การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของรากหนอนตายหยาก ในการกำจัดเห็บปลา (*Argulus* sp.)

THE STUDY OF BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *Stemona* sp. TO ELIMINATE FISH LICE (*Argulus* sp.)

วันวิสาข์ สว่างอารมณ์

อรวรรณ ห้วยลึก

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปีการศึกษา 2565

THE STUDY OF BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *Stemona* sp. TO ELIMINATE FISH LICE (*Argulus* sp.)

WANVISA SAWANG-AROM

ORAWAN HUAILUEK

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ACADEMIC YEAR 2022

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของรากหนอนตายหยากในการกำจัดเห็บปลา (*Argulus* sp.) The Study of Biological Activities of *Stemona* sp. Extracts to Eliminate Fish Lice (*Argulus* sp.)
ชื่อนักศึกษา	นางสาววันวิสาข์ สว่างอารมณ์ รหัสนักศึกษา 62050649 นางสาวอรวรรณ ห้วยลึก รหัสนักศึกษา 62050663
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2565

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.กานต์ วงศาริยะ ประธานกรรมการ	
ดร.นิลเนตร อัศวะศิริจินดา กรรมการ	
ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ กรรมการ และอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของรากหนอนตายหยากในการกำจัดเห็บปลา (*Argulus* sp.)
ชื่อนักศึกษา	นางสาววันวิสาข์ สว่างอารมณ์ รหัสนักศึกษา 62050649 นางสาวอรวรรณ ห้วยลึก รหัสนักศึกษา 62050663
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ

บทคัดย่อ

โรคเห็บปลาพบในปลาน้ำจืดและน้ำเค็มที่มีเกล็ด การกำจัดปรสิตเห็บปลามักจะใช้ยาและสารเคมีหลายชนิด ส่งผลเสียต่อปลาและสภาพแวดล้อม ปัจจุบันมีการให้ความสำคัญสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ทดแทนยาและสารเคมี การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของรากหนอนตายหยากในการกำจัดเห็บปลาโดยทำการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ และเอทานอล ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion รวมถึงทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดเห็บปลาด้วยวิธี Dipping method พบว่าสารสกัดจากน้ำมีสารสำคัญ 7 ชนิด โดย 1,3-Butanediol พบปริมาณมากที่สุดร้อยละ 62.988 สารสกัดจากเอทานอลมีสารสำคัญ 21 ชนิด โดย Hexadecanoic acid พบปริมาณมากที่สุดร้อยละ 15.184 และพบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ Cycobutane ร้อยละ 7.126 ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าสารสกัดจากน้ำมีเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด 34.27±0.01 สารสกัดจากเอทานอลมีสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด 10.375±0.05 สารสกัดจากเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila*, *B. subtilis*, *S. aureus* และ *S. cohnii* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าสารสกัดจากน้ำ และเอทานอลที่ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร สามารถกำจัดเห็บปลาได้ภายในเวลา 12 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ จากการศึกษาสารสกัดจากรากหนอนตายหยากมีคุณสมบัติในการป้องกันและกำจัดเห็บปลาที่มีฤทธิ์ทำลายและยับยั้งการเจริญเติบโตของเห็บปลาในระยะเวลาที่กำหนด จึงเป็นอีกทางเลือกในการป้องกันและรักษาโรคเห็บปลาแทนการใช้ยาหรือสารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำสำคัญ : เห็บปลา, ปรสิต, รากหนอนตายหยาก, สารสกัดหยาบ

Title	The Study of Biological Activities of *Stemona* sp. Extracts to Eliminate Fish Lice (*Argulus* sp.)
Students	Miss Wanvisa Sawang-arom Student ID 62050649
	Miss Orawan Huailuek Student ID 62050663
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
School	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2022
Advisor	Asst.Prof.Dr.Worakrit Waranantha kij

Abstract

Fish lice disease is found in both freshwater and marine fish. The elimination of fish lice often involves the use of various drugs and chemicals, which can have negative effects on fish and the environment. Currently, natural extracts are being emphasized as alternatives to drugs and chemicals. This study aims to investigate the biological properties of *Stemona* sp. for the eradication of fish lice using aqueous and ethanolic extractions. The chemical components were analyzed using the GC-MS technique. The antioxidant properties were determined using the DPPH, and the total phenolic content was analyzed using the Folin-Ciocalteu method. The inhibitory effects of bacteria were tested using the agar well diffusion method. The effectiveness of lice eradication was also tested using the dipping method. The study found that the aqueous extract of *Stemona* sp. contained seven important compounds, with 1,3-Butanediol being the most abundant, accounting for 62.988%. The ethanol extract contained 21 important compounds, with Hexadecanoic acid being the most abundant, accounting for 15.184%, followed by the alcohol group compound Cycobutane at 7.126%. The biological activities revealed that the aqueous extract exhibited the highest percentage of antioxidant activity at 34.27 ± 0.01%. The ethanol extract had the highest concentration of phenolic compounds at 10.375 ± 0.05. The ethanol extract was able to inhibit the bacteria *A. hydrophila, B. subtilis, S. aureus*, and *S. cohnii* at a minimum concentration of 300 mg/mL, while the aqueous extract and ethanol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

extract at a concentration of 30 mg/mL were able to eliminate fish lice within 12 hours and 6 hours, respectively.The study concluded that the extract from *Stemona* sp. has properties that can prevent and eliminate fish lice by inhibiting their growth and development within the specified time frame. Therefore, it can be considered as an alternative for preventing and treating fish lice disease instead of using drugs or chemicals.

Keywords : Fish Lice, Parasite, *Stemona* sp., Crude extract

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์และสนับสนุนเป็นอย่างดียิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรกฤต วรนันทกิจ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ได้กรุณาเสียสละเวลาอันมีค่าให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ คำปรึกษา ตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้สำเร็จเรียบร้อยด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กานต์ วงศาริยะ และดร.นิลเนตร อัศวะศิริจินดา ที่กรุณาเป็นประธานกรรมการ และกรรมการสอบ ให้ข้อเสนอแนะ แก้ไข และแนวคิดต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์

ขอกราบขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่าน และนางสาวปิยพรรณ แม้นกลิ่นเนียม พี่นักศึกษาปริญญาเอกที่อำนวยความสะดวกในการเบิกอุปกรณ์ สารเคมี และเครื่องมือในการทำโครงงานพิเศษนี้

ขอกราบขอบพระคุณครอบครัวสว่างอารมณ์ และครอบครัวห้วยลึก เพื่อนทุกท่าน คอยให้กำลังใจ คอยให้ความช่วยเหลือ สนับสนุนในทุก ๆ ด้าน ตลอดระยะเวลาทำโครงงานพิเศษด้วยความเต็มใจ

ขอขอบพระคุณผู้ที่ให้ความช่วยเหลือซึ่งไม่ได้กล่าวนามในที่นี้ทุก ๆ ท่าน ในการทำโครงงานพิเศษในครั้งนี้ ทั้งนี้ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ณ ที่นี้

วันวิสาข์ สว่างอารมณ์
อรวรรณ ห้วยลึก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ง
สารบัญ ..... จ
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญรูป ..... ซ
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 ปลาทอง (Goldfish) 3
2.1.1 สายพันธุ์ปลาทอง 3
2.1.1.1 ปลาทองที่มีหางเดี่ยว 3
2.1.1.2 ปลาทองที่มีหางคู่ 4
2.2 เห็บปลา (Fish Lice) 5
2.2.1 วงจรชีวิตเห็บปลา 6
2.3 รากหนอนตายหยาก (*Stemona* sp.) 8
2.3.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของรากหนอนตายหยาก 9
2.3.2 องค์ประกอบทางเคมีของรากหนอนตายหยาก 11
2.4 สารสกัดจากสมุนไพร 12
2.4.1 การเลือกตัวทำละลาย 12
2.4.2 การสกัดด้วยตัวทำละลาย 13
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 14
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 15
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี 15
3.1.1 อุปกรณ์ 15
3.1.2 สารเคมี 16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย 16
3.2.1 การเตรียมตัวอย่าง 16
3.2.2 การสกัดสารจากรากหนอนตายหยาก 16
3.2.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมี 16
3.2.4 การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระ 17
3.2.5 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 17
3.2.6 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 17
3.2.7 การเตรียมอุปกรณ์การเลี้ยงเห็บปลาและสัตว์ทดลอง 18
3.2.8 การทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดเห็บปลา 18
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 19
4.1 ผลการสกัดสารจากรากหนอนตายหยาก 19
4.2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี 20
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านอนุมูลอิสระ 25
4.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 25
4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 26
4.6 ประสิทธิภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากต่อการกำจัดเห็บปลา 29
4.6.1 สารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยน้ำ 29
4.6.2 สารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยเอทานอล 29
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 33
5.1 สรุปผลการวิจัย 33
5.2 ข้อเสนอแนะ 34
เอกสารอ้างอิง 35
ภาคผนวก 39
ภาคผนวก ก 40
ภาคผนวก ข 41
ภาคผนวก ค 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 สารแอลคาลอยด์พบในหนอนตายหยาก 12
2.2 ชนิดตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารสำคัญต่าง ๆ 13
4.1 ร้อยละของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากด้วยตัวทำละลายน้ำ และเอทานอล 19
4.2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยน้ำ
โดยเทคนิค GC-MS 21
4.3 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยเอทานอล
โดยเทคนิค GC-MS 24
4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay 25
4.5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Foloin-ciocaltue แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด.. 26
4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยาก 27
4.7 แสดงภาพผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยาก.... 28
4.8 ผลการทดสอบหาประสิทธิภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วย
ตัวทำละลายน้ำที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเห็บปลา 30
4.9 ผลการทดสอบหาประสิทธิภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วย
ตัวทำละลายเอทานอลที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเห็บปลา 30
4.10 แสดงภาพผลการทดสอบหาประสิทธิภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วย
ตัวทำละลายน้ำที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเห็บปลา 31
4.11 แสดงภาพผลการทดสอบหาประสิทธิภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วย
ตัวทำละลายเอทานอลที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเห็บปลา 32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 ภาพถ่ายเห็บปลาใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า 5
2.2 *Arlus foliacious* 7
2.3 *Argulus indicus* 7
2.4 *Argulus alosae*..... *7*
2.5 ภาพถ่ายไข่เห็บปลาใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า 8
2.6 วงจรชีวิตของเห็บปลา..... 8
2.7 ลักษณะลำต้นหนอนตายหยาก 9
2.8 ลักษณะใบหนอนตายหยาก 10
2.9 ลักษณะดอกหนอนตายหยาก 10
2.10 ลักษณะรากหนอนตายหยาก..... 10
2.11 องค์ประกอบทางเคมีของหนอนตายหยาก 11
4.1 โครมาโตแกรมของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ
โดยเทคนิค GC-MS..... 22
4.2 โครมมโตแกรมของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล
โดยเทคนิค GC-MS..... 23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปลาทอง (Goldfish) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Carassius auratus* เป็นปลาที่ได้รับความนิยมเลี้ยงกันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากมีความทนทาน เลี้ยงง่าย มีการพัฒนาสายพันธุ์และสีสันให้สวยงาม เหมาะสำหรับผู้เลี้ยงเริ่มต้นจนไปถึงระดับผู้เลี้ยงมืออาชีพ นอกจากนี้ปลาทองยังเป็นปลาเสริมสิริมงคลตามความเชื่อแก่ผู้เลี้ยงอีกด้วย ในการเพาะเลี้ยงมักพบโรคปลาถือเป็นปัญหาสำคัญอย่างหนึ่งของเกษตกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเป็นอันตรายต่อปลาทำให้ปลาอ่อนแอ และตายได้ หนึ่งในโรคที่พบบ่อยคือ โรคเห็บปลาที่เกิดจากปรสิตภายนอก ได้แก่ เห็บระฆัง หนอนสมอ หมัดปลา และเห็บปลา (สมฤดี และคณะ, 2552)

เห็บปลา (Fish lice) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Argulus* spp. เป็นสาเหตุของโรคเห็บปลา จัดอยู่ใน Family Argulidae เช่น *Argulus foliaceus* , *Argulus japonicus* และ *Argulus coregoni* จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับแมลง กุ้ง ปูต่าง ๆ พบในปลาน้ำจืด และน้ำเค็มที่มีเกล็ด เช่น ปลาตะเพียน ปลาไน ปลาทอง ปลาแรด ปลาหมอ ปลากะพงขาว เป็นต้น เห็บปลามักจะเกาะตามบริเวณต่าง ๆ ภายนอกตัวปลาโดยจะเกาะดูดเลือดตามผิวหนัง เหงือก ครีบ และย่อยสลายผิวหนังปลาบริเวณนั้นเพื่อกินเป็นอาหาร ปลาที่ติดโรคชนิดนี้จะมีอาการว่ายน้ำกระวนกระวายและใช้ลำตัวถูกับวัสดุหรือผนังตู้เพื่อให้ปรสิตหลุด การกำจัดปรสิตชนิดนี้จะใช้ยาและสารเคมีหลายชนิด เช่น Dipterex, Masoten, Dylox หรือ Nequvon อย่างไรก็ตามการใช้ยาและสารเคมีในการกำจัดเห็บปลานั้นส่งผลเสียต่อปลาและสภาพแวดล้อม ปัจจุบันมีการให้ความสำคัญกับสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ทดแทนยาและสารเคมี เนื่องจากสารสกัดจากธรรมชาตินั้นเป็นทรัพยากรที่มีอยู่ตามธรรมชาติในแต่ละท้องถิ่น มีฤทธิ์ป้องกันโรคและรักษาโรคต่าง ๆ มีต้นทุนการผลิตต่ำและไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม (จุฑารัตน์ และคณะ, 2561) จากงานวิจัยได้มีการนำหนอนตายหยากมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Stemona* sp. เป็นพืชในอยู่ในวงศ์ Stemonaceae มาใช้ในการต้านเห็บปลา มีรายงานว่าในพืชหนอนตายหยากมีสารกลุ่มของแอลคาลอยด์ stemonine, tuberostemonine, stemonidine, isostemonidi สารอื่น ๆ ที่พบ เช่น rotenoid compound, stemonacetal, stemonal, stemonone เป็นสารออกฤทธิ์ฆ่าแมลงมีโครงสร้างคาร์บอนเหมือน Rotenone ที่พบได้ในต้นหางไหล (*Derris* sp.) (เทพ และวิจิตร, 2517) ในทางการแพทย์พื้นบ้านไทยมีการใช้รากต้มน้ำเพื่อดื่มถ่ายพยาธิตัวจี๊ด คั้นเอาน้ำมาพอกหิดเหา หรือแก้โรคผิวหนัง ทางด้านการเกษตรได้นำสารสกัดรากหนอนตายหยากมาใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชและใช้เป็นยาฆ่าเห็บ เหา (วาสนา และคณะ, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาครั้งนี้จึงทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยาก เพื่อการกำจัดเห็บปลา รวมถึงการประยุกต์ใช้ในการกำจัดเห็บปลาในตัวปลา ซึ่งอาจเป็นทางเลือกหนึ่งของการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพและทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากรากหนอนตายหยากที่มีผลต่อการกำจัดเห็บปลา

2) เพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากต่อการกำจัดเห็บปลา

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาวิธีการสกัดสารจากรากหนอนตายหยากด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค Gas chromatography - Mass spectrometry, ทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu, ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion และทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากต่อการกำจัดเห็บปลาด้วยวิธี Dipping method

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ทราบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากรากหนอนตายหยาก

2) ทราบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยากในการกำจัดเห็บปลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปลาทอง (Goldfish)

ปลาทอง (*Carassius auratus*) เป็นปลาน้ำจืด มีถิ่นกำเนิดในประเทศจีนและญี่ปุ่น โดยดั้งเดิมถือเป็นปลาที่ถูกนำมาบริโภคเป็นอาหาร ต่อมาได้ถูกพัฒนาสายพันธุ์มาไม่ต่ำกว่า 2,000 ปี จนกลายเป็นปลาสวยงามหลากหลายสายพันธุ์ในปัจจุบัน ลักษณะทางกายภาพทั่วไป คือ ส่วนหัวลาดปากมีขนาดเล็ก มีหนวดสั้น 2 คู่ ลำตัวอ้วน ป้อม มีสีหลากหลายตั้งแต่สีแดง สีทอง สีส้ม สีเทา สีดำ และสีขาว หรือหลายสีในตัวเดียว มีเกล็ดแบบบางเรียบ ครีบอกกลมแบน ครีบหางเป็นรูปพัดเป็นแฉกเว้าลึก เป็นปลากินพืช และแมลงน้ำขนาดเล็กเป็นอาหาร

การจำแนกอนุกรมวิธาน

Class Osteichthyes
Subclass Teleostei
Order Cypriniformes
Suborder Cyprinoidei (Carps)
Family Cyprinidae
Genus *Carassius*
Species *auratus*
(Frank, 1969)

2.1.1 สายพันธุ์ปลาทอง

ปลาทองเป็นปลาที่ผสมพันธุ์ข้ามสายพันธุ์กับปลาในกลุ่มเดียวกันชนิดอื่น ๆ ได้ง่าย ทำให้มีการพัฒนาสายพันธุ์ปลาทองออกมาหลายชนิด มีลักษณะเด่นสวยงามแตกต่างกันไป สามารถแบ่งออกตามลักษณะลำตัวได้เป็น 2 ประเภท คือ กลุ่มที่มีลำตัวแบนยาว และกลุ่มที่มีลำตัวกลมหรือรูปไข่ จากการพัฒนาด้านการเพาะพันธุ์มีการคัดเลือกลักษณะเด่นทำให้ได้ปลาทองสายพันธุ์ต่าง ๆ (ธณัชกัญ และคณะ, 2566) ดังนี้

2.1.1.1 ปลาทองที่มีหางเดี่ยว หรือหางแฉก (Fork Tail) ลักษณะหางเป็นแผ่นแบนกว้าง เว้าตรงกลางหรือเป็น 2 แฉก มีสายพันธุ์ที่นิยม 2 สายพันธุ์ คือ

พันธุ์โคเมท (Comet) เป็นปลาทองสายพันธุ์ดั้งเดิม ลักษณะลำตัวค่อนข้างแบนยาว คล้ายปลาไน ลำตัวมักมีสีแดงสลับขาว หรือสีทอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ชูบุงกิง (Shubunkin) ลักษณะคล้ายโคเมท แต่จะจุดประหลายสีตามลำตัว เช่น สีแดง สีขาว สีม่วง และสีดำ เกล็ดค่อนข้างใส

2.1.1.2 ปลาทองที่มีหางคู่ มีส่วนหางแยกออกเป็น 3 - 4 แฉก มีทั้งที่มีครีบหลังตามปกติ หรือบางชนิดไม่มีครีบหลัง สายพันธุ์ที่ได้รับความนิยม ดังนี้

พันธุ์ออแรนดา (Oranda) ลักษณะลำตัวค่อนข้างยาว มีครีบครบทุกครีบ หางยาว และมีลักษณะเด่นคือมีวุ้นที่ส่วนหัว (Hood) สีเหลืองส้ม เป็นปลาทองที่มีขนาดใหญ่ ลำตัวสีขาวเงิน

พันธุ์ริวกิ้น (Ryukin or Veiltail) ลักษณะเด่น คือ หางค่อนข้างยาวเป็นพวงสวยงาม คล้ายริบบิ้นหรือผ้าแพร ลำตัวค่อนข้างกลมสั้น และมักมีสีแดงสลับขาว บางชนิดอาจมี 5 สี

ตาโปน (Telescope-eyed Goldfish) ลักษณะเด่น คือ ลูกตาจะยื่นโปนออกมามากเหมือนท่อกล้องส่องทางไกล พันธุ์ที่นิยมเลี้ยง คือ ตาโปนสีแดง

พันธุ์มัว (Moor) หรือเล่ห์ (Black Moor or Black Telescope eye Goldfish) เป็นพันธุ์ที่นิยมในประเทศไทยในชื่อ เล่ห์ หรือ ลักเล่ห์ ลักษณะเด่น คือ ลำตัวมีสีดำสนิทตลอด ตาจะไม่โปนมาก

พันธุ์ตาโปนสามสี (Calico Telescope-eye Goldfish) หรือลักเล่ห์ห้าสี เป็นพันธุ์ที่มีเกล็ดค่อนข้างบาง ลำตัวมีสีสันหลายสีสดเข้ม สีที่พบในพันธุ์นี้จะมี 5 สี คือ สีแดง สีขาว สีดำ สีน้ำตาลออกเหลือง และสีแดงออกม่วง

พันธุ์ตาลูกโป่ง (Bubble Eye Goldfish) ลักษณะเด่น คือ มีเบ้าตาพองออกคล้ายลูกโป่งทั้งสองข้าง เวลาว่ายน้ำมักจะแกว่งไปมา ลำตัวมักมีสีขาวหรือเหลืองแกมส้ม มีทั้งที่มีครีบหลังและไม่มีครีบหลัง

พันธุ์ตากลับ (Celestial Goldfish) ลักษณะเด่น คือ ตาที่โปนออกมาจะหงายกลับขึ้นข้างบน ชาวจีนเรียกว่า Shotengan แปลว่า ตามุ่งสวรรค์ หรือตาดูฟ้า ต่อมาชาวญี่ปุ่นนำไปเลี้ยงและพัฒนาได้หางสั้นกว่าเดิม เรียกว่า Demeranchu

พันธุ์เกล็ดแก้ว (Pearl Scale Goldfish) ลักษณะเด่น คือ มีเกล็ดนูนขึ้นมาต่างกับเกล็ดธรรมดาทั่วไปอย่างชัดเจน สีของลำตัวมักมีสีขาว สีส้ม และสีทอง ลักษณะลำตัวค่อนข้างกลมคล้ายลูกปิงปอง ส่วนหัวเล็กมาก หางยาว

พันธุ์หัวสิงห์ (Lionhead Goldfish or Ranchu) ลักษณะเด่น คือ ไม่มีครีบหลัง หางสั้น ส่วนหัวจะมีก้อนวุ้นปกคลุมอยู่ เรียกกันโดยทั่วไปว่า “หัวสิงห์” เป็นพันธุ์ที่ได้รับความนิยมอย่างมากอาจเรียกได้ว่าเป็นเจ้าพ่อของปลาทอง (King of The Goldfish)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 เห็บปลา (Fish Lice)

เห็บปลา มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Argulus* sp. เช่น *Argulus foliaceus*, *Argulus japonicus* และ *Argulus coregoni* จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับแมลง กุ้ง ปู ต่าง ๆ มีรูปร่างแบนจากด้านหลังมายังด้านท้อง หัวและอก มีหนวด 2 คู่ สีลำตัวอยู่ระหว่างเขียวอ่อนจนถึงเขียวแกมเหลือง และสีน้ำตาล ถ้าหากกินอาหาร อุดมสมบูรณ์สีตัวจะเข้มขึ้น (รูปที่ 2.1) อวัยวะสืบพันธุ์อยู่บริเวณท้อง ตัวผู้มีขนาดยาวเพียง 4-5 มิลลิเมตร มีถุงอัณฑะใหญ่ 2 อัน ตัวเมียมีขนาดยาวถึง 6-9 มิลลิเมตร มีรังไข่อยู่บริเวณกลางตัว ดวงตารวม 1 คู่ใหญ่ และระหว่างตานี้จะมีตาเดี่ยว 1 อันเล็ก ๆ ระหว่างตาทั้ง 3 มีทำหน้าที่ยึดเกาะบริเวณต่าง ๆ ภายนอกตัวปลา เช่น ตามครีบ ลำตัว ส่วนหัว โดยจะเกาะดูดเลือดและย่อยสลายผิวหนังปลาบริเวณนั้นกินเป็นอาหารนอกจากนั้น ตัวแก่ของเห็บปลายังสามารถเป็นพาหะของเชื้อไวรัสและแบคทีเรียได้หลายชนิด (ประไพสิริ, 2546)

รูปที่ 2.1 ภาพถ่ายเห็บปลาใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

การจำแนกทางอนุกรมวิธาน

Subphylum Crustacea
Class Maxillopoda
Subclass Branchiura
Order Arguloida
Family Argulidae
Genus *Argulus*

Argulus ที่พบในปลาน้ำจืดเกือบทุกชนิดพบเสมอ ๆ เช่น ปลาตะเพียน ปลาไน ปลาทอง ปลาแรด ปลาหมอ เป็นต้น ในไทยมีอยู่หลายชนิด ชนิดที่พบมากที่สุดในปัจจุบันนี้ คือ

เอกสารนี้ ... ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A. foliacious มีชื่อพ้องว่า *A. japonicus* มีส่วนท้ายของคาราเพสยาวไม่ถึงตอนต้นของยูโรโซม ปลายยูโรโซมกลมมน ตามขอบมีหนามเล็ก ๆ บริเวณแลกเปลี่ยนก๊าซมีลักษณะเป็นลอน (รูปที่ 2.2) ซึ่ง Yamaguti, 1963 ได้จำแนก *A. foliacious* ไว้ว่าเป็นชนิดเดียวกับ *A. japonicus* แต่ Bykhovskaya-Pavlovskaya, et al. (1964) ได้จัด *A. japonicus* ไว้ต่างหากอีกชนิดหนึ่ง โดยดูจากข้อแตกต่างของคาราเพส ซึ่งยาวเลยครึ่งหนึ่งของยูโรโซมออกไป ส่วนลักษณะอื่น ๆ ใกล้เคียงกัน

A. indicus มีคาราเพสรูปเกือบกลม มีความ กว้างพอ ๆ กับความยาว ขอบคาราเพลเรียบสม่ำเสมอ มีจุดสีเข้มกระจายทั่วที่ผิวด้านหลัง ของคาราเพส ยูโรโซมค่อนข้างกลมมน มีความกว้างพอ ๆ กับความยาว มี rib of suction cup เป็นแท่ง (rod) เรียงต่อกัน 3 อัน และตามขอบของแผ่นยึดเกาะมีขนเล็ก ๆ มีบริเวณแลกเปลี่ยนก๊าซข้างละ 2 ลอน (รูปที่ 2.3) พบเกาะตามตัวปลาน้ำจืด ทั่ว ๆ ไป

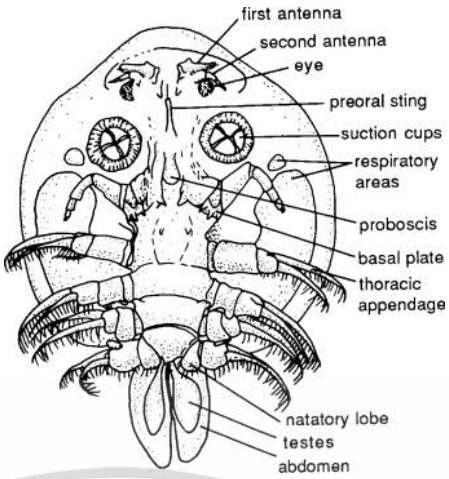
A.siamemsis พบเกาะตามตัว ของปลาชะโด ปลานวลจันทร์ และพวกปลาไซพรินิด มีคาราเพสรูปไข่ ยูโรโซมมีรูปเรียว ความยาวมากกว่าความกว้างลึกและมีปลายแหลม ในเพศเมียมีช่องรับน้ำเชื้ออสุจิ ใหญ่รูปครึ่งวงกลม ด้านหน้า มี rib of suction cup ประกอบด้วย บริเวณแลกเปลี่ยนก๊าซข้างละ 2 ลอน มี ลักษณะเป็นรูปเรียวยาว เรียงต่อกันขนานกัน โดยลอนอันหน้าเป็นรูปหัวปุ่มโค้งคลุม ลอนอันท้าย ซึ่งเรียวยาวเช่นกัน แต่มีส่วนหัวมน และท้ายของทั้ง 2 ลอน จะมนทั้งคู่

A. alosae ส่วนหัวมีรูปเกือบสามเหลี่ยม มีขอบด้านหน้ามนกลม มีตารวมขนาดใหญ่ คาราเพศเป็น ขอบด้านล่างของคาราเพศบริเวณที่ แยกออกไปเป็นปีก 2 ข้าง จะเป็นช่องตัดตรง ยูโรโซมเรียวยาว บานออกและปลายเป็น 2 แฉกลึกเหมือนหางปลา rib of suction cup ประกอบด้วยข้อฐานรูปทรงกระบอกเรียว 1 อัน มีบริเวณแลกเปลี่ยนก๊าซข้างละ 2 ลอน มีเส้นสีน้ำตาลเข้มพาดตามยาวตัว 4 เส้น และที่หัวอีก 2 เส้น (รูปที่ 2.4) พบเกาะตามตัวปลากะพงขาว ดังแสดงรูปที่ 2.4

2.2.1 วงจรชีวิตของเห็บปลา

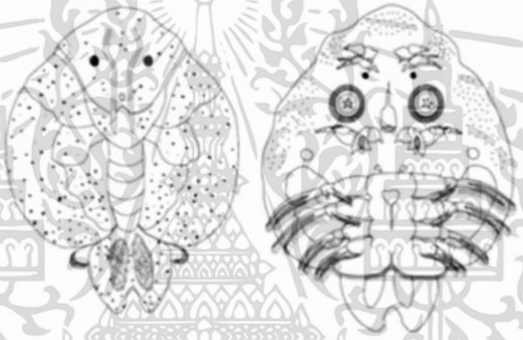
เห็บปลาแพร่กระจายมากับพวกไรน้ำ หรืออาหาร ที่มีชีวิตอื่น ๆ ก่อนที่จะวางไข่ตัวเมียจะมีลำตัวบวมเป่ง จะแยกตัวออกจากเหยื่อ (ปลา) วางไข่เป็นกระจุกบริเวณก้อนหิน ผนังบ่อเลี้ยงปลาหรือที่อื่นๆ มีไข่ครั้งละ 100-400 ฟอง ไข่มีสีเหลืองซีด ลักษณะแบน (รูปที่ 2.5) ตัวผู้เมื่อผสมพันธุ์แล้วจะตาย ส่วนตัวเมียเมื่อวางไข่แล้วจะตายเช่นกัน ไข่ฟักออกเป็นตัวประมาณ 1 เดือน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของน้ำและสภาพแวดล้อม ตัวอ่อนมีความยาวตัวประมาณ 0.75 มิลลิเมตร จะมีการลอกคราบทุก ๆ 3-4 วัน เป็นจำนวน 4-5 ครั้ง กว่าจะโตเต็มวัย หลังจากการลอกคราบครั้งที่ 5 ตัวจะยาว 2.5 มิลลิเมตร ซึ่งเกือบจะเป็นตัวเต็มวัยแล้ว และหลังจากอายุ 1 เดือนมีการลอกคราบครั้งที่ 7 แล้ว จะเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยพร้อมที่จะทำการสืบพันธุ์ต่อไปได้ (รูปที่ 2.6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



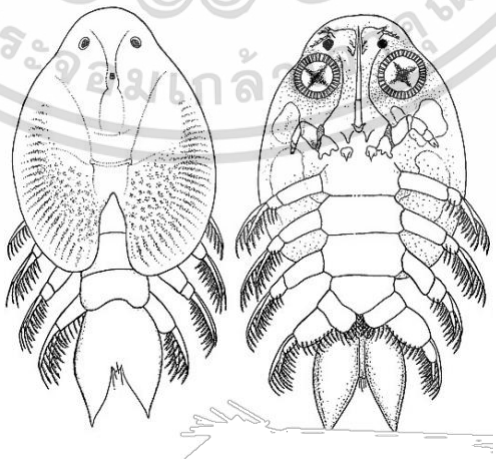
รูปที่ 2.2 *Argulus foliacious*

ที่มา : Alan (2001)



รูปที่ 2.3 *Argulus indicus*

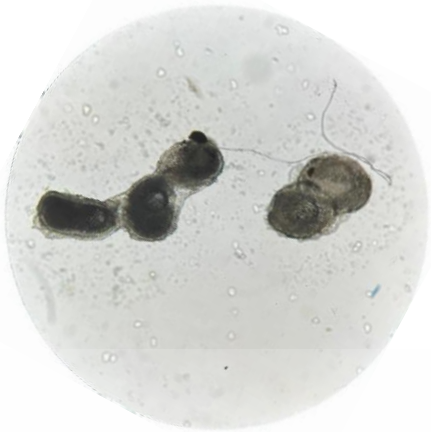
ที่มา : Amriama (2021)



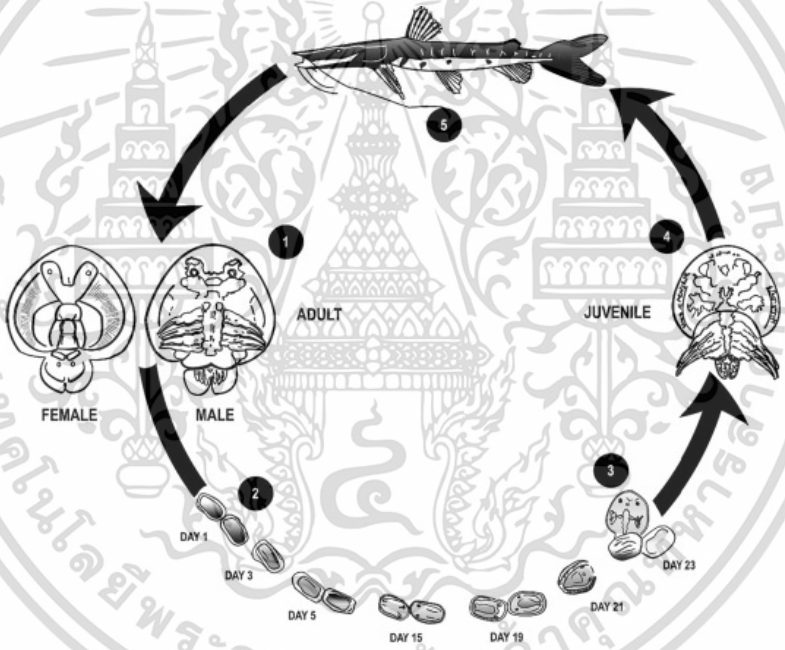
รูปที่ 2.4 *Argulus alosae*

ที่มา : Tatarinova (2022)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 ภาพถ่ายไข่เห็บปลาใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า



รูปที่ 2.6 วงจรชีวิตของเห็บปลา
ที่มา : German et al. (2022)

2.3 รากหนอนตายหยาก (*Stemona* sp.)

หนอนตายหยากเป็นพืชสกุล *Stemona* sp. เป็นพืชล้มลุก ใบเลี้ยงเดี่ยว มีถิ่นกำเนิดในบริเวณเอเชียตะวันออกและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และทางเหนือของออสเตรเลีย นอกจากนี้ยังพบกระจายอยู่ตามประเทศต่าง ๆ เช่น ญี่ปุ่น จีน ฮอลแลนด์ ฟิลิปปินส์ สำหรับประเทศไทยพบพืชสกุลนี้ในภาคต่าง ๆ ของประเทศ โดยพบมากบริเวณป่าดิบชื้น ป่าผลัดใบ และป่าไผ่ (ปาจารีย์, 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การจำแนกอนุกรมวิธาน

Kingdom Plantae

Order Pandanales

Family Stemonaceae

Genus *Stemona*

2.3.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของรากหนอนตายหยาก

หนอนตายหยากมีหลายสายพันธุ์ ซึ่งจะมีรายละเอียดแตกต่างกันเล็กน้อย ซึ่งจากการศึกษาพบว่ามีลักษณะทางสัณฐานวิทยา (เมธี, 2544) ดังนี้

ลำต้น มีลักษณะตั้งตรง ลำต้นงอกใหม่มีสีแดง ต่อมาจึงเปลี่ยนเป็นสีเขียว สามารถเจริญเลื้อยยาวเกาะต้นไม้อื่น ผิวลำต้นเรียบ มีข้อปล้องเห็นชัดเจน (รูปที่ 2.7)

ใบ ตัวใบเป็นรูปหัวใจ คล้ายใบพลู ปลายแหลมยาว ใบอ่อนมีสีเขียวและสีแดง ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม เนื้อใบหนา เส้นใบเรียงตามยาวตลอดทั้งใบ (รูปที่ 2.8)

ดอก ดอกเดี่ยวหรือเป็นช่อ 1-3 ดอก ดอกรูปทรงกระบอก กลีบด้านนอกมีสีเขียว ด้านในสีแดงเรียงซ้อนกัน อยู่บริเวณโคนก้านใบ (รูปที่ 2.9)

ราก ลักษณะเป็นรูปกระสวย ออกเป็นกระจุก คล้ายรากกระชาย มีสีขาวหรือน้ำตาลอ่อน ยาวได้ถึง 10-30 เซนติเมตร (รูปที่ 2.10)

รูปที่ 2.7 ลักษณะลำต้นหนอนตายหยาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.8 ลักษณะใบหนอนตายหยาก

ที่มา : https://www.disthai.com/17049469/

รูปที่ 2.9 ลักษณะดอกหนอนตายหยาก

ที่มา : https://apps.phar.ubu.ac.th/phargarden/main.php?action=viewpage&pid=158

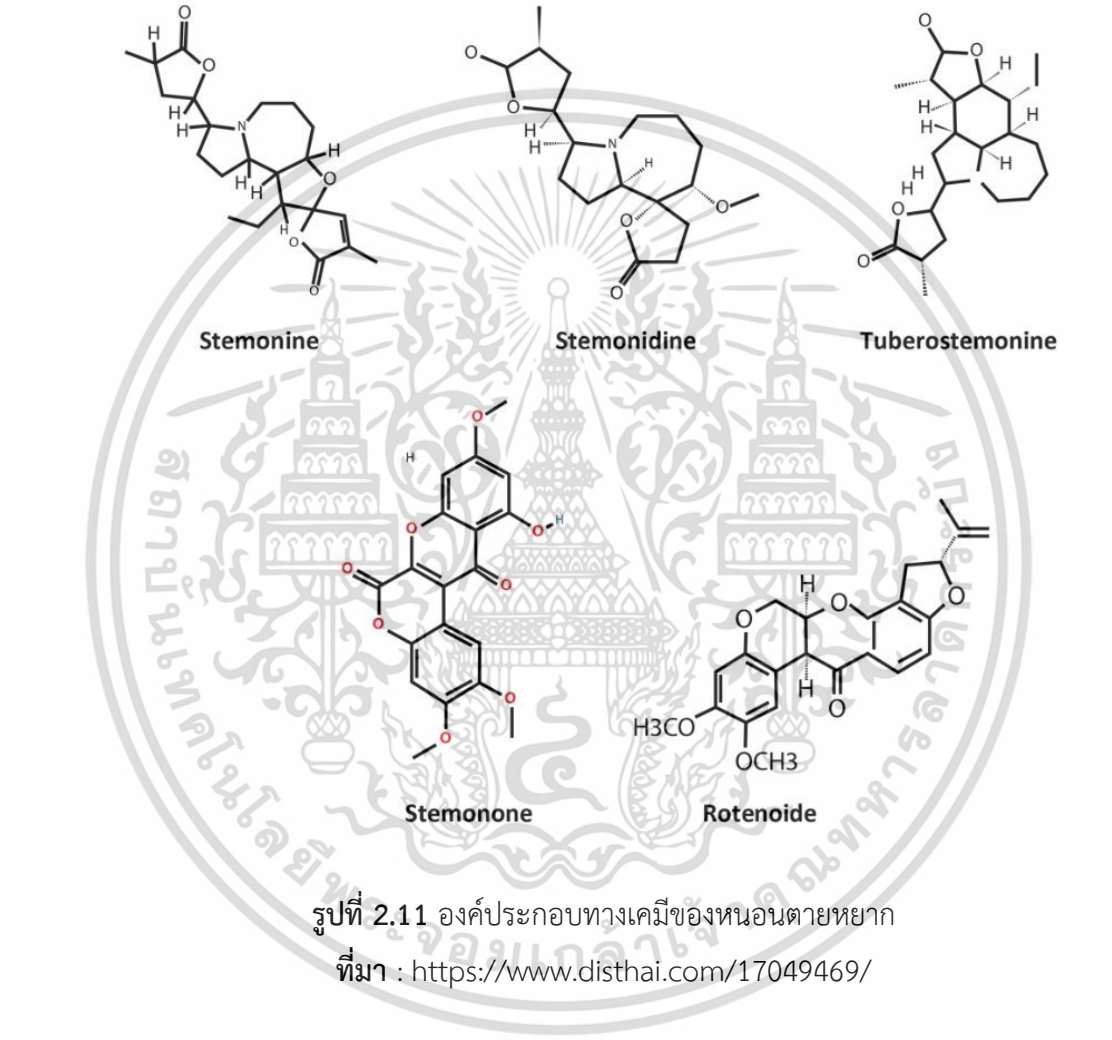
รูปที่ 2.10 ลักษณะรากหนอนตายหยาก

ที่มา : https://www.healthwisdom.shop/products/bai-bu-radix-stemonae-tuber-stemona-root-japanese-sessile-stemona-root

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 องค์ประกอบทางเคมีของรากหนอนตายหยาก

หนอนตายหยากมีหลายสายพันธุ์ซึ่งแต่ละสายพันธุ์อาจมีสารออกฤทธิ์ที่ต่างกัน ได้มีการศึกษาวิจัยว่า รากพบแอลคาลอยด์ รากพบแอลคาลอยด์ stemonine, tuberostemonine, stemonidine, isostemonidine สารอื่นที่พบ เช่น rotenoid compound, stemonacetal, stemonal, stemonone (รูปที่ 2.11)



รูปที่ 2.11 องค์ประกอบทางเคมีของหนอนตายหยาก
ที่มา : https://www.disthai.com/17049469/

สารออกฤทธิ์ที่พบมากในหนอนตายหยาก คือ สารแอลคาลอยด์ที่พบในหนอนตายหยากสปีชีย์ต่าง ๆ ดังตารางที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 สารแอลคาลอยด์พบในหนอนตายหยาก

Compounds	Plant origins
Tuberostemonine	*S. tuberosa*, *S. sessilifolia*
Stenine	*S. tuberosa*
Oxotuberostemonine	*S. tuberosa*, *S. sessilifolia*
Protostemonine	*S. japonica*
Stemonine (C_{17} alkaloid)	*S. ovata*
Stemonine (C_{22} alkaloid)	*S. tuberosa*
Stemonamine	*S. japonica*
Isostemonamine	*S. japonica*
Stemonidine	*S. ovata*, *Stemona* sp.
Stemotinine	*S. tuberosa*
Isostemotinine	*S. tuberosa*
Croomine	*Stemona* sp.
Stemonfoline	*S. japonica* (leave, stem)
Stemoninine	*Stemona* sp.
Stemospironine	*S. japonica* (leave, stem)

ที่มา: (เมธี, 2544)

2.4 สารสกัดจากสมุนไพร

สารสกัดส่วนใหญ่ที่นำมาใช้จะเป็นสารสกัดหยาบ มีส่วนผสมซับซ้อนของสารประกอบหลายชนิด เนื่องจากถ้าผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ สารออกฤทธิ์บางชนิดหรือเสริมฤทธิ์กัน เมื่ออยู่ในสภาพเดียวอาจจะมีฤทธิ์อ่อนหรือไม่มีฤทธิ์ นอกจากนี้ การเตรียมสารสกัดหยาบช่วยให้สารสกัดที่มีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์สูงขึ้น

2.4.1 การเลือกตัวทำละลาย

สารออกฤทธิ์ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบอินทรีย์ ดังนั้นควรเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสมกับชนิดของสารที่ต้องการสกัดที่มีความสามารถในการละลายสารออกฤทธิ์ที่ต้องการสกัดมากที่สุด รวมทั้งทั้งคำนึงถึงความเป็นกรด - ด่าง ต่างๆ ความมีขั้วของกลุ่มสารออกฤทธิ์ในพืชตัวอย่างดังตารางที่ 2.2 อีกทั้งยังควรคำนึงถึงคุณสมบัติการระเหยของตัวทำละลาย มีความคงตัวดี ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลักการเลือกตัวทำละลายที่นำมาใช้ในการสกัด

1) เลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อสกัดให้ได้สารที่ต้องการออกมามากและต้องมีสิ่งเจือปนติดน้อยที่สุด และไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด

2) ต้องเลือกตัวทำละลายที่ละลายสารใดสารหนึ่งได้มากและอีกสารได้น้อยมาก เพื่อให้เจือปนกันน้อยที่สุด (กรณีที่ต้องแยกสารผสมที่มีองค์ประกอบปนกันหลายชนิด)

3) แยกสารที่ไม่ต้องการออกไปและแยกสารที่ต้องการออกจากตัวทำละลาย

4) ถ้าต้องการแยกสี และกลิ่น ตัวทำละลายต้องไม่มีสีและกลิ่น

5) ไม่มีพิษ มีจุดเดือดต่ำ และแยกตัวออกจากสารที่ต้องการสกัดได้ง่าย

6) ไม่ละลายปนเป็นเนื้อเดียวกับสารที่นำมาสกัด มีราคาถูก

2.4.2 การสกัดด้วยตัวทำละลาย

การสกัดสารออกฤทธิ์ออกจากเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร โดยใช้ตัวทำละลายสัมผัสกับเนื้อเยื่อของพืชสมุนไพร และทิ้งไว้ตามระยะที่เหมาะสมจนกว่าจะได้สารสกัดพืชสมุนไพรออกมา การสกัดด้วยตัวละลายสามารถทำได้หลายวิธี ตัวอย่างเช่น วิธีมาเซอเรชัน เช่น การหมักพืชสมุนไพร การเขย่า หรือการคน กับตัวทำละลาย แทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร จนได้ผงสมุนไพรออกมา เป็นวิธีการที่ประหยัดและปลอดภัย

ตารางที่ 2.2 ชนิดตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารสำคัญต่าง ๆ (Pandey et al., 2014)

ตัวทำละลาย	**สารสำคัญ**
ตัวทำละลายไม่มีขั้ว (Non-Polar solvent)	
Chloroform	Terpenoids, Flavonoids
Ether	Alkaloids, Terpenoids, Coumarins, Fatty acids
ตัวทำละลายกึ่งมีขั้ว (Semipolar solvent)	
Acetone	Phenol, Flavonols
Ethanol	Tannins, Polyphenols, Polyacetylenes, Flavonols, Terpenoids, Sterols, Alkaloids
Methanol	Anthocyanins, Terpenoids, Saponins, Tannins, Xanthoxyllines, Totarol, Quassinoids, Lactones, Flavones, Phenones, Polyphenols
ตัวทำละลายมีขั้ว (Polar solvent)	
Water	Anthocyanins Starches Tannins Saponins Terpenoids Polypeptides Lectins

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ณพัฐอร และเศกพร (2565) ได้ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และ ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยากโดยตัวทำละลาย 4 ชนิด พบว่า สารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยเอทานอลมี ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงมีปริมาณเท่ากับ 16.12±0.53 mg GAE/g และ 23.19±0.69 QE/g ตามลำดับ และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 13.21±0.38 mg/mL และสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากในตัวทำละลายเฮกเซนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* TISTR746 ได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณที่ยับยั้งอยู่ที่ 8.54±0.87 มิลลิเมตร

อิสสริยา และคณะ (2565) ได้ศึกษาประสิทธิภาพในการไล่มดของสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากสมุนไพร 7 ชนิด ได้แก่ เมล็ดพริกไทย เหง้าข่า ใบโหระพา กาบใบตะไคร้ เปลือกผลมะนาว เปลือกผลมะกรูด และรากหนอนตายหยาก พบว่ารากหนอนตายหยากมีอัตราการไล่มด (% repellency, %R) เท่ากับ 82.92 ± 4.47 และเมล็ดพริกไทยดำ (%R = 81.20 + 5.92) โดยอัตราการไล่มดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุมแบบลบ (น้ำกลั่น) $P < 0.05$

ดวงใจ และคณะ (2565) ได้ศึกษาผลของสารสกัดเอทานอลจากพืชสมุนไพร 5 ชนิด ดังนี้ ใบสะเดา ใบขี้เหล็ก ใบน้อยหน่า ใบน้ำนมราชสีห์ และรากหนอนตายหยาก ต่อการตายของตัวอ่อนพยาธิตัวกลมของแพะ พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรที่สกัดด้วยเอทานอล มีผลต่อการตายของตัวอ่อนพยาธิ 100% ได้แก่ สารสกัดจากสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ ใบสะเดา ใบน้ำนมราชสีห์ และรากหนอนตายหยาก

อานนท์ และคณะ (2564) ศึกษาความต้านทานยาฆ่าแมลงต่อศัตรูพืช และแมลงพาหะต่าง ๆ ของ *S.collinsiae* พบว่า ผลของสารสกัดหยาบของเฮกเซน ไดคลอโรมีน ต่อตัวอ่อนระยะสุดท้ายและตัวเต็มวัยของ *P.americana* แสดงอัตราการตายที่ 65 – 100% และ 20 – 100% ตามลำดับ

สุกานดา (2551) ได้ศึกษาประสิทธิภาพพืชท้องถิ่นบางชนิดในการกำจัดเห็บ พบว่าสารสกัดจากเมล็ดสารภีและรากหนอนตายหยากแสดงประสิทธิภาพสูงสุดโดยให้ค่า IC_{50} ที่ 0.75%

Bui et al. (2022) ได้ทำการศึกษา *S. tuberosa* ที่สกัดจากเอทานอลในการกำจัดมอดในพืชตระกูลกระหล่ำ พบว่าสามารถกำจัดตัวอ่อนของมอดได้ 79.26%

Mungkornasawakul et al. (2009) ได้ทำการศึกษา stemofoline, (2'S) – hydroxystem-Ofoline, (11Z)-1, 2-didehydrostemofoline, stemaphylline, stemaphylline-*N-oxide* และ stillbostemin R ที่สกัดจาก *S. aphylla* สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *S. aureus*, *P. auroginosa* และ *C. albicans*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 อุปกรณ์

1) ตู้บ่ม Incubator
2) เครื่อง Blender
3) เครื่องชั่ง
4)เครื่องเขย่าสาร Shaker
5) เครื่อง Microplate reader
6) ขวด Duran
7) เครื่องแก้ว เช่น บีกเกอร์ กระบอกตวง ขวดรูปชมพู่ แท่งแก้วคนสาร
8) ผ้าขาวบาง
9) เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ Autoclave
10) เครื่องเขย่าผสมสารละลาย Vortex mixer
11) เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน Rotary evaporator
12) ตู้อบลมร้อน Hot air
13) หลอดทดลอง
14) Cork borer ขนาด 5 มม.
15) สารดูดความชื้น silica gel
16) ลูปเขี่ยเชื้อ และ เข็มเขี่ยเชื้อแบบงอ
17) Auto pipette
18) Pipette tips
19) Verniar caliper
20) Petri dish
21) 96 well plate
22) เครื่องมือเลี้ยงปลา
    22.1) เครื่องปั้มออกซิเจน
    22.2) หัวทรายเติมอากาศในตู้ปลา Air Stone
    22.3) สายยางใส
    22.4) ตู้เลี้ยงปลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2 สารเคมี

1) น้ำกลั่น

2) Ethanol 95 %

3) Polyoxyethylene-20 Sorbitan Monooleate (Tween 80)

4) 2,2 diphemyl-1-picrylhydrazy radical (DPPH) 0.2 mM

5) Mueller Hinton Agar (MHA)

6) 10% Folin-Ciocalteu Reagent

7) 20% Na_2CO_3

8) Dimethyl Sulfoxide

9) Normal saline 0.85%

10) Streptomycin 0.003 M

11) Gallic acid

12) Ascorbic acid

13) ยาฆ่าเห็บยี่ห้อ sites

14) อาหารปลายี่ห้อ Boost (micro pellet growth & color formula)

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำรากหนอนตายหยากมาล้าง ผึ่งให้แห้งและนำไปอบในตู้อบด้วยอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปบดให้ละเอียด เก็บตัวอย่างไว้ในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิห้อง

3.2.2 การสกัดสารจากรากหนอนตายหยาก

รากหนอนตายหยากที่บดแล้วปริมาณ 20 กรัม แช่ในตัวทำละลายน้ำและเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 160 มิลลิลิตร ในอัตราส่วน 1:8 กวนต่อเนื่อง 3 วัน นำสารสกัดส่วนใสที่ผ่านการกรองไปกลั่นระเหยโดยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที นำสารสกัดที่ได้ไปเก็บในขวดแก้วป้องกันแสง ใส่ในโถดูดความชื้น จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดสอบ

3.2.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบเคมี

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค Gas chromatography- Mass spectrometry โดยการเตรียมสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากทั้ง 2 ตัวทำละลาย ปริมาณ 100 มิลลิกรัม ด้วยน้ำ และเอทานอล 95 % ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas chromatography- Mass spectrometry ใช้คอลัมน์ capillary column ใช้ฮีเลียม (He) เป็น carrier gas ฉีดสารแบบ spilt injection mode อุณหภูมิระหว่างเครื่องแก๊สโครมาโทรกราฟกับแมสสเปกโทรมิเตอร์ (Interface) 280 องศาเซลเซียส ส่วนของแมสสเปกโทรมิเตอร์อุณหภูมิแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอน 250 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้ง

เซลเซียส พลังงานของอิเล็กตรอนชนกับโมเลกุลของสารเท่ากับ 70 อิเล็กตรอนโวลต์ อุณหภูมิส่วนคัดแยกไอออน 150 องศาเซลเซียส ช่วงขนาดโมเลกุลขณะวิเคราะห์เท่ากับ 50-55 อะตอมมิกแมสยูนิต และบันทึกผล

3.2.4 การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระ

ทำทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay โดยเตรียมสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยากความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในเอทานอล 95% จากนั้นปิเปตสารสกัดหยาบปริมาตร 500 ไมโครลิตรลงใน 96 well plate ปิเปตสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ (ชั่งสาร DPPH ปริมาณ 0.002 กรัม ผสมกับเอทานอลปริมาตร 25 มิลลิลิตร) ลงไปผสมปริมาณ 500 ไมโครลิตร นำไปบ่มในที่มืด 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 100, 200, 300, 400 และ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียมสารละลายควบคุม ($A_{control}$) โดยใช้เอทานอล 95% ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้คำนวณหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% inhibition) จากสูตรข้างต้น

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

โดย

$A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย (DPPH + เอทานอล)

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง (สารตัวอย่าง + DPPH)

3.2.5 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

ทำการการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu โดยเตรียมสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในเอทานอล 95% จากนั้นปิเปตสารสกัดหยาบที่ละลายแล้ว 100 ไมโครลิตร เติมสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu Reagent ปริมาณ 500 ไมโครลิตร เขย่า และเติม 7.5 % Na_2CO_3 ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการชั่งสารละลายมาตรฐานแกลลิก 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยเอทานอล 95 % ให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตรในขวดปรับปริมาตร ได้ความเข้มข้นต่างๆ (0.1, 0.2, 0.4, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร) และเตรียม Blank โดยใช้เอทานอล 95 % จากนั้นนำไปคำนวณหาปริมาณฟินอลิกทั้งหมด

3.2.6 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวิธี Agar well diffusion ในการเตรียมสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากที่ความเข้มข้น 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วย DMSO (Dimethyl sulfoxide) นำเชื้อ 4 สายพันธุ์ประกอบด้วยแบคทีเรียแกรมลบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1 สายพันธุ์ คือ *Aeromonas hydrophila* แบคทีเรียแกรมบวก 3 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus cohnii* มาเทียบความขุ่นกับ McFarland 0.5 นำไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อป้ายเชื้อลงบนหน้าอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) ให้ทั่ว ใช้ Cork borer ขนาด 5 มิลลิเมตร เจาะหน้าอาหารหลุม จากนั้นปิเปตสารสกัดที่ละลายแล้วทั้ง 2 ตัวทำละลาย ปริมาณ 20 ไมโครลิตร หยดลงแต่ละหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการทดสอบโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลาง clear zone ด้วยเวอร์เนียร์คาร์ลิเปอร์ในหน่วยมิลลิเมตร บันทึกผลและวิเคราะห์ผลการทดสองโดยทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ ใช้ยาปฏิชีวนะสเตรปโตมัยซินความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมที่ให้ผลบวก และใช้ DMSO เป็นชุดควบคุมที่แสดงผลลบ

3.2.7 การเตรียมอุปกรณ์การเลี้ยงเห็บปลาและสัตว์ทดลอง

ใช้ตู้กระจกเติมน้ำสะอาดที่ปราศจากคลอรีน มีการให้อากาศตลอดเวลาโดยใช้สายยางและหัวทราย นำปลาทองขนาด 5 - 7 เซนติเมตร ที่เป็นโรคเห็บปลาเลี้ยงไว้ในตู้กระจกตู้ละ 5 ตัว จำนวน 2 ตู้ เลี้ยงไว้ระยะเวลา 2 สัปดาห์ ก่อนทำการทดลอง และให้อาหารปลายี่ห้อ Boost (micro pellet growth & color formula) วันละ 2 ครั้ง เวลา 10.00 น. และ 16.00 น. ทำการเปลี่ยนน้ำสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ดูการเจริญของเห็บปลาที่ระยะ second stage (juveniles) โดยจะมีขนาด 0.4 - 0.6 เซนติเมตร จำนวน 30 ตัว และนำไปทดสอบ

3.2.8 การทดสอบประสิทธิภาพการกำจัดเห็บปลา

เตรียมสารสกัดหยาบหนอนตายหยากให้ที่ความเข้มข้น 10, 20, 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารสกัดหยาบปริมาณ 100, 200, 300 กรัม ละลายในน้ำกลั่นที่ผสม tween-80 1 % ปริมาณ 1 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร นำแต่ละความเข้มข้นไปทดสอบกับเห็บปลาด้วยวิธีการ dipping method (Chungsamarnyart and Jansawan, 1990) โดยแช่เห็บปลากับสารสกัดที่ระดับความเจือจางต่าง ๆ ลงใน plate ทำการทดสอบความเข้มข้นละ 5 ตัว บันทึกผลคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การตายเมื่อเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง 12 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง ภายหลังจากการแช่เห็บทำการนับจำนวนเห็บที่ตายจนกระทั่งเห็บตายหมด ใช้น้ำกลั่นที่ผสม 1% tween-80 เป็นตัวควบคุมและใช้ยาฆ่าเห็บยี่ห้อ sites เป็นตัวควบคุมเชิงบวก ตรวจสอบการตายของเห็บแต่ละตัวโดยดูการเคลื่อนไหวของอวัยวะเห็บภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นับจำนวนการตายและคำนวณเปอร์เซ็นต์การตาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการสกัดสารจากรากหนอนตายหยาก

จากการนำรากหนอนตายหยากมาทำให้แห้ง บดให้ละเอียดแล้วทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ น้ำ และเอทานอล ด้วยวิธีการแช่หมักในอัตราส่วน 1 : 8 นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง กรองเอากากออก จากนั้นนำสารละลายที่ได้ระเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ จะได้เป็นส่วนสารสกัดหยาบที่มีลักษณะเหนียวหนืด และพบว่าสารสกัดจากรากหนอนตายหยากมีน้ำหนักสารสกัดหยาบและร้อยละสารสกัดหยาบ ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ร้อยละของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากด้วยตัวทำละลายน้ำ และเอทานอล

ชนิด	น้ำหนักพืช (กรัม)	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (กรัม)	ร้อยละสารสกัดหยาบ (% yield)
สารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยน้ำ	3,330	66.25	1.99
สารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยเอทานอล	3,330	23.35	0.70

จากตารางที่ 4.1 เมื่อนำรากหนอนตายหยากไปทำการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ น้ำ และเอทานอล พบว่าและสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำมีน้ำหนักสารสกัดที่ 23.35 กรัม คิดเป็นร้อยละสารสกัดหยาบ 0.70 และสารสกัดหยาบจากรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีน้ำหนักสารสกัดที่ 66.25 กรัม คิดเป็นร้อยละสารสกัดหยาบ 1.99

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการวิเคราะห์สารสกัดรากหนอนตายหยากด้วยเทคนิค GC-MS

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS ของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากด้วยตัวทำละลายน้ำพบสาร 7 ชนิด (รูปที่ 4.1) มีสาร1,3-Butanediol มากที่สุดโดยมีปริมาณร้อยละ 62.988 รองลงมาคือ 2,3-Butanediol พบปริมาณร้อยละ 30.624 และสาร Butanoic acid, 2(3H)- Furanone, dihydro- , Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester, Hexadecanamide, 9-Octadecenamide (Z)- พบปริมาณร้อยละ 5.313, 0.106, 0.103, 0.157 และ 0.707 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.2

สารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยเอทานอลมีสารประกอบทั้งหมด 21 ชนิด (รูปที่ 4.2) โดยสารที่พบปริมาณมากที่สุดได้แก่ Hexadecanoic acid มีปริมาณร้อยละ 15.184 รองลงมาคือ Ethyl linoleate มีปริมาณร้อยละ 15.118 และ สารพวก 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z) -, 9-Octadecenoic acid (Z) -, Ethyl Oleate, 9-Octadecenamide, (Z)-, Hexadecanoic acid , ethyl ester, Hexadecanamide, 2,4-Dihydroxyphenylbenzyl ketone, 1,3-Butanediol, - (5-1Hydroxypentyl) piperidine, Octadecanoic acid, ethyl ester, Cyclobutane, Benzene, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-, Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl)-, Benzoic acid, Decane, 2,4,6-trimethyl-, Benzoic acid, 4-methoxy, Hexadecan, 2,3-Butanediol, Tetradecanoic acid ซึ่งมีปริมาณร้อยละ 14.991, 12.608, 9.091, 7.910, 6.753, 3.317, 3.135, 2.735, 1.985, 1.237, 1.044, 0.837, 0.806, 0.709, 0.690, 0.528, 0.525, 0.400 และ 0.395 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.3 โดยสารที่พบปริมาณมากที่สุดได้แก่ Hexadecanoic acid

จากฐานข้อมูล Pesticide properties database รายงานว่า Hexadecanoic acid มีฤทธิ์กำจัดศัตรูพืชพวกแมลง เช่น เพลี้ยอ่อน เพลี้ยแป้ง และเพลี้ยไฟแต่ยังไม่ได้รับการอนุมัติจากสหราชอาณาจักรสำหรับการใช้งาน พบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ที่มีชื่อว่า Cyclobutane พบปริมาณร้อยละ 7.126 เป็นสารแอลคาลอยด์ที่มีวงแหวนไซโคลบิวเทนพบได้ทั้งพืชและสิ่งมีชีวิตในทะเล มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ยาต้านจุลชีพที่ใช้บรรเทาอาการเจ็บปวด และยาฆ่าแมลง สารที่มีปริมาณน้อยที่สุด คือ Tetradecanoic acid ซึ่งมีปริมาณร้อยละ 0.395 โดยมีการใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและอุตสาหกรรมสารกำจัดแมลง ผลการวิเคราะห์สารสกัดรากหนอนตายหยากที่พบได้ทั้งการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำและการสกัดด้วยเอทานอล คือ 1,3-Butanediol ซึ่งการสกัดด้วยน้ำมีปริมาณร้อยละ 62.988 และการสกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณร้อยละ 2.735 สารชนิดนี้มีการใช้เป็นสารประกอบในอุตสาหกรรมเคมี เช่นการผลิตเรซินหรือพอลิเมอร์ และเป็นสารกันเสียทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางหรือนำยาทำความสะอาดเนื่องจากมีคุณสมบัติช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ถัดมา คือ สาร 2,3-Butanediol มีปริมาณร้อยละ 30.624 และ 0.400 จากการสกัดด้วยน้ำและเอทานอล มีการใช้งานในอุตสาหกรรมอาหาร สาร Hexadecanamide สกัดด้วยน้ำ และเอทานอลมีปริมาณร้อยละ 0.517, 3.317 ตามลำดับ เป็นสารที่มีคุณสมบัติบรรเทาอาการปวด มีการใช้

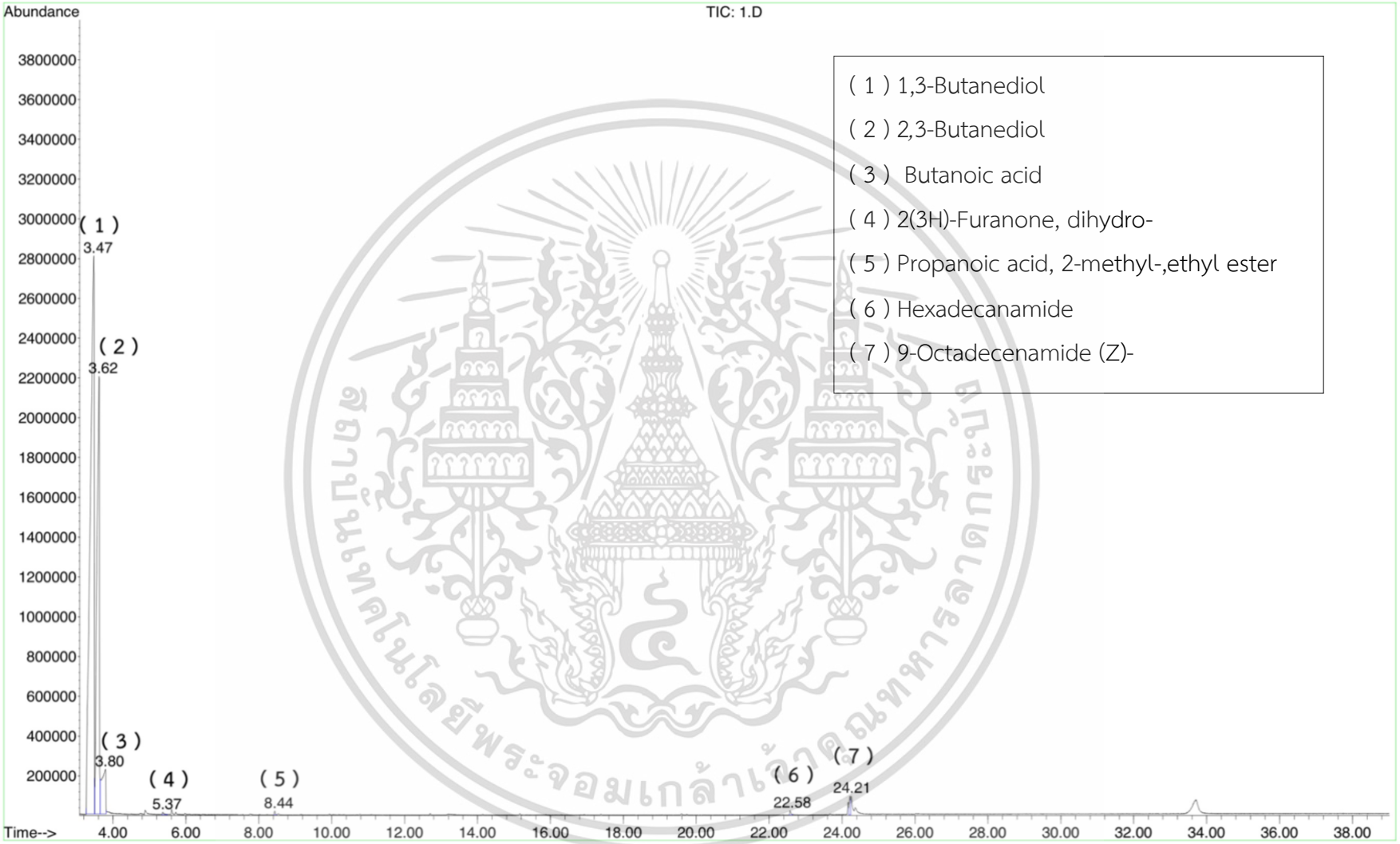
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รักษาความผิดปกติทางระบบประสาทบางชนิด และสาร 9-Octadecenamide (Z)- มีปริมาณร้อยละ 0.707, 7.910 จากการสกัดด้วยน้ำและเอทานอล เป็นสารที่ส่งผลต่อการนอนหลับ กดประสาท และสามารถลดอาการปวดได้ จากการศึกษาสอดคล้องกับงานวิจัยของ รัตนาภรณ์ และคณะ (2552) ได้ศึกษาปริมาณแอลคาลอยด์ทั้งหมดในรากหนอนตายหยากเพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยพบปริมาณอยู่ระหว่าง 1.16 – 6.60 % และพบกรดไขมันอิ่มตัว กรดไขมันไม่อิ่มตัว รวมทั้ง 4-methoxy benzoic acid, methyl ester อีกด้วย

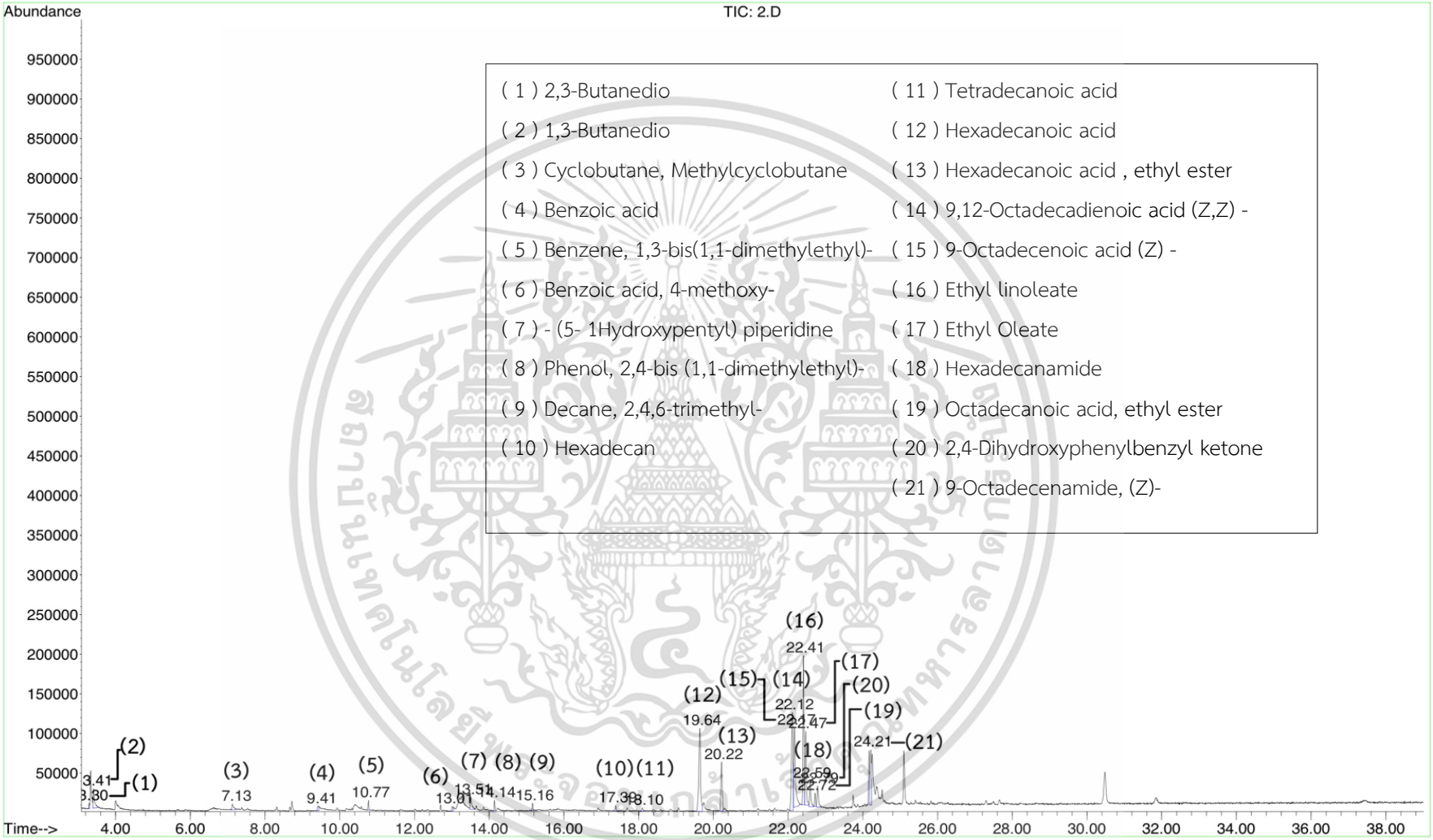
ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยน้ำโดยเทคนิค GC-MS

Peak	องค์ประกอบทางเคมี	Retention Time (min)	Peak area	% of total
1	1,3-Butanediol	3.474	2805508	62.988
2	2,3-Butanediol	3.619	2199642	30.624
3	Butanoic acid	3.797	224436	5.313
4	2(3H)-Furanone, dihydro-	5.367	12772	0.106
5	Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	8.4738	19967	0.103
6	Hexadecanamide	22.579	21248	0.157
7	9-Octadecenamide (Z)-	24.214	94191	0.707

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 โครมาโตแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำโดยเทคนิค GC-MS



รูปที่ 4.2 โครมาโตแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลโดยเทคนิค GC-MS

ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยเอทานอลโดยเทคนิค GC-MS

Peak	องค์ประกอบทางเคมี	Retention Time (min)	Peak area	% of total
1	2,3-Butanediol	3.295	6655	0.400
2	1,3-Butanediol	3.409	23995	2.735
3	Cyclobutane, Methylcyclobutane	7.126	7361	1.044
4	Benzoic acid	9.409	5831	0.709
5	Benzene, 1,3-bis(1,1-dimethylethyl)-	10.774	12100	0.837
6	Benzoic acid, 4-methoxy-	13.013	5754	0.528
7	- (5- 1Hydroxypentyl) piperidine	13.509	15150	1.958
8	Phenol, 2,4-bis (1,1-dimethylethyl)-	14.140	12887	0.806
9	Decane, 2,4,6-trimethyl-	15.160	9642	0.690
10	Hexadecan	17.389	7000	0.525
11	Tetradecanoic acid	18.101	4127	0.395
12	Hexadecanoic acid	19.639	104547	15.184
13	Hexadecanoic acid , ethyl ester	20.216	61737	6.753
14	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z) -	22.115	123831	14.991
15	9-Octadecenoic acid (Z) -	22.169	98927	12.608
16	Ethyl linoleate	22.412	187975	15.118
17	Ethyl Oleate	22.471	92865	9.091
18	Hexadecanamide	22.590	32116	3.317
19	Octadecanoic acid, ethyl ester	22.719	16519	1.237
20	2,4-Dihydroxyphenylbenzyl ketone	22.790	26403	3.135
21	9-Octadecenamide, (Z)-	24.214	69075	7.910

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการต้านอนุมูลอิสระ

ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ น้ำ และเอทานอล พบว่าสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อเทียบกับสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกหรือวิตามินซีโดยสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำมีค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ซึ่งมีค่า 34.27 ± 0.01 รองลงมา คือสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล มีค่าเท่ากับ 22.36 ดังตารางที่ 4.4 เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากทั้ง 2 ตัวทำละลายกับเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระสารมาตรฐาน (รูปภาคผนวกที่ ข-2) ที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมีค่าน้อยกว่าสารมาตรฐานแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารมาตรฐาน ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mohsen and Ammar (2009) พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมลอิสระจะมีออกมาดีในสารที่มีขั้วซึ่งน้ำเป็นตัวละลายที่มีขั้วมากกว่าเอทานอลและมีรายงานที่แสดงให้เห็นว่าความมีขั้วของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดอาจมีผลต่อการละลายของสารประกอบที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay

ชนิดสารสกัด	เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ
สารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยน้ำ	34.27 $\pm$ 0.01
สารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยเอทานอล	22.36 $\pm$ 0.00

4.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ของสารสกัดรากหนอนตายหยาก สามารถคำนวณโดยใช้สมการเส้นตรงของกรดแกลลิก คือ y = 1.6573x + 0.3535, R2 = 0.9991 (รูปภาคผนวกที่ ข-1) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ซึ่งจากการคำนวณใช้สมการของกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกจากสมการเป็นตัวเปรียบเทียบเพื่อหาปริมาณฟีนอลิก พบว่าสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมทั้งหมด 4.29 ± 0.02 mg GAE/g extract ซึ่งมีค่าน้อยกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่มีค่า 10.37 ± 0.05 mg GAE/g extract ดังตารางที่ 4.5 เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากทั้ง 2 ตัวทำละลาย มีปริมาณแตกต่างกันทำให้สารออกฤทธิ์มีค่าแตกต่างกัน ผลการศึกษามีความแตกต่างกับงานวิจัยของ ณพัฐอร และเศกพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2565) พบว่าสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 16.12 ± 0.53 mg GAE/g extract ซึ่งผลการทดลองมีค่าน้อยกว่ากับงานวิจัยนี้

ตารางที่ 4.5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Folin-ciocaltue แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ชนิดสารสกัด	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g extract)
สารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยน้ำ	4.29 $\pm$ 0.02
สารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยเอทานอล	10.37 $\pm$ 0.05

4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ น้ำ และเอทานอล โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *Aeromonas hydrophila, Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus cohnii* ทำการทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion method ใช้ยาปฏิชีวนะที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิตรเป็นตัวควบคุมเชิงบวก และตัว control คือ 1 %Dimethyl sulfoxide ในการทดสอบการยับยั้งจะดูบริเวณที่แบคทีเรียถูกยับยั้งและเกิดบริเวณใส พบว่าสารสกัดทั้ง 2 ตัวทำละลายในความเข้มข้น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่เกิดบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจึงทำการทดสอบโดยเพิ่มความเข้มข้น พบว่าสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากในตัวทำละลายน้ำก็ยังไม่เกิดบริเวณใสของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ส่วนสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากในตัวทำละลายเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila, B. subtilis, S. aureus* และ *S. cohnii* ใช้ความเข้มข้นต่ำสุดอยู่ที่ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยบริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรีย 11.11 ± 0.79, 13.42 ± 0.98, 10.75 ± 0.52 และ 10.17 ± 0.48 มิลลิเมตร ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นสูงสุด คือ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยบริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรีย 15.48 ± 0.22, 18.50 ± 0.44, 12.55 ± 2.44 และ 17.41 ± 0.20 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.6 และ ตารางที่ 4.7

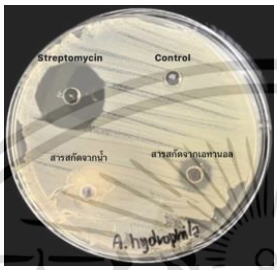
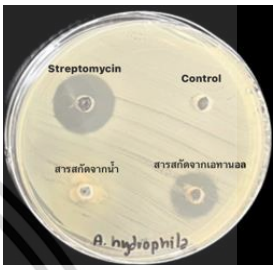
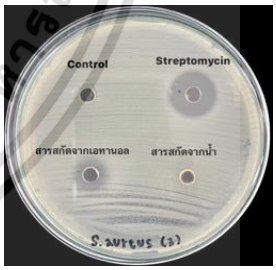
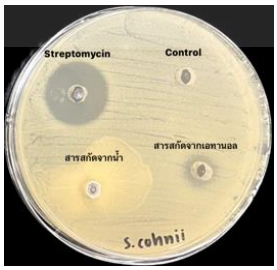
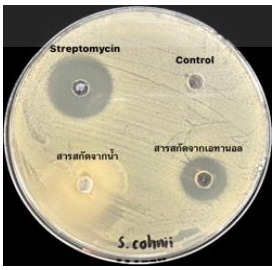
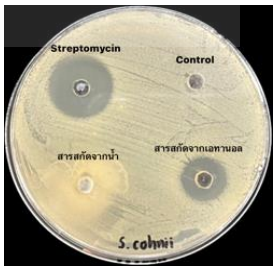
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยาก

สายพันธุ์จุลินทรีย์	**สารสกัดรากหนอนตายหยาก ที่สกัดด้วยเอทานอล (Inhibition zone, mm ± SD)**					**สารสกัดรากหนอนตายหยาก ที่สกัดด้วยน้ำ (Inhibition zone, mm ± SD)**					**Control (1% DMSO)**	**Streptomycin (2 mg/mL)**
	ความเข้มข้น (mg/mL)					**ความเข้มข้น (mg/mL)**						
	100	**200**	**300**	**400**	**500**	**100**	**200**	**300**	**400**	**500**		
Aeromonas hydrophila	NC	NC	11.11 ± 0.79	13.37 ± 0.23	15.48 ± 0.22	NC	NC	NC	NC	NC	NC	20.32 ± 0.52
Bacillus subtilis	NC	NC	13.42 ± 0.98	16.62 ± 0.27	18.50 ± 0.44	NC	NC	NC	NC	NC	NC	20.95 ± 2.23
Staphylococcus aureus	NC	NC	10.75 ± 0.52	12.53 ± 0.23	14.58 ± 0.14	NC	NC	NC	NC	NC	NC	18.75 ± 2.91
Staphylococcus cohnii	NC	NC	10.17 ± 0.48	15.55 ± 0.53	17.41 ± 0.20	NC	NC	NC	NC	NC	NC	22.48 ± 0.38

หมายเหตุ : NC คือ No clear zone

ตารางที่ 4.7 แสดงภาพผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยาก

สายพันธุ์จุลินทรีย์	สารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยเอทานอล (Inhibition zone, mm ± SD)		
	ความเข้มข้น (mg/mL)		
	300	400	500
Aeromonas hydrophila			
Bacillus subtilis			
Staphylococcus aureus			
Staphylococcus cohnii			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 ประสิทธิภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากต่อการกำจัดเห็บปลา

4.6.1 สารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยน้ำ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยน้ำที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ทดสอบโดยวิธี dipping method ในเวลา 6 ชั่วโมง 12 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง โดยใช้น้ำกลั่นที่ผสมกับ 1% tween 80 เป็นตัวควบคุม และใช้ยาฆ่าเห็บยี่ห้อ sites เป็นตัวควบคุมเชิงบวก ตรวจสอบการตายของเห็บปลาแต่ละตัวโดยดูการเคลื่อนไหวของอวัยวะเห็บภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นับจำนวนการตาย จากตารางที่ 4.8 พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 10, 20, 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ไม่เกิดการตายของเห็บปลาของสารสกัดทั้ง 3 ความเข้มข้น เมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้น 20, 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีจำนวนเห็บปลาตาย 1, 2 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การตายของเท่ากับ 20 และ 40 % ตามลำดับ และที่เวลา 24 ชั่วโมง สารสกัดที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีจำนวนเห็บปลาตาย 2 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การตายอยู่ที่ 40 % และความเข้มข้นที่ 20, 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีจำนวนเห็บตาย 4, 3 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การตาย 80 และ 60 % ตามลำดับ ส่วนตัวควบคุมไม่เกิดการตายของเห็บปลา ซึ่งตัวควบคุมเชิงบวกเห็บปลาตายภายในระยะเวลา 6 ชั่วโมง ดังตารางที่ 4.10

4.6.2 สารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยเอทานอล

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยน้ำที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ทดสอบโดยวิธี dipping method ในเวลา 6 ชั่วโมง 12 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง โดยใช้น้ำกลั่นที่ผสมกับ 1% tween 80 เป็นตัวควบคุม และใช้ยาฆ่าเห็บยี่ห้อ sites เป็นตัวควบคุมเชิงบวก ตรวจสอบการตายของเห็บปลาแต่ละตัวโดยดูการเคลื่อนไหวของอวัยวะเห็บภายใต้กล้องจุลทรรศน์ นับจำนวนการตาย จากตารางที่ 4.9 ระดับความเข้มข้น 10, 20, 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากที่ 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีเห็บปลาตายจำนวน 1 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 20 % โดยที่ความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่เกิดการตายของเห็บปลา เมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง ความเข้มข้น 20 และ 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีเห็บปลาตายจำนวน 2, 4 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 40 และ 80 % ที่เวลา 24 ชั่วโมง ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีเห็บปลาตายจำนวน 5 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ 100 % ซึ่งใช้ระยะเวลานานกว่าความเข้มข้นอื่น ๆ และที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีเห็บปลาตายจำนวน 3 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 60 % ดังตารางที่ 4.11

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากทั้ง 2 ตัวทำละลายต่อการกำจัดเห็บปลา พบว่าสารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายน้ำ และเอทานอลที่ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการกำจัดเห็บปลาซึ่งสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากจากเอทานอลสามารถทำให้เห็บปลาตายหมดภายในระยะเวลา 12 ชั่วโมง เป็นเวลาที่เร็วกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากจากน้ำที่สามารถทำให้เห็บปลาตายตายหมดได้ในเวลา 24 ชั่วโมง มีความแตกต่างกับงานวิจัยของสมฤดี และคณะ (2552) ได้ศึกษาใบยาสูบซึ่งมีสารนิโคตินเป็นสารแอลคาลอยด์เช่นเดียวกับรากหนอนตายหยาก อยู่ในประเภทสารประกอบเฮทเอทโรไซคลิกออกฤทธิ์โดยโครงสร้างโมเลกุลของสารนิโคตินมีรูปร่างคล้ายกับสารอะซิติลโคลินซึ่งเป็นสารสื่อประสารของกล้ามเนื้อในสัตว์เลือดอุ่นส่งผลทำให้กล้ามเนื้อชักกระตุกและตายในที่สุดจึงนำมาใช้ในการกำจัดเห็บปลาทอง พบว่าสารละลายใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 200 ppm ทำให้เห็บปลาหลุดออกจากปลาได้หมดในเวลา 20.49 ± 3.19 นาที และมีความปลอดภัยกับตัวปลา

ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบหาประสิทธิภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเห็บปลา

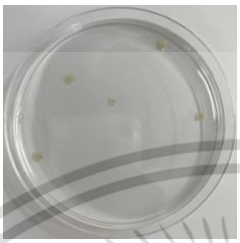
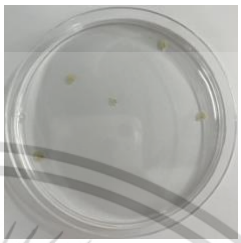
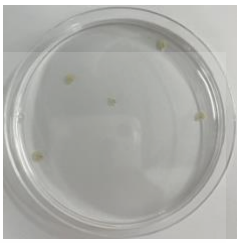
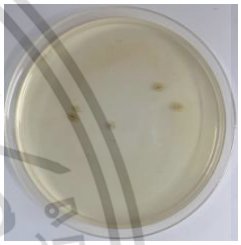
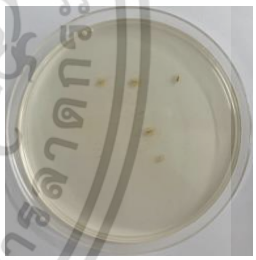
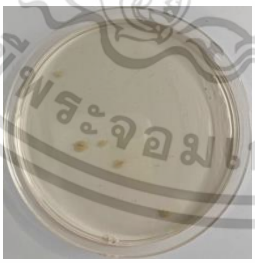
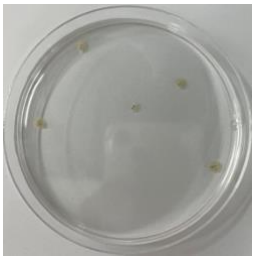
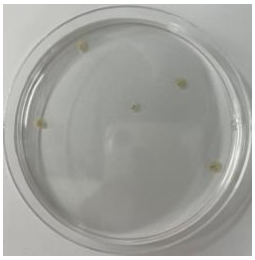
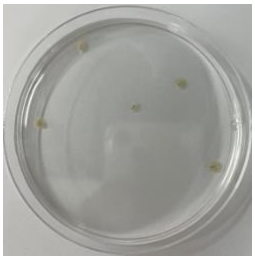
ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยาก (mg/mL)	เริ่มต้น (ตัว)	ระยะเวลาการตาย		
		6 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
Control	5	0	0	0
10	5	0	0	2
20	5	0	1	4
30	5	0	2	3
positive	5	5	0	0

ตารางที่ 4.9 ผลการทดสอบหาประสิทธิภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเห็บปลา

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยาก (mg/mL)	เริ่มต้น (ตัว)	ระยะเวลาการตาย		
		6 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
Control	5	0	0	0
10	5	0	0	5
20	5	0	2	3
30	5	1	4	0
positive	5	5	0	0

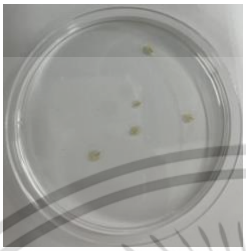
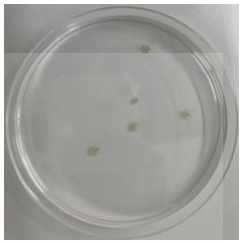
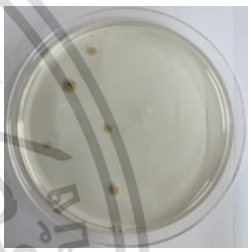
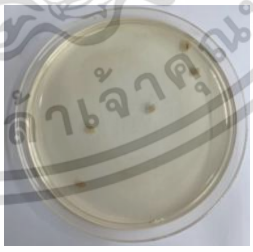
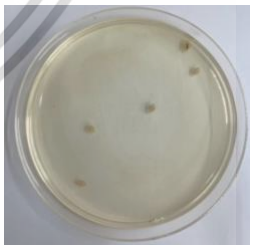
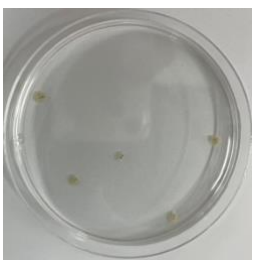
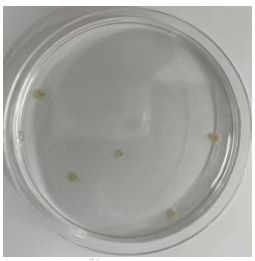
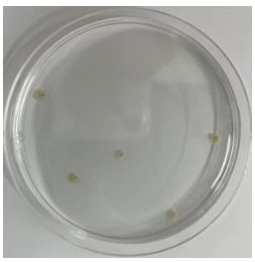
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 แสดงภาพผลการทดสอบหาประสิทธิภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเห็บปลา

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/mL)	การตาย (ตัว)		
	6 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
Control (น้ำกลั่นผสม Tween 80 1%)			
10			
20			
30			
Positive (ยาฆ่าเห็บยี่ห้อ sites)			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 แสดงภาพผลการทดสอบหาประสิทธิภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเห็บปลา

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (mg/mL)	การตาย (ตัว)		
	6 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
Control (น้ำกลั่นผสม 1% Tween 80)			
10			
20			
30			
Positive (ยาฆ่าเห็บยี่ห้อ sites)			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของรากหนอนตายหยากในการกำจัดเห็บปลาโดยด้วยตัวทำละลายที่มีลำดับขั้วต่างกัน ได้แก่ น้ำ และเอทานอล ให้ปริมาณร้อยละสารสกัดหยาบที่ 1.99, 0.70 ตามลำดับ ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากด้วยตัวทำละลายน้ำจะมีสีน้ำตาลเหนียวหนืด ส่วนสารสกัดรากหนอนตายหยากด้วยตัวทำละลายเอทานอลจะมีสีน้ำตาลแดง เหนียวหนืดและบางส่วนจับตัวกันเป็นก้อน ผลการวิเคราะห์สารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากด้วยเทคนิค GC-MS พบว่าสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำพบสาร 7 ชนิด โดยสาร 1,3-Butanediol พบมากที่สุด มีปริมาณร้อยละ 62.988 รองลงมาคือ 2,3-Butanediol พบปริมาณร้อยละ 30.624 และ สาร Hexadecanamide, 9-Octadecenamide (Z)- พบปริมาณร้อยละ 0.157, 0.707 และสารสกัดรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยเอทานอลพบสารทั้งหมด 21 ชนิด โดยสารที่พบปริมาณมากที่สุดได้แก่ Hexadecanoic acid มีปริมาณร้อยละ 15.184 พบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ คือ Cyclobutane พบปริมาณ 7.126 % สารที่มีปริมาณน้อยที่สุด คือ Tetradecanoic acid ซึ่งมีปริมาณร้อยละ 0.395 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ของสารสกัดน้ำและเอทานอลจากรากหนอนตายหยาก พบว่าสารสกัดหยาบจากน้ำมีค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ซึ่งมีค่า 34.27 ± 0.01 และรองลงมา คือ สารสกัดหยาบเอทานอลมีค่าเท่ากับ 22.36 ± 0.00 โดยเทียบกับสารมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิกหรือวิตามินซี ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 68.42 ผลการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu พบว่าสารสกัดหยาบจากน้ำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 4.29 ± 0.02 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อสารสกัด 1 กรัม ซึ่งมีค่าน้อยกว่าสารสกัดหยาบเอทนอลซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 10.37 ± 0.05 mg GAE/g extract

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ น้ำ และเอทานอล โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *Aeromonas hydrophila, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus cohnii* พบว่าสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากในตัวทำละลายเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *A. hydrophila, B. subtilis, S. aureus* และ *S. cohnii* ใช้ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่าเฉลี่ยบริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรีย 11.11 ± 0.79, 13.42 ± 0.98, 10.75 ± 0.52 และ 10.17 ± 0.48 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้นสูงสุด 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยบริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรียสูงสุด 15.48 ± 0.22, 18.50 ± 0.44, 12.55 ± 2.44 และ 17.41 ± 0.20 มิลลิเมตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากต่อการกำจัดเห็บปลา พบว่าสารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายน้ำ และเอทานอลที่ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการกำจัดเห็บปลา ซึ่งสารสกัดจากเอทานอลสามารถทำให้เห็บปลาตายหมดภายในเวลา 12 ชั่วโมง ถือเป็นเวลาที่เร็วกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดน้ำที่สามารถทำให้เห็บปลาตายหมดได้ในเวลา 24 ชั่วโมง

การเลือกใช้สารสกัดรากหนอนตายหยากในการกำจัดเห็บปลา ที่มาจากธรรมชาติแทนยาและสารเคมีสำหรับลดผลกระทบต่อปลาและสิ่งแวดล้อม เป็นทางเลือกที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดเห็บปลาโดยเฉพาะ ยิ่งไปกว่านั้นการใช้สารสกัดจากธรรมชาติยังช่วยส่งเสริมการเก็บเกี่ยวสมุนไพรไทยที่เป็นทรัพยากรสำคัญของประเทศไทยอีกด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรทำการทดสอบกับเห็บปลาที่อยู่บนตัวปลา

5.2.2 ควรทำการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยากก่อนจะนำไปประยุกต์ใช้ในภาคการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

โกศล รุ่มสวย. 2553. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. การเจริญเติบโตของลุกปลาทอง (หัวสิงห์) ที่กินอาหารผสมเนื้อสัตว์ต่างชนิดกัน. มหาวิทยาลัยแม่โจ้-ชุมพร.

คณิต ขอพลอยกลาง และจารุยา ขอพลอยกลาง. 2557. ผลของสารสกัดจากสภาพแห้งของเมล็ดสะเดา (*Azadirachta* sp.) เมล็ดน้อยหน่า (*Annona* sp.) รากหนอนตายหยาก (*Stemona* sp.) และรากหางไหล (*Derris* sp.) ต่ออัตราการตายของหนอนแมลงวัน แมลงวัน ลูกน้ำยุงยุง และเห็บโค.วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย. 6: 39-47.

จุฑารัตน์ แก่นจันทร์, พุทธชาด อิ่มใจ และนุกูล แก่นจันทร์. 2561. การรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียในปลาทอง. วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ. มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม.

ณพัฐอร บัวฉุน และเศกพร ตันศรีประภาศิริ. 2565. ฤทธิ์ต้านอนุมูนอิสระและฤทธิยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยาก. วารสารวิจัยและพัฒนาวไลอลงกรณ์ในพระราชพระบรมราชูปถัมภ์. 3: 1-15.

ดวงใจ บุญกุศล, นัฐกานต์ หมั่นคำ และเมธี วารักดี. 2565. ผลการสกัดเอทานอลจากพืชสมุนไพรต่อการตายของตัวอ่อนพยาธิตัวกลมของแพะ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์. 2: 51-56.

เทพ เชียงทอง และวิจิตร ภัคเกษม. 2517. สารประกอบบางอย่างที่มีในรากหนอนตายหยาก. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2517. สภาวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพมหานคร.

ธณัชกัญ จิตศิริ, เพ็ญพิชชา งามสม และอารีรัตน์ เรืองอร่าม. 2566. ปลาทอง. [Online]. เข้าถึงได้จาก https://sites.google.com/a/bicec.ac.th/plathxng/home

นาตยา มนตรี, ชนนิกานต์ ขวัญช่วย และพรประพา คงตระกูล. 2557. ผลของสารสกัดหยาบจากหนอนตายหยากต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชบางชนิด. แก่นเกษตร 42. 3: 650-653.

นิตยา ขันธบุตร, สิตา ทิศาดลดิลก และศศมล ผลสุข. 2554. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบทองพันชั่ง (*Rhinacanthus nasutus* Linn.) และรากหนอนตายหยาก (*Samanea tuberosa* Lous.) ที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเห็บสุนัข. วารสารวไลยอลงกรณ์ปริทัศน์. 2: 59-76.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

ประไพสิริ สิริกาญจน. 2546. ความรู้เรื่องปรสิตของสัตว์น้ำ. พิมพ์ครั้งที่ 6. กรุงเทพฯ. ห้างหุ้นส่วนจำกัดสกายเวิร์ด แอ็ดเวอร์ไทซิ่ง.

ปัณรสี สู่ศิริรัตน์ และภัทรา พลับเจริญสุข. 2555. การสกัดหยาบจากว่านห่างจระเข้เพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนส และโรคขั้วเน่าในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ เขตอำเภอปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต คณะศิลปะศาสตร์และวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์.

ปาจารีย์ อินทชุบ. 2551. พืชสกุลหนอนตายหยาก (*Stemona* Lour.) บางชนิดในประเทศไทย วารสารข่าวศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง. 22(2): 20-23.

เมธี รุ่งโรจน์สกุล. 2544. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา จำนวนโครโมโซม และการขยายพันธุ์ของต้นหนอนตายหยาก (*Stemona* spp.). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

รัตนาภรณ์ พรหมศรัทธา, เสริม สีมา, สมบัติ แผนดี, อิสริยะ สืบพันธุ์ดี และอุดม อุ่นจิตต์วรรธนะ. 2552. วิจัยสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดหนอนตายหยากเละว่านน้ำเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืช. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. 1: 209-218

เลาจนา ธีรภัทรสกุล และประคอง พันธุ์อุไร. 2520. การศึก พิษของหนอนตายหยากที่มีผลต่อหนอนแมลงวันบ้าน. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 4: 217-226.

วาสนา สอนเพ็ง, สุภาณี พิมพ์สมาน และฉันทนา อารมณ์ดี. 2552. ฤทธิ์ฆ่าแมลงของสารสกัดจากรากหนอนตายหยาก (*Stemona tuberosa* Lous). วารสารวิจัย มข. 2: 112-122.

วิสุทธิ์ เชวงศรี. 2526. ศึกษาประโยชน์ของหนอนตายหยากในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช. รายงานผลการวิจัย. กองวัตถุมีพิษ กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพมหานคร.

วีระพล จันทร์สวรรค์, สถาพร จิตตปาลพงศ์ และนงนุช จันทราช. 2536. ประสิทธิภาพของสารสกัดหนอนตายหยากต่อเห็บโค. วารสารเกษตร. 3: 366-340.

วุฒิกรณ์ รอดความทุกข์. 2539. ผลของสารสกัดหนอนตายหยากและสารภีต่อแมลงศัตรูพืชของผักคะน้า. วิทยาศาสตร์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สมฤดี ศิลาฤดี, จักรกฤษ วราเอกศิริ และสุชาติ เรืองภาณุพันธ์. 2552. การใช้สารละลายใบยาสูบเพื่อควบคุมเห็บปลา (*Argulus* spp.) ในปลาทองหัวสิงห์. วารสารวิจัย มข. 6: 550-555.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

สาโรช เจริญศักดิ์, กาญจนา ชินสำราญ และดวงสุรีย์ แสนสีระ. 2560. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากหนอนตายหยาก (*Stemona tuberosa* Lour.). ในการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 8. เมืองทองธานี จังหวัดนนทบุรี.

สุกานดา ไชยยง. 2551. ประสิทธิภาพพืชท้องถิ่นบางชนิดในการกำจัดเห็บ. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อานนท์ พยัคฆาภรณ์, ปรียเนตร ดาทอง, นภสร รังสิพราหมณ์กุล, นนทพัทธ์ สาโรวัธน์, ยุทธนา สามมุง และอรอาภา สกุลพานิช. ความเป็นพิษทางปากของสารสกัดหยาบต่าง ๆ จากสมุนไพร *Stemona collinsiae* ต่อแมลงกลางวันเป็นระยะตัวเต็มวัยและระยะเต็มวัยของแมลงจากสุนัขสายพันธุ์ *Periplaneta americana*. Heliyon. 7: 2-9.

อิสริยา เอี่ยมสุวรรณ, ศราวุฒิ สุทธิรัตน์, ณัฐริณี หอระตะ และทวีพร พันธุ์พาณิชย์. 2565. ผลของสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากสมุนไพร 7 ชนิดต่อการไล่มด. วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร. 16: 187-197.

Amriana, Sari K.D., Sriwulan and Anshary H. 2021. Morphological and molecular description of *Argulus indicus* Weber, 1892 (Crustacea: Branchiura) found from striped snakehead fish (*Channa striata*) in Lake Towuti, Indonesia. AACL Bioflux, 14(3): 1373-1382.

Bensky, D. and Gamble, A. 1986. Chinese herbal Medicine. Eastland Press, Inc. Seattle, USA.

Bui, A.L., Tran, N.H.N., Nguyen, H.T., Van Nguyen, Q. and Doan, G.H.T.D. 2022. The effect of *Stemona tuberosa* root extract on preventing diamondback moths (*Plutella xylostella*) from infesting cruciferous vegetables (Brassicaceae) in the winter-spring season of 2020-2021, Thai Nguyen. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 11: 24-33.

Bykhovskaya-Pavlovskaya, I.E. 1964. Key to parasites of freshwater fish of the U.S.S.R. Israel Program for Scientific Translation.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Chungsamarnyart, N. and Jansawan, W. 1990. Bioassay techniques of insecticidal plant-extracts on tropical cattle ticks (*Boophilus microplus*). Kasetsart J. (Nat. Sci Suppl.) 24 : 24-27.

Covich, A.P. and Thorp, J. H. 2001. Introduction to the subphylum Crustacea. In Ecology and classification of North American freshwater invertebrates. 2: 777-809.

Frank, S. 1969. The Pictorial Encyclopedia of Fishes. [Online]. https://fishbase.mnhn.fr/search.php.

Mohsen, S.M. and Ammar, A.S.M. 2009. Total phenolic content and antioxidant activity of corn tassel extract. Food chemistry. 112(3): 595-598.

Morey, G.A.M., Rojas, C.A.T., Espinoza, L.L.O. and Pereira, J. N. 2022. Description of the life cycle of *Dolops discoidalis* (Branchiura: *Argulidae*), collected in *Pseudoplatystoma punticfer* raised in captivity in the Peruvian Amazon. Aquaculture. 560: 738427.

Mungkornasawakul, P., Pyne, S. G., Ung, A. T., Jatisatienr, A. and Willis, A.C. 2009. Stemofoline ethyl acetate solvate. Acta Crystallographica Section. 65(8): 1878-1879.

Pandey A. and Tripathi S. 2014. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2(5): 115-119.

Tatarinov, A.C. 2022. Argulus alosae. [Online]. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Argulus_alosae.jpg.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

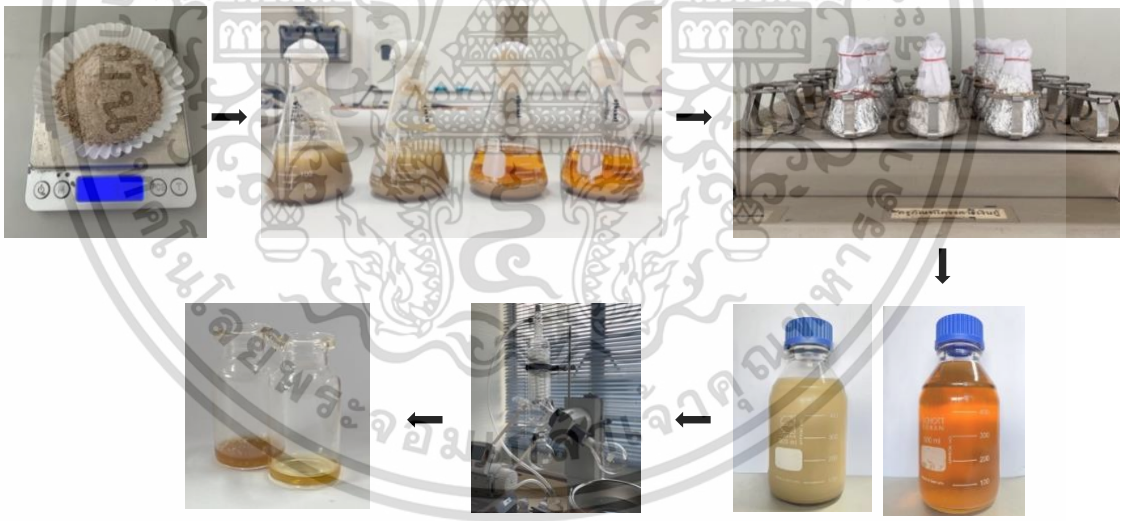
ภาคผนวก ก

การสกัดสารรากหนอนตายหยาก

1. กระบวนการสกัดสารจากรากหนอนตายหยาก

รูปภาคผนวก ก-1 กระบวนการบดรากหนอนตายหยาก

2. กระบวนการสกัดสารโดยวิธีการหมักด้วยเอทานอล 95% และน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และมีการเขย่าต่อเนื่องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง



รูปภาคผนวก ก-2 ขั้นตอนกระบวนการสกัดสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ตารางค่าผลการทดลอง การคำนวณ

1. ร้อยละของสารสกัดรากหนอนตายหยาก

$$\text{\% yield (w/w)} = \frac{\text{น้ำหนักของส่วนสกัลหยาบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของพืชตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

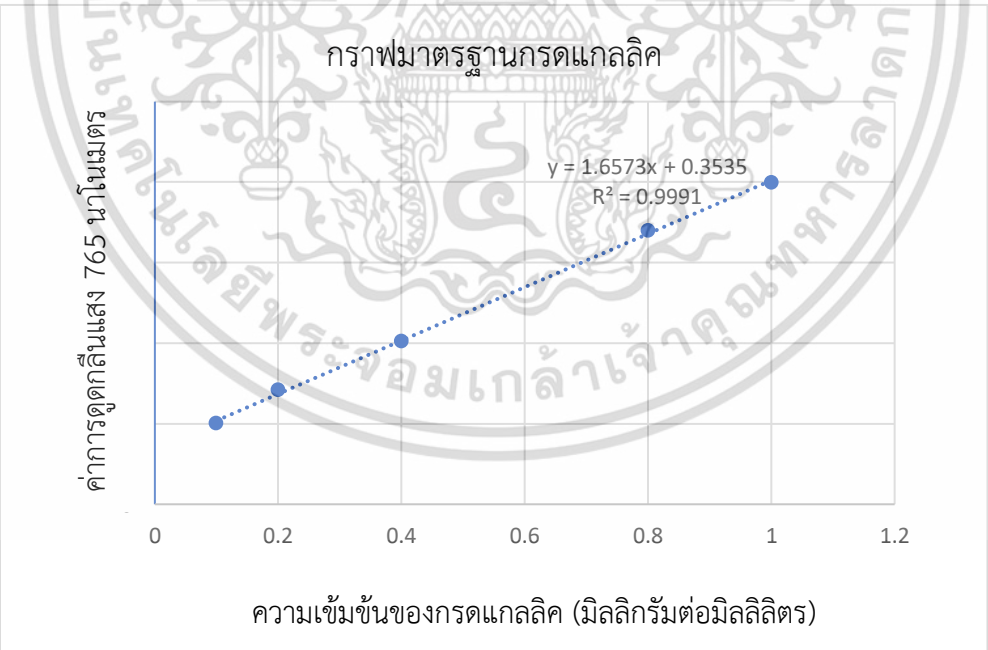
สารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล $= \frac{23.35}{3,330} \times 100$

$= 0.7012$ กรัม

สารสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ $= \frac{66.25}{3,330} \times 100$

$= 1.9894$ กรัม

2. การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของรากหนอนตายหยาก



รูปภาคผนวก ข-1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

ชนิดของตัวทำละลาย	ค่าดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร			$\bar{X}$ ± SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
น้ำ	1.089	1.049	1.057	1.065 ± 0.02
เอทานอล	2.027	2.127	2.065	2.065 ± 0.05

ตารางภาคผนวกที่ 2 ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยในการสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิค

ความเข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิค (mg/mL)	ค่าดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร (เฉลี่ย)
0.1	0.499
0.2	0.707
0.4	1.010
0.8	1.697
1.0	1.996

ตารางภาคผนวกที่ 3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิคที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของกรดแกลลิค (mg/mL)	ค่าดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร			$\bar{X}$ ± SD
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
0.1	0.530	0.548	0.540	0.540 ± 0.00
0.2	0.720	0.766	0.760	0.748 ± 0.02
0.4	0.986	1.110	1.058	1.051 ± 0.06
0.8	1.720	1.734	1.769	1.730 ± 0.02
1.0	1.914	2.104	2.037	2.037 ± 0.10

ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

สมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก คือ y = 1.6573X + 0.3535

ปริมาณฟีนอลิกจากสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยาก

ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและน้ำ เท่ากับ 2.073, 1.065

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล หาค่า X จากกราฟ $X = \frac{y - 0.3535}{1.6573}$

$$X = \frac{2.073 - 0.3535}{1.6573}$$

$$X = 1.0375$$

สารสกัดด้วยตัวทำละลายจากน้ำ หาค่า X จากกราฟ $X = \frac{y - 0.3535}{1.6573}$

$$X = \frac{1.065 - 0.3535}{1.6573}$$

$$X = 0.4293$$

จากนั้นนำไปแทนค่า Mg.GAE $= \frac{C \times V}{m}$

โดย C คือ ความเข้มข้นที่คำนวณจากการแทนค่าในกราฟมาตรฐาน

V คือ ปริมาตรของสารสกัด (mL)

m คือ มวลของสารกัด (g)

ปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล

$= \frac{1.0375 \times 1}{0.1}$

= 10.3750 มิลลิกรัมต่อกรัม (Mg.GAE/g.extract)

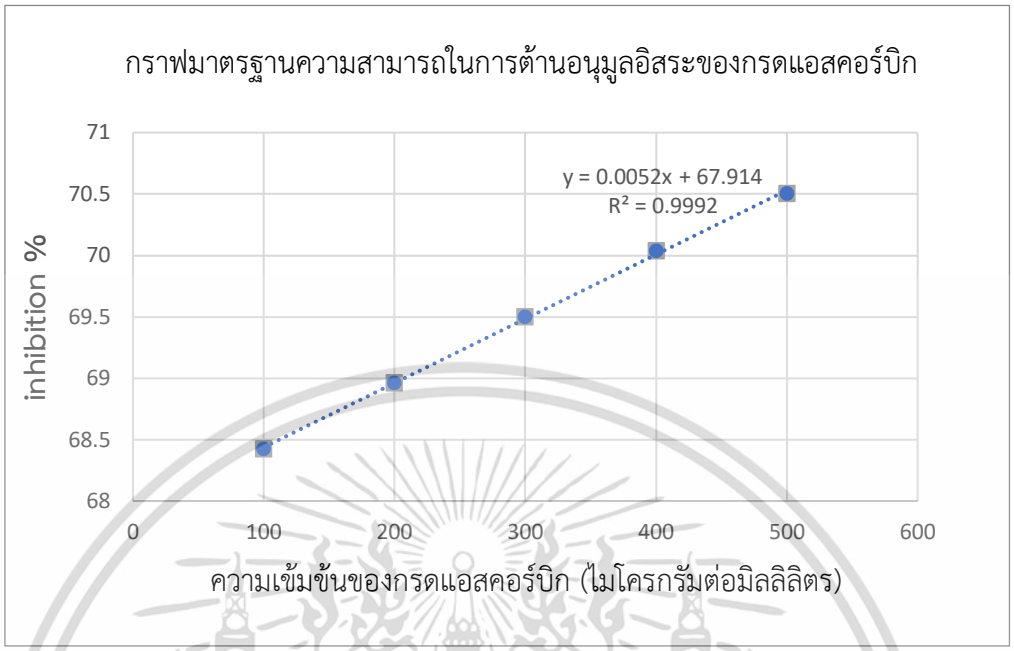
ปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ

$= \frac{0.4293 \times 1}{0.1}$

= 4.293 มิลลิกรัมต่อกรัม (Mg.GAE/g.extract)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay ของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยาก



รูปผนวก ข-2 กราฟมาตรฐานของสารละลายแอสคอร์บิก

สูตรในการคำนวณเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ

$$\% \text{ inhibition} = \frac{A_{Control} - A_{Sample}}{A_{Control}} \times 100$$

โดย $A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย (DPPH + เอทานอล)

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง (สารตัวอย่าง + DPPH)

สารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล $= \frac{0.2790 - 0.2166}{0.2790} \times 100$

$= 22.6086$

สารสกัดด้วยตัวทำละลายจากน้ำ $= \frac{0.2790 - 0.1750}{0.2790} \times 100$

$= 37.2759$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารมาตรฐานของสารละลายแอสคอร์บิก

$$\text{ความเข้มข้นที่ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร} = \frac{0.2790 - 0.0881}{0.2790} \times 100$$

$$= 68.4229$$

$$\text{ความเข้มข้นที่ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร} = \frac{0.2790 - 0.0866}{0.2790} \times 100$$

$$= 68.9605$$

$$\text{ความเข้มข้นที่ 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร} = \frac{0.2790 - 0.0851}{0.2790} \times 100$$

$$= 69.4982$$

$$\text{ความเข้มข้นที่ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร} = \frac{0.2790 - 0.0836}{0.2790} \times 100$$

$$= 70.0358$$

$$\text{ความเข้มข้นที่ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร} = \frac{0.2790 - 0.0823}{0.2790} \times 100$$

$$= 70.5017$$

ตารางภาคผนวกที่ 4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดรากหนอนตายหยากที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ชนิดของตัวทำละลาย	**ค่าดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร**			$\bar{X} \pm SD$
	ครั้งที่ 1	**ครั้งที่ 2**	**ครั้งที่ 3**	
น้ำ	0.168	0.192	0.165	0.1750 ± 0.01
เอทานอล	0.212	0.213	0.225	0.2166 ± 0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 5 ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยในการสร้างกราฟกราฟมาตรฐานของสารละลายแอสคอร์บิก

ความเข้มข้นของสารละลายแอสคอร์บิก (µg/mL)	**ค่าดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (เฉลี่ย)**
100	0.0881
200	0.0866
300	0.0851
400	0.0836
500	0.0823

ตารางภาคผนวกที่ 6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิคที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

ความเข้มข้นของสารละลายแอสคอร์บิก (µl/mL)	**ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 514 นาโนเมตร**			$\bar{X}$ ± SD
	ครั้งที่ 1	**ครั้งที่ 2**	**ครั้งที่ 3**	
100	0.0910	0.0890	0.0843	0.0881 ± 0.00
200	0.0850	0.0880	0.0870	0.0866 ± 0.00
300	0.0840	0.0890	0.0823	0.0851 ± 0.00
400	0.0861	0.0828	0.0820	0.0836 ± 0.00
500	0.0860	0.0820	0.0790	0.0823 ± 0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยาก

ตารางภาคผนวกที่ 7 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบรากหนอนตายหยาก

สายพันธุ์จุลินทรีย์	ความเข้มข้น (mg/mL)	Clear zone (mm)			$\bar{X}$ ± SD
		ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
A.hydrophila	300	10.12	11.51	11.61	11.10 ± 0.79
	400	13.62	13.17	13.32	13.37 ± 0.23
	500	15.69	15.26	15.50	15.48 ± 0.22
B.subtilis	300	13.55	14.32	12.38	13.42 ± 0.98
	400	16.54	16.40	16.92	16.62 ± 0.27
	500	18.93	18.52	18.06	18.50 ± 0.44
S.aureus	300	10.17	10.89	11.19	10.75 ± 0.52
	400	12.55	12.30	12.75	12.55 ± 0.53
	500	14.48	14.52	14.75	14.58 ± 0.14
S.cohnii	300	10.68	9.73	10.10	10.17 ± 0.48
	400	15.92	14.94	15.78	15.55 ± 0.53
	500	17.20	17.59	17.43	17.41 ± 0.20

6. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดรากหนอนตายหยากต่อการกำจัดเห็บปลา

$$\text{เปอร์เซ็นต์การตาย} = \frac{A}{B} \times 100$$

โดย A = จำนวนเห็บตาย

B = จำนวนเห็บทั้งหมด

ตัวอย่างการคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เวลา 24 ชั่วโมง

$$\text{เปอร์เซ็นต์การตาย} = \frac{2}{5} \times 100$$

$$= 40\ \%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 8 เปอร์เซ็นต์การตายของเห็บที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เมื่อเวลาผ่านไป 6, 12 และ 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/mL)	ระยะเวลาการตาย					
	จำนวนตาย 6 ชั่วโมง	เปอร์เซ็นต์การตาย 6 ชั่วโมง	จำนวนตาย 12 ชั่วโมง	เปอร์เซ็นต์การตาย 12 ชั่วโมง	จำนวนตาย 24 ชั่วโมง	เปอร์เซ็นต์การตาย 24 ชั่วโมง
สารสกัดรากหนอนตายหยากด้วยตัวทำน้ำ						
10	0	0	0	0	2	40
20	0	0	1	20	4	80
30	0	0	2	40	3	60
Control	0	0	0	0	0	0
Positive	5	100	0	0	0	0
สารสกัดรากหนอนตายหยากด้วยตัวทำละลายเอทานอล						
10	0	0	0	0	5	100
20	0	0	2	40	3	60
30	1	20	4	80	0	0
Control	0	0	0	0	0	0
Positive	5	100	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การเตรียมอุปกรณ์การเลี้ยงเห็บปลาและสัตว์ทดลอง

รูปภาคผนวก ค-1 การเลี้ยงปลาทองที่เป็นโรคเห็บ

รูปภาคผนวก ค-2 ขนาดปลาทอง

รูปภาคผนวก ค-3 ขนาดเห็บปลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงงานพิเศษ

วันที่ 29 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2566

ข้าพเจ้า นางสาววันวิสาข์ สว่างอารมณ์ รหัสประจำตัว 62050649
นางสาวอรวรรณ ห้วยลึก รหัสประจำตัว 62050663

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชา ชีววิทยา
ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษ เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของรากหนอนตายหยากในการกำจัดเห็บปลา (*Argulus* sp.)

ชื่อภาษาอังกฤษ THE STUDY OF BIOLOGICAL ACTIVITIES OF *Stemona* sp. TO ELIMINATE FISH LICE (*Argulus* sp.)

ปีการศึกษา 2565

เป็นผลงานวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงงานพิเศษฉบับสมบูรณ์แล้ว

โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 3.26 %

ลงชื่อ.....วันวิสาข์ สว่างอารมณ์..... ลงชื่อ.....อรวรรณ ห้วยลึก.....
(นางสาววันวิสาข์ สว่างอารมณ์) (นางสาวอรวรรณ ห้วยลึก)
นักศึกษา นักศึกษา

ข้าพเจ้า ผศ.ดร. วรกฤต วรนันทกิจ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงงานพิเศษของนักศึกษาข้างต้นแล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....
(ผศ.ดร. วรกฤต วรนันทกิจ)
อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้