

การศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรียและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ
ของสารสกัดเอทานอลจากใบและกิ่งของต้นมะหาด
(*Lepisanthes rubiginosa* (Roxb.) Leenh)

The study of antibacterial and antioxidant activity of
ethanol extract from leaves and branches of kaffir
lime tree (*Lepisanthes rubiginosa* (Roxb.) Leenh)



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศา
ศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานี้ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ปีการศึกษา 2565
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE STUDY OF THE ANTIBACTERIAL AND
ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT FROM
LEAVES AND BRANCHES OF KAFFIR LIME TREE
(*Lepisanthes rubiginosa* (Roxb.) Leenh)



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

เอกสารนี้เป็นเอกสารทสวงนเวลาหรบการใชงานเพอการศึกษาเท่านั้น ไมอนุญาตให้นำไปใชประโยชน์ดานการค้า
ไมวากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ACADEMIC YEAR 2022

หัวข้อโครงการพิเศษ การศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรียและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของ สารสกัดเอทานอลจากใบและกิ่งของต้นมะหวด (*Lepisanthes rubiginosa* (Roxb.) Leenh)

The study of bacterial and antioxidant activity of ethanol extract from leaves and branches of kiffir lime tree (*Lepisanthes rubiginosa* (Roxb.) Leenh)

ชื่อนักศึกษา นางสาวกานต์สิริ มั่นเขตกิจ รหัสนักศึกษา 62050568

นางสาวนิศาลักษณ์ จันครา รหัสนักศึกษา 62050615

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2565

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

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

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดวงใจ โอชัยกุล ประธานกรรมการ	
ดร.คณิงกานต์ กลั่นบุศย์ กรรมการ	
ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ภายในเพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรียและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลจากใบและกิ่งของต้นมะหาด (<i>Lepisanthes rubiginosa</i> (Roxb.) Leenh)
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกานต์สิริ มั่นเขตกิจ รหัสนักศึกษา 62050568 นางสาวนิศาลักษณ์ จันครา รหัสนักศึกษา 62050615
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2565
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

บทคัดย่อ

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง และใบของมะหาดพบว่าสารสกัดหยาบส่วนกิ่งมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ได้แก่สารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแอนโทไซยานินปริมาณสูงที่สุด ส่งผลให้ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ และการดักจับอนุมูลอิสระ (IC₅₀) สูงตามไปด้วยมีค่าเท่ากับร้อยละ 71.54 ± 2.98 และ 6.78 ตามลำดับทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อเบื้องต้นพบว่ามีเพียงสารสกัดหยาบส่วนกิ่งที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. subtilis*, *M. luteus* และ *P. aeruginosa* มีเส้นผ่านศูนย์กลางที่ 7.22 ± 0.08, 8.02 ± 0.53 และ 8.18 ± 0.08 มิลลิเมตรตามลำดับ และได้ศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบที่สามารถฆ่าหรือทำลายจุลินทรีย์ได้ พบว่ากิ่งมะหาดความเข้มข้นที่ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดหยาบส่วนใบความเข้มข้นที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งเชื้อ *M. luteus* ได้ดีที่สุด

คำสำคัญ: มะหาด, การต้านอนุมูลอิสระ, การต้านแบคทีเรีย

Title	The study of antibacterial and antioxidant activity of ethanol extract from leaves and branches of <i>Lepisanthes rubiginosa</i> (<i>Lepisanthes rubiginosa</i> (Roxb.) Leenh)		
Students	Miss Karnsiree	Mankhetkij	Student ID 62050568
	Miss Nisaluck	Chankra	Student ID 62050615
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)		
Department	Biology		
School	Science		
University	King Mongkut's institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2022		
Advisor	Ass.Prof. Dr. Suttijit Sriwatcharakul		

Abstract

In this study, the branched crude extract was studied. and the leaves of Mahuat found that the branch crude extract had the highest number of phytochemicals, phenolics, flavonoids, and anthocyanins. As a result, the percentage of antioxidants and free radical trapping (IC₅₀) were also high, with values of 71.54 ± 2.98 and 6.78 percent, respectively. The preliminary inhibition test showed that only crude branch extracts could inhibit the growth of *B. subtilis*, *M. luteus*, and *P. aeruginosa* had diameters of 7.22 ± 0.08, 8.02 ± 0.53, and 8.18 ± 0.08 mm, respectively. The lowest concentrations of crude extracts were studied to kill or destroy microorganisms. It was found that 6.25 mg/ml of Ma Huat extract had the best inhibition against *B. subtilis* while the 25 mg/ml leaf crude extract had the best inhibition against *M. luteus*.

Keywords: *Lepisanthes rubiginosa* (Roxb.) Leenh, antioxidant, antibacterial

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุทธิจิตร ศรีวัชรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ที่คอยชี้แนะ สนับสนุน และให้คำปรึกษาด้วยความใส่ใจตลอดระยะเวลาในการทำโครงการพิเศษ ขอขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์ภาคชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ที่คอยให้ความช่วยเหลือในด้านการพิมพ์ และสถานที่ในการปฏิบัติงานในครั้งนี้ นอกจากนี้ขอขอบพระคุณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบังที่ให้ทุนสนับสนุนในการศึกษา ค้นคว้าโครงการพิเศษ

หากโครงการพิเศษเล่มนี้ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อบุคคลอื่น หรือผู้ที่สนใจ ขอยกคุณความดีและคุณประโยชน์แด่บิดา มารดา คณะอาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านที่เคยอบรมสั่งสอน ให้ความกรุณาเมตตา ช่วยเหลือเสมอมา

กานต์สิรี มั่นเขตกิจ
นิศาลักษณ์ จันครา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ซ
คำย่อ/สัญลักษณ์.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ขอบเขต.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 มะหาด (<i>Lepisanthes rubiginosa</i> (Roxb.) Leenh).....	3
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์.....	4
2.1.2 การกระจายพันธุ์.....	6
2.1.3 สรรพคุณของมะหาด.....	6
2.2 อนุมูลิอิสระ.....	6
2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ.....	7
2.4 สารพิษเคมี.....	8
2.4.1 ฟีนอลิก.....	8
2.4.2 ฟลาโวนอยด์.....	9
2.4.3 แอนโทไซยานิน.....	10
2.5 ยาปฏิชีวนะ.....	11
2.5.1 เจนตามัยซิน.....	11
2.6 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง.....	11
2.6.1 เชื้อ <i>Escherichia coli</i>	11
2.6.2 เชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
2.6.3 เชื้อ <i>Serratia marcescens</i>	13

2.6.4 เชื้อ <i>Bacillus subtilis</i>	14
2.6.5 เชื้อ <i>Micrococcus luteus</i>	14
2.6.6 เชื้อ <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	15
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	17
3.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ.....	17
3.2 การหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมทั้งหมด.....	17
3.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์	17
3.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน	18
3.5 การยับยั้งกิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH.....	18
3.6 การทดสอบเชื้อแบคทีเรีย.....	18
3.6.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย	18
3.6.1.1 การทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียด้วยวิธี Agar disc diffusion.....	19
3.6.1.2 การหาความเข้มข้นของสารในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของ จุลินทรีย์ (Minimal inhibitory concentration, MIC)	19
3.6.1.3 การหาความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ (Minimum bactericidal concentration, MBC).....	20
3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ	20
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	
4.1 การศึกษาสารฟลาโวนอยด์ในส่วนของสารสกัดหยาบจากกิ่ง และใบของมะหาด.....	21
4.1.1 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบ.....	21
4.1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์.....	22
4.1.3 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานิน.....	23
4.2 การวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบ.....	24
4.3 การศึกษาฤทธิ์สารสกัดหยาบส่วนกิ่งและใบของต้นมะหาดในการยับยั้งการเจริญของ เชื้อจุลินทรีย์	26
4.3.1 การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียเบื้องต้นจากสารสกัดหยาบกิ่ง และใบมะหาด.....	26
4.3.2 การศึกษาหาความเข้มข้นสารต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Minimal inhibitory concentration, MIC).....	33
4.3.3 การศึกษาหาความเข้มข้นสารต่ำสุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ (Minimum bactericidal concentration, MBC).....	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ **bactericidal concentration, MBC** เท่านั้น ไม่อนุญาตให้แก้ไขประโยชน์ด้วย **35** คำ
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	43
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	43
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	44
เอกสารอ้างอิง.....	45
ภาคผนวก.....	48
ภาคผนวก ก.....	49
ภาคผนวก ข.....	51
ภาคผนวก ค.....	61
ภาคผนวก ง.....	92



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ตารางแสดงค่าปริมาณสารฟีนอลิกในสารสกัดหยาบของกิ้ง และใบของมะหาด.....	21
4.2 ตารางแสดงค่าปริมาณสารบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบของกิ้ง และใบมะหาด	22
4.3 ตารางแสดงค่าปริมาณสารแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบของกิ้ง และใบมะหาด	23
4.4 ตารางแสดงค่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบของกิ้ง และใบมะหาด.....	25
4.5 ตารางแสดงความสามารถของสารสกัดหยาบกิ้ง และใบมะหาดในการยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i>	27
4.6 ตารางแสดงความสามารถของสารสกัดหยาบกิ้ง และใบมะหาดในการยับยั้งเชื้อ <i>P. aeruginosa</i>	28
4.7 ตารางแสดงความสามารถของสารสกัดหยาบกิ้ง และใบมะหาดในการยับยั้งเชื้อ <i>S. marcescens</i>	29
4.8 ตารางแสดงความสามารถของสารสกัดหยาบกิ้ง และใบมะหาดในการยับยั้งเชื้อ <i>B. subtilis</i>	30
4.9 ตารางแสดงความสามารถของสารสกัดหยาบกิ้ง และใบมะหาดในการยับยั้งเชื้อ <i>M. luteus</i>	31
4.10 ตารางแสดงความสามารถของสารสกัดหยาบกิ้ง และใบมะหาดในการยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i>	32
4.11 ตารางแสดงสารสกัดหยาบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>E. coli</i> ได้.....	36
4.12 ตารางแสดงสารสกัดหยาบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>P. aeruginosa</i> ได้.....	37
4.13 ตารางแสดงสารสกัดหยาบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>S. marcescens</i> ได้	38
4.14 ตารางแสดงสารสกัดหยาบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>B. subtilis</i> ได้	39
4.15 ตารางแสดงสารสกัดหยาบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>M. luteus</i> ได้.....	40
4.16 ตารางแสดงสารสกัดหยาบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>S. aureus</i> ได้.....	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ต้นมะหวด	3
2.2 ใบมะหวด	4
2.3 ดอกมะหวด	5
2.4 ผลมะหวด.....	6
2.5 โครงสร้างเคมีฟีนอลิก	8
2.6 โครงสร้างเคมีฟลาโวนอยด์	9
2.7 โครงสร้างเคมีแอนโทไซยานิน	10
2.8 <i>E. coli</i>	11
2.9 <i>P. aeruginosa</i>	12
2.10 <i>S. marcescens</i>	13
2.11 <i>B. subtilis</i>	14
2.12 <i>M. luteus</i>	14
2.13 <i>S. aureus</i>	15
4.1 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การทดสอบเบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> ของสารสกัดกิ่ง (ก) และ ใบ (ข) ทั้งหมด 3 ซ้ำ	27
4.2 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การทดสอบเบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ <i>P. aeruginosa</i> ของสารสกัดกิ่ง (ก) และ ใบ (ข) ทั้งหมด 3 ซ้ำ	28
4.3 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การทดสอบเบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ <i>S. marcescens</i> ของสารสกัดกิ่ง (ก) และ ใบ (ข) ทั้งหมด 3 ซ้ำ	29
4.4 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การทดสอบเบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ <i>B. subtilis</i> ของสารสกัดกิ่ง (ก) และ ใบ (ข) ทั้งหมด 3 ซ้ำ	30
4.5 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การทดสอบเบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ <i>M. luteus</i> ของสารสกัดกิ่ง (ก) และ ใบ (ข) ทั้งหมด 3 ซ้ำ	31
4.6 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การทดสอบเบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i> ของสารสกัดกิ่ง (ก) และ ใบ (ข) ทั้งหมด 3 ซ้ำ	32
4.7 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง (ก) และใบ (ข) ของต้นมะหวดที่สามารถยับยั้ง เชื้อ <i>E. coli</i> ได้	33
4.8 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง (ก) และใบ (ข) ของต้นมะหวดที่สามารถยับยั้ง เชื้อ <i>P. aeruginosa</i> ได้.....	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตเห็นาไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.9 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง (ก) และใบ (ข) ของต้นมะหาดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. marcescens* ได้..... 34

4.10 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง (ก) และใบ (ข) ของต้นมะหาดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ได้..... 34

4.11 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง (ก) และใบ (ข) ของต้นมะหาดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *M. luteus* ได้..... 35

4.12 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง (ก) และใบ (ข) ของต้นมะหาดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้..... 35



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
PC	Positive control
NC	Negative control
MIC	ความเข้มข้นของสารในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimal inhibitory concentration, MIC)
MBC	ความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ (Minimum bactericidal concentration, MBC)
(ก)	สารสกัดหยาดส่วนกิ่งของมะหาด
(ข)	สารสกัดหยาดส่วนใบของมะหาด
IC ₅₀	half maximal inhibitory concentration ค่าความเข้มข้นของยาที่สามารถยับยั้งปรากฏการณ์ที่ต้องการศึกษาได้ครึ่งหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะหาดเป็นไม้พุ่มเขียวผลัดใบ *Lepisanthes rubiginosa* อยู่ในวงศ์ Sapindaceae มีชื่อท้องถิ่นมากมาย เช่น กาศา หวดค่า และสีหวด โดยพืชชนิดนี้พบได้ทั่วฟิลิปปินส์ ตั้งแต่ตอนเหนือของอินเดียนไปจนถึงอินโดจีนและไทย ผ่านทางมลายูไปจนถึงออสเตรเลีย Barua และคณะ (2013) ในประเทศไทยนั้นสามารถพบได้ทั่วทุกภูมิภาค มักพบกระจายพันธุ์อยู่บริเวณป่าดิบแล้ง ป่าผสมผลัดใบ ขอบป่าดิบชื้น ป่าละเมาะ และพื้นที่รกร้าง โดยจะขึ้นที่ระดับความสูงน้ำทะเลประมาณ 300 – 1,200 เมตร สารวุธ (2562) ความสูงของลำต้นปกติสูงที่ 2 – 3 เมตร บางต้นอาจสูงได้ถึง 7 เมตร โดยทั่วไปมักนิยมใช้ส่วนต่าง ๆ ของพืชมาใช้ประโยชน์ในด้านการรักษาพื้นบ้าน เช่น รากสามารถแก้พิษฝีภายใน แก้อาการปวดศีรษะ เป็นไข้ รักษาโรคผิวหนังผื่นคัน แก้ท้องร่วง ยาต้มเพื่อแก้ไข บำรุงกำลัง และสามารถนำมาถนอมอาหาร ส่วนของลำต้นสามารถนำมาใช้เป็นยานอนหลับได้ Hasan และคณะ (2017) เป็นต้น

อนุมูลิสรระเป็นอะตอมที่ไม่มีความเสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยา สามารถรับและให้อิเล็กตรอนแก่มอเลกุลอื่น ทำให้โมเลกุลที่ได้รับหรือให้อิเล็กตรอนจะเปลี่ยนเป็นอนุมูลิสรระและทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่น เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป (อชิป, มปป.) อนุมูลิสรระเกิดได้ 2 ปัจจัยคือภายในร่างกาย และได้รับจากสภาพแวดล้อม หากภายในร่างกายมีปริมาณอนุมูลิสรระมากกว่าสารต้านอนุมูลิสรระจะส่งผลเสียต่อการเปลี่ยนแปลงของโบนติน ดีเอ็นเอ และก่อให้เกิดโรคเรื้อรัง Pham-Huy และคณะ (2008)

จากการสืบค้นพบว่ามะหาดเป็นพืชที่ยังไม่ได้รับความสนใจในการศึกษาวิจัยมากนัก จึงสนใจทำโครงการพิเศษเกี่ยวกับมะหาดขึ้นมา โดยจะศึกษาส่วนของใบ และกิ่งของมะหาดเพื่อศึกษาสารพฤกษเคมี สารต้านอนุมูลิสรระ และการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาปริมาณสารพิษเคมีที่ได้จากการสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากใบ และกิ่งของมะหาด
- 2) เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบ และกิ่งของมะหาด
- 3) เพื่อศึกษาหาความเข้มข้นของสารในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimal inhibitory concentration, MIC) และความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ (Minimum bactericidal concentration, MBC)

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค
- 2) เพื่อศึกษาสารพิษเคมีที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบ
- 3) เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ทราบถึงปริมาณสารพิษเคมีที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบ
- 2) ทราบถึงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบ
- 3) ทราบถึงความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มะหาด



ภาพที่ 2.1 ต้นมะหาด

ที่มา : chaipatpark.com/tips/ศูนย์การเรียนรู้อุทยาน-พรรณไม้/item/670-มะหาด.html

อาณาจักร : Plantae

ไม่ได้จัดลำดับ : Angiosperms

ไม่ได้จัดลำดับ : Eudicots

ไม่ได้จัดลำดับ : Rosids

อันดับ : Sapindales

วงศ์ : Sapindaceae

สกุล : *Lepisanthes*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้เพื่อการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นไม้พุ่มผลัดใบ หรือไม้ยืนต้นขนาดเล็ก มีความสูง 5-10 เมตร สูงได้ถึง 15 เมตร ทรงพุ่มกลมหรือรูปไข่ เปลือกต้นมีน้ำตาลแตกเป็นร่องตามยาว กิ่งก้านมีรูปทรงกระบอกเป็นร่อง กิ่งก้านเมื่อยังอ่อนจะมีขนสั้นละเอียด

ใบเป็นใบประกอบขนนกปลายคู่ เรียงเวียนสลับ ออกตามซอกใบหรือปลายกิ่ง แกนกลางใบประกอบยาวประมาณ 10-30 เซนติเมตร ใบย่อยมีประมาณ 3-6 คู่ ใบย่อยจะมีลักษณะเป็นรูปไข่หรือรูปไข่กลับ มีความกว้าง 2-11 เซนติเมตร ยาว 3-30 เซนติเมตร ปลายใบแหลม โคนใบสอบ ผิวใบมีขนนุ่มปกคลุมทั้งสองด้าน แผ่นใบบางแต่ค่อนข้างเหนียว และย่นเป็นลอน สีเขียวเข้ม ผิวใบด้านล่างสีอ่อนกว่า ใบอ่อนสีน้ำตาลอมเขียว



ภาพที่ 2.2 ใบมะหวด

ที่มา : chaipatpark.com/tips/ศูนย์การเรียนรู้อุทยาน-พรรณไม้/item/670-มะหวด.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดอกเป็นสีขาวถึงสีเหลืองอ่อน ๆ ออกดอกเป็นช่อแบบแยกแขนงตั้ง จากปลายยอดหรือซอกใบ ใกล้ปลายยอด มีความยาวถึง 50 เซนติเมตร กลีบดอกสีขาว กลีบดอก 4-5 กลีบ เกสรหรือมีขนนุ่ม มีกลิ่นหอมอ่อน



ภาพที่ 2.3 ดอกมะหวด

ที่มา : chaipatpark.com/tips/ศูนย์การเรียนรู้อุทยาน-พรรณไม้/item/670-มะหวด.html

ผลเป็นผลสดแบบมีเนื้อ ลักษณะของผลเป็นรูปรีเว้าเป็นพู ผิวผลเกลี้ยง ผลมีขนาดกว้างประมาณ 0.5-1 เซนติเมตรและยาวประมาณ 1.5-2 เซนติเมตร ผลมีพู 2 พู ผิวเกลี้ยงเปลือกและเนื้อบาง ผลอ่อนเป็นสีเขียว เมื่อสุกแล้วจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองแดง และจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงดำเมื่อแก่จัด เนื้อผลฉ่ำน้ำมีรสหวานใช้รับประทานได้ ภายในผลมีเมล็ดสีน้ำตาลดำเป็นมัน 1 เมล็ด ลักษณะของเมล็ดมะหวดเป็นรูปทรงรีแกมรูปขอบขนาน โดยจะติดผลในช่วงเดือนเมษายนถึงเดือนพฤษภาคม



ภาพที่ 2.4 ผลมะหวด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ที่มา : chaipatpark.com/tips/ศูนย์การเรียนรู้อุทยาน-พรรณไม้/item/670-มะหวด.html
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 การกระจายพันธุ์

เจริญเติบโตได้ดีในดินแทบทุกชนิด ชอบดินทุกชนิดที่ระบายน้ำได้ดี ชอบแสงแดดจัด มีเขตการกระจายพันธุ์ในประเทศอินเดีย จีนตอนใต้ ออสเตรเลีย และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ส่วนในประเทศไทยพบได้ทุกภาค ตามป่าผลัดใบ ริมลำธาร ชายป่าชื้น ชายป่าดิบ ป่าเต็งรัง ป่าดิบแล้ง และพื้นที่โล่งแจ้ง ที่ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 300-1,200 เมตร

2.1.3 สรรพคุณของต้นมะหาด

อาหาร สมุนไพร เปลือก ต้น บำรุงธาตุแก้ธาตุพิการ แก้บิด สมานแผล ผลสุกรับประทานเป็นผลไม้แก้ท้องร่วง สามารถนำมาใช้เป็นไม้ให้ร่มเงา

2.2 อนุมูลอิสระ

สารอนุมูลอิสระ หมายถึง อะตอมหรือไอออนที่ไม่เสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลข้างเคียงเพื่อทำให้ตัวเองเสถียร มีความสามารถในการรับและให้อิเล็กตรอน โมเลกุลที่ได้รับหรือให้อิเล็กตรอนจะเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระและทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป ความรุนแรงของสารอนุมูลอิสระจะมีความสามารถในการ oxidized สารชีวโมเลกุลในร่างกายเรียกว่า Reactive species (RS) (อธิป, มปป.) อนุมูลอิสระแบ่งตามโมเลกุลที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา คือ 1) กลุ่มที่ประกอบด้วยออกซิเจน ได้แก่ ไฮดรอกซิล ซูเปอร์ออกไซด์ ออกซิเจนซิงเกิล ไฮโปคลอไรต์ และเปอร์ออกซิไนไตรต์ 2) กลุ่มที่ประกอบด้วยไนโตรเจน ได้แก่ ไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide radical) ไนโตรเจนไดออกไซด์ (Peroxy Nitrate) และไดไนโตรเจนเจอไตรออกไซด์ (Dinitrogen trioxide) (สุวดี และคณะ, 2562) 3) กลุ่มที่ประกอบด้วยคลอรีน ได้แก่ ไฮโปคลอริคเอซิด ไนตริคคลอไรด์ ปฏิกิริยาออกซิเจน (ROS) และปฏิกิริยาไนโตรเจน (Reactive Nitrogen species) เกิดจาก 1) ปัจจัยภายในร่างกาย กระบวนการทางสรีรวิทยา เช่น การใช้พลังงาน การหายใจระดับเซลล์ การผลิตพลังงานหรือสารเมตาบอลิต์ที่ป้องกันจากจุลินทรีย์ (Cornelli และคณะ, 2009) หรือได้รับจาก 2) ปัจจัยภายนอกในร่างกาย เช่น การสูบบุหรี่ การสัมผัสกับรังสีเอ็กซ์ มลพิษทางอากาศและสารเคมีอุตสาหกรรม (Pham-Huy และคณะ, 2008)

หากภายในร่างกายมีอนุมูลอิสระมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระ จะทำให้ร่างกายเสียสมดุลในการควบคุมอนุมูลอิสระ อาจเกิดขึ้นจากการขาดสารต้านอนุมูลอิสระหรือการเพิ่มขึ้นของกระบวนการออกซิเดชันในร่างกาย ส่งผลให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า oxidative stress จะต้องเกิดในสภาวะชั่วคราว แต่ถ้าเกิดในระยะยาวจะส่งผลเสียต่อการเปลี่ยนแปลงโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และดีเอ็นเอ

กระบวนการนี้มีส่วนสำคัญในการพัฒนาความเจ็บป่วยเรื้อรังและความเสื่อม เช่น มะเร็ง โรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคเบาหวาน โรคอัลไซเมอร์ โรคข้ออักเสบรูมาตอยด์ โรคหลอดเลือดหัวใจและโรค

เกี่ยวกับความเสื่อมของระบบประสาท (Pham-Huy และคณะ, 2008) และก่อให้เกิดโรค ความเจ็บป่วยต่าง ๆ เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด มะเร็ง และความผิดปกติทางระบบประสาทและต่อมไร้ท่อ (Cornelli และคณะ, 2009) สารอนุมูลอิสระเหล่านี้มีปฏิกิริยาสูง มีความสามารถสร้างความเสียหายในนิวเคลียสและในเยื่อหุ้มเซลล์ของโมเลกุลที่เกี่ยวข้องทางชีวภาพ เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน (Lobo และคณะ, 2010)

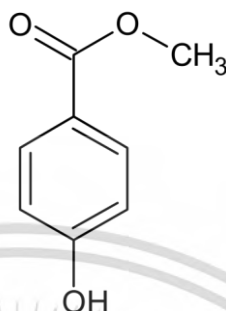
2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ โมเลกุลที่ยับยั้งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ ชะลอ ยับยั้งและซ่อมแซม ความเสียหายของเซลล์ ซึ่งอยู่ในรูปของเอนไซม์และไม่เอนไซม์ สารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ จะทำงานโดยการทำลายและกำจัดอนุมูลอิสระ เปลี่ยนผลิตภัณฑ์ออกซิเดชันที่เป็นอันตรายให้เป็น ไฮโดรเจนออกไซด์ (H_2O_2) จากนั้นเปลี่ยนเป็นน้ำ ในกระบวนการหลายขั้นตอนโดยมีปัจจัยร่วม เช่น ทองแดง สังกะสี แมงกานีส และเหล็ก สารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่เอนไซม์จะทำงานโดยขัดขวาง ปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินซี วิตามินอี โพลีฟีนอลจากพืช สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ สารกลุ่มฟีนอลิก และกลูตาไธโอน (Nimse และ Pal, 2015) สารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติพบได้ในพืช เนื้อเยื่อสัตว์ และจุลินทรีย์ ส่วนใหญ่มักพบในผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ธัญพืช เมล็ดพืชตระกูลถั่วและโกโก้ (Shahihi และ Zhong, 2010)

นอกจากสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ตามธรรมชาติแล้ว ยังมีสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ เช่น butylated hydroxytoluene (BHT) และ butylated hydroxyanisole (BHA) ที่ใช้อย่างแพร่หลายในอาหาร รายงานบางฉบับระบุว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์บางชนิด เช่น BHT BHA อาจมีสารก่อมะเร็งอ่อน ๆ ซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพ ดังนั้นการคิดค้นหาสารประกอบธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพ ไม่เป็นพิษและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจึงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว (Pham-Huy และคณะ, 2008)

2.4 สารพฤกษเคมี

2.4.1 สารประกอบฟีนอลิก



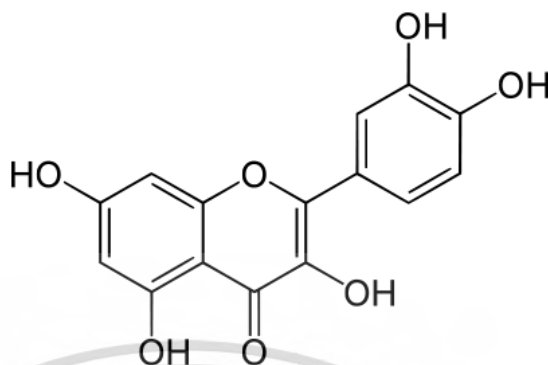
ภาพที่ 2.5 โครงสร้างเคมีฟีนอลิก

ที่มา : https://touchzy-sci.blogspot.com/2017/01/blog-post_18.html

สารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่จะพบในผักและผลไม้ Bayili และคณะ (2011) สารประกอบฟีนอลเป็นสารประกอบที่มีวงแหวนอะโรมาติก ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลตั้งแต่ 1 หมู่ขึ้นไป พบสารประกอบฟีนอลในกลุ่มหลัก ๆ ใน TRCs ได้แก่ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และลิกนิน Sreeramulu และ Raghunath (2010) ฟีนอลที่อยู่ใน TRCs มีความสามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย การอักเสบ และต้านการกลายพันธุ์กิจกรรมต่าง ๆ Chandrasekara และ Kumar (2016) เป็นสารที่มีความสามารถในการต้านออกซิเจนและต้านการอักเสบ หลักฐานจากการศึกษาทางระบาดวิทยาชี้ให้เห็นว่าอาหารที่อุดมด้วยเส้นใยอาหารต้านอนุมูลอิสระสามารถป้องกันโรคความเสื่อมต่างๆ เช่น มะเร็ง โรคหัวใจและหลอดเลือด เบาหวาน และกลุ่มอาการเมตาบอลิซึม และอื่นๆ ปัจจัยหลายอย่างส่งผลต่อปริมาณฟีนอลิก เช่น สภาพแวดล้อม การเก็บรักษา การแปรรูป ความร้อน Saranraj และคณะ (2019) สารประกอบฟีนอลมีอยู่ทั่วไปในผักและผลไม้ การศึกษาทางระบาดวิทยาระบุว่าการบริโภคอาหารที่อุดมด้วยสารประกอบฟีนอลิกเป็นประจำ (ผลไม้ ผัก ซีเรียลโฮลเกรน ไวน์แดง ชา) มีความสัมพันธ์ลดความเสี่ยงต่อโรคหัวใจและหลอดเลือด โรคเกี่ยวกับความเสื่อมของระบบประสาท และมะเร็งบางชนิด เชื่อกันว่าสารประกอบฟีนอลมีประโยชน์ต่อสุขภาพโดยกลไกหลายอย่าง ได้แก่ (1) การกำจัดอนุมูลอิสระ (2) การปกป้องและการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในอาหารอื่น ๆ (เช่น วิตามินอี) และ (3) การคีเลตไอออนของโลหะโปรออกซิแดนท์ ชนิดและระดับของสารประกอบฟีนอลแตกต่างกันมากในผักแต่ละชนิด สารประกอบฟีนอลที่มีโครงสร้างหรือระดับต่างๆ กัน มีแนวโน้มที่จะมีสมบัติเชิงหน้าที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ต่างหาก Huang และคณะ (2007)
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 ฟลาโวนอยด์



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างเคมีฟลาโวนอยด์

ที่มา : <http://st-chem-phytochemicals.blogspot.com/2018/12/test2.html>

ฟลาโวนอยด์เป็นสารพฤกษเคมีพบได้ในผัก ผลไม้ ธัญพืช เปลือกไม้ ราก และลำต้น ก่อให้เกิดสีในเมล็ด ดอก ผล ใบ และเปลือกไม้ ฟลาโวนอยด์ในส่วนต่าง ๆ ของพืชมีคุณสมบัติหน้าที่แตกต่างกัน ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบอะโรมาติกตามธรรมชาติกลุ่มใหญ่ เป็นฟีนอลในพืชที่พบมากที่สุด พบฟลาโวนอยด์มากกว่า 10,000 ชนิด Ekalu และ Habila (2020) สามารถนำไปใช้งานทางด้านโภชนาการ เกษษกรรม ยารักษาโรค และเครื่องสำอาง เนื่องจากฟลาโวนอยด์มีคุณสมบัติต้านออกซิเดชัน ต้านการอักเสบ ต้านการก่อกลายพันธุ์ Panche และคณะ (2016)ฤทธิ์ป้องกันระบบประสาทและหัวใจ Ullah และคณะ (2020) และฤทธิ์การต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์เชื่อมโยงกับคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระ เกิดจากหมู่ไฮดรอกซิลบนโครงสร้างฟลาโวนอยด์ โครงสร้างทางเคมีของฟลาโวนอยด์ประกอบด้วยวงแหวน C6-C3-C6 ซึ่งสอดคล้องกับวงแหวนอะโรมาติก A และ B เชื่อมโยงกันด้วยอะตอมของคาร์บอนสามอะตอมซึ่งก่อให้เกิดวงแหวนวงที่สาม C สามารถแบ่งย่อยได้แก่ ฟลาโวนอน ไอโซฟลาโวน ฟลาโวน ฟลาโวนอล และแอนโทไซยานิน Ekalu และ Habila (2020)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 แอนโทไซยานิน



ภาพที่ 2.7 โครงสร้างเคมีแอนโทไซยานิน

ที่มา : <https://sites.google.com/site/anthocyanin1454/>

แอนโทไซยานินเป็นหนึ่งในฟลาโวนอยด์เป็นรงควัตถุสีแดง น้ำเงิน หรือม่วงที่พบในพืช โดยเฉพาะดอก ผล และพืชหัว ในสภาวะกรดจะปรากฏเป็นสีแดง ในสภาวะต่างจะปรากฏเป็นสีน้ำเงิน มีประจุบวกที่อะตอมออกซิเจนที่วงแหวน C ของโครงสร้างฟลาโวนอยด์พื้นฐาน เรียกอีกอย่างว่าฟลาเวียม (2-ฟีนิลโครเมนิลเลียม) ไอออน ความเสถียรของแอนโทไซยานินจะขึ้นกับแสง อุณหภูมิ พีเอช และโครงสร้าง แอนโทไซยานินที่พบในพืชผัก ผลไม้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการสกัดสีจากดอก ผล ใช้เป็นสีย้อมหรือสีผสมอาหารที่ได้จากธรรมชาติ นอกจากนี้แอนโทไซยานินบางชนิดมีฤทธิ์ต้านเบาหวาน ต้านมะเร็ง ต้านจุลชีพ ต้านมะเร็ง และป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด Khoo และคณะ (2017)

แอนโทไซยานินได้มาจากฟลาโวนอลและมีโครงสร้างพื้นฐานของฟลาเวียมไอออน นั่นคือขาดออกซิเจนที่ตำแหน่ง 4 แอนโทไซยานินเป็นแอนโทไซยานินในรูปแบบไกลโคไซด์ พันธะร่วมกันของแอนโทไซยานินส่งผลให้พืชมีสีแดง น้ำเงิน และม่วง Cyanidin, delphinidin, pelargonidin, peonidin, malvidin และ petunidin เป็นสารแอนโทไซยานินที่พบมากที่สุดที่กระจายอยู่ในพืช Khoo และคณะ (2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ยาบปฏิชีวนะ

2.5.1 เจนตามัยซิน

เจนตามัยซินเป็นยาปฏิชีวนะที่อยู่ในกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่ใช้ออกซิเจนได้ แต่จะไม่สามารถทำลายแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน มีการใช้เจนตามัยซินในการรักษา เช่น เยื่อหุ้มสมองอักเสบ ภาวะโลหิตเป็นพิษจากแบคทีเรีย และการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ มีการใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะอื่น โดยเฉพาะเบตาแลคตาม์ เบตาแลคตาม์จะทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรีย จากนั้นเจนตามัยซินจะเข้าสู่ไซโตพลาสซึมของแบคทีเรีย เมื่ออยู่ในไซโตพลาสซึม เจนตามัยซินและอะมิโนไกลโคไซด์อื่นจะจับกับ 16s rRNA ที่หน่วยย่อยของไรโบโซมที่ 30 เกิดการรบกวนการแปล mRNA ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถสร้างผนังเซลล์ และตายในที่สุด Chaves และ Tadi (2023) ivotต่อแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Pseudomonas*, *Serratia* และ *Proteus* แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus* และแบคทีเรียในตระกูล Enterobacteriaceae

2.6 เชื้อแบคทีเรีย

2.6.1 *Escherichia coli*



ภาพที่ 2.8 ลักษณะเซลล์ *Escherichia coli*

ที่มา : <https://www.my-personaltrainer.it/salute/escherichia-coli.html>

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae อยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม ปรเภทฟิโคไลฟอร์ม มีรูปร่างลักษณะเป็นแท่ง ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ซึ่งเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พบได้ในสิ่งแวดล้อมและอาหาร อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 37 องศาเซลเซียส ใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขภาพของอาหารและน้ำ มีผนังเซลล์บาง มีเพปติโดไกลแคน้ำไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1-2 ชั้น บางสายพันธุ์เป็นโพรไบโอติก แม้ว่า *E. coli* บางสายพันธุ์ไม่ก่อโรค แต่บางสายพันธุ์ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงได้ Basavaraju และ Gunashree (2022) เกิดจากการรับประทานอาหารหรือเครื่องดื่มที่มีการปนเปื้อน เช่น ผัก ผลไม้ หรือปนเปื้อนน้ำที่ผิวดินและน้ำใต้ดิน เมื่ออยู่ในลำไส้จะช่วยในการย่อยอาหารที่รับประทานเข้าไป แต่ถ้าหาก *E. coli* ได้ลุกล้ำไปยังระบบต่าง ๆ ของร่างกายจะทำให้เกิดโรคติดเชื้อรุนแรง Kuhnert และคณะ (2000)

2.6.2 *Pseudomonas aeruginosa*



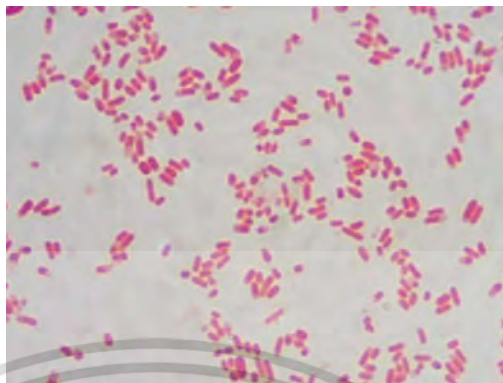
ภาพที่ 2.9 ลักษณะเซลล์ *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา : <https://www.cdc.gov/hai/organisms/pseudomonas.html>

Pseudomonas aeruginosa เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะรูปร่างเป็นแท่ง ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ในสภาวะออกซิเจน อยู่ในตระกูล Pseudomonadaceae มีความสามารถสร้างไบโอฟิล์ม มักพบในสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะในน้ำจืด อ่างเก็บน้ำ อาจทำให้เกิดการติดเชื้อได้ เช่น รุขุมขนอักเสบ ปอดบวม หูชั้นนอกอักเสบ เป็นเชื้อฉวยโอกาส มักเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลได้ พบบ่อยในผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น แผลไฟไหม้ เอดส์ และมะเร็ง ผู้ป่วยที่ใช้อุปกรณ์ทางการแพทย์ เช่น โรคปอดอักเสบจากการใช้เครื่องช่วยหายใจ การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะที่เกี่ยวข้องกับสายสวน Wilson และ Pandey (2022)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.3 *Serratia marcescens*



ภาพที่ 2.10 ลักษณะเซลล์

ที่มา : <https://microbenotes.com/biochemical-test-of-serratia-marcescens/>

Serratia marcescens เป็นแบคทีเรียแกรมลบ จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม วงศ์ Enterobacteriaceae มีรูปร่างลักษณะเป็นท่อน เจริญในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน เคลื่อนที่ได้ เป็นเชื้อแบคทีเรียฉวยโอกาสในโรงพยาบาล บริเวณที่เป็นแหล่งสะสมของเชื้อ ได้แก่ ทางเดินอาหาร ทางเดินหายใจ อุปกรณ์การแพทย์ เช่น น้ำยาฆ่าเชื้อ ยา เป็นต้น มีความสามารถคือสามารถผลิตเอนไซม์เบต้าแลคตาเมส เกิดการต่อยาปฏิชีวนะเบต้าแลคตาม์ ทำให้การรักษายุ่งยากมากขึ้น ซึ่งบางสายพันธุ์สามารถผลิตเม็ดสีที่เรียกว่า prodigiosin มีสีชมพูจนถึงสีแดงเข้ม Khanna และคณะ (2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.4 *Bacillus subtilis*

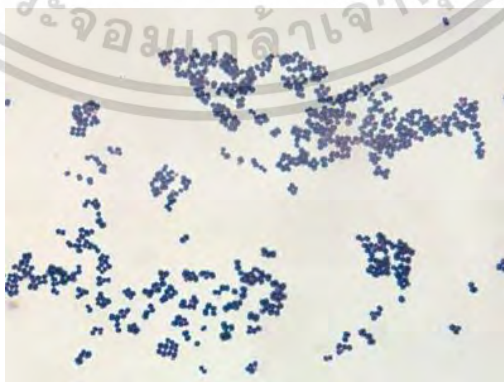


ภาพที่ 2.11 ลักษณะเซลล์ *Bacillus subtilis*

ที่มา : <https://www.nyrture.com/blog/2015/5/23/the-subtle-beauty-of-bacillus-subtilis-part-ii>

Bacillus subtilis เป็นแบคทีเรียแกรมบวก วงศ์ Bacillaceae มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนสั้น เจริญในสภาวะมีออกซิเจน สร้างเอนโดสปอร์ที่ทนต่อความร้อน และสภาวะที่รุนแรง สปอร์สามารถลอยไปในอากาศได้ โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญที่ 30-35 องศาเซลเซียส Errington และ Aart 2020 มักใช้ในอุตสาหกรรม โพรไบโอติก

2.6.5 *Micrococcus luteus*



ภาพที่ 2.12 ลักษณะเซลล์

ที่มา : <https://cdn.britannica.com/05/58705-050-4E3EF0AD/Staphylococcus-aureus-skin-persons-human-microbiota-member.jpg?w=400&h=300&c=crop>

Micrococcus luteus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างลักษณะกลมขนาดเล็ก เจริญในสภาวะที่มีออกซิเจน ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ มีปฏิริยาอะตาเลส และออกซิเดสเป็นบวก พบได้ตามสภาพแวดล้อม ดิน แหล่งน้ำ ผิวหนังและเยื่อช่องปาก มีรายงานว่า *M. luteus* อาจเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อ เช่น แบคทีเรียในกระแสเลือด Zhu และคณะ (2021) ไม่ก่อให้เกิดโรคในคน แต่เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดอาหารเน่าเสีย มีผนังเซลล์หนาสามารถทนต่อแรงดันออสโมซิสที่สูง และทนต่อสภาวะเกลือได้ นิตา และคณะ (2556)

2.6.6 *Staphylococcus aureus*



ภาพที่ 2.13 ลักษณะเซลล์ *Staphylococcus aureus*

ที่มา : <https://foodsafetybrazil.org/staphylococcus-aureus-e-intoxicacao-alimentar-uma-rapida-visao-geral/>

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างลักษณะกลมคล้ายพวงองุ่น อยู่ในวงศ์ Staphylococci ซึ่งสามารถสร้าง coagulase และยังสามารถควบคุมการสร้าง adhesin และ toxin มากกว่า 20 และ 30 ตัว ผนังเซลล์ประกอบไปด้วยเพปทิโดไกลแคน สามารถสร้างแคปซูลได้ สร้างแคปซูลทั้งหมด 12 ซีโรไทป์ เชื้อที่มี CP5 และ CP8 โดยก่อให้เกิดโรคในคนสูงถึงร้อยละ 85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Hasan และคณะ (2017) ทำการทดสอบเพื่อประเมินกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบด้วยเอทานอล พบว่าค่า IC50 เท่ากับ 31.62 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และการทดสอบฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในหนู เอทานอลจะออกจากสารสกัดของ *L. rubiginosa* ที่ปริมาณ 250 และ 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม การประเมินฤทธิ์ต้านอาการท้องเสียในหนูกตัวของหนูเมาส์ทำให้จำนวนอุจจาระทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

Chuangbunyat และคณะ (2011) โดยทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากผลและดอกของมะหาดด้วยน้ำร้อน น้ำมันหอมระเหยจกดอกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ด้วยวิธี ABS) โดยมีการยับยั้ง 25.4% และพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากผลและดอกมีฤทธิ์ต้านจุลชีพที่รุนแรงต่อเชื้อ *Trichophyton mentagophyte* และมีฤทธิ์ปานกลางต่อเชื้อ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Candida albicans*

รัฐศาสตร์ และคณะ (2021) ทำการสกัดใบ ลำต้น ราก ด้วยเอทิลอะซิเตต และเมทานอล พบว่าแต่ละส่วนให้ฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระแตกต่างกัน สารสกัดรากด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ($EC_{50} = 35.02 \pm 0.53 \mu\text{g/ml}$) รองลงมาคือ สารสกัดใบด้วยเอทิลอะซิเตต และ สารสกัดลำต้นด้วยเมทานอล ($EC_{50} = 81.75 \pm 9.92$ และ $94.70 \pm 3.34 \mu\text{g/ml}$) ตามลำดับ

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ

เก็บใบและกิ่งของต้นมะหาดจาก ต.สำโรงตาเจ็น อ.อุซัน จ.ศรีสะเกษ มาล้างทำความสะอาดและผึ่งลมให้แห้ง จากนั้นนำมาอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เพื่อให้แห้งสนิท นำไปบดและชั่งน้ำหนักผง จากนั้นนำผงใบและกิ่ง 100 กรัม แช่ใน 95% เอทานอล 900 มิลลิลิตร เป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์ จากนั้นนำไปเข้าเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบเก็บในขวดแก้วสีชารอให้แห้ง เพื่อจะทำการทดสอบต่อไป

3.2 การหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมทั้งหมด

การหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมทั้งหมด Singleton V.L. และคณะ (1999) โดยเตรียมสารสกัดหยาบให้มีความเข้มข้น 0.1 mg/ml ใน EtOH 95% ปิเปต 20 ไมโครลิตร ลง 96-well plate จากนั้นหยด Folin-ciocalteu's reagent 100 ไมโครลิตร และหยด sodium carbonate [7.5%] 80 ไมโครลิตร เสร็จแล้วบ่มเป็นเวลา 30 นาที นำสารสกัดหยาบที่ได้ไปอ่านค่าด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ที่ความยาวคลื่น 765 nm

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ตามวิธีของ Kathrivel และคณะ (2012) โดยการเตรียมสารสกัดหยาบให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยเมทานอลร้อยละ 30 และปิเปตสารสกัดหยาบแต่ละส่วนลงในหลอดทดลอง 250 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติมน้ำกลั่นไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่น 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าดูดกลืนแสง 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ทำซ้ำอย่างละ 5 ครั้ง และทำการหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์โดยการทำการทดลองเช่นเดียวกับสารสกัด

หยาบ แต่เปลี่ยนเป็นสารมาตรฐานเคออสิติน ใช้เมทานอลร้อยละ 30 เป็นแปลงค์
เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน

การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินโดยใช้ความแตกต่างของพีเอช โดยการชั่งสารสกัดหยาบของใบ และกิ่ง 0.0004 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 5 ml จากนั้นทำการปิเปตปริมาณสารสกัดหยาบ 30 ไมโครลิตรลงหลุม 96 - well plate โดยทำปฏิกิริยากับสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ พีเอช 1.0 ปริมาตร 270 ไมโครลิตร และทำปฏิกิริยากับสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซีเตต พีเอช 4.5 ปริมาตร 270 ไมโครลิตร ทำซ้ำอย่างละ 5 ซ้ำ ทิ้งไว้ 15 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยไมโครเพลทรีดเดอร์ที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมของแอนโทไซยานินต่อลิตรของสารละลาย

3.5 การยับยั้งกิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH

การยับยั้งกิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ด้วยวิธี DPPH scavenging โดยการเตรียมสารสกัดหยาบแต่ละส่วนให้ได้ความเข้มข้น 10, 5, 2.5, 1.25 และ 0.625 mg/ml เตรียม DPPH ใน 99% EtOH ให้ได้ความเข้มข้น 0.1 mM และเตรียมสารละลายมาตรฐานโดยเตรียม α -tocopherol (Vitamin E) ให้ได้ความเข้มข้น 50 mM จากนั้นเตรียมแบลงค์โดยใช้ absolute EtOH (EtOH 99.99%) 10 ไมโครลิตร ผสมกับ DPPH 190 ไมโครลิตร ทำการปิเปตสารสกัดหยาบแต่ละส่วน แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 10 ไมโครลิตรลงในหลุม 96 - well plate ทำปฏิกิริยาโดยการเติม DPPH 190 ไมโครลิตร ทำซ้ำอย่างละ 5 ซ้ำ บ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยไมโครเพลทรีดเดอร์ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

3.6 การทดสอบเชื้อแบคทีเรีย

3.6.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เตรียมเชื้อแบคทีเรียที่จะนำมาทดสอบ 6 สายพันธุ์ คือ เชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* TISTR074, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR2370 และ *Serratia marcescens* TISTR1354 แบคทีเรียแกรมลบ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus subtilis* TISTR1248, *Staphylococcus aureus* TISTR746 และ *Micrococcus luteus* TISTR2374 จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าจอนทราม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ชั่วโม่ง และนำมาแยกเชื้อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ โดย streak ลงใน Nutrient agar บ่มที่อุณหภูมิ
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแบบลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

37 องศา 24 ชั่วโมง นำไปตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยวิธีย้อมแกรม เมื่อได้เชื้อที่ถูกต้อง ทำการย้ายเชื้อลงในหลอดอาหารเอียง Nutrient agar

3.6.1.1 การทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion

นำเชื้อที่เพาะเลี้ยงมาทำการเตรียมสารละลายเชื้อให้ได้ความเข้มข้นมาตรฐานเท่ากับ McFarland No. 0.5 (1.5×10^8 CFU/ml) จากนั้นใช้ไม้พันสำลีเกลี่ยสารละลายเชื้อ 1 มิลลิลิตร ให้ทั่วผิวหน้าอาหาร MHA (Mueller Hinton Agar) ที่ง้วนผิวหน้าอาหารแห้ง จากนั้นเจาะหลุมด้วย cork borer ขนาด 6 มิลลิเมตร เตรียมสารสกัดหยาบในเอทานอล 95% ให้มีความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการเจือลดลงทีละ 2 เท่าจะได้ความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5 และ 6.25 เตรียมเอทานอล 95% เป็น negative control และเตรียมเจนตามัยซิน (Gentamycin) เป็น positive control ปิเปตอย่างละปริมาณ 20 ไมโครลิตรลงหลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นบันทึกเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่เกิดโซนยับยั้ง

3.6.1.2 การหาความเข้มข้นของสารในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimal inhibitory concentration, MIC)

ในการทดสอบนี้จะนำสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ นำมาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ โดยจะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว คือ Nutrient broth เตรียมสารสกัดหยาบให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้น 400 mg/ml จากนั้นทำการเจือจางด้วยวิธี two-folded dilution จะได้เป็นความเข้มข้นสารสกัดหยาบ 200, 100, 50, 25, 12.5, และ 6.25 mg/ml เติมสารละลายเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ลงในทุกหลอดหลอดละ 1 มิลลิลิตร บ่ม 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลโดยการสังเกตหลอดที่ไม่มีจุลินทรีย์เจริญ หลอดจะไม่ขุ่น

3.6.1.3 การหาความเข้มข้นของสารต่ำสุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ (Minimum bactericidal concentration, MBC)

จากการหาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ นำหลอดที่ไม่เกิดความขุ่น ทุกหลอดนำมา streak ลงบน Nutrient agar นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลโดยการสังเกตว่า ถ้าไม่มีจุลินทรีย์เจริญบนเพลทอาหารแสดงว่าความเข้มข้นนั้นคือความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้

3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำผลการทดลองมาทำการวิเคราะห์ข้อมูลหาความแปรปรวนทางสถิติ (analysis variance: ANOVA) ด้วยโปรแกรม SPSS และวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

จากการศึกษาสารสกัดหยาดส่วนกิ่ง และใบของมะหาด พบว่ามีปริมาณสารพฤษเคมี และฤทธิ์ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ 6 ชนิด ดังนี้

4.1 การศึกษาสารพฤษเคมีในส่วนสารสกัดหยาดจากกิ่ง และใบของมะหาด

4.1.1 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาด

จากการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ของ Singleton V.L. และคณะ (1999) โดยใช้ความเข้มข้นสารสกัดหยาด 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร จากการวิเคราะห์พบว่าปริมาณสารฟีนอลิกสูงที่สุดคือสารสกัดหยาดส่วนกิ่ง และใบรองลงมาคือค่าเท่ากับ 5.80 ± 4.70 และ 2.68 ± 1.58 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ แสดงดังตามตารางที่ 4.1 เมื่อเทียบกับงานวิจัย รัฐศาสตร์ และคณะ (2564) ได้ทำการศึกษหาปริมาณฟีนอลิกในสารสกัดมะหาด โดยศึกษาสารสกัดหยาดส่วนของใบ ราก และลำต้นมะหาดด้วยตัวทำละลายเมทานอล เอทานอล และเฮกเซน โดยพบว่าสารประกอบฟีนอลิกที่พบสูงที่สุด คือสารสกัดหยาดลำต้นตัวทำละลายเมทานอล รองลงมาคือสารสกัดหยาดใบตัวทำละลายเอทานอล และสารสกัดรากตัวทำละลายเมทานอลตามลำดับเท่ากับ 567.18 ± 6.24 , 471.96 ± 58.20 และ 434.90 ± 32.02 mg GAE/g extract ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าปริมาณฟีนอลิกในใบมีค่ามากกว่า การวิจัยนี้ไม่สอดคล้องเนื่องจากด้วยวิธีการทดลองในการหาปริมาณฟีนอลิกมีการใช้ปริมาตร ความเข้มข้นของสารเคมี อีกทั้งความยาวคลื่นในการวัดค่าการดูดแสงแตกต่างกัน

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาดของกิ่ง และใบมะหาด

สารสกัดหยาด	ปริมาณฟีนอลิก (mg GAE/g extract)
กิ่งมะหาด	5.80 ± 4.70^a
ใบมะหาด	2.68 ± 1.58^b

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์

การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์โดยใช้วิธี Kathrivel และคณะ (2012) เตรียมสารสกัดหยาบกิ่งและใบในตัวทำละลาย 30% เมทานอล สร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้เควอซิตินที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 1000 mg/ml ทำการเจือจางลดลงทีละ 2 เท่าจนถึง 62.5 mg/ml ด้วยตัวทำละลาย 30% เมทานอล นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่พบสูงที่สุดคือสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง รองลงมาคือสารสกัดหยาบส่วนใบเท่ากับ 1,291 และ 996 มิลลิกรัมของเควอซิตินต่อกรัมสารสกัดหยาบตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.3 ซึ่งงานวิจัยของ รัฐศาสตร์ และคณะ (2564) ทำการศึกษาหาปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี $AlCl_3$ colorimetric assay เทียบกับสารมาตรฐานเควอซิติน ผลจากการศึกษาพบว่าสารสกัดใบมะหาดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุดคือ 175 ± 8.37 mg QE/g Extract ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยเนื่องจากมีปริมาณฟลาโวนอยด์มากกว่า รองลงมาคือส่วนลำต้นตัวทำละลายเมทานอล และส่วนใบตัวทำละลายเฮกเซน 150.12 ± 37.79 และ 146.94 ± 6.88 mg QE/g Extract

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบของกิ่ง และใบมะหาด

สารสกัดหยาบ	ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg QE /g extract)
กิ่งมะหาด	$1,291 \pm 202.01^a$
ใบมะหาด	996 ± 124.83^b

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.1.3 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานิน

การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินด้วยดัดแปลงวิธี pH differential ของ Shafazila และคณะ (2010) เตรียมสารสกัดหยาบ 0.04 กรัมละลายในน้ำกลั่น 1 ml เตรียมบัฟเฟอร์โพแทสเซียมและบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตตที่ pH 1.0 และ 4.5 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 และ 700 นาโนเมตร พบว่าสารสกัดหยาบส่วนกิ่งมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุดมีค่าเท่ากับ 7.18 ± 1.97 มิลลิกรัมของ cyanidin-3- glucoside /l extract (18 มิลลิกรัมของ cyanidin-3- glucoside ต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือสารสกัดหยาบส่วนใบเท่ากับ 5.68 ± 1.93 cyanidin-3- glucoside (14.25 มิลลิกรัมของ cyanidin-3- glucoside ต่อกรัมของสารสกัด) งานวิจัยของวิชณี และคณะ (2563) ทำการศึกษาหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมะหาดโดยใช้ส่วนของผลนำไปต้ม พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินรวมสูงสุด (อัตราส่วน 1:1 เวลาในการต้ม 15 นาที) มีปริมาณแอนโทไซยานิน 86.00 ± 1.77 mg CGE/100 g การวิจัยนี้ไม่สอดคล้องเนื่องจากปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินมีปริมาณน้อยกว่า

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบของกิ่ง และใบมะหาด

สารสกัดหยาบ	ปริมาณแอนโทไซยานิน (mg QE /g extract)	
	(mg cyanidin-3-glucoside / l extract)	(mg cyanidin-3-glucoside / g extract)
กิ่งมะหาด	7.18 ± 1.97^a	180.0
ใบมะหาด	5.68 ± 1.93^a	142.5

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ไม่แตกต่างกันในสมมุติเดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการศึกษาวิเคราะห์สารพฤกษเคมี ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ สารประกอบแอนโทไซยานิน และการดักจับอนุมูลอิสระอนุมูลอิสระ พบว่าในสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง และใบของมะหาดมีสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีวงแหวนอะโรมาติก ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล มีความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรีย การอักเสบ การกลายพันธุ์ Sreeramulu และ Raghunath (2010) สารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบอะโรมาติกที่อยู่ในกลุ่มฟีนอลที่พบมากที่สุด Ekalu และ Habila (2020) มีโครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยวงแหวน C6-C3-C6 มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้ และสารประกอบแอนโทไซยานินได้มาจากสารฟลาโวนอล มีประจุบวกที่อะตอมออกซิเจนที่วงแหวน C มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ มะเร็ง และต้านเบาหวาน Khoo และคณะ (2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบ

การวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH scavenging method โดยเตรียมสารสกัดหยาบแต่ละส่วนความเข้มข้นเริ่มต้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยตัวละลาย 99% เอทานอล ทำการเจือจางลดลงทีละสองเท่าจนถึงการเจือจางที่ 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายมาตรฐานวิตามินอี (α -tocopherol) ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ บ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จากการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้นสูงจะมีค่าร้อยละในการดักจับสารต้านอนุมูลอิสระมาก ค่าร้อยละการดักจับสารต้านอนุมูลอิสระจะมีค่าแบบแปรผัน โดยสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดหยาบส่วนกิ่งมีค่าร้อยละในการดักจับอนุมูลอิสระมากที่สุดรองลงมาคือใบมีค่าเท่ากับร้อยละ 71.54 ± 2.98 และ 62.79 ± 0.98 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินอี (α -tocopherol) มีค่าร้อยละของการดักจับสารต้านอนุมูลอิสระสูงเท่ากับร้อยละ 85.53 ± 2.98 และค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) โดยพบว่าสารสกัดหยาบส่วนกิ่งและใบมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระค่า IC_{50} ไม่แตกต่างกันมากนัก โดยส่วนกิ่งมีค่ายับยั้งการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าเล็กน้อยรองลงมาคือใบมีค่าเท่ากับร้อยละ 6.78 และ 6.80 ตามลำดับแสดงดังตารางที่ 4.2 ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ รัฐศาสตร์ และคณะ (2564) โดยศึกษาการหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FARP และ DPPH พบว่าวิธี FARP สารสกัดหยาบลำต้นด้วยตัวทำละลายเมทานอลมีฤทธิ์ลดอนุมูลอิสระ (EC_{50}) สูงที่สุดเท่ากับ 2.31 ± 0.02 mg AEAC/mg extract รองลงมาคือสารสกัดใบและรากด้วยตัวทำละลายเมทานอลตามลำดับเท่ากับ 1.58 ± 0.06 และ 1.39 ± 0.04 mg AEAC/mg extract ตามลำดับ เนื่องจากวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์แตกต่างกัน อีกทั้งปริมาณอัตราส่วนในการลง 96-well ที่แตกต่างกันอาจส่งผลให้ค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้มีความแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบของกิ่ง และใบมะหาด

ความเข้มข้นของ สารสกัดหยาบ (mg/ml)	ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	
	กิ่งมะหาด	ใบมะหาด
10	71.54 ± 2.98 ^a	62.79 ± 0.90 ^a
5	56.69 ± 4.52 ^b	58.71 ± 0.95 ^b
2.5	16.57 ± 5.46 ^c	15.86 ± 0.46 ^c
1.25	6.51 ± 2.70 ^d	10.64 ± 1.83 ^d
0.625	5.60 ± 2.19 ^d	7.15 ± 1.97 ^e
α -tocopherol 50 mM	85.53 ± 2.98	85.53 ± 2.98
IC ₅₀	6.78	6.80

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการศึกษาหาค่าร้อยละในการดักจับอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดหยาบส่วนกิ่งมีค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระดีที่สุด เป็นผลมาจากในสารสกัดหยาบส่วนกิ่งมีปริมาณสารฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์สูงกว่าสารสกัดหยาบส่วนใบ ซึ่งสารฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์นั้นเป็นสารพฤกษเคมีที่มีโครงสร้างทางเคมีคือวงแหวนอะโรมาติกริง มีความสามารถในการต้านออกซิเจนที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระที่ส่งผลสร้างความเสียหายต่อดีเอ็นเอ และเยื่อหุ้มเซลล์ Lobo และคณะ (2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาฤทธิ์สารสกัดหยาบส่วนกิ่ง และใบมะหาดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

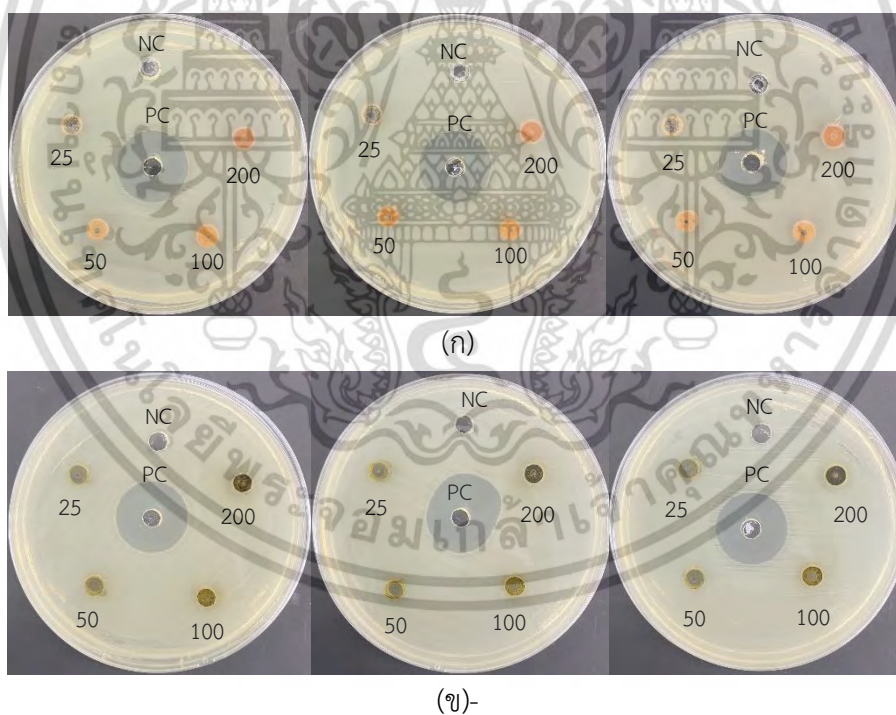
4.3.1 การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียเบื้องต้นจากสารสกัดหยาบกิ่ง และใบมะหาด

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion เตรียมสารสกัดหยาบกิ่ง และใบมะหาดที่ความเข้มข้น 200, 100, 50 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และใช้ 95% เอทานอลเป็นตัวควบคุมเชิงลบ เชื้อเชื้อผสมกับน้ำเกลือเทียบความเข้มข้นด้วย 0.5 McFarland จากนั้นนำไป swab ลงบน MHA เมื่อผิวหน้าอาหารแห้ง เจาะหลุมด้วย cork boror ขนาด 6 มิลลิเมตร ปิเปตสารสกัดหยาบลงหลุมปริมาตร 200 ไมโครลิตร โดยผลจากการทดสอบพบว่าสารสกัดหยาบส่วนใบไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้ง 6 ชนิด แต่สารสกัดหยาบส่วนกิ่งความเข้มข้นที่ 200 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์แกรมบวกได้ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *B. subtilis* TISTR1248 และ *M. luteus* TISTR2374 ตามลำดับ โดยวัดโซนใสที่เกิดขึ้นเฉลี่ยประมาณ 7.22 ± 0.08 และ 8.02 ± 0.53 มิลลิเมตรตามลำดับ และแบคทีเรียแกรมลบ *P. aeruginosa* TISTR2370 วัดโซนใสได้ 8.18 ± 0.08 มิลลิเมตร งานวิจัย Barua และคณะ (2013) ศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติเภสัชวิทยา การสกัดลำต้นมะหาดด้วยเมทานอล โดยทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc diffusion ใช้สารสกัดหยาบส่วนลำต้นด้วยตัวทำละลายเมทานอลความเข้มข้น 400 μg พบว่าโซนยับยั้งสูงสุดเท่ากับ 17.01 ± 11 (*Staphylococcus aureus*) และ 7.05 ± 0.04 (*Salmonella typhi*) มิลลิเมตร ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลการทดลองเนื่องจากสารสกัดหยาบส่วนใบไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้ งานวิจัยของ Sajib และคณะ (2015) ศึกษาฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์และยาแก้อาเจียนใช้ส่วนใบของมะหาด โดยใช้แผ่นดิสก์ความเข้มข้นสารสกัด 400 μg พบว่าสารสกัดส่วนใบด้วยตัวทำละลายเมทานอลไม่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ แต่ในตัวทำละลายคลอโรฟอร์มสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้คือ *E. coli* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 7 มิลลิเมตร ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลการทดลองเนื่องจากสารสกัดส่วนใบไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ และพบว่าสารสกัดส่วนใบด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์มไม่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้คือ *B. subtilis* และ *S. aureus* ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลอง

ตารางที่ 4.5 ตารางแสดงความสามารถของสารสกัดหยากกิ้ง และใบมะหาดในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* TISTR074

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)	
	กิ้งมะหาด	ใบมะหาด
25	6.00 ± 0.00 ^b	6.00 ± 0.00 ^b
50	6.00 ± 0.00 ^b	6.00 ± 0.00 ^b
100	6.00 ± 0.00 ^b	6.00 ± 0.00 ^b
200	6.00 ± 0.00 ^b	6.00 ± 0.00 ^b
ยาปฏิชีวนะ 10 มิลลิกรัม	20.35 ± 0.22 ^a	20.28 ± 0.18 ^a
95% เอทานอล	6.00 ± 0.00 ^b	6.00 ± 0.00 ^b

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของสารสกัดหยากกิ้งแต่ละส่วนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95%, เส้นผ่านศูนย์กลาง cork boror ขนาด 6 มิลลิเมตร



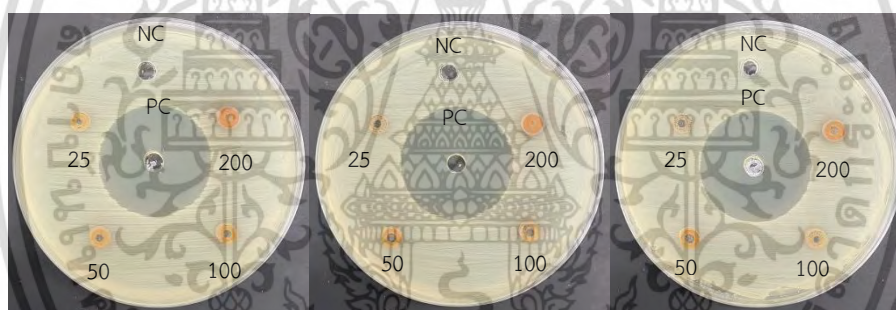
รูปที่ 4.1 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การทดสอบเบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* TISTR074 ของสารสกัดกิ้ง (ก) และ ใบ (ข) ทั้งหมด 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

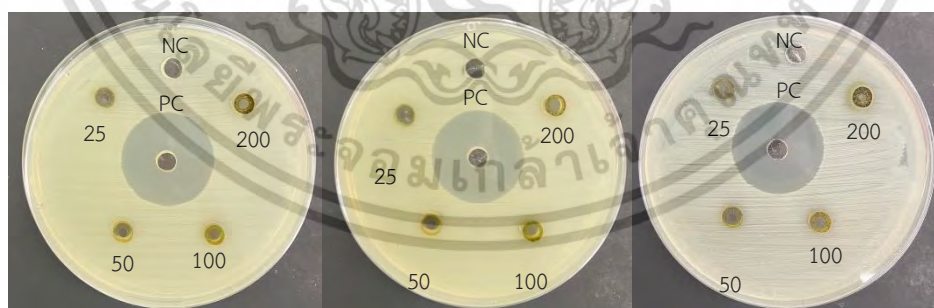
ตารางที่ 4.6 ตารางแสดงความสามารถของสารสกัดหยาดกึ่ง และใบมะหาดในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* TISTR2370

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)	
	กึ่งมะหาด	ใบมะหาด
25	6.00 ± 0.00 ^c	6.00 ± 0.00 ^b
50	6.00 ± 0.00 ^c	6.00 ± 0.00 ^b
100	6.00 ± 0.00 ^c	6.00 ± 0.00 ^b
200	8.18 ± 0.08 ^b	6.00 ± 0.00 ^b
ยาปฏิชีวนะ 10 มิลลิกรัม	30.73 ± 1.46 ^a	26.92 ± 0.72 ^a
95% เอทานอล	6.00 ± 0.00 ^c	6.00 ± 0.00 ^b

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของสารสกัดหยาดกึ่งและส่วนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95%, เส้นผ่านศูนย์กลาง cork boror ขนาด 6 มิลลิเมตร



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.2 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การทดสอบเบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* TISTR2370 ของสารสกัดกึ่ง (ก) และ ใบ (ข) ทั้งหมด 3 ซ้ำ

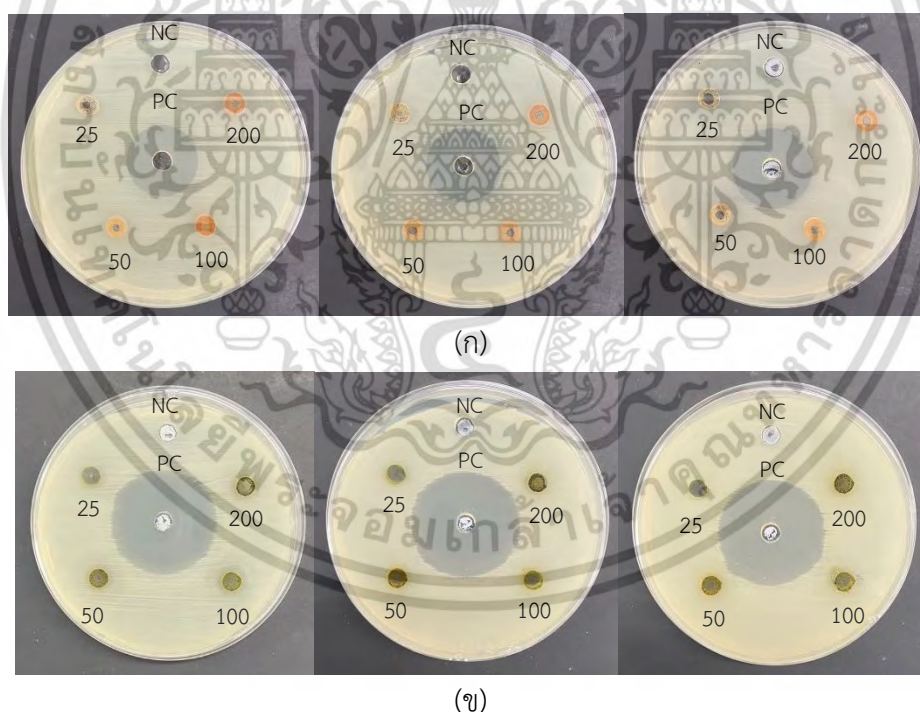
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ตารางแสดงความสามารถของสารสกัดหยาบกิ้ง และใบมะหาดในการยับยั้งเชื้อ

S. marcescens TISTR1354

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)	
	กิงมะหาด	ใบมะหาด
25	6.00 ± 0.00 ^b	6.00 ± 0.00 ^b
50	6.00 ± 0.00 ^b	6.00 ± 0.00 ^b
100	6.00 ± 0.00 ^b	6.00 ± 0.00 ^b
200	6.00 ± 0.00 ^b	6.00 ± 0.00 ^b
ยาปฏิชีวนะ 10 มิลลิกรัม	22.90 ± 1.18 ^a	29.57 ± 3.88 ^a
95% เอทานอล	6.00 ± 0.00 ^b	6.00 ± 0.00 ^b

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของสารสกัดหยาบแต่ละส่วนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95%, เส้นผ่านศูนย์กลาง cork boror ขนาด 6 มิลลิเมตร



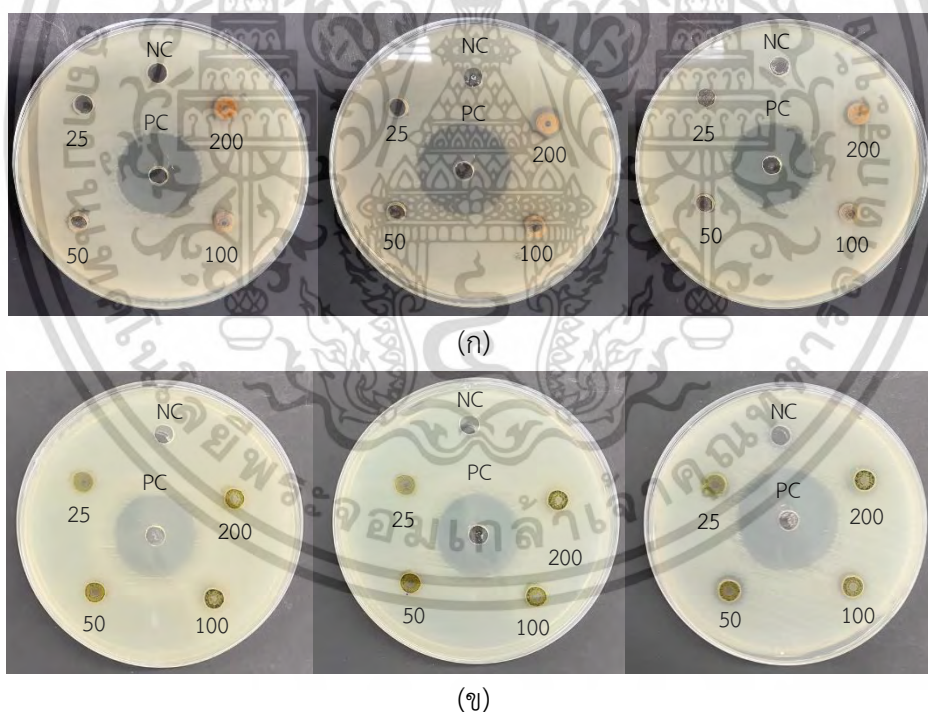
รูปที่ 4.3 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การทดสอบเบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *S. marcescens* TISTR1354 ของสารสกัดกิง (ก) และ ใบ (ข) ทั้งหมด 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ตารางแสดงความสามารถของสารสกัดหยากกิ้ง และใบมะหวดในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* TISTR1248

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)	
	กิ้งมะหวด	ใบมะหวด
25	6.00 ± 0.00 ^c	6.00 ± 0.00 ^c
50	6.00 ± 0.00 ^c	6.00 ± 0.00 ^c
100	6.00 ± 0.00 ^c	6.00 ± 0.00 ^c
200	7.22 ± 0.08 ^b	6.00 ± 0.00 ^c
ยาปฏิชีวนะ 10 มิลลิกรัม	23.15 ± 1.18 ^a	27.30 ± 1.23 ^a
95% เอทานอล	6.00 ± 0.00 ^c	6.00 ± 0.00 ^c

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของสารสกัดหยากกิ้งแต่ละส่วนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95%, เส้นผ่านศูนย์กลาง cork boror ขนาด 6 มิลลิเมตร



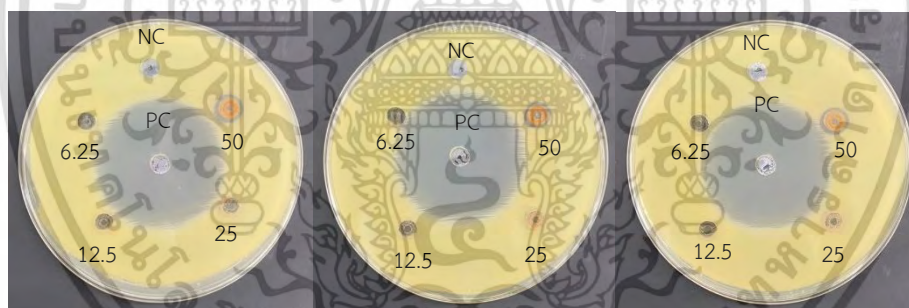
รูปที่ 4.4 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การทดสอบเบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* TISTR1248 ของสารสกัดกิ้ง (ก) และ ใบ (ข) ทั้งหมด 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

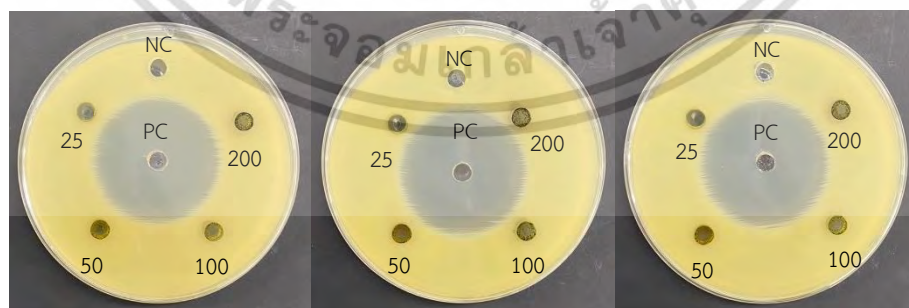
ตารางที่ 4.9 ตารางแสดงความสามารถของสารสกัดหยากกิ้ง และใบมะหาดในการยับยั้งเชื้อ *M. luteus* TISTR2374

สารสกัดหยาก	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	บริเวณยับยั้ง การเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)	ยาปฏิชีวนะ Gentamicin 10 มิลลิกรัม	95% เอทานอล
กิ้งมะหาด	6.25	6.00 ± 0.00 ^c	38.93 ± 0.56 ^a	6.00 ± 0.00 ^c
	12.5	6.00 ± 0.00 ^c	38.93 ± 0.56 ^a	6.00 ± 0.00 ^c
	25	6.00 ± 0.00 ^c	38.93 ± 0.56 ^a	6.00 ± 0.00 ^c
	50	8.02 ± 0.53 ^b	38.93 ± 0.56 ^a	6.00 ± 0.00 ^c
ใบมะหาด	25	6.00 ± 0.00 ^b	37.75 ± 0.28 ^a	6.00 ± 0.00 ^b
	50	6.00 ± 0.00 ^b	37.75 ± 0.28 ^a	6.00 ± 0.00 ^b
	100	6.00 ± 0.00 ^b	37.75 ± 0.28 ^a	6.00 ± 0.00 ^b
	200	6.00 ± 0.00 ^b	37.75 ± 0.28 ^a	6.00 ± 0.00 ^b

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกัน แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของสารสกัดแต่ละส่วน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95%, เส้นผ่านศูนย์กลาง cork boror ขนาด 6 มิลลิเมตร



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.5 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การทดสอบเบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *M. luteus* TISTR2374

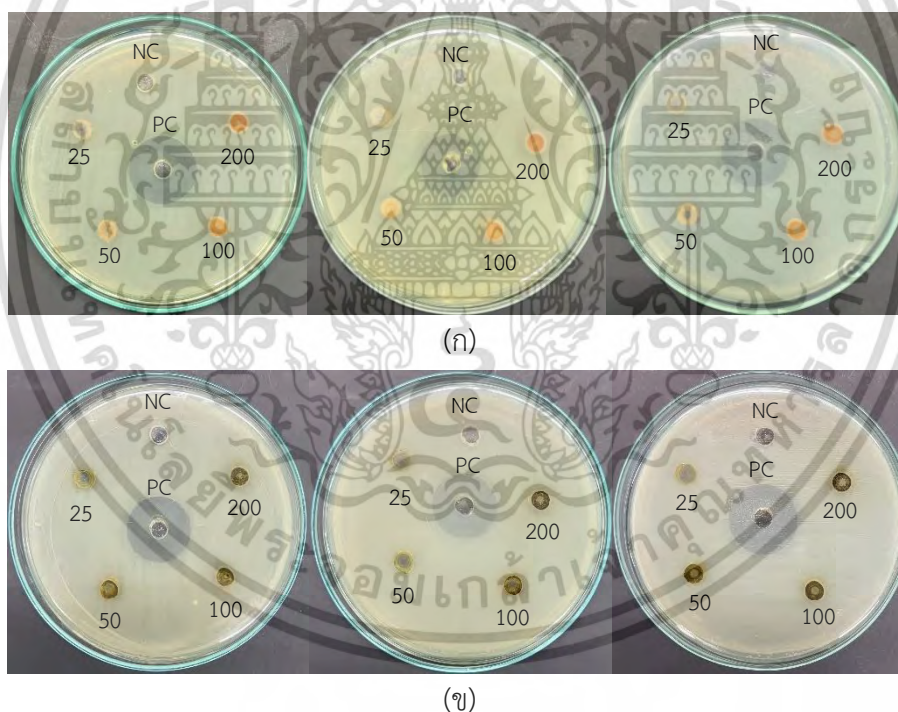
ของสารสกัดกิ้ง (ก) และ ใบ (ข) ทั้งหมด 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ตารางแสดงความสามารถของสารสกัดหยาบกิ้ง และใบมะหาดในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* TISTR746

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	กิ้งมะหาด	ใบมะหาด
25	6.00 ± 0.00^b	6.00 ± 0.00^b
50	6.00 ± 0.00^b	6.00 ± 0.00^b
100	6.00 ± 0.00^b	6.00 ± 0.00^b
200	6.00 ± 0.00^b	6.00 ± 0.00^b
ยาปฏิชีวนะ 10 มิลลิกรัม	21.12 ± 0.88^a	20.50 ± 1.22^a
95% เอทานอล	6.00 ± 0.00^b	6.00 ± 0.00^b

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของสารสกัดหยาบแต่ละส่วนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95%, เส้นผ่านศูนย์กลาง cork boror ขนาด 6 มิลลิเมตร



รูปที่ 4.6 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์การทดสอบเบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *M. luteus* TISTR746 ของสารสกัดกิ้ง (ก) และ ใบ (ข) ทั้งหมด 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 การศึกษาหาความเข้มข้นสารต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Minimal inhibitory concentration, MIC)

เตรียมอาหารเหลว Nutrient broth 0.5 ml และเตรียมสารสกัดหยาบส่วนกิ่งและใบความเข้มข้นเริ่มต้น 800 mg/ml ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ปิเปตลงหลอดอาหารเหลว ทำการเจือจางลดลงทีละ 2 เท่า จะได้หลอดอาหารที่มีสารสกัดการเจือจางที่ 400, 200, 100, 50, 25, 12.5 และ 6.25 เตรียมสารละลายเชื้อด้วยน้ำเกลือเทียบความขุ่น 0.5 McFarland ปิเปตลงหลอดอาหารที่มีสารสกัดหลอดละ 1 ml นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบส่วนกิ่งและใบหลังทำการบ่ม หลอดอาหารมีลักษณะขุ่น สังเกตยากว่าเกิดความขุ่นจากสารสกัดหยาบหรือจากการเจริญของเชื้อ จึงนำไปทดสอบต่อเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายฆ่าจุลินทรีย์ได้



(ก)

(ข)

รูปที่ 4.7 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง (ก) และใบ (ข) ของต้นมะหาดที่ความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 และ 3.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทดสอบกับเชื้อ *E. coli* TISTR074 ด้วยวิธี Macro broth dilution technique

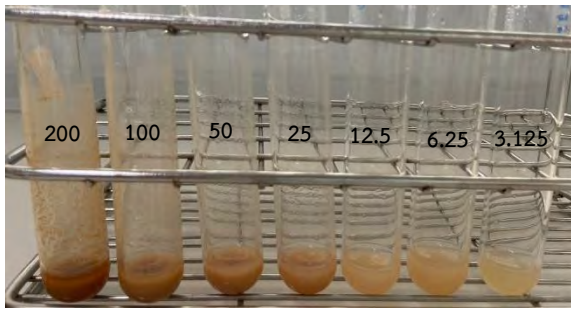


(ก)

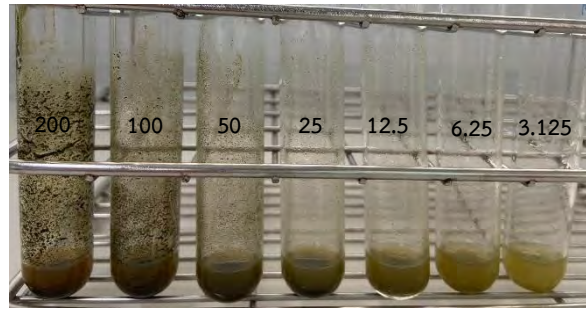
(ข)

รูปที่ 4.8 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง (ก) และใบ (ข) ของต้นมะหาดที่ความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 และ 3.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทดสอบกับเชื้อ *P. aeruginosa* TISTR2370 ด้วยวิธี Macro broth dilution technique

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

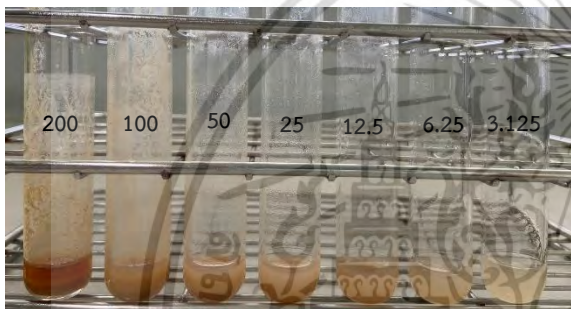


(ก)



(ข)

รูปที่ 4.9 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง (ก) และใบ (ข) ของต้นมะหาดที่ความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 และ 3.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทดสอบกับเชื้อ *S. marcescens* TISTR1354 ด้วยวิธี Macro broth dilution technique



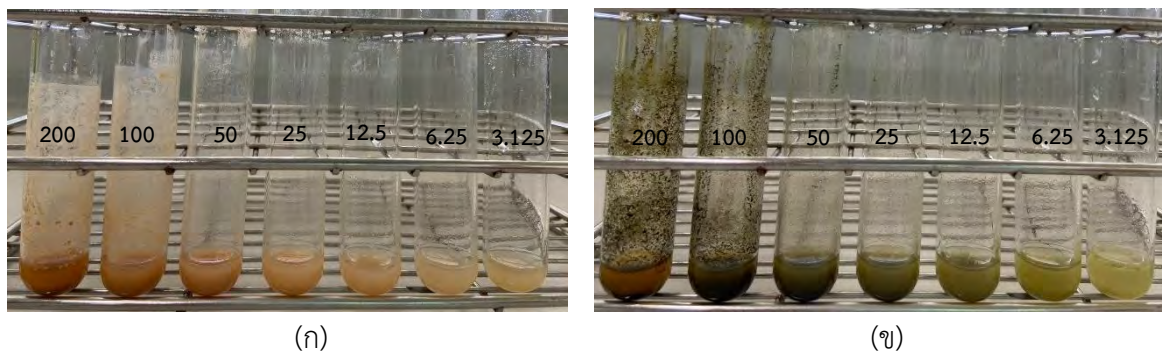
(ก)



(ข)

รูปที่ 4.10 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง (ก) และใบ (ข) ของต้นมะหาดที่ความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 และ 3.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทดสอบกับเชื้อ *B. subtilis* TISTR1248 ด้วยวิธี Macro broth dilution technique

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.11 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง (ก) และใบ (ข) ของต้นมะหาดที่ความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 และ 3.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทดสอบกับเชื้อ *M. luteus* TISTR2374 ด้วยวิธี Macro broth dilution technique



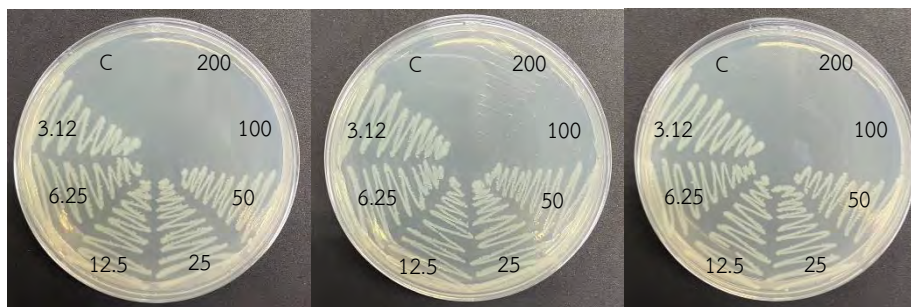
รูปที่ 4.12 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง (ก) และใบ (ข) ของต้นมะหาดที่ความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 และ 3.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* TISTR746 ด้วยวิธี Macro broth dilution technique

4.3.3 การศึกษาความเข้มข้นสารต่ำสุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้ (Minimum bactericidal concentration, MBC)

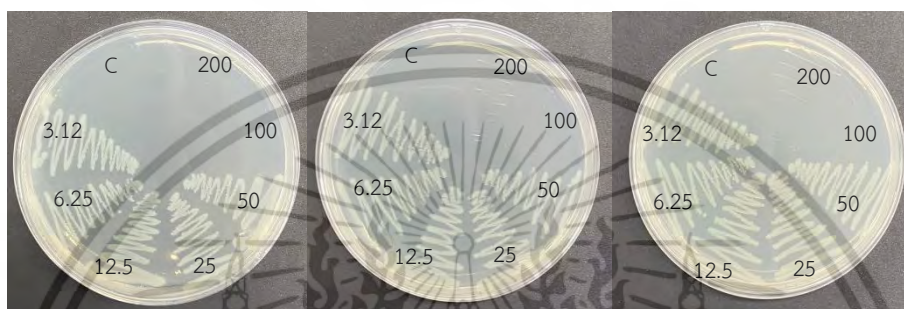
จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ในสารสกัดหยาบความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) นำหลอดอาหารหลังการบ่ม โดยใช้ลูปจุ่มลงในหลอดอาหารแต่ละการเจือจางนำมาสตรีกลงบนเพลทอาหาร NA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลโดยสังเกตบริเวณที่ไม่มีเชื้อเจริญเป็นความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าจุลินทรีย์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3.1 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาดส่วนกิ่ง และใบมะหวดที่สามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* TISTR074



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.13 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดกิ่ง (ก) และ ใบ (ข) ของมะหวดที่สามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* TISTR074

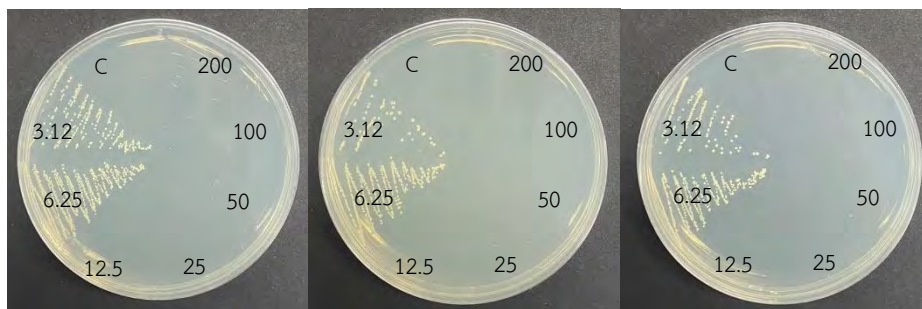
ตารางที่ 4.11 ตารางแสดงสารสกัดหยาดค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* TISTR074 ได้

สารสกัดหยาด	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>E. coli</i> TISTR074 (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
กิ่งมะหวด	100
ใบมะหวด	100

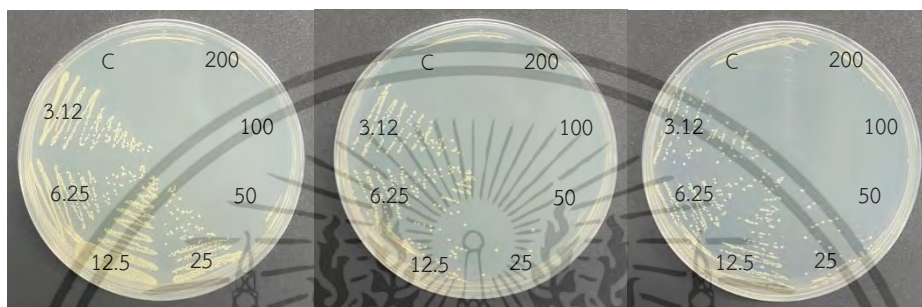
จากตารางที่ 4.11 แสดงค่าความเข้มข้นของสารสกัดต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* TISTR074 ได้ โดยพบว่า สารสกัดหยาดส่วนกิ่งและใบที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้คือ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3.2 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาดส่วนกิ่งและใบมะหวดที่สามารถฆ่าเชื้อ *P. aeruginosa* TISTR2370



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.14 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดกิ่ง (ก) และ ใบ (ข) ของมะหวดที่สามารถฆ่าเชื้อ *P. aeruginosa* TISTR2370

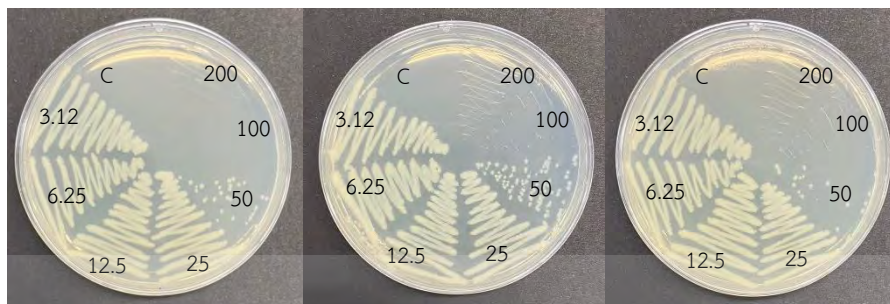
ตารางที่ 4.12 ตารางแสดงสารสกัดหยาดค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *P. aeruginosa* TISTR2370 ได้

สารสกัดหยาด	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>P. aeruginosa</i> TISTR2370 (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
กิ่งมะหวด	12.5
ใบมะหวด	50

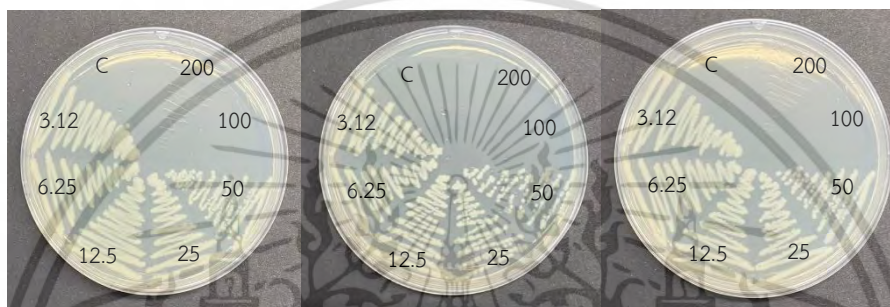
จากตารางที่ 4.12 แสดงค่าความเข้มข้นของสารสกัดต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *P. aeruginosa* TISTR2370 ได้ โดยพบว่าสารสกัดหยาดส่วนกิ่งที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้คือ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ ส่วนใบที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3.3 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาดส่วนกิ่งและใบมะหวดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. marcescens* TISTR1354 ได้



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.15 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดกิ่ง (ก) และ ใบ (ข) ของมะหวดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. marcescens* TISTR1354

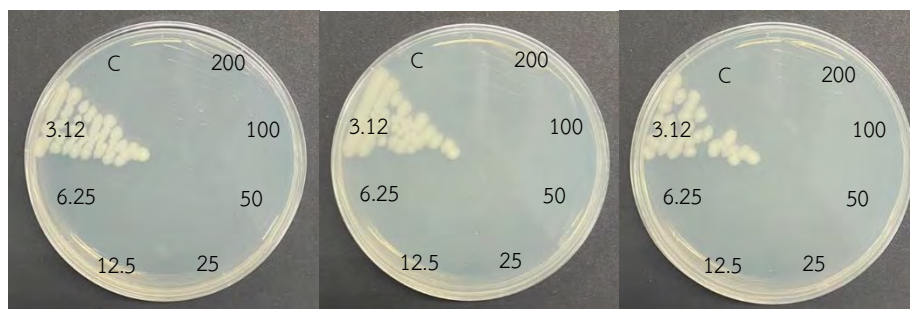
ตารางที่ 4.13 ตารางแสดงสารสกัดหยาดค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. marcescens* TISTR1354 ได้

สารสกัดหยาด	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>S. marcescens</i> TISTR1354 (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
กิ่งมะหวด	100
ใบมะหวด	100

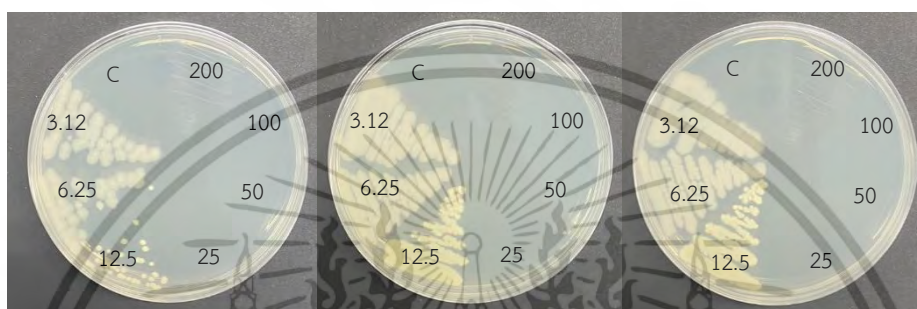
จากตารางที่ 4.13 แสดงค่าความเข้มข้นของสารสกัดต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. marcescens* TISTR1354 ได้ โดยพบว่าสารสกัดหยาดส่วนกิ่งและใบของมะหวดที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้คือ 100 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3.4 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนกิ่งและใบมะหาดที่สามารถฆ่าเชื้อ *B. subtilis* TISTR1248



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.16 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดกิ่ง (ก) และ ใบ (ข) ของมะหาดที่สามารถฆ่าเชื้อ *B. subtilis* TISTR1248

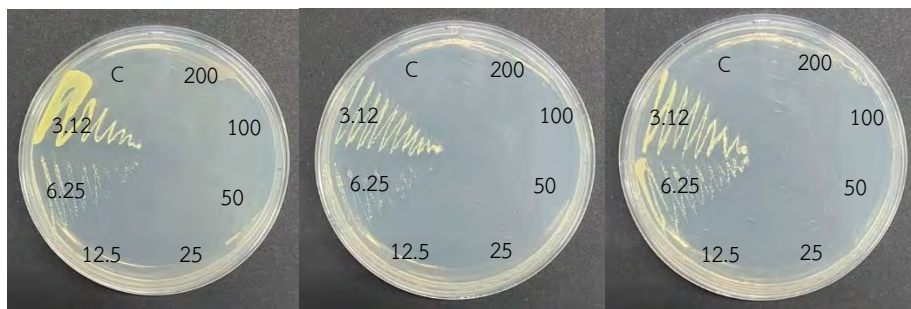
ตารางที่ 4.14 ตารางแสดงสารสกัดหยาบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *B. subtilis* TISTR1248 ได้

สารสกัดหยาบ	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>B. subtilis</i> TISTR1248 (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
กิ่งมะหาด	6.25
ใบมะหาด	50

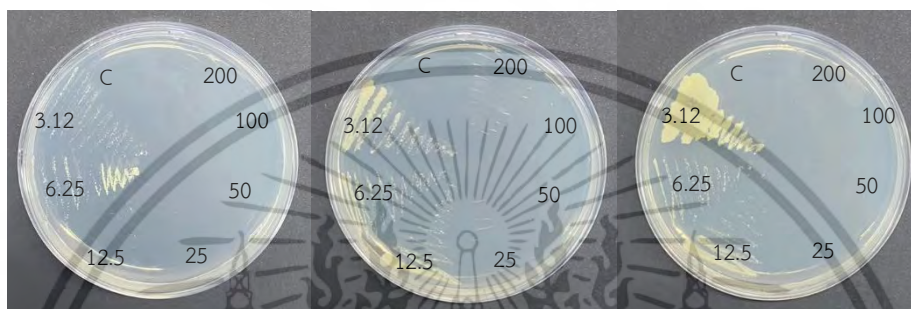
จากตารางที่ 4.14 แสดงค่าความเข้มข้นของสารสกัดต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *B. subtilis* TISTR1248 ได้ โดยพบว่าสารสกัดหยาบส่วนกิ่งและใบของมะหาดที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้คือ 6.25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3.5 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาดส่วนกิ่งและใบมะหาดที่สามารถฆ่าเชื้อ *M. luteus* TISTR2374



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.17 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดกิ่ง (ก) และ ใบ (ข) ของมะหาดที่สามารถฆ่าเชื้อ *M. luteus* TISTR2374

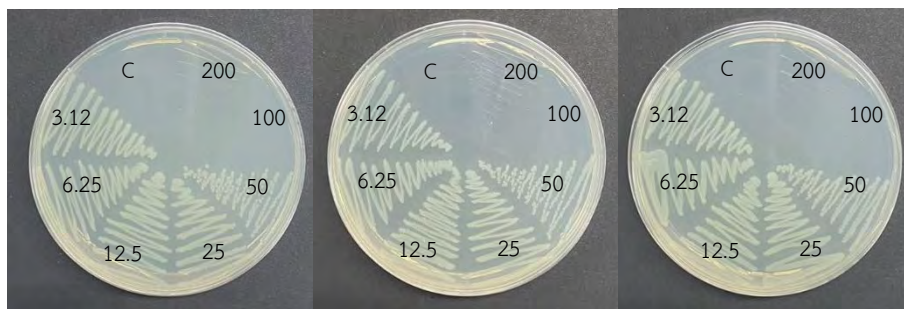
ตารางที่ 4.15 ตารางแสดงสารสกัดหยาดค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *M. luteus* TISTR2374 ได้

สารสกัดหยาด	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>M. luteus</i> TISTR2374 (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
กิ่งมะหาด	12.5
ใบมะหาด	25

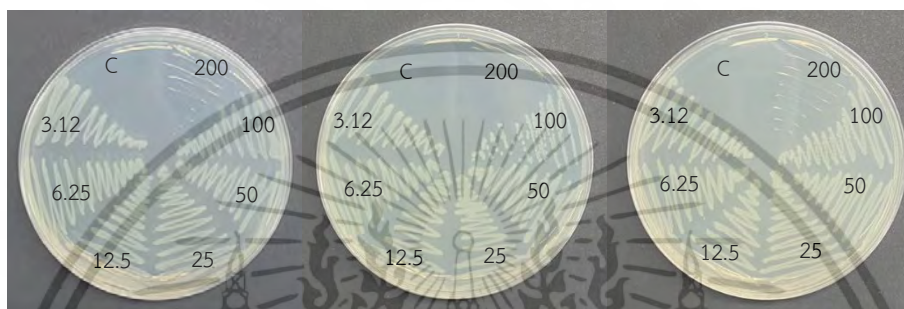
จากตารางที่ 4.15 แสดงค่าความเข้มข้นของสารสกัดต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *M. luteus* ได้ โดยพบว่าสารสกัดหยาดส่วนกิ่งและใบของมะหาดที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้คือ 12.5 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3.6 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาดส่วนกิ่งและใบมะหาดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* TISTR746



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.18 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดกิ่ง (ก) และ ใบ (ข) ของมะหาดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* TISTR746

ตารางที่ 4.16 ตารางแสดงสารสกัดหยาดค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* TISTR746 ได้

สารสกัดหยาด	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ <i>S. aureus</i> TISTR746 (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
กิ่งมะหาด	100
ใบมะหาด	200

จากตารางที่ 4.16 แสดงค่าความเข้มข้นของสารสกัดต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *M. luteus* TISTR746 ได้ โดยพบว่าสารสกัดหยาดส่วนกิ่งและใบของมะหาดที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้คือ 100 และ 200 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาดส่วนกิ่ง และใบของมะหาดในการยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ พบว่าสารสกัดหยาดส่วนกิ่งมีปริมาณสารฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์สูงที่สุด ซึ่งสารพฤษเคมี 2 สารนี้มีความสามารถในการต้านจุลินทรีย์ การอักเสบ Sreeramulu และ Raghunath (2010) ต้านออกซิเจนที่ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระที่ส่งผลสร้างความเสียหายต่อดีเอ็นเอและเยื่อหุ้มเซลล์ Lobo และคณะ (2010) สามารถยับยั้งและทำลายแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบจะมีการติดต่ออายุปฏิชีวนะมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก การที่แบคทีเรียแกรมลบติดต่อยากเกิดจากความแตกต่างขององค์ประกอบในผนังเซลล์ Paz และ Lacy (1995) โดยในผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ มีเยื่อหุ้มชั้นนอกทำหน้าที่ป้องกันสาร รวมทั้งยาไม่ไม่สามารถเข้าสู่ผนังเซลล์เพื่อเข้าไปทำลายเซลล์แบคทีเรีย Tortora และคณะ (2001)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาหาปริมาณสารพฤกษเคมี ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ สารประกอบแอนโทไซยานิน สารต้านอนุมูลอิสระ และการหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

จากการศึกษาหาปริมาณสารพฤกษเคมีพบว่าสารสกัดหยาบส่วนกิ่งมีปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน และความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระได้มากกว่าสารสกัดหยาบส่วนใบ เท่ากับ 5.80 ± 4.70 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด, 1,291 มิลลิกรัมของเคอควิซินต่อกรัมสารสกัด หยาบ และ 7.18 ± 1.97 มิลลิกรัมของ cyanidin-3- glucoside /l extract ของสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง และค่าร้อยละในการดักจับอนุมูลอิสระเท่ากับร้อยละ 71.54 ± 2.98 ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะเห็นได้ว่าปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบส่วนกิ่งและใบมีปริมาณไม่แตกต่างกันมาก ในสารสกัดหยาบส่วนกิ่งมีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงที่สุด ซึ่งสารฟีนอลิกมีโครงสร้างทางเคมีที่มีวงแหวนอะโรมาติก และฟลาโวนอยด์มีวงแหวน C6-C3-C6 ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ช่วยในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี และช่วยต้านการอักเสบ ดังนั้น สารสกัดหยาบที่มีปริมาณของสารฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์สูง มีผลต่อการดักจับอนุมูลอิสระสูงตามไปด้วย รัชศาสตร์ และคณะ (2564)

จากการศึกษาการทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นด้วยสารสกัดหยาบโดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดส่วนต่าง ๆ ความเข้มข้นที่ 6.25, 12.5, 25, 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรด้วยวิธี agar well จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบส่วนใบไม่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ แต่สารสกัดหยาบส่วนกิ่งความเข้มข้นที่ 200, 200 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa*, *B. subtilis* และ *M. luteus* วัดเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสที่สามารถยับยั้งได้ 8.18 ± 0.08 , 7.22 ± 0.08 และ 8.02 ± 0.53 มิลลิเมตรตามลำดับ ซึ่งสารสกัดหยาบส่วนกิ่งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *M. luteus* ได้ดีที่สุด

จากการศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (MIC) ด้วยวิธี broth โดยเตรียมอาหารเหลวผสมกับสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ และเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลที่เกิดขึ้นคือสีของสารสกัดหยาบมีความเข้มและเกิดความขุ่นสังเกตยาก ทำให้ไม่สามารถระบุได้ว่าเชื้อเจริญเติบโตหรือไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จึงนำไปศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) ได้ พบว่าสารสกัดหยาบส่วนกิ่งสามารถฆ่าและทำลายเชื้อได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 6.25, 12.5 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเชื้อ *B. subtilis*, *M. luteus* และ *P. aeruginosa* ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบส่วนใบความเข้มข้นที่ 25, 50 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเชื้อ และ *M. luteus*, *B. subtilis* และ *P. aeruginosa* ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง และใบมีความสามารถในการยับยั้งและทำลายแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากแบคทีเรียแกรมบวกไม่มีเยื่อหุ้มเซลล์ แต่มีเพปติโดไกลแคน ส่วนแบคทีเรียแกรมลบมีเพปติโดไกลแคนบางกว่าแกรมบวก แต่ล้อมรอบด้วยเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกที่มีลิโปโพลีแซคคาไรด์ที่ป้องกันสาร และยาจากภายนอก Silhavy และคณะ (2010)

5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรใช้ตัวทำลายอื่นในการแช่ของส่วนต่าง ๆ เช่น เมทานอล คลอโรฟอร์ม หรือเอทิลอะซิเตต เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารพิษเคมี และความสามารถในการยับยั้งและทำลายเชื้อแตกต่างกันเล็กน้อยเพียงใด และนำส่วนอื่น ๆ ของต้นมะหาดนำมาศึกษาเปรียบเทียบ เช่น ดอก ผล ราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- Basavaraju, M. and Gunashree, B. 2022. Escherichia coli: An Overview of Main Characteristics.
- Barua, S, Rana, M. and Sarwar, G. 2013. Pharmacological, Phytochemical and Physicochemical properties of methanol extracts of Erioglossum rubiginosum barks. Journal of Health Sciences. 2013;3(11):051-062.
- Bayili, R, Abdoul-Latif, F. and Dicko, M. 2011. Phenolic compounds and antioxidant activities in some fruits and vegetables from Burkina Faso. African Journal of Biotechnology. 10(62):13543-13547.
- Chandrasekara, A. and Kumar, T. 2016. Roots and Tuber Crops as Functional Foods: A Review on Phytochemical Constituents and Their Potential Health Benefits. International Journal of Food Science. 3631647.
- Chaves, B. and Tadi, P. 2023. Gentamicin. National Library of Medicine.
- Conelli, U. 2019. Antioxidant use in nutraceuticals. Clinics in Dermatology. 27: 175–194.
- Ekalu, A. and Habila, J. 2020. Flavonoids: isolation, characterization, and health benefits. Journal of Basic and Applied Sciences. 9:45.
- Errington, J. and Aart, L. 2020. Microbe Profile: Bacillus subtilis: model organism for cellular development, and industrial workhorse. National Library of Medicine. 166(5): 425–427.
- Hasan, M, Hossain, A. and Rahman, M. 2017. Phytochemical and pharmacological evaluation of ethanolic extract of Lepisanthes rubiginosa L. leaves. BMC Complementary and Alternative Medicine (2017) 17: 496.
- Huang, Z, Wang, B. and Pace, R. 2007. Phenolic compound profile of selected vegetables frequently consumed by African Americans in the southeast United States. Food Chemistry. 103(4):1395-1402.
- Khanna, A, Khanna, M. and Aggarwai, A. 2012. Serratia Marcescens- A Rare Opportunistic Nosocomial Pathogen and Measures to Limit its Spread in Hospitalized Patients. National Library of Medicine. 7(2): 243–246.
- Khoo, H, Azlan, A. and Lim, See. 2017. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. Food & nutrition. 1361779.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Kuhnert, P, Boerlin, P. and Frey, J. 2000. Target genes for virulence assessment of *Escherichia coli* isolates from water, food and the environment. *FEMS Microbiology Reviews*. 24(1):107–117.
- Lobo, V, Patil, A. and Chandra, N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*. 4(8): 118-126.
- Nimse, S. and Pal, D. 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *Royal society of chemistry*. 5: 27986-28006.
- Panche, A, Diwan, A. and Chandra, S. 2016. Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*. 28620474.
- Pham-Huy, L, He, H. and Huy, C. 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Journal biomedical science*. 4(2): 89-96.
- Sajib, A, Dewan, S. and Ahmed, M. 2015. In vitro antimicrobial activity study and in vivo antiemetic, antinociceptive activity evaluation of leaves extract of *Erioglossum rubiginosum* using experimental animal model. *Orient Pharm Exp Med*. 15:135–140.
- Saranraj, P, Behera, S. and Rai, C. 2019. Traditional Foods From Tropical Root and Tuber Crops: Innovations and Challenges. *INNOVATIONS IN TRADITIONAL FOODS*. 159-191.
- Shahidi, F. and Zhong, Y. 2010. Novel antioxidants in food quality preservation and health Promotion. *Journal Lipid Science Technol*. 112: 930–940.
- Silhavy, T, Kahne, D. and Walker, S. 2010. The Bacterial Cell Envelope. *National Library of Medicine*. 2(5):a000414
- Sreeramulu, M. and Raghunath, M. 2010. Antioxidant activity and phenolic content of roots, tubers and vegetables commonly consumed in India. *Food Research International*. 43(3):1017-1020.
- Ullah, A, Munis, S. and Jaremko, M. 2020. Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*. 25(22):33187049.
- Wang, H, Zhang, Z. and Cui, X. 2023. Phenolic compound identification in tomato fruit by UPLC-QTOF-MS. *LWT*. 182: 114791.
- Wilson, M. and Pandey, S. 2022. *Pseudomonas aeruginosa*. *National Library of Medicine*.
- Zhu, M, Zhu, Q. and Liang, Z. 2021. Clinical Characteristics of Patients with *Micrococcus luteus* Bloodstream Infection in a Chinese Tertiary-Care Hospital. *National Library of Medicine*. 70(3): 321–326.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิตยา บุญทิม, พรรณเพ็ญ เครือไทย, ชินกฤต สุวรรณศิริ และถกลวรรณ ศิริสวัสดิ์. การเพิ่มศักยภาพและ
 สรรพคุณของพืชผักสมุนไพรในตำรับยาล้านนา: การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและปัจจัย
 ภายนอกที่มีผลต่อการให้ผลผลิต. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
 2556.

รัฐศาสตร์ เด่นชัย, ผลิตา ไพบูลย์ และสุรพงศ์ รัตนะ. 2564. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ สารฟีนอลิก และ
 ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดมะหาด. วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาส์น. 2: 1-9.

สุวดี โพธิ์จิตร, ปิยานี รัตนชาของ และวีรศักดิ์ อัครวงศ์อารยะ. 2562. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์
 ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยพื้นบ้านสะค้านและมะแขว่นในเขต
 ท้องถิ่นภาคเหนือ. Research Journal Rajamangala University of Technology Thanyaburi.
 18: 25-39.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 Nutrient Agar (NA)

Peptone	5	กรัม
Beef extract	3	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

1.2 Nutrient broth (NB)

Peptone	5	กรัม
Beef extract	3	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

1.3 Muller Hinton Agar (MHA)

Beef infusion	300	กรัม
Casein hydrolysate	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar	17	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

2. การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก

2.1 การเตรียมสารมาตรฐานกรดแกลลิก

ความเข้มข้นเริ่มต้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งกรดแกลลิก 10 มิลลิกรัมละลายใน 95% เอทานอล 1 มิลลิลิตร ทำการเจือจางลดลงทีละ 10 เท่า จะได้สารมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นที่ 0.1, 0.01, 0.001 และ 0.0001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปสร้างค่ากราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

2.2 การเตรียมโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5

โดยชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 7.5 มิลลิกรัม ละลายใน 95% เอทานอล 100 มิลลิลิตร คนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์

3.1 เตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ร้อยละ 5

โดยชั่งโซเดียมไนไตรท์ 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 95 มิลลิลิตร คนผสมให้สารเป็นเนื้อเดียวกัน

3.3 เตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 โมลาร์

โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3.9997 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร คนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

4. การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์สารประกอบแอนโทไซยานิน

4.1 เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ pH 1.0

โดยชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.93 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และนำไปปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริก และโซเดียมไฮดรอกไซด์ จนสารละลายมีค่าพีเอชที่ 1.0 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร

4.2 เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตต pH 4.5

โดยชั่งโซเดียมอะซิเตต 16.41 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และนำไปปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ จนสารละลายมีค่าพีเอชที่ 4.5 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร

5. การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

5.1 เตรียมวิตามินอี (α -tocopherol) ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์

โดยชั่ง α -tocopherol 2.1536 กรัม ละลายในเอทานอลบริสุทธิ์ 100 มิลลิลิตร คนผสมให้สารเป็นเนื้อเดียวกัน

5.2 เตรียมสาร DPPH ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์

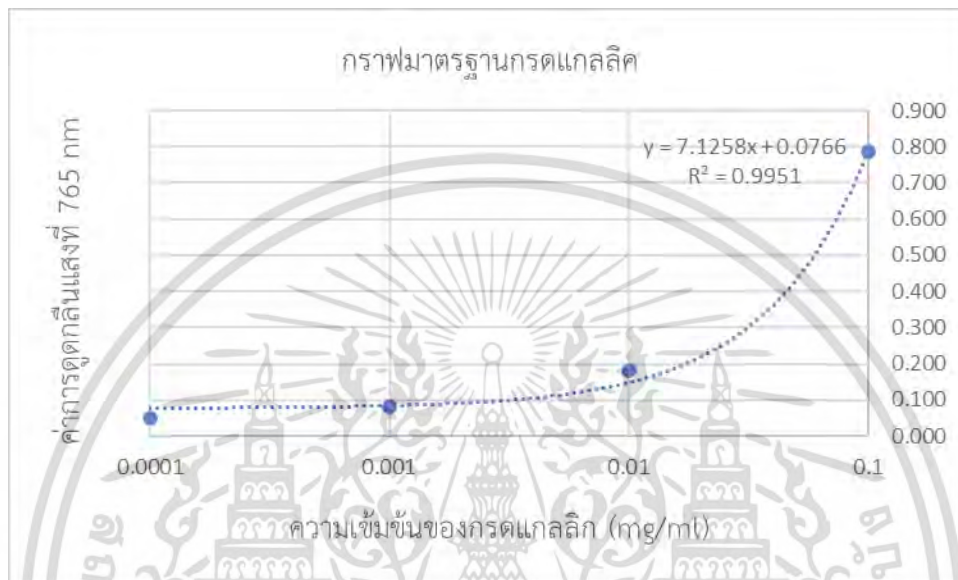
โดยการชั่ง DPPH 0.0039 กรัม ละลายในเอทานอลบริสุทธิ์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร คนผสมให้สารเป็นเนื้อเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ตารางการทดสอบ การคำนวณ และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาดบกิ่ง และใบของมะหาด



รูปภาคผนวก ข ที่ 1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

ตารางภาคผนวก ข ที่ 1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

ความเข้มข้นกรดแกลลิก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร					ค่าเฉลี่ย
0.1	0.850	0.728	0.708	0.777	0.866	0.786
0.01	0.198	0.183	0.173	0.194	0.151	0.180
0.001	0.099	0.080	0.081	0.072	0.072	0.081
0.0001	0.057	0.046	0.053	0.046	0.049	0.051

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบส่วนกิ่งและใบของต้นมะหาดที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร					ค่าเฉลี่ย
Blank	0.063	0.047	0.049	0.050	0.304	0.103
กิ่ง	0.118	0.109	0.088	0.174	0.099	0.118
ใบ	0.098	0.112	0.095	0.081	0.091	0.095

ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

สมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก คือ $y = 7.1258x + 0.0766$

โดย y คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบ

x คือ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัม)

ปริมาณฟีนอลิกจากสารสกัดหยาบกิ่ง

สารสกัดหยาบกิ่งมีค่าการดูดกลืนแสงคือ 0.118

$$\begin{aligned}
 \text{สารสกัดหยาบคือ} \quad 0.118 &= 7.1258x + 0.0766 \\
 \times &= \frac{0.118 - 0.0766}{7.1258} \\
 \times &= 0.0414 \\
 \times &= 0.0058
 \end{aligned}$$

สารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัม มีปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 0.0058 มิลลิกรัม

$$\begin{aligned}
 \text{ถ้าสารสกัดหยาบ 1000 มิลลิกรัม มีปริมาณฟีนอลิก} &= 1000 \times 0.0058 \\
 &= 5.8 \\
 &= 5.8 \quad \text{มิลลิกรัม}
 \end{aligned}$$

ดังนั้นสารสกัดหยาบกิ่งมีปริมาณฟีนอลิก 5.9 มิลลิกรัมกรัมต่อกรัม (mg GAE/g extract)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณฟีนอลิกจากสารสกัดหยาบใบ

สารสกัดหยาบกิ่งมีค่าการดูดกลืนแสงคือ	0.095			
สารสกัดหยาบคือ	0.095	=		$7.1258x + 0.0766$
	x	=		$0.095 - 0.0766$
				<hr style="width: 50%; margin: auto;"/>
				7.1258
	x	=		0.0184
				<hr style="width: 50%; margin: auto;"/>
				7.1258
	x	=		0.0026

สารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัม มีปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 0.0026 มิลลิกรัม

ถ้าสารสกัดหยาบ 1000 มิลลิกรัม มีปริมาณฟีนอลิก		=		1000×0.0026
				<hr style="width: 50%; margin: auto;"/>
				2.6
				<hr style="width: 50%; margin: auto;"/>
				2.6 มิลลิกรัม

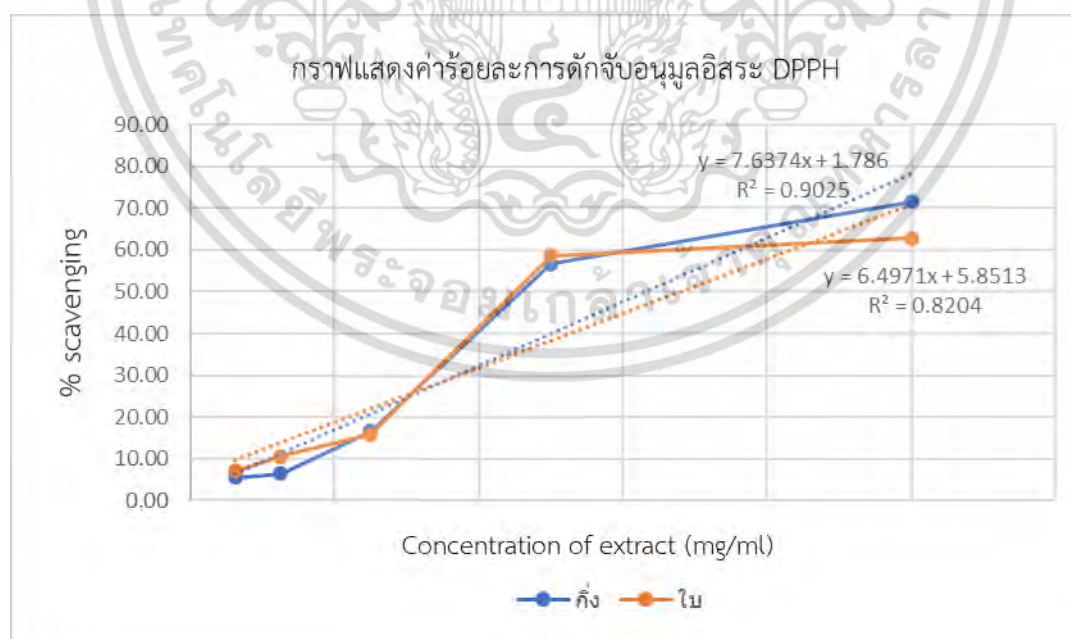
ดังนั้นสารสกัดหยาบกิ่งมีปริมาณฟีนอลิก 2.6 กรัมต่อกรัม (mg GAE/g extract)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบกิ่ง และใบของมะหาด

ตารางภาคผนวก ข ที่ 3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบส่วนกิ่งและใบของต้นมะหาดที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร					เฉลี่ย
กิ่ง	10	0.177	0.148	0.153	0.132	0.152	0.152
	5	0.266	0.227	0.232	0.200	0.215	0.228
	2.5	0.464	0.419	0.434	0.490	0.488	0.429
	1.25	0.529	0.488	0.490	0.469	0.488	0.493
	0.625	0.527	0.488	0.488	0.482	0.490	0.495
ใบ	10	0.190	0.193	0.220	0.185	0.194	0.196
	5	0.190	0.214	0.205	0.210	0.231	0.210
	2.5	0.436	0.439	0.422	0.430	0.428	0.431
	1.25	0.452	0.476	0.454	0.451	0.458	0.458
	0.625	0.492	0.480	0.472	0.443	0.468	0.471
วิตามินอี	-	0.098	0.077	0.074	0.058	0.062	0.074
blank	-	0.518	0.527	0.484	0.514	0.506	0.510



รูปภาคผนวก ข ที่ 2 กราฟแสดงค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบกิ่ง และใบของมะหาดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระครั้งหนึ่งจาก ปริมาณทั้งหมด (IC₅₀)

ปริมาณ IC₅₀ จากการสกัดหยาบกิ่ง

$$\begin{aligned}
 \text{จากสมการเส้นตรง} \quad y &= 7.6374x - 1.786 \\
 \text{อนุมูลอิสระ} \quad 50 &= 7.6374x - 1.786 \\
 x &= \frac{50 + 1.786}{7.6374} \\
 &= \frac{51.786}{7.6374} \\
 &= 6.7806
 \end{aligned}$$

ดังนั้นสารสกัดหยาบกิ่งมีปริมาณ IC₅₀ เท่ากับ 6.7806 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

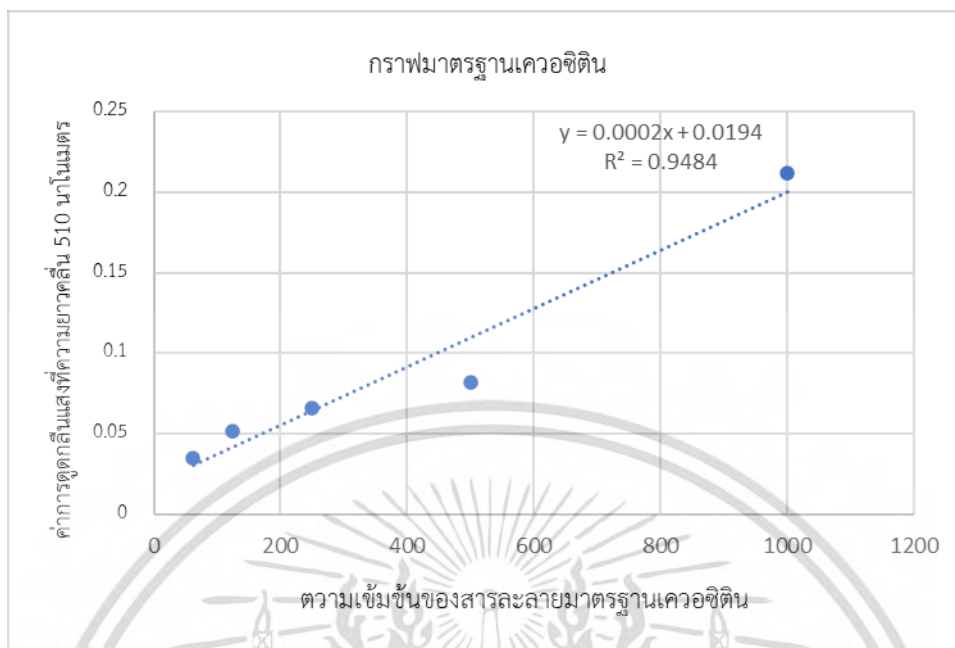
ปริมาณ IC₅₀ จากการสกัดหยาบใบ

$$\begin{aligned}
 \text{จากสมการเส้นตรง} \quad y &= 6.4971x + 5.8513 \\
 \text{อนุมูลอิสระ} \quad 50 &= 6.4971x + 5.8513 \\
 x &= \frac{50 - 5.8513}{6.4971} \\
 &= \frac{44.1487}{6.4971} \\
 &= 6.7951
 \end{aligned}$$

ดังนั้นสารสกัดหยาบใบมีปริมาณ IC₅₀ เท่ากับ 6.7951 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบพลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง แลใบของมะหาด



รูปภาคผนวก ข ที่ 3 กราฟมาตรฐานเคอซิทินที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

ตารางภาคผนวก ข ที่ 4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง และใบของต้นมะหาดที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

Crude	จำนวนซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร
กิ่ง	1	0.327
	2	0.268
	3	0.312
	4	0.246
	5	0.235
	ค่าเฉลี่ย	0.2776
ใบ	1	0.255
	2	0.193
	3	0.232
	4	0.202
	5	0.211
	ค่าเฉลี่ย	0.2186

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์

ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาบกิ่ง

สารสกัดหยาบกิ่งมีค่าการดูดกลืนแสง คือ 0.2776

$$0.2186 = 0.0002x + 0.0194$$

$$x = \frac{0.2776 - 0.0194}{0.0002}$$

$$0.0002$$

$$x = 1291 \text{ } \mu\text{g}$$

สารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัม มีปริมาณฟลาโวนอยด์เท่ากับ 1291 μg

ถ้าสารสกัดหยาบ 1000 มิลลิกรัม มีปริมาณฟลาโวนอยด์ = $\frac{1000 \times 1291}{1}$

1

$$= 1,291,000$$

ดังนั้นมีปริมาณฟลาโวนอยด์ 1,291,000 มิลลิกรัมในสารสกัดหยาบกิ่ง 1 กรัม

ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาบใบ

สารสกัดหยาบใบมีค่าการดูดกลืนแสง คือ 0.2186

$$0.2186 = 0.0002x + 0.0194$$

$$x = \frac{0.2186 - 0.0194}{0.0002}$$

$$0.0002$$

$$x = 996 \text{ } \mu\text{g}$$

สารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัม มีปริมาณฟลาโวนอยด์เท่ากับ 996 μg

ถ้าสารสกัดหยาบ 1000 มิลลิกรัม มีปริมาณฟลาโวนอยด์ = $\frac{1000 \times 996}{1}$

1

$$= 996,000$$

ดังนั้นมีปริมาณฟลาโวนอยด์ 996,000 มิลลิกรัมในสารสกัดหยาบใบ 1 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การคำนวณหาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบ

ตารางภาคผนวก ข ที่ 5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง และใบของต้นมะหาดที่ความยาวคลื่น 510 และ 700 นาโนเมตร

Crude	จำนวนซ้ำ	pH = 1.0		pH = 4.5	
		ค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร
กิ่ง	1	0.582	0.502	0.516	0.486
	2	0.615	0.582	0.459	0.478
	3	0.544	0.513	0.520	0.516
ใบ	1	1.125	1.009	0.954	0.863
	2	1.107	0.996	0.888	0.807
	3	1.063	1.011	0.788	0.786

ตัวอย่าง การคำนวณหาสารประกอบแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบกิ่ง และใบของมะหาด

จากสูตรการคำนวณ ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน = $\frac{A \times Mw \times DF \times 1000}{\Sigma \times l}$

โดย A = (Absorbance₅₁₀ - Absorbance₇₀₀)_{pH 1.0} - (Absorbance₅₁₀ - Absorbance₇₀₀)_{pH 4.5}

Mw = มวลโมเลกุล (cyanidin-3-glucoside 449.2 กรัม/โมล)

Σ = Molar absorptivity (26900 Lcm-1mol-1)

DF = Dilution factor

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบกิ่ง

สารสกัดหยาบ pH = 1.0 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 และ 700 นาโนเมตร คือ 0.580 และ 0.532

สารสกัดหยาบ pH = 4.5 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 และ 700 นาโนเมตร คือ 0.498 และ 0.493

$$A = (0.580 - 0.532) - (0.498 - 0.493)$$

$$A = (0.048 - 0.005)$$

$$A = 0.043$$

$$\text{ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน} = \frac{0.043 \times 449.2 \times 10 \times 1000}{26900 \times 1}$$

$$= \frac{193156.00}{26900}$$

$$= 7.1805$$

$$= 7.1805 \text{ มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตร}$$

สารสกัดหยาบกิ่งที่ 1000 มิลลิลิตร มีปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน 7.1805 มิลลิกรัมของ

cyanidin-3-glucoside ต่อลิตร ถ้าสารสกัดหยาบใบที่ 1 มิลลิลิตร

$$\text{ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน} = \frac{1 \times 7.1805}{1000}$$

$$= \frac{7.1805}{1000}$$

$$= 0.0072$$

$$= 0.0072$$

สารสกัดหยาบใบที่ 0.4 มิลลิกรัม มีปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน 0.0003 ถ้าสารสกัดหยาบใบที่ 1000 มิลลิกรัม

$$\text{จะมีปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน} = \frac{1000 \times 0.0072}{0.4}$$

$$= \frac{7.2}{0.4}$$

$$= 180$$

$$= 180$$

$$= 180 \text{ มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อกรัมของสารสกัด}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบใบ

สารสกัดหยาบ pH = 1.0 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 และ 700 นาโนเมตร คือ 1.095 และ 1.005

สารสกัดหยาบ pH = 4.5 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 และ 700 นาโนเมตร คือ 0.877 และ 0.818

$$A = (1.098 - 1.008) - (0.877 - 0.818)$$

$$A = (0.093 - 0.059)$$

$$A = 0.034$$

$$\text{ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน} = \frac{0.034 \times 449.2 \times 10 \times 1000}{26900 \times 1}$$

$$= \frac{152728.00}{26900}$$

$$= 5.6776$$

$$= 5.6776 \text{ มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตร}$$

สารสกัดหยาบใบที่ 1000 มิลลิลิตร มีปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน 5.6776 มิลลิกรัมของ

cyanidin-3-glucoside ต่อลิตร ถ้าสารสกัดหยาบใบที่ 1 มิลลิลิตร

$$\text{ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน} = \frac{1 \times 5.6776}{1000}$$

$$= \frac{5.6776}{1000}$$

$$= 0.0057$$

$$= 0.0057$$

$$= 0.0057$$

สารสกัดหยาบใบที่ 0.4 มิลลิกรัม มีปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน 0.0003 ถ้าสารสกัดหยาบใบที่ 1000 มิลลิกรัม

$$\text{จะมีปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน} = \frac{1000 \times 0.0057}{0.04}$$

$$= \frac{5.7}{0.04}$$

$$= 142.5$$

$$= 142.5$$

$$= 142.5 \text{ มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อกรัมของสารสกัด}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดหยาบส่วนกิ่ง และใบของมะหาด
การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

Phenolic

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24.255	1	24.255	1.976	.197
Within Groups	98.198	8	12.275		
Total	122.453	9			

Descriptives

Phenolic

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
กิ่ง	5	5.795840	4.6950292	2.0996809	-.033809	11.625489	1.6419	13.7107
ใบ	5	2.681020	1.5830806	.7079752	.715366	4.646674	.6596	5.0100
Total	10	4.238430	3.6886166	1.1664430	1.599753	6.877107	.6596	13.7107

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

Dunnett Multiple Comparisons with a Control

Grouping Information Using the Dunnett Method and 95% Confidence

crude	N	Mean	Grouping
กิ่งมะหาด	5	5.80	A
ใบมะหาด	5	2.680	A

Means not labeled with the letter A are significantly different from the control level mean.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์หาค่าทางสถิติของสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาดส่วนกิ่ง และใบของมะหาด การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

Flavonoids

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	248062.500	1	248062.500	7.406	.026
Within Groups	267960.000	8	33495.000		
Total	516022.500	9			

Descriptives

Flavonoids

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
กิ่ง	5	1311.000000	226.7322209	101.3977317	1029.474764	1592.525236	1078.0000	1563.0000
ใบ	5	996.000000	124.8298842	55.8256214	841.003227	1150.996773	868.0000	1178.0000
Total	10	1153.500000	239.4490203	75.7204288	982.208490	1324.791510	868.0000	1563.0000

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

crude	N	Mean	Grouping
กิ่ง	5	1291.0	A
ใบ	5	996.0	B

Means that do not share a letter are significantly different

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์หาค่าทางสถิติของสารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาดส่วนกิ่ง และใบของมะหาด

การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

Anthocyanin

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.388	1	3.388	.745	.437
Within Groups	18.181	4	4.545		
Total	21.569	5			

Descriptives

Anthocyanin

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
กิ่ง	3	5.677633	1.9258252	1.1118757	.893618	10.461648	4.1747	7.8485
ใบ	3	7.180500	2.3198654	1.3393749	1.417635	12.943365	4.5087	8.6834
Total	6	6.429067	2.0769723	.8479204	4.249418	8.608715	4.1747	8.6834

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

Tukey Pairwise Comparisons

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

crude	N	Mean	Grouping
กิ่ง	3	7.18	A
ใบ	3	5.68	A

Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การวิเคราะห์หาค่าทางสถิติของสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาดส่วนกิ่ง และใบของมะหาด

4.1 กิ่งมะหาด

การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

DPPH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11260.519	4	2815.130	197.795	.000
Within Groups	142.326	10	14.233		
Total	11402.845	14			

Descriptives

DPPH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
กิ่ง 0.625	3	5.596067	2.1881785	1.2633455	.160330	11.031803	3.1621	7.4004
กิ่ง 1.25	3	6.570867	2.6962670	1.5566905	-.127032	13.268765	3.5573	8.7549
กิ่ง 2.5	3	16.565200	5.4598752	3.1522604	3.002118	30.128282	10.3306	20.4934
กิ่ง 5	3	56.693867	4.5161766	2.6074158	45.475062	67.912671	52.0661	61.0895
กิ่ง 10	3	71.541333	2.9830962	1.7222914	64.130911	78.951755	68.3884	74.3191
Total	15	31.393467	28.5392519	7.3688032	15.588956	47.197978	3.1621	74.3191

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

DPPH

Duncan^a

สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05			
		d	c	b	a
กิ่ง 0.625	3	5.596067			
กิ่ง 1.25	3	6.570867			
กิ่ง 2.5	3		16.565200		
กิ่ง 5	3			56.693867	
กิ่ง 10	3				71.541333
Sig.		.758	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ใบมะหาด

การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

DPPH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8972.157	4	2243.039	1211.644	.000
Within Groups	18.512	10	1.851		
Total	8990.670	14			

Descriptives

DPPH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ 0.625	3	7.149200	1.9744173	1.1399303	2.244476	12.053924	5.0193	8.9184
ใบ 1.25	3	10.634967	1.8266416	1.0546120	6.097337	15.172596	9.4862	12.7413
ใบ 2.5	3	15.862500	.4645482	.2682070	14.708498	17.016502	15.4150	16.3424
ใบ 5	3	58.706133	.9239968	.5334698	56.410798	61.001469	57.6446	59.3298
ใบ 10	3	62.786067	.9755336	.5632246	60.362707	65.209426	61.6601	63.3776
Total	15	31.027773	25.3414818	6.5431425	16.994128	45.061418	5.0193	63.3776

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

DPPH

Duncan^a

สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05				
		e	d	c	b	a
ใบ 0.625	3	7.149200				
ใบ 1.25	3		10.634967			
ใบ 2.5	3			15.862500		
ใบ 5	3				58.706133	
ใบ 10	3					62.786067
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การวิเคราะห์หาค่าทางสถิติของสารสกัดหยาดส่วนกิ่ง และใบมะหาดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well

5.1 เชื้อ *E. coli*

5.1.1 กิ่งมะหาด

การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

Escherichia coli

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	514.806	5	102.961	13005.632	.000
Within Groups	.095	12	.008		
Total	514.901	17			

Descriptives

Escherichia coli

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
กิ่ง 25	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 50	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 200	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Positive control (กิ่ง)	3	20.350000	.2179449	.1258306	19.808595	20.891405	20.1000	20.5000
95% EtoH (กิ่ง)	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	18	8.391667	5.5034815	1.2971830	5.654850	11.128484	6.0000	20.5000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		b	a
กึ่ง 25	3	6.000000	
กึ่ง 50	3	6.000000	
กึ่ง 100	3	6.000000	
กึ่ง 200	3	6.000000	
95% EtoH (กึ่ง)	3	6.000000	
Positive control (กึ่ง)	3		20.350000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.1.2 ไบเมหาค

การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

Escherichia coli

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	514.806	5	102.961	13005.632	.000
Within Groups	.095	12	.008		
Total	514.901	17			

Descriptives

Escherichia coli

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ไบ 25	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ไบ 50	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ไบ 100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ไบ 200	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Positive control (ไบ)	3	20.283333	.1755942	.1013794	19.847133	20.719534	20.1000	20.4500
95% EtoH (ไบ)	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	18	8.380556	5.4777394	1.2911156	5.656540	11.104571	6.0000	20.4500

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		b	a
ใบ 25	3	6.000000	
ใบ 50	3	6.000000	
ใบ 100	3	6.000000	
ใบ 200	3	6.000000	
95% EtoH (ใบ)	3	6.000000	
Positive control (ใบ)	3		20.283333
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 *P. aeruginosa*

5.2.1 กิ่งมะหาด

การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

Pseudomonas aeruginosa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1487.261	5	297.452	837.238	.000
Within Groups	4.263	12	.355		
Total	1491.524	17			

Descriptives

Pseudomonas aeruginosa

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
กิ่ง 25	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 50	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 200	3	8.183333	.0763763	.0440959	7.993604	8.373062	8.1000	8.2500
Positive control (กิ่ง)	3	30.733333	1.4580238	.8417904	27.111401	34.355265	29.0500	31.6000
95% EtoH (กิ่ง)	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	18	10.486111	9.3667875	2.2077730	5.828117	15.144105	6.0000	31.6000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05		
		c	b	a
กึ่ง 25	3	6.000000		
กึ่ง 50	3	6.000000		
กึ่ง 100	3	6.000000		
95% EtoH (กึ่ง)	3	6.000000		
กึ่ง 200	3		8.183333	
Positive control (กึ่ง)	3			30.733333
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3.2 ไบมะหวด

การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

Pseudomonas aeruginosa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1093.767	5	218.753	2544.467	.000
Within Groups	1.032	12	.086		
Total	1094.799	17			

Descriptives

Pseudomonas aeruginosa

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ไบ 25	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ไบ 50	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ไบ 100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ไบ 200	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Positive control (ไบ)	3	26.916667	.7182154	.4146618	25.132521	28.700813	26.1000	27.4500
95% EtoH (ไบ)	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	18	9.486111	8.0249575	1.8915006	5.495394	13.476829	6.0000	27.4500

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		b	a
ใบ 25	3	6.000000	
ใบ 50	3	6.000000	
ใบ 100	3	6.000000	
ใบ 200	3	6.000000	
95% EtoH (ใบ)	3	6.000000	
Positive control (ใบ)	3		26.916667
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3 *S. Marcescens*

5.3.1 กิ่งมะหวด

การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

Serratia marcescens

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	714.025	5	142.805	619.769	.000
Within Groups	2.765	12	.230		
Total	716.790	17			

Descriptives

Serratia marcescens

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
กิ่ง 25	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 50	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 200	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Positive control (กิ่ง)	3	22.900000	1.1757976	.6788471	19.979157	25.820843	22.1000	24.2500
95% EtoH (กิ่ง)	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	18	8.816667	6.4933903	1.5305068	5.587580	12.045754	6.0000	24.2500

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		b	a
กึ่ง 25	3	6.000000	
กึ่ง 50	3	6.000000	
กึ่ง 100	3	6.000000	
กึ่ง 200	3	6.000000	
95% EtoH (กึ่ง)	3	6.000000	
Positive control (กึ่ง)	3		22.900000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3.2 ไบมะหวด

การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

Serratia marcescens

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1093.767	5	218.753	2544.467	.000
Within Groups	1.032	12	.086		
Total	1094.799	17			

Descriptives

Serratia marcescens

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ 25	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ใบ 50	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ใบ 100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ใบ 200	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Positive control (ใบ)	3	26.916667	.7182154	.4146618	25.132521	28.700813	26.1000	27.4500
95% EtoH (ใบ)	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	18	9.486111	8.0249575	1.8915006	5.495394	13.476829	6.0000	27.4500

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		b	a
ใบ 25	3	6.000000	
ใบ 50	3	6.000000	
ใบ 100	3	6.000000	
ใบ 200	3	6.000000	
95% EtoH (ใบ)	3	6.000000	
Positive control (ใบ)	3		26.916667
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.4 *B. Subtilis*

5.4.1 กิ่งมะหาด

การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

Bacillus subtilis

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	718.141	5	143.628	772.310	.000
Within Groups	2.232	12	.186		
Total	720.373	17			

Descriptives

Bacillus subtilis

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
กิ่ง 25	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 50	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 200	3	7.216667	.0763763	.0440959	7.026938	7.406396	7.1500	7.3000
Positive control (กิ่ง)	3	23.150000	1.0535654	.6082763	20.532799	25.767201	22.0500	24.1500
95% EtoH (กิ่ง)	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	18	9.061111	6.5095982	1.5343270	5.823964	12.298258	6.0000	24.1500

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05		
		c	b	a
กึ่ง 25	3	6.000000		
กึ่ง 50	3	6.000000		
กึ่ง 100	3	6.000000		
95% EtoH (กึ่ง)	3	6.000000		
กึ่ง 200	3		7.216667	
Positive control (กึ่ง)	3			23.150000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.4.2 ไบมะหวด

การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

Bacillus subtilis

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1134.225	5	226.845	896.916	.000
Within Groups	3.035	12	.253		
Total	1137.260	17			

Descriptives

Bacillus subtilis

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ไบ 25	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ไบ 50	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ไบ 100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ไบ 200	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Positive control (ไบ)	3	27.300000	1.2318685	.7112196	24.239869	30.360131	26.0000	28.4500
95% EtoH (ไบ)	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	18	9.550000	8.1790982	1.9278319	5.482630	13.617370	6.0000	28.4500

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ใบ 25	3	6.000000	
ใบ 50	3	6.000000	
ใบ 100	3	6.000000	
ใบ 200	3	6.000000	
95% EtoH (ใบ)	3	6.000000	
Positive control (ใบ)	3		27.300000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.5 *M. luteus*

5.5.1 กิ่งมะหาด

การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

Micrococcus luteus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2655.263	5	531.053	5340.194	.000
Within Groups	1.193	12	.099		
Total	2656.456	17			

Descriptives

Micrococcus luteus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
กิ่ง 6.25	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 12.50	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 25	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 50	3	8.016667	.5346338	.3086710	6.688563	9.344771	7.4000	8.3500
Positive control (กิ่ง)	3	38.933333	.5575243	.3218868	37.548366	40.318300	38.3000	39.3500
95% EtoH (กิ่ง)	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	18	11.825000	12.5004853	2.9463926	5.608655	18.041345	6.0000	39.3500

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05		
		c	b	a
กึ่ง 6.25	3	6.000000		
กึ่ง 12.50	3	6.000000		
กึ่ง 25	3	6.000000		
95% EtoH (กึ่ง)	3	6.000000		
กึ่ง 50	3		8.016667	
Positive control (กึ่ง)	3			38.933333
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.5.2 ไบมะหวด

การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

Micrococcus luteus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2520.156	5	504.031	39021.774	.000
Within Groups	.155	12	.013		
Total	2520.311	17			

Descriptives

Micrococcus luteus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ไบ 25	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ไบ 50	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ไบ 100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ไบ 200	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Positive control (ไบ)	3	37.750000	.2783882	.1607275	37.058445	38.441555	37.5000	38.0500
95% EtoH (ไบ)	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	18	11.291667	12.1759436	2.8698974	5.236712	17.346621	6.0000	38.0500

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		b	a
ใบ 25	3	6.000000	
ใบ 50	3	6.000000	
ใบ 100	3	6.000000	
ใบ 200	3	6.000000	
95% EtoH (ใบ)	3	6.000000	
Positive control (ใบ)	3		37.750000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.6 *S. aureus*

5.6.1 กิ่งมะหาด

การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

Staphylococcus aureus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	571.284	5	114.257	895.157	.000
Within Groups	1.532	12	.128		
Total	572.816	17			

Descriptives

Staphylococcus aureus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
กิ่ง 25	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 50	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
กิ่ง 200	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Positive control (กิ่ง)	3	21.116667	.8751190	.5052502	18.942750	23.290583	20.2500	22.0000
95% EtoH (กิ่ง)	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	18	8.519444	5.8047430	1.3681910	5.632814	11.406075	6.0000	22.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		b	a
กึ่ง 25	3	6.000000	
กึ่ง 50	3	6.000000	
กึ่ง 100	3	6.000000	
กึ่ง 200	3	6.000000	
95% EtoH (กึ่ง)	3	6.000000	
Positive control (กึ่ง)	3		21.116667
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.6.2 ไบมะหวด

การคำนวณสถิติด้วยวิธี One-Way ANOVA

ANOVA

Staphylococcus aureus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	525.625	5	105.125	426.182	.000
Within Groups	2.960	12	.247		
Total	528.585	17			

Descriptives

Staphylococcus aureus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ไบ 25	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ไบ 50	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ไบ 100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
ไบ 200	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Positive control (ไบ)	3	20.500000	1.2165525	.7023769	17.477916	23.522084	19.1000	21.3000
95% EtoH (ไบ)	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	18	8.416667	5.5761309	1.3143066	5.643722	11.189611	6.0000	21.3000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		b	a
ใบ 25	3	6.000000	
ใบ 50	3	6.000000	
ใบ 100	3	6.000000	
ใบ 200	3	6.000000	
95% EtoH (ใบ)	3	6.000000	
Positive control (ใบ)	3		20.500000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

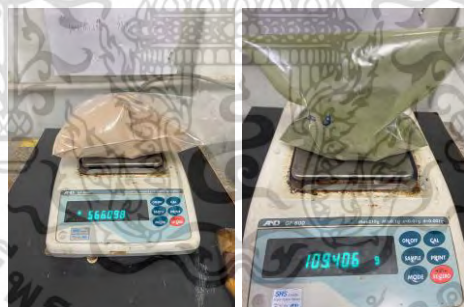
รูปภาพที่เกี่ยวข้อง



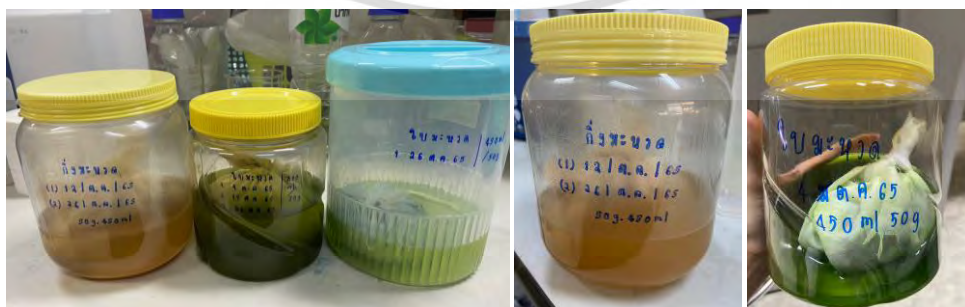
รูปภาคผนวก ง ที่ 1 เก็บส่วนของกิ่ง และใบของต้นมะหาดมาทำการล้างทำความสะอาด และผึ่งลมให้แห้ง



รูปภาคผนวก ง ที่ 2 นำส่วนของกิ่ง และใบของต้นมะหาดมาอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส



รูปภาคผนวก ง ที่ 3 เก็บส่วนของกิ่ง และใบของต้นมะหาดที่แห้งสนิท มาทำการบดให้เป็นผง



รูปภาคผนวก ง ที่ 4 นำผงกิ่ง และใบมะหาด แช่ใน 95% เอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำรับรองเล่มโครงการพิเศษ

วันที่ 26 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2566

ข้าพเจ้า นางสาวกานต์สิริ มั่นเขตกิจ รหัสประจำตัว 62050568

นางสาวนิศาลักษณ์ จันครา รหัสประจำตัว 62050615

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา
ขอรับรองว่าโครงการพิเศษ เรื่อง

การศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรียและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลจากใบและกิ่ง
ของต้น

มะหาด (*Lepisanthes rubiginosa* (Roxb.) Leenh)

The study of antibacterial and antioxidant activity of ethanol extract from leaves and
branches of kaffir lime tree (*Lepisanthes rubiginosa* (Roxb.) Leenh)

ปีการศึกษา 2565

เป็นผลงานวิจัยที่มีได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่นและได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อน
เรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่มโครงการ
พิเศษฉบับสมบูรณ์แล้วโปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 1.19%

ลงชื่อ **กานต์สิริ มั่นเขตกิจ**

(นางสาวกานต์สิริ มั่นเขตกิจ)

นักศึกษา

ลงชื่อ **นิศาลักษณ์ จันครา**

(นางสาวนิศาลักษณ์ จันครา)

นักศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้าพเจ้า ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ได้ตรวจสอบโครงการพิเศษของนักศึกษาข้างต้น แล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็นหลักฐาน

ลงชื่อ.....**สุทธิจิต ศรีวัชรกุล**

(ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล)

อาจารย์ที่ปรึกษา



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้