อบเชย 8 เท่า MIC	3				795.1667
Sig.		1.000	.060	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

1.4 ผลของสารสกัดอบเชยและสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ต่อการรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans* ในชั่วโมงที่ 6

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	664.3333	3.17543	1.83333	656.4451	672.2215	662.50	668.00
อบเชย 1 เท่า MIC	3	728.8333	5.48483	3.16667	715.2083	742.4584	722.50	732.00
อบเชย 4 เท่า MIC	3	811.5000	.86603	.50000	809.3487	813.6513	810.50	812.00
อบเชย 8 เท่า MIC	3	829.0000	1.73205	1.00000	824.6973	833.3027	828.00	831.00
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3	739.3333	4.61880	2.66667	727.8596	750.8071	734.00	742.00
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3	735.5000	5.19615	3.00000	722.5920	748.4080	732.50	741.50
Total	18	751.4167	56.64680	13.35178	723.2469	779.5865	662.50	831.00

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	54366.125	5	10873.225	707.202	.000
Within Groups	184.500	12	15.375		
Total	54550.625	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result						
Duncan[a]						
		Subset for alpha = 0.05				
Sample	N	1	2	3	4	5
control	3	664.3333				
อบเชย 1 เท่า MIC	3		728.8333			
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3		735.5000	735.5000		
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3			739.3333		
อบเชย 4 เท่า MIC	3				811.5000	
อบเชย 8 เท่า MIC	3					829.0000
Sig.		1.000	.059	.254	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

1.5 ผลของสารสกัดอบเชยและสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ต่อการรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans* ในชั่วโมงที่ 24

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	681.8333	2.02073	1.16667	676.8136	686.8531	679.50	683.00
อบเชย 1 เท่า MIC	3	775.5000	7.79423	4.50000	756.1381	794.8619	771.00	784.50
อบเชย 4 เท่า MIC	3	875.0000	6.92820	4.00000	857.7894	892.2106	867.00	879.00
อบเชย 8 เท่า MIC	3	916.6667	5.48483	3.16667	903.0416	930.2917	913.50	923.00
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3	775.8333	6.35085	3.66667	760.0569	791.6097	768.50	779.50
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3	760.0000	.86603	.50000	757.8487	762.1513	759.00	760.50
Total	18	797.4722	79.78067	18.80448	757.7982	837.1462	679.50	923.00

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	107836.236	5	21567.247	703.280	.000
Within Groups	368.000	12	30.667		
Total	108204.236	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result						
Duncan[a]						
		Subset for alpha = 0.05				
Sample	N	1	2	3	4	5
control	3	681.8333				
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3		760.0000			
อบเชย 1 เท่า MIC	3			775.5000		
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3			775.8333		
อบเชย 4 เท่า MIC	3				875.0000	
อบเชย 8 เท่า MIC	3					916.6667
Sig.		1.000	1.000	.942	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

1.6 ผลของ control ต่อการรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans* ในแต่ละชั่วโมง

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0 hrs	3	677.8333	2.30940	1.33333	672.0965	683.5702	676.50	680.50
2 hrs	3	687.8333	4.04145	2.33333	677.7938	697.8729	685.50	692.50
4 hrs	3	689.1667	5.77350	3.33333	674.8245	703.5088	682.50	692.50
6 hrs	3	664.3333	3.17543	1.83333	656.4451	672.2215	662.50	668.00
24 hrs	3	681.8333	2.02073	1.16667	676.8136	686.8531	679.50	683.00
Total	15	680.2000	9.76290	2.52077	674.7935	685.6065	662.50	692.50

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1196.067	4	299.017	21.616	.000
Within Groups	138.333	10	13.833		
Total	1334.400	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result					
Duncan[a]					
		Subset for alpha = 0.05			
Sample	N	1	2	3	4
6 hrs	3	664.3333			
0 hrs	3		677.8333		
24 hrs	3		681.8333	681.8333	
2 hrs	3			687.8333	687.8333
4 hrs	3				689.1667
Sig.		1.000	.217	.076	.670
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

1.7 ผลของสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 1 เท่า MIC ต่อการรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans* ในแต่ละชั่วโมง

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0 hrs	3	696.1667	5.77350	3.33333	681.8245	710.5088	689.50	699.50
2 hrs	3	716.5000	6.92820	4.00000	699.2894	733.7106	708.50	720.50
4 hrs	3	718.3333	4.04145	2.33333	708.2938	728.3729	716.00	723.00
6 hrs	3	728.8333	5.48483	3.16667	715.2083	742.4584	722.50	732.00
24 hrs	3	775.5000	7.79423	4.50000	756.1381	794.8619	771.00	784.50
Total	15	727.0667	27.84130	7.18859	711.6487	742.4847	689.50	784.50

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10474.933	4	2618.733	69.462	.000
Within Groups	377.000	10	37.700		
Total	10851.933	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result					
Duncan[a]					
Sample	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0 hrs	3	696.1667			
2 hrs	3		716.5000		
4 hrs	3		718.3333	718.3333	
6 hrs	3			728.8333	
24 hrs	3				775.5000
Sig.		1.000	.722	.063	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

1.8 ผลของสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 4 เท่า MIC ต่อการรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans* ในแต่ละชั่วโมง

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0 hrs	3	707.5000	2.59808	1.50000	701.0460	713.9540	706.00	710.50
2 hrs	3	753.0000	1.73205	1.00000	748.6973	757.3027	752.00	755.00
4 hrs	3	765.5000	1.73205	1.00000	761.1973	769.8027	764.50	767.50
6 hrs	3	811.5000	.86603	.50000	809.3487	813.6513	810.50	812.00
24 hrs	3	875.0000	6.92820	4.00000	857.7894	892.2106	867.00	879.00
Total	15	782.5000	58.95973	15.22334	749.8492	815.1508	706.00	879.00

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	48544.500	4	12136.125	986.677	.000
Within Groups	123.000	10	12.300		
Total	48667.500	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result						
Duncan[a]						
		Subset for alpha = 0.05				
Sample	N	1	2	3	4	5
0 hrs	3	707.5000				
2 hrs	3		753.0000			
4 hrs	3			765.5000		
6 hrs	3				811.5000	
24 hrs	3					875.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

1.9 ผลของสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 8 เท่า MIC ต่อการรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans* ในแต่ละชั่วโมง

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0 hrs	3	728.5000	4.33013	2.50000	717.7434	739.2566	726.00	733.50
2 hrs	3	763.6667	4.61880	2.66667	752.1929	775.1404	761.00	769.00
4 hrs	3	795.1667	5.77350	3.33333	780.8245	809.5088	788.50	798.50
6 hrs	3	829.0000	1.73205	1.00000	824.6973	833.3027	828.00	831.00
24 hrs	3	916.6667	5.48483	3.16667	903.0416	930.2917	913.50	923.00
Total	15	806.6000	66.69927	17.22168	769.6632	843.5368	726.00	923.00

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	62070.100	4	15517.525	728.522	.000
Within Groups	213.000	10	21.300		
Total	62283.100	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result						
Duncan[a]						
		Subset for alpha = 0.05				
Sample	N	1	2	3	4	5
0 hrs	3	728.5000				
2 hrs	3		763.6667			
4 hrs	3			795.1667		
6 hrs	3				829.0000	
24 hrs	3					916.6667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

1.10 ผลของสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 2 เท่า MIC ต่อการรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans* ในแต่ละชั่วโมง

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0 hrs	3	675.6667	2.02073	1.16667	670.6469	680.6864	674.50	678.00
2 hrs	3	701.0000	2.59808	1.50000	694.5460	707.4540	698.00	702.50
4 hrs	3	712.5000	2.59808	1.50000	706.0460	718.9540	711.00	715.50
6 hrs	3	739.3333	4.61880	2.66667	727.8596	750.8071	734.00	742.00
24 hrs	3	775.8333	6.35085	3.66667	760.0569	791.6097	768.50	779.50
Total	15	720.8667	35.62577	9.19853	701.1378	740.5956	674.50	779.50

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17610.233	4	4402.558	277.764	.000
Within Groups	158.500	10	15.850		
Total	17768.733	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result						
Duncan[a]						
		Subset for alpha = 0.05				
Sample	N	1	2	3	4	5
0 hrs	3	675.6667				
2 hrs	3		701.0000			
4 hrs	3			712.5000		
6 hrs	3				739.3333	
24 hrs	3					775.8333
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

1.11 ผลของสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 4 เท่า MIC ต่อการรั่วของโปรตีนในเซลล์ของ *C. albicans* ในแต่ละชั่วโมง

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0 hrs	3	667.0000	7.79423	4.50000	647.6381	686.3619	662.50	676.00
2 hrs	3	686.3333	6.63953	3.83333	669.8398	702.8268	682.50	694.00
4 hrs	3	719.6667	2.30940	1.33333	713.9298	725.4035	717.00	721.00
6 hrs	3	735.5000	5.19615	3.00000	722.5920	748.4080	732.50	741.50
24 hrs	3	760.0000	.86603	.50000	757.8487	762.1513	759.00	760.50
Total	15	713.7000	34.87621	9.00500	694.3862	733.0138	662.50	760.50

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16753.067	4	4188.267	151.840	.000
Within Groups	275.833	10	27.583		
Total	17028.900	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result						
Duncan[a]						
Sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0 hrs	3	667.0000				
2 hrs	3		686.3333			
4 hrs	3			719.6667		
6 hrs	3				735.5000	
24 hrs	3					760.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.						

2. การยับยั้งการเติบโตของจุลินทรีย์ของน้ำยาบ้วนปากด้วยวิธีการแพร่บนอาหารแข็ง

2.1 ผลของน้ำยาบ้วนปากที่ผสมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และน้ำยาบ้วนปากทางการค้าต่อการยับยั้งเชื้อ *C. albicans*

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ว่านน้ำ 6%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ว่านน้ำ 8%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ว่านน้ำ 10%	3	6.6667	.57735	.33333	5.2324	8.1009	6.00	7.00
ข่าเล็ก 6%	3	6.5000	.50000	.28868	5.2579	7.7421	6.00	7.00
ข่าเล็ก 8%	3	7.0000	1.00000	.57735	4.5159	9.4841	6.00	8.00
ข่าเล็ก 10%	3	7.6667	.57735	.33333	6.2324	9.1009	7.00	8.00
อบเชย 6%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
อบเชย 8%	3	6.3333	.28868	.16667	5.6162	7.0504	6.00	6.50
อบเชย 10%	3	7.0000	.00000	.00000	7.0000	7.0000	7.00	7.00
กระเจี๊ยบแดง 6%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
กระเจี๊ยบแดง 8%	3	6.1667	.28868	.16667	5.4496	6.8838	6.00	6.50
กระเจี๊ยบแดง 10%	3	6.8333	.28868	.16667	6.1162	7.5504	6.50	7.00
ขิง 6%	3	6.8333	.28868	.16667	6.1162	7.5504	6.50	7.00
ขิง 8%	3	7.5000	.50000	.28868	6.2579	8.7421	7.00	8.00
ขิง 10%	3	8.3333	.57735	.33333	6.8991	9.7676	8.00	9.00
base	3	6.6667	.28868	.16667	5.9496	7.3838	6.50	7.00
C 20	3	11.3333	.57735	.33333	9.8991	12.7676	11.00	12.00
Listerine	3	9.5000	.50000	.28868	8.2579	10.7421	9.00	10.00
Total	54	7.1296	1.41149	.19208	6.7444	7.5149	6.00	12.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	98.593	17	5.800	29.826	.000
Within Groups	7.000	36	.194		
Total	105.593	53			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result								
Duncan[a]								
		Subset for alpha = 0.05						
Sample	N	1	2	3	4	5	6	7
ว่านน้ำ 6%	3	6.0000						
ว่านน้ำ 8%	3	6.0000						
อบเชย 6%	3	6.0000						
กระเจี๊ยบแดง 6%	3	6.0000						
กระเจี๊ยบแดง 8%	3	6.1667	6.1667					
อบเชย 8%	3	6.3333	6.3333					
ข่าเล็ก 6%	3	6.5000	6.5000					
ว่านน้ำ 10%	3	6.6667	6.6667	6.6667				
base	3	6.6667	6.6667	6.6667				
กระเจี๊ยบแดง 10%	3	6.8333	6.8333	6.8333				
ขิง 6%	3	6.8333	6.8333	6.8333				
ข่าเล็ก 8%	3		7.0000	7.0000	7.0000			
อบเชย 10%	3		7.0000	7.0000	7.0000			
ขิง 8%	3			7.5000	7.5000			
ข่าเล็ก 10%	3				7.6667	7.6667		
ขิง 10%	3					8.3333		
Listerine	3						9.5000	
C 20	3							11.3333
Sig.		.057	.054	.050	.098	.072	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.								
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.								

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ผลของน้ำยาบ้วนปากที่ผสมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และน้ำยาบ้วนปากทางการค้าต่อการยับยั้งเชื้อ *E. coli*

Descriptives

Result

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ว่านน้ำ 6%	3	10.6667	.57735	.33333	9.2324	12.1009	10.00	11.00
ว่านน้ำ 8%	3	11.3333	1.15470	.66667	8.4649	14.2018	10.00	12.00
ว่านน้ำ 10%	3	12.6667	1.15470	.66667	9.7982	15.5351	12.00	14.00
ข่าเล็ก 6%	3	10.0000	1.73205	1.00000	5.6973	14.3027	9.00	12.00
ข่าเล็ก 8%	3	10.6667	2.30940	1.33333	4.9298	16.4035	8.00	12.00
ข่าเล็ก 10%	3	14.3333	1.15470	.66667	11.4649	17.2018	13.00	15.00
อบเชย 6%	3	7.6667	.57735	.33333	6.2324	9.1009	7.00	8.00
อบเชย 8%	3	8.6667	.57735	.33333	7.2324	10.1009	8.00	9.00
อบเชย 10%	3	9.6667	.57735	.33333	8.2324	11.1009	9.00	10.00
กระเจี๊ยบแดง 6%	3	7.1667	.28868	.16667	6.4496	7.8838	7.00	7.50
กระเจี๊ยบแดง 8%	3	8.3333	.57735	.33333	6.8991	9.7676	8.00	9.00
กระเจี๊ยบแดง 10%	3	8.6667	.76376	.44096	6.7694	10.5640	8.00	9.50
ขิง 6%	3	10.0000	1.73205	1.00000	5.6973	14.3027	9.00	12.00
ขิง 8%	3	10.6667	1.15470	.66667	7.7982	13.5351	10.00	12.00
ขิง 10%	3	14.0000	2.64575	1.52753	7.4276	20.5724	12.00	17.00
Base	3	8.3333	.28868	.16667	7.6162	9.0504	8.00	8.50
C 20	3	11.6667	.57735	.33333	10.2324	13.1009	11.00	12.00
listerine	3	8.1667	.28868	.16667	7.4496	8.8838	8.00	8.50
Total	54	10.1481	2.27088	.30903	9.5283	10.7680	7.00	17.00

ANOVA

Result

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	220.315	17	12.960	8.803	.000
Within Groups	53.000	36	1.472		
Total	273.315	53			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result							
Duncan[a]							
		Subset for alpha = 0.05					
Sample	N	1	2	3	4	5	6
กระเจี๊ยบแดง 6%	3	7.1667					
อบเชย 6%	3	7.6667	7.6667				
Listerine	3	8.1667	8.1667				
กระเจี๊ยบแดง 8%	3	8.3333	8.3333	8.3333			
Base	3	8.3333	8.3333	8.3333			
อบเชย 8%	3	8.6667	8.6667	8.6667			
กระเจี๊ยบแดง 10%	3	8.6667	8.6667	8.6667			
อบเชย 10%	3		9.6667	9.6667	9.6667		
ข่าเล็ก 6%	3		10.0000	10.0000	10.0000		
ขิง 6%	3		10.0000	10.0000	10.0000		
ว่านน้ำ 6%	3			10.6667	10.6667	10.6667	
ข่าเล็ก 8%	3			10.6667	10.6667	10.6667	
ขิง 8%	3			10.6667	10.6667	10.6667	
ว่านน้ำ 8%	3				11.3333	11.3333	
C 20	3				11.6667	11.6667	
ว่านน้ำ 10%	3					12.6667	12.6667
ขิง 10%	3						14.0000
ข่าเล็ก 10%	3						14.3333
Sig.		.198	.050	.052	.090	.083	.120
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.							
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.							

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ผลของน้ำยาบ้วนปากที่ผสมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และน้ำยาบ้วนปากทางการค้าต่อการยับยั้งเชื้อ *L. casei*

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ว่านน้ำ 6%	3	8.6667	.57735	.33333	7.2324	10.1009	8.00	9.00
ว่านน้ำ 8%	3	9.8333	.28868	.16667	9.1162	10.5504	9.50	10.00
ว่านน้ำ 10%	3	10.0000	.50000	.28868	8.7579	11.2421	9.50	10.50
ข่าเล็ก 6%	3	7.6667	.57735	.33333	6.2324	9.1009	7.00	8.00
ข่าเล็ก 8%	3	8.0000	.50000	.28868	6.7579	9.2421	7.50	8.50
ข่าเล็ก 10%	3	8.8333	.28868	.16667	8.1162	9.5504	8.50	9.00
อบเชย 6%	3	8.6667	.57735	.33333	7.2324	10.1009	8.00	9.00
อบเชย 8%	3	8.8333	.76376	.44096	6.9360	10.7306	8.00	9.50
อบเชย 10%	3	10.3333	.57735	.33333	8.8991	11.7676	10.00	11.00
กระเจี๊ยบแดง 6%	3	6.5000	.50000	.28868	5.2579	7.7421	6.00	7.00
กระเจี๊ยบแดง 8%	3	9.0000	2.00000	1.15470	4.0317	13.9683	7.00	11.00
กระเจี๊ยบแดง 10%	3	10.0000	2.00000	1.15470	5.0317	14.9683	8.00	12.00
ขิง 6%	3	8.0000	.00000	.00000	8.0000	8.0000	8.00	8.00
ขิง 8%	3	8.8333	.76376	.44096	6.9360	10.7306	8.00	9.50
ขิง 10%	3	9.3333	.28868	.16667	8.6162	10.0504	9.00	9.50
base	3	6.8333	.28868	.16667	6.1162	7.5504	6.50	7.00
C 20	3	10.6667	1.52753	.88192	6.8721	14.4612	9.00	12.00
Listerine	3	6.8333	.28868	.16667	6.1162	7.5504	6.50	7.00
Total	54	8.7130	1.40619	.19136	8.3291	9.0968	6.00	12.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	76.801	17	4.518	5.808	.000
Within Groups	28.000	36	.778		
Total	104.801	53			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result					
Duncan[a]					
Sample	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
กระเจี๊ยบแดง 6%	3	6.5000			
Base	3	6.8333			
Listerine	3	6.8333			
ข่าเล็ก 6%	3	7.6667	7.6667		
ข่าเล็ก 8%	3	8.0000	8.0000		
ขิงเล็ก 6%	3	8.0000	8.0000		
ว่านน้ำ 6%	3		8.6667	8.6667	
อบเชย 6%	3		8.6667	8.6667	
ข่าเล็ก 10%	3		8.8333	8.8333	
อบเชย 8%	3		8.8333	8.8333	
ขิง 8%	3		8.8333	8.8333	
กระเจี๊ยบแดง 8%	3		9.0000	9.0000	9.0000
ขิง 10%	3		9.3333	9.3333	9.3333
ว่านน้ำ 8%	3			9.8333	9.8333
ว่านน้ำ 10%	3			10.0000	10.0000
กระเจี๊ยบแดง 10%	3			10.0000	10.0000
อบเชย 10%	3			10.3333	10.3333
C 20	3				10.6667
Sig.		.074	.056	.057	.050
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ผลของน้ำยาบ้วนปากที่ผสมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และน้ำยาบ้วนปากทางการค้าต่อการยับยั้งเชื้อ *L. plantarum*

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ว่านน้ำ 6%	3	6.8333	.57735	.33333	5.3991	8.2676	6.50	7.50
ว่านน้ำ 8%	3	7.3333	.28868	.16667	6.6162	8.0504	7.00	7.50
ว่านน้ำ 10%	3	7.6667	.57735	.33333	6.2324	9.1009	7.00	8.00
ข่าเล็ก 6%	3	7.8333	1.04083	.60093	5.2478	10.4189	7.00	9.00
ข่าเล็ก 8%	3	8.1667	.76376	.44096	6.2694	10.0640	7.50	9.00
ข่าเล็ก 10%	3	8.5000	.50000	.28868	7.2579	9.7421	8.00	9.00
อบเชย 6%	3	7.6667	.76376	.44096	5.7694	9.5640	7.00	8.50
อบเชย 8%	3	8.1667	.76376	.44096	6.2694	10.0640	7.50	9.00
อบเชย 10%	3	8.8333	2.08167	1.20185	3.6622	14.0045	6.50	10.50
กระเจี๊ยบแดง 6%	3	7.0000	.50000	.28868	5.7579	8.2421	6.50	7.50
กระเจี๊ยบแดง 8%	3	7.8333	.76376	.44096	5.9360	9.7306	7.00	8.50
กระเจี๊ยบแดง 10%	3	7.8333	.28868	.16667	7.1162	8.5504	7.50	8.00
ขิง 6%	3	7.8333	.76376	.44096	5.9360	9.7306	7.00	8.50
ขิง 8%	3	8.1667	1.25831	.72648	5.0409	11.2925	7.00	9.50
ขิง 10%	3	8.6667	.76376	.44096	6.7694	10.5640	8.00	9.50
Base	3	8.0000	1.00000	.57735	5.5159	10.4841	7.00	9.00
C 20	3	11.6667	1.04083	.60093	9.0811	14.2522	10.50	12.50
listerine	3	8.3333	.57735	.33333	6.8991	9.7676	8.00	9.00
Total	54	8.1296	1.24455	.16936	7.7899	8.4693	6.50	12.50

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	53.593	17	3.153	3.982	.000
Within Groups	28.500	36	.792		
Total	82.093	53			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result					
Duncan[a]					
		Subset for alpha = 0.05			
Sample	N	1	2	3	4
ว่านน้ำ 6%	3	6.8333			
กระเจี๊ยบแดง 6%	3	7.0000	7.0000		
ว่านน้ำ 8%	3	7.3333	7.3333	7.3333	
ว่านน้ำ 10%	3	7.6667	7.6667	7.6667	
อบเชย 6%	3	7.6667	7.6667	7.6667	
ข่าเล็ก 6%	3	7.8333	7.8333	7.8333	
กระเจี๊ยบแดง 8%	3	7.8333	7.8333	7.8333	
กระเจี๊ยบแดง 10%	3	7.8333	7.8333	7.8333	
ขิง 6%	3	7.8333	7.8333	7.8333	
base%	3	8.0000	8.0000	8.0000	
ข่าเล็ก 8%	3	8.1667	8.1667	8.1667	
อบเชย 8%	3	8.1667	8.1667	8.1667	
ขิง 8%	3	8.1667	8.1667	8.1667	
Listerine	3	8.3333	8.3333	8.3333	
ข่าเล็ก 10%	3	8.5000	8.5000	8.5000	
ขิง 10%	3		8.6667	8.6667	
อบเชย 10%	3			8.8333	
C 20	3				11.6667
Sig.		.063	.063	.094	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ผลของน้ำยาบ้วนปากที่ผสมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และน้ำยาบ้วนปากทางการค้าต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

Descriptives

Result

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ว่านน้ำ 6%	3	9.6667	1.52753	.88192	5.8721	13.4612	8.00	11.00
ว่านน้ำ 8%	3	13.3333	2.51661	1.45297	7.0817	19.5849	11.00	16.00
ว่านน้ำ 10%	3	16.0000	1.00000	.57735	13.5159	18.4841	15.00	17.00
ข่าเล็ก 6%	3	7.0000	.86603	.50000	4.8487	9.1513	6.50	8.00
ข่าเล็ก 8%	3	7.6667	1.04083	.60093	5.0811	10.2522	6.50	8.50
ข่าเล็ก 10%	3	8.5000	.50000	.28868	7.2579	9.7421	8.00	9.00
อบเชย 6%	3	8.6667	.28868	.16667	7.9496	9.3838	8.50	9.00
อบเชย 8%	3	9.5000	.50000	.28868	8.2579	10.7421	9.00	10.00
อบเชย 10%	3	9.8333	.57735	.33333	8.3991	11.2676	9.50	10.50
กระเจี๊ยบแดง 6%	3	6.8333	.28868	.16667	6.1162	7.5504	6.50	7.00
กระเจี๊ยบแดง 8%	3	7.1667	.57735	.33333	5.7324	8.6009	6.50	7.50
กระเจี๊ยบแดง 10%	3	7.6667	.57735	.33333	6.2324	9.1009	7.00	8.00
ขิง 6%	3	8.6667	.57735	.33333	7.2324	10.1009	8.00	9.00
ขิง 8%	3	9.3333	.76376	.44096	7.4360	11.2306	8.50	10.00
ขิง 10%	3	10.0000	.50000	.28868	8.7579	11.2421	9.50	10.50
Base	3	6.5000	.00000	.00000	6.5000	6.5000	6.50	6.50
C 20	3	15.0000	1.00000	.57735	12.5159	17.4841	14.00	16.00
Listerine	3	7.1667	.76376	.44096	5.2694	9.0640	6.50	8.00
Total	54	9.3611	2.81743	.38340	8.5921	10.1301	6.50	17.00

ANOVA

Result

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	388.875	17	22.875	25.869	.000
Within Groups	31.833	36	.884		
Total	420.708	53			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result								
Duncan[a]								
Sample	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
base	3	6.5000						
กระเจี๊ยบแดง 6%	3	6.8333	6.8333					
ข่าเล็ก 6%	3	7.0000	7.0000	7.0000				
กระเจี๊ยบแดง 8%	3	7.1667	7.1667	7.1667				
Listerine	3	7.1667	7.1667	7.1667				
ข่าเล็ก 8%	3	7.6667	7.6667	7.6667	7.6667			
กระเจี๊ยบแดง 10%	3	7.6667	7.6667	7.6667	7.6667			
ข่าเล็ก 10%	3		8.5000	8.5000	8.5000	8.5000		
อบเชย 6%	3			8.6667	8.6667	8.6667		
ขิง 6%	3			8.6667	8.6667	8.6667		
ขิง 8%	3				9.3333	9.3333		
อบเชย 8%	3					9.5000		
ว่านน้ำ 6%	3					9.6667		
อบเชย 10%	3					9.8333		
ขิง 10%	3					10.0000		
ว่านน้ำ 8%	3						13.3333	
C 20	3							15.0000
ว่านน้ำ 10%	3							16.0000
Sig.		.197	.066	.069	.063	.101	1.000	.201
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.								
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.								

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 ผลของน้ำยาบ้วนปากที่ผสมสารสกัดสมุนไพรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และน้ำยาบ้วนปากทางการค้าต่อการยับยั้งเชื้อ *P. gingivalis*

Descriptives								
Result								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
ว่านน้ำ 6%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ว่านน้ำ 8%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ว่านน้ำ 10%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ข่าเล็ก 6%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ข่าเล็ก 8%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ข่าเล็ก 10%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
อบเชย 6%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
อบเชย 8%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
อบเชย 10%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
กระเจี๊ยบแดง 6%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
กระเจี๊ยบแดง 8%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
กระเจี๊ยบแดง 10%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ขิง 6%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ขิง 8%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ขิง 10%	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Base	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
C 20	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Listerine	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	54	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	17	.000	.	.
Within Groups	.000	36	.000		
Total	.000	53			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 ผลของน้ำยาบ้วนปากสูตรผสมต่อการยับยั้งเชื้อ *E. coli*

Descriptives

Result

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ข่าเล็ก + ว่านน้ำ	3	6.6667	.57735	.33333	5.2324	8.1009	6.00	7.00
ข่าเล็ก + อบเชย	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ข่าเล็ก +กระเจี๊ยบแดง	3	8.0000	1.00000	.57735	5.5159	10.4841	7.00	9.00
ข่าเล็ก + ขิง	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	12	6.6667	.98473	.28427	6.0410	7.2923	6.00	9.00

ANOVA

Result

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.000	3	2.667	8.000	.009
Within Groups	2.667	8	.333		
Total	10.667	11			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ข่าเล็ก + อบเชย	3	6.0000	
ข่าเล็ก + ขิง	3	6.0000	
ข่าเล็ก + ว่านน้ำ	3	6.6667	
ข่าเล็ก + กระเจี๊ยบแดง	3		8.0000
Sig.		.212	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 ผลของน้ำยาบ้วนปากสูตรผสมต่อการยับยั้งเชื้อ *S. aureus*

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ข่าเล็ก + ว่านน้ำ	3	15.0000	1.00000	.57735	12.5159	17.4841	14.00	16.00
ข่าเล็ก + อบเชย	3	11.6667	1.15470	.66667	8.7982	14.5351	11.00	13.00
ข่าเล็ก + กระเจี๊ยบแดง	3	7.6667	.57735	.33333	6.2324	9.1009	7.00	8.00
ข่าเล็ก + ขิง	3	7.0000	1.73205	1.00000	2.6973	11.3027	6.00	9.00
Total	12	10.3333	3.52480	1.01752	8.0938	12.5729	6.00	16.00

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	125.333	3	41.778	29.490	.000
Within Groups	11.333	8	1.417		
Total	136.667	11			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result				
Duncan[a]				
Sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ข่าเล็ก + ขิง	3	7.0000		
ข่าเล็ก + กระเจี๊ยบแดง	3	7.6667		
ข่าเล็ก + อบเชย	3		11.6667	
ข่าเล็ก + ว่านน้ำ	3			15.0000
Sig.		.512	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.				
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 ผลของน้ำยาบ้วนปากสูตรผสมต่อการยับยั้งเชื้อ *C. albicans*, *L. casei*, *L. plantarum* และ *P. gingivalis*

Descriptives								
Result								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
ข่าเล็ก + ว่านน้ำ	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ข่าเล็ก + อบเชย	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ข่าเล็ก + กระเจี๊ยบแดง	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
ข่าเล็ก + ขิง	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
Total	12	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	3	.000	.	.
Within Groups	.000	8	.000		
Total	.000	11			

3. ผลการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านฟิล์มชีวภาพของ *C. albicans*

Descriptives								
Result								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
ว่านน้ำ	3	92.5133	.07095	.04096	92.3371	92.6896	92.45	92.59
ข่าเล็ก	3	99.6833	.13503	.07796	99.3479	100.0188	99.55	99.82
อบเชย	3	99.4833	.25794	.14892	98.8426	100.1241	99.27	99.77
กระเจี๊ยบแดง	3	96.6500	.13748	.07937	96.3085	96.9915	96.50	96.77
ขิง	3	96.8033	.15567	.08988	96.4166	97.1900	96.64	96.95
α-asarone	3	99.1833	.11719	.06766	98.8922	99.4744	99.05	99.27
cinnamaldehyde	3	66.3333	.11060	.06386	66.0586	66.6081	66.23	66.45
eugenol	3	63.7133	.25794	.14892	63.0726	64.3541	63.50	64.00
kaempferide	3	65.8800	.16093	.09292	65.4802	66.2798	65.73	66.05
galangin	3	68.8033	.11590	.06692	68.5154	69.0913	68.68	68.91
fluconazole	3	99.1833	.08083	.04667	98.9825	99.3841	99.09	99.23
Total	33	86.2027	15.53102	2.70360	80.6957	91.7098	63.50	99.82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7718.260	10	771.826	31294.089	.000
Within Groups	.543	22	.025		
Total	7718.803	32			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result									
Duncan[a]									
		Subset for alpha = 0.05							
Sample	N	1	2	3	4	5	6	7	8
eugenol	3	63.7133							
kaempferide	3		65.8800						
cinnamaldehyde	3			66.3333					
galangin	3				68.8033				
ว่านน้ำ	3					92.5133			
กระเจี๊ยบแดง	3						96.6500		
ขิง	3						96.8033		
α-asarone	3							99.1833	
fluconazole	3							99.1833	
อบเชย	3								99.4833
ข่าเล็ก	3								99.6833
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.245	1.000	.133
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.									
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.									

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ผลของสารสกัดอบเชยและ cinnamaldehyde ต่อระยะเวลาในการทำลายเชื้อ *C. albicans* (Time kill assay)

4.1 ผลของสารสกัดอบเชยและสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการทำลายเชื้อ *C. albicans* ในชั่วโมงที่ 0

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	7.4000	.00000	.00000	7.4000	7.4000	7.40	7.40
อบเชย 1 เท่า MIC	3	7.4000	.00000	.00000	7.4000	7.4000	7.40	7.40
อบเชย 4 เท่า MIC	3	7.4000	.00000	.00000	7.4000	7.4000	7.40	7.40
อบเชย 8 เท่า MIC	3	7.4000	.00000	.00000	7.4000	7.4000	7.40	7.40
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3	7.4000	.00000	.00000	7.4000	7.4000	7.40	7.40
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3	7.4000	.00000	.00000	7.4000	7.4000	7.40	7.40
Total	18	7.4000	.00000	.00000	7.4000	7.4000	7.40	7.40

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000	.	.
Within Groups	.000	12	.000		
Total	.000	17			

4.2 ผลของสารสกัดอบเชยและสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการทำลายเชื้อ *C. albicans* ในชั่วโมงที่ 2

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	6.2572	.93780	.54144	3.9276	8.5868	5.32	7.20
อบเชย 1 เท่า MIC	3	5.9278	.79111	.45675	3.9626	7.8931	5.11	6.69
อบเชย 4 เท่า MIC	3	5.8257	.75251	.43446	3.9564	7.6951	5.02	6.50
อบเชย 8 เท่า MIC	3	5.5868	.57304	.33085	4.1632	7.0103	4.97	6.11
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3	5.6866	.67536	.38992	4.0089	7.3643	4.98	6.32
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3	5.4913	.67641	.39052	3.8110	7.1715	4.81	6.17
Total	18	5.7959	.67589	.15931	5.4598	6.1320	4.81	7.20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.139	5	.228	.412	.831
Within Groups	6.627	12	.552		
Total	7.766	17			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3	5.4913
อบเชย 8 เท่า MIC	3	5.5868
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3	5.6866
อบเชย 4 เท่า MIC	3	5.8257
อบเชย 1 เท่า MIC	3	5.9278
control	3	6.2572
Sig.		.274
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.		

4.3 ผลของสารสกัดอบเชยและสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการทำลายเชื้อ *C. albicans* ในชั่วโมงที่ 4

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Control	3	6.3167	.90569	.52290	4.0668	8.5666	5.43	7.24
อบเชย 1 เท่า MIC	3	5.8046	.78720	.45449	3.8491	7.7601	5.00	6.57
อบเชย 4 เท่า MIC	3	5.6620	.73377	.42364	3.8393	7.4848	4.89	6.35
อบเชย 8 เท่า MIC	3	5.3822	.49342	.28487	4.1565	6.6080	4.90	5.88
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3	5.4862	.59523	.34366	4.0076	6.9648	4.83	5.98
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3	5.2579	.55708	.32163	3.8740	6.6417	4.68	5.80
Total	18	5.6516	.68322	.16104	5.3119	5.9914	4.68	7.24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.162	5	.432	.899	.512
Within Groups	5.773	12	.481		
Total	7.935	17			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3	5.2579
อบเชย 8 เท่า MIC	3	5.3822
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3	5.4862
อบเชย 4 เท่า MIC	3	5.6620
อบเชย 1 เท่า MIC	3	5.8046
control	3	6.3167
Sig.		.117
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.		

4.4 ผลของสารสกัดอบเชยและสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการทำลายเชื้อ *C. albicans* ในชั่วโมงที่ 6

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	6.3528	.93580	.54029	4.0282	8.6775	5.42	7.29
อบเชย 1 เท่า MIC	3	5.6176	.67007	.38686	3.9530	7.2821	4.92	6.26
อบเชย 4 เท่า MIC	3	5.4947	.59793	.34521	4.0094	6.9801	4.84	6.01
อบเชย 8 เท่า MIC	3	5.0931	.27250	.15733	4.4162	5.7700	4.82	5.36
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3	5.2895	.58275	.33645	3.8419	6.7371	4.63	5.72
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3	4.9806	.44785	.25857	3.8681	6.0931	4.49	5.36
Total	18	5.4714	.69625	.16411	5.1251	5.8176	4.49	7.29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.648	5	.730	1.906	.167
Within Groups	4.593	12	.383		
Total	8.241	17			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result			
Duncan[a]			
Sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3	4.9806	
อบเชย 8 เท่า MIC	3	5.0931	
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3	5.2895	5.2895
อบเชย 4 เท่า MIC	3	5.4947	5.4947
อบเชย 1 เท่า MIC	3	5.6176	5.6176
control	3		6.3528
Sig.		.271	.074
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

4.5 ผลของสารสกัดอบเชยและสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในการทำลายเชื้อ *C. albicans* ในชั่วโมงที่ 24

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	3	6.4218	.95286	.55014	4.0547	8.7888	5.47	7.37
อบเชย 1 เท่า MIC	3	5.1960	.48273	.27870	3.9969	6.3952	4.77	5.72
อบเชย 4 เท่า MIC	3	5.2618	.50043	.28892	4.0186	6.5049	4.68	5.55
อบเชย 8 เท่า MIC	3	4.8690	.24496	.14143	4.2605	5.4775	4.70	5.15
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3	4.8941	.51522	.29746	3.6143	6.1740	4.31	5.30
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3	4.7348	.29302	.16917	4.0069	5.4627	4.42	5.00
Total	18	5.2296	.74114	.17469	4.8610	5.5981	4.31	7.37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.733	5	1.147	3.816	.027
Within Groups	3.605	12	.300		
Total	9.338	17			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result			
Duncan[a]			
Sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
cinnamaldehyde 4 เท่า MIC	3	4.7348	
อบเชย 8 เท่า MIC	3	4.8690	
cinnamaldehyde 2 เท่า MIC	3	4.8941	
อบเชย 1 เท่า MIC	3	5.1960	
อบเชย 4 เท่า MIC	3	5.2618	
control	3		6.4218
Sig.		.303	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

4.6 ผลของ control ในการทำลายเชื้อ *C. albicans* ในแต่ละช่วงเวลา

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	7.3979	.00000	.00000	7.3979	7.3979	7.40	7.40
2	3	6.2572	.93780	.54144	3.9276	8.5868	5.32	7.20
4	3	6.3167	.90569	.52290	4.0668	8.5666	5.43	7.24
6	3	6.3528	.93580	.54029	4.0282	8.6775	5.42	7.29
24	3	6.4218	.95286	.55014	4.0547	8.7888	5.47	7.37
Total	15	6.5493	.83282	.21503	6.0881	7.0105	5.32	7.40

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.743	4	.686	.984	.459
Within Groups	6.967	10	.697		
Total	9.710	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result		
Duncan[a]		
Sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
2	3	6.2572
4	3	6.3167
6	3	6.3528
24	3	6.4218
0	3	7.3979
Sig.		.154
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.		

4.7 ผลของสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 1 เท่า MIC ในการทำลายเชื้อ *C. albicans* ในแต่ละช่วงเวลา

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	7.3979	.00000	.00000	7.3979	7.3979	7.40	7.40
2	3	5.9278	.79111	.45675	3.9626	7.8931	5.11	6.69
4	3	5.8046	.78720	.45449	3.8491	7.7601	5.00	6.57
6	3	5.6176	.67007	.38686	3.9530	7.2821	4.92	6.26
24	3	5.1960	.48273	.27870	3.9969	6.3952	4.77	5.72
Total	15	5.9888	.93442	.24127	5.4713	6.5063	4.77	7.40

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.369	4	2.092	5.427	.014
Within Groups	3.855	10	.386		
Total	12.224	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result			
Duncan[a]			
Sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
24	3	5.1960	
6	3	5.6176	
4	3	5.8046	
2	3	5.9278	
0	3		7.3979
Sig.		.208	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

4.8 ผลของสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 4 เท่า MIC ในการทำลายเชื้อ *C. albicans* ในแต่ละช่วงเวลา

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	7.3979	.00000	.00000	7.3979	7.3979	7.40	7.40
2	3	5.8257	.75251	.43446	3.9564	7.6951	5.02	6.50
4	3	5.6620	.73377	.42364	3.8393	7.4848	4.89	6.35
6	3	5.4947	.59793	.34521	4.0094	6.9801	4.84	6.01
24	3	5.2618	.50043	.28892	4.0186	6.5049	4.68	5.55
Total	15	5.9284	.92758	.23950	5.4148	6.4421	4.68	7.40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.621	4	2.155	6.292	.009
Within Groups	3.425	10	.343		
Total	12.046	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result			
Duncan[a]			
Sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
24	3	5.2618	
6	3	5.4947	
4	3	5.6620	
2	3	5.8257	
0	3		7.3979
Sig.		.297	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

4.9 ผลของสารสกัดอบเชยที่ความเข้มข้น 8 เท่า MIC ในการทำลายเชื้อ *C. albicans* ในแต่ละช่วงเวลา

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	7.3979	.00000	.00000	7.3979	7.3979	7.40	7.40
2	3	5.5868	.57304	.33085	4.1632	7.0103	4.97	6.11
4	3	5.3822	.49342	.28487	4.1565	6.6080	4.90	5.88
6	3	5.0931	.27250	.15733	4.4162	5.7700	4.82	5.36
24	3	4.8690	.24496	.14143	4.2605	5.4775	4.70	5.15
Total	15	5.6658	.98423	.25413	5.1208	6.2108	4.70	7.40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12.150	4	3.037	21.509	.000
Within Groups	1.412	10	.141		
Total	13.562	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result			
Duncan[a]			
Sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
24	3	4.8690	
6	3	5.0931	
4	3	5.3822	
2	3	5.5868	
0	3		7.3979
Sig.		.054	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

4.10 ผลของสารบริสุทธิ์ cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 2 เท่า MIC ในการทำลายเชื้อ *C. albicans* ในแต่ละช่วงเวลา

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	7.3979	.00000	.00000	7.3979	7.3979	7.40	7.40
2	3	5.6866	.67536	.38992	4.0089	7.3643	4.98	6.32
4	3	5.4862	.59523	.34366	4.0076	6.9648	4.83	5.98
6	3	5.2895	.58275	.33645	3.8419	6.7371	4.63	5.72
24	3	4.8941	.51522	.29746	3.6143	6.1740	4.31	5.30
Total	15	5.7509	1.00116	.25850	5.1965	6.3053	4.31	7.40

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.201	4	2.800	9.892	.002
Within Groups	2.831	10	.283		
Total	14.032	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result			
Duncan[a]			
Sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
24	3	4.8941	
6	3	5.2895	
4	3	5.4862	
2	3	5.6866	
0	3		7.3979
Sig.		.120	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

4.11 ผลของสารบริสุทธิ์ Cinnamaldehyde ที่ความเข้มข้น 4 เท่า MIC ในการทำลายเชื้อ *C. albicans* ในแต่ละช่วงเวลา

Descriptives								
Result								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	7.3979	.00000	.00000	7.3979	7.3979	7.40	7.40
2	3	5.4913	.67641	.39052	3.8110	7.1715	4.81	6.17
4	3	5.2579	.55708	.32163	3.8740	6.6417	4.68	5.80
6	3	4.9806	.44785	.25857	3.8681	6.0931	4.49	5.36
24	3	4.7348	.29302	.16917	4.0069	5.4627	4.42	5.00
Total	15	5.5725	1.05487	.27237	4.9883	6.1567	4.42	7.40

ANOVA					
Result					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.470	4	3.367	15.970	.000
Within Groups	2.109	10	.211		
Total	15.579	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Result			
Duncan[a]			
Sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
24	3	4.7348	
6	3	4.9806	
4	3	5.2579	
2	3	5.4913	
0	3		7.3979
Sig.		.089	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้