ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบางชนิดและสารพฤกษเคมีจากสารสกัดราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

Effects to inhibit some bacteria strain and phytochemical of root, stem and leaves extracts of *Ruellia tuberosa* Linn.

ณัฐธยาน์ บุญรัตนานันต์

ณัฐธร คุณวรรณา

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2566

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Effects to inhibit some bacteria strain and phytochemical of root, stem and leaves extracts of *Ruellia tuberosa* Linn.

Nutthaya Bunrattananan

Nuttorn Khunvanna

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTICAL FULFILLMENT

OF THE REQUIRMENT FOR

THE DEGREE OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2023

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบางชนิดและสารพฤกษเคมีจากสารสกัดราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

Effects to inhibit some bacteria strain and phytochemical of root, stem and leaves extracts of *Ruellia tuberosa Linn.*

ชื่อนักศึกษา นางสาว ณัฐธยาน์ บุญรัตนานันต์ รหัสนักศึกษา 63050472

นาย ณัฐธร คุณวรรณา รหัสนักศึกษา 63050473

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2566

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2566

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.วรภัทร สงวนไชยไผ่วงศ์ ประธานกรรมการ	วรภัทร สงวนไชยไผ่วงศ์
รศ.ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ กรรมการ	
ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบางชนิดและสารพฤกษเคมีจากสารสกัดราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง Effects to inhibit some bacteria strain and phytochemical of root, stem and leaves extracts of *Ruellia tuberosa* Linn.
ชื่อนักศึกษา	นางสาว ณัฐธยาน์ บุญรัตนานันต์ รหัสนักศึกษา 63050472 นาย ณัฐธร คุณวรรณา รหัสนักศึกษา 63050473
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2566
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

บทคัดย่อ

Ruellia tuberosa Linn. หรือ ต้นต้อยติ่งหรืออังกาบ เป็นพืชที่เชื่อกันว่าเป็นสมุนไพรที่มีสรรพคุณในการรักษาโรคบางชนิด โดยเฉพาะส่วนรากของพืชที่ถูกมาใช้ในการทำเป็นยา มีสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพในใบ และพบสารต้านอนุมูลอิสระในพืชส่วนเหนือดิน และมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบางชนิด แต่ยังขาดการศึกษาการเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ชนิดของสารพฤกษเคมีที่พบ และฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียในแต่ละส่วนของพืช จึงจำเป็นต่อการเปรียบเทียบ โดยการนำตัวอย่างแต่ละส่วนคือ ราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่งมาอบแห้งแล้วทำการบดเป็นผงแล้วนำไปสกัดด้วยเครื่อง rotary evaporator เพื่อให้ได้สารสกัดหยาบมาทดสอบ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบหาชนิดของสารทางพฤกษเคมี คือ total phenolic ด้วยวิธี Folin-Ciocateu method และสาร tannin, flavonoids, และ anthocyanin แล้วนำไปทดสอบหาสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging activity เมื่อทดสอบสารทางพฤกษเคมีแล้วต่อไปจะเป็นการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบด้วยวิธี agar well และวิธี minimum inhibitory concentration (MIC) เพื่อหาความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อ ตามด้วยวิธี minimum bactericidal concentration (MBC) เพื่อหาความเข้มข้นต่ำที่สุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

คำสำคัญ: ต้อยติ่ง สารต้านอนุมูลอิสระ สารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Effects to inhibit some bacteria strain and phytochemical of root, stem and leaves extracts of *Ruellia tuberosa* Linn.
Students	Miss Nutthaya Bunrattananan Student ID 63050472 Mr. Nuttorn Khunvanna Student ID 63050473
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
School	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2023
Advisor	Assoc. Prof. Suttijit Sriwatcharakul

Abstract

Ruellia tuberosa Linn. or Ton Ting Angkab. It is a plant that is believed to be a medicinal herb that has medicinal properties for treating certain diseases. Especially the roots of the plant are used to make medicine. There are powerful antioxidants in the leaves. and found antioxidants in the above-ground parts of plants and has the ability to inhibit certain types of bacteria but there is still a lack of studies comparing the amount of antioxidants. Types of phytochemicals found and antibacterial activity in each part of the plant Therefore it is necessary to compare by taking each part of the sample, namely the roots, stems and leaves of the Toi Ting Angkab tree, drying it, grinding it into powder and then extracting it with a rotary evaporator to get the crude extract for testing. Then the extracts were tested for the type of phytochemicals, namely total phenolic by the Folin-Ciocateu method and tannins, flavonoids, and anthocyanin, and then tested for antioxidants by the DPPH scavenging activity method. When testing the substances Phytochemically, next will be testing the ability to inhibit Gram-positive and Gram-negative bacteria using the agar well method and the minimum inhibitory concentration (MIC) method to

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

find the lowest concentration to inhibit the infection, followed by the minimum bactericidal concentration method. (MBC) to find the lowest concentration to kill bacteria.

Keywords: *Ruellia tuberosa Linn.*, antioxidant, phytochemicals, antibacterial

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์ด้วยความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ให้ข้อเสนอแนะ และติดตามความก้าวหน้าในการดำเนินการวิจัย ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วรภัทร สงวนไชยไผ่วงศ์ และรศ.ดร.เชิดศักดิ์ มณีรัตนรุ่งโรจน์ กรรมการสอบโครงงานพิเศษนี้ที่ได้กรุณาให้ข้อเสนอแนะ แก้ไข และให้แนวคิดต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือพิจารณาโครงงานพิเศษ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่คอยอำนวยความสะดวกประสานงานให้ความช่วยเหลือการเบิกจ่ายอุปกรณ์ และสารเคมีแก่ผู้วิจัย

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และทุก ๆคนที่มีส่วนร่วมในการให้คำปรึกษา และช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษฉบับนี้ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาของอาจารย์เป็นอย่างยิ่ง และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ณัฐธยาน์ บุญรัตนานันต์

ณัฐธร คุณวรรณา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....ข

กิตติกรรมประกาศ.....ง

สารบัญ.....จ

สารบัญตาราง.....ฎ

สารบัญรูป.....ฐ

คำย่อ/สัญลักษณ์.....ณ

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมา และความสำคัญ.....1

1.2 วัตถุประสงค์.....2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....3

บทที่ 2 ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลพฤกษศาสตร์ของพืชตัวอย่างที่นำมาศึกษา.....4

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นต้อยติ่ง.....4

2.2 การสกัดสารจากพืช.....5

2.2.1 การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายสกัด.....5

2.2.2 การสกัดด้วยวิธีเพอร์โคเลชัน.....5

2.2.3 การสกัดสมุนไพรต่อเนื่อง.....6

2.2.4 การสกัดสมุนไพรด้วยของไหลวิกฤติยิ่งยวด.....6

2.2.5 การสกัดด้วยการกลั่น.....6

2.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้น.....6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 Free evaporation....7
2.3.2 Distillation in vacuum....7
2.3.3 การแช่แข็ง....7
2.3.4 Ultrafiltration....7
2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ....7
2.4.1 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ....8
2.4.2 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์....9
2.5 สารประกอบฟีนอลิก....11
2.5.1 Simple phenols....11
2.5.2 Phenylpropanoids....11
2.6 สารพฤกษเคมีเบื้องต้น....12
2.6.1 flavonoids....12
2.6.2 triterpenoids....13
2.6.3 tannin....13
2.6.4 saponins....14
2.7 เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค....15
2.7.1 *Escherichia coli*....15
2.7.2 *Proteus mirabilis*....16
2.7.3 *Pseudomonas aeruginosa*....17
2.7.4 *Staphylococcus aureus*....17
2.7.5 *Bacillus subtilis*....18
2.7.6 *Micrococcus luteus*....19
2.8 ยาต้านจุลชีพ....20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.1 Ampicillin....20
2.8.2 Gentamicin....21
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง....22
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย....23
3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี....23
3.1.1 วัตถุดิบ....23
3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง....23
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ....24
3.1.4 เครื่องมือและอุปกรณ์....24
3.2 แผนการดำเนินการวิจัย....25
3.3 วิธีดำเนินการวิจัย....26
3.3.1 การเก็บตัวอย่างพืช....26
3.3.2 วิธีการสกัดสารตัวอย่าง....26
3.3.3 การทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น....26
3.3.3.1 การหาปริมาณฟีนอลิกรวม....26
3.3.3.2 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม....27
3.3.3.3 การหาปริมาณสารแทนนินรวม....27
3.3.3.4 การหาปริมาณสารแอนโทไซยานินรวม....28
3.3.3.5 การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging....28
3.3.6 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย....29
3.3.7 ทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ ใช้วิธี Agar well diffusion method....29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.8 การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยังเชื้อแบคที่เรีย.....30

3.3.9 การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย.....30

3.3.10 การวิเคราะห์ทางสถิติ.....30

บทที่ 4 ผลการทดลอง และอภิปรายผลการทดลอง.....31

4.1 สารสกัดหยาบจาก ราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง.....31

4.2 การศึกษาสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบจากราก ต้น และใบ
ของต้นต้อยติ่ง.....31

4.2.1 การวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบ
ราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง.....32

4.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบ
ราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง.....32

4.2.3 การวิเคราะห์หาสารประกอบแอนโทไซยานินจากสาร
สกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง.....33

4.2.4 การหาสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบจาก
ส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง.....34

4.3 การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบ
ส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง.....35

4.4 การศึกษาฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรีย
แกรมลบใช้วิธี Agar well diffusion method.....36

4.4.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย
วิธี Agar well diffusion method.....36

4.4.1.1 การศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้น
ต้อยติ่งในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli*.....37

4.4.1.2 การศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้น
ต้อยติ่งในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa*.....39

4.4.1.3 การศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้น
ต้อยติ่งในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. luteus*.....41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.4 การศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*.....44
4.4.1.5 การศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P.mirabilis*.....47
4.4.1.6 การศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtillis*.....49
4.4.2 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นที่ต่ำสุดของสารสกัดหยาบในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Minimum Inhibition Concentration : MIC).....51
4.4.2.1 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E.coli*.....52
4.4.2.2 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถยับยั้งเชื้อ *P.aeruginosa*.....53
4.4.2.3 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถยับยั้งเชื้อ *M.luteus*.....54
4.4.2.4 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S.aureus*.....55
4.4.2.5 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถยับยั้งเชื้อ *P.mirabilis*.....56
4.4.2.6 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถยับยั้งเชื้อ *B.subtillis*.....57
4.4.3 การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ทำลายเชื้อแบคทีเรีย (Minimum bacterial concentration; MBC) 58
4.4.3.1 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *E.coli*.....58
4.4.3.2 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *P.aeruginosa*.....60
4.4.3.3 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *M.luteus*.....62
4.4.3.4 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *S.aureus*.....63
4.4.3.5 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *P.mirabilis*.....65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3.6 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง
ที่สามารถทำลายเชื้อ *B.subtillis*.....66

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....68

5.1 สรุปผลการวิจัย.....68

5.2 วิจารณ์การทดลอง.....69

5.3 ข้อเสนอแนะ.....70

เอกสารอ้างอิง.....71

ภาคผนวก.....75

ภาคผนวก ก.....76

ภาคผนวก ข.....79

ภาคผนวก ค.....95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ตารางแสดงค่าร้อยละผลได้ของสารสกัดหยาบตัวอย่างของต้นต้อยติ่ง.....31

4.2 ตารางแสดงค่าปริมาณสารสกัดฟลาโวนอยด์ในสารสกัดของราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง.....32

4.3 ตารางแสดงค่าปริมาณสารสกัดฟีนอลิกในสารสกัดของราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง.....33

4.4 ตารางแสดงค่าสารประกอบแอนโทไซยานินของสารสกัดของราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง.....34

4.5 ตารางแสดงค่าปริมาณสารสกัดฟลาโวนอยด์ในสารสกัดของราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง.....35

4.6 ตารางแสดงค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความเข้มข้นต่าง ๆของสารสกัดหยาบ จากส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง..... 36

4.7 ตารางแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E.coli* จากสารสกัดส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง..... 39

4.8 ตารางแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* จากสารสกัดส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง..... 41

4.9 ตารางแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *M. luteus* จากสารสกัดส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง..... 44

4.10 ตารางแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* จากสารสกัดส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง..... ...46

4.11 ตารางแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P.mirabilis* จากสารสกัดส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง..... ...48

4.12 ตารางแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *B.subtillis* จากสารสกัดส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง..... 51

4.13 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E.coli*.....52

4.14 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อ *P.aeruginosa*.....53

4.15 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อ *M.luteus*.....54

4.16 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S.aureus*.....55

4.17 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อ *P.mirabilis*.....56

4.18 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อ *B.subtillis*.....57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.19 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถทำลายเชื้อ *E.coli*.....59

4.20 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถทำลายเชื้อ *P. aeruginosa*.....60

4.21 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถทำลายเชื้อ *M. luteus*.....62

4.22 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถทำลายเชื้อ *S. aureus*.....63

4.23 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถทำลายเชื้อ *P.mirabilis*.....65

4.24 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถทำลายเชื้อ *B.subtilis*.....66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นต้อยติ่ง....4

2.2 โครงสร้างวิตามินอี....8

2.3 โครงสร้างพื้นฐานของวิตามินซี....9

2.4 โครงสร้างพื้นฐานของกรดแกลลิก....10

2.5 โครงสร้างพื้นฐานของ Butylated hydroxytoluene....10

2.6 โครงสร้างสารประกอบฟีนอลิก....11

2.7 โครงสร้างฟลาโวนอยด์....12

2.8 โครงสร้างพื้นฐานของไตรเทอพีนอยด์....13

2.9 โครงสร้างพื้นฐานของแทนนิน....14

2.10 โครงสร้างพื้นฐานของซาโปนิน....14

2.11 *Escherichia coli*....16

2.12 *Proteus mirabilis*....16

2.13 *Pseudomonas aeruginosa*....17

2.14 *Staphylococcus aureus*....18

2.15 *Bacillus subtilis*....19

2.16 *Micrococcus luteus*....20

2.17 Ampicillin....20

2.18 Gentamicin....21

3.1 แผนผังขั้นตอนการทำวิจัย....25

4.1 ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *E.coli* ของสารสกัดหยาบ
ส่วน (ก) ราก (ข) ต้น (ค) ใบ (ง) QC+ (Gentamycin) (จ) QC- (Ethanol95%)....38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดหยาบ
ส่วน (ก) ราก (ข) ต้น (ค) ใบ (ง) QC+ (Gentamycin) (จ) QC- (Ethanol95%).....40
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *M. luteus* ของสารสกัดหยาบ
ส่วน (ก) ราก (ข) ต้น (ค) ใบ (ง) QC+ (Ampicillin) (จ) QC- (Ethanol95%).....42
4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *S.aureus* ของสารสกัดหยาบ
ส่วน (ก) ราก (ข) ต้น (ค) ใบ (ง) QC+ (Ampicillin) (จ) QC- (Ethanol95%).....45
4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *P.mirabilis* ของสารสกัดหยาบ
ส่วน (ก) ราก (ข) ต้น (ค) ใบ (ง) QC+ (Gentamycin) (จ) QC- (Ethanol95%).....47
4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *B.subtillis* ของสารสกัดหยาบ
ส่วน (ก) ราก (ข) ต้น (ค) ใบ (ง) QC+ (Ampicillin) (จ) QC- (Ethanol95%).....49
4.7 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่ความ
เข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการทดสอบกับเชื้อ
E.coli โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี Broth micro dilution.....53
4.8 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่ความ
เข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการทดสอบกับเชื้อ
P.aeruginosa โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี Broth micro dilution.....54
4.9 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่ความ
เข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการทดสอบกับเชื้อ
M. luteus โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี Broth micro dilution.....55
4.10 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่ความ
เข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการทดสอบกับเชื้อ
S.aureus โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี Broth micro dilution.....56
4.11 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่ความ
เข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการทดสอบกับเชื้อ
P.mirabilis โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี Broth micro dilution.....57
4.12 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่ความ
เข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการทดสอบกับเชื้อ
B.subtilis โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี Broth micro dilution.....58
4.13 ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สารสารสกัดหยาบ
ส่วนราก(ก) ต้น(ข) และใบ(ค)ของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *E. coli*.....59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.14 ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สารสารสกัดหยาบ
ส่วนราก(ก) ต้น(ข) และใบ(ค)ของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *P.aeruginosa*.....61
4.15 ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สารสารสกัดหยาบ
ส่วนราก(ก) ต้น(ข) และใบ(ค)ของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *M. luteus*.....62
4.16 ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สารสารสกัดหยาบ
ส่วนราก(ก) ต้น(ข) และใบ(ค)ของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *S.aureus*.....64
4.17 ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สารสารสกัดหยาบ
ส่วนราก(ก) ต้น(ข) และใบ(ค)ของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *P.mirabilis*.....65
4.18 ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สารสารสกัดหยาบ
ส่วนราก(ก) ต้น(ข) และใบ(ค)ของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *B.subtillis*.....67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
MIC	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Minimum Inhibition Concentration: MIC)
MBC	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ทำลายเชื้อแบคทีเรีย (Minimum bacterial concentration: MBC)
(ก)	ราก
(ข)	ต้น
(ค)	ใบ
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

Ruellia tuberosa Linn. หรือ ต้นต้นต้อยติ่งหรืออังกาบ อยู่ในวงศ์ Acanthaceae เป็นพืชไม้ล้มลุก มีลักษณะใบเดี่ยวรูปมนรีเรียงตรงข้ามกันซึ่งมีสีเขียว ดอกมีลักษณะเป็นช่อหรือดอกเดี่ยวอยู่บนยอดมีสีม่วง ลำต้นมีขนอ่อน ๆ มีขนาดความสูง 25-30 เซนติเมตร ฝักต้อยติ่งเมื่อได้รับความชื้นเมื่อฝักแก่เป็นสีน้ำตาลจะแตกออก (ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง, 2566) มีถิ่นกำเนิดที่อเมริกาใต้และสามารถแพร่กระจายอยู่ในเขตร้อนทั่ว ๆ ไป (Samy MN และคณะ, 2558) โดยเฉพาะในหลายภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้โดยเฉพาะในประเทศไทย (B Arirudran และคณะ) ซึ่งถือเป็นสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางเภสัชวิทยา เช่น สารสกัดที่ได้จากรากมีโอกาสเป็นตัวยับยั้งโปรตีนอะไมเลสและใช้เป็นยาต้านเบาหวานได้ (Anna Safitri และคณะ) ช่วยลดละดับไขมันในเลือด (K.Anupama และคณะ) เป็นต้น การศึกษาต่าง ๆ ของฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบางชนิดจากสารสกัดของพืชชนิดนี้ พบว่ารากที่สกัดโดยเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบได้ดี เช่น *Shigella dysenteriae*, *Shigella sonnei* และ *Escherichia coli* ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Md Abdul Kader และคณะ) สารสกัดเอทานอลจากใบของต้นต้อยติ่งที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E.coli* ได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรีย *B.subtilis* ซึ่งแตกต่างจากสารสกัดเอน-เฮ็กเซน ซึ่งไม่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ 2 ชนิดนี้ (Hafizhah A. และคณะ) และสารสกัดจากเอทานอลของทั้งต้นต้อยติ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* และ *Klebsiella pneumonia* ตามลำดับ (Rehman U. และคณะ) การศึกษาการวิเคราะห์และตรวจสอบหาสารพฤกษเคมีต่าง ๆ และสารต้านอนุมูลอิสระของต้นต้อยติ่ง มีรายงานว่าส่วนของรากมีสารต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม hydroethanolic มีการทดสอบและวิเคราะห์สารทางพฤกษเคมี โดยพบสารสำคัญต่าง ๆ เช่น ascorbic acids (Anna Safitri และคณะ) สารประกอบ phenolics เช่น flavonoids 5 ชนิด คือ cirsmaritin, cirsimarin, cirsiliol-4-glucoside และ sorbifolin ที่สกัดด้วย ethyl acetate (Alam M.A. และคณะ) ซึ่งจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่พบมากและมีประสิทธิภาพ สารประกอบในกลุ่ม Terpenoids เช่น triterpenoids ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบได้มากในใบบัวบกมีสรรพคุณในการสมานแผล ลดการอักเสบและบรรเทาอาการแพ้ (สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2023) พบสารในกลุ่ม alkaloids ชนิด tylocrebrine และ phenanthrene อยู่ในส่วนของรากและส่วนเหนือดิน ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบและต้านมะเร็ง (Lindau G. และคณะ) ภายในใบยังตรวจพบสารทางพฤกษเคมี เช่น alkaloids, steroids, flavonoids, tannins, glycoside, saponins และสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญอย่าง phenolics (S. Dutta และคณะ) มีรายงานว่าสารสกัดจากใบต้นต้อยติ่งซึ่งมีปริมาณสารประกอบ phenolics สูง (A. Sharma และคณะ) ภายในลำต้นพบสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพอยู่มากหลากหลายชนิด (Fu-An Chen และคณะ) ด้วยเหตุนี้จึงแสดงให้เห็นว่า Ruellia tuberosa Linn. เป็นพืชที่มีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพรสามารถใช้รักษาโรคบางชนิด เนื่องจากมีสารพฤกษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เคมีและสารต้านอนุมูลอิสระอยู่หลากหลายชนิด รวมถึงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ แต่ยังขาดการประเมินหรือวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ในการตรวจสอบหาสารสำคัญต่าง ๆ ของสารพฤกษเคมี สารต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบบางชนิด จากทั้ง 3 ส่วนของพืช คือ ราก ลำต้น และใบ ของต้นต้อยติ่งว่าส่วนใดของพืชมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหรือมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพที่สุด

ดังนั้นจึงมีความสนใจและมีความจำเป็นที่ต้องประเมิน ตรวจสอบ และวิเคราะห์ในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระ สารพฤกษเคมี และฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ ของสารกัดจากราก ลำต้น และใบ ของ *Ruellia tuberosa* Linn. หรือ ต้นต้อยติ่งหรืออังกาบ เพื่อนำผลการทดลองที่ได้ไปประยุกต์ใช้เพื่อเป็นประโยชน์ในด้านต่าง ๆ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* Linn.)

1.2.2 หาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางพฤกษเคมีจากราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* Linn.)

1.2.3 หาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและเชื้อแบคทีเรียแกรมลบจากราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* Linn.)

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 เก็บเกี่ยวต้นต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* Linn.) จากที่ดินในเขตคลองสามวา จังหวัดกรุงเทพมหานคร

1.3.2 วิเคราะห์และตรวจสอบหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ, ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางพฤกษเคมีในราก,ลำต้น และใบ ของต้นต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* Linn.)

3. ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบด้วยวิธี Agar well diffusion, MIC และ MBC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระภายจากราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* Linn.)

1.4.2 ทราบถึงปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทางพฤกษเคมีเบื้องต้นจากราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* Linn.)

1.4.3 ทราบถึงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและเชื้อแบคทีเรียแกรมลบจากราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง (*Ruellia tuberosa* Linn.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

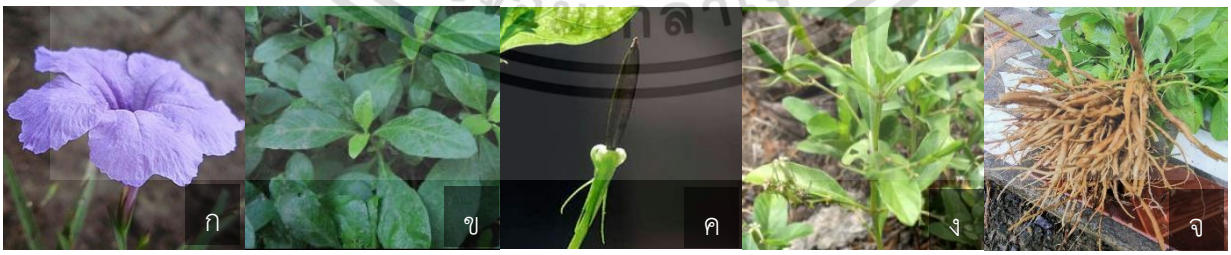
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลพฤกษศาสตร์ของพืชตัวอย่างที่นำมาศึกษา

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นต้อยติ่ง

ต้อยติ่งหรืออังกาบ (*Ruellia tuberosa Linn.*) จัดเป็นพืชล้มลุกที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อน บริเวณทวีปอเมริกาใต้ อยู่ในวงศ์ Acanthaceae ต่อมาจึงได้มีการแพร่กระจายพันธุ์ไปยังเขตร้อนต่าง ๆ ทั่วโลก ซึ่งในปัจจุบันบางประเทศได้จัดต้อยติ่งเป็นวัชพืชอีกด้วย สำหรับในประเทศไทยคาดว่าต้อยติ่งถูกนำเข้ามาเพื่อปลูกเป็นไม้ประดับนานแล้ว ในปัจจุบันสามารถพบได้ทั่วทุกภาคของประเทศและถูกจัดเป็นพืชต่างถิ่นชนิดหนึ่ง (เสงี่ยม, พงษ์ บุญรอด,2508) ต้อยติ่งมีลำต้นขนาดเล็กสูงประมาณ 20-40 เซนติเมตร แตกกิ่งตั้งแต่ลำต้น กิ่งมีสีเขียว และตามลำต้นมีขนอ่อน ๆ ขึ้นปกคลุม ใบเป็นใบเดี่ยวออกเรียงเป็นคู่ บริเวณตามข้อลำต้นและกิ่ง ใบมีลักษณะรูปไข่มีสีเขียวสด โคนใบสอบแหลมปลายใบค่อนข้างมน แผ่นใบเรียบ ขอบใบลูกคลื่นเล็กน้อย ใบกว้างประมาณ 3-4 เซนติเมตร ยาวประมาณ 6-8 เซนติเมตร ก้านใบยาวประมาณ 3-5 มิลลิเมตร ออกเป็นช่อหรือเป็นดอกเดี่ยว ๆ บริเวณซอกใบตามปลายยอด แต่ละช่อมี 1-6 ดอก แต่จะบานไม่พร้อมกัน ตัวดอกมีขนาดประมาณ 4-5 เซนติเมตร โคนกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นกรวย ส่วนกลีบดอกมี 5 กลีบ แต่ละกลีบมีลักษณะมน ขนาดกลีบดอกประมาณ 2-2.5 เซนติเมตร และมีกลีบรองดอกสีเขียว โคนเชื่อมติดกันปลายแยกเป็น 5 แฉก เรียวแหลมยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร ส่วนกลีบดอกมีสีม่วงเป็นรูปกรวยหงาย ปลายแผ่เป็น 5 แฉกเท่าๆ กัน เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 เซนติเมตร ผล ออกเป็นฝักเป็นแบบ capsule รูปทรงกระบอก มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร ตรงปลายทั้งสองข้างแหลม ยาว 2-3 ซม. มีร่องแตกเป็น 2 กลีบ ฝักเมื่อยังอ่อนจะมีสีเขียว แล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และสีดำเมื่อแก่ด้านในมีเมล็ด 8-15 เมล็ด ลักษณะเมล็ดแบนมีบนขึ้นปกคลุม เมื่อมองจากด้านบน เป็นรูปกลมคล้ายเหรียญบาท เรียงติดชิดกัน (เดชา ศิริภัทร,2546)



รูปที่ 2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นต้อยติ่ง (ก) ดอก (ข) ใบ (ค) เมล็ด (ง) ลำต้น (จ) ราก

(ที่มา: http://clgc.agri.kps.ku.ac.th, 12-10-2566)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การสกัดสารจากพืช (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

ปัจจุบันสารสกัดจากธรรมชาติหรือสารสกัดจากสมุนไพร สารสกัดจากพืชถูกนำมาประยุกต์และวิจัยใช้เข้ากับผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ อย่างมากมาย เช่น ผลิตภัณฑ์อาหาร อาหารเสริม เครื่องดื่ม เครื่องสำอาง ยารักษาโรค เป็นต้น เนื่องจากผู้บริโภคให้ความสำคัญกับสุขภาพและความปลอดภัยมากขึ้นเรื่อย ๆ จึงส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่มีการผสมสารสกัดจากสมุนไพรต่าง ๆ ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก พืชสมุนไพรเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพและความงามมากมาย สารสกัดที่ดีและมีประสิทธิภาพมักจะเป็นสารที่ออกฤทธิ์ที่เข้มข้น ซึ่งสารสกัดสมุนไพรที่ดีนั้นย่อมขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่นำมาใช้สำหรับการสกัด จะทำให้เมื่อสกัดออกมาแล้ว จะมีสารออกฤทธิ์ (Active compounds) ในปริมาณที่สูง โดยวิธีการสกัดสมุนไพรให้เข้มข้นและเป็นที่นิยมมีอยู่หลายวิธีด้วยกัน และมีงานวิจัยการสกัดพืชสมุนไพรรองรับแล้วอีกมากมาย การสกัดสารสกัดมีกี่วิธีอะไรบ้าง

2.2.1 การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายสกัด (Solvent extraction)

การสกัดโดยวิธีนี้ คือ การสกัดสารออกฤทธิ์ออกจากเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร โดยใช้ตัวทำละลายสัมผัสกับเนื้อเยื่อของพืชสมุนไพรและทิ้งไว้ตามระยะที่เหมาะสมจนกว่าจะได้สารสกัดพืชสมุนไพรออกมา การสกัดด้วยตัวละลายสามารถทำได้หลายวิธีเช่นกัน ตัวอย่างเช่น วิธีมาเซอเรชัน (Maceration) เช่น การหมักพืชสมุนไพร การเขย่า หรือ การคน กับตัวทำละลาย จนกระทั่งเนื้อสมุนไพรอ่อนนุ่มแล้วสารทำละลายจะแทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อพืชสมุนไพรจนได้ผงสมุนไพรออกมา วิธีสกัดแบบนี้เหมาะที่จะใช้กับพืชสมุนไพรที่ไม่แข็งมาก วิธีการสกัดโดยใช้ตัวทำลายสกัดเป็นวิธีที่ใช้มาอย่างยาวนาน โดยการเลือกตัวทำลายนั้นควรจะเลือกจากสิ่งที่หาได้ง่ายและราคาไม่แพงมาก ตัวทำลายที่นิยมใช้คือ น้ำ ซึ่งใช้มาแต่โบราณ คนโบราณใช้วิธีการสกัดตัวยาสำคัญจากสมุนไพรต่าง ๆ โดยใช้การต้มสมุนไพรกับน้ำ ที่เรียกว่ายาหม้อ ซึ่งสารสกัดก็คือน้ำที่เคี่ยวให้งวด ตัวทำลายอีกตัวที่นิยมใช้คือแอลกอฮอล์ที่รู้จักกันดีคือเหล้าซึ่งมีแอลกอฮอล์ผสมอยู่ ก็คือวิธีการทำยาดองเหล้า สารสกัดสำคัญก็จะละลายออกมากับแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในเหล้า แอลกอฮอล์ที่กล่าวถึงมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol)

2.2.2 การสกัดด้วยวิธีเพอร์โคเลชัน (Percolation)

การสกัดด้วยวิธีเพอร์โคเลชัน (Percolation) เป็นการสกัดโดยปล่อยให้ตัวทำละลายไหลผ่านตัวสมุนไพรอย่างช้า ๆต่อเนื่อง เพื่อละลายเอาสารออกฤทธิ์จากสมุนไพรให้ออกมา การสกัดแบบนี้ จะใช้เครื่องมือช่วยสกัดที่ชื่อว่าเครื่องเพอร์โคเลเตอร์ (Percolator) เหมาะกับการสกัดสมุนไพรหลากหลายรูปแบบ การสกัดวิธีนี้ต้องสกัดหลายครั้งเพื่อให้ได้สารสำคัญมากที่สุด วิธีคือบดสมุนไพรให้ละเอียดทำการหมักให้พองตัวประมาณ 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นบรรจุผงสมุนไพรในเพอร์โคเลเตอร์ทีละน้อยให้เป็นชั้น ๆ ใส่ตัวละลายลงไปให้ท่วมสมุนไพรทิ้งไว้ 1-2 วัน ต่อจากนั้นจึงไขท่อข้างล่างเพื่อให้สารสกัดออกมาแล้วเติมตัวทำละลายลงไปเรื่อย ๆ จนการสกัดสารสกัดสมบูรณ์และบีบสารละลายออกจากกากจึงนำไปกรอง วิธีนี้เป็นวิธีการสกัดที่สมบูรณ์ เนื่องจากไม่ต้องใช้ความร้อน เพราะความร้อนอาจทำให้สารสกัดที่สกัดมีประสิทธิภาพด้อยลง แต่ข้อเสีย คือ สิ้นเปลืองน้ำยาสกัดและใช้เวลาที่สกัดนาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 การสกัดสมุนไพรต่อเนื่อง (Continuous extraction)

การสกัดสมุนไพรต่อเนื่อง (Continuous extraction) เป็นวิธีการสกัดสมุนไพรที่คล้ายกับวิธีเพอร์โคเลชัน แต่การสกัดแบบต่อเนื่องจำเป็นที่จะต้องใช้ความร้อนที่มีจุดเดือดต่ำเข้าช่วย ทำในเครื่องซอคเลต (Soxhlet extractor) ทำให้เกิดตัวทำละลายที่มีความร้อน ตัวทำละลายจะระเหยแล้วจะกลั่นตัวผ่านสมุนไพรซ้ำไปมาจนได้สารสกัดสมุนไพรบริสุทธิ์ วิธีสกัดสมุนไพรแบบต่อเนื่อง (Continuous extraction) มักใช้ในกรณีที่ต้องการแยกน้ำมันออกจากสารสกัดบริสุทธิ์ วิธีการสกัดนี้เหมาะสำหรับสกัดองค์ประกอบที่ทนความร้อนและประหยัดตัวทำลาย ข้อควรระวังในการสกัดวิธีนี้คือ ความร้อนที่ใช้ในการสกัดอาจทำให้สารเคมีบางชนิดในพืชสลายตัว

2.2.4 การสกัดสมุนไพรด้วยของไหลวิกฤติยิ่งยวด (Supercritical fluid extraction)

การสกัดสารด้วยของไหลวิกฤติยิ่งยวด (Supercritical fluid extraction) เป็นเทคนิคการใช้ของไหลวิกฤติยิ่งยวดที่มีบทบาทต่อการสกัดผลิตภัณฑ์สารสกัดจากธรรมชาติ เช่น การสกัดสี กลิ่น และน้ำมันหอมระเหย เนื่องจากวิธีการนี้เป็นวิธีการที่สกัดได้ดีกว่าตัวทำลายของเหลวทั่วไป จึงเหมาะสำหรับการสกัดสารที่ไม่ทนความร้อน (Thermolabile compounds) เป็นองค์ประกอบสำคัญ โดยอาศัยแก๊สคาร์บอนไดออกไซน์บริสุทธิ์ช่วยซึ่งอาจมีตัวทำละลายร่วม (Co-Solvent) เพื่อให้สารสกัดดียิ่งขึ้น ของไหลวิกฤติยิ่งยวด ซึ่งหมายถึง ภาวะที่ไม่สามารถจำแนกได้ว่าสสารเป็นแก๊สหรือของเหลวซึ่งสามารถอธิบายได้จากแผนภาพสถานะอุณหภูมิและความดัน (Pressure-temperature phase diagram) ของสารบริสุทธิ์ใด ๆ

2.2.5 การสกัดด้วยการกลั่น (Distillation extraction)

การสกัดด้วยการกลั่น (Distillation extraction) มักใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหย โดยปกติการกลั่นจะต้องใช้น้ำร้อนหรือไอน้ำเข้าไปแยกน้ำมันหอมระเหยออกมาจากพืช โดยการแทรกซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อของพืช ความร้อนจะค่อยๆทำให้สารละลายออกมากลายเป็นไอปนมากับน้ำร้อนหรือไอน้ำ ข้อเสียของการสกัดวิธีนี้คือ ค่อนข้างจะยุ่งยากกว่าวิธีการสกัดด้วยตัวทำลายเพราะต้องมีเครื่องมือเฉพาะการกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (Water and Steam Distillation) จะใช้ตะแกรงรองของที่จะกลั่นให้เหนือระดับน้ำในหม้อกลั่น ต้มให้เดือด ไอน้ำจะลอยตัวขึ้นไปผ่านพืชหรือตัวอย่างที่จะกลั่น ส่วนน้ำจะไม่ถูกกับตัวอย่างเลย ไอน้ำจากน้ำเดือดเป็นไอน้ำที่อิ่มตัวเป็นไอน้ำที่ไม่ร้อนจัด ตัวอย่างเช่น การสกัดน้ำมันหอมระเหย อาศัยหลักการที่ใช้ไอน้ำจาการต้มน้ำพ่นลงบนดอกไม้หรือหรือสมุนไพรที่ต้องการจะสกัด แล้วก็ทำการควบแน่นให้ไอน้ำกลั่นเป็นหยดน้ำ โดยน้ำมันหอมระเหยจะแยกออกจากน้ำโยลอยอยู่ข้างบน น้ำที่ได้จะมีกลิ่นตามกลิ่นของน้ำมันหอมระเหย

2.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้น (นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, 2544)

เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้จะมีปริมาตรและมีความเจือจางมาก ทำให้นำไปแยกส่วนได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้นก่อน ซึ่งอาจทำได้หลายวิธีดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 Free evaporation คือ การระเหยให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ หรือ hot plate บางครั้งอาจจะเป่าอากาศร้อนลงไปในสารสกัดด้วยเพื่อให้ระเหยได้เร็วขึ้น

2.3.2 Distillation in vacuum เป็นวิธีการระเหยแห้งโดยกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำ และลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ Vacuum pump เครื่องมือนี้เรียกว่า Rotary evaporator ประกอบด้วย 3 ส่วนคือ distillation flask, condenser และ receiving flask โดย distillation flask จะหมุนตลอดเวลาที่ทำงาน และแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำเพื่อให้การกระจายของความร้อนทั่วถึงและสม่ำเสมอ

2.3.3 การแช่แข็ง (Freezing ถ้าเป็นสารสกัดด้วยน้ำ วิธีที่เหมาะสมคือใช้วิธีแช่แข็งโดยใช้ lyophilize หรือ Freeze dryer แต่ถ้าเป็นตัวทำละลายอื่นเฉพาะตัวทำละลายเท่านั้นที่แข็ง ซึ่งแยกได้จาก concentrated extract โดย centrifuge วิธีนี้มีข้อดีเหมาะสมกับสาร ที่สลายตัวง่ายด้วยความร้อน

2.3.4 Ultrafiltration เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน ใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 5,000 เป็นต้น

2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ (บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556)

อนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นสารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ภายในของอะตอมและโมเลกุล สามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม สิ่งมีชีวิต และภายในเซลล์ที่มาจากกระบวนการเมทาบอลิซึมภายในเซลล์ (metabolism) ซึ่งจะเกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจน ทำให้ภายในออกซิเจนมีอิเล็กตรอนไม่สมดุลกัน จึงเกิดเป็นอนุมูลอิสระที่ว่องไวในการทำปฏิกิริยามากแล้วจะดึงอิเล็กตรอนออกมาจาโมเลกุลอื่น ๆ มาแทนอิเล็กตรอนตัวที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวมันเองกลับมาเสถียร ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องภายในเซลล์ตลอดเวลาแบบลูกโซ่ ดังสมการที่ 1 และสมการที่ 2

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet} \quad \text{(สมการที่ 1)}$$

$$ROO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\bullet} \quad \text{(สมการที่2)}$$

อนุมูลอิสระมาจากสภาพแวดล้อมภายนอกร่างกาย เช่น มลพิษในอากาศ โอโซน ไนตรัสออกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ ฝุ่น ควันบุหรี่ อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว แสงแดด ความร้อน รังสีแกมมา และจากภายในร่างกายคืออนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างขึ้น ตัวอย่างของอนุมูลอิสระ เช่น Superoxide anion(O_2-l) Hydroxyl radicle(lOH) Peroxyl radicle(ROO) Hydrogen Peroxide(H_2O_2) และ Lipid Peroxyl(LO_2) เป็นต้น (ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าวมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2566) อนุมูลอิสระยังเข้าทำลายสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น ลิปิด (lipid) โปรตีน (protein) เอนไซม์ (enzyme) ดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) เยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) คอลลาเจน (collagen) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) เป็นต้น จึงเป็นสาเหตุหลักของการตายและการกลายพันธุ์ของเซลล์ ทำให้เป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ โรคชรา (aging) โรคมะเร็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

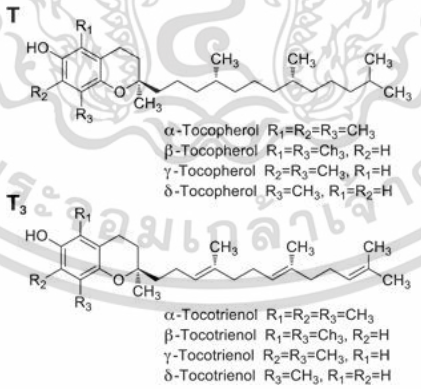
(cancer) เป็นต้น หรืออาจจะได้รับอนุมูลอิสระจากแหล่งอื่น ๆ เช่น การได้รับเชื้อโรคจากเชื้อไวรัสและแบคทีเรีย รวมถึงโรคทางระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นสารที่มีความสำคัญในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระมีหลากหลายชนิดและมีหน้าที่แตกต่างกัน มีทั้งชนิดที่เป็นเอนไซม์และไม่เป็นเอมไซม์ หรือเป็นสารประกอบที่ละลายน้ำได้และเป็นสารประกอบที่ละลายในไขมัน โดยร่างกายจะมีระบบป้องกันการทำลายเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระได้ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระมีกลไกการทำงานที่แตกต่างกันในการป้องกันอนุมูลอิสระ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) และเสริมฤทธิ์ (synergism) เป็นต้น

2.4.1 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติสามารถพบได้ทั่วไปตามสิ่งมีชีวิต ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ เช่น วิตามิน เอนไซม์ รวมถึงสารอื่น ๆ เช่น สารประกอบฟีนอลิก

2.4.1.1 วิตามินอี (tocopherol) เป็นวิตามินที่ละลายในไขมัน วิตามินอีในธรรมชาติมี 8 รูปแบบ คือ α, β, γ, δ-tocopherol ที่มี chromanol ring เกาะกับ phytyl side chain และ α, β, γ, δ-tocotrienol ที่มี chromanol ring เกาะกับ unsaturated side chain วิตามินอีมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ทำหน้าที่ขจัดอนุมูลอิสระ (lipid peroxyl radicals) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาชีวเคมีในร่างกายมนุษย์ ยังช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และการทำลายชั้นไขมันที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ต่าง ๆ วิตามินอีสามารถทำงานร่วมกับวิตามินซี โดยวิตามินซีเป็นสารประกอบที่ให้ไฮโดรเจนอะตอมเพื่อเปลี่ยนวิตามินอีแรดิคอลให้กลับมาอยู่ในสภาพที่ว่องไวและดักจับอนุมูลอิสระได้

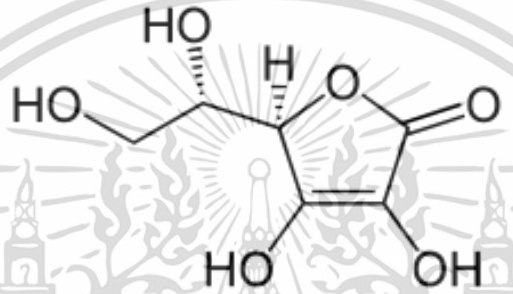


รูปที่ 2.2 โครงสร้างวิตามินอี α, β, γ, δ-tocopherol α, β, γ, δ-tocotrienol

(ที่มา: https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-tocopherols-and-tocotrienolsAll-vitamin-E-homologs-tocopherols-and_fig1_264499538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.2 วิตามินซี (ascorbic acid) เป็นวิตามินที่ละลายน้ำได้โดยในธรรมชาติวิตามินซีจะอยู่ในรูป L-form มีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังนี้ $C_6H_8O_6$ มีน้ำหนักโมเลกุล 176.13 กรัมต่อโมล มนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินซีได้เองเนื่องจากไม่มีเอนไซม์ L-gluconolactones oxidase ยังมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการขจัดอนุมูลอิสระทั้งภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ จะป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น(oxidation) ช่วยป้องกันการเสื่อมของเนื้อเยื่อและเซลล์ ป้องกันหรือหยุดการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่จากกระบวนการเพโรออกซิเดชั่น (peroxidation) ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว และช่วยในการเปลี่ยนวิตามินอีที่ถูกใช้ไปในกระบวนการต้านอนุมูลอิสระให้กลับมาเป็นวิตามินอีที่ทำหน้าที่ได้เหมือนเดิม



รูปที่ 2.3 โครงสร้างพื้นฐานของวิตามินซี

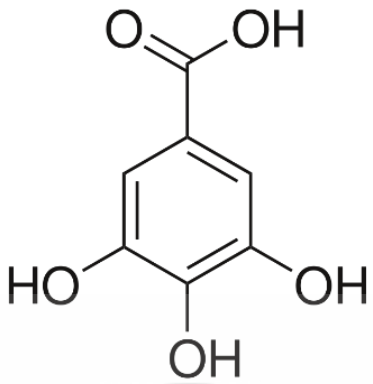
(ที่มา: https://th.wikipedia.org/wiki/vitaminC)

2.4.2 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เกิดจากการกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี โดยเป็นสารประกอบฟีนอลิก สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ดังกล่าวถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ สี กลิ่น และรสชาติ มีสภาพคงตัวกว่าสารต้านอนุอิสระจากธรรมชาติแต่มีผลเสียต่อความปลอดภัยในการบริโภค ตัวอย่างเช่น 2-butylated hydroxy anisole, 3-butylate hydroxy anisole, BHT (butylated hydroxytoluene) และ tertiary butylhydroquinone เป็นต้น

2.4.2.1 กรดแกลลิก (Gallic acid, GA) หรือ 3,4,5-hydroxybenzoic acid เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มี สูตรโมเลกุลทางเคมีคือ $C_7H_6O_5$ โดย Gallic acid เป็นส่วนประกอบของแทนนิน พบมากในองุ่น ใบชา เปลือกไม้โอ๊ค และพืชอื่น ๆ โดยทั่วไป มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ดีในอุตสาหกรรมอาหารและสามารถยับยั้งเชื้อรา เชื้อไวรัส และเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ดี

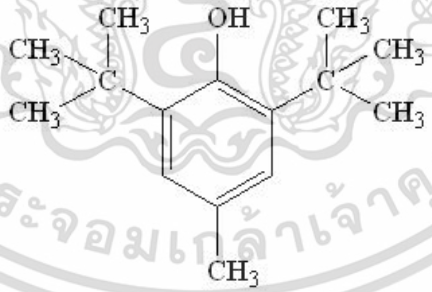
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 โครงสร้างพื้นฐานของกรดแกลลิก

(ที่มา: https://en.wikipedia.org/wiki/Gallic_acid)

2.4.2.2 Butylated hydroxytoluene (BHT) หรือ dibutyl hydroxytoluene เป็นสารประกอบอินทรีย์ในกลุ่ม lipophilic ซึ่งเป็นอนุพันธ์ทางเคมีของฟีนอลซึ่งเป็นประโยชน์สำหรับคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ BHT มีคุณสมบัติเพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชันในของเหลว Butylated hydroxytoluene (BHT) สามารถยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation)



รูปที่ 2.5 โครงสร้างพื้นฐานของ Butylated hydroxytoluene

(ที่มา: https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1576/butylated-hydroxytoluene-bht)

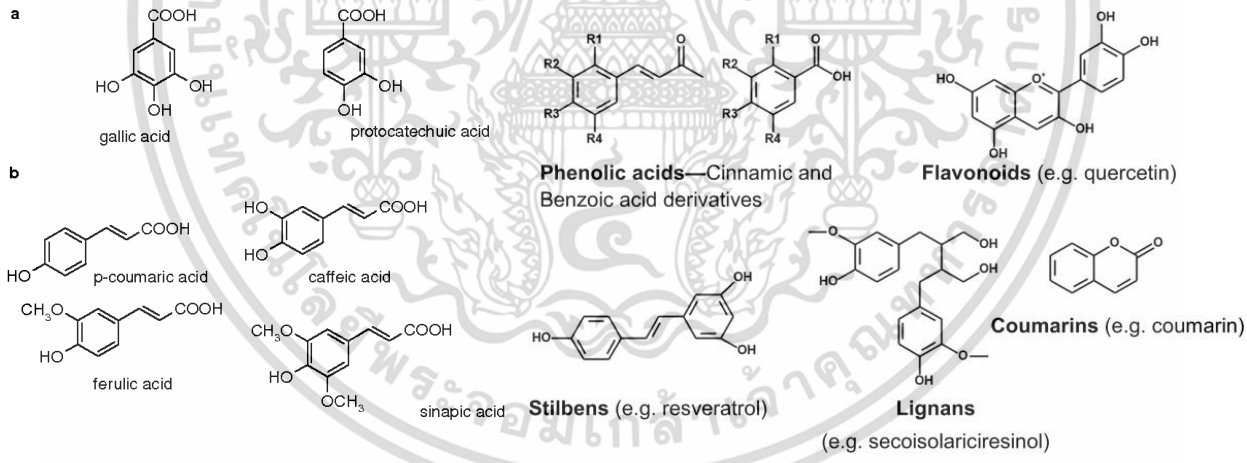
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) คือ สารที่มีสูตรโครงสร้างที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) บนวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic ring) ตั้งแต่ 1 หมู่ขึ้นไป จัดเป็นสารพฤกษเคมี (phytochemical) กลุ่มใหญ่ที่พืชสร้างขึ้น พืชยังใช้เป็นสารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์สาระสำคัญหลากหลายชนิดในพืช สารประกอบฟีนอลิกสามารถแยกได้เป็นหลายกลุ่ม โดยตัวอย่างกลุ่มสารที่พบได้ทั่วไปในพืช ได้แก่ กลุ่มสารประกอบกรดฟีนอลิก (Phenolic acids) กลุ่มสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) กลุ่มสารประกอบแทนนิน (Tannins) และกลุ่มสารประกอบลิกแนน (Lignans) สารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารที่สามารถละลายน้ำได้ดี แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ Simple phenols และ Phenylpropanoids

2.5.1 Simple phenols พบวงแหวนแอโรมาติก 1 วง ซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิลเกาะอยู่ 1 หมู่ ได้แก่ กรดฟีนอลิก (phenolic acid) ประกอบด้วยอนุพันธ์ เช่น Gallic acid, Ellagic acid, Tannic acid, Vanillin, Catechol, Resorcinol และ Salicylic acid

2.5.2 Phenylpropanoids ได้แก่ Phenolic compound ที่ Aromatic ring มี Three carbon sidechain เกาะอยู่แยกย่อยได้หลายกลุ่ม ได้แก่ Hydroxycinnamic acid, Coumarins และ Lignans เป็นต้น



รูปที่ 2.6 โครงสร้างสารประกอบฟีนอลิก

(ที่มา: https://www.semanticscholar.org/paper/Phenolic-compounds-in-plants-and-agri-industrial-Balasundram-Sundram/)

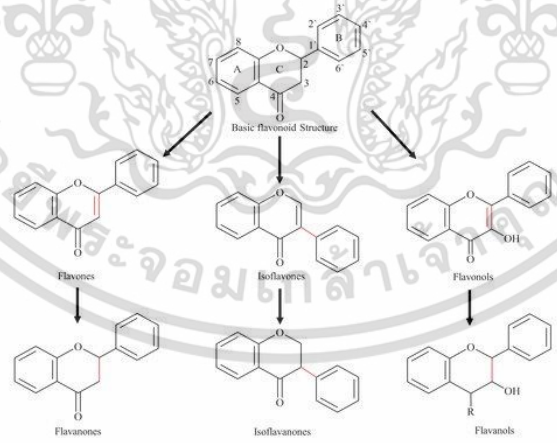
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยสารประกอบฟีนอลิกจะจับอนุมูลอิสระ จึงเกิดการยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดออกซิเดชันของไขมัน และจับกับอนุมูลของธาตุออกซิเจนและอนุมูลของธาตุไนโตรเจน ยังสามารถพบได้ในทุกส่วนของพืชตัวอย่างเช่น ภายในราก ลำต้น และใบ รวมถึงดอกและผลอีกด้วย ซึ่งจะมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันในแต่ละชนิดและแต่ละส่วนของพืช

2.6 สารพฤกษเคมีเบื้องต้น

2.6.1 flavonoids

Flavonoids เป็นสารเมตาบอไลต์ขั้นทุติยภูมิ (secondary metabolite) ในกลุ่มสารประกอบโพลีฟีนอล (polyphenolic compounds) ที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติมักจะอยู่ในอาหาร ผัก ผลไม้และเครื่องดื่มบางชนิด โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นฟีนอลเบนโซไพโรน (phenyl benzopyrones) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 ตัว (C6 - C3 - C6) จัดเรียงเป็น 3 ring เรียก เป็น ring A, B, และ C โดย ring A และ B เป็นวงเบนซีน (benzene ring) ส่วน C ring เป็น heterocyclic pyran ring ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง โดยกลุ่มของสารประกอบ flavonoid ส่วนใหญ่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น สาร flavone และ catechin สามารถช่วยป้องกันการถูกทำลายของเซลล์และเนื้อเยื่อร่างกายจากอนุมูลอิสระและออกซิเจนอิสระ (reactive oxygen species, ROS) สารประกอบ flavonoids มีการจัดแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยตามระดับการออกซิเดชั่นและหมู่ฟังก์ชันของ C ring คือ flavanol, flavonones, flavones, isoflavones, flavonols และ anthocyanidins



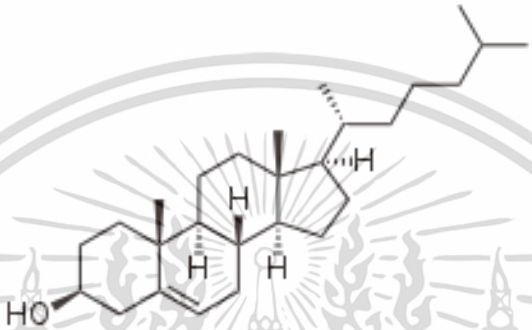
รูปที่ 2.7 โครงสร้างฟลาโวนอยด์

(ที่มา: https://encyclopedia.pub/entry/10482)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 triterpenoids

Triterpenoids เป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ประกอบด้วยเทอร์พีน 3 หน่วยหรือไอโซพีน 6 หน่วย มีโครงสร้างเป็น pentacyclic มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{30}H_{48}$ ไตรเทอร์พีนมีโครงสร้างที่แตกต่างกันกว่า 200 แบบ มีความสำคัญในการรักษาโรค คือ ganoderic acid และ lucidenic acid



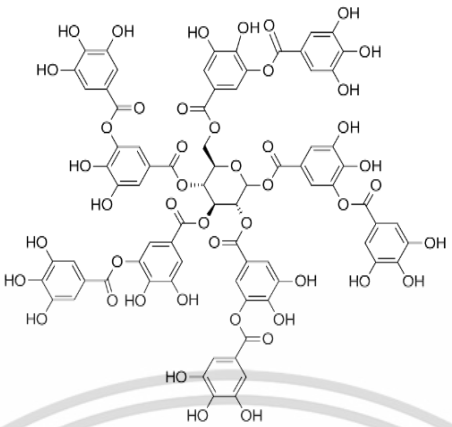
รูปที่ 2.8 โครงสร้างพื้นฐานของไตรเทอพีนอยด์

(ที่มา: https://th.wikipedia.org/wiki/triterpene)

2.6.3 tannin

เป็นสารจำพวกพอลีฟีนอลที่มีโมเลกุลค่อนข้างใหญ่ และสลับซับซ้อน มีสูตรโมเลกุล คือ $C_{75}H_{52}O_{46}$ ประกอบด้วย gallic acid 9 โมเลกุล และมีน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล มีสมบัติเป็นกรดอ่อนและมีรสฝาด เป็นสารที่แยกให้บริสุทธิ์ได้ยากเพราะ ไม่ตกผลึก พบได้ในรูปอิสระและรูปไกลโคไซด์ คุณสมบัติและชนิดของแทนนินขึ้นอยู่กับ ขนาดของโมเลกุล มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา อาจเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น โปรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidins) และแทนนิน (tannins) เป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (enzymatic browning reaction) ของผลไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

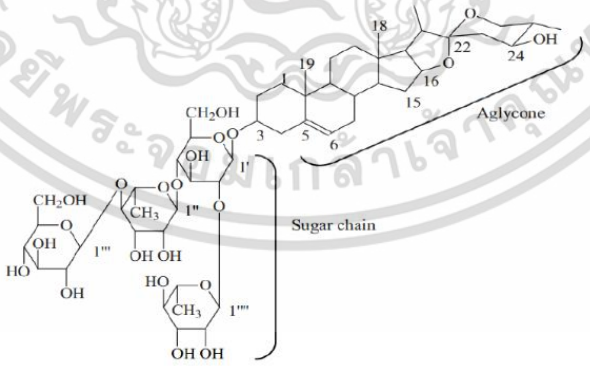


รูปที่ 2.9 โครงสร้างพื้นฐานของแทนนิน

(ที่มา: https://en.wikipedia.org/wiki/Tannin)

2.6.4 saponins

ซาโปนิน (Saponins) หรือซาโปนินไกลโคไซด์ (Saponin glycosides) เป็นไกลโคไซด์ที่มีส่วนของ Aglycone เป็นสารสเตียรอยด์ (Steroids) หรือไทรเทอร์ฟีนอยด์ (Triterpenoids) จะจับกับส่วนของน้ำตาลหรืออนุพันธ์ของน้ำตาลที่ตำแหนง C-3 ได้เป็น O–glycoside น้ำตาลที่พบส่วนใหญ่เป็น Oligosaccharide 1–5 หน่วย มักเรียกซาโปนินตามโครงสร้างของโมเลกุลที่ไม่มีส่วนประกอบของน้ำตาลหรืออาจเรียกว่าจีนิน หรือสโปจีนิน ซึ่งสามารถแบ่งตามกลุ่มของจีนิน ได้เป็น 3 กลุ่ม คือ ไตรเทอร์ปีน สเตียรอยด์ และสเตียรอยด์ อัลคาลอยด์



รูปที่ 2.10 โครงสร้างพื้นฐานของซาโปนิน

(ที่มา: https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-saponin)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค

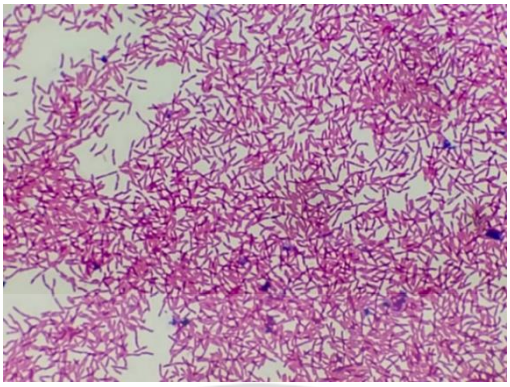
แบคทีเรียเมื่อจัดแบ่งประเภทตามการย้อมติดแบบแกรม (Gram staining) จะสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ แบคทีเรียออกเป็นแกรมบวก (Gram positive) และแกรมลบ (Gram negative) โดยแบคทีเรียแกรมบวกที่ผนังเซลล์จะย้อมติดสีน้ำเงิน เช่น *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* และ *Micrococcus luteus* ส่วนแบคทีเรียแกรมลบที่ผนังเซลล์จะย้อมติดสีแดง เช่น *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* และ *Pseudomonas aeruginosa*

แบคทีเรียสามารถก่อโรคทำให้เกิดการอักเสบหรือติดเชื้อจากการสร้างสารพิษ (toxin) เพื่อทำลายเซลล์ของสิ่งมีชีวิต เช่น *Staphylococcus aureus* จะสร้างสารโคแอกูเลส (Coagulase) จะขัดขวางการแข็งตัวของเลือด และ *Escherichia coli* จะสร้างสารพิษเอ็นโดท็อกซิน (Endotoxin) ทำให้เกิดภาวะช็อก ซึ่งร่างกายจะตอบสนองด้วยการอักเสบในบริเวณที่ติดเชื้อเป็นผลให้เกิดอาการไข้และตัวร้อนขึ้น แบคทีเรียที่เข้าสู่ร่างกายมนุษย์จะเพิ่มจำนวนในร่างกายมนุษย์และแพร่กระจายไปทั่วร่างกายโดยทางน้ำเหลืองและหลอดเลือด ส่งผลให้เกิดภาวะติดเชื้อได้

2.7.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli หรือ *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ อยู่กลุ่มโคลิฟอร์ม (Chloroform) มีรูปร่างเป็นแท่ง ที่สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobic) เป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น (Normal flora) สามารถพบได้ทั่วไปตามลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น พบว่ามีหลากหลายสายพันธุ์ที่ไม่เป็นอันตรายหรือไม่ก่อโรครายแรงต่อร่างกายแต่มีบางสายพันธุ์เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะก่อโรคต่าง ๆ ได้ จากการรับประทานอาหารหรือน้ำดื่มที่ปนเปื้อน การสัมผัสกับเชื้อปนเปื้อนจากสิ่งของ สัตว์ ผู้ติดเชื้อ รวมถึงแหล่งน้ำที่มีเชื้อปะปนอยู่ โดยเชื้อ *E. coli* จะลุกล้ำเข้าไปในระบบต่าง ๆ ก็จะทำให้เกิดการติดเชื้อรุนแรง เช่น โรคติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ โรคติดเชื้อในกระแสเลือด รวมถึงก่อโรคอุจจาระร่วง (Diarrheagenic E. coli) จากเชื้อ Enterotoxigenic *E. coli* เป็นสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสารพิษเอนเทอโร-ท็อกซิน (enterotoxin) ทำให้เกิดอาการท้องร่วงแบบเฉียบพลัน หรือเชื้อ Enterohaemorrhagic *E. coli* จะสร้างสารพิษชิก้า (Shiga) ทำให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างรุนแรงและถ่ายเป็นมูกเลือด อาจรุนแรงถึงทำให้เม็ดเลือดแดงแตกและไตวายเฉียบพลัน มักจะรักษาตามอาการโดยการให้น้ำเกลือแร่ซึ่งไม่แนะนำให้ใช้ยาปฏิชีวนะเพราะจะทำให้เชื้อนั้นสร้างสารพิษมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.11 *Escherichia coli*

(ที่มา: https://www.istockphoto.com/th/escherichia-coli)

2.7.2 *Proteus mirabilis*

Proteus mirabilis เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ก่อโรค มีรูปร่างเป็นท่อนเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน อาจไม่เคลื่อนที่หรือเคลื่อนที่ด้วย peritrichous flagella ก่อให้เกิดโรคทางเดินปัสสาวะอักเสบ ผิวหนังติดเชื้อ ฝี หนอง ท้องร่วงในเด็ก *Proteus mirabilis* เป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสียหลายชนิด เช่น การเสื่อมเสียของไข่ ไข่ที่มีการปนเปื้อนโดย *Proteus mirabilis* ทำให้เกิดการเน่าที่เรียกว่า black rot มีการผลิตและสะสมของแก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์ มีกลิ่นเหม็นเน่าคล้ายอุจจาระ เนื่องจากการย่อยสลายของโปรตีนในไข่

รูปที่ 2.12 *Proteus mirabilis*

(ที่มา: https://www.researchgate.net/profile/Agnieszka-Grabowiecka)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa เป็นแบคทีเรียย้อมติดสีแกรมลบ (Gram negative bacteria) มีลักษณะเป็นรูปท่อนหรือโค้งเล็กน้อย เคลื่อนที่ด้วยโพลาร์แฟลกเจลลา (polarflagella) เป็นพวก obligate aerobic bacteria จัดอยู่ในวงศ์ตระกูล Enterobacteriaceae เป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติและเป็นเชื้อฉวยโอกาสในโรงพยาบาลที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องหรือผู้ป่วยที่รักษาตัวอยู่ในโรงพยาบาลเป็นเวลานานจะเสี่ยงต่อการติดเชื้อในกระแสเลือดมากจากเชื้อชนิดนี้ ยังทำให้เกิดโรคระบบ ทางเดินหายใจ ทางเดินปัสสาวะ และระบบไหลเวียนโลหิต โดยการได้รับเชื้อจากการติดต่อกันระหว่างผู้ป่วยและการบริโภคน้ำและอาหารที่ไม่สะอาด มีการรายงานว่าเชื้อชนิดนี้มีการดื้อยาปฏิชีวนะหลายชนิด ซึ่งมีแนวโน้มสูงขึ้นหากไม่มีการควบคุมการใช้ยาโดยไม่จำเป็นหรือไม่มีการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อ

รูปที่ 2.13 *Pseudomonas aeruginosa*

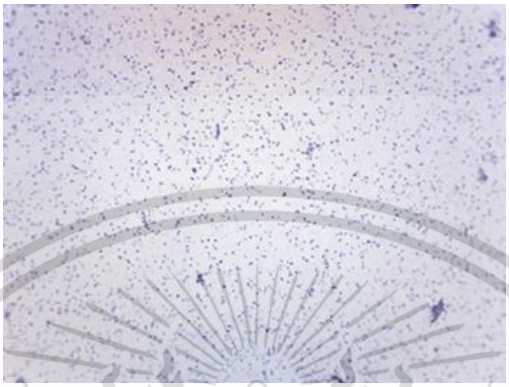
(ที่มา: https://www.flickr.com/photos/13930485@N05/1418859086)

2.7.4 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) มีรูปร่างกลมเกาะกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้น ๆ ไม่เคลื่อนที่และไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming bacteria) สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobic) เชื้อชนิดนี้เป็นปรสิตที่ผิวหนังและเยื่อเมือกของคนและสัตว์ ยังทำทำให้พลาสมาเป็นลิ่มซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดฝี แผลพุพองและเกิดการติดเชื้อหลังการผ่าตัด เป็นสาเหตุโรคอาหารเป็นพิษชนิดอินโทซิเอชั่น (intoxication) ซึ่งเกิดจากบริโภคอาหารที่มีสารพิษเอนเทโรท็อกซิน (enterotoxin) ที่เชื้อสร้างขึ้น เนื่องจากได้รับสารพิษของ *S. aureus* สารพิษนี้ทำให้กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ S. aureus สามารถผลิตสารพิษได้ 6 ชนิด ได้แก่ type A, B, C, C2, D และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

E อาหารเป็นพิษส่วนใหญ่มักเกิดจาก type A สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตสารพิษแตกต่างกันไปตามชนิดของอาหาร



รูปที่ 2.14 *Staphylococcus aureus*

(ที่มา: https://www.flickr.com/photos/13930485@N05/1418859086)

2.7.5 Bacillus subtilis

Bacillus subtilis เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) รูปร่างเป็นท่อน (rod shape)อยู่ในวงศ์ Bacillaceae สามารถสร้างแคปซูล (capsule) และสามารถสร้างแอนโดสปอร์ (endospore) ที่ทนต่อความร้อน ความแห้งแลง สารเคมี หรือทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตได้ดี พบอยู่ตามทั่วไปในธรรมชาติทั้งในดิน แหล่งน้ำ และภายในพืชโดยไม่ก่อความเสียหายแก่พืช มีประโยชน์ในทางการเกษตร ทางการแพทย์ ทางภาคอุตสาหกรรมอาหารและยา เช่น สามารถใช้ป้องกันและควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราและแบคทีเรียหลายชนิดที่เป็นสาเหตุของโรคพืช ลดการใช้ยาปฏิชีวนะในทางปศุสัตว์ เนื่องจาก *Bacillus subtilis* เป็นโปรไบโอติก (probiotics) ที่ช่วยปรับสมดุลทางเดินอาหารของสัตว์และช่วยในการเจริญเติบโตของสัตว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

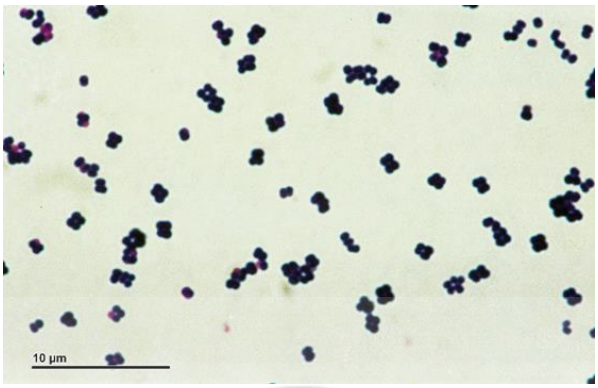
รูปที่ 2.15 *Bacillus subtilis*

(ที่มา: https://www.researchgate.net/figure/Bacillus-subtilis-showing-gram-positive-violet-rods-in-Gram-staining_fig2_319301992)

2.7.6 *Micrococcus luteus*

Micrococcus luteus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive bacteria) อยู่วงศ์ Micrococcaceae เหมือนกับ *Staphylococcus* ที่มีรูปร่างกลม และต้องการอากาศในการเจริญ (aerobic bacteria) สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ดิน ฝุ่น ตลอดจนบนผิวหนังและเยื่อเมือกบุผิวของคนและสัตว์ แบคทีเรียชนิดนี้สามารถทนต่อทั้งแรงดันออสโมซีสเนื่องจากมีผนังเซลล์ที่หนา การฉายรังสี (food irradiation) และทนต่อความเค็มของเกลือหรือเป็นแบคทีเรียที่ชอบเกลือ (halophilic bacteria) ยังเป็นสาเหตุให้อาหารหลายชนิดเน่าเสีย (microbial spoilage) เช่น ในผลิตภัณฑ์นม ไข่ เนื้อสัตว์ และอาหารทะเล ในทางการแพทย์ยังพบการก่อโรคของเชื้อชนิดนี้ได้น้อย มักเกิดการติดเชื้อฉวยโอกาสในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องและสามารถพบการปนเปื้อนของเชื้อ Micrococcus luteus ได้จากอุปกรณ์ทางการแพทย์ของโรงพยาบาล ก่อโรคทางเดินระบบทางเดินหายใจ ระบบประสาท และการติดเชื้อในกระแสเลือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

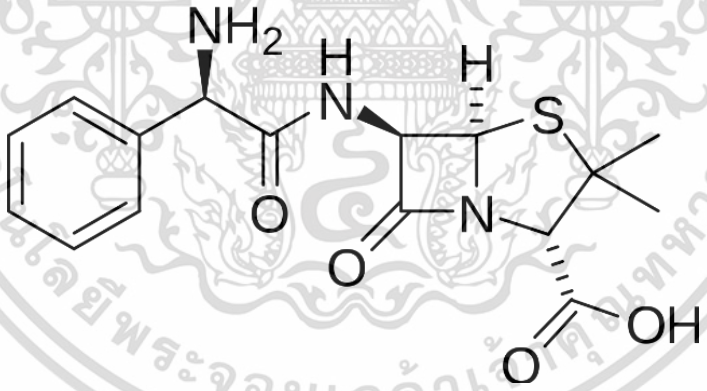


รูปที่ 2.16 *Micrococcus luteus*

(ที่มา: https://commons.wikimedia.org/wiki/Micrococcus_luteus_bacteria)

2.8 ยาต้านจุลชีพ

2.8.1 Ampicillin



รูปที่ 2.17 Ampicillin

(ที่มา: https://th.wikipedia.org/wiki/Ampicillin)

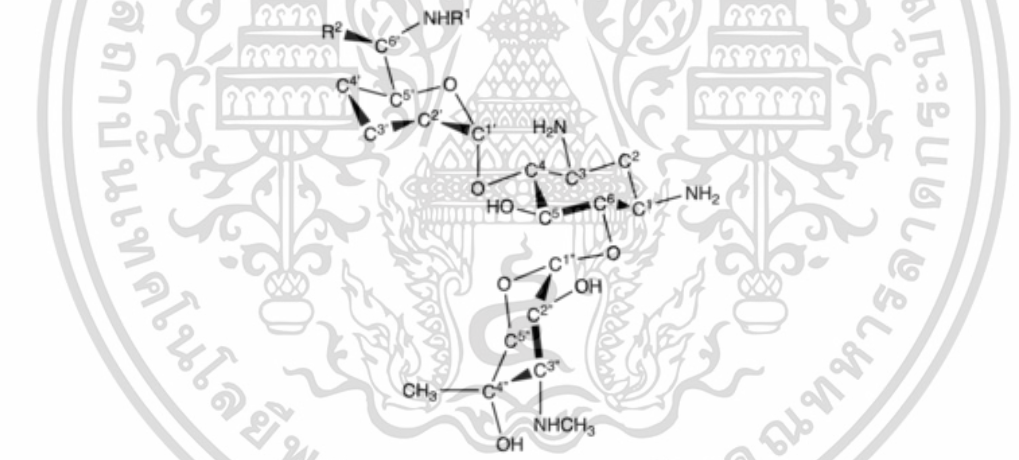
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มยา ยาปฏิชีวนะกลุ่มแอมพิซิลิน (Ampicillin)
คุณสมบัติ รักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรีย

กลไกการออกฤทธิ์ มีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย โดยจะเข้าจับกับ penicillin-binding protein (PBPs) ที่จะยับยั้งกระบวนการทรานส์เปปทิเดชันในขั้นตอนสุดท้ายของการสังเคราะห์เปปทิโดไกลแคนของผนังเซลล์ของแบคทีเรีย เป็นผลให้ยับยั้งชีวสังเคราะห์ของผนังเซลล์แบคทีเรียและหยุดการประกอบโครงสร้างของผนังเซลล์แบคทีเรียจะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ออโตไลซิน (autolysin) และมูเรอิไฮโดรเลส (murein hydrolase)

การใช้รักษาโรค โรคติดเชื้อในกระแสเลือด โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ โรคปอดอักเสบ โรคอักเสบในกระเพาะอาหาร โรคลำไส้อักเสบ และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธุ์บางชนิด

2.8.2 Gentamicin



รูปที่ 2.18 Gentamicin

(ที่มา: https://en.wikipedia.org/wiki/Gentamicin)

กลุ่มยา ยาปฏิชีวนะกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ (Aminoglycosides)
คุณสมบัติ รักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย

กลไกการออกฤทธิ์ ออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรีย ส่งผลให้เซลล์ของแบคทีเรียนั้น ๆ ขาดโปรตีนที่จำเป็นในการดำรงชีวิตและขยายพันธุ์ และตายไปในที่สุด จึงอาจกล่าวได้ว่า เจนตามัยซินเป็นยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ในการฆ่าแบคทีเรีย (bactericidal antibiotic)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้รักษาโรค ใช้รักษาการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมลบ รวมถึง Pseudomonas, Proteus, Serratia ที่ไวต่อยาและเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *staphylococcus* ที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น กระดูก ระบบทางเดินหายใจ ผิวหนังและเยื่อบุช่องท้อง ระบบทางเดินปัสสาวะและระบบเลือด

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Thi Pham และคณะ (2022) ส่วนเหนือดินของต้นต้อยตึ่งสามารถใช้รักษภาวะออกซิเดชันของการอักเสบในโรคเบาหวานได้ โดยมีฤทธิ์ต้านการอักเสบอย่างมีประสิทธิภาพมีฤทธิ์ต้านการอักเสบที่รุนแรงและขึ้นอยู่กับขนาดยา โดยมีการยับยั้งการผลิตไซโตไคน์ที่ทำให้เกิดการอักเสบของ IL-6

Anna Safitri และคณะ (2017) สารสกัดไฮโดรเอทาโนลิกของรากพลีเตคานมีสเตียรอยด์ ฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก และกรดแอสคอร์บิก ผลลัพธ์ของ LC-MS เปิดเผยว่าสารสกัดเหล่านั้นส่วนใหญ่ ประกอบด้วยสารประกอบไฟโตสเตอรอล รวมถึงสติกมาสเตอร์อล เบต้าซิสเตอรอล และแคมเพสเตอรอล

Dutta และคณะ (2020) ต้นต้อยติ่งสามารถใช้เป็นยาขับปัสสาวะ ป้องกันโรคเบาหวาน ลดไข้ ยาแก้ปวด ลดความดันโลหิต และป้องกันทางเดินอาหาร ในการรักษาโรคหนองใน และรักษาโรคนิ่วในไต รวมถึงใบมีฤทธิ์ในการต้านจุลชีพ

Md Abdul Kader และคณะ (2012) รายงานว่าสารสกัดจากรากแห้งของต้นต้อยติ่งที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก โดยมีโซนการยับยั้งสูงที่สุดเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ คือ *Shigella dysenteriae* และมีโซนการยับยั้งน้อยที่สุดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก คือ กับ *Bacillus megaterium* และสามารถยับยั้งเชื้อราได้ เช่น มีโซนการยับยั้งเชื้อรา *Candida albicans* ได้มากที่สุด

ธเนศวร นวลใย และคณะ (2021) ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้เทคนิค DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'- Amino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของส่วนแยกย่อยที่ได้จากการเพิ่มความมีขั้วของตัวชะจากเปลือกลำต้นของกรวยป่า

Arvouet Grand และคณะ (1994) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พิษต่อเซลล์ ลูกน้ำ ยาต้านจุลชีพและยาฆ่าพยาธิ และปริมาณฟีนอลของเอทานอล เมทานอล และอะซิโตนสกัดจากส่วนใบและหัวของ Cyclamen alpinum การตรวจ DPPH, ABTS, เบต้าแคโรทีน ดำเนินการในฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและทดสอบปริมาณฟีนอลและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในการตรวจวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 ส่วนต่าง ๆ ของต้นต้อยติ่ง ได้แก่ ราก ลำต้น และใบ

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1.2.1 น้ำกลั่น (Distilled water)

3.1.2.2 เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 (Ethanol, C_2H_5OH)

3.1.2.3 เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99 (Ethanol, C_2H_5O)

3.1.2.4 Folin-Ciocateu reagent

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

3.1.2.6 วิตามิน อี (2-tocopherol, Vitamin E)

3.1.2.7 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ($C_7H_6O_5$)

3.1.2.8 เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30

3.1.2.9 สารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5

3.1.2.10 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 M

3.1.2.11 สารละลายมาตรฐานควอซิติน

3.1.2.12 Folin-Denis

3.1.2.13 สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก

3.1.2.14 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.3.1 Muller Hinton Agar (MHA)

3.1.3.2 Nutrient Agar (NA)

3.1.4 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1.4.1 บีกเกอร์ (Beaker)

3.1.4.2 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 200 ml.

3.1.4.3 ขวดดูแรน ขนาด 500 ml. (Duran)

3.1.4.4 ขวดทรงลูกแพร (Evaporating flask)

3.1.4.5 หลอดทดลอง (Test tube)

3.1.4.6 แร็ควางหลอดทดลอง (Test tube Rack)

3.1.4.7 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Burner)

3.1.4.8 เพลทแก้ว (Glass Petri Dish)

3.1.4.9 กระดาษกรอง (Filter Disc)

3.1.4.10 กระบอกตวง (Measuring cylinder)

3.1.4.11 ช้อนตักสาร (Spatula)

3.1.4.12 แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)

3.1.4.13 96 – well plate

3.1.4.14 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

3.1.4.15 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

3.1.4.16 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar)

3.1.4.17 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

3.1.4.18 ชุดกรอง Buchner

3.1.4.19 ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4.20 เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator)

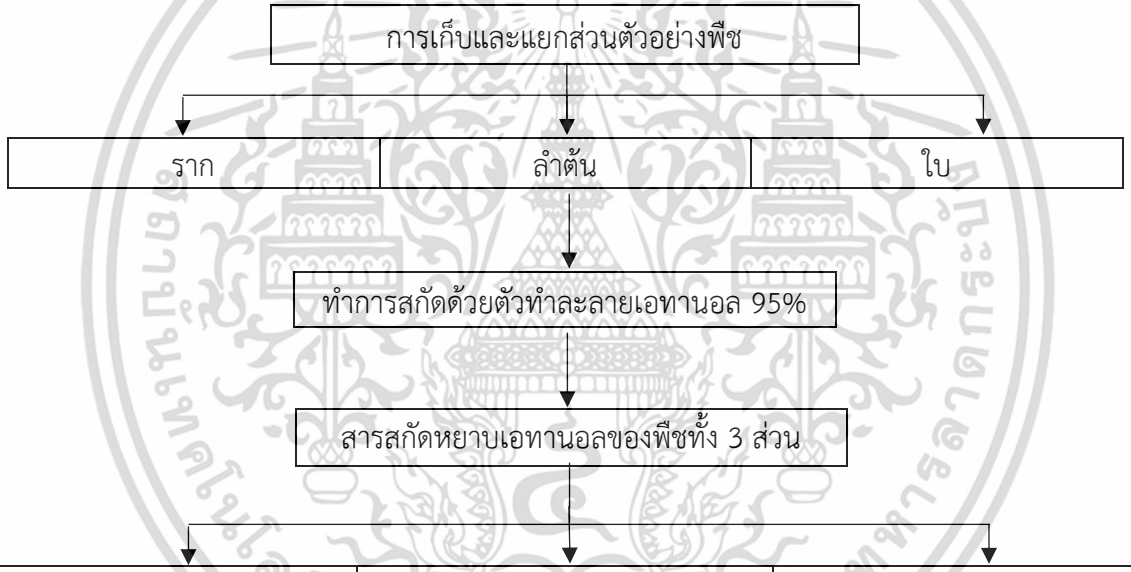
3.1.4.21 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)

3.1.4.22 กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)

3.1.4.23 เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (Microplate reader)

3.1.4.24 เครื่องอังน้ำ (Water bath)

3.2 แผนการดำเนินการวิจัย



การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น	การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	การทดสอบการต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ
- ฟลาโวนอยด์	- หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	- ทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ
- แทนนิน	- ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	- การทำ MIC (Minimum inhibitory concentration)
- แอนโทไซยานิน		- การทำ MBC (Minimum bactericidal concentration)

รูปที่ 3.1 แผนผังขั้นตอนการทำวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.3.1 การเก็บตัวอย่างพืช

3.3.1.1 ต้นต้อยติ่งไทย เก็บมาจากจังหวัดกรุงเทพ ในช่วงเดือนกรกฎาคม 2566

3.3.1.2 แยกส่วนที่ต้องการใช้ทั้ง 3 ส่วน ได้แก่ ใบ ลำต้นและ ราก นำมาแยกออกจากกัน นำไปตากในที่ร่ม จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 40 - 45 องศาเซลเซียสจนแห้งกรอบ

3.3.2 วิธีการสกัดสารตัวอย่าง

3.3.2.1 นำพืชแต่ละส่วนที่อบแห้งแล้วนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น โดยทำการแยกบดพืชทีละส่วน และนำส่วนที่บดละเอียดมาชั่งให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน

3.3.2.2 นำพืชแต่ละส่วนที่บดละเอียดมาสกัดด้วยเอทานอล 95% ด้วยวิธีการแช่ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 สัปดาห์

3.3.2.3 นำสารละลายของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ส่วนมากรองผ่านกระดาษกรอง

3.3.2.4 นำสารละลายของสารสกัดจากพืชทั้ง 3 ส่วนมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนจะได้สารสกัดหยาบชั้นเอทานอล

3.3.2.5 นำสารสกัดหยาบชั้นเอทานอลที่สกัดได้จากพืชทั้ง 3 ส่วนไปตรวจสอบสารทางพฤกษเคมีและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.3.3 การทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical Screening)

3.3.3.1 การหาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total phenolic Content)

การหาปริมาณฟีนอลิกรวมโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรดวัดด้วยเครื่อง Microplate reader โดยเตรียมสาร มาตรฐาน gallic acid ที่ความเข้มข้น 10, 1, 0.1, 0.01 และ 0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเอทานอล และเตรียมสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 10, 1, 0.1, 0.01 และ0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในเอทานอล จากนั้นนำสารละลายตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร ผสมกับ Folin-Ciocateu reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติม Sodium carbonate 7.5% ปริมาตร 80 ไมโครลิตรในหลุมไมโครเพลททิ้งไว้นาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ แบลงค์ หาปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัด โดยเปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานซึ่งเตรียมจากสารละลาย gallic acid ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารตัวอย่างแห้ง (mg GAE/g DW) หากตัวอย่างมีปริมาณฟีนอลิกสารละลายจะเปลี่ยนสีจากเหลืองอ่อนไปเป็นสีน้ำเงิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3.2 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoids Content)

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Aluminium trichloride colorimetric ($AlCl_3$) เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Arvouet-Grand และคณะ (1994) โดยใช้เคอร์ซิติน (quercetin) เป็นสารมาตรฐาน มีหลักการคือ สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจะใช้ phenolic hydroxyl groups ทำปฏิกิริยากับ $AlCl_3$ เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีเหลืองและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร โดยเตรียมสารสกัดหยาบแต่ละส่วนด้วยเมทานอลร้อยละ 30 โดยให้สารสกัดแต่ละชนิดมีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารหยาบแต่ละชนิดปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ผสมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ 5 นาทีจากนั้นเติมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ทำการทดลองทั้งหมด 4 ซ้ำ และหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานเคอร์ซิติน ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 กรัม (Quercetin equivalents, mg QE/g dried extract) ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของเควอซิตินโดยการเจือจางสองเท่า ที่ระดับความเข้มข้น 200 ถึง 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ วิธีการเช่นเดียวกันข้างต้นแต่ใช้สารละลายมาตรฐานของเควอซิตินแทนสารสกัดหยาบ แบลงค์ (blank) ใช้เมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 30 เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเควอซิตินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเควอซิตินกับค่าการดูดกลืนแสงของเควอซิตินจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงจากนั้นหาสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานที่ได้เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์

3.3.3.3 การหาปริมาณสารแทนนินรวม (Total Tannins Content)

การวิเคราะห์หาปริมาณแทนนินในสารสกัดหยาบ วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Denis วิธีของเนตรนภา เมย์กลาง และเฉลิม เรืองวิริยะชัย, 2557 เตรียมสารสกัดหยาบแต่ละส่วนด้วยเมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยให้สารสกัดแต่ละชนิด มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปีเปตสารสกัดหยาบ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้เป็น 7.5 มิลลิลิตร จากนั้นผสมสารละลาย Folin-Denis ปริมาตร 500 ไมโครลิตร โซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้เป็น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ทำซ้ำอย่างละ 4 ครั้ง นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณสารประกอบแทนนินต่อกรัมของสารสกัด (mg of tannin acid equivalent (TAE)/g of extract) ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิก ความเข้มข้น 0.1,10, 100 และ 1000 ทำการ ทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบแทนนินด้วยวิธีเดียวกับวิธีข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ แทน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดจากต้นต้อยติ่ง แบลงค์ (blank) เป็นเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแทนนิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแทนนิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง จากนั้นหาสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานที่ได้เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารประกอบแทนนิน

3.3.3.4 การหาปริมาณสารแอนโทไซยานินรวม (Total Anthocyanin Contents)

การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทซยานินโดยใช้ความแตกต่างของพีเอช (Lee และคณะ, 2005) ชั่งสารสกัดหยาบแต่ละส่วน 0.04 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปิเปตสารสกัดหยาบปริมาตร 30 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง 2 หลอด โดยหลอดแรกทำปฏิกิริยากับสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ พีเอช 1.0 ปริมาตร 270 ไมโครลิตร และหลอดที่สองทำปฏิกิริยากับสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซีเตตพีเอช 4.5 ปริมาตร 270 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทลีดเดอร์ ทำซ้ำอย่างละ 5 ครั้ง แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมของแอนโทไซยานินต่อลิตรของสารละลาย

3.3.3.5 การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging โดยใช้วิตามินอี (2-tocopherol) เป็นสารมาตรฐานมีหลักการคือสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) จะเป็นสารละลายสีม่วงและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรเมื่ออนุมูลอิสระ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) จะทำให้ สารละลายสีม่วงของ DPPH จางลงจนเป็นสารละลายสีเหลืองอ่อนและไม่ดูดกลืนแสงที่ความยาว คลื่น 517 นาโนเมตร โดยผสมสารละลายมาตรฐาน หรือสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบกับสารละลาย DPPH ที่ละลายในตัวทาละลายเอทานอล ความเข้มข้น 0.01 mM ให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาทีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรดวัดด้วยเครื่อง Microplate reader ทำการทดลองทั้ง หมด 5 ซ้ำ และคำนวณหาค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH radical inhibition) จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\% \text{ DPPH radical inhibition} = [(A-B)/A] \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.6 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เตรียมเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิดที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *E.coli* TISTR 074, *P.aeruginosa* TISTR 2370, *S.aureus* TISTR 746, *B.subtilis* TISTR 1248 และ *M.luteus* TISTR 3274 จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และ *P.mirabilis* ISO2 67211 จากสถาบันโรคผิวหนังแผนกแบคทีเรียวิทยา

3.3.7 ทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบใช้วิธี Agar well diffusion method

ศึกษาการทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบใช้วิธี Agar well diffusion method ดัดแปลงวิธีของ Mounyr Balouiri et al.,(2016) เป็นวิธีการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียโดยการนำสารที่ต้องการทดสอบอยู่ในรูปสารละลายหรือของเหลวหยอดลงในหลุม โดยให้สารที่ต้องการทดสอบแพร่ผ่านเข้าไปในรูพรุนของอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่มีเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบกระจายตัวอยู่บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง หากสารที่ต้องการทดสอบมีฤทธิ์ฆ่าหรือยับยั้งกระบวนการเติบโตของเชื้อแบคทีเรียจะปรากฏบริเวณใส (Clear zone) ขึ้นเนื่องจากไม่มีเชื้อแบคทีเรียทดสอบเจริญเติบโตกระบวนการเริ่มจากเตรียมเชื้อแบคที่เรียที่ต้องการทดสอบ การควบคุมปริมาณเชื้อต้องการ โดยการเทียบความขุ่นของสารละลายมาตรฐาน 0.5 McFarland จากวิธีการนับจำนวนเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง จากนั้นกระจายเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (Spreading) และเจาะรูให้ได้หลุมขนาด 6-8 mm บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งด้วย Pipette tip ที่ผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อ แต่ละหลุมมีปริมาตร 20-100 µL เตรียมสารละลายที่ต้องการทดสอบในความเข้มข้นที่ต้องการและหยอดลงไปในแต่ละหลุม ขั้นตอนสุดท้ายนำอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่ได้รับการหยอดสารละลายลงในหลุม บ่มในอุณหภูมิที่เหมาะสม และทำการวัดขนาดของบริเวณใสที่ปรากฏ โดยเตรียมสารละลายเชื้อแบคทีเรียในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 85 ให้มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland จุ่มไม้พันสำลีปลอดเชื้อในหลอดที่มีสารละลายเชื้อแบคทีเรีย ปริมาตร 1 มิลลิลิตรจากนั้นเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร Muller-Hinton agar (MHA) ทิ้งไว้จนผิวหน้าอาหารแห้ง เตรียมสารสกัดหยาบ แต่ละส่วนด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ให้สารสกัดหยาบมีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร โดยใช้ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลิน (ampicillin) ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นตัวควบคุมเชิงบวก สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นตัวควบคุมเชิงลบ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 - 18 ชั่งโมง จากนั้นทำการวัดขนาดของบริเวณใสที่ปรากฏ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.8 การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ยับยังเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibition concentration; MIC) (ประสาทพร บริสุทธิ์เพชร, 2551)

การวิเคราะห์เชิงปริมาณเพื่อศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบของต้นต้อยติ่งที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ด้วยวิธี Broth micro dilution โดยจะทำการทดลองใน microtiter plate 96-well เจือจางตัวอย่างสารสกัดหยาบส่วนต่าง ๆที่ความเข้มข้น 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 และ200 ตามลำดับ ใส่ลงในหลุม 100 ไมโครลิตร มีหลุมควบคุมเป็น broth ที่ไม่มีสารสกัดสกัดหยาบแต่ละส่วน จากนั้นใส่เชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบในอาหารเหลว NB ปรับความขุ่นให้ใกล้เคียงกับ 0.5 McFarland Standard ใส่ลงในหลุม ๆละ 100 ไมโครลิตร โดยในแต่ละหลุมจะมีปริมาตรเท่ากับ 200 ไมโครลิตร แล้วปิดฝาก่อนนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 18- 24 ชั่วโมง อ่านผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) โดยสังเกตหลุมสุดท้ายที่ใสและไม่มีตะกอนจุลินทรีย์ก้นหลุมที่ก้นหลุม ซึ่งวิธีการนี้เหมาะสำหรับการนำมาใช้ศึกษาสมุนไพรเนื่องจากสามารถลดการรบกวนการอ่านผลคลาดเคลื่อนจากสีและความขุ่นของสมุนไพรบางชนิดได้

3.3.9 การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimum bacterial concentration; MBC)

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรียทำได้โดยการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญในอาหารเหลว (MIC) แล้วไม่สามารถวัดผลโดยการดูจากความขุ่นได้หรือสังเกตุว่าหลุมสุดท้ายมีความใสไม่มีตะกอนจุลินทรีย์ก้นหลุม ทำการวัดผลโดยนำมาทำการ simple streak ลงบนอาหารแข็ง Nutrient agar แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดผลโดยดูการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารแข็ง ถ้าเชื้อไม่สามารถเจริญได้แสดงว่าสารสกัดที่ความเข้มข้นนั้นเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สารสกัดจากต้นต้อยติ่งสามารถยับยั้งเชื้อได้

3.3.10 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำผลการทดลองที่ได้มารายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองซ้ำ และนำไปวิเคราะห์ทางสถิติที่ความแปรปรวนความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง และอภิปรายผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าสารสกัดส่วนต่าง ๆ ของต้นต้อยติ่งมีปริมาณสารพฤกษเคมี สารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 6 ชนิด ดังนี้

4.1 สารสกัดหยาบจาก ราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

ทำการเก็บตัวอย่างต้นต้อยติ่งส่วนต่าง ๆไปทำความสะอาด และตากในที่ร่มนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนเป็นเวลา 24-72 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดให้ละเอียด แล้วนำส่วนที่บดละเอียดแล้วแช่ในตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 จากนั้นนำไประเหยเอทานอลด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ จนได้สารสกัดหยาบ พบว่าร้อยละผลได้ของสารสกัดหยาบส่วนของราก ต้น และใบ มีค่าเท่ากับ ตามลำดับ ดังในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าร้อยละผลได้ของสารสกัดหยาบตัวอย่างของต้นต้อยติ่ง

สารสกัดหยาบ	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ร้อยละผลที่ได้ (%yield)	ลักษณะของสารสกัด
ราก	1000	14.64	1.464	สีน้ำตาลเข้ม ค่อนข้างแห้ง รวมเป็นเนื้อเดียวกัน
ต้น	1000	13.60	1.360	สีเขียวเข้มออกน้ำตาล ค่อนข้างแห้งเป็นเนื้อเดียวกัน
ใบ	1000	16.58	1.658	สีเขียวเข้ม มีส่วนที่เป็นน้ำมันผสมอยู่ลักษณะหนืดข้น เป็นเนื้อเดียวกัน

4.2 การศึกษาสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบจาก ราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

สารพฤกษเคมี เป็นสารเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบเฉพาะในพืช สารพฤกษเคมีเหล่านี้หลายชนิดมีฤทธิ์ต่อต้านหรือป้องกันโรคบางชนิด รวมถึงฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นสารสกัดหยาบส่วนต้นมีปริมาณสารพฤกษเคมีมากเป็นส่วนใหญ่เมื่อเทียบกับสารสกัดหยาบส่วนราก และส่วนใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1 การวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

จากการวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งด้วยวิธี Aluminium trichloride colorimetric ($AlCl_3$) เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Arvouet-Grand และคณะ (1994) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร นำมาคำนวณจากกราฟมาตรฐานพบว่าในสารสกัดส่วนต้นมีสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุดคือ 0.30 มิลลิกรัมของควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาคือสารสกัดส่วนรากพบสารประกอบฟลาโวนอยด์ 0.25 มิลลิกรัมของควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด ในขณะที่สารสกัดส่วนใบพบสารประกอบฟลาโวนอยด์น้อยที่สุดคือ 0.07 มิลลิกรัม ของควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yesi และคณะ (2014) พบว่าสารสกัดจากใบของ *Ruellia tuberosa* L. ที่สกัดด้วยเอทานอล มีปริมาณมาณฟลาโวนอยด์ 0.0866±0.0003 และจากงานวิจัยของ Churdsak และคณะ (2016) พบว่าสารสกัดจากลำต้นมีปริมาณฟลาโวนอยด์ 0.29±0.04 สารสกัดราก 0.21±0.03 ซึ่งผลการทดลองจากการรายงานของทั้งสองสองสอดคล้องกับผลการทดลองนี้ ฟลาโวนอยด์ยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อ *Vibrio harveyi*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium* จากการรายงานของ Olajide และคณะ (2023)

ตารางที่ 4.2 แสดงค่าปริมาณสารสกัดฟลาโวนอยด์ในสารสกัดของราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

สารสกัดหยาบ	ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg QE/g extract)
ราก	0.25 ± 0.00^{b}
ต้น	0.30 ± 0.00^{a}
ใบ	0.07 ± 0.00^{c}

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ไม่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

จากการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำมาคำนวณจากกราฟมาตรฐานพบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนใบ และรากมีปริมาณฟีนอลิกสูงสุดคือ 0.47 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และ 0.45 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ ส่วนที่มีปริมาณฟีนอลิกน้อยที่สุดคือสารสกัดหยาบจากต้นคือ 0.37 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ดังตารางที่ 4.3 โดยปริมาณของฟีนอลิกทั้งหมดยังขึ้นกับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ดังรายงานของ Seenivasan และคณะ (2023) ใช้ตัวทำลาลาย 4 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน อะซิโตน เมทานอล และน้ำ ในการสกัดจากใบของ *Ruellia patula* มีปริมาณฟีนอลทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประมาณ 142.94±1.01, 104.41±7.06, 14.37±00 มิลลิกรัมของกรดแกลลิก/กรัม ของสารสกัดใน อะซิโตน เมทานอล และน้ำ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าผลของตัวทำละลายมีผลต่อปริมาณของฟีนอลิกทั้งหมด ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของพืชจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาผลของปริมาณนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้ และจากการรายงานของ Luccini และคณะ (1990) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกและอะโรมาติกแอลกอฮอล์ มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนและอาร์เอนเอ และมีผลต่อการทำลายองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ได้โดยเฉพาะในแบคทีเรียแกรมลบ อาจมาจากองค์ประกอบของ lipophilia การรายงานของ Haliwell และคณะ (1987) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกยังทำหน้าที่ทั้งเป็นสารให้อิเล็กตรอนหรือเป็นสารให้ไฮโดรเจนและกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟ ทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าปริมาณสารสกัดฟีนอลิกในสารสกัดของราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

สารสกัดหยาบ	ปริมาณฟีนอลิก (mg QE/g extract)
ราก	0.45 ± 0.08^{a}
ต้น	0.37 ± 0.04^{b}
ใบ	0.47 ± 0.02^{a}

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ไม่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.2.3 การวิเคราะห์หาสารประกอบแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

จากการวิเคราะห์หาสารประกอบแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบของต้นต้อยติ่งส่วนราก ต้น และใบที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบจากรากมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุดคือ 17.53 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตร (437.5 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อกรัมของสารสกัด) ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับอีก 2 ส่วน และสารสกัดหยาบจากต้นและใบ มีปริมาณแอนโทไซยานิน คือ 1.00 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตร (25 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อกรัมของสารสกัด) และ 0.17 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตร (5 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อกรัมของสารสกัด) ตามลำดับ จากงานวิจัยของ Safriti และคณะ (2019) รายงานว่าปริมาณแอนโทไซยานินจากสารสกัดจากดอกสีม่วงของต้น *Ruellia tuberosa* L. ที่สกัดด้วยเมทานอล มีปริมาณสูงที่ 1.503 mg/L จากสารสกัดดอกทั้งหมด 19.22% ของตัวอย่างทั้งหมดที่สกัดได้ เนื่องจากสารสกัดเปลี่ยนเป็นสีแดง มีความไวต่อค่าพีเอชของฟอสเฟตที่พีเอชในช่วงกรดเพราะทำให้การดูดซับดีกว่าซิเตรท ประกอบกับแอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่ทำให้เกิดสีแดงถึงม่วงถึงน้ำเงิน ปริมาณแอนโทไซยานินขึ้นกับความเข้มข้นของสี เฉดสี ความคงตัว ผลของค่าพีเอช รวมถึงความสเถียรของเม็ดสี มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Wrolstad และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะ (2006)) ดังนั้นจากผลการทดลองพบว่ารากมีปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุดอย่างเห็นได้ชัด เมื่อเปรียบเทียบลำต้นและใบ เป็นผลมาจากรากมีสีของสารสกัดเป็นสีออกแดงเมื่อเกิดปฏิกิริยา ซึ่งดูดซับดีในช่วง 460-560 นาโนเมตร และมีความไวต่อพีเอชในของ pH 1 โครงสร้างของแอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปออกโซเนียมซึ่งมีสีซึ่งมีค่าดูดกลืนแสงมากกว่า จึงมีปริมาณฟลาโวนอยด์อยู่มากกว่าส่วนอื่น ๆ

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าสารประกอบแอนโทไซยานินของสารสกัดของราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

สารสกัดหยาบ	ปริมาณแอนโทไซยานิน	
	(mg cyanidin-3-glucoside/l extract)	(mg cyanidin-3-glucoside/g extract)
ราก	17.53±0.00[a]	437.5
ต้น	1.00±0.00[b]	25
ใบ	0.17±0.00[c]	5

4.2.4 การหาสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบจากส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

จากการวิเคราะห์หาสารประกอบแทนนินในสารสกัดจากส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี Folin-Denis ของเนตรนภา, 2557 พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนต้นพบสารประกอบแทนนินมากที่สุด คือ 0.120 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาคือส่วนของรากพบสารประกอบแทนนิน คือ 0.118 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกัน ในขณะที่ส่วนของใบพบสารประกอบแทนนินน้อยที่สุด คือ 0.108 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด จากงานวิจัยของ Mudiganti และคณะ (2015) จากงานวิจัยของ Gokulakrishnan และคณะ (2023) ทำการวิเคราะห์หาสารพฤกษเคมีของราก ดอก ใบ และเมล็ดของต้นต้อยติ่งหรือ *Ruellia tuberosa* L. โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 4 ชนิด คือเอทานอล เมทานอล คลอโรฟอร์ม และแอซีโทน พบว่ามีแทนนินอยู่ในราก ดอก และใบทุกตัวทำละลายที่ใช้สกัด แต่ในเมล็ดที่สกัดโดยใช้เอทานอลเป็นเพียงชนิดเดียวที่พบแทนนินอยู่ ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดจึงเป็นสิ่งสำคัญในการเลือกใช้ ซึ่งความสามารถของแทนนินในการยับยั้งเชื้อเป็นไปตามงานวิจัยของ Akiyama และคณะ (2004) พบว่าสารประกอบแทนนินมีฤทธิ์ฝาดสมานสามารถกระตุ้นการก่อตัวของสารประกอบเชิงซ้อนด้วยโปรตีนจากแบคทีเรีย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Moyo และคณะ (2006) พบว่าพันธะระหว่างสารประกอบฝาดสมานของสารประกอบแทนนินกับโปรตีนผนังเซลล์ของแบคทีเรียทำให้โปรตีนจากแบคทีเรียถูกทำลาย เมื่อผนังเซลล์ถูกรบกวนโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์จะรบกวนการทำงานของเอนไซม์ทำให้ผนังเซลล์เกิดความเปราะบาง ส่งผลให้ผนังเซลล์อ่อนแอ และเซลล์จะแตกหรือสลายจนแบคทีเรียตาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงค่าปริมาณแทนนิน ในสารสกัดของราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

สารสกัดหยาบ	ปริมาณแทนนิน (mg TAE/g extract)
ราก	0.118 ± 0.00^{ab}
ต้น	0.120 ± 0.00^{a}
ใบ	0.108 ± 0.00^{b}

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ไม่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.3 การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

จากการนำสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบทดสอบสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) เมื่ออนุมูลอิสระ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) จะทำให้ สารละลายสีม่วงของ DPPH จางลงจนเป็นสารละลายสีเหลืองอ่อนและไม่ดูดกลืนแสงที่ความยาว คลื่น 517 นาโนเมตร โดยเจือจางสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นต่ำสุด (1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สารสกัดหยาบส่วนต้นมีค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับร้อยละ 50.94 รองลงมาคือสารสกัดหยาบส่วนรากมีค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระเท่ากับร้อยละ 26.14 และสารสกัดหยาบส่วนของใบมีค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระเท่ากับร้อยละ 5.87 เมื่อความเข้มข้นของสารน้อยลงค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระจะมีค่าน้อยลงด้วยเมื่อนำมาเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวกคือ วิตามินอี (l- tocopherol) มีค่าร้อยละเท่ากับ 77.84 ดังตารางที่ 4.6

จากตารางที่ 4.6 เมื่อสร้างกราฟเปรียบเทียบร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH กับค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) พบว่าสารสกัดส่วนต้นมีประสิทธิภาพในการดักจับอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ 1.8914 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดจากรากและใบ คือ 4.2893 และ 12.333 ตามลำดับ จากการศึกษาผลของร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าใบมีร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระมากที่สุด และมีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) สูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับลำต้นและราก ตามลำดับ จากการรายงานของ Chew และคณะ 2011 ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารกสัดฟีนอลจากหญ้าหนวดแมวในการหาร้อยละในการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสกัดฟีนอลโดยใช้เอทานอล 40% เป็นเวลา 120 นาที ตรวจวัดที่ 650 nm และพบว่าตัวทำละลายที่ใช้สกัดมีผลต่อกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยใช้เอทานอลและเอทิลอะซิเตต มีปริมาณ IC_{50} สูงสุดที่ 196.41 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร และ 68.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ จากการสารสกัดหยาบของดอก *Ruellia brittoniana* หรือต้อยติ่งฝรั่ง งานวิจัยของ Effat และคณะ (2007) จากงานวิจัยของ Cheong และคณะ (2013) พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างปริมาณฟีนอลและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดซึ่งมีปริมาณที่ขึ้นกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดในการศึกษานี้ ปริมาณฟีนอลและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด จากการวิเคราะห์ใบและก้านของ Sabah *R. tuberosa* วิธีการวิเคราะห์ 2,2′-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

assay เป็นวิธีวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดในสารสกัดธรรมชาติ จะแสดงผลออกมาในค่า IC_{50} ได้ทำการเปรียบเทียบ IC_{50} ที่ปราศจากอิทธิพลของความเข้มข้น DPPH เพื่อประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบธรรมชาติโดยใช้กรดแอสคอร์บิก เควอซิติน และสารสกัดเอทานอลของ *Justicia spicigera* พบว่าให้ค่าไม่แตกต่างกัน เพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการวิเคราะห์ดังในงานวิจัยของ Flavio และคณะ (2020) ซึ่งค่า IC_{50} หมายถึงค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระลดลง 50% หากความเข้มข้นของอนุมูลอิสระมีค่าน้อยแสดงว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้สูง

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ที่ความเข้มข้นต่าง ๆของสารสกัดหยาบจากส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	**ร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH**		
	ราก	**ต้น**	**ใบ**
1.25	26.14	50.94	5.87
2.5	39.93	65.17	12.96
5	67.23	76.39	21.43
10	75.34	79.51	40.77
α-tocopherol (10 มิลลิโมลาร์)	77.84		
IC_{50}	4.2893 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	1.8914 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	12.333 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ลำต้นมีการดักจับอนุมูลอิสระเป็นอันดับ 1 เพราะมีปริมาณฟลาโวนอยด์และแทนนินมากที่สุด เนื่องจากฟลาโวนอยด์มีความสามารถในการทดแทนไดไฮดรอกซีบีริงในการตอบสนองต่อความเครียด ซึ่งช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา reactive oxygen species (ROS) และสามารถลดระดับของ ROS ที่เป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระจากการศึกษาของ Agati และคณะ (2012) และแทนนินมีความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ การคีเลตของโลหะทรานซิชัน การยับยั้งเอนไซม์โปรออกซิเดชั่น และการเกิดออกซิเดชันของไขมัน จากการศึกษาของ Koleckar และคณะ (2008) รวมถึงแทนนินและฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบฟีนอลิก ทำหน้าที่ทั้งเป็นสารให้อิเล็กตรอนหรือเป็นสารให้ไฮโดรเจนและ กำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟ ทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้

สารพฤกษเคมีที่พบในราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่งนั้นอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระที่มีปริมาณแตกต่างกัน เป็นผลมาจากชนิดและปริมาณของสารพฤกษเคมีที่พบ ซึ่งขึ้นอยู่กับตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ วิธีที่ใช้

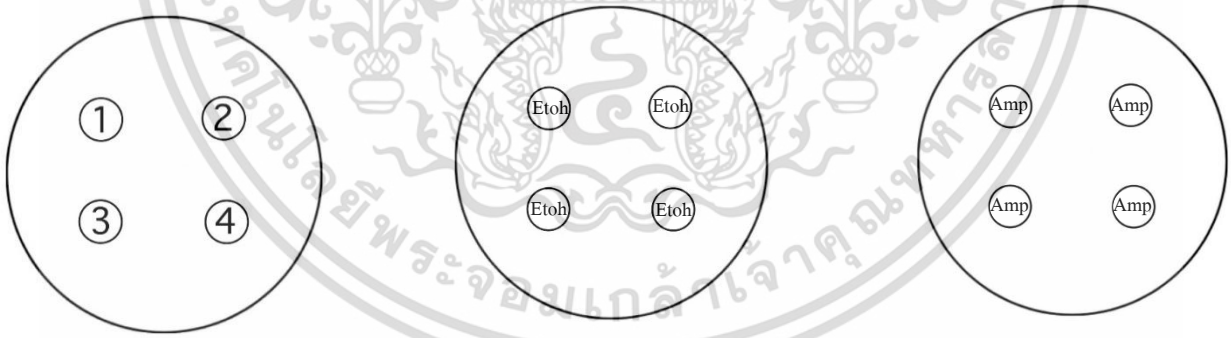
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดนั้นมีผลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีที่ได้ ซึ่งตรงกับรายงานของ Gluglani และคณะ (2020) ได้ทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่เป็นน้ำและแอลกอฮอล์จากส่วนต่างๆ ของพืช ได้แก่ ใบ ดอก ลำต้น และ ราก ของ *Ajuga bracteosa* พบว่าจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS สารสกัดจากใบมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด เนื่องจากสารสกัดจากใบมีปริมาณของฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และแทนนิน มากที่สุด เมื่อเทียบกับชนิดของตัวอย่างและตัวทำละลายแอลกอฮอล์ที่ใช้ ดังนั้นปริมาณสารพฤกษเคมีจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำการวิเคราะห์ ซึ่งอาจมีปัจจัยอื่นๆ ร่วมด้วย

4.4 การศึกษาฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบใช้วิธี Agar well diffusion method

4.4.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion method

ดัดแปลงวิธีของ Mounyr Balouiri และคณะ (2016) โดยนำสารสกัดหยาบราก ต้น และใบที่ได้จากต้อนต้อยติ่งมาทำการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 ชนิดที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *E. coli* TISTR 074, *P. aeruginosa* TISTR 2370, *S. aureus* TISTR 746, *B. subtilis* TISTR 1248, *M. luteus* TISTR 3274 และ *P. mirabilis* ISO2 67211 ด้วยวิธี Agar well diffusion ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจากนั้นตรวจผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางรอบแผ่นทดสอบบริเวณที่ไม่มีเชื้อเจริญ (Inhibition zone)



1 = สารสกัดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2 = สารสกัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3 = สารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4 = สารสกัดที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

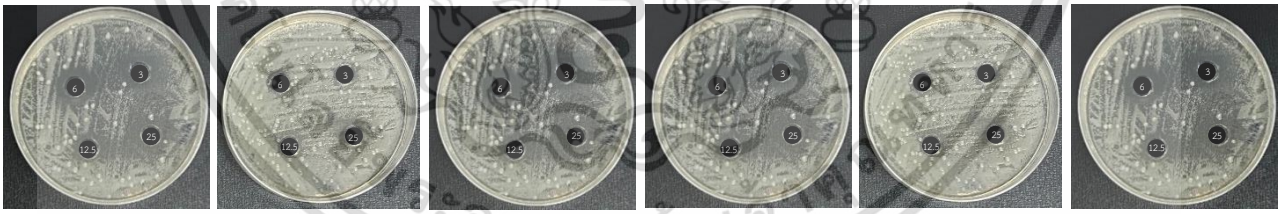
Etoh = เอทานอลร้อยละ 95

Gen/Amp = ยาปฏิชีวนะ

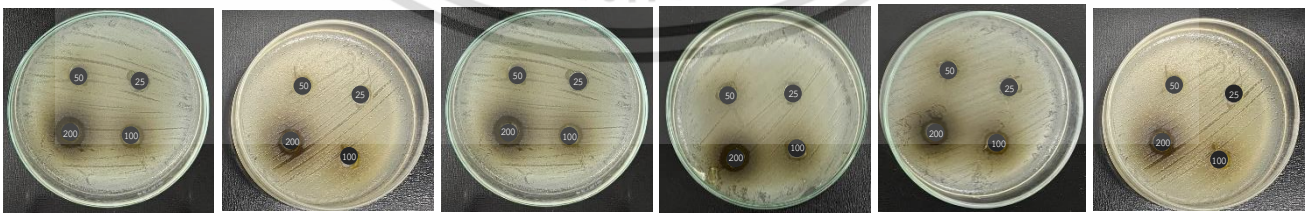
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1.1 การศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli*

จากการศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นพบในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ผลดังตารางที่ 4.7 พบว่าสารสกัดหยาบส่วนรากของต้นต้อยติ่งมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสูงสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งได้คือ 12.00 และ 15.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในการทดสอบของส่วนต้นมีการยับยั้งมีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสูงสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งได้คือ 8.67 และ13.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ และในการทดสอบของส่วนใบของต้นต้อยติ่งมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสูงสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งได้คือ 10.00 และ 12.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบกับงานวิจัยของ Majida และคณะ (2019) ได้ทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย E. coli โดยใชสารสกัดสารสกัดไฮโดรเอทานอลจากราก *Ruellia tuberosa* L. ที่สกัดด้วย ethanol 96% พบว่ามีค่า Inhibition zone(mm) มากที่สุดอยู่ที่ 15 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้นของสารสกัดรากที่ 100 %(v/v) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในตัวอย่างใบที่ ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งค่าอาจแตกต่างไปบ้างอาจเป็นผลมาจากวิธีการเจือจางตัวอย่างที่จะนำมาทดสอบ แหล่งที่มาของพืช รวมถึงความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากตัวผู้ทดลอง และในรากมีแอนโทไซยานินอยู่สูงที่สุดซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ E. coli ซึ่งสอดคล้องกับผลของประสิทธิภาพของแอนโทไซยานินจากแครนเบอร์รี่อเมริกันในการลดความสามารถการเจริญเติบโตของ E. coli O157:H7 โดยใช้แอนโทไซยานินความเข้มข้น 14.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังรายงานของ Lacombe และคณะ (2010)

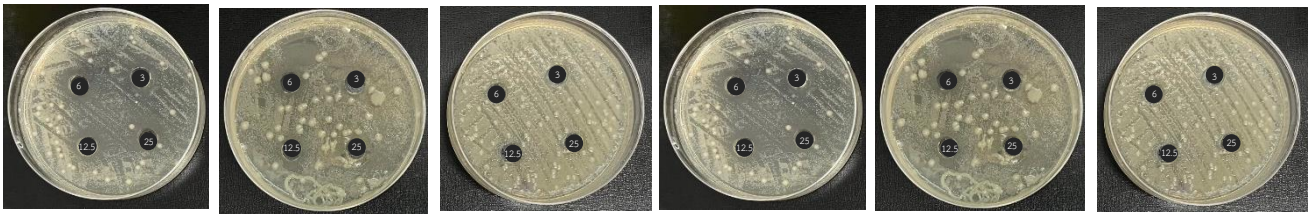


(ก)

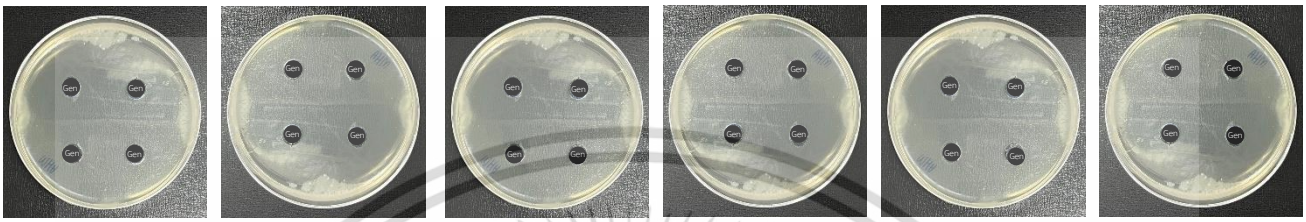


(ข)

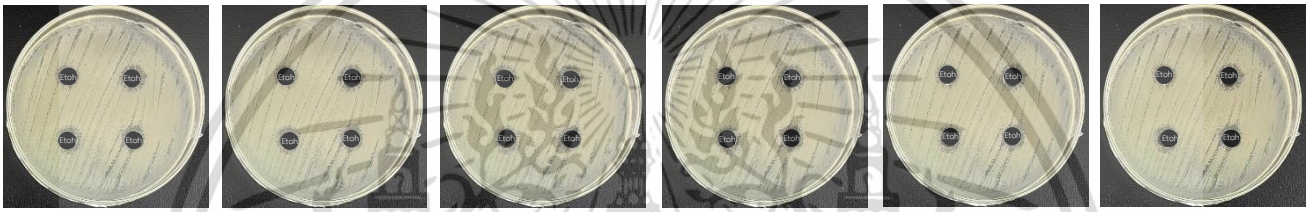
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ค)



(ง)



(จ)

รูปที่ 4.1 ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *E.coli* ของสารสกัดหยาบส่วน (ก) ราก (ข) ต้น (ค) ใบ (ง) Gen (Gentamycin) (จ) Etoh (Ethanol95%)

ตารางที่ 4.7 ตารางแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E.coli* จากสารสกัดส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

สารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)	ยาปฏิชีวนะ Gentamycin 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	เอทานอลร้อยละ 95
ราก	6.25	6.00 ± 0.00^{h}	40.00 ± 0.00^{a}	6.00 ± 0.00^{h}
	12.5	9.33 ± 1.16^{fg}	40.00 ± 0.00^{a}	6.00 ± 0.00^{h}
	25	10.67 ± 0.58^{defg}	40.00 ± 0.00^{a}	6.00 ± 0.00^{h}
	50	12.00 ± 2.00^{cdef}	40.00 ± 0.00^{a}	6.00 ± 0.00^{h}
	100	13.67 ± 3.79^{bc}	40.00 ± 0.00^{a}	6.00 ± 0.00^{h}
	200	15.33 ± 4.16^{b}	40.00 ± 0.00^{a}	6.00 ± 0.00^{h}
ต้น	50	6.00 ± 0.00^{h}	40.00 ± 0.00^{a}	6.00 ± 0.00^{h}
	100	8.67 ± 2.30^{gh}	40.00 ± 0.00^{a}	6.00 ± 0.00^{h}
	200	13.00 ± 1.15^{bcd}	40.00 ± 0.00^{a}	6.00 ± 0.00^{h}
ใบ	6.25	6.00 ± 0.00^{h}	40.00 ± 0.00^{a}	6.00 ± 0.00^{h}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

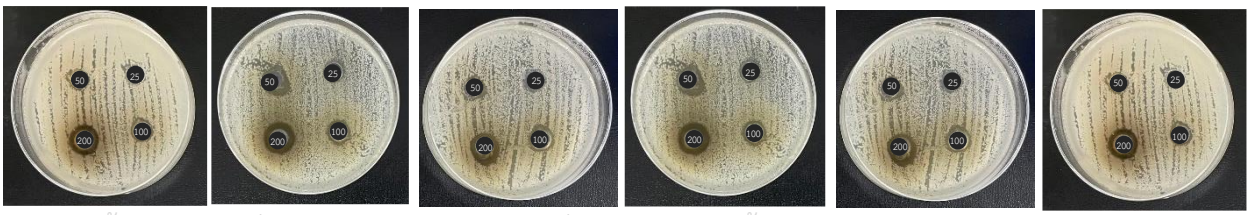
	12.5	10.00±0.00^{efg}	40.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
	25	11.67±0.58^{cdef}	40.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
	50	11.00±1.00^{cdefg}	40.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
	100	11.33±0.58^{cdefg}	40.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
	200	12.67±0.58^{bcde}	40.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในตารางเดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

หมายเหตุ : ขนาดของหลุม = 6 มิลลิเมตร

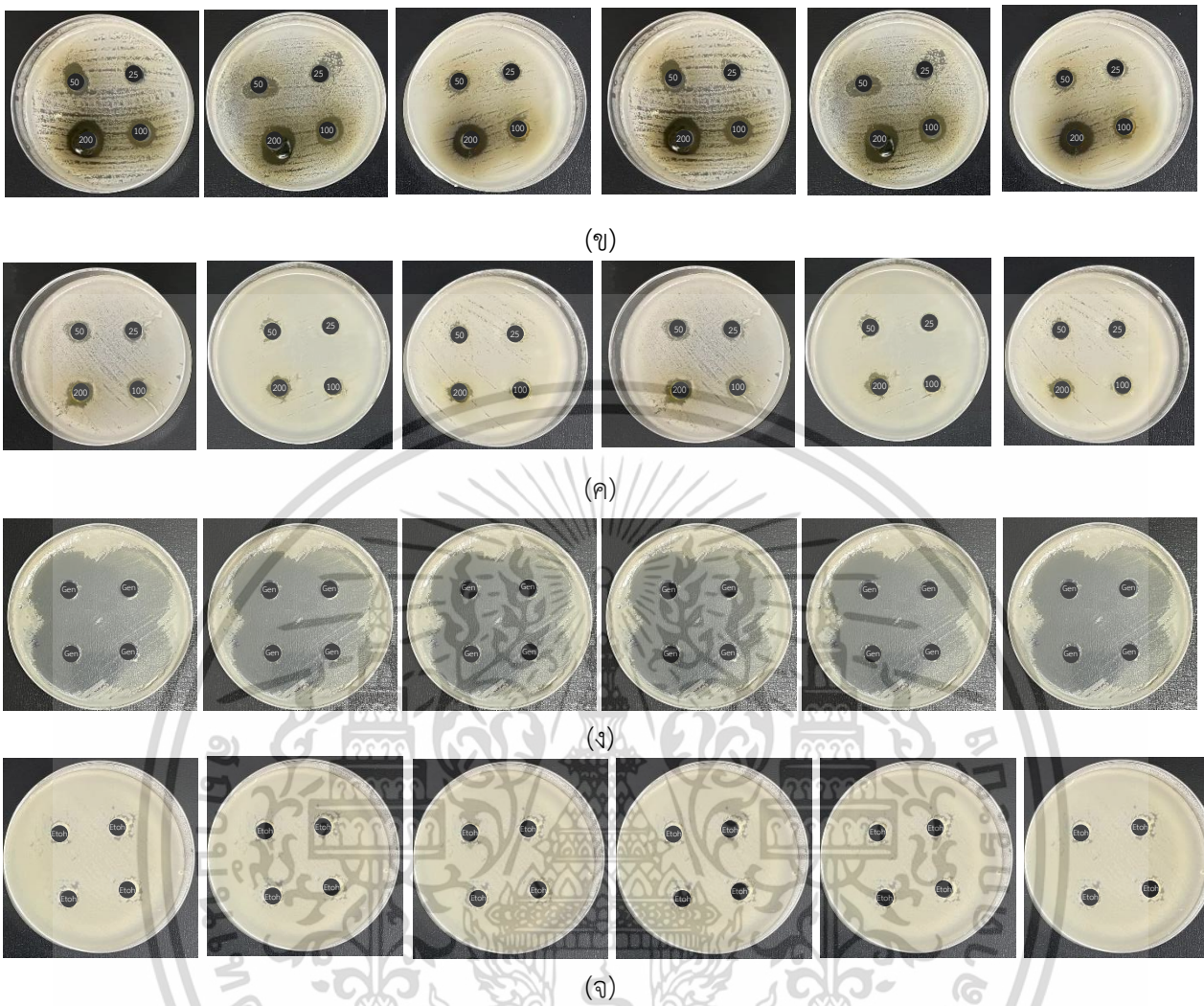
4.4.1.2 การศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa*

จากการศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นพบในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ผลดังตารางที่ 4.8 พบว่าสารสกัดหยาบส่วนรากของต้นต้อยติ่งมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสูงสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งได้คือ 10.33 และ13.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ และในการทดสอบของส่วนต้นมีการยับยั้งมีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสูงสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งได้คือ 10.67 และ 15.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ และใบของต้นต้อยติ่งมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งได้คือ 11.00 มิลลิเมตร โดยสารสกัดจากรากและใบให้ให้ผลบริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อไม่แตกต่างกันมากนักอาจเป็นผลมาจากทั้งสองส่วนนี้มีปริมาณของแอนโทไซยานินใกล้เคียงกันจึงมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ซึ่งผลการยับยั้งอาจสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jerayaj และคณะ (2022) ทำการศึกษาผลของแอนโทไซยานินจากสารสกัดดอกอัญชันหรือ *Clitoria ternatea* ซึ่งเป็นส่วนที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูง เพื่อใช้ในการยับยั้งไบโอฟิล์มของเชื้อ *P. aeruginosa* พบว่าสามารถยับยั้งไบโอฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าความเข้มข้นของการยับยั้งฟิล์มชีวะต่ำสุดอยู่ระหว่าง 0.625 ถึง 5.0 mg ml^{-1} ซึ่งแอนโทไซยานินมีกลไกลในการลดการเกาะติดของแบคทีเรียได้บนโพลีสไตรีนได้อย่างมีนัยสำคัญ



(ก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดหยาบส่วน (ก) ราก (ข) ต้น (ค) ใบ (ง) Gen (Gentamycin) (จ) Etoh (Ethanol95%)

ตารางที่ 4.8 ตารางแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P.aeruginosa* จากสารสกัดส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

สารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)	ยาปฏิชีวนะ Gentamycin 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	เอทานอลร้อยละ 95
ราก	200	13.00 ± 1.00^{c}	32.00 ± 0.00^{a}	6.00 ± 0.00^{e}
	100	10.33 ± 1.53^{d}	32.00 ± 0.00^{a}	6.00 ± 0.00^{e}
	50	6.00 ± 0.00^{e}	32.00 ± 0.00^{a}	6.00 ± 0.00^{e}
ต้น	200	15.00 ± 1.73^{b}	32.00 ± 0.00^{a}	6.00 ± 0.00^{e}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	100	10.67±2.31^{d}	32.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{e}
	50	6.00±0.00^{e}	32.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{e}
ใบ	200	11.00±1.73^{d}	32.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{e}
	100	6.00±0.00^{e}	32.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{e}
	50	6.00±0.00^{e}	32.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{e}

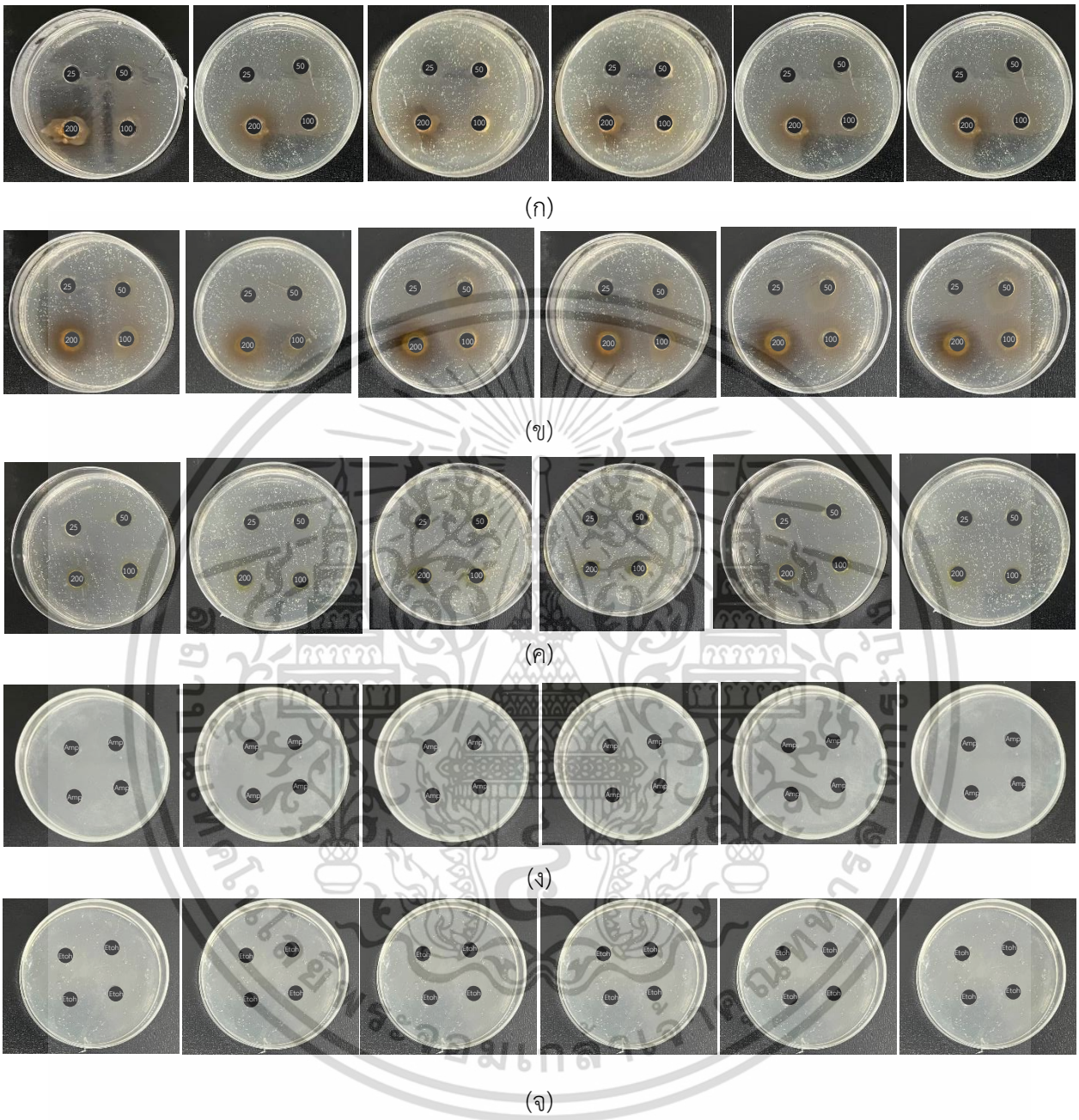
หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในตารางเดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

หมายเหตุ : ขนาดของหลุม = 6 มิลลิเมตร

4.4.1.3 การศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. luteus*

จากการศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นพบในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. luteus* ได้ผลดังตารางที่ 4.9 พบว่ารากของต้นต้อยติ่งมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสูงสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งได้คือ 10.00 และ 22.67 มิลลิเมตร ตามลำดับในการทดสอบของส่วนต้นมีการยับยั้งมีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. luteus* ได้ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสูงสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งได้คือ 10.67 และ22.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ และในการทดสอบของสารสกัดหยาบส่วนใบมีการยับยั้งมีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. luteus* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสูงสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งได้คือ 10.33 และ 13.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ ผลของบริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อของสารสกัดจากรากและลำต้นให้ผลไม่แตกต่างกันมากนัก อาจเป็นผลมาจากสารสกัดจากรากและลำต้นมีปริมาณสูงกว่าใบ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Viskelis และคณะ (2009) ทำการศึกษาปริมาณของปริมาณฟีนอล แอนโทไซยานิน และกรดแอสคอร์บิก ของแครนเบอร์รี่จากระยะการสุก 4 ระยะ พบว่ามีปริมาณสูงในระยะที่ 2 เท่าๆ กันทุกระยะ และระยะที่ 1 ถึง 3 ตามลำดับ ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Bacillus cereus (ATCC 10876) และ Micrococcus luteus (ATCC 9341) ได้มากที่สุดในบรรดาแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบอื่น ๆ ประกอบกับรายงานของ Agnieszka และคณะ (2011) รายงานว่าแอนโทไซยานินมีผลในการออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ โดยแบคทีเรียนแกรมบวกมีความไวต่อแอนไซยานินมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เป็นผลมาจากกลไกการทำงานของแอนโทไซยานิน ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างเมมเบรนกับภายในเซลล์ของสารประกอบต่างชนิดของแอนโทไซยานินรวมถึงการทำงานรวมกันระหว่างแอนโทไซยานินและสารประกอบอื่น ๆ เช่น กรดอินทรีย์อ่อนและกรดฟีนอลิก หรืออาจเป็นผลมาจากการรายงานของ Wu กับ Lacombe และคณะ (2008 และ 2010) พบว่าแครนเบอร์รี่เข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรส่งผลให้เกิดความเสียหายทางสัณฐานวิทยาของเซลล์แบคทีเรีย เช่น การสูญเสียความสมบูรณ์ของโครงสร้างของผนัง เยื่อหุ้มเซลล์ และเมทริกซ์ในเซลล์ การเสียรูปของเซลล์ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *M. luteus* ของสารสกัดหยาบส่วน (ก) ราก (ข) ต้น (ค) ใบ (ง) Amp (Ampicillin) (จ) Etoh (Ethanol95%)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ตารางแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *M. luteus* จากสารสกัดส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

สารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)	ยาปฏิชีวนะ Ampicillin 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	เอทานอลร้อยละ 95
ราก	200	22.67±1.16^{b}	50.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
	100	14.33±2.08^{cd}	50.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
	50	11.67±0.58^{defg}	50.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
	25	10.00±0.00^{g}	50.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
	12.5	6.00±0.00^{h}	50.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
ต้น	200	22.00±2.00^{b}	50.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
	100	16.67±3.06^{c}	50.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
	50	13.33±2.31^{de}	50.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
	25	10.67±1.15^{efg}	50.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
	12.5	6.00±0.00^{h}	50.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
ใบ	200	13.00±0.00^{def}	50.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
	100	11.67±1.53^{defg}	50.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
	50	11.33±4.73^{efg}	50.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
	25	10.33±1.16^{fg}	50.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}
	12.5	6.00±0.00^{h}	50.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{h}

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในตารางเดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

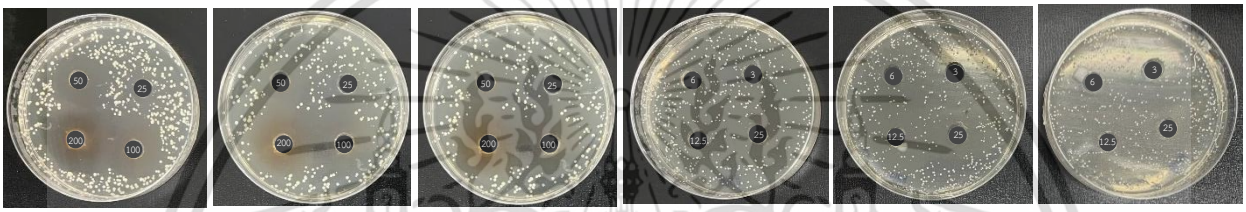
หมายเหตุ : ขนาดของหลุม = 6 มิลลิเมตร

4.4.1.4 การศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*

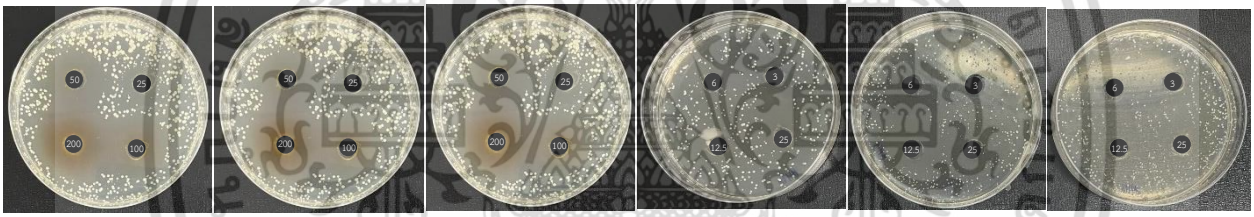
จากการศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นพบในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ผลดังตารางที่ 4.10 พบว่ารากของต้นต้อยติ่งมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสูงสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งได้คือ 8.67 และ 30.33 มิลลิเมตร ตามลำดับในการทดสอบของส่วนต้นมีการยับยั้งมีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสูงสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งได้คือ 12.37 และ36.37 มิลลิเมตร ตามลำดับ และในการทดสอบของสารสกัดหยาบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

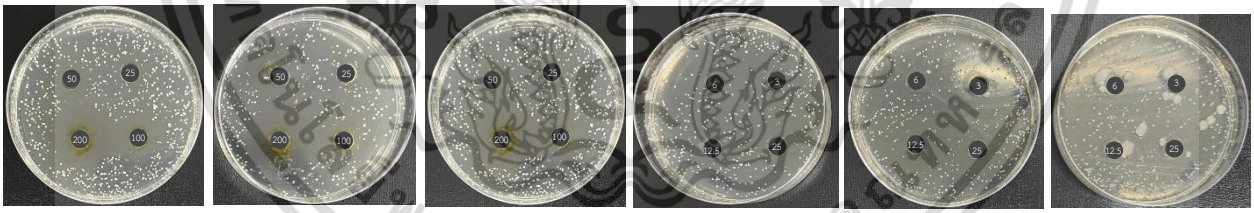
ส่วนใบมีการยับยั้งมีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสูงสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งได้คือ 9.00 และ 27.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากต้นให้ผลการยับยั้ง S. aureus มากที่สุดที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งเชื้อได้ที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สอดคล้องกับรายงานของ Olajide และคณะ (2023) พบว่าฟลาโวนอยด์มีความสามารถในการยับยั้งการสร้างใบโอฟิล์มของเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhimurium* โดยฟลาโวนอยด์แสดงฤทธิ์ต้านจุลชีพโดยรบกวนกิจกรรมเมแทบอลิซึมของไบโอฟิล์ม การแบ่งเซลล์ และรบกวนความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ เช่น ขัดขวางการสร้างฟิล์มชีวะชนิดผสมใน S. aureus ยังแสดงคุณสมบัติต้านจุลชีพได้ดีกว่าโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร



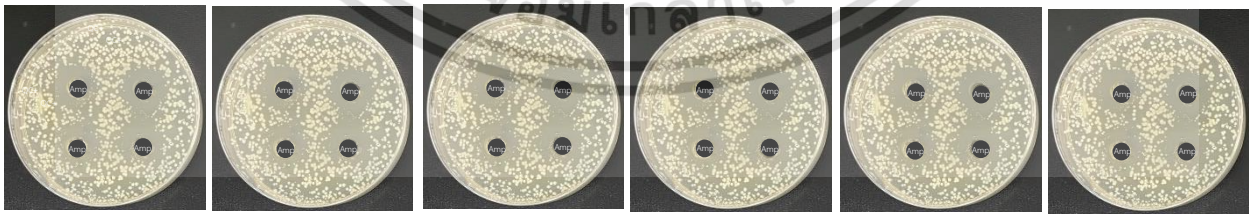
(ก)



(ข)

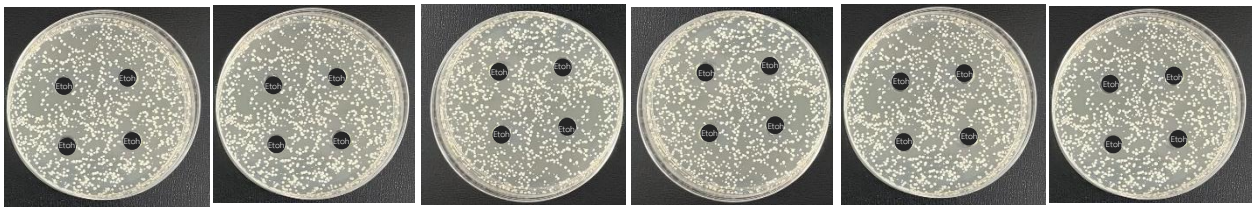


(ค)



(ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(จ)

รูปที่ 4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *S.aureus* ของสารสกัดหยาบส่วน (ก) ราก (ข) ต้น (ค) ใบ (ง) Amp (Ampicillin) (จ) Etoh (Ethanol95%)

ตารางที่ 4.10 ตารางแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* จากสารสกัดส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

สารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)	ยาปฏิชีวนะ Ampicillin 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	เอทานอลร้อยละ 95
ราก	200	30.33 ± 1.53^{b}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
	100	26.33 ± 0.58^{bc}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
	50	21.33 ± 4.62^{cd}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
	25	12.67 ± 1.16^{fghi}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
	12.5	8.67 ± 1.16^{ij}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
	6.25	6.00 ± 0.00^{j}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
ต้น	200	36.37 ± 6.11^{a}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
	100	31.00 ± 6.08^{b}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
	50	29.00 ± 5.00^{b}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
	25	20.67 ± 5.03^{de}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
	12.5	16.00 ± 0.00^{efg}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
	6.25	12.37 ± 1.16^{fghi}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
	3.125	6.00 ± 0.00^{j}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
ใบ	200	27.67 ± 4.51^{b}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
	100	17.67 ± 4.51^{def}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
	50	11.67 ± 2.51^{ghi}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
	25	9.00 ± 1.00^{hij}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}
	12.5	6.00 ± 0.00^{j}	14.00 ± 0.00^{fgh}	6.00 ± 0.00^{j}

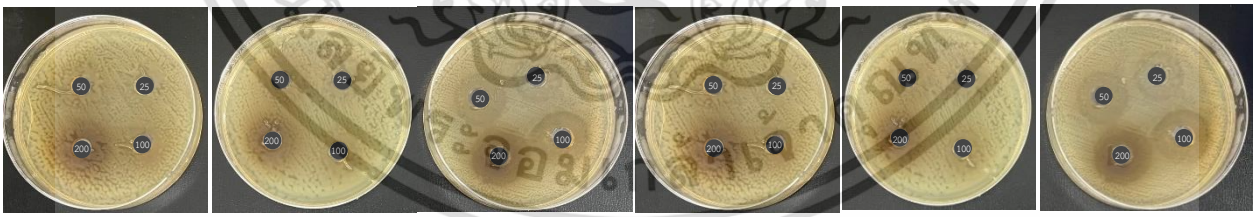
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในตารางเดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

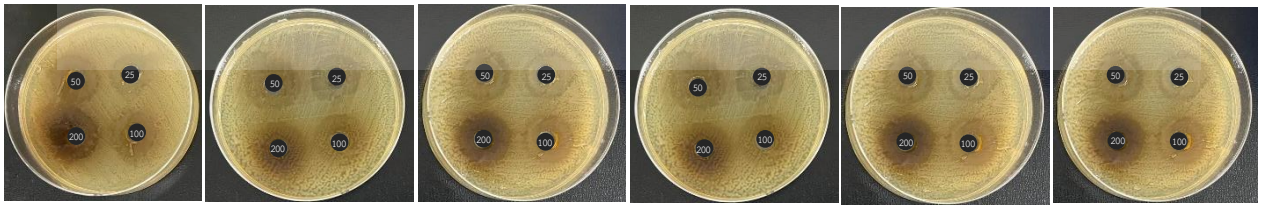
หมายเหตุ : ขนาดของหลุม = 6 มิลลิเมตร

4.4.1.5 การศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P.mirabilis*

จากการศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นพบในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P.mirabilis* ได้ผลดังตารางที่ 4.11 พบว่ารากของต้นต้อยติ่งที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 200 ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. mirabilis* ได้ในการทดสอบของส่วนต้นมีการยับยั้งมีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P.mirabilis* ได้ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสูงสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งได้คือ 18.67 และ25 มิลลิเมตร ตามลำดับ และในการทดสอบของสารสกัดหยาบส่วนใบมีการยับยั้งมีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P.mirabilis* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P.mirabilis* เนื่องมาจากลำต้นมีปริมาณของฟลาโวนอยด์มากที่สุดเป็นผลให้สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ที่ความเข้มข้นต่ำสอดคล้องกับผลของฟลาโวนอยด์อิสระที่มีอยู่ในแต่ละสวนของโสมอินเดีย*หรือ Withania somnifera* (L.) Dunal พบว่าสารสกัดจากรากมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *P. mirabilis* ดังรายงานของ Singh และคณะ (2011) แสดงให้เห็นว่าแต่ละส่วนของพืชมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้แตกต่างกันแม้จะมีปริมาณฟลาโวนอยด์อยู่ในแต่ละส่วนก็ตาม ซึ่งรากและใบอาจจะต้องใช้ความเข้มข้นที่มากขึ้นเพื่อประเมินความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P.mirabilis* หรือเป็นผลมาจากวิธีที่ใช้ในการตรวจสอบ ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเพื่อใช้หาสารถพฤกษเคมีชนิดต่าง ๆ อาจเป็นผลที่ทำให้ปริมาณมาณของสารพฤกษเคมีที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแตกต่างกันไปหรืออาจเกิดจากการทดลองที่อาจเกิดความคลาดเคลื่อน

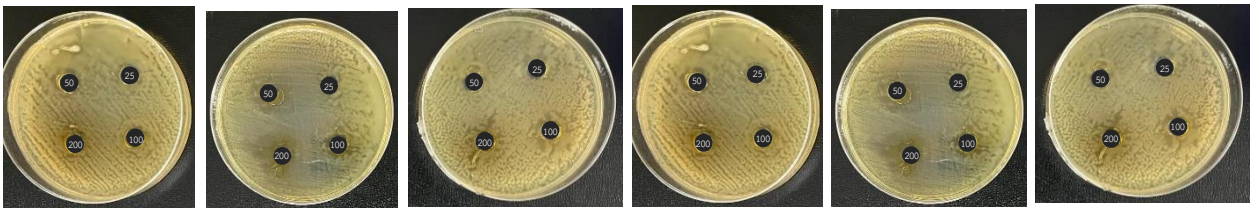


(ก)

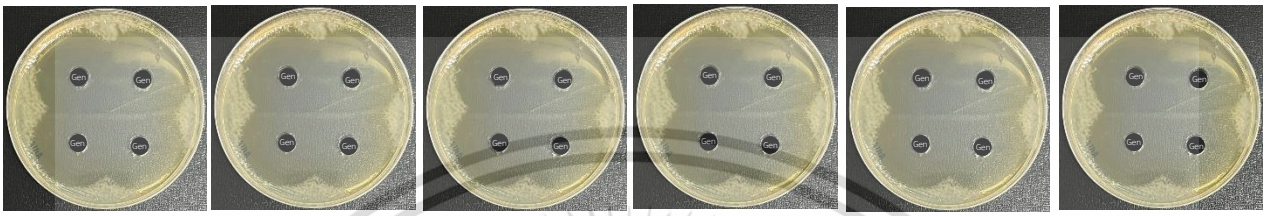


(ข)

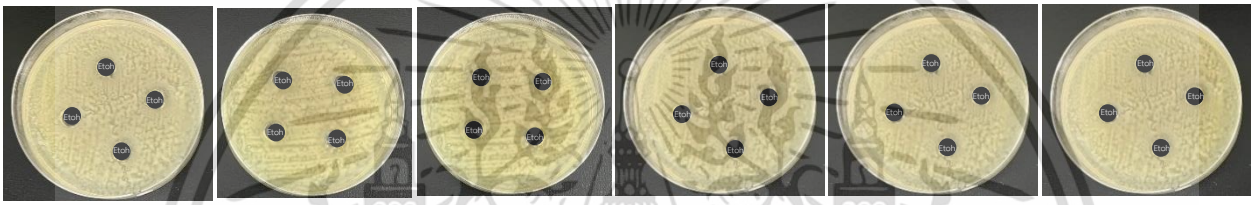
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ค)



(ง)



(จ)

รูปที่ 4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *P.mirabilis* ของสารสกัดหยาบส่วน (ก) ราก (ข) ต้น (ค) ใบ (ง) Gen (Gentamycin) (จ) Etoh (Ethanol95%)

ตารางที่ 4.11 ตารางแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P.mirabilis* จากสารสกัดส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

สารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)	ยาปฏิชีวนะ Gentamycin 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	เอทานอลร้อยละ 95
ราก	200	6.00±0.00^{e}	32.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{e}
ต้น	200	25.00±1.73^{b}	32.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{e}
	100	22.00±1.00^{c}	32.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{e}
	50	20.83±1.04^{c}	32.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{e}
	25	18.67±1.16^{d}	32.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{e}
	12.5	6.00±0.00^{e}	32.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{e}
ใบ	200	6.00±0.00^{e}	32.00±0.00^{a}	6.00±0.00^{e}

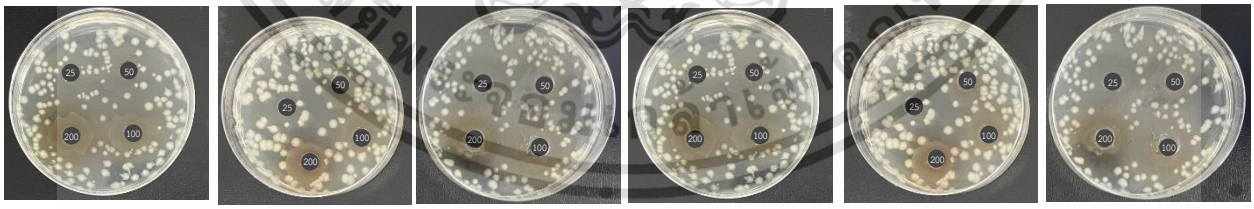
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในตารางเดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

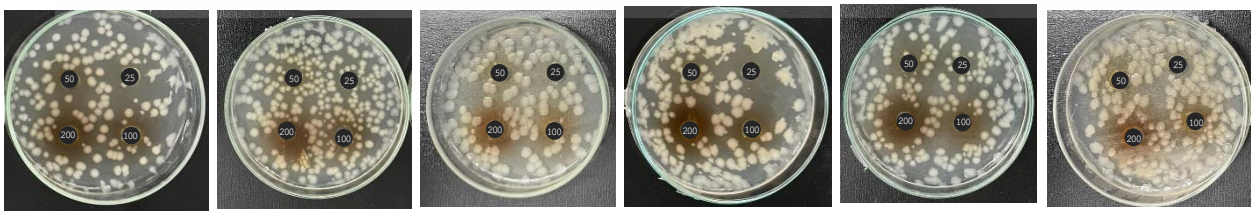
หมายเหตุ : ขนาดของหลุม = 6 มิลลิเมตร

4.4.1.6 การศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B.subtilis*

จากการศึกษาฤทธิ์เบื้องต้นพบในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B.subtilis* ได้ผลดังตารางที่ 4.10 พบว่ารากของต้นต้อยติ่งมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสูงสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งได้คือ 16.33 และ 19.33 มิลลิเมตร ตามลำดับในการทดสอบของส่วนต้นมีการยับยั้งมีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B.subtilis* ได้ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสูงสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งได้คือ 11.33 และ16.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ และในการทดสอบของสารสกัดหยาบส่วนใบมีการยับยั้งมีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B.subtilis* ได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และความเข้มข้นสูงสุดที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งได้คือ 11.83 และ 12.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยสารสกัดจากรากมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อมากที่สุดเนื่องมาจากสารสกัดจากรากมีปริมาณฟีนอลิกมากที่สุด รองลงมาคือฟลาโวนอยด์ เมื่อเทียบกับลำต้นและใบ โดยสารประกอบฟลาโวนอยด์สามารถยับยั้งการประกอบผนังเซลล์และโซ่ไกลแคนที่ไม่เชื่อมต่อกับผนังเซลล์เพปทิโดไกลแคนเข้าไปในโครงสร้างที่อ่อนแอและทำให้จุลินทรีย์ตายจากงานวิจัยของ Ajizah และคณะ (2004) ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้มีผลต่อปริมาณของฟีนอลิกที่ได้และสารสกัดจากใบของต้นต้อยติ่งหรือ *R.tuberosa* สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B.subtilis* ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลในการสกัดและพบว่าสารสกัดจากใบที่สกัดด้วยเอ็นเฮกเซนไม่แสดงผลของโซนยับยั้งเชื้อเกิดขึ้น จากงานวิจัยของ Hafizhah และคณะ (2019)

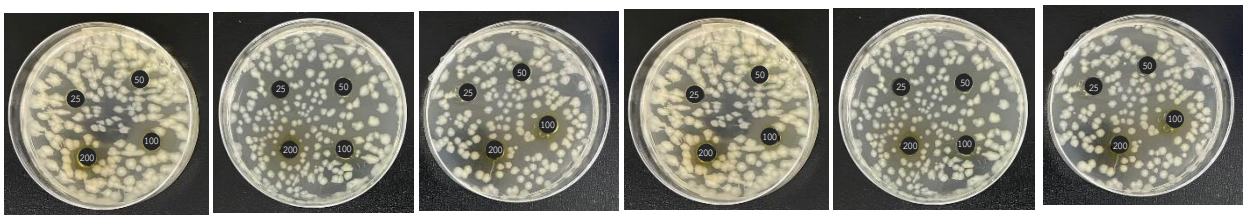


(ก)

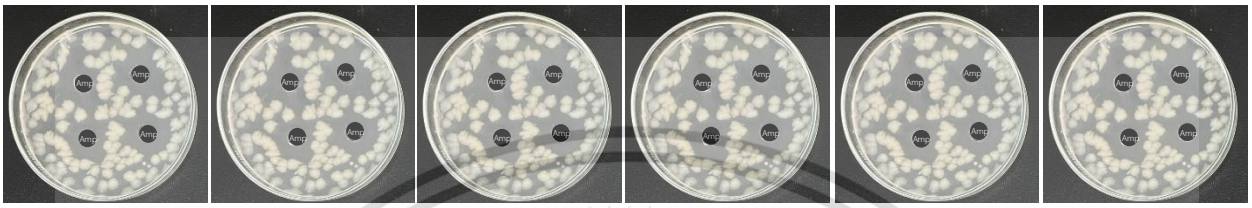


(ข)

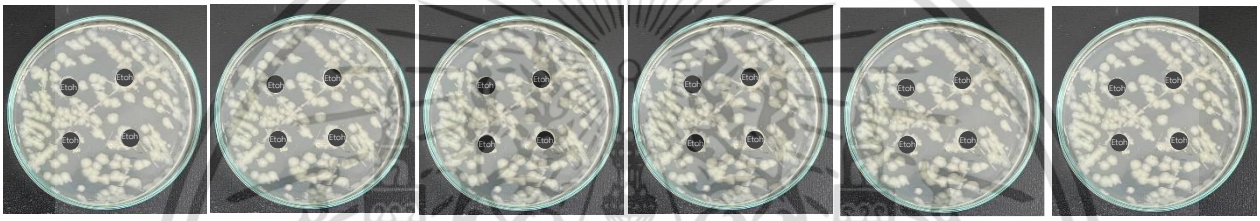
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ค)



(ง)



(จ)

รูปที่ 4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* ของสารสกัดหยาบส่วน (ก) ราก (ข) ต้น (ค) ใบ (ง) Amp (Ampicillin) (จ) Etoh (Ethanol95%)

ตารางที่ 4.12 ตารางแสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* จากสารสกัดส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

สารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)	ยาปฏิชีวนะ Ampicillin 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	เอทานอลร้อยละ 95
ราก	200	19.33±3.06^{a}	18.00±0.00^{ab}	6.00±0.00^{d}
	100	16.33±3.51^{b}	18.00±0.00^{ab}	6.00±0.00^{d}
	50	6.00±0.00^{d}	18.00±0.00^{ab}	6.00±0.00^{d}
ต้น	200	16.00±0.00^{b}	18.00±0.00^{ab}	6.00±0.00^{d}
	100	11.33±1.16^{c}	18.00±0.00^{ab}	6.00±0.00^{d}
	50	6.00±0.00^{d}	18.00±0.00^{ab}	6.00±0.00^{d}
ใบ	200	12.67±1.16^{c}	18.00±0.00^{ab}	6.00±0.00^{d}
	100	11.83±1.04^{c}	18.00±0.00^{ab}	6.00±0.00^{d}
	50	6.00±0.00^{d}	18.00±0.00^{ab}	6.00±0.00^{d}

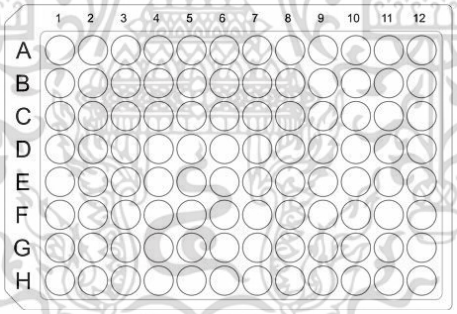
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในตารางเดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

หมายเหตุ : ขนาดของหลุม = 6 มิลลิเมตร

4.4.2 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นที่ต่ำสุดของสารสกัดหยาบในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Minimum Inhibition Concentration : MIC)

จากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งด้วยวิธี Agar well diffusion เป็นเพียงการทดสอบเบื้องต้นที่ใช้ทดสอบเชิงคุณภาพ เพื่อศึกษาว่าสารสกัดหยาบในส่วนของราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทั้ง 6 ชนิด ได้แก่ *E.coli* TISTR 074, *P.aeruginosa* TISTR 2370, *S.aureus* TISTR 746, *B.subtilis* TISTR 1248 และ *M.luteus* TISTR 3274 และ *P.mirabilis* ISO2 67211 ซึ่งการทดสอบ MIC เป็นการวิเคราะห์เชิงปริมาณเพื่อศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบของต้นต้อยติ่งที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ด้วยวิธี Broth micro dilution โดยจะทำการทดลองใน microtiter plate 96-well โดยเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบที่ในอาหารเหลว NB ปรับความขุ่นให้ใกล้เคียงกับ 0.5 McFarland Standard จากนั้นเจือจางตัวอย่างสารสกัดหยาบส่วนต่าง ๆที่ความเข้มข้น 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 และ200 ตามลำดับ อ่านผลค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) โดยสังเกตหลุมสุดท้ายที่ใสและไม่มีตะกอนจุลินทรีย์ก้นหลุม



A = สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

B = สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

C = สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

D = สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

E = สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

F = สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

G = สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

H = ตัวควบคุมที่ไม่ใส่สารสกัดหยาบ

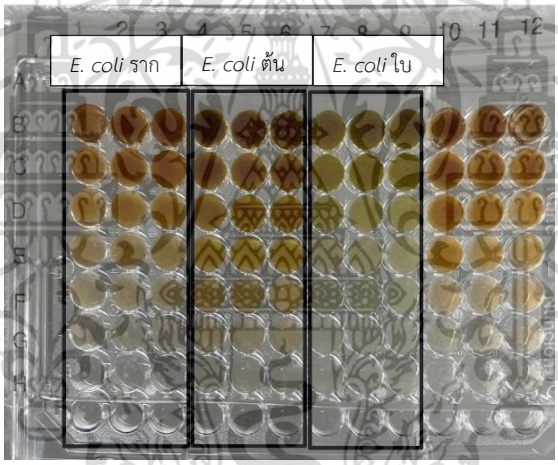
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2.1 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E.coli*

จากตารางที่ 4.13 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E.coli* ได้พบว่าสารสกัดหยาบส่วนรากและต้นที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดหยาบส่วนใบที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.13 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E.coli*

สารสกัด	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E.coli* (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ราก	25
ต้น	25
ใบ	12.5



รูปที่ 4.7 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่ความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการทดสอบกับเชื้อ *E.coli* โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี Broth micro dilution

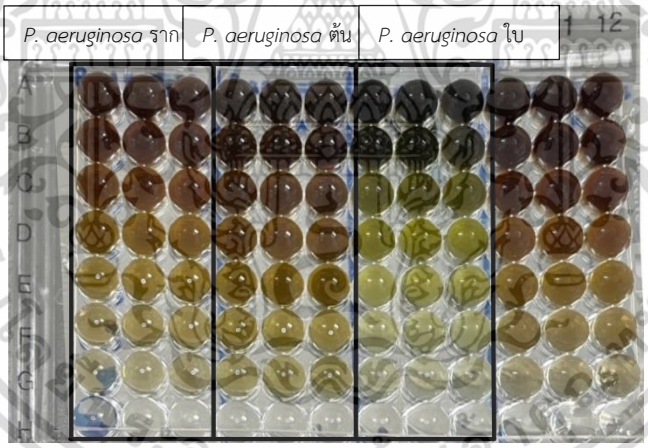
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2.2 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถยับยั้งเชื้อ *P.aeruginosa*

จากตารางที่ 4.14 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *P.aeruginosa* ได้ พบว่าสารสกัดหยาบส่วนรากที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบส่วนต้น ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบส่วนใบที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.14 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อ *P.aeruginosa*

สารสกัด	**ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *P.aeruginosa* (มิลลิกรัมต่อมิลลิตร)**
ราก	**50**
ต้น	**12.5**
ใบ	**6.25**



รูปที่ 4.8 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่ความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการทดสอบกับเชื้อ *P.aeruginosa* โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี Broth micro dilution

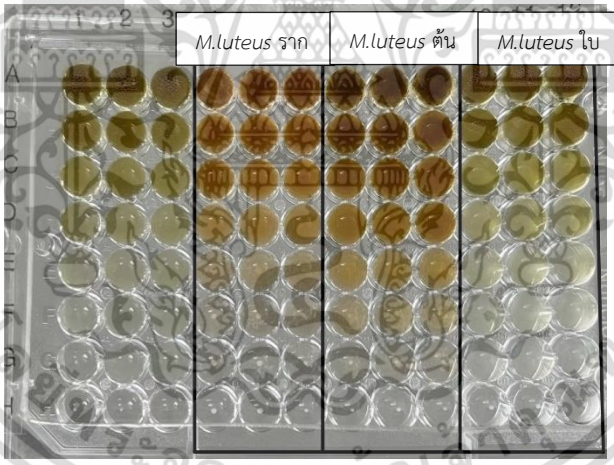
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2.3 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถยับยั้งเชื้อ *M.luteus*

จากตารางที่ 4.15 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *M.luteus* ได้พบว่าสารสกัดหยาบส่วนรากที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบส่วนต้นที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบส่วนใบที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.15 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อ *M.luteus*

สารสกัด	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *M.luteus* (มิลลิกรัมต่อมิลลิตร)
ราก	100
ต้น	100
ใบ	25



รูปที่ 4.9 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่ความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการทดสอบกับเชื้อ *M. luteus* โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี Broth micro dilution

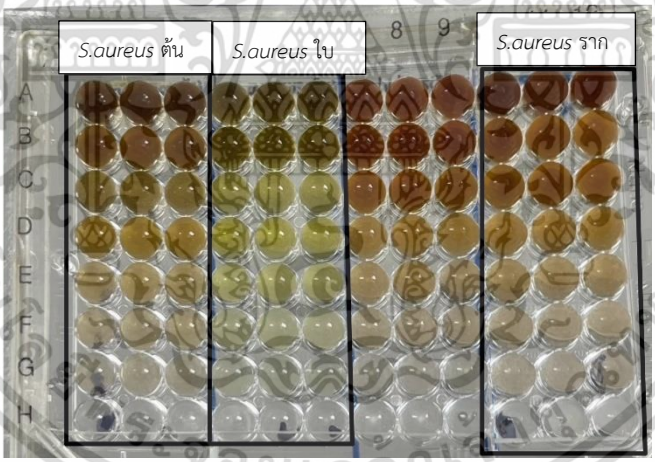
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2.4 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S.aureus*

จากตารางที่ 4.16 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S.aureus* ได้พบว่าสารสกัดหยาบส่วนรากที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบส่วนต้นที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบส่วนใบที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.16 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S.aureus* ได้

สารสกัด	**ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S.aureus* (มิลลิกรัมต่อมิลลิตร)**
ราก	**12.5**
ต้น	**6.25**
ใบ	**6.25**



รูปที่ 4.10 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่ความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการทดสอบกับเชื้อ *S.aureus* โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี Broth micro dilution

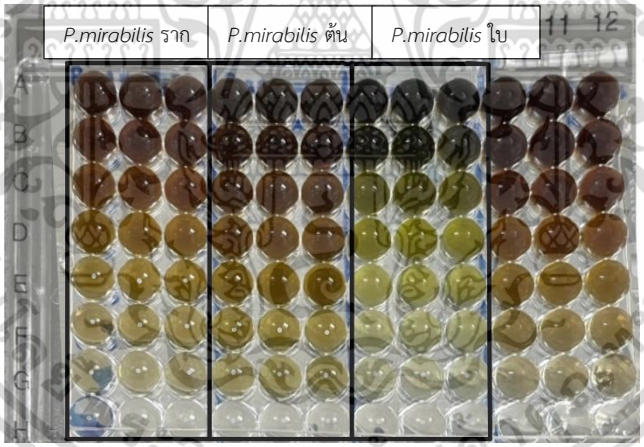
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2.5 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถยับยั้งเชื้อ *P.mirabilis*

จากตารางที่ 4.17 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *P.mirabilis* ได้พบว่าสารสกัดหยาบส่วนรากที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบส่วนต้นที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบส่วนใบที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.17 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อ *P.mirabilis* ได้

สารสกัด	**ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *P.mirabilis* (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)**
ราก	**12.5**
ต้น	**12.5**
ใบ	**12.5**



รูปที่ 4.11 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่ความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการทดสอบกับเชื้อ *P.mirabilis* โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี Broth micro dilution

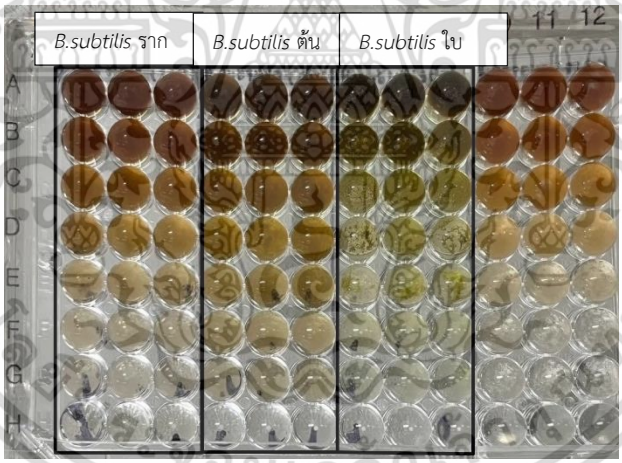
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2.6 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถยับยั้งเชื้อ *B.subtilis*

จากตารางที่ 4.18 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* ได้พบว่า สารสกัดหยาบส่วนรากที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบส่วนต้นที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบส่วนใบที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.18 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* ได้

สารสกัด	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* (มิลลิกรัมต่อมิลลิตร)
ราก	100
ต้น	100
ใบ	25



รูปที่ 4.12 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่ความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการทดสอบกับเชื้อ *B.subtilis* โดยวิเคราะห์ด้วยวิธี Broth micro dilution

ผลของค่า MIC ที่ได้มีความแตกต่างกันอาจเป็นผลมาจากส่วนของราก ลำต้น และใบ ที่นำมาสกัดมีสารออกฤทธิ์ทางพฤกษเคมีแตกต่างกัน ชนิดของแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ รวมถึงชนิดของตัวทำละลายที่แตกต่างกันมีผลต่อค่า MIC ที่เกิดขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ El-Mahmood และคณะ (2008) ที่ได้ศึกษาสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยใช้สารสกัดจากต้นชุมเห็ดเทศหรือ *Cassia alata* Linn ที่ให้ผลดังกล่าวแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3 การศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ทำลายเชื้อแบคทีเรีย (Minimum bacterial concentration; MBC)

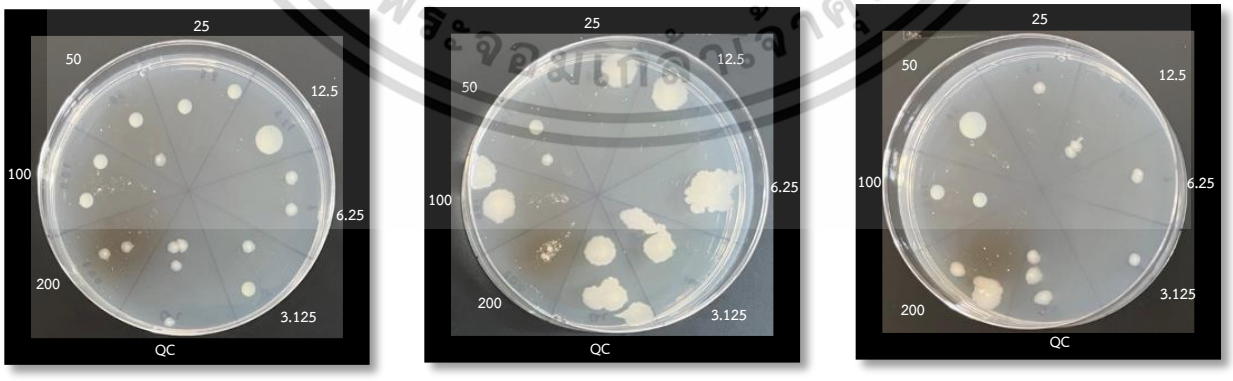
ทำได้โดยการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญในอาหารเหลว (MIC) สังเกตุว่าหลุมสุดท้ายมีความใสไม่มีตะกอนจุลินทรีย์ก้นหลุม นำมาทำการ simple streak ลงบนอาหารแข็ง Nutrient agar แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดผลโดยดูการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารแข็ง

4.4.3.1 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้องติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *E.coli*

จากตารางที่ 4.19 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถทำลายเชื้อ *E.coli* ได้พบว่าสารสกัดหยาบส่วนรากที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อได้คือ มากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบส่วนต้นและ สารสกัดส่วนใบที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อได้คือ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hafizhah และคณะ (2019) ซึ่งต้องใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากใบที่ความเข้มข้นมากถึง 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการหาค่าเปอร์เซ็นการยับยั้งมีค่าสูงสุดมีค่า 99.1% จึงจำเป็นต้องเพิ่มความเข้มข้นขึ้นเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้

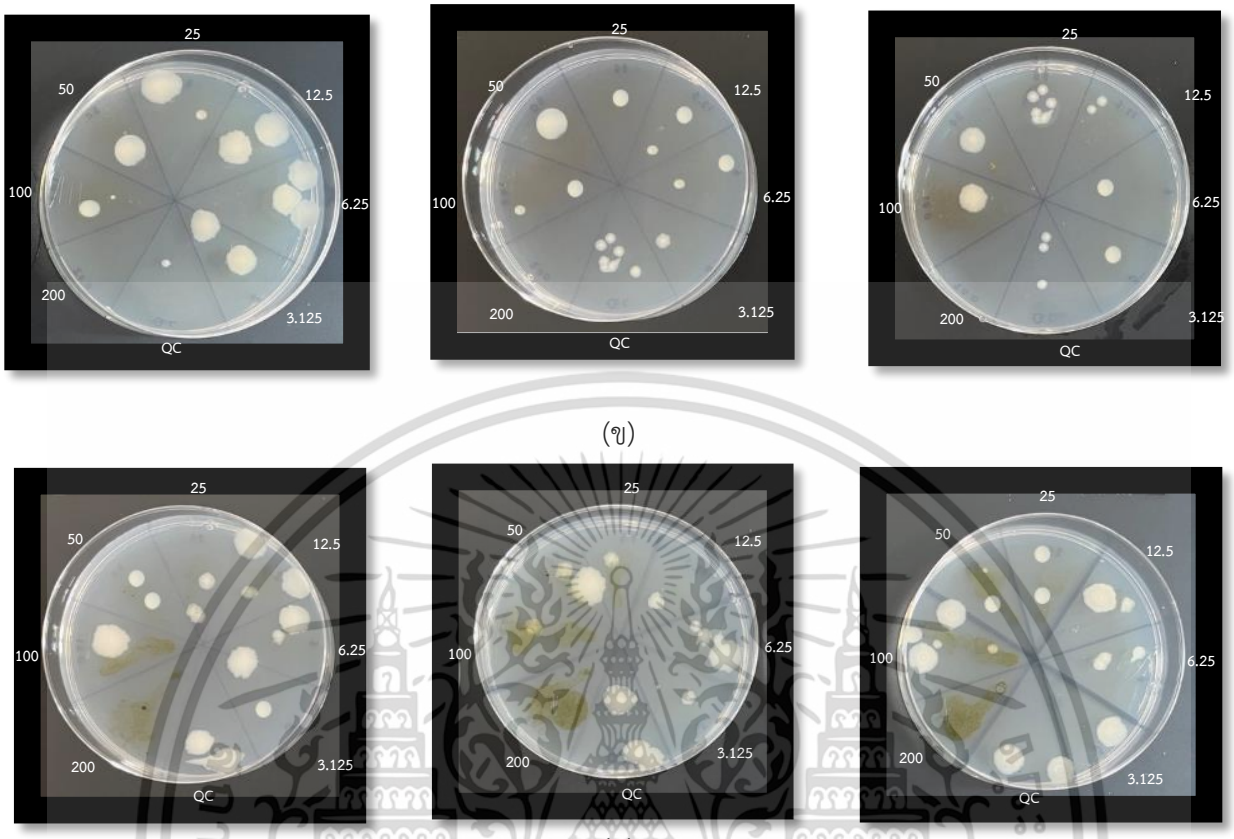
ตารางที่ 4.19 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถทำลายเชื้อ *E.coli*

สารสกัด	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อ *E.coli* (มิลลิกรัมต่อมิลลิตร)
ราก	>200
ต้น	200
ใบ	200



(ก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สารสารสกัดหยาบส่วนราก(ก) ต้น(ข) และใบ(ค)ของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *E. coli*

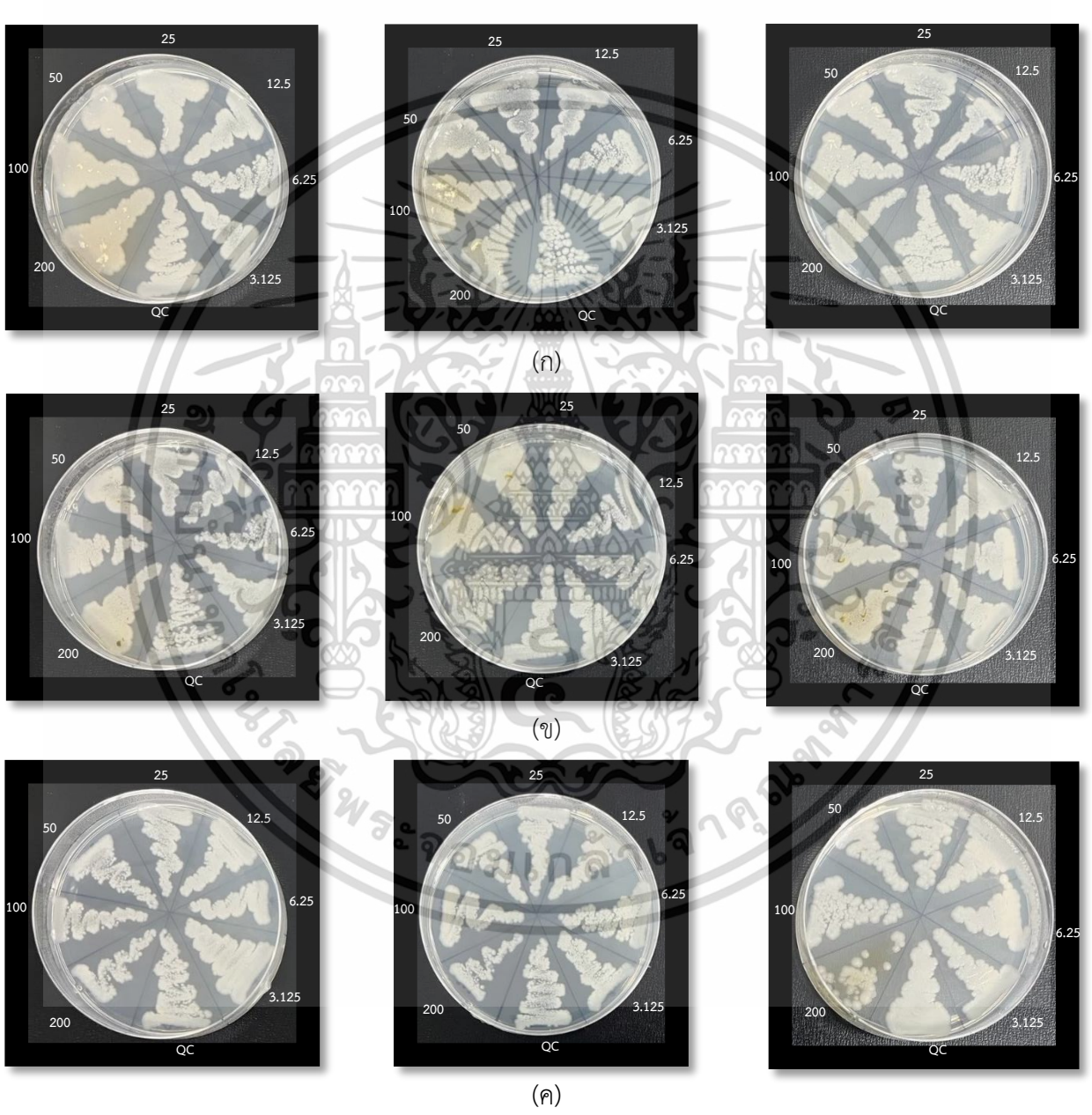
4.4.3.2 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้องติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *P.aeruginosa*

ตารางที่ 4.20 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถทำลายเชื้อ *P. aeruginosa*

สารสกัด	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อ *P. aeruginosa* (มิลลิกรัมต่อมิลลิตร)
ราก	>200
ต้น	>200
ใบ	>200

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.20 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถทำลายเชื้อ *P. aeruginosa* ได้พบว่า สารสกัดหยาบส่วนราก สกัดหยาบส่วนต้น และสารสกัดหยาบส่วนใบที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อได้ คือ มากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำเป็นต้องเพิ่มความเข้มข้นเพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับฆ่าเชื้อได้หรือค่า MBC จึงจะสามารถบอกค่า MBC ได้ หรืออาจเป็นเพราะสารสกัดจากราก ลำต้น และใบ ไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa*



รูปที่ 4.14 ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สารสารสกัดหยาบส่วนราก(ก) ต้น(ข) และใบ(ค)ของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *P. aeruginosa*

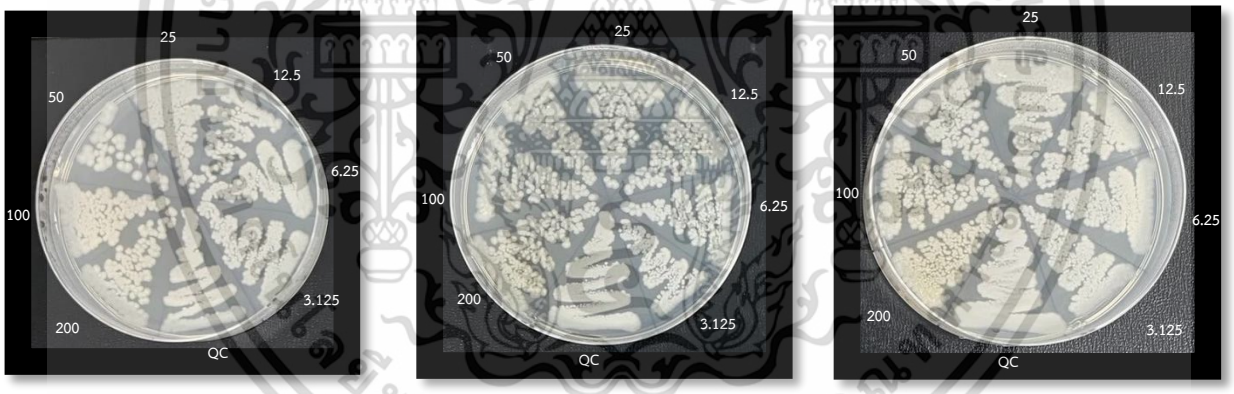
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3.3 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *M.luteus*

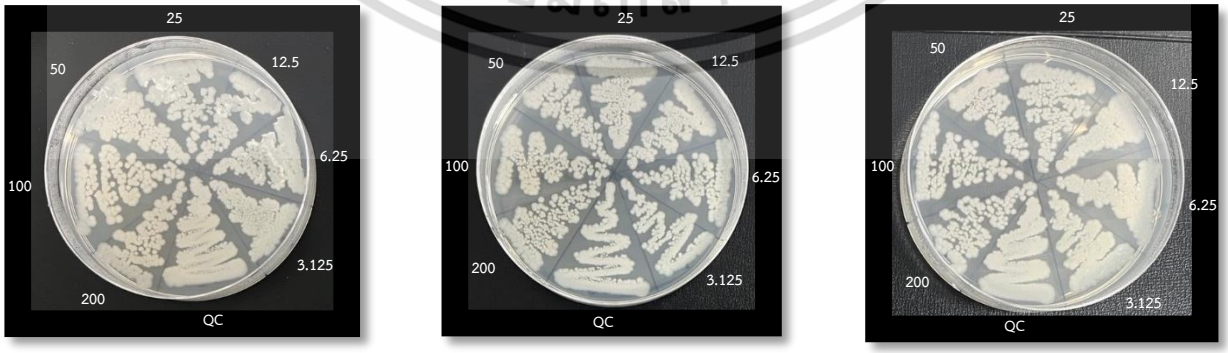
จากตารางที่ 4.21 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถทำลายเชื้อ *M.luteus* ได้พบว่า สารสกัดหยาบส่วนราก สกัดหยาบส่วนต้น และสารสกัดหยาบส่วนใบที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อได้ คือ มากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำเป็นต้องเพิ่มความเข้มข้นเพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับฆ่าเชื้อได้หรือค่า MBC จึงจะสามารถบอกค่า MBC ได้ หรืออาจเป็นเพราะสารสกัดจากราก ลำต้น และใบ ไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *M.luteus*

ตารางที่ 4.21 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถทำลายเชื้อ *M. luteus*

สารสกัด	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อ *M. luteus* (มิลลิกรัมต่อมิลลิตร)
ราก	>200
ต้น	>200
ใบ	>200

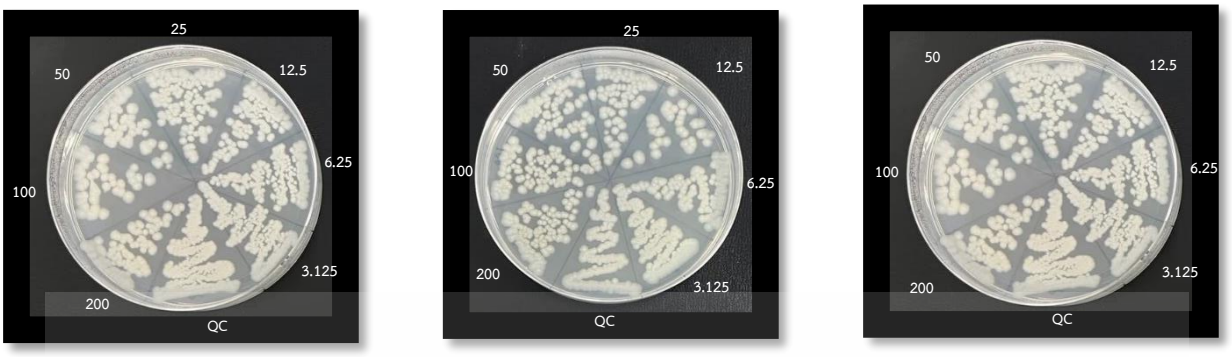


(ก)



(ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ค)

รูปที่ 4.15 ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สารสารสกัดหยาบส่วนราก(ก) ต้น(ข) และใบ(ค) ของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *M. luteus*

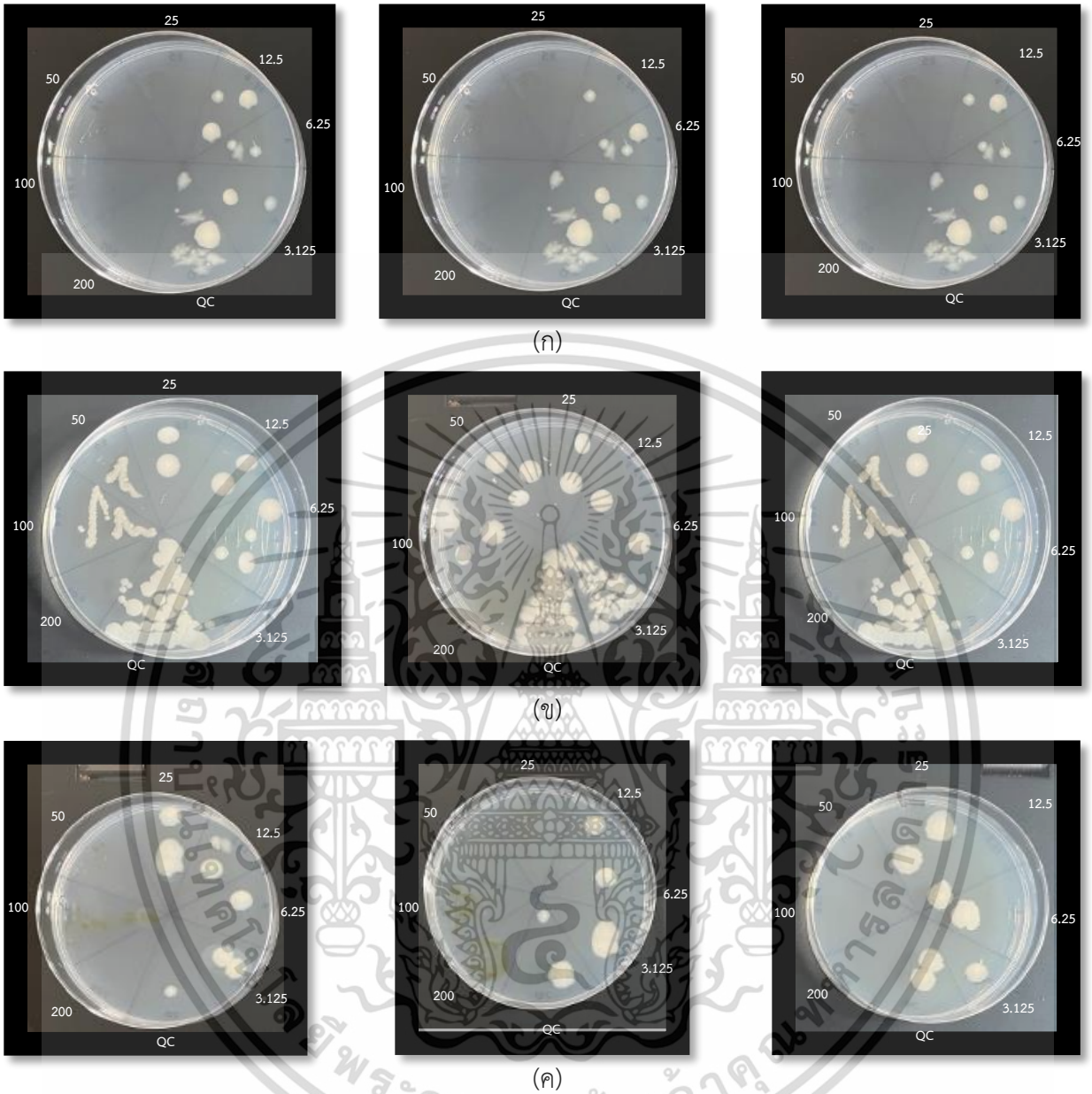
4.4.3.4 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *S.aureus*

จากตารางที่ 4.22 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถทำลายเชื้อ *S.aureus* ได้พบว่าสารสกัดหยาบส่วนรากที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อได้คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบส่วนต้นที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อได้คือ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบส่วนใบที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อได้คือ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.22 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถทำลายเชื้อ *S. aureus* ได้

สารสกัด	**ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อ *S. aureus* (มิลลิกรัมต่อมิลลิตร)**
ราก	25
ต้น	200
ใบ	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สารสารสกัดหยาบส่วนราก(ก) ต้น(ข) และใบ(ค)ของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *S. aureus*

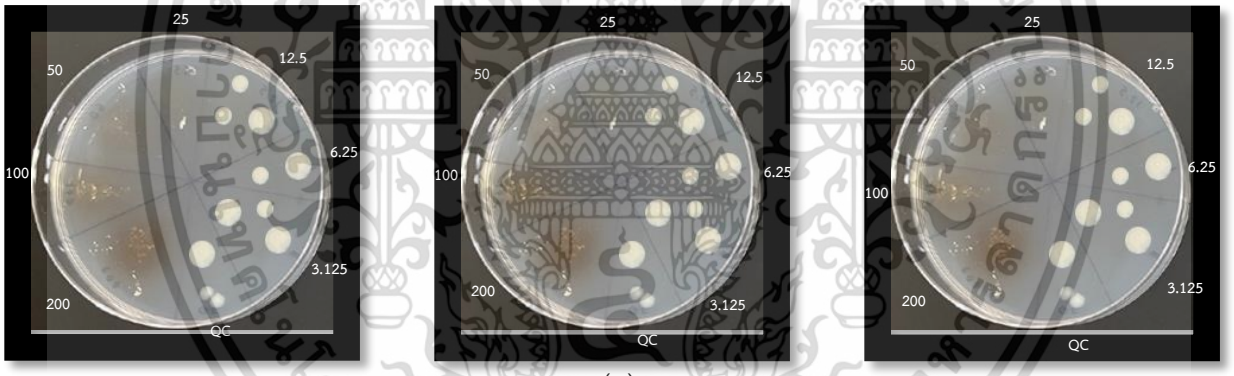
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3.5 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *P.mirabilis*

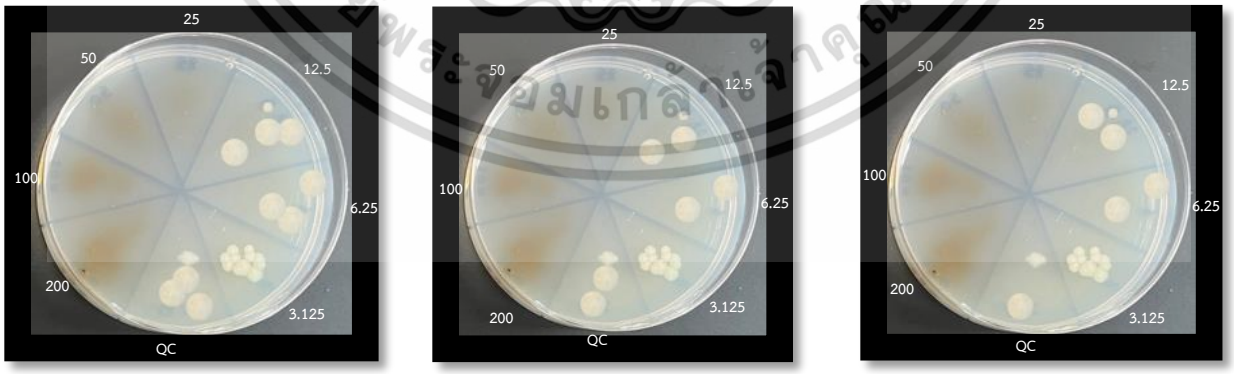
ตารางที่ 4.23 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถทำลายเชื้อ *P.mirabilis* ได้

สารสกัด	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อ *P. mirabilis* (มิลลิกรัมต่อมิลลิตร)
ราก	25
ต้น	25
ใบ	200

จากตารางที่ 4.23 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถทำลายเชื้อ *P.mirabilis* ได้พบว่าสารสกัดหยาบส่วนรากที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อได้คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบส่วนต้นที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อได้คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบส่วนใบที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อได้คือ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

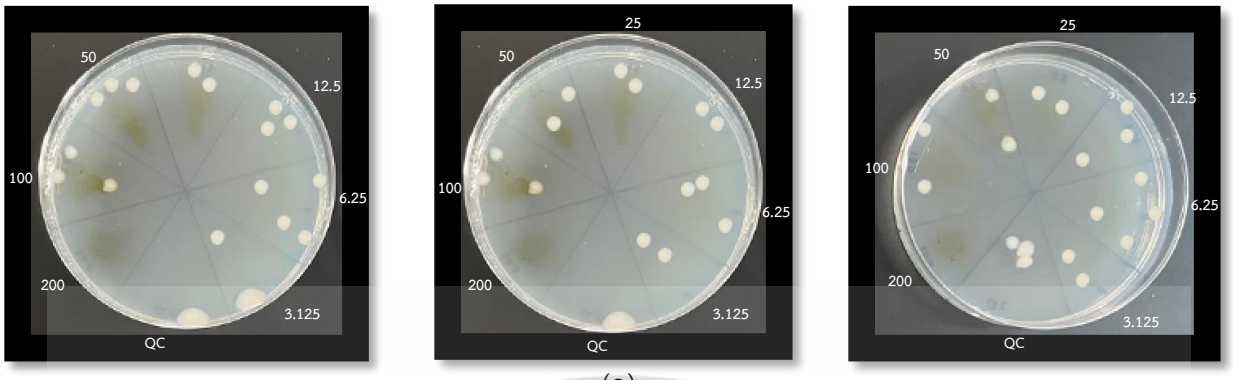


(ก)



(ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ค)

รูปที่ 4.17 ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สารสารสกัดหยาบส่วนราก(ก) ต้น(ข) และใบ(ค)ของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *P.mirabilis*

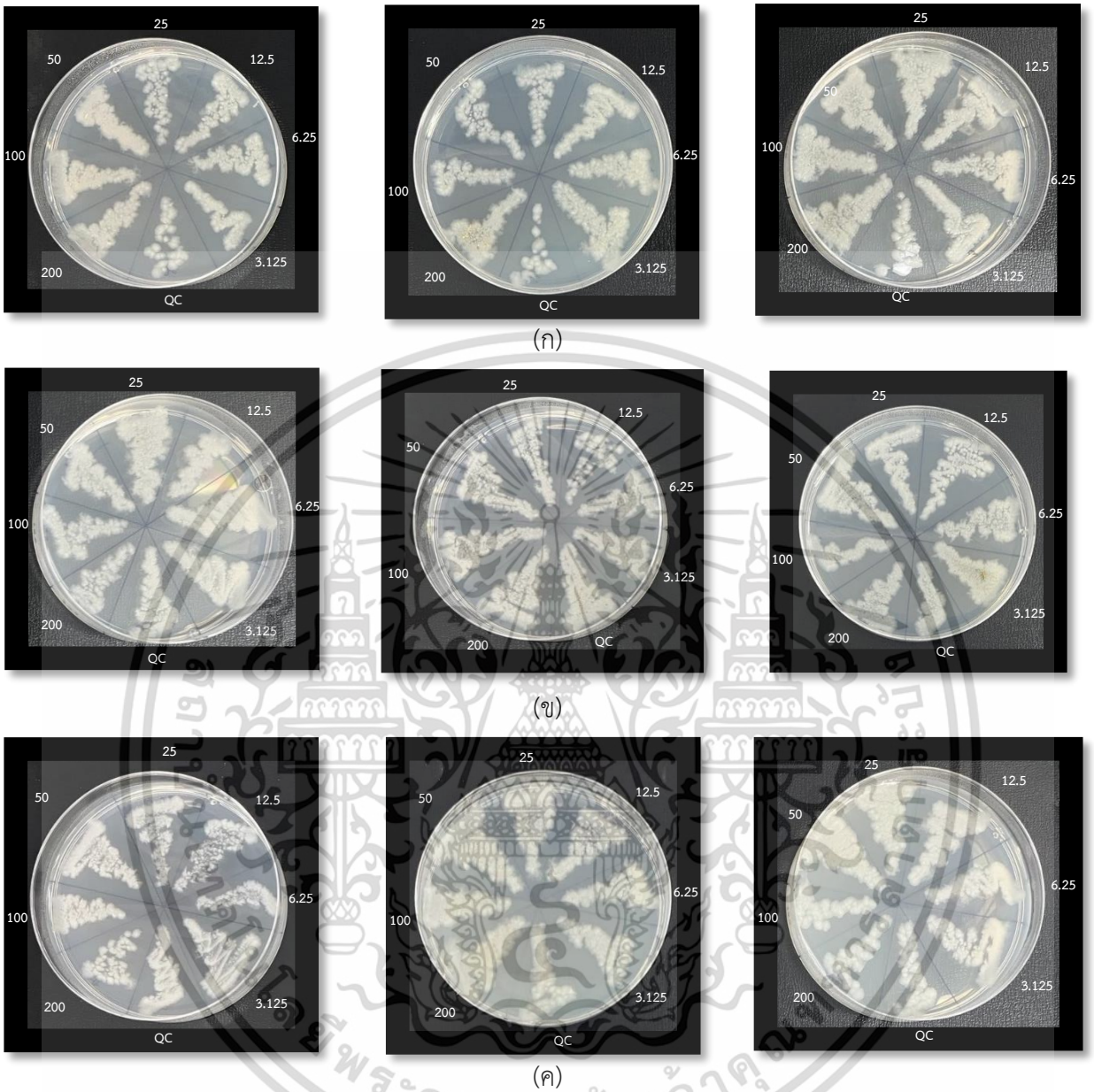
4.4.3.6 ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *B.subtilis*

จากตารางที่ 4.24 แสดงความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถทำลายเชื้อ *B.subtillis* ได้ พบว่าสารสกัดหยาบส่วนราก สกัดหยาบส่วนต้น และสารสกัดหยาบส่วนใบที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อได้คือ มากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hafizhah และคณะ (2019) ซึ่งต้องใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากใบที่ความเข้มข้นมากถึง 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการหาค่าเปอร์เซ็นการยับยั้งมีค่าสูงสุด 99% จึงจำเป็นต้องเพิ่มความเข้มข้นขึ้นเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้

ตารางที่ 4.24 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบที่สามารถทำลายเชื้อ *B.subtilis* ได้

สารสกัด	**ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อ *B.subtillis* (มิลลิกรัมต่อมิลลิตร)**
ราก	>200
ต้น	>200
ใบ	>200

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.18 ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สารสารสกัดหยาบส่วนราก(ก) ต้น(ข) และใบ(ค)ของต้นต้อยติ่งที่สามารถทำลายเชื้อ *B.subtilis*

จากการทดสอบ agar well diffusion, MIC และ MBC พบว่าสารสกัดจากลำต้นมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีทั้งแกรมบวก *S. aureus* และแกรมลบ *P. mirabilis* เนื่องจากลำต้นมีสารพฤกษเคมีชนิดฟลาโวนอยด์และแทนนินมากที่สุด โดยฟลาโวนอยด์มีความสามารถในการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* โดยการรบกวนกิจกรรมเมแทบอลิซึมของไบโอฟิล์ม การแบ่งเซลล์ และรบกวนการสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ ฟลาโวนอยด์แสดงคุณสมบัติต้านจุลชีพได้ดีกว่าโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟตที่ใช้เป็นวัตถุเจือปน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหาร จากการรายงานของ Olajide และคณะ (2023) และแทนนินมีความสามารถในการเกิดพันธะระหว่างสารประกอบฝาดสมานของสารประกอบแทนนินกับโปรตีนผนังเซลล์ของแบคทีเรียทำให้โปรตีนของแบคทีเรียถูกทำลาย ผนังเซลล์แบคทีเรียเกิดความเปราะบาง อ่อนแอ จนทำให้เซลล์แบคทีเรียจะแตกหรือสลายจนแบคทีเรียตาย จากงานวิจัยของ Moyo และคณะ (2006) รวมถึงสารพฤกษเคมีชนิดอื่นที่พบอยู่ในลำต้นก็มีส่วนช่วยในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้ เช่น สารประกอบฟีนอลิกและอะโรมาติกแอลกอฮอล์มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนและอาร์เอนเอของเซลล์ และสามารถทำลายองค์ประกอบเยื่อหุ้มเซลล์ได้ดีในแบคทีเรียแกรมลบที่อาจมาจากองค์ประกอบของ lippphilia จากการศึกษาของ Luccini และคณะ (1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาการหาปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารสกัดหยาบจากลำต้นมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากรากและใบ ตามลำดับ เนื่องจากสารพฤกษเคมีที่ทำการทดสอบ คือ ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน ฟีนอลิก และแทนนิน มีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเหมือนกัน ทำให้ปริมาณของสารพฤกษเคมีที่พบในสารสกัดหยาบจากราก ลำต้น และใบ แปรผันตรงกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แสดงออกมาในค่า IC_{50} ซึ่งตรงกับผลการทดสอบหาสารพฤกษเคมีพบว่าสารสกัดจากลำต้นมีปริมาณฟลาโวนอยด์และแทนนินอยู่สูงที่สุดเป็นผลให้สารสกัดจากลำต้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากรากมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุดอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับสารสกัดรากลำต้นและใบ การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบทั้ง 6 ชนิดของสารสกัดจากราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่งอังกาบ สารสกัดลำต้นมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ คือ *Proteus mirabillis* ได้ดีที่สุด ซึ่ง ดีกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก คือ *Staphylococcus aureus* เนื่องจากมีค่า MBC ของสารสกัดต่ำที่สุด จึงสามารถฆ่าเชื้อได้ดีกว่า โดยมีค่า MBC อยู่ที่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารสกัดจากรากมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก คือ *Staphylococcus aureus* ได้เทียบเท่ากับแบคทีเรียแกรมลบ คือ *Proteus mirabillis* เนื่องจาก มีค่า MIC คือ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC เท่ากัน คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ในสารสกัดจากใบมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก คือ *Proteus mirabillis* ได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ คือ *Proteus mirabillis* เนื่องจากมีค่า MIC คือ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ MBC คือ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นสารสกัดลำต้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดีที่สุด สารสกัดจากใบมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีที่สุด แต่สารสกัดจากรากให้ผลของฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้เท่ากัน ดังนั้นสารสกัดจากรากมีแอนโทไซยานินสูงและสารสกัดจากรากและใบมีปริมาณฟีนอลิกอยู่สูง ทำให้มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ไวกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบบางชนิด เนื่องจากแอนโทไซยานินจะเกิดปฏิกิริยาภายในเซลล์ได้ดีกว่า รวมถึงมีการทำงานรวามกับสารประกอบอื่น ๆ เช่น กรดฟีนอลิก โดยฟีนิลิกสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนและอาเอ็นเอ และสามารถทำลายองค์ประกอบเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ อาจมาจากองค์ประกอบของ lipophilia สารสกัดแทนนินในลำต้นมีความสามารถในการทำให้ผนังเซลล์เกิดความเปราะบาง ส่งผลให้ผนังเซลล์อ่อนแอและแตกในที่สุด มีสาเหตุมาจากการเกิดพันธะสมานฝาดของสาประกอบแทนนินกับโปรตีนบริเวณผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย

ดังนั้น สารสกัดหยาบจากราก ลำต้นและใบ ของต้นต้อยติ่ง มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในตัวอย่างลำต้น และสารสกัดหยาบจากราก ลำต้น และใบ มีฤทธิ์ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก คือ *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรียแกรมลบ คือ *Proteus mirabillis* ได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ที่ใช้ในการทดสอบ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณสารพฤกษเคมีมีผลต่อฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้แตกต่างกัน

5.2 วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีบางชนิดจากสารสกัดจากราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง หรือ *Ruellia tuberosa Linn.* โดยใช้วิธี Agar well diffusion method เพื่อให้สารสกัดแพร่ผ่านวุ้นลงไป หรือใช้หลักการซึมผ่าน (diffuse) ของสารทดสอบหรือยา ผ่านอาหารเพาะเชื้อบนอาหารแข็ง เพื่อให้มีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยทำให้เกิดโซนใส (zone of inhibition) จากผลของความสามารถของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจะแสดงผลเป็นบริเวณโซนการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร) จากการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละส่วนที่แตกต่างกันจะมีความไวต่อเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดแตกต่างกัน และเหตุผลสำคัญในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดแต่ละส่วนขึ้นกับชนิดและปริมาณของสารพฤกษเคมี เนื่องจากสารพฤกษเคมีที่พบ เช่น แทนนิน ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน และฟีนอลิก มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแต่ละชนิดแตกต่างกันไป โดยเฉพาะสารสกัดหยาบจากลำต้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดอื่น หรืออาจมาจากปัจจัยอื่น ๆ ที่ส่งผลต่อความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ เช่น ตัวทำละลายที่ใช้สกัด ความสามารถในการซึมเข้าไปในวุ้นของสารสกัดแต่ละส่วนมีความแตกต่างกัน เวลาที่ใช้ในการตรวจผลอาจส่งผลต่อบริเวณการยับยั้งเชื้อ ความหนาของวุ้นหรือปริมาณของวุ้นเป็นปัจจัยสำคัญในการเกิดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้ง หรือการลาดเอียงของจานเพาะเชื้อระหว่างเทอาหารก็อาจมีผลร่วมด้วย และความสามารถของเชื้อที่ใช้ทดสอบแต่ละชนิดอาจมีผลต่อโซนการยับยั้งที่เกิดขึ้น เช่น อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเชื้อ ค่าพีเอชหรือความเป็นกรด-ด่าง อัตราการเจริญที่แตกต่างกัน และส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดจนความผิดพลาดระหว่างการทดลอง ปัจจัยเหล่านี้ล้วนมีผลต่อขนาดของโซนการยับยั้งที่เกิดขึ้น

จากงานวิจัยของ Rauha และคณะ (2000) ได้ทำการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยใช้สารสกัดจากพืชต่างชนิดโดยวิธี agar diffusion method พบว่าสารประกอบฟีโนลิก โดยเฉพาะฟลาโวนอยด์ที่พบในมันฝรั่งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่เป็นแกรมบวกได้ดีที่สุด จากจุลินทรีย์ทดสอบทั้งหมด 4-9 สายพันธุ์

จากงานวิจัยของ Doss และคณะ (2009) พบว่าสารสกัดจากมะแว้งเครือหรือ *Solanum trilobatum* Linn มีปริมาณแทนนินอยู่สูง มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Staphylococcus aureus ได้สูงที่สุด รองลงมาคือ *Streptococcus pyrogens, Salmonella typhi, Escherichia coli, Proteus vulgari* และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยใช้วิธี agar diffusion method โดยมีค่า MIC อยู่ที่ 1.0-2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร และมีค่า MBC อยู่ที่ 1.5-2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5.3 ข้อเสนอแนะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการนำตัวอย่างของต้นต้อยติ่งมาทำการทำสอบต้องเลือกเก็บต้นที่มีลักษณะเหมือนกัน โดยคำนึงถึง ฤดูการ ความสมบูรณ์ของต้น แหล่งที่เก็บตัวอย่าง ซึ่งจำเป็นต้อองอยู่ในตัวแปรเดียวกันในกลุ่มตัวอย่างที่จะนำมาศึกษา เนื่องจากมีผลต่อปริมาณของสารพฤกษเคมีที่สกัดได้ และระหว่างขั้นตอนการอบตัวอย่างจำเป็นต้องคำนึงในเรื่องของชนิดพืชเนื่องจากหากพืชหรือส่วนใดมีปริมาณน้ำในเซลล์สูงอาจจะต้องคำนึงถึงระยะเวลาที่อบและต้องระวังเรื่องอุณหภูมิที่ใช้อบ รวมถึงการเก็บรักษา ที่อาจส่งผลต่อปริมาณของสารพฤกษเคมีที่ได้ โดยตัวทำละลายที่ใช้สกัดก็มีผลต่อชนิดและปริมาณของสารพฤกษเคมีที่พบ ดังที่กล่าวไว้ในงานวิจัย จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเปรียบเทียบผลของตัวทำละลายต่างชนิดที่ใช้ในการสกัดที่อาจมีผลต่อสารพฤกษเคมีและฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

เดชา ศิริภัทร. 2546. “สมุนไพรจากครัวไทย”, หนังสือทั่วไปภาษาไทย. 615.321, ห้องสมุดดร. สิงโต จ่างตระกูล

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี, 3:277-278

ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร. 2551. ฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดจากใบฝรั่งและสารสกัดจากกระเทียม ต่อเชื้อ Aeromonas hydrophila และ Streptococcus spp. ที่แยกได้จากปลาป่วย. วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. ปีที่ 18 ฉบับที่ 1 หน้า 46-53

ผศ. ดร. นพมาศ สุนทรเจริญนนท์. 2544. เภสัชวินิจฉัย ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่ม 1. หจก. แสง เทียน การพิมพ์, ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

ไพร มัทธวรัตน์. 2554. “ต้นต้อยติ่งอังกาบ” ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร, สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

รศ.ดร.มานพ เจริญหไชยตระกูล. 2016. “รู้คุณค่าสาระสำคัญจากใบบัวบก”, สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Samy, MN., Khalil, HE, Sugimoto, S., Matsunami, K., Otsuka, H., and Kamel, M.S. 2015. “CHEMICAL CONSTITUENTS AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF GENUS RUELLIA”, Journal of Phamacognosy, 270-279.

Safitri, A., Fatchiyah, F., Sari, D.R.T., and Roosdiana, A. 2020. “Phytochemical screening, in vitro anti-oxidant activity, and in silico anti-diabetic activity of aqueous extracts of Ruellia tuberosa L”, Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 10(03), pp 101-108.

Kader, M.A., Parvin, S. Chowduri, M.A.U., and Haque, M.E. 2012. “ANTIBACTERIAL, ANTIFUNGAL AND INSECTICIDAL ACTIVITIES OF RUELLIA TUBEROSA (L.) ROOT EXTRACT”, 91-97.

Hafizhah. A., Purwoko. T., and Susilowati. A., 2019. “Antibacterial activity of ethanolic and n-hexane extracts of *Ruellia tuberosa* leaves against *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* bacteria”, 69-80.

Safitri, A., Roosdiana. A., Rosyada, I., Evindasari, C.A., Muzayyana, Z., and Rachmawanti, R. 2017. “Phytochemicals screening and anti-oxidant activity of hydroethanolic extracts of Ruellia tuberosa L”, Vol.509.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pham, T.N.T., Nguyen, T.T., Nguyen, T.L.T., Tran, A.M.N., Nguyen, T.N., and Tong, D.T. 2022. "Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Phytochemicals from Ruellia tuberosa", Journal of Chemistry, 14.

Sharma, A., Kumar, A., Singh, A.K., Singh, H., Kumar, K.J., and Kumar, P. 2023. "Phytochemical Profiling and Pharmacological Evaluation of Leaf Extracts of *Ruellia tuberosa* L.: An *In Vitro* and *In Silico* Approach", *Chemistry & Biodiversity, 20.*

Dutta, S., Hazra, K., Ghosal, S., Paria, D., JHazra, and Rao, M.M. 2020. "Morpho-anatomical and phytochemical characterisation of traditionally used plant Ruellia tuberosa L. leaves and roots**",** International Journal of Pharmacognosy, 7*(1).*

Chen, F.A., Wu, A.B., Shieh, P., Kuo, D.H., and Hsieh, C.Y. 2006**.** "Evaluation of the antioxidant activity of Ruellia tuberosa*", Food chemistry, 94 (1), 14-18.*

Desmiaty, Y., Rahmat. D., and Rainoer, A.N. 2015. "In Vitro ACE Inhibitory Activity and Total Flavonoids Quantification of Ethanolic Extract of Pletekan (Ruellia tuberosa L.) Leaves", International Symposium on Traditional Medicine

Supawana. K., Supawatchara. S., Thanapat. S., and Churdsak, J. 2016. "Phytochemical study of Ruellia tuberosa chloroform extract: Antioxidant and anticholinesterase activities", Der Pharmacia Lettre, 8(6):238-244

Faleye, O.S., Lee, J.H., and Lee, J. 2023. "Selected flavonoids exhibit antibiofilm and antibacterial effects against Vibrio by disrupting membrane integrity, virulence and metabolic activities", Biofilm 6.

Seenivasan, G., Krishanan, P.A., Ekojirao, J.R., and Muthiah, I. 2023. "Phytochemical Characterization and Evaluation of Crude Extract from *Ruellia patula* Leaves for Antimicrobial, Antioxidant and In Vitro-Inflammatory Activities", Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol 85, Issue 5, p1408.

Lucchini, J.J., Corre, J., and Cremieux, A. 1990. "ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PHENOLIC COMPOUNDS AND AROMATIC ALCOHOLS", 141, 499-510.

Safitri, E., Afifah, N., Khairi., Lelifajri., Nazaruddin., Susilawati, and Sani, N.D. 2019. "Ruellia tuberosa L Anthocyanin extract as a pH sensitive substance", Earth and Environmental Science, 364.

Wrolstad, R.E. 2006. "Anthocyanin Pigments-Bioactivity and Coloring Properties", Journal of Food Science, Volume 69, Issue 5, 419-425.

Gokul Krishnan, S., Dharanya, M., Jingo, K.B. 2023. "Standardization and Solvent Comparative

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Study of Ruellia tuberosa L", World Journail of Pharmaceuticial Research, Volume12, Issue9, 1535-1557.

Akiyama, H., Fuj.i K., Yamasaki, O., Ooni, T., and Iwatsuki, K. 2001. "Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*", Antimicrob Chemother, 48: 487-491.

Moyo. B., Masika, P.J., Muchenje. V. 2012. "Antimicrobial activities of Moringa oleifera Lam leaf extracts", Biotechnol, 11 (11), 2797-2802.

Chew, K.K, Khoo, M.Z., Ng, S.Y., Thoo, Y.Y., Wan-Aida, W.M., and Ho, C.W. 2011. "Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of Orthosiphon stamineus extracts", Iniernational Food Research Journal, 18(4): 1427-1435.

Martinez-Morales, F., Alonso-Castro, A.J., Zapata-Morales, J.R., Carranza-Alvarez, C., and Aragon-Martinez, O.H. 2020. "Use of standardized units for a correct interpretation of IC_{50} values obtained from the inhibition of the DPPH radical by natural antioxidants", Volume 74; 3325-3334.

Cheong, B.E., Waslim, M.Z., Lem, F.F., and Teoh, P.L. 2013. "Antioxidant and anti-proliferative activities of Sabah Ruellia tuberosa", Journal of Applied Pharmaceutical Science, 3(12): 20-24.

Ramadhan, M., Sabarudin, A., and Safitri, A. 2019. "Vitro Anti-microbial Activity of Hydroethanolic Extracts of Ruellia tuberosa L.: Eco-friendly Based-product Against Selected Pathogenic Bacteria", Earth and Environmental Science", 239.

Lacombe, CH-Wu, V., Tyler, S., and Edwards, K. 2010. "Antimicrobial action of the American cranberry constituents; phenolics, anthocyanins, and organic acids, against Escherichia coli O157: H7", International journal of food microbiology, 139 (1-2): 102-107.

Jeyaraj, E.J., Nathan, S., Lim, Y.Y., and Choo, W.S. 2022. "Antibiofilm properties of *Clitoria ternatea* flower anthocyanin-rich fraction towards Pseudomonas aeruginosa", Access Microbiology, 4 (4), 000343.

Viskelis, P., Rubinskiene, M., Jasutiene, I., Šarkinas, A., Daubaras, R., and Česonieme, L. 2009. "Anthocyanins, Antioxidative, and Antimicrobial Properties of American Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) and their Press Cakes", Journal of Food Science, Volume 74, Issue 2, 157-161.

Agnieszka, C., Dorota, W., and Andrej, B.H. 2010. "Anthocyanins as Antimicrrobial Agents of Natural Plant Origin", Natural Product Communications, Volume 6, 149-156.

Wu, V.C.H., Qiu, X., Bushway, A., and Harper, L. 2008. "Antibacterial effects of American

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) concentrate on foodborne pathogens", LWT- Food Science and Technology, 41, 1834-1841.

Lacombe, A., Wu, V.C.H., Tyler, S., and Edwards, K., 2010. "Antimicrobial action of the American cranberry constituents: phenolics, anthocyanins, and organic acids, against *Escherichia coli* O157:H7", International Journal of Food Microbiology, 139, 102-107.

Faleye, O.S., Lee, J.H., and Lee, J. 2023. "Selected flavonoids exhibit antibiofilm and antibacterial effects against Vibrio by disrupting membrane integrity, virulence and metabolic activities", Biofilm.

Sigh, G., and Kumar, P. 2011. "Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Flavonoids of *Withania Somnifera* L.", Indian Journal of Pharmaceutical Science, 73(4): 473-478.

Ajizah, A., 2004. "Sensitivity of Salmonella typhimurium to leaf extract *Psidium guajava* L. Bioscientiae", 1(1): 31-38.

Amajida, H., Porwoko, T., Susilowati, A. 2019. "Antibacterial activity of ethanolic and n- hexane extracts of *Ruellia tuberosa* leaves against *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* bacteria", Journal of Natural Product Biochemistry, 17 (2),: 69-80.

El-Mahmood, A.M., and Doughari, J.H. 2008. "Phytochemical screening and antibacterial evaluation of the leaf and root extracts of *Cassia alata* Linn", African Journal of Pharmacy and Pharmacology, Vol.2(7): 124-129.

Rauha, J.P., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kahkonen, M., Kujala, T., Pihlaja, K., Vuorela, H., and Vuorela, P. 2000. "Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds", International Journal of Food Microbiology, Volume 56, Issue 1

Doss, A., Mubarack, H.M., and Dhanabalan, R. 2009. "Antibacterial activity of tannins from the leaves of *Solanum trilobatum* Linn.", Indian Journal of Science and Technology, Vol. 2, No 2, ISSN: 0974-6846.

Gluglani, A., Pandey, H.K., Rajeshwar, K.K., Arya, and Bala, M. 2020. "In-Vitro Antioxidant Activity, Total Phenolic, Flavonoid and Tannin Contents in the Ajuga Bracteosa Wall. Ex Benth, Grown at Middle Hill Climatic Condition of Western Himalayas", Defence Life Science Journal, Vol.5(3): 198-203

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. and Aruoma, O. I. 1987. The deoxyribose method: A simple "test tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. Analytical Biochemistry. 165. 215 – 219.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Koleckar, V., Kubikova, K., Rehakova, Z., Kuca, K., Jun, D., Jahodar, L., and Opletal, L., "Condensed and Hydrolysable Tannins as Antioxidants Influencing the Health", Volume 8: 436-447(12)

Giovanni, A., Elisa, A., Susanna, P., and Massimiliano, T. "Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance", Plant Science, Volume 196: 67-76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ และการเตรียมสารละลาย

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 Nutrient Agar (NA)

สูตรอาหาร Nutrient Agar (NA) สำหรับปริมาตร 1 ลิตร

- Beef extract 3 กรัม
- Peptone 5 กรัม
- ผงวุ้น 15 กรัม
- น้ำกลั่น 1 ลิตร

1.2 Nutrient broth (NB)

สูตรอาหาร Nutrient broth (NB) สำหรับปริมาตร 1 ลิตร

- Beef extract 3 กรัม
- Peptone 5 กรัม
- น้ำกลั่น 1 ลิตร

1.3 Muller Hinton Agar (MHA)

สูตรอาหาร Muller Hinton Agar (MHA) สำหรับปริมาตร 1 ลิตร

- Beef extract powder 2 กรัม
- Acid digest casein 17.5 กรัม
- Soluble starch 1.5 กรัม
- ผงวุ้น 15 กรัม
- น้ำกลั่น 1 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการทดสอบ

2.1 การเตรียมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละสำหรับการเตรียมปริมาตร 0.85 สำหรับปริมาตร 1 ลิตร

- ชั่งโซเดียมคลอไรด์ 8.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดดูแรนจากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2.2 การเตรียม Mcfarland standard No. 0.5 สำหรับปริมาตร 1 ลิตร

- เตรียมโดยใช้กรดซัลฟิวริกปริมาตร 995 มิลลิลิตร ผสมกับแบเรียมคลอไรด์ 5 มิลลิลิตร ให้เข้ากันแล้วแบ่งบรรจุใส่หลอดฝาเกลียวปิดให้สนิท แล้วเก็บไว้ในที่มืด

2.3 การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 สำหรับปริมาตร 10 มิลลิลิตร

- ชั่งโซเดียมคาร์บอเนตปริมาตร 0.75 กรัม ละลายในเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาต 10 มิลลิลิตร จากนั้นคนจนโซเดียมคาร์บอเนตละลายหมด

2.4 การเตรียมสารละลาย DPPH ใน Absolute Ethanol

- เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 0.0039 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.5 การเตรียมสารละลาย α - tocopherol 1 มิลลิลิตร

- เตรียมสารละลาย α - tocopherol ความเข้มข้น 3.125 มิลลิโมลลาร์ โดยชั่ง α -tocopherol 1.3442 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

2.6 การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ พีเอช 1.0

- ชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.93 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับพีเอชด้วยกรดไฮโดรคลอริก และโซเดียมไฮดรอกไซด์จนกว่าพีเอชของสารละลายถึง 1.0 ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร

2.7 การเตรียมสารละลายโซเดียมอะซีเตตพีเอช 4.5

- ชั่งโซเดียมอะซีเตต 16.41 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับพีเอชด้วยกรดไฮโดรคลอริก และโซเดียมไฮดรอกไซด์จนกว่าพี่เอชของสารละลายถึง 4.5 ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร

2.8 การเตรียม Aluminium Chloride

- ชั่งสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ 10.087 กรัม ละลายด้วยเมทานอล ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 การเตรียม Sodium nitrite 5 เปอร์เซ็นต์

- ชั่งสารละลายโซเดียมไนไตรต์ 5.004 กรัม ละลายด้วยเมทานอล ปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.10 การเตรียมสารละลาย Sodium hydroxide ความเข้มข้น 1 โมลาร์

- ชั่งสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ 10.002 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

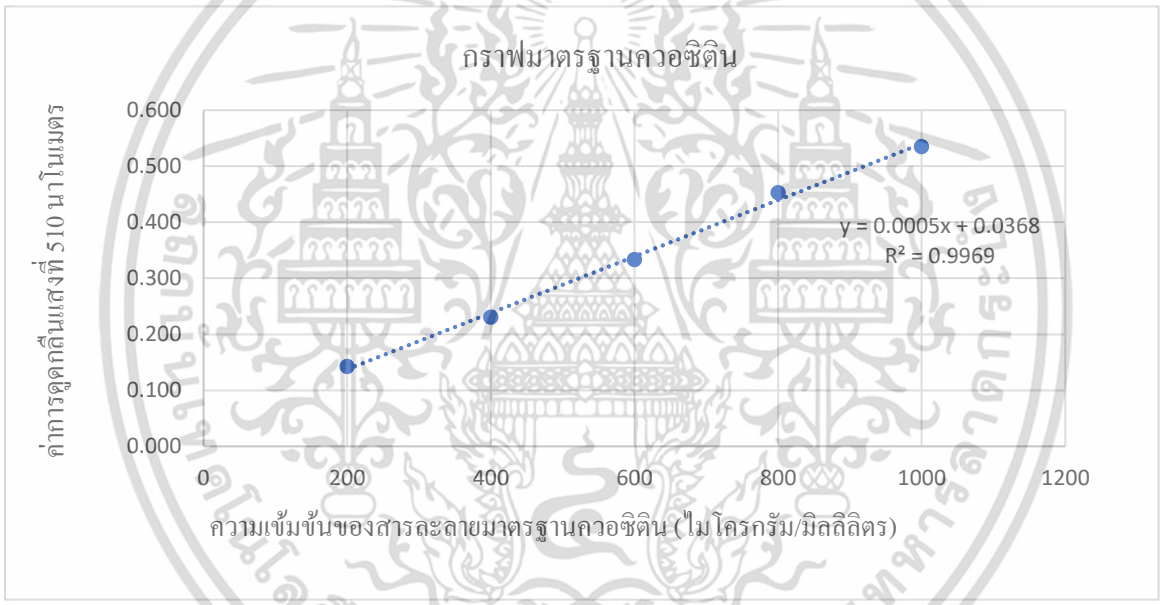
ตารางการทดสอบ การคำนวณ และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. การคำนวณหาปริมาณสารสกัด (%Yield Crude Extract)

วิธีการคำนวณ

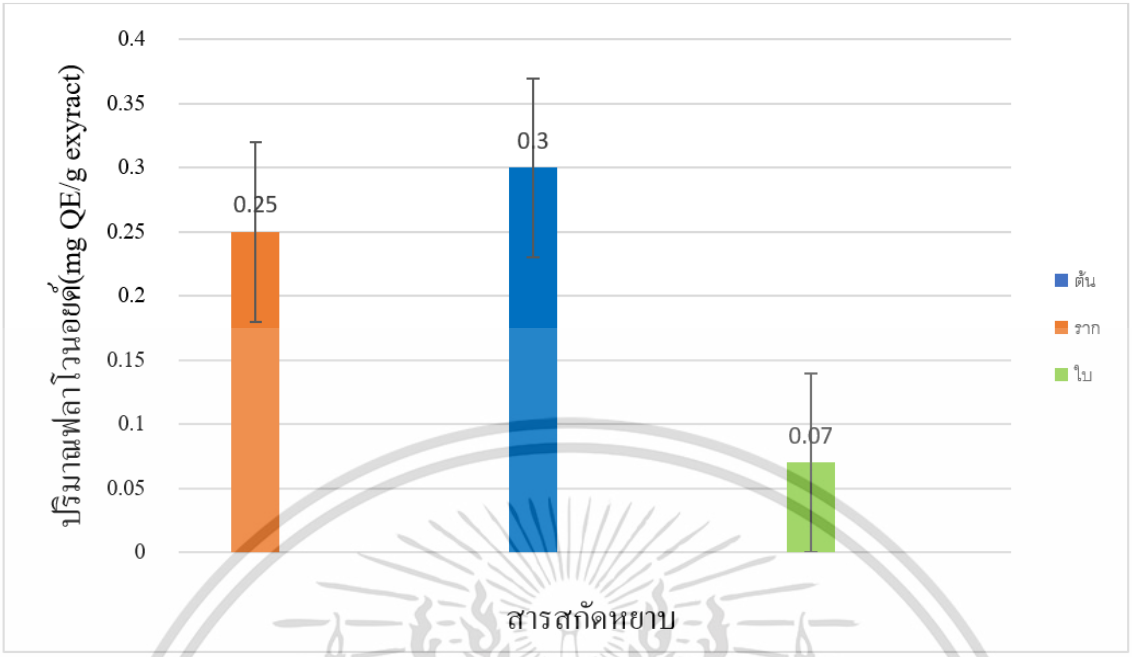
จากสูตร $\%\text{Yield Crude Extract} = \frac{\text{น้ำหนักสารที่สกัดได้(กรัม)}}{\text{ปริมาณของตัวอย่างที่ใช้ในสารสกัด(กรัม)}} \times 100$

2. การวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง



รูปภาคผนวก ข ที่ 1 แสดงกราฟมาตรฐานของควอซิตินที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ตารางภาคผนวก ข ที่ 1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบ ราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

Crude	จำนวนซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร
ราก	1	0.242
	2	0.253
	3	0.244
	4	0.255
	เฉลี่ย	0.249
ต้น	1	0.297
	2	0.297
	3	0.297
	4	0.297
	เฉลี่ย	0.291
ใบ	1	0.066
	2	0.064
	3	0.063
	4	0.066
	เฉลี่ย	0.065

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างการคำนวณสารประกอบฟลาโวนอยด์

จากสมการเส้นตรง y = 0.0005x + 0.0368

ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาบราก

สารสกัดหยาบรากมีค่าการดูดกลืนแสง คือ 0.249

y = 0.0005x + 0.0368

0.249 = 0.0005x + 0.0611

$$x = \frac{0.249 - 0.0368}{0.0005}$$

x = 424.4 มิลลิกรัม

สารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัม มีปริมาณฟลาโวนอยด์เท่ากับ 424.4 มิลลิกรัม

ถ้าสารสกัดหยาบ 1000 มิลลิกรัม มีปริมาณฟลาโวนอยด์ $= \frac{1000 \times 424.4}{1}$

= 424,400 มิลลิกรัม

ดังนั้นมีปริมาณฟลาโวนอยด์ 424,400 มิลลิกรัมในสารสกัดหยาบราก 1 กรัม

ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดต้น

สารสกัดหยาบรากมีค่าการดูดกลืนแสง คือ 0.291

y = 0.0005x + 0.0368

0.291 = 0.0005x + 0.0368

$$x = \frac{0.291 - 0.0368}{0.0005}$$

x = 508.4 มิลลิกรัม

สารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัม มีปริมาณฟลาโวนอยด์เท่ากับ 508.4 มิลลิกรัม

ถ้าสารสกัดหยาบ 1000 มิลลิกรัม มีปริมาณฟลาโวนอยด์ $= \frac{1000 \times 508.4}{1}$

= 508,400 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นมีปริมาณฟลาโวนอยด์ 508,400 มิลลิกรัมในสารสกัดหยาบต้น 1 กรัม

ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดใบ

สารสกัดหยาบรากมีค่าการดูดกลืนแสง คือ 0.065

$y = 0.0005x + 0.0368$

$0.065 = 0.0005x + 0.0368$

$$x = \frac{0.065 - 0.0368}{0.0005}$$

$x = 56.4$ มิลลิกรัม

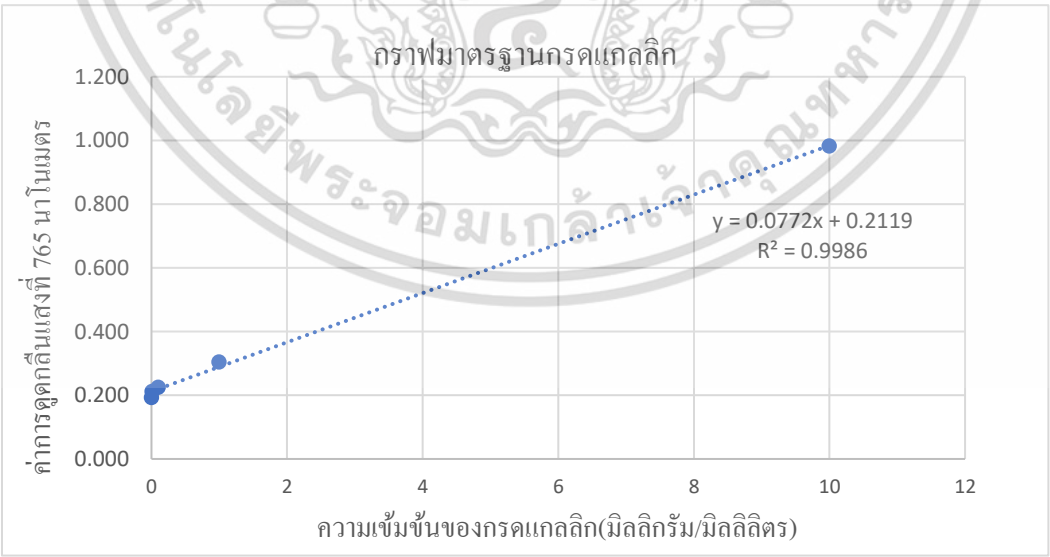
สารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัม มีปริมาณฟลาโวนอยด์เท่ากับ 56.4 มิลลิกรัม

ถ้าสารสกัดหยาบ 1000 มิลลิกรัม มีปริมาณฟลาโวนอยด์ $= \frac{1000 \times 56.4}{1}$

$= 56{,}400$ มิลลิกรัม

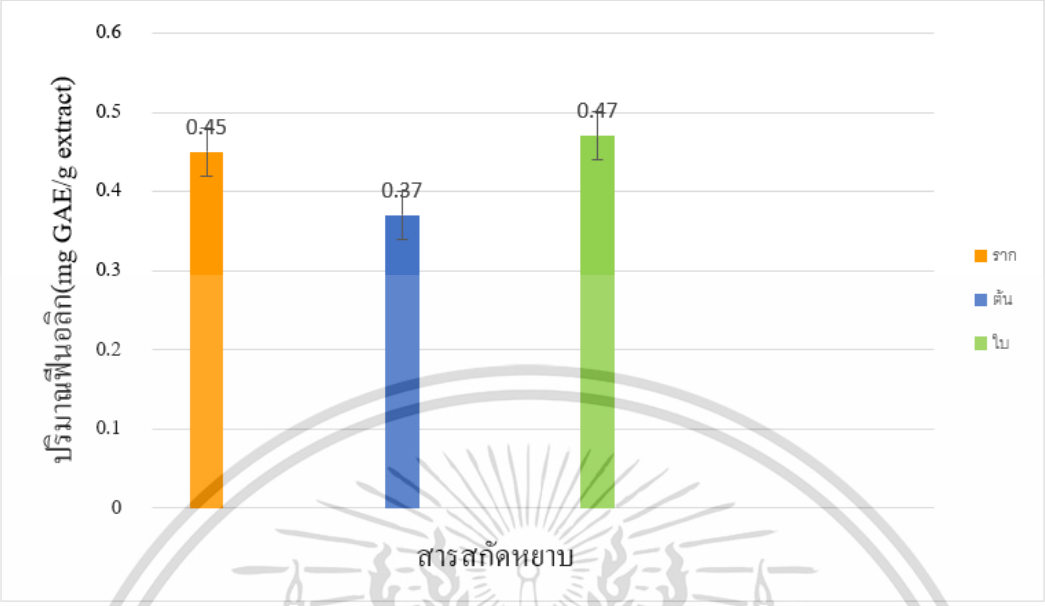
ดังนั้นมีปริมาณฟลาโวนอยด์ 56,400 มิลลิกรัมในสารสกัดหยาบใบ 1 กรัม

3. การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกในสารสกัดหยาบ ราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง



รูปภาคผนวก ข ที่ 3 แสดงกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก ข ที่ 4 แสดงปริมาณฟีนอลิกจากสารสกัดของราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

ตารางภาคผนวก ข ที่ 2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบ ราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

Crude	จำนวนซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร
Blank	1	0.185
	2	0.189
	3	0.188
	4	0.189
	เฉลี่ย	0.188
ราก	1	0.335
	2	0.469
	3	0.512
	4	0.467
	เฉลี่ย	0.446
ต้น	1	0.371
	2	0.404
	3	0.34
	4	0.345
	เฉลี่ย	0.365
ใบ	1	0.447

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	2	0.484
	3	0.478
	4	0.475
	เฉลี่ย	0.471

ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

สมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก คือ y = 0.0772x + 0.2119

โดย y คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบ

x คือ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัม)

ปริมาณฟีนอลิกจากสารสกัดหยาบราก

สารสกัดหยาบรากที่ค่าการดูดกลืนแสง คือ 0.446 – 0.087(แบลงค์) = 0.359

$$y = 0.0772x + 0.2119$$

$$x = \frac{0.359 - 0.2119}{0.0772}$$

$$x = 1.905$$

สารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัม มีปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 1.905 มิลลิกรัม

ถ้าสารสกัดหยาบ 1000 มิลลิกรัม มีปริมาณฟีนอลิก $= \frac{1000 \times 1.905}{1}$

= 1,905 มิลลิกรัม

ดังนั้นสารสกัดหยาบรากมีปริมาณฟีนอลิก 1,905 มิลลิกรัมต่อกรัม (mg GAE/g extract)

ปริมาณฟีนอลิกจากสารสกัดหยาบต้น

สารสกัดหยาบรากที่ค่าการดูดกลืนแสง คือ 0.365 – 0.087(แบลงค์) = 0.278

$$y = 0.0772x + 0.2119$$

$$x = \frac{0.278 - 0.2119}{0.0772}$$

$$x = 0.856$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัม มีปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 0.856 มิลลิกรัม

ถ้าสารสกัดหยาบ 1000 มิลลิกรัม มีปริมาณฟีนอลิก = $\frac{1000 \times 0.856}{1}$

= 856 มิลลิกรัม

ดังนั้นสารสกัดหยาบต้นมีปริมาณฟีนอลิก 856 มิลลิกรัมต่อกรัม (mg GAE/g extract)

ปริมาณฟีนอลิกจากสารสกัดหยาบใบ

สารสกัดหยาบรากที่ค่าการดูดกลืนแสง คือ 0.471 – 0.087(แบลงค์) = 0.384

$y = 0.0772x + 0.2119$

$x = \frac{0.384 - 0.2119}{0.0772}$

$x = 2.229$

สารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัม มีปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 1.905 มิลลิกรัม

ถ้าสารสกัดหยาบ 1000 มิลลิกรัม มีปริมาณฟีนอลิก = $\frac{1000 \times 2.229}{1}$

= 2,229 มิลลิกรัม

ดังนั้น สารสกัดหยาบใบมีปริมาณฟีนอลิก 2,229 มิลลิกรัมต่อกรัม (mg GAE/g extract)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.การวิเคราะห์หาสารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบ ราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

ตารางภาคผนวก ข ที่ 3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่พีเอช และความยาวคลื่นของสารสกัดหยาบ ราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

Crude	จำนวนซ้ำ	pH = 1.0		pH = 4.5	
		ค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร
ราก	1	0.747	0.601	0.576	0.683
	2	0.752	0.631	0.675	0.571
	3	0.695	0.592	0.725	0.623
	4	0.626	0.519	0.530	0.575
	เฉลี่ย	0.705	0.586	0.627	0.613
ต้น	1	0.589	0.426	0.590	0.462
	2	0.566	0.413	0.591	0.458
	3	0.562	0.412	0.611	0.453
	4	0.568	0.414	0.617	0.438
	เฉลี่ย	0.571	0.416	0.602	0.453
ใบ	1	0.181	0.136	0.170	0.128
	2	0.170	0.131	0.167	0.132
	3	0.166	0.127	0.169	0.131
	4	0.164	0.126	0.171	0.13
	เฉลี่ย	0.170	0.130	0.169	0.130

ตัวอย่างการคำนวณหาสารประกอบแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบ ราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

จากสูตรการคำนวณปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน = $\frac{A \times Mw \times DF \times 1000}{\xi \times 1}$

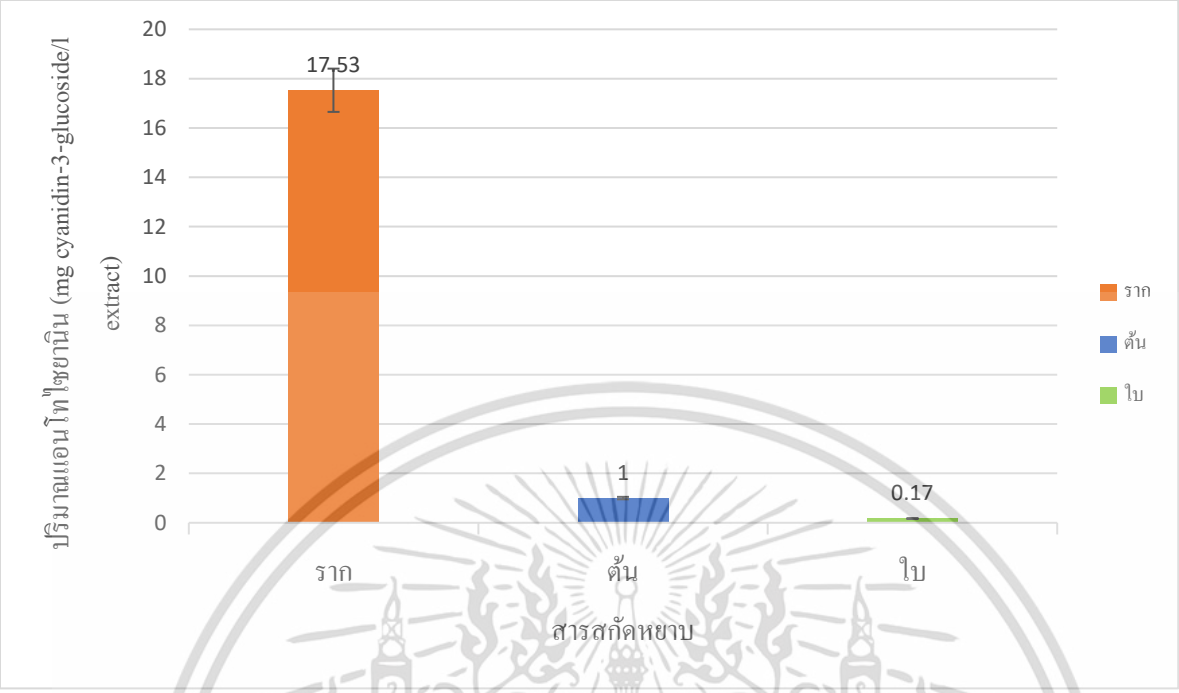
โดย A = $(Absorbance_{510}\text{-}Absorbance_{700})_{pH1.0}$- $(Absorbance_{510}\text{-}Absorbance_{700})_{pH4.5}$

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

ξ = Molar absorptivity (26900 $Lcm^{-1}mol^{-1}$)

DF = Dilution factor

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก ข ที่ 5 แสดงปริมาณแอนโทไซยานินจากสารสกัดของราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

ปริมาณแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบราก

สารสกัดหยาบ pH = 1.0 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 และ 700 นาโนเมตร คือ 0.705 และ 0.586

pH = 4.5 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 และ 700 นาโนเมตร คือ 0.627 และ 0.613

A = (0.705 - 0.586) - (0.627 - 0.613)

= 0.105

ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน $= \frac{0.105 \times 449.2 \times 10 \times 1000}{26900 \times 1}$

= 17.534 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตร

สารสกัดหยาบรากที่ 1000 มิลลิลิตร มีปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน 17.534 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตร

ถ้าสารสกัดหยาบที่ 1 มิลลิลิตร จะมีสารประกอบแอนโทไซยานิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$= \frac{1 \times 17.534}{1000}$$

$$= 0.0175$$

สารสกัดหยาบรากที่ 0.04 มิลลิกรัม มีปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินเท่ากับ 0.0175

ถ้าสารสกัดหยาบที่ 1000 มิลลิกรัม จะมีสารประกอบแอนโทไซยานิน

$$= \frac{1000 \times 0.0175}{0.04}$$

= 437.5 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น สารสกัดหยาบรากมีปริมาณสารแอนโทไซยานิน 437.5 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อกรัมของสารสกัด

ปริมาณแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบต้น

สารสกัดหยาบ pH = 1.0 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 และ 700 นาโนเมตร คือ 0.571 และ 0.416

pH = 4.5 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 และ 700 นาโนเมตร คือ 0.611 และ 0.453

A = (0.571 - 0.416) - (0.602 - 0.453)

= 0.006

ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน $= \frac{0.006 \times 449.2 \times 10 \times 1000}{26900 \times 1}$

= 1.002 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตร

สารสกัดหยาบต้นที่ 1000 มิลลิลิตร มีปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน 1.002 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตร

ถ้าสารสกัดหยาบที่ 1 มิลลิลิตร จะมีสารประกอบแอนโทไซยานิน

$$= \frac{1 \times 1.002}{1000}$$

$$= 0.001$$

สารสกัดหยาบต้นที่ 0.04 มิลลิกรัม มีปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินเท่ากับ 0.001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ้าสารสกัดหยาบที่ 1000 มิลลิกรัม จะมีสารประกอบแอนโทไซยานิน

$$= \frac{1000 \times 0.001}{0.04}$$

= 25 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น สารสกัดหยาบต้นมีปริมาณสารแอนโทไซยานิน 25 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อกรัมของสารสกัด

ปริมาณแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบใบ

สารสกัดหยาบ pH = 1.0 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 และ 700 นาโนเมตร คือ 0.170 และ 0.130

pH = 4.5 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 และ 700 นาโนเมตร คือ 0.169 และ 0.130

A = (0.170 - 0.130) - (0.169 - 0.130)

= 0.001

ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน $= \frac{0.001 \times 449.2 \times 10 \times 1000}{26900 \times 1}$

= 0.1669 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตร

สารสกัดหยาบใบที่ 1000 มิลลิลิตร มีปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน 0.1669 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตร

ถ้าสารสกัดหยาบที่ 1 มิลลิลิตร จะมีสารประกอบแอนโทไซยานิน

$$= \frac{1 \times 0.1669}{1000}$$

= 0.0002

สารสกัดหยาบใบที่ 0.04 มิลลิกรัม มีปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินเท่ากับ 0.0002

ถ้าสารสกัดหยาบที่ 1000 มิลลิกรัม จะมีสารประกอบแอนโทไซยานิน

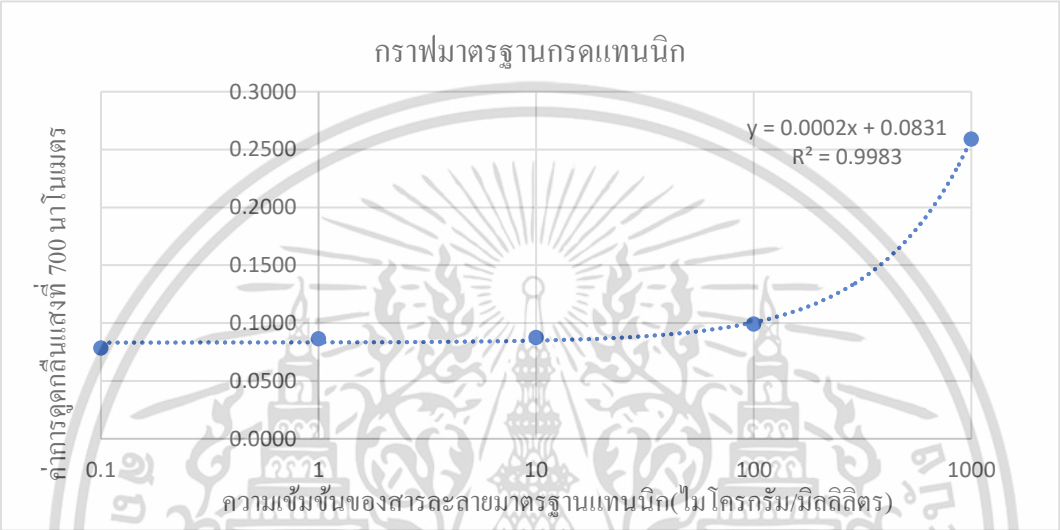
$$= \frac{1000 \times 0.0002}{0.04}$$

= 5 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อกรัมของสารสกัด

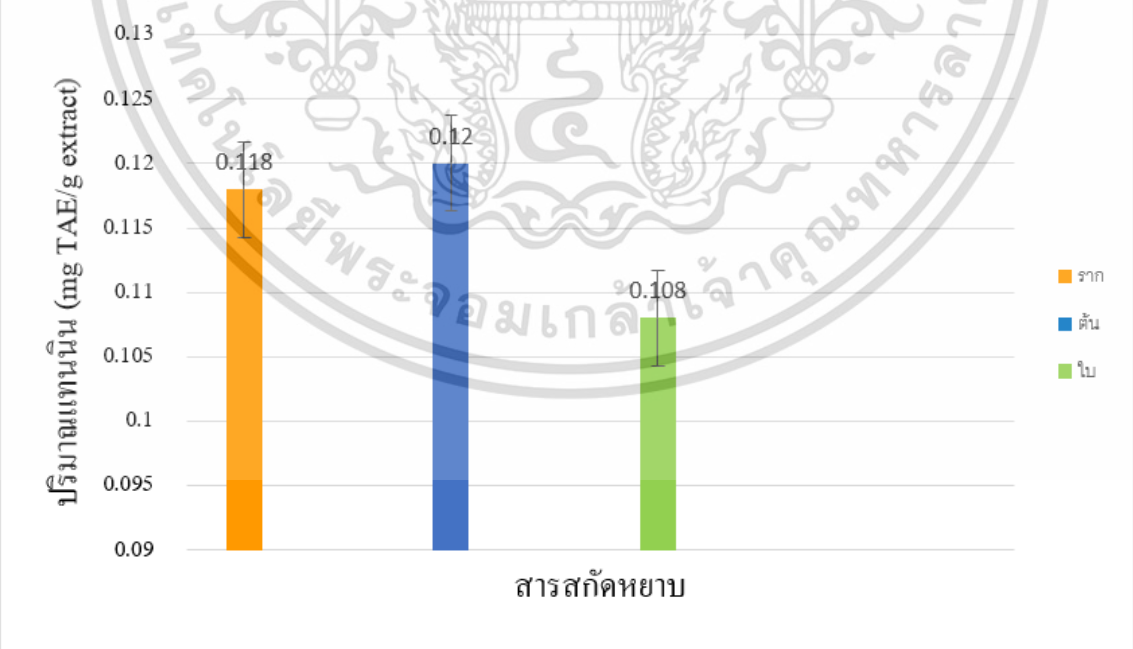
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น สารสกัดหยาบต้นมีปริมาณสารแอนโทไซยานิน 5 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อกรัมของสารสกัด

5. การวิเคราะห์หาสารประกอบแทนนินในสารสกัด ราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง



รูปภาคผนวก ข ที่ 6 แสดงกราฟมาตรฐานของกรดแทนนิกที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร



รูปภาคผนวก ข ที่ 7 แสดงการหาปริมาณแทนนินจากสารสกัดจากราก ต้น และใบของต้อยติ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบ ราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

Crude	จำนวนซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร
ราก	1	0.117
	2	0.117
	3	0.116
	4	0.122
	เฉลี่ย	0.118
ต้น	1	0.124
	2	0.119
	3	0.119
	4	0.118
	เฉลี่ย	0.120
ใบ	1	0.111
	2	0.101
	3	0.10
	4	0.121
	เฉลี่ย	0.109

ปริมาณแทนนินจากสารสกัดหยาบราก

จากสมการเส้นตรง y = 0.0002x + 0.0831

y = 0.0001x + 0.0831

0.118 = 0.0005x + 0.0368

$$x = \frac{0.118 - 0.0368}{0.0005}$$

x = 162.4 ไมโครกรัมของกรดแทนนิก

x = 0.1624 มิลลิกรัม

สารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัม มีปริมาณกรดแทนนิกเท่ากับ 0.1624 มิลลิกรัม

ถ้าสารสกัดหยาบ 1000 มิลลิกรัม มีปริมาณกรดแทนนิก $= \frac{0.1624 \times 1000}{1}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

= 162.4 มิลลิกรัม

ดังนั้น สารสกัดหยาบรากมีปริมาณสารแทนนิก 162.4 มิลลิกรัมต่อกรัม (mg TAE/g extract)

ปริมาณแทนนินจากสารสกัดหยาบต้น

จากสมการเส้นตรง y = 0.0002x + 0.0831

y = 0.0001x + 0.0831

0.120 = 0.0005x + 0.0368

$$x = \frac{0.120 - 0.0368}{0.0005}$$

x = 166.4 ไมโครกรัมของกรดแทนนิก

x = 0.1664 มิลลิกรัม

สารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัม มีปริมาณกรดแทนนิกเท่ากับ 0.1664 มิลลิกรัม

ถ้าสารสกัดหยาบ 1000 มิลลิกรัม มีปริมาณกรดแทนนิก $= \frac{0.1664 \times 1000}{1}$

= 166.4 มิลลิกรัม

ดังนั้น สารสกัดหยาบต้นมีปริมาณสารแทนนิก 166.4 มิลลิกรัมต่อกรัม (mg TAE/g extract)

ปริมาณแทนนินจากสารสกัดหยาบใบ

จากสมการเส้นตรง y = 0.0002x + 0.0831

y = 0.0001x + 0.0831

0.109 = 0.0005x + 0.0368

$$x = \frac{0.109 - 0.0368}{0.0005}$$

x = 144.4 ไมโครกรัมของกรดแทนนิก

x = 0.1444 มิลลิกรัม

สารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัม มีปริมาณกรดแทนนิกเท่ากับ 0.1444 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ้าสารสกัดหยาบ 1000 มิลลิกรัม มีปริมาณกรดแทนนิก $= \frac{0.1444 \times 1000}{1}$

$= 144.4$ มิลลิกรัม

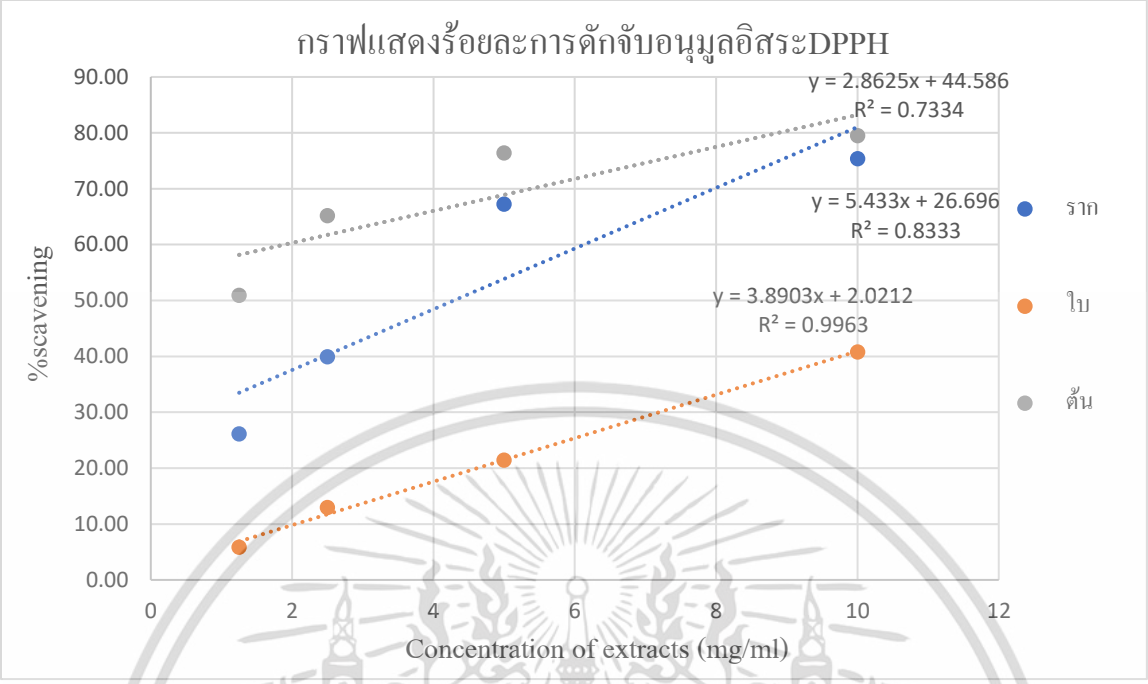
ดังนั้น สารสกัดหยาบใบมีปริมาณสารแทนนิก 144.4 มิลลิกรัมต่อกรัม (mg TAE/g extract)

6. ข้อมูลการทดลองเพื่อศึกษาความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธีวิเคราะห์ความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระดรพีพีเอช (DPPH scavenging activity)

ตารางภาคผนวก ข ที่ 5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร		
	ราก	ต้น	ใบ
1.25	0.522	0.427	0.663
	0.505	0.377	0.647
	0.526	0.270	0.651
	0.487	0.281	0.639
เฉลี่ย	0.510	0.339	0.650
2.5	0.399	0.237	0.625
	0.425	0.229	0.613
	0.411	0.240	0.584
	0.424	0.256	0.582
เฉลี่ย	0.415	0.241	0.601
5	0.241	0.150	0.544
	0.232	0.151	0.528
	0.221	0.147	0.553
	0.211	0.204	0.545
เฉลี่ย	0.226	0.163	0.543
10	0.167	0.132	0.351
	0.187	0.137	0.421
	0.167	0.147	0.459
	0.16	0.150	0.405
เฉลี่ย	0.17	0.142	0.409

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคนวก ข ที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของสารสกัด

การคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ ราก ต้น และใบของต้นต้อยติ่งที่ลดอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด (IC_{50})

ปริมาณ IC_{50} จากสารสกัดหยาบราก

จากสมการเส้นตรง $y = 5.433x + 26.696$

$50 = 5.433x + 26.696$

$$x = \frac{50 - 26.696}{5.433}$$

$x = 4.2893$

ดังนั้น สารสกัดหยาบราก มีปริมาณ IC_{50} เท่ากับ 4.2893 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ปริมาณ IC_{50} จากสารสกัดหยาบต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมการเส้นตรง $y = 2.8625x + 44.586$

$50 = 2.8625x + 44.586$

$$x = \frac{50 - 44.586}{2.8625}$$

$x = 1.8914$

ดังนั้น สารสกัดหยาบต้น มีปริมาณ IC_{50} เท่ากับ 1.8914 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ปริมาณ IC_{50} จากสารสกัดหยาบใบ

จากสมการเส้นตรง $y = 3.8903x + 2.0212$

$50 = 3.8903x + 2.0212$

$$x = \frac{50 - 2.0212}{3.8903}$$

$x = 12.333$

ดังนั้น สารสกัดหยาบใบ มีปริมาณ IC_{50} เท่ากับ 12.333 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาบส่วนราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

Analysis of Variance

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
ต้น	4	0.2970	0.0000	(0.2927, 0.3013)
ใบ	4	0.064750	0.001500	(0.060422, 0.069078)
ราก	4	0.24850	0.00645	(0.24417, 0.25283)

Pooled StDev = 0.00382608

Statistics

Crude	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Maximum
ต้น	4	0.297	0	0.297	0.297	0.297	0.297
ใบ	4	0.06475	0.0015	0.063	0.06325	0.065	0.066
ราก	4	0.2485	0.0064550	0.242	0.2425	0.2485	0.255

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Crude	N	Mean	Grouping
ต้น	4	0.2970	A
ราก	4	0.24850	B
ใบ	4	0.064750	C

Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดหยาบส่วนราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	3	0.19665	0.065551	35.33	0.000
Error	12	0.02226	0.001855		
Total	15	0.21892			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
ต้น	4	0.3733	0.0356	(0.3263, 0.4202)
ใบ	4	0.47100	0.01643	(0.42408, 0.51792)
ราก	4	0.4458	0.0767	(0.3988, 0.4927)
Blank	4	0.187750	0.001893	(0.140827, 0.234673)

Pooled StDev = 0.0430719

Statistics

Crude	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Maximum
ต้น	4	0.37325	0.0355657	0.34	0.34125	0.3745	0.404
ใบ	4	0.471	0.0164317	0.447	0.454	0.4765	0.484
ราก	4	0.44575	0.0766958	0.335	0.368	0.468	0.512
Blank	4	0.18775	0.0018930	0.185	0.18575	0.1885	0.189

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Crude	N	Mean	Grouping		
ใบ	4	0.47100	A		
ราก	4	0.4458	A		
ต้น	4	0.3733		B	
Blank	4	0.187750			C

Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบส่วนราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Factor	3	0.08551	0.02850	0.60	0.616
Error	44	2.07679	0.04720		
Total	47	2.16231			

Means

Factor	N	Mean	StDev	95% CI
510(1)	12	0.4822	0.2394	(0.3558, 0.6086)
510(2)	12	0.4557	0.2180	(0.3293, 0.5821)
710(1)	12	0.3773	0.1981	(0.2509, 0.5037)
710(2)	12	0.3987	0.2115	(0.2723, 0.5251)

Pooled StDev = 0.217255

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Maximum
510(1)	ต้น	4	0.57125	0.0120934	0.562	0.563	0.567	0.589
	ใบ	4	0.17025	0.0075884	0.164	0.1645	0.168	0.181
	ราก	4	0.705	0.0586345	0.626	0.64325	0.721	0.752
510(2)	ต้น	4	0.57125	0.0120934	0.562	0.563	0.567	0.589
	ใบ	4	0.16925	0.0017078	0.167	0.1675	0.1695	0.171
	ราก	4	0.6265	0.0892879	0.53	0.5415	0.6255	0.725
710(1)	ต้น	4	0.41625	0.0065511	0.412	0.41225	0.4135	0.426
	ใบ	4	0.13	0.0045461	0.126	0.12625	0.129	0.136
	ราก	4	0.58575	0.0475210	0.519	0.53725	0.5965	0.631
710(2)	ต้น	4	0.45275	0.0105	0.438	0.44175	0.4555	0.462
	ใบ	4	0.13025	0.0017078	0.128	0.1285	0.1305	0.132
	ราก	4	0.613	0.0523068	0.571	0.572	0.599	0.683

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Factor	N	Mean	Grouping
510(1)	12	0.4822	A
510(2)	12	0.4557	A
710(2)	12	0.3987	A
710(1)	12	0.3773	A

Means that do not share a letter are significantly different

4. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบแทนนินจากสารสกัดหยาบส่วนราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	2	0.000316	0.000158	4.25	0.050
Error	9	0.000335	0.000037		
Total	11	0.000651			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
ต้น	4	0.12000	0.00271	(0.11310, 0.12690)
ใบ	4	0.10825	0.00984	(0.10135, 0.11515)
ราก	4	0.11800	0.00271	(0.11110, 0.12490)

Pooled StDev = 0.00609872

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Statistics

Crude	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Maximum
ต้น	4	0.12	0.0027080	0.118	0.11825	0.119	0.124
ใบ	4	0.10825	0.0098446	0.1	0.10025	0.106	0.121
ราก	4	0.118	0.0027080	0.116	0.11625	0.117	0.122

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Crude	N	Mean	Grouping	
ต้น	4	0.12000	A	
ราก	4	0.11800	A	B
ใบ	4	0.10825		B

Means that do not share a letter are significantly different.

5. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) จากสารสกัดหยาบส่วนราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	11	1.43170	0.130155	153.58	0.000
Error	36	0.03051	0.000847		
Total	47	1.46221			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
ต้น 10	4	0.14150	0.00843	(0.11198, 0.17102)
ต้น 1.25	4	0.3387	0.0760	(0.3092, 0.3683)
ต้น 2.5	4	0.24050	0.01133	(0.21098, 0.27002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้น 5	4	0.1630	0.0274	(0.1335, 0.1925)
ใบ 10	4	0.4090	0.0448	(0.3795, 0.4385)
ใบ 1.25	4	0.65000	0.01000	(0.62048, 0.67952)
ใบ 2.5	4	0.6010	0.0214	(0.5715, 0.6305)
ใบ 5	4	0.54250	0.01047	(0.51298, 0.57202)
ราก 10	4	0.17025	0.01164	(0.14073, 0.19977)
ราก 1.25	4	0.51000	0.01783	(0.48048, 0.53952)
ราก 2.5	4	0.41475	0.01228	(0.38523, 0.44427)
ราก 5	4	0.22625	0.01305	(0.19673, 0.25577)

Pooled StDev = 0.0291109

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Maximum
Abs517nm	ต้น 10	4	0.1415	0.0084261	0.132	0.13325	0.142	0.15
	ต้น 1.25	4	0.33875	0.0759665	0.27	0.27275	0.329	0.427
	ต้น 2.5	4	0.2405	0.0113284	0.229	0.231	0.2385	0.256
	ต้น 5	4	0.163	0.0273861	0.147	0.14775	0.1505	0.204
	ใบ 10	4	0.409	0.0448107	0.351	0.3645	0.413	0.459
	ใบ 1.25	4	0.65	0.01	0.639	0.641	0.649	0.663
	ใบ 2.5	4	0.601	0.0213698	0.582	0.5825	0.5985	0.625
	ใบ 5	4	0.5425	0.0104722	0.528	0.532	0.5445	0.553
	ราก 10	4	0.17025	0.0116440	0.16	0.16175	0.167	0.187
	ราก 1.25	4	0.51	0.0178326	0.487	0.4915	0.5135	0.526
	ราก 2.5	4	0.41475	0.0122848	0.399	0.402	0.4175	0.425
	ราก 5	4	0.22625	0.0130480	0.211	0.2135	0.2265	0.241

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Maximum
	ต้น 10	1	79.5076	*	79.5076	79.5076	79.5076	79.5076
	ต้น 1.25	1	50.9413	*	50.9413	50.9413	50.9413	50.9413
	ต้น 2.5	1	65.1702	*	65.1702	65.1702	65.1702	65.1702
	ต้น 5	1	76.3939	*	76.3939	76.3939	76.3939	76.3939

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

%Inhibiton	ใบ 10	1	40.7676	*	40.7676	40.7676	40.7676	40.7676
	ใบ 1.25	1	5.86531	*	5.86531	5.86531	5.86531	5.86531
	ใบ 2.5	1	12.9616	*	12.9616	12.9616	12.9616	12.9616
	ใบ 5	1	21.4337	*	21.4337	21.4337	21.4337	21.4337
	ราก 10	1	75.3440	*	75.3440	75.3440	75.3440	75.3440
	ราก 1.25	1	26.1405	*	26.1405	26.1405	26.1405	26.1405
	ราก 2.5	1	39.9348	*	39.9348	39.9348	39.9348	39.9348
	ราก 5	1	67.2339	*	67.2339	67.2339	67.2339	67.2339

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Crude	N	Mean	Grouping				
ใบ 1.25	4	0.65000	A				
ใบ 2.5	4	0.6010		B			
ใบ 5	4	0.54250			C		
ราก 1.25	4	0.51000			C		
ราก 2.5	4	0.41475				D	
ใบ 10	4	0.4090				D	
ต้น 1.25	4	0.3387					E
ต้น 2.5	4	0.24050					F
ราก 5	4	0.22625					F
ราก 10	4	0.17025						G
ต้น 5	4	0.1630						G
ต้น 10	4	0.14150						G

Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีแพร่บนวุ้นอาหารของสารสกัดหยาบจาก ราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

6.1 เชื้อแบคทีเรีย *E. coli*

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	16	2908.98	181.811	67.19	0.000
Error	34	92.00	2.706		
Total	50	3000.98			

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Crude	N	Mean	Grouping						
Gentamycin	3	40.00	A						
ราก 200	3	15.33		B					
ราก 100	3	13.67		B	C				
ต้น 200	3	13.333		B	C	D			
ใบ 200	3	12.667		B	C	D	E		
ราก 12.5	3	12.00			C	D	E	F	
ใบ 25	3	11.667			C	D	E	F	
ใบ 100	3	11.333			C	D	E	F	G
ใบ 50	3	11.000			C	D	E	F	G
ราก 50	3	10.667				D	E	F	G
ใบ 12.5	3	10.00					E	F	G
ราก 25	3	9.333						F	G
ต้น 100	3	8.67							G	H
EtOH 95%	3	6.000								H
ราก 6.25	3	6.000								H
ใบ 6.25	3	6.000								H
ต้น 50	3	6.000								H

Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Statistics

Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ต้น 100	3	8.66667	1.33333	2.30940	6	6	10	10	10
ต้น 200	3	13.3333	0.666667	1.15470	12	12	14	14	14
ต้น 50	3	6	0	0	6	6	6	6	6
ใบ 100	3	11.3333	0.333333	0.577350	11	11	11	12	12
ใบ 12.5	3	10	0	0	10	10	10	10	10
ใบ 200	3	12.6667	0.333333	0.577350	12	12	13	13	13
ใบ 25	3	11.6667	0.333333	0.577350	11	11	12	12	12
ใบ 50	3	11	0.577350	1	10	10	11	12	12
ใบ 6.25	3	6	0	0	6	6	6	6	6
ราก 100	3	13.6667	2.18581	3.78594	11	11	12	18	18
ราก 12.5	3	12	1.15470	2	10	10	12	14	14
ราก 200	3	15.3333	2.40370	4.16333	12	12	14	20	20
ราก 25	3	9.33333	0.666667	1.15470	8	8	10	10	10
ราก 50	3	10.6667	0.333333	0.577350	10	10	11	11	11
ราก 6.25	3	6	0	0	6	6	6	6	6
Gentamycin	3	40	0	0	40	40	40	40	40
EtOH 95%	3	6	0	0	6	6	6	6	6

6.1.1 สารสกัดจากราก

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	5	163.83	32.767	5.27	0.009
Error	12	74.67	6.222		
Total	17	238.50			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
6.25	3	6.000	0.000	(2.862, 9.138)
12.50	3	12.00	2.00	(8.86, 15.14)
25.00	3	9.333	1.155	(6.195, 12.471)
50.00	3	10.667	0.577	(7.529, 13.805)
100.00	3	13.67	3.79	(10.53, 16.80)
200.00	3	15.33	4.16	(12.20, 18.47)

Pooled StDev = 2.49444

Statistics

Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
6.25	3	6	0	0	6	6	6	6	6
12.50	3	12	1.15470	2	10	10	12	14	14
25.00	3	9.33333	0.666667	1.15470	8	8	10	10	10
50.00	3	10.6667	0.333333	0.577350	10	10	11	11	11
100.00	3	13.6667	2.18581	3.78594	11	11	12	18	18
200.00	3	15.3333	2.40370	4.16333	12	12	14	20	20

6.1.2 สารสกัดจากลำต้น

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	2	82.67	41.333	18.60	0.003
Error	6	13.33	2.222		
Total	8	96.00			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
50.00	3	6.000	0.000	(3.894, 8.106)
100.00	3	8.67	2.31	(6.56, 10.77)
200.00	3	13.333	1.155	(11.227, 15.439)

Pooled StDev = 1.49071

Statistics

Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
50.00	3	6	0	0	6	6	6	6	6
100.00	3	8.66667	1.33333	2.30940	6	6	10	10	10
200.00	3	13.3333	0.666667	1.15470	12	12	14	14	14

6.1.3 สารสกัดจากใบ

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	5	82.444	16.4889	49.47	0.000
Error	12	4.000	0.3333		
Total	17	86.444			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
6.25	3	6.000	0.000	(5.274, 6.726)
12.50	3	10.00	0.00	(9.27, 10.73)
25.00	3	11.667	0.577	(10.940, 12.393)
50.00	3	11.000	1.000	(10.274, 11.726)
100.00	3	11.333	0.577	(10.607, 12.060)
200.00	3	12.667	0.577	(11.940, 13.393)

Pooled StDev = 0.577350

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Statistics

Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
6.25	3	6	0	0	6	6	6	6	6
12.50	3	10	0	0	10	10	10	10	10
25.00	3	11.6667	0.333333	0.577350	11	11	12	12	12
50.00	3	11	0.577350	1	10	10	11	12	12
100.00	3	11.3333	0.333333	0.577350	11	11	11	12	12
200.00	3	12.6667	0.333333	0.577350	12	12	13	13	13

6.2.4 ตัวควบคุม

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Control	1	1734.00	1734.00	*	*
Error	4	0.00	0.00		
Total	5	1734.00			

Means

Control	N	Mean	StDev	95% CI
EtOH 95%	3	6.000	0.000	(6.000, 6.000)
Gentamycin	3	40.00	0.00	(40.00, 40.00)

Pooled StDev = 0

Statistics

Control	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
EtOH 95%	3	6	0	0	6	6	6	6	6
Gentamycin	3	40	0	0	40	40	40	40	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.2 เชื้อแบคทีเรีย *P.aeranginosa*

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	10	1759.39	175.939	131.95	0.000
Error	22	29.33	1.333		
Total	32	1788.73			

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Crude	N	Mean	Grouping			
Gentamycin	3	32.00	A			
ต้น 200	3	15.00		B		
ราก 200	3	13.000			C	
ใบ 200	3	11.00				D
ต้น 100	3	10.67				D
ราก 100	3	10.333				D
EtOH 95%	3	6.000				E
ราก 50	3	6.000				E
ใบ 50	3	6.000				E
ใบ 100	3	6.000				E
ต้น 50	3	6.000				E

Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Statistics

Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ต้น 100	3	10.6667	1.33333	2.30940	8	8	12	12	12
ต้น 200	3	15	1	1.73205	13	13	16	16	16
ต้น 50	3	6	0	0	6	6	6	6	6
ใบ 100	3	6	0	0	6	6	6	6	6
ใบ 200	3	11	1	1.73205	10	10	10	13	13
ใบ 50	3	6	0	0	6	6	6	6	6
ราก 100	3	10.3333	0.881917	1.52753	9	9	10	12	12
ราก 200	3	13	0.577350	1	12	12	13	14	14
ราก 50	3	6	0	0	6	6	6	6	6
Gentamycin	3	32	0	0	32	32	32	32	32
EtOH 95%	3	6	0	0	6	6	6	6	6

6.2.1 สารสกัดจากราก

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	2	74.889	37.444	33.70	0.001
Error	6	6.667	1.111		
Total	8	81.556			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
50	3	6.000	0.000	(4.511, 7.489)
100	3	10.333	1.528	(8.844, 11.822)
200	3	13.000	1.000	(11.511, 14.489)

Pooled StDev = 1.05409

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ราก	50	3	6	0	0	6	6	6	6	6
	100	3	10.3333	0.881917	1.52753	9	9	10	12	12
	200	3	13	0.577350	1	12	12	13	14	14

6.2.2 สารสกัดจากลำต้น

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	2	121.56	60.778	21.88	0.002
Error	6	16.67	2.778		
Total	8	138.22			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
50	3	6.000	0.000	(3.645, 8.355)
100	3	10.67	2.31	(8.31, 13.02)
200	3	15.00	1.73	(12.65, 17.35)

Pooled StDev = 1.66667

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ต้น	50	3	6	0	0	6	6	6	6	6
	100	3	10.6667	1.33333	2.30940	8	8	12	12	12
	200	3	15	1	1.73205	13	13	16	16	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.2.3 สารสกัดจากใบ

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	2	50.000	25.000	25.00	0.001
Error	6	6.000	1.000		
Total	8	56.000			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
50	3	6.000	0.000	(4.587, 7.413)
100	3	6.000	0.000	(4.587, 7.413)
200	3	11.00	1.73	(9.59, 12.41)

Pooled StDev = 1

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ใบ	50	3	6	0	0	6	6	6	6	6
	100	3	6	0	0	6	6	6	6	6
	200	3	11	1	1.73205	10	10	10	13	13

6.2.4 ตัวควบคุม

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Control	1	1014.00	1014.00	*	*
Error	4	0.00	0.00		
Total	5	1014.00			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Means

Control	N	Mean	StDev	95% CI
EtOH 95%	3	6.000	0.000	(6.000, 6.000)
Gentamycin	3	32.00	0.00	(32.00, 32.00)

Pooled StDev = 0

Statistics

Control	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
EtOH 95%	3	6	0	0	6	6	6	6	6
Gentamycin	3	32	0	0	32	32	32	32	32

6.3 เชื้อแบคทีเรีย *M. luteus*

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	16	5272.6	329.539	107.73	0.000
Error	34	104.0	3.059		
Total	50	5376.6			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Crude	N	Mean	Grouping							
Ampicillin	3	50.00	A							
ราก 200	3	22.667		B						
ต้น 200	3	22.00		B						
ต้น 100	3	16.67			C					
ราก 100	3	14.33			C	D				
ต้น 50	3	13.33				D	E			
ใบ 100	3	13.00				D	E	F		
ราก 50	3	11.667				D	E	F	G	
ใบ 50	3	11.667				D	E	F	G	
ใบ 200	3	11.33					E	F	G	
ต้น 25	3	10.667					E	F	G	
ใบ 25	3	10.333						F	G	
ราก 25	3	10.00							G	
EtOH 95%	3	6.000								H
ราก 12.5	3	6.000								H
ใบ 12.5	3	6.000								H
ต้น 12.5	3	6.000								H

Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Statistics

Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ต้น 100	3	16.6667	1.76383	3.05505	14	14	16	20	20
ต้น 12.5	3	6	0	0	6	6	6	6	6
ต้น 200	3	22	1.15470	2	20	20	22	24	24
ต้น 25	3	10.6667	0.666667	1.15470	10	10	10	12	12
ต้น 50	3	13.3333	1.33333	2.30940	12	12	12	16	16
ใบ 100	3	13	0	0	13	13	13	13	13
ใบ 12.5	3	6	0	0	6	6	6	6	6
ใบ 200	3	11.3333	2.72845	4.72582	6	6	13	15	15
ใบ 25	3	10.3333	0.666667	1.15470	9	9	11	11	11
ใบ 50	3	11.6667	0.881917	1.52753	10	10	12	13	13
ราก 100	3	14.3333	1.20185	2.08167	12	12	15	16	16
ราก 12.5	3	6	0	0	6	6	6	6	6
ราก 200	3	22.6667	0.666667	1.15470	22	22	22	24	24
ราก 25	3	10	0	0	10	10	10	10	10
ราก 50	3	11.6667	0.333333	0.577350	11	11	12	12	12
Ampicillin	3	50	0	0	50	50	50	50	50
EtOH 95%	3	6	0	0	6	6	6	6	6

6.3.1 สารสกัดจากราก

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	4	464.93	116.233	96.86	0.000
Error	10	12.00	1.200		
Total	14	476.93			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
12.5	3	6.000	0.000	(4.591, 7.409)
25.0	3	10.00	0.00	(8.59, 11.41)
50.0	3	11.667	0.577	(10.257, 13.076)
100.0	3	14.33	2.08	(12.92, 15.74)
200.0	3	22.667	1.155	(21.257, 24.076)

Pooled StDev = 1.09545

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ราก	12.5	3	6	0	0	6	6	6	6	6
	25.0	3	10	0	0	10	10	10	10	10
	50.0	3	11.6667	0.333333	0.577350	11	11	12	12	12
	100.0	3	14.3333	1.20185	2.08167	12	12	15	16	16
	200.0	3	22.6667	0.666667	1.15470	22	22	22	24	24

6.3.2 สารสกัดจากลำต้น

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	4	438.93	109.733	27.43	0.000
Error	10	40.00	4.000		
Total	14	478.93			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
12.5	3	6.000	0.000	(3.427, 8.573)
25.0	3	10.667	1.155	(8.094, 13.239)
50.0	3	13.33	2.31	(10.76, 15.91)
100.0	3	16.67	3.06	(14.09, 19.24)
200.0	3	22.00	2.00	(19.43, 24.57)

Pooled StDev = 2

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ลำต้น	12.5	3	6	0	0	6	6	6	6	6
	25.0	3	10.6667	0.666667	1.15470	10	10	10	12	12
	50.0	3	13.3333	1.33333	2.30940	12	12	12	16	16
	100.0	3	16.6667	1.76383	3.05505	14	14	16	20	20
	200.0	3	22	1.15470	2	20	20	22	24	24

6.3.3 สารสกัดจากใบ

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	4	85.73	21.433	4.12	0.032
Error	10	52.00	5.200		
Total	14	137.73			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
12.5	3	6.000	0.000	(3.067, 8.933)
25.0	3	10.333	1.155	(7.400, 13.267)
50.0	3	11.667	1.528	(8.733, 14.600)
100.0	3	13.00	0.00	(10.07, 15.93)
200.0	3	11.33	4.73	(8.40, 14.27)

Pooled StDev = 2.28035

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ใบ	12.5	3	6	0	0	6	6	6	6	6
	25.0	3	10.3333	0.666667	1.15470	9	9	11	11	11
	50.0	3	11.6667	0.881917	1.52753	10	10	12	13	13
	100.0	3	13	0	0	13	13	13	13	13
	200.0	3	11.3333	2.72845	4.72582	6	6	13	15	15

6.3.4 ตัวควบคุม

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	1	2904.00	2904.00	*	*
Error	4	0.00	0.00		
Total	5	2904.00			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
Ampicillin	3	50.00	0.00	(50.00, 50.00)
EtoH	3	6.000	0.000	(6.000, 6.000)

Pooled StDev = 0

Statistics

Control	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
Ampicillin	3	50	0	0	50	50	50	50	50
EtoH 95%	3	6	0	0	6	6	6	6	6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.4 เชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	19	5481.6	288.51	28.75	0.000
Error	40	401.3	10.03		
Total	59	5882.9			

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Crude	N	Mean	Grouping								
ต้น 200	3	36.67	A								
ต้น 100	3	31.00		B							
ราก 200	3	30.333		B							
ต้น 50	3	29.00		B							
ใบ 200	3	27.67		B							
ราก 100	3	26.333		B	C						
ราก 50	3	21.33			C	D					
ต้น 25	3	20.67				D	E				
ใบ 100	3	17.67				D	E	F			
ต้น 12.5	3	16.00					E	F	G		
Ampicillin	3	14.00						F	G	H	
ราก 25	3	12.667						F	G	H	I
ต้น 6.25	3	12.667						F	G	H	I
ใบ 50	3	11.67							G	H	I
ใบ 25	3	9.000								H	I J
ราก 12.5	3	8.667									I J
EtOH 95%	3	6.000									J
ราก 6.25	3	6.000									J
ใบ 12.5	3	6.000									J
ต้น 3.125	3	6.000									J

Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Statistics

Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ต้น 100	3	31	3.51188	6.08276	24	24	34	35	35
ต้น 12.5	3	16	0	0	16	16	16	16	16
ต้น 200	3	36.6667	3.52767	6.11010	30	30	38	42	42
ต้น 25	3	20.6667	2.90593	5.03322	16	16	20	26	26
ต้น 3.125	3	6	0	0	6	6	6	6	6
ต้น 50	3	29	2.88675	5	24	24	29	34	34
ต้น 6.25	3	12.6667	0.666667	1.15470	12	12	12	14	14
ใบ 100	3	17.6667	2.60342	4.50925	13	13	18	22	22
ใบ 12.5	3	6	0	0	6	6	6	6	6
ใบ 200	3	27.6667	2.60342	4.50925	23	23	28	32	32
ใบ 25	3	9	0.577350	1	8	8	9	10	10
ใบ 50	3	11.6667	1.45297	2.51661	9	9	12	14	14
ราก 100	3	26.3333	0.333333	0.577350	26	26	26	27	27
ราก 12.5	3	8.66667	0.666667	1.15470	8	8	8	10	10
ราก 200	3	30.3333	0.881917	1.52753	29	29	30	32	32
ราก 25	3	12.6667	0.666667	1.15470	12	12	12	14	14
ราก 50	3	21.3333	2.66667	4.61880	16	16	24	24	24
ราก 6.25	3	6	0	0	6	6	6	6	6
Ampicillin	3	14	0	0	14	14	14	14	14
EtoH 95%	3	6	0	0	6	6	6	6	6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.4.1 สารสกัดจากราก

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	5	1473.11	294.622	66.29	0.000
Error	12	53.33	4.444		
Total	17	1526.44			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
6.250	3	6.000	0.000	(3.348, 8.652)
12.500	3	8.667	1.155	(6.015, 11.319)
25.000	3	12.667	1.155	(10.015, 15.319)
50.000	3	21.33	4.62	(18.68, 23.99)
100.000	3	26.333	0.577	(23.681, 28.985)
200.000	3	30.333	1.528	(27.681, 32.985)

Pooled StDev = 2.10819

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ราก	6.250	3	6	0	0	6	6	6	6	6
	12.500	3	8.66667	0.666667	1.15470	8	8	8	10	10
	25.000	3	12.6667	0.666667	1.15470	12	12	12	14	14
	50.000	3	21.3333	2.66667	4.61880	16	16	24	24	24
	100.000	3	26.3333	0.333333	0.577350	26	26	26	27	27
	200.000	3	30.3333	0.881917	1.52753	29	29	30	32	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.4.2 สารสกัดจากลำต้น

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	6	2176.3	362.71	20.15	0.000
Error	14	252.0	18.00		
Total	20	2428.3			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
3.125	3	6.000	0.000	(0.746, 11.254)
6.250	3	12.667	1.155	(7.413, 17.920)
12.500	3	16.00	0.00	(10.75, 21.25)
25.000	3	20.67	5.03	(15.41, 25.92)
50.000	3	29.00	5.00	(23.75, 34.25)
100.000	3	31.00	6.08	(25.75, 36.25)
200.000	3	36.67	6.11	(31.41, 41.92)

Pooled StDev = 4.24264

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ลำต้น	3.125	3	6	0	0	6	6	6	6	6
	6.250	3	12.6667	0.666667	1.15470	12	12	12	14	14
	12.500	3	16	0	0	16	16	16	16	16
	25.000	3	20.6667	2.90593	5.03322	16	16	20	26	26
	50.000	3	29	2.88675	5	24	24	29	34	34
	100.000	3	31	3.51188	6.08276	24	24	34	35	35
	200.000	3	36.6667	3.52767	6.11010	30	30	38	42	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.4.3 สารสกัดจากใบ

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	4	881.60	220.400	22.96	0.000
Error	10	96.00	9.600		
Total	14	977.60			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
12.500	3	6.000	0.000	(2.014, 9.986)
25.000	3	9.000	1.000	(5.014, 12.986)
50.000	3	11.67	2.52	(7.68, 15.65)
100.000	3	17.67	4.51	(13.68, 21.65)
200.000	3	27.67	4.51	(23.68, 31.65)

Pooled StDev = 3.09839

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ใบ	12.500	3	6	0	0	6	6	6	6	6
	25.000	3	9	0.577350	1	8	8	9	10	10
	50.000	3	11.6667	1.45297	2.51661	9	9	12	14	14
	100.000	3	17.6667	2.60342	4.50925	13	13	18	22	22
	200.000	3	27.6667	2.60342	4.50925	23	23	28	32	32

6.4.4 ตัวควบคุม

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Control	1	96.0000	96.0000	*	*
Error	4	0.0000	0.0000		
Total	5	96.0000			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Means

Control	N	Mean	StDev	95% CI
Ampicillin	3	14.00	0.00	(14.00, 14.00)
EtOH 95%	3	6.000	0.000	(6.000, 6.000)

Pooled StDev = 0

Statistics

Control	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
Ampicillin	3	14	0	0	14	14	14	14	14
EtoH 95%	3	6	0	0	6	6	6	6	6

6.5 เชื้อแบคทีเรีย *P. mirabillis*

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	8	2409.67	301.208	422.47	0.000
Error	18	12.83	0.713		
Total	26	2422.50			

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Crude	N	Mean	Grouping			
Gentamycin	3	32.00	A			
ลำต้น 200	3	25.00		B		
ลำต้น 100	3	22.000			C	
ลำต้น 50	3	20.833			C	
ลำต้น 25	3	18.667				D
EtOH 95%	3	6.000				E
ลำต้น 12.5	3	6.000				E
ราก 200	3	6.000				E
ใบ 200	3	6.000				E

Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Statistics

Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ใบ 200	3	6	0	0	6	6	6	6	6
ราก 200	3	6	0	0	6	6	6	6	6
ลำต้น 100	3	22	0.577350	1	21	21	22	23	23
ลำต้น 12.5	3	6	0	0	6	6	6	6	6
ลำต้น 200	3	25	1	1.73205	24	24	24	27	27
ลำต้น 25	3	18.6667	0.666667	1.15470	18	18	18	20	20
ลำต้น 50	3	20.8333	0.600925	1.04083	20	20	20.5	22	22
Gentamycin	3	32	0	0	32	32	32	32	32
EtOH 95%	3	6	0	0	6	6	6	6	6

6.5.1 สารสกัดจากราก

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ราก	200.0	3	6	0	0	6	6	6	6	6

6.5.2 สารสกัดจากลำต้น

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	4	648.67	162.167	126.36	0.000
Error	10	12.83	1.283		
Total	14	661.50			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
12.5	3	6.000	0.000	(4.543, 7.457)
25.0	3	18.667	1.155	(17.209, 20.124)
50.0	3	20.833	1.041	(19.376, 22.291)
100.0	3	22.000	1.000	(20.543, 23.457)
200.0	3	25.00	1.73	(23.54, 26.46)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pooled StDev = 1.13284

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ลำต้น	12.5	3	6	0	0	6	6	6	6	6
	25.0	3	18.6667	0.666667	1.15470	18	18	18	20	20
	50.0	3	20.8333	0.600925	1.04083	20	20	20.5	22	22
	100.0	3	22	0.577350	1	21	21	22	23	23
	200.0	3	25	1	1.73205	24	24	24	27	27

6.5.3 สารสกัดจากใบ

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ใบ	200.0	3	6	0	0	6	6	6	6	6

6.5.4. ตัวควบคุม

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Control	1	1014.00	1014.00	*	*
Error	4	0.00	0.00		
Total	5	1014.00			

Means

Control	N	Mean	StDev	95% CI
EtOH 95%	3	6.000	0.000	(6.000, 6.000)
Gentamycin	3	32.00	0.00	(32.00, 32.00)

Pooled StDev = 0

Statistics

Control	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
EtOH 95%	3	6	0	0	6	6	6	6	6
Gentamycin	3	32	0	0	32	32	32	32	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.6 เชื้อแบคทีเรีย *B. subtillis*

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	10	806.71	80.671	34.91	0.000
Error	22	50.83	2.311		
Total	32	857.55			

Grouping Information Using the Fisher LSD Method and 95% Confidence

Crude	N	Mean	Grouping			
ราก 200	3	19.33	A			
Ampicillin	3	18.00	A	B		
ราก 100	3	16.33		B		
ลำต้น 200	3	16.00		B		
ใบ 200	3	12.667			C	
ใบ 100	3	11.833			C	
ลำต้น 100	3	11.333			C	
EtOH 95%	3	6.000				D
ลำต้น 50	3	6.000				D
ราก 50	3	6.000				D
ใบ 50	3	6.000				D

Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Statistics

Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ใบ 100	3	11.8333	0.600925	1.04083	11	11	11.5	13	13
ใบ 200	3	12.6667	0.666667	1.15470	12	12	12	14	14
ใบ 50	3	6	0	0	6	6	6	6	6
ราก 100	3	16.3333	2.02759	3.51188	13	13	16	20	20
ราก 200	3	19.3333	1.76383	3.05505	16	16	20	22	22
ราก 50	3	6	0	0	6	6	6	6	6
ลำต้น 100	3	11.3333	0.666667	1.15470	10	10	12	12	12
ลำต้น 200	3	16	0	0	16	16	16	16	16
ลำต้น 50	3	6	0	0	6	6	6	6	6
Ampicillin	3	18	0	0	18	18	18	18	18
EtOH95%	3	6	0	0	6	6	6	6	6

6.6.1 สารสกัดจากราก

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	2	293.56	146.778	20.32	0.002
Error	6	43.33	7.222		
Total	8	336.89			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
50	3	6.000	0.000	(2.203, 9.797)
100	3	16.33	3.51	(12.54, 20.13)
200	3	19.33	3.06	(15.54, 23.13)

Pooled StDev = 2.68742

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ราก	50	3	6	0	0	6	6	6	6	6
	100	3	16.3333	2.02759	3.51188	13	13	16	20	20
	200	3	19.3333	1.76383	3.05505	16	16	20	22	22

6.6.2 สารสกัดจากลำต้น

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	2	150.222	75.1111	169.00	0.000
Error	6	2.667	0.4444		
Total	8	152.889			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
50	3	6.000	0.000	(5.058, 6.942)
100	3	11.333	1.155	(10.392, 12.275)
200	3	16.00	0.00	(15.06, 16.94)

Pooled StDev = 0.666667

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ลำต้น	50	3	6	0	0	6	6	6	6	6
	100	3	11.3333	0.666667	1.15470	10	10	12	12	12
	200	3	16	0	0	16	16	16	16	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.6.3 สารสกัดจากใบ

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Crude	2	79.167	39.5833	49.14	0.000
Error	6	4.833	0.8056		
Total	8	84.000			

Means

Crude	N	Mean	StDev	95% CI
50	3	6.000	0.000	(4.732, 7.268)
100	3	11.833	1.041	(10.565, 13.101)
200	3	12.667	1.155	(11.399, 13.935)

Pooled StDev = 0.897527

Statistics

Variable	Crude	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ใบ	50	3	6	0	0	6	6	6	6	6
	100	3	11.8333	0.600925	1.04083	11	11	11.5	13	13
	200	3	12.6667	0.666667	1.15470	12	12	12	14	14

6.6.4 ตัวควบคุม

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Control	1	216.000	216.000	*	*
Error	4	0.000	0.000		
Total	5	216.000			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Means

Control	N	Mean	StDev	95% CI
Ampicillin	3	18.00	0.00	(18.00, 18.00)
EtoH 95%	3	6.000	0.000	(6.000, 6.000)

Pooled StDev = 0

Statistics

Control	N	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
Ampicillin	3	18	0	0	18	18	18	18	18
EtOH 95%	3	6	0	0	6	6	6	6	6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

แบบฟอร์มการตรวจสอบการคัดลอกผลงานทางวิชาการ

วันที่ 15 พฤษภาคม 2567

ข้าพเจ้า นางสาวณัฐธยาน์ บุญรัตนานันต์ รหัสประจำตัว 63050472

นายณัฐธร คุณวรรณา รหัสประจำตัว 63050473

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา ปีการศึกษา 2566

ขอรับรองว่าโครงงานพิเศษเรื่อง

ชื่อภาษาไทย ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบางชนิดและสารพฤกษเคมีจากสารสกัดราก ลำต้น และใบของต้นต้อยติ่ง

ชื่อภาษาอังกฤษ Effects to inhibit some bacteria strain and phytochemical of root, stem and leaves extracts of *Ruellia tuberosa* Linn.

เป็นผลงานการวิจัยที่มิได้คัดลอกหรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่น และได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อนเรียบร้อยแล้ว โดยใช้โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ ทั้งนี้ได้ตรวจสอบความเหมือนของเนื้อหา 5.57% โดยอาจารย์ที่ปรึกษายอมรับว่าไม่ได้คัดลอกข้อความที่มีสาระสำคัญจากผลงานของผู้อื่น

ลงชื่อ.....ณัฐธยาน์ บุญรัตนานันต์..... ลงชื่อ.....ณัฐธร คุณวรรณา.....

(นางสาวณัฐธยาน์ บุญรัตนานันต์) (นายณัฐธร คุณวรรณา)

นักศึกษา นักศึกษา

ได้รับความเห็นชอบจากอาจารย์ที่ปรึกษา

ลงชื่อ.....สุทธิจิต ศรีวัชรกุล.....

(ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล)

อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้