การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเมทานอลจากต้นกระมอบ

EVALUATION OF ANTIBACTERIAL, ANTIOXIDANT AND TYROSINASE INHIBITORY ACTIVITIES OF METHANOLIC EXTRACT FROM KRA-MOB

นางสาวพิมพ์ตะวัน วรรณวิจิตร

นางสาวพีรญาณ์ ณัฐเจริญวงศ์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2565

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EVALUATION OF ANTIBACTERIAL, ANTIOXIDANT AND TYROSINASE INHIBITORY ACTIVITIES OF METHANOLIC EXTRACT FROM KRA-MOB

PIMTAWAN WONNAWIJIT

PEERAYA NATCHAROENWONG

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2022

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเมทานอลจากต้นกระมอบ
Evaluation of antibacterial, antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of methanolic extract from Kra-mob

ชื่อนักศึกษา นางสาวพิมพ์ตะวัน วรรณวิจิตร 62050630
นางสาวพีรญาณ์ ณัฐเจริญวงศ์ 62050632

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2565

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยา-อุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2565

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ	
ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ กรรมการ	
รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเมทานอลจากต้นกระมอบ
ชื่อนักศึกษา	นางสาวพิมพ์ตะวัน วรรณวิจิตร 62050630 นางสาวพีรญาณ์ ณัฐเจริญวงศ์ 62050632
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม

บทคัดย่อ

ต้นกระมอบ (*Gardenia obtusifolia* Roxb. Ex Kurz) เป็นพืชในวงศ์ Rubiaceae ปัจจุบันมีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจำนวนน้อย การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น ในส่วนพฤกษเคมีเบื้องต้น ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยสกัดสารส่วนผลและใบของกระมอบด้วยตัวทำละลายเมทานอล ในการศึกษาพฤกษเคมีเบื้องต้น พบสารแทนนิน ซาโปนิน และคูมารินทั้งในสารสกัดผลและใบของกระมอบ การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Kocuria rhizophila, Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี disk diffusion ซึ่งพบว่าสารสกัดจากผลกระมอบที่ระดับความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อดิสก์สามารถยับยั้งเชื้อ *K. rhizophila* และ *P. aeruginosa* โดยมีบริเวณยับยั้งสูงสุดเท่ากับ 22.05 และ 20.19 มิลลิเมตร ตามลำดับ การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดผลและใบมีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่น้อยที่สุดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (50% Inhibitory concentration, IC_{50}) เท่ากับ 858.47 และ 336.47 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Dopa-chrome พบว่าสารสกัดผลมีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสดีกว่าสารสกัดใบเล็กน้อย ซึ่งสารสกัดจากผลมีค่าการยั้งยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ 58.95 เปอร์เซ็นต์ จากการประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นพบว่าสารสกัดเมทานอลผลและใบของกระมอบมีความน่าสนใจในการที่จะนำไปศึกษาทดสอบเพิ่มเติมเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

คำสำคัญ : กระมอบ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส สารพฤกษเคมีเบื้องต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Evaluation of antibacterial, antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of methanolic extract from Kra-mob
Students	Miss Pimtawan Wonnawijit 62050630
	Miss Peeraya Natcharoenwong 62050632
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2022
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Supattra Poeaim

Abstract

Kra-mob (*Gardenia obtusifolia* Roxb. Ex Kurz) belongs to the family of Rubiaceae. At present, the bioactivity of Kra-mob has not been widely studied. This research aimed to study the preliminary bioactivities, including phytochemical, antibacterial, antioxidant and tyrosinase inhibitory activities. Methanol was used as a solvent to make extracts from the fruit and leaf of Kra-mob. The phytochemical screening result of the Kra-mob fruit and leaf crude extract was the presence of tannin, saponin and coumarin. Antibacterial activity was determined by disk diffusion method and tested with bacteria six strains, namely *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Kocuria rhizophila, Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. The results showed that Kra-mob fruit crude extract at 500 µg/disc was most effective against *K. rhizophila* and *P. aeruginosa* with an inhibition zone of 22.05 and 20.19 mm, respectively. Antioxidant activity was determined by the DPPH method. The 50% Inhibitory concentration (IC_{50}) values of Kra-mob fruit and leaf crude extract were 858.47 and 336.47 µg/ml, respectively. Tyrosinase inhibitory activity was determined by the dopa-chrome method. Kra-mob fruit crude extract showed slightly higher tyrosinase inhibitory activity than Kra-mob leaf crude extract, with 58.95%. The result form this studied, Kra-mob fruit and leaf crude methanol extract, was interesting for further testing to develop as products.

Keywords : Kra-mob, antibacterial activity, antioxidant activity, tyrosinase inhibitory activity, phytochemical

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้เกิดจากการสนับสนุน และความช่วยเหลือจากทุกท่าน จนสำเร็จลุล่วงด้วยดีนั้น ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษฉบับนี้ ที่ได้กรุณาให้ความรู้ ข้อเสนอแนะ คำแนะนำ ตรวจสอบ และแก้ไขปัญหาปรับปรุงข้อบกพร่องต่างๆ มาโดยตลอด ผู้เขียนจึงขอกราบขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ที่กรุณาให้เกียรติเป็นประธานกรรมการ และ ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ ที่กรุณาให้เกียรติเป็นกรรมการในการสอบโครงงานพิเศษ ซึ่งได้กรุณาตรวจแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ ให้คำแนะนำด้านการปฏิบัติงาน และการทำโครงงานพิเศษให้ผู้เขียนตลอดมา

ขอบคุณเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ภาควิชาชีววิทยา ที่คอยช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในการใช้สารเคมี เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษตลอดจนพี่ๆ ระดับปริญญาโท ที่คอยช่วยเหลือ แนะนำในการทำโครงงานพิเศษนี้จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

สุดท้ายนี้ผู้เขียนขอขอบคุณ บิดา มารดา และครอบครัวที่คอยสนับสนุน และให้กำลังใจจนกระทั่งโครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ได้ด้วยดี

พิมพ์ตะวัน วรรณวิจิตร

พีรญาณ์ ณัฐเจริญวงศ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข

กิตติกรรมประกาศ ..... ค

สารบัญ ..... ง

สารบัญตาราง ..... ช

สารบัญรูป ..... ซ

คำย่อ/สัญลักษณ์ ..... ฌ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 ต้นกระมอบ 3

2.2 สารพฤกษเคมีเบื้องต้น 4

2.3 การศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย 5

2.4 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 7

2.4.1 วิธี DPPH assay (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 7

2.4.2 วิธี ABTS assay 7

2.5 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส 8

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 10

3.1 ตัวอย่างพืชต้นกระมอบ 10

3.2 เชื้อแบคทีเรีย 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3 สารเคมี 10

3.3.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดสาร 10

3.3.2 สารเคมีที่ใช้ในการประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 10

3.3.3 สารเคมีที่ใช้ในการประเมินฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย 11

3.3.4 สารเคมีที่ใช้ในการประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 11

3.3.5 สารเคมีที่ใช้ในการประเมินฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส 11

3.4 อุปกรณ์ 11

3.5 เครื่องมือ 12

3.6 การสกัดสาร 13

3.7 การประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 13

3.7.1 การตรวจสอบแอลคาลอยด์ 13

3.7.2 การตรวจสอบแทนนิน 14

3.7.3 การตรวจสอบซาโปนิน 14

3.7.4 การตรวจสอบคูมาริน 15

3.8 การประเมินฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย 15

3.9 การประเมินฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระ 16

3.10 การประเมินฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส 16

3.11 การวิเคราะห์ทางสถิติ 17

บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 18

4.1 ผลการสกัดสารตัวอย่างผลและใบของต้นกระมอบ 18

4.2 ผลการประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 18

4.3 ผลการประเมินฤทธิ์การต้านแบคทีเรียด้วยวิธี Disk diffusion 20

4.4 ผลการประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH 21

4.5 ผลการประเมินฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วยวิธี Dopa-chrome 23

4.6 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS 25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 35

5.1 สรุปผลการวิจัย 355

5.2 ข้อเสนอแนะ 36

เอกสารอ้างอิง 37

ภาคผนวก ก 44

ภาคผนวก ข 45

ภาคผนวก ค 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	ผลการประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบ	19
4.2	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) ในการประเมินฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบ	21
4.3	ค่าร้อยละการต้านอนมูลอิสระด้วยวิธี DPPH จากสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบที่ความเข้มข้นต่างๆ	22
4.4	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบ	23
4.5	ค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซมไทโรซิเนสของสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	24
4.6	ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	25
4.7	ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดเมทานอลจากผลกระมอบดิบ เปลือกผลกระมอบสุก และเนื้อของผลกระมอบสุก ด้วยเทคนิค GC-MS	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	รูปลักษณะส่วนต่างๆของต้นกระมอบ ก.ต้นกระมอบ ข.ดอก ค.เกสรดอกไม้ ง.ผลอ่อนกระมอบ จ. ขนาดของผลดิบกระมอบ ฉ.ผลและใบกระมอบ	3
4.1	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารสกัดต่างๆ	22
4.2	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก	24
4.3	โครมาโตแกรมของสารสกัดเมทานอลจากผลกระมอบดิบด้วยวิธี GC-MS	27
4.4	โครมาโตแกรมของสารสกัดเมทานอลจากเปลือกผลกระมอบสุกด้วยวิธี GC-MS	28
4.5	โครมาโตแกรมของสารสกัดเมทานอลจากเนื้อผลกระมอบสุกด้วยวิธี GC-MS	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ

คำย่อ	คำอธิบาย
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthaiazoline-6-sulphonic acid)
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
$FeCl_3$	Ferric chloride
HCl	Hydrochloric acid
IC_{50}	50% Inhibitory concentration
L-DOPA	L-3,4-dihydroxyphenylalanine
MBC	Minimum bactericidal concentration
MHA	Muller-Hinton agar
MHB	Muller-Hinton broth
MIC	Minimal inhibition concentration
NA	Nutrient agar
NaCl	Sodium chloride
NaOH	Sodium hydroxide
NB	Nutrient broth
PBS	Phosphate buffer saline

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การเน่าเสียของอาหารสามารถนิยามได้ว่าเป็นการเปลี่ยนแปลงทางประสาทสัมผัสทั้งทางกายภาพ กลิ่น รส ซึ่งการเน่าเสียของอาหารมีสาเหตุหลัก คือ การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ เช่น รา ยีสต์ และแบคทีเรีย (Rawat, 2015) ดังนั้นจึงมีการป้องกันการเน่าเสียของอาหารและเชื้อก่อโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งมักใช้สารกันบูดซึ่งเป็นสารเคมีที่ส่งผลกระทบเชิงลบต่อสุขภาพและอาจเกิดการต้านทานต่อสารเคมีของจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาสารกันบูดทางเลือกจากธรรมชาติที่ปลอดภัยต่อสุขภาพ ซึ่งสารสกัดจากพืชบางชนิดถือว่าเป็นแหล่งธรรมชาติของสารต้านจุลินทรีย์ที่ปลอดภัยทางโภชนาการ ซึ่งอาจนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านการถนอมอาหารได้ (Monstafa et al., 2018)

ต้นกระมอบ (*Gardenia obtusifolia* Roxb. Ex Kurz) เป็นไม้พุ่มกึ่งไม้ต้น ซึ่งเมื่อออกดอกจะผลัดใบลักษณะใบเรียง แบบเรียงตรงข้ามสลับตั้งฉากเป็นกลุ่มตามปลายของกิ่ง ลักษณะดอกมีขนาดดอกใหญ่ สีขาวแล้วเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน ผลมีลักษณะทรงกลม มีเนื้อ โดยมีชื่อเรียกในแต่ละจังหวัดที่แตกต่างกัน ในสุโขทัยจะมีชื่อเรียกว่า กระบอก ไข่เน่าในกาญจนบุรี ในจังหวัดภาคกลางใช้ชื่อเรียกหลากหลาย ได้แก่ คมขวาน พญาผ่าด้าม และพุดนา ในเชียงใหม่เรียกคำมอกน้อย ปราจีนบุรี ฝรั่งโคก และในจังหวัดหนองคายเรียก สีดาโคก เป็นพืชในวงศ์ Rubiaceae (ราชบัณฑิตยสถาน, 2538) ประโยชน์ของต้นกระมอบ คือใช้เป็นยาพื้นบ้านทางอีสาน โดยใช้ลำต้นยาว 1 คืบ ย่างไฟให้เหลือง ต้มน้ำดื่มจนรสจืด ช่วยให้เจริญอาหาร (สมภพ, 2543)

ในปัจจุบันพบข้อมูลเกี่ยวกับการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นกระมอบเพียงการศึกษาสารสกัดจากใบของกระมอบพบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) และมะเร็งปากมดลูก (KB-3-1) (Tanamatayarat, 2545) แต่ยังไม่พบการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส มีเพียงการศึกษาของพืชในวงศ์เดียวกันคือ *Gardenia latifolia* Ait. มีชื่อเรียกในภาษาอังกฤษ ว่า Indian Boxwood เป็นไม้ผลัดใบขนาดเล็กที่มักเจริญในรัฐทางตอนใต้ของอินเดีย โดยมีการศึกษาสารสกัดจากผลพบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Reddy et al., 2021) และพบว่ามีการศึกษาสารสกัดจากใบ เปลือกต้น และผลของพืช ตรวจสอบพฤษเคมีพบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน โดยพบในเปลือกสูงกว่าใบและผล แสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Sundar et al., 2018) พบสารแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิก ซาโปนิน สเตอรอยด์ และแทนนิน และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดของเปลือกลำต้น (Deb, 2018) ฤทธิ์ต้านเบาหวานจากสารสกัดจากใบ (Tamilselvi et al., 2018) สารสกัดจาก *Gardenia jasminoides* ด้วยตัวทำละลายเอทานอลและน้ำ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Kwak et al., 200)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาสารสกัดจากผลและใบของต้นกระมอบ โดยประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้น และการประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้น ได้แก่ ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับอาหาร ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งอาจเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ในด้านการถนอมอาหาร

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบ

1.2.2 เพื่อประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบ

1.2.3 เพื่อประเมินองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบ ได้แก่ แอลคาลอยด์ แทนนิน ซาโปนิน และคูมาริน

1.3.2 ประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบ โดยทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Kocuria rhizophila, Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี Disk diffusion

1.3.3 ประเมินฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบด้วยวิธี Diphenylpicrylhydrazyl radical scavenging (DPPH)

1.3.4 ประเมินฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบด้วยวิธี Dopa-chrome

1.3.5 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค Gas chromatography – Mass spectrometry: GC-MS

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบกลุ่มสารสำคัญจากการทดสอบสารพฤกษเคมีที่พบในสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบ

1.4.2 ทราบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบ

1.4.3 นำผลหรือใบของต้นกระมอบ หรือสารสกัดไปประยุกต์ใช้ เช่น เป็นองค์ประกอบในการถนอมอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ต้นกระมอบ

ต้นกระมอบ (*Gardenia obtusifolia* Roxb. Ex Krurz.) เป็นพืชในวงศ์ Rubiaceae เป็นไม้พุ่มกึ่งไม้ต้น ผลัดใบขณะออกดอก สูง 2-8 เมตร ลำต้นแคระแกร็น กิ่งก้านคดงอ เรือนยอดเป็นพุ่มกลม เปลือกสีเทาปนดำ แตกเป็นร่องตื้นๆตามยาว เนื้อไม้สีขาว (รูปที่ 2.1 ก) ดอกมีลักษณะเป็นดอกเดี่ยว ออกดอกที่ปลายกิ่ง ดอกมีสีขาวเปลี่ยนเป็น สีเหลืองอ่อน กลิ่นหอม กลีบดอกตูมบิดเวียนโคนกลีบดอกติดกันเป็นหลอดคล้ายรูปแจกัน ปลายแยกเป็น 5 กลีบ ยาว 4-7 เซนติเมตร เมื่อบานเต็มที่มีศูนย์กลางขนาด 3-5 เซนติเมตร (รูปที่ 2.1 ข) ผลมีลักษณะวงรี มีเนื้อหนา เส้นผ่านศูนย์กลางผลขนาด 2-3.5 เซนติเมตร (รูปที่ 2.1 จ) สีน้ำตาลแกมเขียว เปลือกแข็ง มีกลีบเลี้ยงติดอยู่ ใบมีลักษณะเป็นใบเดี่ยว เรียงตรงข้ามสลับตั้งฉาก เป็นกลุ่มตามปลายกิ่ง กว้าง 3-7 เซนติเมตร ยาว 6-13 เซนติเมตร ปลายมนกว้าง ขอบเรียบ ก้านใบสั้น หูใบอยู่ระหว่างก้านกับใบติดกันเป็นหลอดสั้น (รูปที่ 2.1 ฉ) กระมอบมีเขตกระจายพันธุ์ใน ประเทศไทยทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันตกเฉียงใต้ ขึ้นทั่วไปตามป่าเต็งรังและป่าเบญจพรรณที่แห้งแล้ง ในต่างประเทศพบที่พม่า และภูมิภาคอินโดจีน (ราชบัณฑิตยสถาน, 2538)

รูปที่ 2.1 รูปลักษณะส่วนต่างๆของต้นกระมอบ ก. ต้นกระมอบ ข. ดอก ค. เกสรดอกไม้ ง. ผลอ่อนกระมอบ จ. ขนาดของผลดิบกระมอบ ฉ. ผลและใบกระมอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 สารพฤกษเคมีเบื้องต้น

สารพฤกษเคมี เป็นสารประกอบทางเคมีที่พบอยู่ตามธรรมชาติในพืช เช่น จากเปลือกไม้ ของพืช ใบ ดอก ราก ผล และเมล็ด ซึ่งมีผลในเชิงบวกหรือเชิงลบต่อสุขภาพ พืชสมุนไพรที่ใช้รักษาอาการเจ็บป่วยต่างๆ เป็นแหล่งกักเก็บของพฤกษเคมี ตัวอย่างสารพฤกษเคมี เช่น แอลคาลอยด์ แทนนิน คาร์โบไฮเดรต เทอร์พีนอยด์ สเตียรอยด์ และฟลาโวนอยด์สารประกอบเหล่านี้เกิดจากการสังเคราะห์เมแทบอลิซึมของสิ่งมีชีวิตในระดับปฐมภูมิหรือทุติยภูมิ ซึ่งสารทุติยภูมิเป็นสารประกอบที่มีความหลากหลายมากทางเคมีและทางอนุกรมวิธานโดยมีการทำงานที่ไม่แน่ชัด ถูกนำมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลาย เช่น ในการรักษาของมนุษย์ สัตวแพทย์ การเกษตร การวิจัยทางวิทยาศาสตร์ และด้านอื่นๆ สารพฤกษเคมีจำนวนมากในกลุ่มสารเคมีหลายประเภทที่แสดงผลยับยั้งจุลินทรีย์ (Yadav and Agarwala, 2011)

Sundar et al. (2018) ศึกษาสารพฤษเคมีเบื้องต้นในสารสกัดจากใบ เปลือกลำต้น และผลของต้น Indian boxwood (*Gardenia latifolia* Ait.) ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์เดียวกับต้นกระมอบ โดยใช้เอทานอล เอทิลอะซิเตต คลอโรฟอร์ม และเฮกเซนเป็นตัวทำละลาย โดยทดสอบสารพฤษเคมีในแต่ละตัวทำละลาย พบแอลคาลอยด์ในสารสกัดใบจากตัวทำละลายเอทานอล และเอทิลอะซิเตต สารสกัดเปลือกลำต้น จากตัวทำละลายเอทานอล เอทิลอะซิเตต และคลอโรฟอร์ม และสารสกัดผลจากตัวทำละลายเอทานอล และเอทิลอะซิเตต พบซาโปนิน ในสารสกัดใบ และเปลือกลำต้นจากตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต และเฮกเซน ในสารสกัดผลจากตัวทำละลายทุกชนิดยกเว้นเฮกเซน พบแทนนินในสารสกัดใบ และผลจากตัวทำละลาย เอทานอล และเอทิลอะซิเตต และในสารสกัดเปลือกลำต้นจากตัวทำละลายเอทานอล พบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดจากใบ เปลือกลำต้น และผลจากตัวทำละลายทุกชนิด

Budholiya and sharma (2019) ศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากใบ โดยใช้คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตต เมทานอล และน้ำเป็นตัวทำละลายของพืช 3 ชนิด ได้แก่ *Lagerstroemia parviflora*, *Gardenia latifolia* และ *Terminalia tomentosa* โดยในพืชชนิด *L. parviflora* พบแอลคาลอยด์ในสารสกัดจากตัวทำละลายเมทานอล พบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดจากทุกตัวทำละลาย พบซาโปนิน ในสารสกัดจากตัวทำละลายเมทานอล และพบแทนนิน ในสารสกัดจากตัวทำละลายเมทานอล และน้ำ ในพืชชนิด *G. latifolia* พบแอลคาลอยด์ในสารสกัดจากตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม พบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดจากทุกตัวทำละลาย พบซาโปนินในสารสกัดจากตัวทำละลายเมทานอล และน้ำ ไม่พบแทนนินในสารสกัดจากทุกตัวทำละลาย และในพืชชนิด *T. tomentosa* ไม่พบแอลคาลอยด์ ในสารสกัดจากทุกตัวทำละลาย พบฟลาโวนอยด์ ในสารสกัดจากเมทานอล และน้ำ พบซาโปนิน ในสารสกัดจากตัวทำละลายเมทานอล และพบแทนนิน ในสารสกัดจากทุกตัวทำละลายยกเว้นคลอโรฟอร์ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย

การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสมุนไพร คือ การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลินทรีย์มีอยู่ในสมุนไพร วิธีทดสอบความไวของเชื้อต่อยามีหลายวิธี ซึ่งหากเชื้อทดสอบเป็นแบคทีเรียและรา สามารถทำได้ทั้งในอาหารแข็ง (Agar medium) และอาหารเหลว (Broth medium) โดยมีวิธีหลักๆอยู่ 2 แบบ ได้แก่ Dilution susceptibility test และ Agar diffusion test

Dilution susceptibility test หรือการทดสอบ Minimal inhibition concentration (MIC) เป็นการทดสอบในเชิงปริมาณ เพราะสามารถทราบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ ใช้ทดสอบยืนยันผลวิธี Diffusion ที่ให้ความไวปานกลางหรือดื้อยา เพื่อว่าจะสามารถใช้สารสกัดสมุนไพรนั้นในจำนวนสูงๆได้ และใช้ทดสอบความไวของของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ใช่อากาศในการเจริญเติบโต หลักการคือจะเจือจางสมุนไพรในอาหาร (Medium) ให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ จากนั้นใส่เชื้อลงไป นำไปบ่ม ตรวจผลดูค่า MIC โดยสังเกตความขุ่นหรือใสของอาหารเหลวและมีหรือไม่มีเชื้อเจริญบนอาหารแข็ง

Broth dilution test เป็นการทดสอบความไวของเชื้อต่อสมุนไพรที่ละเอียดวิธีหนึ่ง ซึ่งจะสามารถทำให้ทราบค่าทั้ง MIC และ Minimum bactericidal concentration (MBC) ของสมุนไพรนั้นๆ ต่อจุลินทรีย์ทดสอบ โดยมีหลักการคือ เลี้ยงเชื้อที่ต้องการทำการทดสอบในอาหารเหลวที่มีสารสกัดสมุนไพรในปริมาณต่างๆกันผสมอยู่ สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อ

Agar dilution test วิธีที่มีการใช้แพร่หลายมากที่สุดคือ Disk diffusion (Kirby-Bauer) เนื่องจากสะดวก ประหยัด และใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่นๆ เป็นการทดสอบในเชิงคุณภาพ ไม่สามารถทราบค่า MIC หรือ MBC ได้ ไม่เหมาะในการทดสอบกับเชื้อที่เจริญช้าและเชื้อที่ไม่ใช้อากาศในการเจริญ โดยมีหลักการคือ นำสารสกัดสมุนไพรลงในแผ่นกระดาษกรอง (Paper disk) นำเชื้อมาเจือจางให้มีความเข้มข้นเท่า McFarland standard 0.5 Spread ลงบนอาหารแข็ง จากนั้นวางดิสก์ โดยดิสก์ทดสอบจะประกอบไปด้วย ดิสก์ที่ให้ผลบวก ซึ่งจะใช้ยาปฏิชีวนะ ดิสก์ที่ให้ผลลบคือ สารที่ใช้ละลายสมุนไพร และดิสก์สารทดสอบ จากนั้นนำไปบ่ม ตรวจผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่ไม่มีเชื้อโคโลนีรอบๆ (Inhibition zone) (ประสาทพร และคณะ, 2551)

Deb et al. (2018) ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* จากสารสกัดเปลือกลำต้นของ *Gardenia latifolia* Ait.โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ด้วยวิธี Disk diffusion พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1000, 200, 40 และ 8 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร วัดขนาดของบริเวณยับยั้งได้ 16.25, 14.9, 12.5 และ 7.5 มิลลิเมตร ตามลำดับ

Chowdhury et al. (2014) ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียจากใบของ *Gardenia coronaria* โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ด้วยวิธี Disk diffusion เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบประกอบไปด้วยแบคทีเรีย 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *Streptococcus agalactiae, Shigella sonnei, Bacillus cereus, Shigella boydii, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli* และ *Proteus mirabilis* โดยสารสกัดด้วยเมทานอลที่นำมาทดสอบมี 4 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 500, 400, 200 และ 100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครกรัมต่อดิสก์ พบว่าในทุกระดับความเข้มข้น ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *P. mirabilis* ได้ โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อดิสก์ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae, S. sonnei, B. cereus, S. boydii, P. aeruginosa* และ *E. coli* ได้ โดยมีบริเวณยับยั้งอยู่ที่ 16, 13, 13, 13, 16 และ 15 มิลลิเมตร ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อดิสก์ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae, S. sonnei, B. cereus, S. boydii, P. aeruginosa* และ *E. coli* ได้ โดยมีบริเวณยับยั้งอยู่ที่ 14, 12, 12, 11, 13 และ 13 มิลลิเมตร ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อดิสก์ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae, S. sonnei, B. cereus, S. boydii* และ *E. coli* ได้ โดยมีบริเวณยับยั้งอยู่ที่ 12, 11, 11, 10 และ 12 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยที่ระดับความเข้มข้นนี้พบว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ และที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อดิสก์ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ 2 ชนิดเท่านั้น ได้แก่ *S. sonnei* และ *E. coli* โดยมีบริเวณยับยั้งอยู่ที่ 10 และ 11 มิลลิเมตร ตามลำดับ

Reddy et al. (2021) ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดผลของ *Gardenia latifolia* Ait. โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ด้วยวิธี Broth dilution โดยเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบประกอบไปด้วยเชื้อ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli* และ *Klebsiella pneumoniae* พบว่า MIC ของเชื้อ *S. aureus* อยู่ที่ระดับความเข้มข้น 15.62 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร *B. subtilis* และ *P. aeruginosa* ที่ระดับความเข้มข้น 31.25 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร *E. coli* และ *K. pneumoniae* ที่ระดับความเข้มข้น 62.5 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร

Kumar et al. (2017) ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดเปลือกลำต้น และใบของ *Gardenia gummifera* Linn. โดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม และเอทานอลเป็นตัวทำละลาย ด้วยวิธี Agar well diffusion และ Micro titre-plate assay ในการทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าสารสกัดจากเปลือกลำต้นโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Salmonella typhi* และ *Staphylococcus aureus* สูงที่สุด โดยมีบริเวณยับยั้งที่ 12.67±0.33 และ 12.33±0.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดจากใบโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. typhi* และ *S. aureus* สูงที่สุด โดยมีบริเวณยับยั้งที่ 12.33±0.33 และ 12.83±0.60 มิลลิเมตร ตามลำดับ และในการทดสอบ Micro titre-plate assay พบว่าสารสกัดเปลือกลำต้นโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *S. typhi* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 5.66 ไมโครกรัม และสารสกัดใบโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 8.33 ไมโครกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

2.4.1 วิธี DPPH assay (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

อนุมูล DPPH$^{\bullet}$ เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วง การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยวิธีให้ไฮโดรเจนอะตอม วัดโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) โดยวัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารต้านออกซิเดชันลงไป โดยวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร (บังอร และศศิลักษณ์, 2549)

DPPH radical ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของตัวอย่าง โดยสารละลายของ DPPH$^{\bullet}$ มีสีม่วงในเอทานอล และเมื่อได้รับ H จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ตามสมการดังนี้

$$\underset{\text{สีม่วง}}{DPPH^{\bullet}} + \underset{\text{ตัวอย่างทดสอบ}}{RH} \longrightarrow \underset{\text{สีเหลือง}}{DPPH\text{-}H} + R^{\bullet}$$

ค่าที่วัดได้จะแสดงความสามารถในการต้านออกซิเดชันออกมาในค่า %inhibition ตามสมการดังนี้

$$\%\text{inhibition} = [(A_{517\ control} - A_{517\ test\ sample})/A_{517\ control})] \times 100$$

ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้ง่าย นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ

ข้อเสีย คือ อนุมูล DPPH$^{\bullet}$ มีความคงตัวไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย จึงไม่สามารถจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้

2.4.2 วิธี ABTS assay

เป็นวิธีการวัดทางอ้อมโดยใช้สาร 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthaiazoline-6-sulphonic acid) หรือ ABTS มาทำให้เป็นอนุมูลอิสระโดยการถูกออกซิไดซ์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ให้กลายเป็น $ABTS^{+\bullet}$ ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีสีฟ้า-เขียว นิยมนำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร โดยปรับค่าดูดกลืนแสงเริ่มต้นของ $ABTS^{+\bullet}$ ให้เป็น 0.700±0.02 เมื่อเติมสารทดสอบที่สามารถต้านการออกซิเดชัน จะทำให้ $ABTS^{+\bullet}$ ลดลง ซึ่งจะมีสีจางลง และสามารถนำไปคำนวณเป็น % Inhibition (บุหรัน, 2556) ได้ตามสมการ

$$\%\text{inhibition} = [(A_{734\ control} - A_{734\ test\ sample})/A_{734\ control})] \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้ง่าย อนุมูล $ABTS^{+\bullet}$ จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารต้านออกซิเดชันละลายได้ทั้งในน้ำและสารทำละลายอินทรีย์

ข้อเสีย คือ ABTS ไม่เป็นสารตามธรรมชาติที่ก่อให้เกิดอนุมูลในเซลล์หรือร่างกาย

Reddy et al. (2021) ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลของต้น *Gardenia latifolia* Ait. โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ด้วยวิธี DPPH แสดงให้เห็นว่ามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก โดยค่า 50% Inhibitory concentration (IC_{50}) ของสารสกัดผลโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายมีค่า 65.82 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ค่า IC_{50} ของกรดแอสคอร์บิกคือ 43.03 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Sundar et al. (2018) ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบเปลือกลำต้น และผลของ *Gardenia latifolia* Ait. โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายด้วยวิธี DPPH และ ABTS ในการทำการทดสอบด้วยวิธี DPPH พบว่ามีค่า IC_{50} ของสารสกัดเมทานอลจากใบ เปลือกลำต้น และผล เท่ากับ 145.83, 79.74 และ 117.93 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในการทดสอบด้วยวิธี ABTS พบว่ามีค่า IC_{50} ของสารสกัดเมทานอลจากใบ เปลือกลำต้น และผล เท่ากับ 186.27, 73.87 และ 109.26 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Raghavendra et al. (2017) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบ และผลของ *Gardenia gummifera* L.F. โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ด้วยวิธี DPPH และ ABTS ในการทำการทดสอบด้วยวิธี DPPH พบว่ามีค่า IC_{50} ของใบ เท่ากับ 49.01 และของผล เท่ากับ 2.53 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และในการทดสอบด้วยวิธี ABTS พบว่ามีค่า IC_{50} ของใบเท่ากับ 2.58 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และของผลเท่ากับ 2.31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Parthasarathy et al. (2009) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบจาก *Mitragyna speciosa* โดยใช้น้ำ เมทานอล และอัลคาลอยด์ เป็นตัวทำละลาย ด้วยวิธี DPPH พบว่ามีค่า IC_{50} ของสารสกัดใบโดยใช้น้ำ อัลคาลอยด์ และเมทานอลเป็นตัวทำละลาย เท่ากับ 213.45, 104.81 และ 37.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

2.5 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

เอนไซม์ไทโรซิเนส (EC 1.14.18.1) เป็นเอนไซม์กลุ่มออกซิเดสซึ่งพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์เมลานินซึ่งเป็นกระบวนการสร้างเม็ดสี (Melanogenesis) ทำให้สีผิวมีสีคล้ำลง เมลานินเป็นเม็ดสีที่สร้างโดยเซลล์เมลาโนไซต์ (Melanocyte) เอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน ซึ่งมีตัวกระตุ้น ได้แก่ แสงแดด รังสีอัลตราไวโอเลตหรือรังสียูวี ความร้อน โดยเอนไซม์จะไปกระตุ้นให้ไทโรซีน (Tyrosine) เปลี่ยนเป็น 3,4-dihydroxyphenyl alanine (L-Dopa) จากนั้น L-Dopa ถูกออกซิไดซ์ไปเป็น dopaquinone จากนั้นสังเคราะห์ต่อเป็นเมลานินสองชนิด ได้แก่ ยูเมลานิน (Eumelanin) ให้รงควัตถุสีน้ำตาลดำ และฟีโอเมลานิน (Pheomelanin) ให้รงควัตถุสีแดงหรือเหลือง

เอกสารนี้ ... ไม่ว่ากรณีใดๆ ...

(ประไพพิศ, 2561) ซึ่งเมลานินมีหน้าที่ช่วยป้องกันผิวหนังจากแสงแดด แต่ถ้ามีปริมาณมากเกินไปทำให้เกิดความผิดปกติของสีผิว เช่น การเกิดฝ้า กระ จุดด่างดำ เป็นต้น

เอนไซม์ไทโรซิเนสมีทองแดง (Cu) ภายในโครงสร้างซึ่งมีหน้าที่ทำงานร่วมกับออกซิเจนเพื่อเร่งปฏิกิริยา เอนไซม์ไทโรซิเนสประกอบด้วยโลหะทองแดงสองอะตอม โดยแต่ละอะตอมจะมีสามตำแหน่ง จับกับอะตอมไนโตรเจนของฮิสทีดีน (Histidine) ในสายโซ่ของกรดอะมิโน และอีกสองตำแหน่งจับกับอะตอมออกซิเจนของน้ำในตำแหน่ง Active site ของเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยตำแหน่งที่ว่างอยู่ของโลหะทองแดงจะไปจับกับ L-Dopa ซึ่งเป็นซับสเตรตของเอนไซม์ไทโรซิเนสเพื่อย่อยสลายและเกิดเป็นเมลานิน หากมีสารที่สามารถจับกับโลหะทองแดงได้ดีกว่า L-Dopa จะทำให้โลหะทองแดงของเอนไซม์ไม่สามารถจับกับ L-Dopa ได้หรือจับได้ไม่ดี ทำให้ไม่สามารถเกิดการย่อยสลายได้ และทำให้การสร้างเมลานินลดลง ดังนั้นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสจึงเป็นการป้องกันไม่ให้เกิดการสังเคราะห์เมลานิน (ณพัฐอร, 2563) เพื่อลดปัญหาดังกล่าวจึงได้มีการนำสารยับยั้งการสร้างเม็ดสีมาใช้เพื่อทำให้ผิวดูขาวขึ้น สีผิวสม่ำเสมอ รักษาฝ้าและกระ ซึ่งมีทั้งสารเคมีและสารจากธรรมชาติ เช่น อาร์บูติน (Arbutin) กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) หรือวิตามินซี กรดโคจิก (Kojic acid) สารกลุ่มโพลีฟีนอลและฟลาโวนอยด์ และยังมีสารธรรมชาติจากพืชอีกมากมายหลายชนิดที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และกระบวนการสร้างเมลานิน เช่น สารสกัดจากเมล็ดองุ่น มัลเบอร์รี่ มะขามป้อม ลูกหว้า และราชเบอร์รี่ เป็นต้น

Han et al. (2002) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดเอทานอลจาก *Gardenia fructus* ซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกันกับต้นกระมอบ โดยใช้ความเข้มข้นของสารที่ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

Kwak et al. (2004) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดจาก *Gardenia jasminoides* โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลและน้ำ ที่ความเข้มข้นของสารที่ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าตัวทำละลายเอทานอลมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงกว่าตัวทำละลายน้ำ คือ 81.5 และ 62.7 ตามลำดับ

Souza et al. (2012) ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดเอทานอลจากเปลือกผล, ใบ และผลของต้น *Genipa americana* ที่ความเข้มข้น 1mg/ml พบเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับ 30.44, 30.44 และ 73.16 ตามลำดับ และสารสกัดเฮกเซนจากใบ และผลพบเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับ 12.44 และ29.88 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่างพืชต้นกระมอบ

ตัวอย่างพืชต้นกระมอบส่วนผลและใบ จากศูนย์วิจัยและถ่ายทอดวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สจล. ตำบลองค์พระ อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี ในช่วงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2565 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม

3.2 เชื้อแบคทีเรีย

1) *Bacillus cereus* DMST 5040
2) *Bacillus subtilis* TISTR 1248
3) *Escherichia coli* TISTR 746
4) *Kocuria rhizophila* ATCC 9341
5) *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 2370
6) *Staphylococcus aureus* TISTR 1466

3.3 สารเคมี

3.3.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดสาร

1) เมทานอล (Methanol)

3.3.2 สารเคมีที่ใช้ในการประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

1) Dragendorff's reagent
2) Gelatin salt solution
3) Gelatin solution
4) Mayer's reagent
5) Wagner's reagent
6) กรดแทนนิก (Tannic acid)
7) กรดอะซิติก (Acetic acid)
8) กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl)
9) โคลชิซีน (Colchicine)
10) โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride, NaCl) 10%
11) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH)
12) น้ำกลั่น (Distilled water)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13) ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (Phosphate buffer saline, PBS)

14) เฟอร์ริกคลอไรด์ (Ferric chloride, $FeCl_3$) 1%

15) เลือดมนุษย์ (Blood)

16) วาร์ฟาริน (Warfarin)

17) เอทานอล (Ethanol)

18) แอสซิน (Aescin)

3.3.3 สารเคมีที่ใช้ในการประเมินฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย

1) เจนตามัยซิน (Gentamicin)

2) เมทานอล (Methanol)

3) Muller-Hinton agar (MHA)

4) Muller-Hinton broth (MHB)

5) Nutrient agar (NA)

6) Nutrient broth (NB)

3.3.4 สารเคมีที่ใช้ในการประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

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

2) โทรล็อกซ์ (Trolox)

3) เมทานอล (Methanol)

3.3.5 สารเคมีที่ใช้ในการประเมินฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

1) Deionized water (DI)

2) L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA)

3) กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid)

4) ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer pH 6.8)

5) เอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase enzyme)

3.4 อุปกรณ์

1) กรวยกรองบุชเนอร์ (Buchner funnel)

2) กระจกสไลด์ (Glass slides)

3) กระดาษกรองวอทแมน เบอร์ 1 (Whatman No. 1 fitter paper)

4) กระบอกตวง (Cylinder)

5) ขวดแก้ว (Duran bottle)

6) ขวดสีชา

7) ขวดโหลแก้ว (Glass jar)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8) ครกและสาก (Mortar and pestle)
9) คิวเวตพลาสติก (Plastic cuvettes)
10) จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dishes)
11) ช้อนตักสาร (Spatula)
12) ชุดไมโครปิเปต (Micropipettes)
13) ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol burner)
14) ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (Test tube rack stainless)
15) ทิป (Micropipette tips)
16) แท่งแก้ว (Glass rod)
17) แท่งแก้วงอ (Spreader glass)
18) บีกเกอร์ (Beaker)
19) ปากคีบ (Forceps)
20) ผ้าขาวบาง (White cloth)
21) พาราฟิล์ม (Parafilm)
22) ไมโครเพลท 96 หลุม (Microplate, 96 well)
23) ไม้พันสำลี (Cotton swab)
24) หลอดทดลอง (Microcentrifuge tube)
25) หลอดทดลอง (Test tube)
26) หลอดหยดสาร (Dropper)
27) ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop)

3.5 เครื่องมือ

1) กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)
2) เครื่องกลั่นระเหยสูญญากาศ (Rotary evaporator)
3) เครื่องเขย่าสาร (Shaker)
4) เครื่องชั่ง (Analytical balance)
5) เครื่องทำแห้งแบบสูญญากาศ (Vacuum drier)
6) เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนสาร (Centrifuge)
7) เครื่องผสมสาร (Vortex mixer)
8) เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (Microplate reader)
9) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
10) ตู้บ่มเลี้ยงเชื้อแบบควบคุมอุณหภูมิ (Incubator)
11) ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12) ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

13) โถดูดความชื้น (Desiccator)

14) เวอร์เนียคาลิปเปอร์ (Vernier caliper)

15) หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)

16) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

3.6 การสกัดสาร

นำตัวอย่างผลและใบของต้นกระมอบมาล้างทำความสะอาด และนำไปตากให้แห้ง จากนั้นอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นำมาบดด้วยครกหิน บรรจุตัวอย่างใส่ลงในถุงพลาสติกที่ผนึงถุงแบบสูญญากาศ จากนั้นสกัดสารด้วยวิธีการแช่หมักโดยใช้ตัวทำละลายเมทานอล โดยใช้อัตราส่วนตัวอย่างต่อเมทานอล 1:10 เขย่าในที่มืดที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน เทตัวทำละลายที่มีสารสกัดออกเก็บไว้ในขวดสีชา เติมเมทานอลใหม่ในปริมาณเท่าเดิมลงในกากแช่อีก 3 วัน นำมากรองด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรอง นำไประเหยด้วยเครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที แล้วนำไประเหยด้วยเครื่องทำแห้งแบบสูญญากาศ เก็บสารสกัดตัวอย่างในรูปผงแห้งไว้ในขวดแก้วป้องกันแสง ใส่ในโถดูดความชื้น จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักแห้งของสารสกัด แล้วนำมาคิดผลได้ร้อยละ (% Yield) ตามสมการ 3.1

$$\% \text{ Yield} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของสารสกัด}}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่างที่ใช้ในการหมัก}} \times 100 \qquad (3.1)$$

3.7 การประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

การประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัด 4 กลุ่ม โดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสี การตกตะกอน และการเกิดฟอง ดัดแปลงจากณพัฐอร (2563) พฤษวรรษ (2559) และ Iqbal et al. (2015)

3.7.1 การตรวจสอบแอลคาลอยด์

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอลิก 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 6 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที กรองด้วยกระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 แบ่งสารละลายใส่ 3 หลอดทดลอง หลอดละ 2 มิลลิลิตร จากนั้นหยดสารทดสอบ Dragendorff's, Mayer's และ Wagner's reagent (วิธีการเตรียมสารตามภาคผนวก ก) โดยหยดสารทดสอบ 2-3 หยด หากเกิดตะกอนสีส้มแดง ตะกอนสีขาวครีม และตะกอนสีน้ำตาลแดง ตามลำดับแสดงว่าพบแอลคาลอยด์โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานโคลชิซีน (เตรียมสารมาตรฐานโคลชิซีนโดยนำโคลชิซีนมาบดให้ละเอียดเป็นผง ชั่ง 0.2 กรัม ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอลิก 1%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตร 6 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นแบ่งสารละลายทดสอบกับสารเช่นเดียวกับการทดสอบสารสกัด)

3.7.2 การตรวจสอบแทนนิน

ชั่งสารสกัด 0.4 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หยดสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 10 เปอร์เซ็นต์ 3-4 หยด กรองด้วยกระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 แบ่งสารละลายใส่ 3 หลอดทดลอง หลอดละ 2 มิลลิลิตร จากนั้นหยดสารทดสอบ Gelatin solution, Gelatin salt solution และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 1 เปอร์เซ็นต์ โดยหยดสารทดสอบ 2-3 หยด เมื่อหยด Gelatin solution และ Gelatin salt solution เกิดตะกอนสีขาว และเมื่อหยดสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 1 เปอร์เซ็นต์ เกิดตะกอนสีน้ำเงินเขียว แสดงว่าพบแทนนินและสารประกอบฟีนอลิก แต่เมื่อหยดสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 1 เปอร์เซ็นต์ เกิดเฉพาะตะกอนสีน้ำเงินเขียว แสดงว่าไม่พบแทนนิน แต่พบสารประกอบฟีนอลิก โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแทนนิก (เตรียมสารมาตรฐานกรดแทนนิกโดยนำกรดแทนนิกความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ชั่งกรดแทนนิก 0.4 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หยดสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 10 เปอร์เซ็นต์ 3-4 หยด จากนั้นแบ่งสารละลายทดสอบกับสารเช่นเดียวกับการทดสอบสารสกัด)

3.7.3 การตรวจสอบซาโปนิน

1. Froth test

ชั่งสารสกัด 0.4 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ให้ความร้อนเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเขย่าอย่างแรงเป็นเวลา 5 นาที หากเกิดฟองคงตัวเป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที แสดงว่าพบซาโปนิน

2. Hemolysis test

เตรียมสารสกัดให้มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ชั่งสารสกัด 5 มิลลิกรัม ละลายสารสกัดด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (Phosphate buffer saline, PBS) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เตรียมเซลล์เม็ดเลือดแดงโดยนำเลือดมนุษย์ 1 มิลลิลิตร มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1500 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นดูดสารละลายส่วนใสทิ้ง ล้างเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วย PBS จำนวน 2 ครั้ง เจือจางเซลล์เม็ดเลือดแดงให้มีความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ด้วย PBS

ทดสอบการแตกตัวของเม็ดเลือดแดง โดยนำเซลล์เม็ดเลือดแดงความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผสมกับสารสกัดความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 300 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1500 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หากเกิดสีแดงของฮีโมโกลบินในสารละลายส่วนใส แสดงว่าพบการแตกตัวของเม็ดเลือดแดง

เอกสารนี้ [illegible] ไม่ว่ากรณีใดๆ [illegible]

โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานแอสซิน (เตรียมสารมาตรฐานแอสซินความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยนำแอสซินมาบดให้เป็นผงละเอียด ชั่ง 5 มิลลิกรัม ละลายด้วย PBS 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาทดสอบการแตกตัวของเม็ดเลือดแดงเช่นเดียวกับการทดสอบสารสกัด)

3.7.4 การตรวจสอบคูมาริน

ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่า กรองด้วยกระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 6M ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่า หากสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มแสดงว่าพบคูมาริน โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวาร์ฟารีน (เตรียมสารมาตรฐานวาร์ฟารีน โดยนำวาร์ฟารีนมาบดผงให้ละเอียด ชั่ง 0.2 กรัม ละลายด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตรทดสอบเช่นเดียวกับการทดสอบสารสกัด)

3.8 การประเมินฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย

ประเมินฤทธิ์การต้านแบคทีเรียเบื้องต้นด้วยวิธี Disk diffusion ดัดแปลงจาก CLSI (2012)

เตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Kocuria rhizophila, Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus* โดยเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Streak plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ 1-2 โคโลนี ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller-Hinton broth (MHB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียมาปรับค่าความขุ่นของเชื้อโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MHB ให้มีค่าดูดกลืนแสง (O.D.) ประมาณ 0.08-0.13 ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร โดยวัดด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) จากนั้นนำมา Swab ลงให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller-Hinton agar (MHA) โดยใช้ไม้พันสำลีปลอดเชื้อจุ่มลงในเชื้อแบคทีเรียที่ปรับค่าความขุ่นแล้ว

เตรียมแผ่นดิสก์ โดยใช้กระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 นำมาเจาะให้มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ เตรียมสารสกัดความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อดิสก์ โดยละลายสารสกัดด้วยเมทานอล หยดสารสกัดที่เตรียมไว้ลงในดิสก์ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใช้ชุดควบคุมเชิงบวก คือ เจนตามัยซิน ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อดิสก์ และชุดควบคุมเชิงลบ คือ เมทานอล ใช้ปากคีบ คีบแผ่นดิสก์ที่เตรียมไว้วางลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ (รูปภาคผนวกที่ ข-5) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง บันทึกผลการทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียโดยใช้เวอร์เนีย คาลิปเปอร์ วัดบริเวณวงใสที่เกิดขึ้นรอบแผ่นดิสก์ โดยทำจำนวน 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.9 การประเมินฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระ

ประเมินฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ดัดแปลงจากพฤษวรรษ (2559)

เตรียมสารละลายสารสกัดโดยละลายด้วยเมทานอล ให้มีความเข้มข้น 31.25-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และเตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ โดยละลายด้วยเมทานอล นำสารละลายสารสกัดที่เตรียมไว้ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในไมโครเพลทชนิด 96 หลุม นำไปไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานโทรล็อกซ์ ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คำนวณเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH radical scavenging activity) จากสมการ 3.2 และคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่น้อยที่สุดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (50% Inhibitory concentration : IC_{50}) นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH กับความเข้มข้นของสารสกัด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เปรียบเทียบกับโทรล็อกซ์จากกราฟมาตรฐานโทรล็อกซ์ แสดงผลในหน่วย mg Trolox equivalent (mgTE/g extract)

$$\% \text{ DPPH radical scavenging activity} = \frac{\mathbf{Abs_{control} - Abs_{sample}}}{\mathbf{Abs_{control}}} \times 100 \qquad (3.2)$$

Abs control = ค่าการดูดกลืนแสงในชุดควบคุม (เมทานอล + DPPH)
Abs sample = ค่าการดูดกลืนแสงในตัวอย่าง (สารตัวอย่าง + DPPH)

3.10 การประเมินฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ประเมินฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Dopa-chrome ดัดแปลงจากจุฑาภรณ์ (2563)

เตรียมตัวอย่างสารสกัดที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทดสอบชุดตัวอย่างสารสกัด (Sample) โดยผสมตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 60 ไมโครลิตร กับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 ปริมาตร 60 ไมโครลิตร และสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนสความเข้มข้น 537.4 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ชุดแบลงค์ตัวอย่างสารสกัด (Blank sample) ผสมตัวอย่างสารสกัด ปริมาตร 60 ไมโครลิตร กับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ชุดควบคุม (Control) ผสมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 120 ไมโครลิตร และสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนสความเข้มข้น 537.4 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 40 ไมโครลิตร ชุดแบลงค์ควบคุม (Blank control) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6.8 ปริมาตร 160 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลท 96 หลุม บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย L-Dopa

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 40 ไมโครลิตร จากนั้นบ่มในที่มืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 100, 200, 300 และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และคำนวณร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสมการ 3.3

$$\% \text{ Inhibiton} = \frac{(\text{Control}-\text{Blank control}) - (\text{Sample}-\text{Blank sample})}{(\text{Control}-\text{Blank control})} \times 100 \qquad (3.3)$$

3.11 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics version 29 ในการวิเคราะห์ทางสถิติ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Turkey ที่ระดับความเชื่อมั่นเท่ากับ 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการสกัดสารตัวอย่างผลและใบของต้นกระมอบ

ตัวอย่างผลและใบของต้นกระมอบ เก็บในช่วงเดือนสิงหาคม พ.ศ.2565 ผลกระมอบมีลักษณะเป็นผลดิบ เปลือกแข็ง ไม่มียาง เปลือกมีสีน้ำตาลแกมเขียว เนื้อผลมีสีเหลืองอ่อน เมื่อสกัดสารละลายมีสีน้ำตาล และเมื่อนำไปทำแห้งสารสกัดมีลักษณะเหนียวหนืด สีน้ำตาล ส่วนใบกระมอบมีลักษณะเป็นใบแก่ สีเขียว ไม่มียาง เมื่อสกัดสารละลายมีสีเขียวเข้ม และเมื่อนำไปทำแห้งสารสกัดมีลักษณะเป็นผงแห้ง สีเขียวเข้ม เมื่อชั่งน้ำหนักแห้งของสารสกัด พบว่าได้สารสกัดเมทานอลผลและใบ 31.01 และ 11.90 กรัม ตามลำดับ คิดเป็นผลได้ร้อยละ (% Yield) เท่ากับ 77.52 และ 29.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

4.2 ผลการประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

การประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัด 4 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ แทนนิน ซาโปนิน และคูมาริน

การตรวจสอบแอลคาลอยด์ด้วยสารทดสอบ Dragendorff's reagent พบว่าเกิดตะกอนเล็กน้อยทั้งในสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบ ซึ่งแสดงว่าพบกลุ่มสารแอลคาลอยด์ แต่สารทดสอบ Mayer's และ Wagner's reagent พบว่าไม่เกิดตะกอนทั้งในสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบ (รูปภาคผนวกที่ ข-1)

การตรวจสอบแทนนินด้วยสารทดสอบ Gelatin solution และ Gelatin salt solution พบว่าเกิดตะกอนสีขาวในสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบ และทดสอบด้วยสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเกิดตะกอนสีน้ำเงินเขียวในสารสกัดเมทานอลผลและใบ ซึ่งแสดงว่าพบกลุ่มสารแทนนิน (รูปภาคผนวกที่ ข-2)

การตรวจสอบซาโปนิน วิธี Froth test โดยการสังเกตความคงตัวของฟอง พบว่าสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบเกิดฟองคงตัว และวิธี Hemolysis test โดยการสังเกตการแตกตัวของเม็ดเลือดแดง พบว่าสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบเกิดการแตกตัวของเม็ดเลือดแดง ซึ่งแสดงว่าพบกลุ่มสารซาโปนิน (รูปภาคผนวกที่ ข-3)

การตรวจสอบคูมาริน ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 6M พบว่าสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ซึ่งแสดงว่าพบกลุ่มสารคูมาริน (รูปภาคผนวกที่ ข-4)

จากผลการทดสอบสรุปผลได้ว่าสารสกัดจากผลพบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ และแทนนินมากกว่าสารสกัดจากใบ และสารสกัดจากใบพบสารกลุ่มซาโปนิน และคูมาริน มากกว่าสารสกัดจากผล (ตารางที่ 4.1)

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาของ Sundar et al. (2018) ซึ่งศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นในสารสกัดจากใบและผลของต้น Indian boxwood (*Gardenia latifolia* Ait.) ซึ่งเป็นพืชวงศ์เดียวกับกระมอบ พบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ ซาโปนิน และแทนนินในสารสกัดใบและผลเหมือนกัน เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบซึ่งพบแอลคาลอยด์ แทนนิน ซาโปนิน และคูมาริน ซึ่งพบว่าผลการทดลองของสารกลุ่มแอลคาลอยด์ ซาโปนิน และแทนนินมีความสอดคล้องกัน และจากการศึกษาของ Budholiya and Sharma (2019) ซึ่งศึกษาสารพฤกษเคมีจากใบ *Gardenia latifolia* พบแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ และซาโปนิน แต่ไม่พบแทนนิน เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบ พบว่าตรวจพบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ และซาโปนินเหมือนกัน แต่ในสารสกัดใบและผลของต้นกระมอบตรวจพบแทนนิน แสดงให้เห็นว่าส่วนเดียวกันของพืชวงศ์เดียวกันสามารถตรวจพบสารแตกต่างชนิดกันได้

ซึ่งแทนนินสามารถพบได้ที่เปลือกของพืช มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและสารต้านอนุมูลอิสระ ซาโปนินมีคุณสมบัติทำให้เกิดฟอง มีสารต้านอนุมูลอิสระและต้านการอักเสบ (สุมิตา, 2564) คูมารินเป็นสารให้กลิ่นหอมหวานคล้ายสมุนไพร พบในพืชทั่วไป มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย สารต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบ (กนกอร และคณะ, 2562)

ตารางที่ 4.1 ผลการประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบ

กลุ่มสารพฤกษเคมี	**วิธีทดสอบ**	**ผลการทดสอบ**	
		ผลกระมอบ	**ใบกระมอบ**
Alkaloid	Dragendroff's reagent	++	+
	Mayer's reagent	-	-
	Wagner's reagent	-	-
Tannin	Gelatin solution	+++	++
	Gelatin salt solution	+++	++
	$FeCl_3$	++	+++
Saponin	Froth test	+	+++
	Hemolysis test	+	+++
Coumarin	Coumarin test	+	++

หมายเหตุ – : ไม่พบ, + : พบน้อย, ++ : พบปานกลาง, +++ : พบมาก, ++++ : พบมากที่สุด โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการประเมินฤทธิ์การต้านแบคทีเรียด้วยวิธี Disk diffusion

การประเมินฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบที่ความเข้มข้น 500 และ 1400 ไมโครกรัมต่อดิสก์ ตามลำดับ นำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Kocuria rhizophila,* และ *Staphylococcus aureus* และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ด้วยวิธี Disk diffusion โดยใช้ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินเป็นชุดควบคุมเชิงบวก ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อดิสก์ และใช้เมทานอลเป็นชุดควบคุมเชิงลบ (รูปภาคผนวกที่ ข-6) พบว่าสารสกัดเมทานอลจากใบกระมอบที่ความเข้มข้น 1400 ไมโครกรัมต่อดิสก์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus และ B. subtilis* บริเวณยับยั้งเท่ากับ 7.74 และ 6.89 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดเมทานอลจากผลกระมอบที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อดิสก์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *B. subtilis, K. rhizophil*, *P. aeruginosa* และ *S. aureus* มีบริเวณยับยั้งอยู่ในช่วง 6.30 – 22.05 มิลลิเมตร ซึ่งเชื้อ *K. rhizophil* มีบริเวณยับยั้งสูงสุดเท่ากับ 22.05 มิลลิเมตร รองลงมาคือเชื้อ *P. aeruginosa* มีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 20.19 มิลลิเมตร แสดงค่าดังตารางที่ 4.2

เมื่อเปรียบเทียบผลการประเมินฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบ กับการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* จากสารสกัดเมทานอลเปลือกลำต้นของ *Gardenia latifolia* Ait. ด้วยวิธี Disk diffusion โดย Deb et al. (2018) พบว่าที่ระดับความเข้มข้นน้อยของสารสกัดเปลือกลำต้นน้อยกว่ามีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *B. subtilis* มากกว่าสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบ และเปรียบเทียบกับการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียสารสกัดเมทานอลใบของ *Gardenia coronaria* ด้วยวิธี Disk diffusion โดย Chowdhury et al. (2014) พบว่าที่ระดับความเข้มข้นน้อยกว่ามีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *B. cereus* มากกว่าสารสกัดเมทานอลใบของต้นกระมอบ และสามารถยับยั้งได้ทั้ง เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ซึ่งสารสกัดเมทานอลใบของต้นกระมอบไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *P. aeruginosa* และ *E. coli* ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) ในการประเมินฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบ

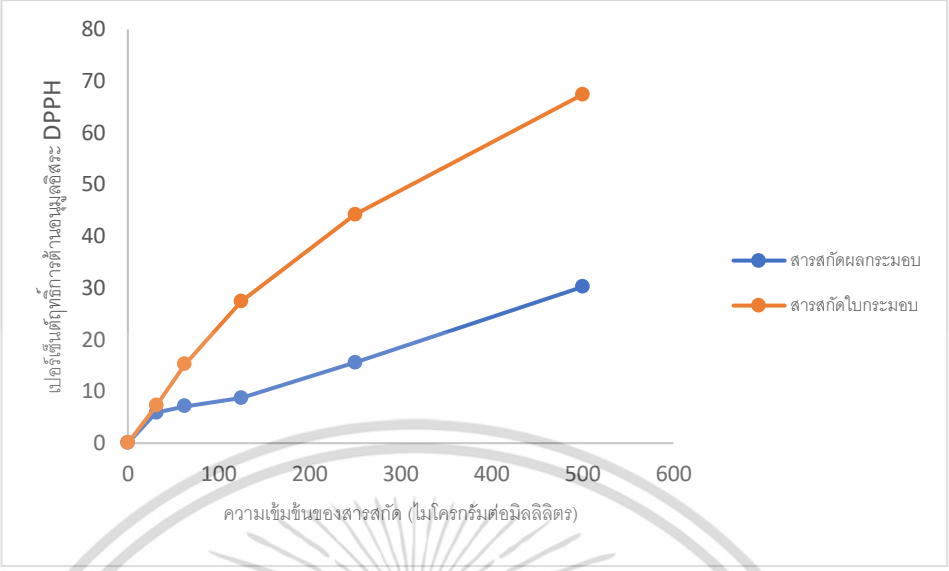
แบคทีเรียที่ทดสอบ	บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)		
	สารสกัดใบ (1400 µg/disk)	สารสกัดผล (500 µg/disk)	Gentamicin (10 µg/disk)
Bacillus cereus	7.74±0.96	0.00	22.43[a]±2.17
Bacillus subtilis	6.89±0.49	6.30[b]±0.49	23.99[a]±0.24
Escherichia coli	0.00	0.00	21.40[a]±0.85
Kocuria rhizophila	0.00	22.05[a]±0.11	21.64[a]±1.83
Pseudomonas aeruginosa	0.00	20.19[a]±1.17	21.62[a]±0.67
Staphylococcus aureus	0.00	9.11[b]±1.97	22.18[a]±0.60

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยเปรียบเทียบด้วยวิธี Turkey ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p>0.05$)

4.4 ผลการประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ประเมินตัวอย่างสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบ ที่ระดับความเข้มข้น 31.25-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำไปหาค่าเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและ IC_{50} ด้วยโปรแกรม Excel ผลจากทดลองพบว่าสารสกัดเมทานอลจากใบของต้นกระมอบมีค่า IC_{50} เท่ากับ 336.47 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดเมทานอลจากผลของต้นกระมอบมีค่า IC_{50} เท่ากับ 858.47 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงค่าดังตารางที่ 4.3 โดยสารมาตรฐานโทรล็อกซ์มีค่า IC_{50} เท่ากับ 84.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงค่าดังตารางภาคผนวก ค-1 จากนั้นเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH กับสารมาตรฐานโทรล็อกซ์ พบว่าสารสกัดเมทานอลจากใบของต้นกระมอบ มีค่าเท่ากับ 190.48 มิลลิกรัมโทรล็อกซ์ต่อกรัมสารสกัด และสารสกัดเมทานอลจากผลของต้นกระมอบ มีค่าเท่ากับ 359.05 มิลลิกรัมโทรล็อกซ์ต่อกรัมสารสกัด แสดงค่าดังตารางที่ 4.4 (แสดงการคำนวณดังภาคผนวก ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารสกัดจากใบและผลของต้นกระมอบ

ตารางที่ 4.3 ค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH จากสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตัวอย่าง	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	DPPH เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ	IC_{50}
สารสกัดใบ	31.25	7.26^{e}±2.29	336.47
	62.5	15.26^{d}±2.20	
	125	27.45^{c}±2.38	
	250	44.22^{b}±0.83	
	500	67.41^{a}±0.74	
สารสกัดผล	31.25	5.92^{c}±1.63	858.47
	62.5	7.13^{c}±0.59	
	125	8.71^{c}±3.34	
	250	15.56^{b}±0.49	
	500	30.21^{a}±0.91	

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยเปรียบเทียบด้วยวิธี Turkey ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบ

ตัวอย่าง	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ
	DPPH (mgTE/g extract)
สารสกัดใบ	359.05
สารสกัดผล	190.48

จากผลการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบจากต้นกระมอบด้วยวิธี DPPH พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เมื่อเทียบกับ IC_{50} ของสารมาตรฐานโทรล็อกซ์ พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารมาตรฐานโทรล็อกซ์ โดยจากผลการประเมินพบว่าสารสกัดเมทานอลจากใบของต้นกระมอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าสารสกัดเมทานอลของผลจากต้นกระมอบเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากพืชในสกุลเดียวกัน โดยศึกษาสารสกัดจากผลของต้น *Gardenia latifolia* Ait. โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายด้วยวิธี DPPH โดย Reddy et al. (2021) พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยมีค่า IC_{50} ที่ 65.82 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบ นอกจากนี้เมื่อเทียบสารสกัดเมทานอลจากใบของต้น *Gardenia latifolia* Ait. ด้วยวิธี DPPH โดย Sundar et al. (2018) พบว่ามีค่า IC_{50} ที่ 145.84 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเมื่อเทียบกับค่า IC_{50} ของสารสกัดเมทานอลจากใบของต้นกระมอบพบว่ามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ใกล้เคียงกัน

4.5 ผลการประเมินฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วยวิธี Dopa-chrome

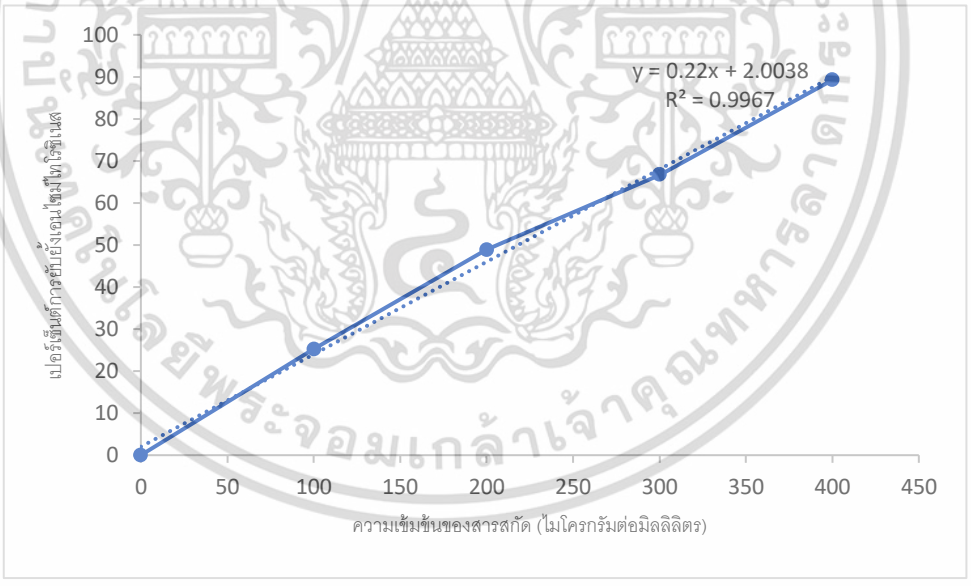
ประเมินตัวอย่างสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบ มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Dopa-chrome โดยทดสอบกับเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ความเข้มข้น 537.4 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ที่แสดงความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งใช้ความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ 100-400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4.5) โดยได้สมการกราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิก คือ y = 0.22x+2.0038 (รูปที่ 4.2) โดยจากการหาร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยโปรแกรม Excel พบว่าสารสกัดเมทานอลจากใบของต้นกระมอบมีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ 45.08 และสารสกัดเมทานอลจากผลของต้นกระมอบมีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ 58.95 (ตารางที่ 4.6) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดผลมีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ดีกว่าเล็กน้อย ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบจากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดของต้น *Genipa americana* ที่ความเข้มข้น 1 mg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดย Souza et al. (2012) พบว่ามีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเอทานอลและเฮกเซนจากใบน้อยกว่าสารสกัดใบจากต้นกระมอบ และมีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเอทานอลจากผลที่น้อยกว่าสารสกัดผลกระมอบ แต่ในสารสกัดเฮกเซนของผลพบฤทธิ์มากกว่าสารสกัดผลกระมอบ

ตารางที่ 4.5 ค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส			ค่าเฉลี่ย±SD
	1	2	3	
100	28.92	23.52	23.14	25.19±3.22
200	53.21	51.18	42.20	48.86±5.86
300	71.59	68.83	59.65	66.69±6.25
400	91.13	88.48	94.80	89.24±1.64



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบ ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส			ค่าเฉลี่ย±SD
	1	2	3	
สารสกัดใบ	48.36	39.70	47.19	45.08 ± 4.69
สารสกัดผล	59.63	59.92	57.30	58.95 ± 1.43

4.6 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS ได้เลือกสารสกัดเมทานอลจากผลกระมอบดิบ ซึ่งเก็บในช่วงเดือนสิงหาคม ที่ใช้ในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในครั้งนี้ และสารสกัดเมทานอลจากเปลือกและเนื้อของผลกระมอบสุกซึ่งเก็บในช่วงเดือนธันวาคมจากศูนย์วิจัยและถ่ายทอดวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สจล. ตำบลองค์พระ อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS ผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดเมทานอลจากผลกระมอบดิบพบองค์ประกอบทางเคมีที่ทราบโครงสร้างทางเคมีจำนวน 9 ชนิด (ดังแสดงในรูปที่ 4.3) สารสกัดเมทานอลจากเปลือกผลกระมอบสุก 14 ชนิด (ดังแสดงในรูปที่ 4.4) และสารสกัดเมทานอลจากเนื้อของผลกระมอบสุก 10 ชนิด (ดังแสดงในรูปที่ 4.5) โดยพบพีค (Peak) ขององค์ประกอบทางเคมีที่เหมือนกันของสารสกัดเมทานอลจากผลดิบ เปลือกและเนื้อของผลกระมอบสุก 4 ชนิด คือ (ก) Undecane (ข) Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) (ค) Benzoic acid, 4-ethoxy-, ethyl ester (ง) Hexadecanoic acid, methyl ester (ตารางที่ 4.7)

เมื่อพิจารณาฤทธิ์ทางชีวภาพขององค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเมทานอลของผลกระมอบดิบ พบสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่อาจมีฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ (ก) 1R,3R,4R,5R)-(-)-Quinic acid ซึ่งมี % of total ที่ 31.669 (ข) Octadecanoic acid, methyl ester ซึ่งมี % of total ที่ 5.762 (ค) Benzoic acid, 4-ethoxy-, ethyl ester ซึ่งมี % of total ที่ 4.736 ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียพบว่าสารสกัดเมทานอลจากผลกระมอบดิบสามารถต้านแบคทีเรีย *Bacillus subtilis, Kocuria rhizophila, Pseudomonas aeroginosa* และ *Staphylococcus aureus* ได้ และพบสารที่อาจมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ (ก) 1R,3R,4R,5R)-(-)-Quinic acid ซึ่งมี % of total ที่ 31.669 (ข) Benzoic acid, 4-ethoxy-, ethyl ester ซึ่งมี % of total ที่ 4.736 (ค) Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) ซึ่งมี % of total ที่ 20.809 – 24.081 นอกจากนี้ยังมีองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเมทานอลจากเปลือก และเนื้อของผลกระมอบสุก ซึ่งพบสารที่อาจมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่หลากหลายกว่าสารสกัดเมทานอลจากผลกระมอบดิบ เช่น Trans-Caryophyllene และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9,12,15-Octadecatrien-1-ol ซึ่งเป็นในส่วนเปลือกของผลกระมอบสุก, 1-Octadecanol ซึ่งพบในส่วนเนื้อของผล และHexadecanoic acid ซึ่งพบทั้งในส่วนเปลือกและส่วนเนื้อของผล และ9,12,15-Octadecatrien-1-ol

โดยมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพขององค์ประกอบทางเคมี ดังนี้

(1R,3R,4R,5R)-(-)-Quinic acid

(1R,3R,4R,5R)-(-)-Quinic acid หรือ Quinic acid หรือ กรดควินิก เป็น Cyclohexanecarboxylic acid พบในสารสกัดจากส่วนต่างๆของพืชสมุนไพร รวมถึง *Haematocarpus validus, Hypericum empetrifolium, Achillea pseudoaleppica, Rumex nepalensis, Phagnalon saxatile subsp. saxatile, Coffea arabica* ปัจจุบันพบการศึกษาทางเภสัชวิทยาทั้งในหลอดทดลอง และร่างกาย แสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของกรดควินิก เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเบาหวาน ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ และฤทธิ์ต้านไวรัส (Benali et al., 2022) มีรายงานฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของกรดควินิกต่อเชื้อก่อโรคในอาหาร 10 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli, Salmonella enterica, Bacillus cereus, Clostridium perfringen, Staphylococcus aureus* 6 สายพันธุ์ (Bai et al., 2018)

Octadecanoic acid, methyl ester

Octadecanoic acid, methyl ester เป็นสารที่มีการรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพว่าสามารถต้านจุลินทรีย์ได้ (Belakhdar et al., 2015) และยังมีรายงานการศึกษาฤทธิ์การต้านไวรัสโรคหัดโดยใช้ Octadecanoic acid, methyl ester ร่วมกับ Ribavirin ซึ่งเป็นยาต้านไวรัสวงกว้าง แต่มีผลข้างเคียงหลายประการ (Linton et al., 2013)

Benzoic acid, 4-ethoxy-, ethyl ester

Benzoic acid, 4-ethoxy-, ethyl ester เป็นสารที่พบในพืช เช่น *Maxillaria sanguinea* และ *Maxillaria vulcanica* โดยมีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพว่าสามารถต้านจุลินทรีย์ เป็นสารกันบูด ต้านอนุมูลอิสระ และต้านการอักเสบได้ (Lipinska et al., 2023)

Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)

Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) เป็นสารตั้งต้นของสารประกอบหลายชนิด ใช้เป็นสารป้องกันแสง หรือ UV และยังเป็นสารป้องกันจุลินทรีย์ที่ได้จากธรรมชาติ โดยได้มีการศึกษาว่าสามารถต้านเชื้อรา *Curvularia lunata* ได้ โดยเป็นสารที่ได้มาจาก *Pseudomonas fluorescens* TL-1 (Ren et al., 2019) และยังมีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพว่าสามารถต้านอนุมูลอิสระ (Arokiyaraj et al., 2018)

Trans-Caryophyllene

Trans-Caryophyllene เป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันหอมระเหยของพืชสมุนไพรหลายชนิด โดยมีรายงานว่ามีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ต้านจุลินทรีย์ มีฤทธิ์ระงับปวด และมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Pinho-da-Silva et al., 2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1-Octadecanol

1-Octadecanol หรือ Stearyl alcohol เป็นแอลกอฮอล์ในกลุ่มตัวทำละลายเรียก Fatty alcohol โดยมีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพว่าสามารถต้านแบคทีเรียและเชื้อราได้ (Lukitaningsih and Rumiyati, 2021)

Hexadecanoic acid

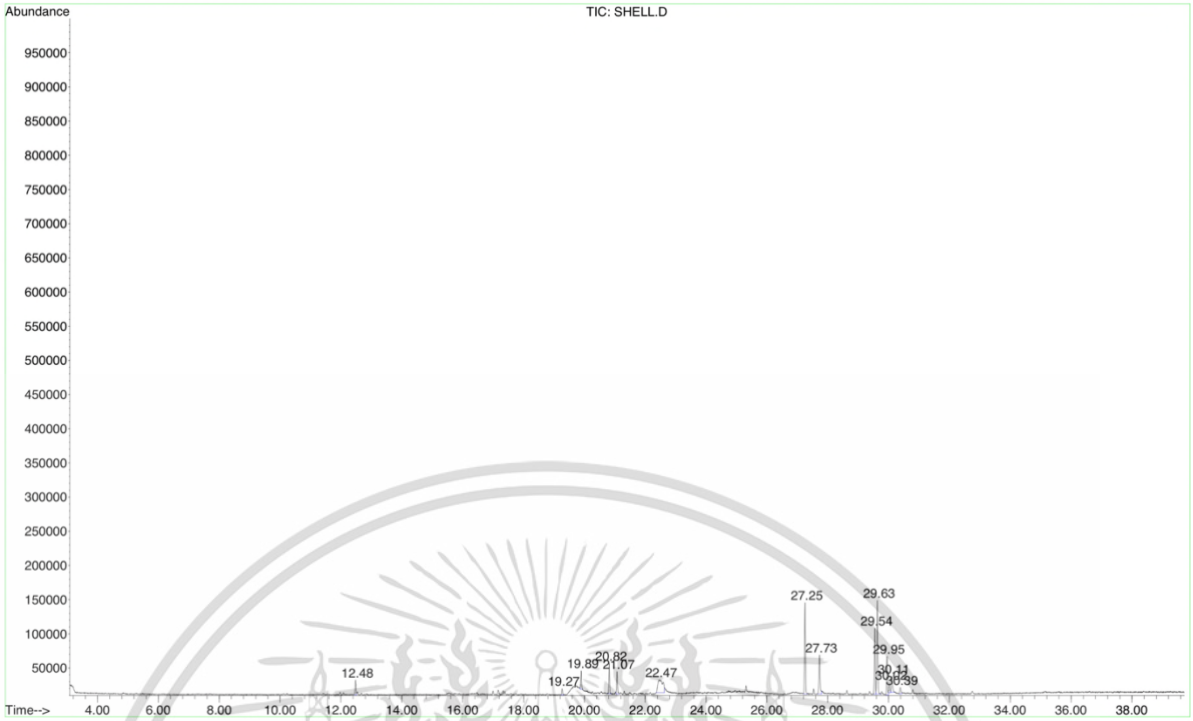
Hexadecanoic acid หรือ Palmitic acid เป็นกรดไขมันอิ่มตัว โดยมีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพว่าสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ (ศศินา, 2565)

9,12,15-Octadecatrien-1-ol

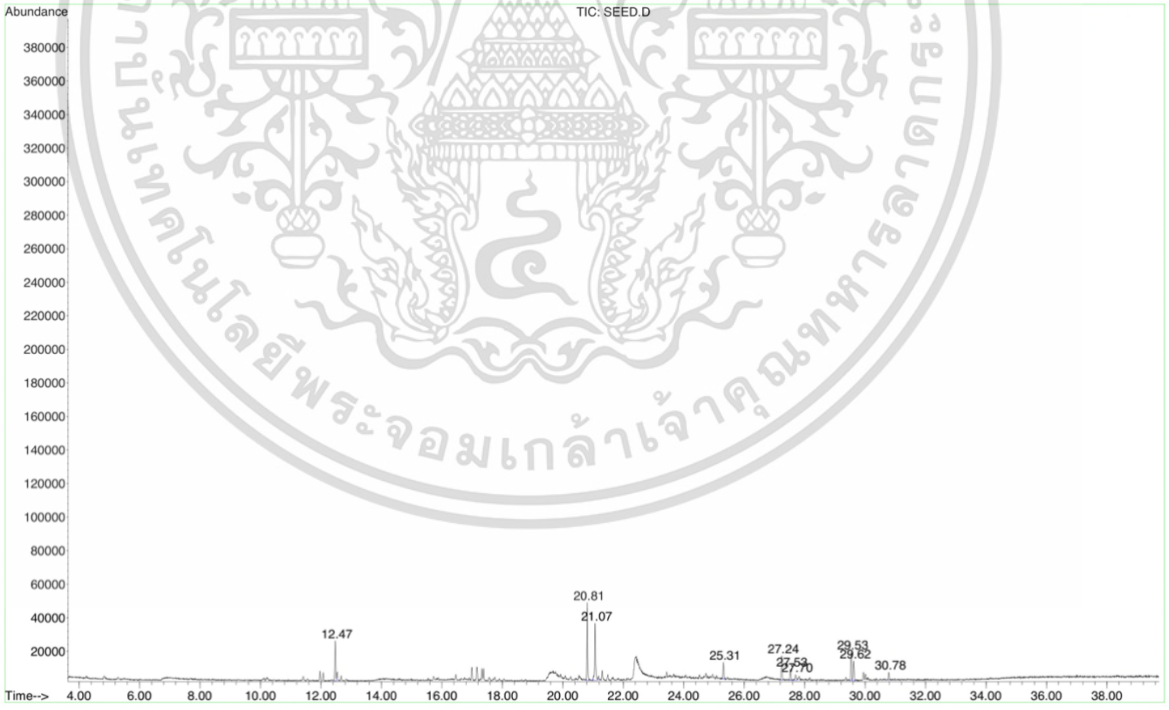
9,12,15-Octadecatrien-1-ol หรือ Linolenyl alcohol มีรายงานว่าพบฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และสารต้านมะเร็ง (Jabbar et al., 2022) และยังมีรายงานว่าสามารถต้านแบคทีเรียแกรมบวกได้ได้หลายชนิด (Gillbertson et al., 1984) และสามารถต้านการเติบโตของ *Streptococcus mutans* ซึ่งเป็นแบคทีเรียในช่องปากซึ่งเป็นสาเหตุของฝันผุได้ (Crout et al., 1982)

รูปที่ 4.3 โครมาโตแกรมของสารสกัดเมทานอลจากผลกระมอบดิบด้วยวิธี GC-MS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 โครมาโตแกรมของสารสกัดเมทานอลจากเปลือกผลกระมอบสุกด้วยวิธี GC-MS



รูปที่ 4.5 โครมาโตแกรมของสารสกัดเมทานอลจากเนื้อผลกระมอบสุกด้วยวิธี GC-MS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดเมทานอลจากผลกระมอบดิบ เปลือกผลกระมอบสุก และเนื้อของผลกระมอบสุก ด้วยเทคนิค GC-MS

สารสกัดเมทานอลจากผลกระมอบดิบ			สารสกัดเมทานอลจากเปลือกของผลกระมอบสุก			สารสกัดเมทานอลจากเนื้อของผลกระมอบสุก			ฤทธิ์ทางชีวภาพ
R.T.min	**ชนิดของสารประกอบ**	**% of total**	**R.T.min**	**ชนิดของสารประกอบ**	**% of total**	**R.T.min**	**ชนิดของสารประกอบ**	**% of total**	
12.479	Undecane	2.805	12.479	Undecane	2.583	12.473	Undecane	13.602	ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ เป็นพิษต่อเซลล์ (ศศินา, 2565)
			19.266	Trans-Caryophyllene	1.137				ต้านจุลินทรีย์ ต้านการอักเสบ (Pinho-da-Silva et al., 2012)
			19.892	.alpha.-Humulene	3.324				ต้านการอักเสบ (Rogerio et al., 2009)

หมายเหตุ R.T. = Retention time

20.820	Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl)-	5.239	20.820	Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl)-	5.095	20.809	Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl)	24.081	ต้านอนุมูลอิสระ (Arokiyaraj et al., 2018)
21.068	Benzoic acid, 4-ethoxy-, ethyl ester	4.736	21.074	Benzoic acid, 4-ethoxy-, ethyl ester	4.287	21.068	Benzoic acid, 4-ethoxy-, ethyl ester	23.353	ต้านจุลินทรีย์ สารกันบูด ต้านอนุมูลอิสระ ต้านอักเสบ (Lipinska et al., 2023)
22.428	(1R,3R,4R,5R)-(-)-Quinic acid	31.669	22.471	(1R,3R,4R,5R)-(-)-Quinic acid	13.489				ต้านอนุมูลอิสระ ต้านเบาหวาน ต้านมะเร็ง ต้านจุลินทรีย์ ต้านไวรัส (Benali et al., 2022)

						25.309	1-Octadecanol	5.549	ต้านแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา (Lukitaningsih and Rumiyati, 2021)
27.252	Hexadecanoic acid, methyl ester	14.808	27.252	Hexadecanoic acid, methyl ester	15.846	27.241	Hexadecanoic acid, methyl ester	8.578	ต้านการอักเสบไขมันในเลือดต่ำป้องกันมะเร็งป้องกันตับ สารกำจัดแมลง ยาแก้แพ้ ยาต้านกลาก ยาต้านสิว (Krishnamoorthy and Subramaniam, 2014)

				27.527	Methyl-3-(3,5-ditertbutyl-4-hydroxyphenyl) propionate	3.538	No activity report (Mirsonbol et al., 2023)
	27.732	Hexadecanoic acid	9.008	27.700	Hexadecanoic acid	3.168	ต้านอนุมูลอิสระ (ศศินา, 2565)
				29.534	9,12 -Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)-	9.052	ต้านการอักเสบป้องกันมะเร็ง สารกำจัดแมลง ต้านกลาก ป้องกันตับ ต้านโรคข้ออักเสบ (Krishnamoorthy and Subramaniam, 2014)
	29.545	9,12 - Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	11.235				ต้านการอักเสบ (Hadi et al., 2016)

29.545	8,11-Octadecadienoic acid, methyl ester	25.222							No activity report (Diab et al., 2021)
29.620	9-Octadecadienoic acid, methyl ester	8.531							ต้านการอักเสบป้องกันมะเร็ง โรคโลหิตจาง สารกำจัดแมลง (Krishnamoorthy and Subramaniam, 2014)
						29.620	Ethyl linoleolate	6.702	No activity report (Diab et al., 2021)
			29.626	8-Octadecenoic acid, methyl ester	19.112				
29.950	Octadecanoic acid, methyl ester	5.762	29.949	Octadecanoic acid, methyl ester	7.011				ต้านจุลินทรีย์ (Belakhdar et al., 2015)
30.014	3-Dodecyne	1.227							

	30.025	9,12-Octadecadienoic acid(Z,Z)-	2.088				ต้านการอักเสบป้องกันมะเร็ง สารกำจัดแมลง สารกำจัดพิษ สารต้านฮีสตามีนต้านกลาก (Krishnamoorthy and Subramaniam, 2014)
	30.106	9,12,15-Octadecatrien-1-ol	4.207				สารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านมะเร็ง (Jabbar et al., 2022)
	30.386	Octadecanoic acid	1.578				ต้านการอักเสบ (Othman et al., 2015)
				30.780	(cis)-2-nonadecane	2.378	

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบ โดยทำการทดสอบหาสารพฤกษเคมี โดยทำการทดสอบพฤษเคมีทั้งหมด 4 กลุ่ม ได้แก่ แอลคาลอยด์ แทนนิน ซาโปนิน และคูมาริน พบว่าทั้งสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบพบสารในกลุ่มแทนนิน ซาโปนิน และคูมาริน เหมือนกัน แต่ไม่พบสารในกลุ่มแอลคาลอยด์

ผลการประเมินฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบโดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดผลและใบที่ 500 และ 1400 ไมโครกรัมต่อดิสก์ตามลำดับ ด้วยวิธี Disk diffusion โดยทดสอบกับเชื้อทั้งหมด 6 สายพันธุ์ได้แก่ *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Kocuria rhizophila*, *Pseudomonas aeroginosa* และ *Staphylococcus aureus* พบว่าสารสกัดใบแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* และ *B. subtilis* และสารสกัดผลแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis, K. rhizophila*, *P. aeroginosa* และ *S. aureus*

ผลการประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบที่ความเข้มข้น 31.25-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดใบมีค่า IC_{50} ที่ 336.47 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดผลมีค่า IC_{50} ที่ 858.47 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สรุปได้ว่าสารสกัดเมทานอลจากใบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าสารสกัดเมทานอลจากผล แต่ยังคงมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่าสารมาตรฐานโทรล็อกซ์

ผลการประเมินฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วยวิธี Dopa-chrome ของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบ พบว่าสารสกัดใบมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ 45.08 และสารสกัดผลมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ 58.95 ซึ่งพบว่าสารสกัดผลมีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ดีกว่าเล็กน้อย

ผลการประเมินหาสารสำคัญด้วยเทคนิค GC-MS ของสารสกัดเมทานอลจากผลกระมอบและสารสกัดเมทานอลจากเปลือกและเนื้อของผลกระมอบสุกจากศูนย์วิจัยและถ่ายทอดวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สจล. ตำบลองค์พระ อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี โดยมีสารที่พบเหมือนกันทั้ง 3 สารสกัดจำนวน 4 ชนิด คือ Undecane, Phenol 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-, Benzoic acid 4-ethoxy- ethyl ester และ Hexadecanoic acid, methyl ester โดยพบสารที่น่าสนใจที่อาจมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย และต้านอนุมูลอิสระจากผลกระมอบดิบซึ่งใช้ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในงานวิจัยนี้จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ 1R,3R,4R,5R)-(-)-Quinic acid, Octadecanoic acid methyl ester, Benzoic acid 4-ethoxy- ethyl ester และ Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl) ซึ่งจากผลการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเมินหาสาระสำคัญด้วยเทคนิค GC-MS พบว่า ในสารสกัดเมทานอลจากเปลือกและเนื้อของผลกระมอบสุกพบสาระสำคัญที่อาจมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่มากกว่าสารสกัดเมทานอลจากผลกระมอบดิบ

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเมทานอลจากผลและใบของต้นกระมอบดิบ ซึ่งได้ทำการทดสอบสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเป็นการทดสอบเพียงเบื้องต้นเท่านั้นยังมีสารพฤกษเคมีอีกหลายกลุ่ม แบคทีเรียกลุ่มอื่นๆ การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีอื่นๆ เช่น ABTS และ FRAP และฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ความเข้มข้นอื่นๆ การใช้ตัวทำละลายชนิดอื่นๆ ที่น่าทำการศึกษาทดสอบเพิ่ม นอกจากนี้ยังมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพด้านอื่นๆ ที่น่าสนใจศึกษาเพิ่มเติม เช่น ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และความเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งจากการทำการประเมินสารสำคัญด้วยวิธี GC-MS ทำให้เราได้ทราบว่าสารสกัดเมทานอลจากเปลือกและเนื้อของผลกระมอบสุก พบสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย และน่าสนใจมากมายมากกว่าที่พบจากสารสกัดเมทานอลจากผลดิบ ซึ่งหากต้องการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดของต้นกระมอบเพิ่มเติม จึงแนะนำการทดสอบจากสารสกัดจากผลกระมอบสุก ซึ่งเก็บในช่วงเดือนธันวาคม และนำส่วนของผลและใบของต้นกระมอบดิบไปศึกษาวิจัยต่อเพื่อพัฒนาให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการถนอมอาหารที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกอร อัมพรายน์, อนันต์ พิริยะภัทรกิจ และสุขุมาภรณ์ แสงงาม. 2562. สารพฤกษเคมีและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในใบขลู่ตากแห้งของชุมชนบ้านคลองตำหรุ ชลบุรี. วารสารเกษตร มสธ. 1: 5-14.

จุฑาภรณ์ ผลมะขาม. 2563. ปัจจัยที่มีผลต่อฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบสัก. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ณพัฐอร บัวฉุน. 2563. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบใบฝรั่ง. วารสารวิจัยและพัฒนาวไลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์. 1: 12.

ณพัฐอร บัวฉุน. 2563. สารพฤกษเคมีเบื้องต้น และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสลัดน้ำพืชสดและพืชแห้ง. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย. 1: 144-154.

บังอร วงศ์รักษ์ และศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ์. 2549. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน. เภสัชศาสตร์บัณฑิต. มหาวิทยาลัยมหิดล.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 3: 276-286

ประไพพิศ อินเสน. 2561. การยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินจากพืชกลุ่มเบอร์รี่ไทย. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2: 69-82.

ประสาทพร บริสุทธ์เพ็ชร, พิทัย กาญบุตร และสาธร พรตระกูลพิพัฒน์. 2551. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ. 91-101. ในการประชุมวิชาการสัตวแพทย์ศาสตร์ มข ครั้งที่ 9. ขอนแก่น

พฤษวรรษ หลอดเข็ม. 2559. ฤทธิ์ทางชีวภาพและความหลากหลายทางพันธุกรรมของดีปลากั้ง. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ราชบัณฑิตยสถาน. 2538. อนุกรมวิธานพืช อักษร ก. กรุงเทพฯ. เพื่อนพิมพ์.

ศศินา สุทัศน์กนก. 2565. ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเห็ด *Flavodon flavas* (Klotzsch) Ryvarden. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

สมภพ ประธานธุรารักษ์, นพมาศ สุนทรเจริญ, พร้อมจิต ศรลัมพ์, รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล, วงศ์สถิตย์ ฉั่วกุล และวิชิต เปานิล. 2543.สารานุกรมสมุนไพร กกยาอีสาน. เล่มที่ 4. ครั้งที่ 1. นครปฐม. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยมหิดล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

สุมิตา นิยมเดชา. 2564. การศึกษาสารพฤกษเคมี ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และวิธีการแยกสารสำคัญในกัญชาเพื่องานทางนิติวิทยาศาสตร์. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

Arokiyaraj, S., Bharanidharan, R., Agastian, P., and Hin, H. 2018. Chemical composition, antioxidant activity and antibacterial mechanism of action from *Marsilea minuta* leaf hexane: methanol extract. Chemistry Central Journal, 12(1): 1-11.

Bai, J., Wu, Y., Wang, X., Liu, X., Zhong, K., Huang, Y., ... and Gao, H. 2018. In vitro and in vivo characterization of the antibacterial activity and membrane damage mechanism of quinic acid against *Staphylococcus aureus*. Journal of Food Safety, 38(1): e12416.

Belakhdar, G., Benjouad, A., and Abdennebi, E. H. 2015. Determination of some bioactive chemical constituents from *Thesium humile Vahl*. Journal of Materials and Environmental Science, 6(10): 2778-2783.

Benali, T., Bakrim, S., Ghchime, R., Benkhaira, N., El Omari, N., Balahbib, A., ... and Bouyahya, A. 2022. Pharmacological insights into the multifaceted biological properties of quinic acid. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews: 1-30.

Budholiya, P., and Sharma, H. K. 2019. Comparative Phytochemical Screening and Estimation of Bioactive Constituents of Leaves of *Lagerstroemia parviflora*, *Gardenia latifolia* and *Terminalia tomentosa*. Journal of Drug Delivery and Therapeutics, 9(4-A) : 674-678.

Chowdhury, A., Azam, S., Jainul, M. A., Faruq, K. O., and Islam, A. 2014. Antibacterial activities and in vitro anti-inflammatory (membrane stability) properties of methanolic extracts of *Gardenia coronaria* leaves. International journal of microbiology.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2012. M02-A11-performanc standards for antimicrobial disk susceptibility test ; approved standard. 11th ed. Wayne, Pennsylvania : Clinical and Laboratory Standards Institute.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Crout, R. J., Gilbertson, J. R., Gilbertson, J. D., Platt, D., Langkamp, H. H., and Connamacher, R. H. 1982. Effect of linolenyl alcohol on the in-vitro growth of the oral bacterium *Streptococcus mutans.* Archives of Oral Biology, 27(12): 1033-1037.

Deb, N. K. 2018. Screening of antibacterial properties of crude extract of *Gardenia latifolia* Ait. Bark. International Journal of Herbal Medicine. 6(5): 01-04.

Diab, T. A., Donia, T., and Saad-Allah, K. M. 2021. Characterization, antioxidant, and cytotoxic effects of some Egyptian wild plant extracts. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences, 10(1): 1-13.

Gilbertson, J. R., Langkamp, H. H., Connamacher, R., and Platt, D. 1984. Use of lipids to potentiate the antibacterial activity of aminoglycosides. Antimicrobial agents and chemotherapy, 26(3): 306-309.

Hadi, M. Y., Mohammed, G. J., and Hameed, I. H. 2016. Analysis of bioactive chemical compounds of *Nigella sativa* using gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy, *8*(2): 8-24.

Han, Y., Kim, Y., Kwak, J., Min, H. and Oh, J. 2002. Whitening materials from extracts of Gardenia fruit. n.p. 1: 1-5.

Iqbal, E. 2015. Phytochemical screening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam. Journal of King Saud University – Science. 27: 224-232.

Jabbar, A. A., Abdullah, F. O., Abdulrahman, K. K., Galali, Y., and Sardar, A. S. 2022. GC-MS Analysis of bioactive compounds in methanolic extracts of *Papaver decaisnei* and determination of its antioxidants and anticancer activities. Journal of Food Quality, 2022.

Krishnamoorthy, K., and Subramaniam, P. 2014. Phytochemical profiling of leaf, stem, and tuber parts of *Solena amplexicaulis* (Lam.) Gandhi using GC-MS. International scholarly research notices, *2014*.

Kumar, V., Mahmood, R., Krishna, V., Ravishankar, B., and Shastri, S. L. 2017. Evaluation of antibacterial activity from stem bark and leaf extracts of *Gardenia gummifera* Linn. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 6(6) : 2026-2030

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Kwak, J., Kim, Y., Chang, H., Park, C. and Han, Y. 2004. Inhibitory effect of Gardenia fruit extracts on tyrosinase activity and melanogenesis. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 6: 437-440.

Linton, R. E. A., Jerah, S. L., and Bin Ahmad, I. 2013. The effect of combination of octadecanoic acid, methyl ester and ribavirin against measles virus. Int J Sci Tech Res, 2(10): 181-184.

Lipińska, M. M., Haliński, Ł. P., Gołębiowski, M., and Kowalkowska, A. K. 2023. Active Compounds with Medicinal Potential Found in *Maxillariinae Benth*. (Orchidaceae Juss.) Representatives—A Review. International journal of molecular sciences, *24*(1): 739.

Lukitaningsih, E., and Rumiyati, R. 2021. GC-MS Analysis of bioactive compounds in ethanol and ethyl acetate fraction of grapefruit (*Citrus maxima* L.) rind. Borneo journal of phamacy, 4 : 29-35

Mirsonbol, S. Z., Issazadeh, K., Zarrabi, S., and Mirpour, M. 2023. Evaluation of antimicrobial activity of *Streptomyces pactum* isolated from paddy soils and identification of bioactive volatile compounds by GC-MS analysis. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 39(2): 63.

Mostafa, A., Al-Askar, A., Almaary, A., Dawoud, T., Sholkamy, E., Bakri, M. 2018. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. Saudi journal of biological sciences, 25: 361-366.

Othman, A. R., Abdullah, N., Ahmad, S., Ismail, I. S., and Zakaria, M. P. 2015. Elucidation of in-vitro anti-inflammatory bioactive compounds isolated from *Jatropha curcas* L. plant root. BMC complementary and alternative medicine, 15: 1-10.

Parthasarathy, S., Azizi, J. B., Ramanathan, S., Ismail, S., Sasidharan, S., Said, M. I. M., and Mansor, S. M. 2009. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of aqueous, methanolic and alkaloid extracts from *Mitragyna speciosa* (Rubiaceae family) leaves. Molecules, 14(10), 3964-3974

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Pinho-da-Silva, L., Mendes-Maia, P. V., Teófilo, T. M. D. N. G., Barbosa, R., Ceccatto, V. M., Coelho-de-Souza, A. N., ... and Leal-Cardoso, J. H. 2012. Trans-caryophyllene, a natural sesquiterpene, causes tracheal smooth muscle relaxation through blockade of voltage-dependent Ca2+ channels. Molecules, 17(10): 11965-11977.

Raghavendra, H., Shilpa, M., Pushpavathi, D., Petkar, T., and Siddiqha., A. 2017. Antimicrobial, Antiradical and insecticidal activity of *Gardenia gummifela* L. F. (Rubiceae). International Journal of Phamaceutical Science. 10 : 265-27

Rawat, S. 2015. Food Spoilage: Microorganisms and their prevention. Asian journal of plant science and Research, 5(4): 47-56.

Reddy, Y.M., Kumar, S.P.J., Saritha, K.V., Gopsl, P., Reddy, T.M., and Simal-Gandara, J. 2021. Phytochemical profiling of methanolic fruit extract of *Gardenia latifolia* Ait. by LC-MS/MS analysis and evaluation of its antioxidant and antimicrobial activity. Plants. 10: 545.

Ren, J., Wang, J., Karthikeyan, S., Liu, H., and Cai, J. 2019. Natural anti-phytopathogenic fungi compound phenol, 2, 4-bis (1, 1-dimethylethyl) from *Pseudomonas fluorescens* TL-1.

Rogerio, A. P., Andrade, E. L., Leite, D. F., Figueiredo, C. P., and Calixto, J. B. 2009. Preventive and therapeutic anti-inflammatory properties of the sesquiterpene α-humulene in experimental airways allergic inflammation. British Journal of Pharmacology, *158*(4): 1074-1087.

Seema, R. 2015. Food Spoilage: Microorganisms and their prevention. Asian journal of plant science and Research. 5.4: 47-56.

Souza, P. M., Elias, S. T., Simeoni, L. A., de Paula, J. E., Gomes, S. M., Guerra, E. N. S., ... and Magalhaes, P. O. (2012). Plants from Brazilian Cerrado with potent tyrosinase inhibitory activity. PloS one, 7(11): e48589.

Sundar, R. A., and Habibur, R. C. 2018. Pharmacognostic, phytochemical and antioxidant studies of *Gardenia latifolia* Ait on: An ethnomedicinal tree plant. Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res. 10: 216-228.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Tamilselvi, K., Ananad, S. P., and Doss, A. 2018. Evaluation of in-vitro antidiabetic activity of *Gardenia Latifolia* Ait. International Journal of Health Sciences & Research. 8(8): 226-230.

Tanamatayaratt, Patcharawan. 2002. Cytotoxic activity screening of some rubiaceae plants in Northern Thailand. Doctor of Philosophy (Biology). Chiang Mai University.

Yadav, R. N. S., and Agarwala, M. 2011. Phytochemical analysis of some medicinal plants. Journal of phytology, 3(12).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

1. Dragendorff's reagent

เตรียมสารละลาย Dragendorff's reagent ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยละลาย bismuth subnitrate 8 กรัม nitric acid ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และ potassium iodide 27.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

2. Mayer's reagent

เตรียมสารละลาย Mayer's reagent ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยชั่ง mercuric chloride 0.136 กรัม และ potassium iodide 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร

3. Wagner's reagent

เตรียมสารละลาย Wagner's reagent ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยชั่ง iodine 0.127 กรัม potassium iodide 0.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร

4. Gelatin solution

เตรียมสารละลาย gelatin solution ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยละลายเจลาติน 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร จากนั้นให้ความร้อนปานกลางจนเจลาตินละลายหมด

5. Gelatin salt solution

เตรียมสารละลาย gelatin salt solution โดยผสม gelatin solution กับสารละลาย Sodium chloride 10% ในอัตราส่วน 1 : 1

6. Phosphate buffer pH 6.8

เตรียมสารละลาย A ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ โดยชั่งสาร $Na_2HPO_4.2H_2O$ ปริมาณ 7.80 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร และเตรียมสารละลาย B ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ โดยชั่งสาร $NaH_2PO_4.2H_2O$ ปริมาณ 8.90 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นผสมสารละลาย A ปริมาตร 24.50 มิลลิลิตร กับสารละลาย B ปริมาตร 25.50 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 6.8 จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

7. L-DOPA (L-3,4-dihydroxyphenylalanine)

เตรียมสารละลาย L-DOPA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยชั่งสาร L-DOPA 4.93 มิลลิกรัม ละลายด้วยสารละลาย phosphate buffer pH 6.8 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

8. เอนไซม์ไทโรซิเนส

เตรียมเอนไซม์ไทโรซิเนส ความเข้มข้น 537.4 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยทำการเจือจางสารละลายจาก stock ของเอนไซม์ไทโรซิเนสความเข้มข้น 2,687 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยดูดสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนสจาก stock ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมกับสารลาย phosphate buffer pH 6.8 ปริมาตร 800 ไมโครลิตร

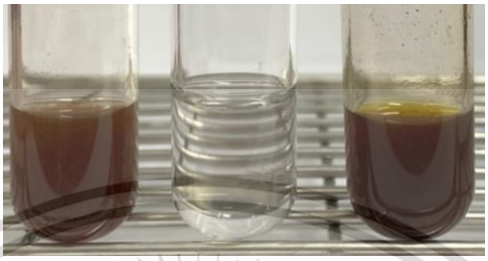
เอกสารนี้ ... ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ... ไม่ให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

1. แอลคาลอยด์

สารมาตรฐานโคลชิซีน



A B C

ผลกระมอบ

A B C

ใบกระมอบ

A B C

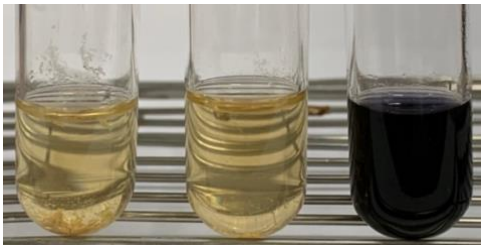
หมายเหตุ A: Wagner’s reagent, B: Mayer’s reagent, C: Dragendorff’s reagent
หากเกิดตะกอนสีน้ำตาลแดง ตะกอนสีขาวครีม และตะกอนสีส้มแดง ตามลำดับ แสดงว่าพบแอลคาลอยด์ โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานโคลชิซีน

รูปภาคผนวกที่ ข-1 การตรวจสอบแอลคาลอยด์ของสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

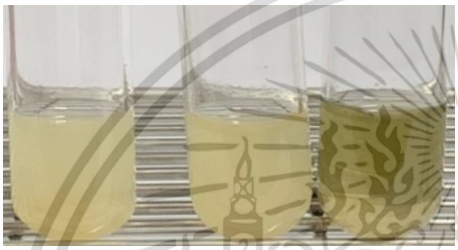
2. แทนนิน

กรดแทนนิก



A B C

ผลกระมอบ



A B C

ใบกระมอบ

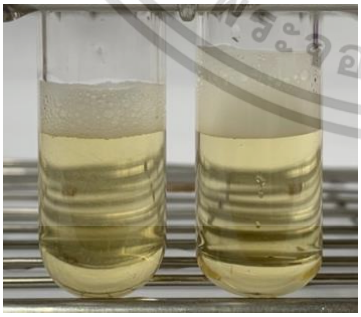
A B C

หมายเหตุ A: Gelatin solution, B: Gelatin salt solution, C: เฟอร์ริกคลอไรด์ 1 เปอร์เซ็นต์ หากเกิดตะกอนสีขาวเมื่อหยดสารละลาย A และ B และเกิดตะกอนสีน้ำเงินเขียว เมื่อหยดสารละลาย C แสดงว่าพบแทนนิน โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแทนนิก

รูปภาคผนวกที่ ข-2 การตรวจสอบแทนนินของสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบ

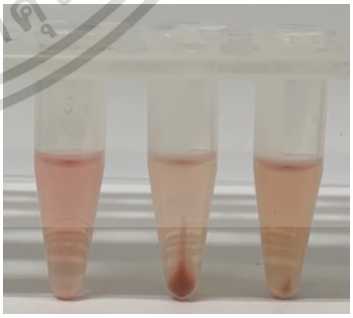
3. ซาโปนิน

Froth test



ผล ใบ

Hemolysis test



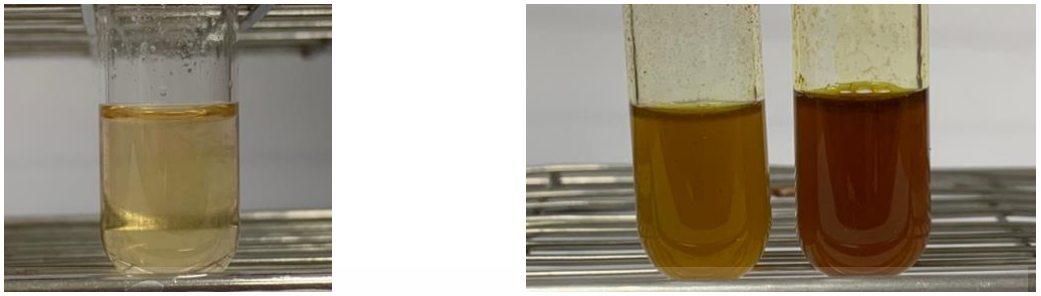
Aescin ผล ใบ

หมายเหตุ หากเกิดฟองคงตัวหลังผ่านเวลาไปอย่างน้อย 30 นาที และ เกิดสีแดงของฮีโมโกลบินในสารละลายส่วนใส แสดงว่าพบซาโปนินโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานแอสซิน

รูปภาคผนวกที่ ข-3 การตรวจสอบซาโปนินของสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. คูมาริน

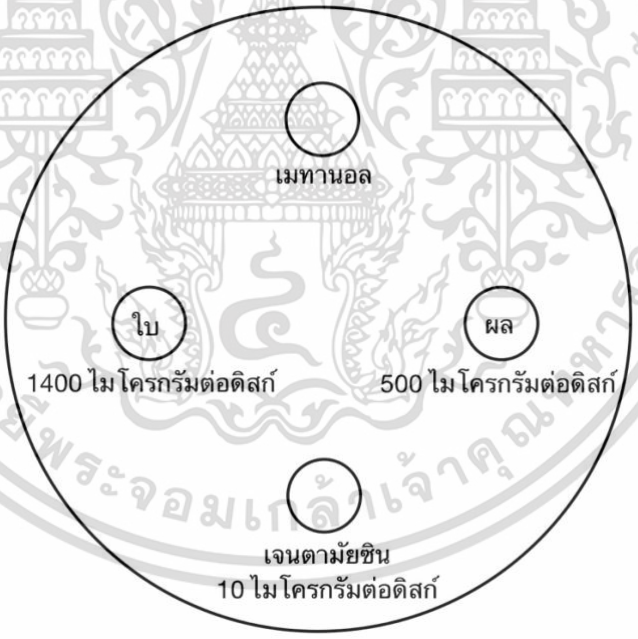


Warfarin ผล ใบ

หมายเหตุ หากสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม แสดงว่าพบคูมารินโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวาร์ฟารีน

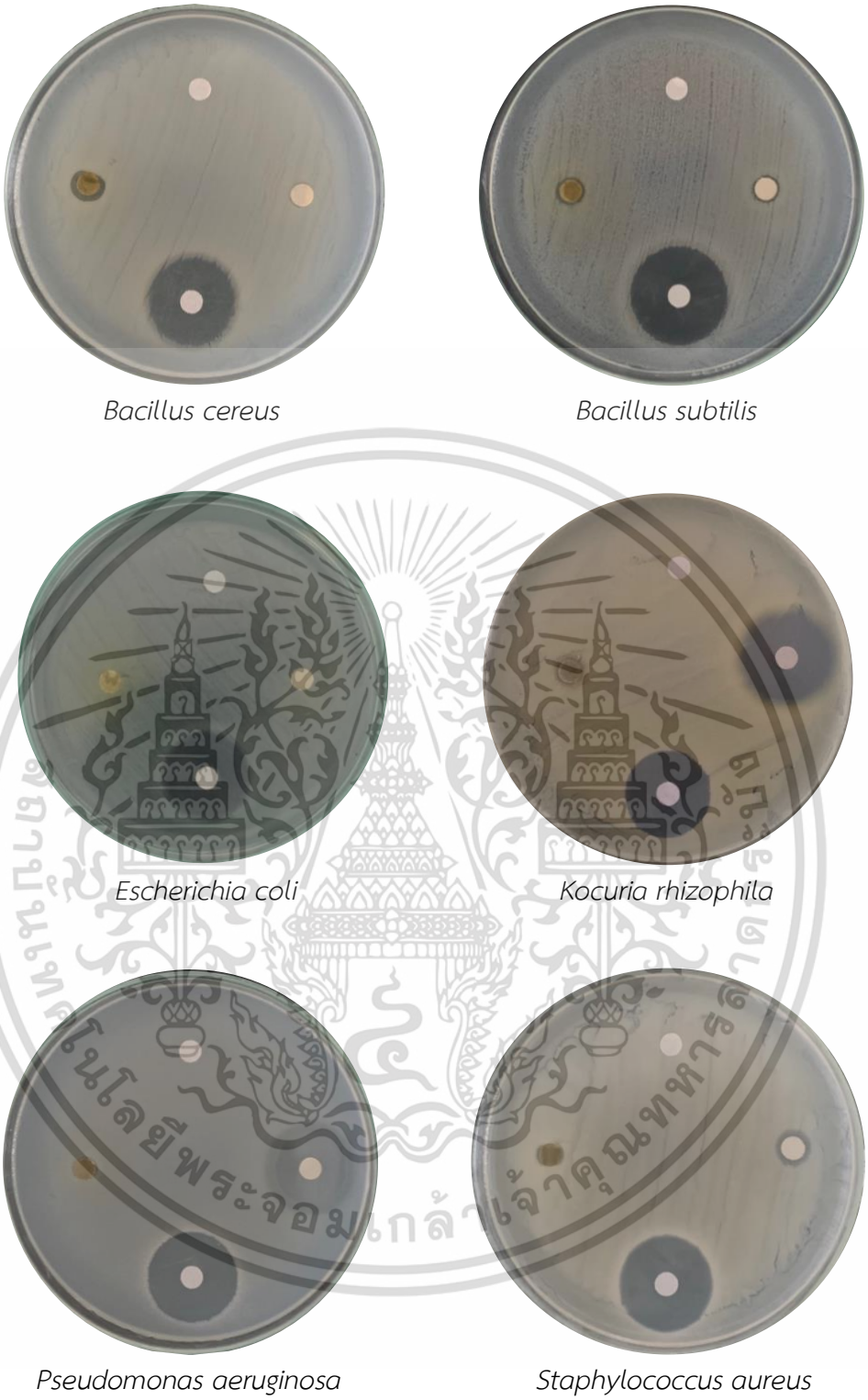
รูปภาคผนวกที่ ข-4 การตรวจสอบคูมารินของสารสกัดเมทานอลผลและใบของต้นกระมอบ

การประเมินฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย



รูปภาคผนวกที่ ข-5 แสดงตำแหน่งการวางดิสก์ในการประเมินฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Bacillus cereus *Bacillus subtilis*

Escherichia coli *Kocuria rhizophila*

Pseudomonas aeruginosa *Staphylococcus aureus*

รูปภาคผนวกที่ ข-6 การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดเมทานอลจากผลกระมอบ ที่ระดับความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อดิสก์ และสารสกัดเมทานอลจากใบกระมอบ ที่ระดับความเข้มข้น 1400 ไมโครกรัมต่อดิสก์ กับเชื้อ *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Kocuria rhizophila, Pseudomonas aeruginosa* และ *Staphylococcus aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

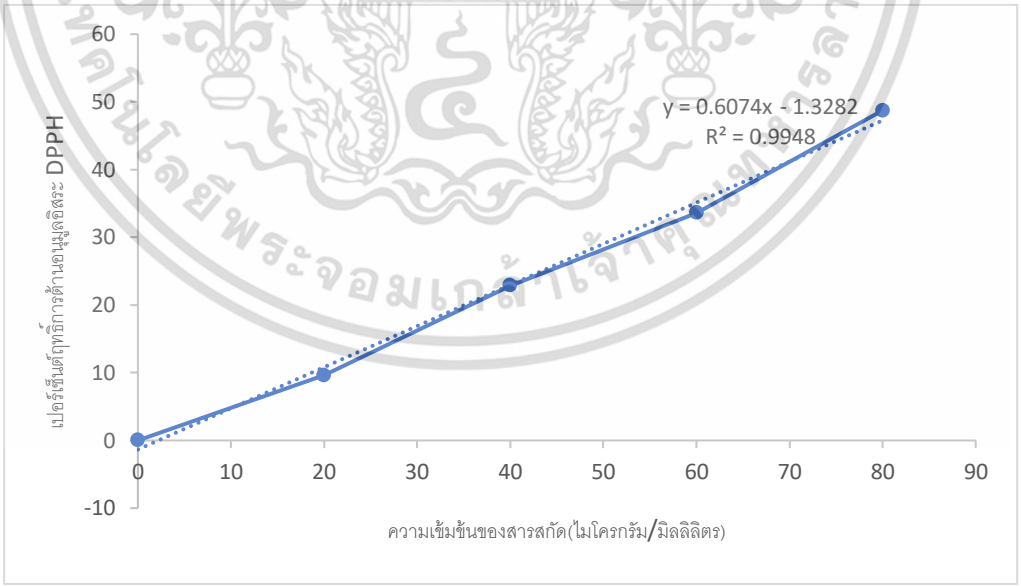
การคำนวณเกี่ยวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

1.การคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยใช้กราฟมาตรฐานโทรล็อกซ์จากค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH กับความเข้มข้นของสารมาตรฐานโทรล็อกซ์ ดังตารางภาคผนวกที่ ค-1 และแสดงกราฟมาตรฐานโทรล็อกซ์ดังรูปภาคผนวกที่ ค-1

ตารางภาคผนวกที่ ค-1 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารมาตรฐานโทรล็อกซ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH			ค่าเฉลี่ย±SD	IC_{50}
	1	2	3		
20	8.67	11.97	8.21	9.62 ±2.05	84.50
40	22.25	24.51	21.81	22.85 ±1.44	
60	29.19	35.65	35.97	33.60 ±3.82	
80	48.55	53.48	44.19	48.74 ±4.64	



รูปภาคผนวกที่ ค-1 กราฟมาตรฐานโทรล็อกซ์ ใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกราฟมาตรฐานโทรล็อกซ์ (รูปภาคผนวกที่ ค-1) ได้สมการของสารมาตรฐานดังนี้

$$y = 0.6074x - 1.3283 \quad \text{(ค-1)}$$

y คือ เปอร์เซ็นต์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH

x คือ ความเข้มข้นของสารมาตรฐานโทรล็อกซ์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

นอกจากนี้ยังสามารถหาค่า IC_{50} ของสารมาตรฐานโทรล็อกซ์ได้จากสมการมาตรฐานดังกล่าว โดยแทนค่า y เท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์

แทนค่า y ในสมการที่ ค-1 $x = (50+1.3283)/0.6074$

$x = 84.50$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ค่า IC_{50} ของสารมาตรฐานโทรล็อกซ์ได้จากการคำนวณ เท่ากับ 84.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

<u>ตัวอย่างการคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH</u>

สารสกัดเมทานอลจากใบของต้นกระมอบ ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (250ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) นำมาศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH คำนวณเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH เฉลี่ยได้เท่ากับ15.56 เปอร์เซ็นต์

หาค่า x จากสมการที่ ค-1 $x = (y+1.3283)/0.6074$ (ค-2)

จากนั้นแทนค่า y ในสมการที่ ค-2 $x = (15.56+1.3283)/0.6074$

$x = 27.81$ มิลลิกรัมโทรล็อกซ์ต่อมิลลิลิตร

นำค่า x ที่ได้ หารด้วยความเข้มข้นของสารสกัดที่นำมาทดสอบ ซึ่งตัวอย่างนี้ใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าที่ได้จะอยู่ในหน่วยมิลลิกรัมโทรล็อกซ์ต่อกรัมสารสกัด

ดังนั้น สารสกัดเมทานอลจากใบของต้นกระมอบ มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 111.27 มิลลิกรัมโทรล็อกซ์ต่อกรัมสารสกัด ทำเช่นนี้ในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดแล้วนำมาคำนวณค่าเฉลี่ย โดยในสารสกัดตัวอย่างอื่นๆ ก็คำนวณเช่นเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ/ปัญหาพิเศษ/สหกิจศึกษา

วันที่ 23 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2566

ข้าพเจ้า นางสาว พิมพ์ตะวัน วรรณวิจิตร รหัสประจำตัว 62050630
นางสาว พีรญาณ์ ณัฐเจริญวงศ์ รหัสประจำตัว 62050632
นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษ เรื่อง การประเมินฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารเมทานอลจากต้นกระมอบ

Evaluation of antibacterial, antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of methanolic extract from Kra-mob ปีการศึกษา 2565

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว
โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 1.41 %

ลงชื่อ พิมพ์ตะวัน วรรณวิจิตร
(พิมพ์ตะวัน วรรณวิจิตร)
นักศึกษา

ลงชื่อ พีรญาณ์ ณัฐเจริญวงศ์
(พีรญาณ์ ณัฐเจริญวงศ์)
นักศึกษา

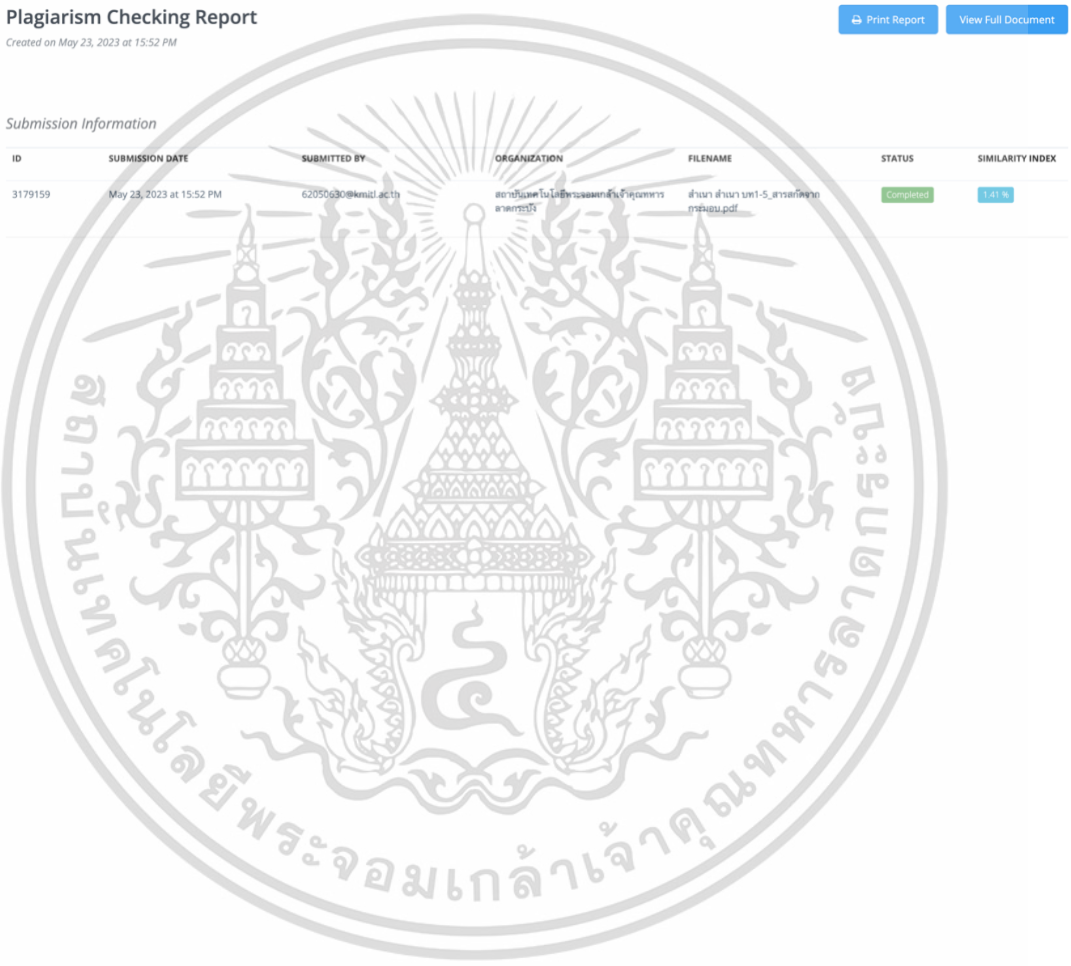
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้าพเจ้า รศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผลการตรวจการคัดลอกบทความด้วยโปรแกรมอักขราวิสุทธิ์



Plagiarism Checking Report

Created on May 23, 2023 at 15:52 PM

Print Report | View Full Document

Submission Information

ID	SUBMISSION DATE	SUBMITTED BY	ORGANIZATION	FILENAME	STATUS	SIMILARITY INDEX
3179159	May 23, 2023 at 15:52 PM	62050630@kmitl.ac.th	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	สำเนา สำเนา บท1-5_สารสกัดจากกระเทียม.pdf	Completed	1.41 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้