

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเมทานอลจาก
ผลกระโดนและกระมอบ เพื่อพัฒนาสีย้อมผ้า
STUDY OF BIOLOGICAL ACTIVITIES OF METHANOLIC
EXTRACTS FROM KRADON AND KRAMOB FRUITS
FOR DEVELOPING FABRIC DYES



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ปีการศึกษา 2566
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องยกย่องเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

STUDY OF BIOLOGICAL ACTIVITIES OF METHANOLIC
EXTRACTS FROM KRADON AND KRAMOB FRUITS
FOR DEVELOPING FABRIC DYES



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอยู่ใต้อาณัติของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ACADEMIC YEAR 2023

หัวข้อโครงการพิเศษ

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเมทานอลจากผลกระโดน และกระมอบ เพื่อพัฒนาสีย้อมผ้า

Study of biological activities of methanolic extracts from kradon and kramob fruits for developing fabric dyes

ชื่อนักศึกษา

นายพงศกร ศรีลาวัตร รหัสนักศึกษา 63050503
นายอนุรักษ์ ดอกไม้ รหัสนักศึกษา 63050528

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา

ชีววิทยา



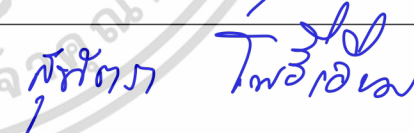
ปีการศึกษา

2566

อาจารย์ที่ปรึกษา

รศ. ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม

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

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

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับควรใช้วงวนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเมทานอลจากผลกระโดนและกระมอบ เพื่อพัฒนาสีย้อมผ้า
ชื่อนักศึกษา	นายพงศกร ศรีลาวัตร รหัสนักศึกษา 63050503 นายอนุรักษ์ ดอกไม้ รหัสนักศึกษา 63050528
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2566
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้สนใจสีทางเลือกจากวัชดุธรรมชาติเพื่อใช้ในการย้อมสีผ้า โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดเมทานอลจากผลกระโดน (*Kradon: Careya arborea* Roxb.) และกระมอบ (*Kramop: Gardenia obtusifolia* Roxb. Ex Kurz) ทำการตรวจสอบสารพฤกษเคมี 5 กลุ่ม คือ อัลคาลอยด์ แทนนิน ซาโปนิน คูมาริน และ ฟลาโวนอยด์ พบสารกลุ่มอัลคาลอยด์ คูมาริน และฟลาโวนอยด์ ในสารสกัด เมื่อทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียต่อเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี Paper disk diffusion พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลจากผลกระโดนมีบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* และ *S. aureus* ขนาด 11 และ 7.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดของกระโดนไปย้อมผ้าลินิน มัสลิน และสาลู นำมาตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย พบว่าผ้าที่ย้อมด้วยสารสกัดกระโดนที่ความเข้มข้น 1.6 มิลลิกรัมต่อดิस्क ผ้าลินินมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียสูงสุด รองลงมาคือมัสลิน และสาลู ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดเมทานอลจากผลกระโดนไปทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เคอราติโนไซต์ของผิวหนังมนุษย์ ชนิด HaCaT ด้วยวิธี MTT พบว่าสารสกัดเมทานอลจากผลกระโดนที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความเป็นพิษสูงสุด โดยค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ 83.13 เปอร์เซ็นต์ ในผ้ามัสลิน แต่เมื่อใช้สารช่วยติดสีชนิดซีถ้า พบว่าค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ลดลง จากการศึกษาชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดจากผลกระโดนในการพัฒนาเป็นสารต้านแบคทีเรียสำหรับการใช้เป็นสีย้อม แต่อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและความปลอดภัย

คำสำคัญ : การย้อมผ้า สีย้อมธรรมชาติ กระโดน กระมอบ สารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ความเป็นพิษต่อเซลล์
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Study of biological activities of methanolic extracts from Kradon and Kramob fruits for developing fabric dyes
Students	Mr. Pongsakorn Srilawat Student ID 63050503 Mr. Anuruk Dokmai Student ID 63050528
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2566
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Supattra Poeaim

Abstract

This research presents alternative colors derived from natural materials for fabric dyeing. The objective was to study the phytochemical constituents and antibacterial activity of methanol extracts from Kradon (*Careya arborea* Roxb.) and Kramop (*Gardenia obtusifolia* Roxb. Ex Kurz). The study examined five groups of phytochemicals: alkaloids, tannins, saponins, coumarins, and flavonoids. Among these, alkaloids, coumarins, and flavonoids were found in the extracts. The antibacterial activity against *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* was tested using the paper disk diffusion method. The crude methanol extract from Kradon showed inhibition zones of 11 mm for *S. epidermidis* and 7.67 mm for *S. aureus*. When the extract was used to dye linen, muslin, and saloo fabrics, the antibacterial activity of the dyed fabrics was tested. It was found that linen dyed with Kradon extract at a concentration of 1.6 mg per disk exhibited the highest antibacterial activity, followed by muslin and saloo, respectively. The methanol extract from Kradon was also tested for cytotoxicity on human skin keratinocytes (HaCaT) using the MTT assay. The extract at a concentration of 2 mg/mL showed the highest cytotoxicity, with an average cell toxicity rate of 83.13% in muslin fabric. However, the cytotoxicity significantly decreased when ash was used as a mordant. This study highlights the potential of

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่อผู้จัดทำเห็นประโยชน์และคุณค่าในการศึกษา
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kradon extract as an antibacterial agent for fabric dyeing. Nonetheless, further research is needed to enhance its efficacy and safety.

Keywords : Fabric dyeing, Natural dyes, *Gardenia obtusifolia*, *Careya arborea*, Phytochemical, Antibacterial activity, Cytotoxicity



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากความกรุณาและความร่วมมือของทุกท่าน ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ที่คอยให้คำปรึกษาและให้ความช่วยเหลือแนะนำที่ดีในการปรับปรุงข้อบกพร่องในการทำโครงการพิเศษและขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ กรรมการ ที่ให้ข้อคิดเห็นและคำแนะนำช่วยเหลือในการทำโครงการพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ธนารักษ์ จันทระประสิทธิ์ คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์ ที่ให้ข้อคิดเห็นและคำแนะนำช่วยเหลือในการย้อมผ้า สำหรับการทดลองในโครงการพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา ที่ได้เอื้ออำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ เครื่องมือ และสารเคมี สำหรับการทดลองในโครงการพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณมิตรภาพจากพี่ ๆ และเพื่อน ๆ ในระดับปริญญาตรี ปริญญาโท และปริญญาเอก ภาควิชาชีววิทยา ที่คอยช่วยเหลือ และให้กำลังใจในการทำโครงการพิเศษในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้ได้รับการศึกษา ตลอดจนคอยเลี้ยงดู อบรมสั่งสอน และเป็นกำลังใจเป็นแรงผลักดันในการทำโครงการพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี รวมถึงเพื่อน ๆ และบุคคลอื่น ๆ ที่ไม่ได้กล่าวมา ผู้จัดทำโครงการขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

พงศกร ศรีลาวัตร
อนุรักษ์ ดอกไม้
11 มิถุนายน 2567

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ง
สารบัญ.....	จ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ซ
คำย่อ/สัญลักษณ์.....	ฅ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์และประโยชน์ของกระโดน.....	3
2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์และประโยชน์ของกระมอบ.....	3
2.3 การตรวจสอบสารพฤกษเคมี.....	4
2.4 การศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย.....	5
2.5 เทคนิคการย้อมสีผ้าด้วยสารสกัดจากพืช.....	7
2.6 ผ้า.....	9
2.7 ความเป็นพิษต่อเซลล์.....	9
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	11
3.1 ตัวอย่างพืชกระโดนและกระมอบ.....	11
3.2 เชื้อแบคทีเรีย.....	11
3.3 ผ้า.....	11
3.4 เซลล์ไลน์.....	11
3.5 สารเคมี.....	11
3.5.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดสาร.....	11
3.5.2 สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบสารพฤกษเคมี.....	11
3.5.3 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย.....	12
3.5.4 สารเคมีในการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวิธี MTT.....	12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 เครื่องมือและอุปกรณ์	13
3.7 วิธีการทดลอง.....	14
3.7.1 การสกัดสาร	14
3.7.2 การตรวจสอบสารพฤษเคมีเบื้องต้น.....	14
3.7.2.1 การทดสอบอัลคาลอยด์	14
3.7.2.2 การทดสอบแทนนิน	15
3.7.2.3 การทดสอบซาโปนิน	15
3.7.2.4 การทดสอบคูมาริน	16
3.7.2.5 การทดสอบฟลาโวนอยด์	16
3.7.3 การทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรีย.....	16
3.7.4 การย้อมผ้า.....	17
3.7.5 การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวิธี MTT	17
บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล	19
4.1 ผลการสกัดสารหยาบเมทานอลจากกระมอบและกระโดน	19
4.2 ผลการประเมินสารพฤษเคมีเบื้องต้น.....	19
4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย	21
4.3 ผลการย้อมผ้าด้วยสีย้อมจากสารสกัดผลกระโดน	23
4.5 ผลการศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์.....	29
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	36
5.1 สรุปผลการวิจัย	36
5.2 ข้อเสนอแนะ	37
เอกสารอ้างอิง.....	38
ภาคผนวก	39
ภาคผนวก ก	40
ภาคผนวก ข	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ลักษณะของสารสกัดและผลได้ของสารสกัดเมทานอลจากผลกระทวมอบและกระโดน	19
4.2 ผลการประเมินสารพิษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดผลกระทวมอบและกระโดน	21
4.3 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i> และ <i>S. epidermidis</i> ของสารสกัดหยาบเมทานอลจาก สารสกัดผลกระทวมอบและกระโดน.....	22
4.4 ลักษณะของฝ้าดิบ 3 ชนิด ที่ยับยั้งด้วยสีย้อมจากสารสกัดผลกระโดน	24
4.5 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i> และ <i>S. epidermidis</i> ของสีย้อมฝ้าจากสารสกัดกระโดน	28
4.6 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง HaCat ที่ทดสอบด้วยสารสกัดเมทานอล สารสกัดกระโดนที่ถูกย้อมลงบนฝ้าฝ้าดิบแต่ละชนิด.....	31



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

ตารางที่	หน้า
2.1 ลักษณะของต้นกระโดน ลำต้น (ก) ผลกระโดน (ข).....	3
2.2 ลักษณะของต้นกระมอบ ลักษณะลำต้น (ก) ผลกระมอบ (ข).....	4
4.1 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดผลกระโดนกับเชื้อ 2 ชนิด.....	22
4.2 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย <i>S. aureus</i> ของสีย้อมสารสกัดผลกระโดนบนผ้า 3 ชนิด.....	26
4.3 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย <i>S. epidermis</i> ของสีย้อมสารสกัดผลกระโดนบนผ้า 3 ชนิด.....	27
4.4 ลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ไลน์ HaCaT ที่ทดสอบด้วยสารสกัดเมทานอลจากผล กระโดนที่ ถูกย่อยลงบนผ้าลินิน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อนหยด MTT.....	32
4.5 ลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ไลน์ HaCaT ที่ทดสอบด้วยสารสกัดเมทานอลจากผล กระโดนที่ ถูกย่อยลงบนผ้าฝ้ายลิน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อนหยด MTT.....	32
4.6 ลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ไลน์ HaCaT ที่ทดสอบด้วยสารสกัดเมทานอลจากผล กระโดนที่ ถูกย่อยลงบนผ้าสาหลู ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อนหยด MTT.....	33
4.7 ลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ไลน์ HaCaT ที่ทดสอบด้วยสารสกัดเมทานอลจากผล กระโดนที่ ถูกย่อยลงบนผ้าลินิน ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อนหยด MTT.....	33
4.8 ลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ไลน์ HaCaT ที่ทดสอบด้วยสารสกัดเมทานอลจากผล กระโดนที่ ถูกย่อยลงบนผ้าฝ้ายลิน ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อนหยด MTT.....	34
4.9 ลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ไลน์ HaCaT ที่ทดสอบด้วยสารสกัดเมทานอลจากผล กระโดนที่ ถูกย่อยลงบนผ้าสาหลู ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อนหยด MTT.....	34
4.10 ลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ไลน์ HaCaT ที่มีชีวิตจะเกิด ผลึกฟอร์มาซาน หลังหยด MTT.....	35
ข-1 การตรวจสอบอัลคาลอยด์ ของสารสกัดเมทานอลจากกระมอบ และกระโดน.....	46
ข-2 การตรวจสอบแทนนิน ของสารสกัดเมทานอลจากกระมอบ และกระโดน.....	47
ข-3 การตรวจสอบซาโปนิน Froth test ของสารสกัดเมทานอลจากกระมอบ และกระโดน.....	50
ข-4 การตรวจสอบซาโปนิน Hemolysis ของสารสกัดเมทานอลจากกระมอบ และกระโดน.....	52
ข-5 การตรวจสอบคูมาริน ของสารสกัดเมทานอลจากกระมอบ และกระโดน.....	53
ข-6 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ ของสารสกัดเมทานอลจากกระมอบ และกระโดน.....	54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
DMSO	Dimethyl sulfoxide
FBS	Fetal Bovine Serum
HaCaT	Human keratinocyte cell
IC ₅₀	50% inhibitory concentration
MTT	3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
RPMI 1640	Roswell park memorial institute 1640 medium
PBS	Phosphate buffer saline



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กระโดน (Kradon: *Careya arborea* Roxb.) หรือที่เรียกว่า Kumbhi เป็นพืชป่าที่แสดงถึงความหลากหลายในภูมิภาคทวีปเอเชีย พืชชนิดนี้เป็นไม้ผลัดใบขนาดกลางที่ลำต้นสูงได้ถึง 15 เมตร มีเปลือกหนาสีเทาเข้ม และมีลักษณะรอยแตกตื้น ผลของกระโดน มีลักษณะเป็นทรงกลม มีสีเขียวที่เปล่งปลั่งและมีกลิ่นฉุน มีลักษณะเด่นที่คล้ายคลึง กับพืชในวงศ์ Lecythidaceae (Satish และคณะ, 2010) นอกจากนี้พบว่า กระโดน มีความหลากหลายทางชีวภาพที่น่าสนใจ โดยมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อโรคบางชนิด เช่น *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermis* (Prabhakaran และคณะ, 2014) พร้อมทั้งมีการนำพืชชนิดนี้มาใช้ประโยชน์ในหลายด้านทั้งการแพทย์และอุตสาหกรรม

กระมอ (Kramop: *Gardenia obtusifolia* Roxb. Ex Kurz) อยู่ในวงศ์ Rubiaceae พืชชนิดนี้เป็นพืชพื้นเมืองในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และสามารถพบได้ในหลายประเทศ เช่น ไทย มาเลเซีย และอินโดนีเซีย (International Plant Names Index, 2023) ลักษณะของผลกระมอจะมีรูปร่างทรงกลมและมีสีน้ำตาลอมเขียว ใบพืชกระมอสามารถนำมาทำผลิตภัณฑ์ยาได้และมักถูกใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ เช่น โรคไข้ ความดันโลหิตสูง และแผลบริเวณผิวหนัง รวมถึงคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น ความสามารถในการต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง ต้านเชื้อไวรัสเอชไอวี และการป้องกันการทำลายของเซลล์ (Zongram และคณะ, 2017)

การใช้สีย้อมผ้าในการตกแต่งสิ่งทอต่าง ๆ ในปัจจุบันมีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิตอย่างมาก สีย้อมผ้าช่วยเพิ่มความสวยงามและความน่าสนใจให้กับสิ่งทอ ทำให้เสื้อผ้า ผ้าม่าน พรม และผลิตภัณฑ์สิ่งทออื่น ๆ มีความหลากหลายทางสีและดีไซน์ อีกทั้งยังรวมถึงแฟชั่นที่เปลี่ยนไปตามยุคสมัยโดยสีเป็นส่วนประกอบสำคัญต่อเนื้อผ้าที่เป็นปัจจัยต่อการเลือกซื้อของผู้บริโภค การย้อมสีผ้าได้รับความนิยมน้อยลงแพร่หลายในการตกแต่งสิ่งทอต่าง ๆ โดยส่วนใหญ่มักใช้สารเคมีสังเคราะห์เป็นสีซึ่งอาจมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและมีค่าใช้จ่ายสูง

เราจึงสนใจในการนำเสนอสีทางเลือกที่มาจากวัสดุธรรมชาติเพื่อใช้ในกระบวนการย้อมสีผ้า อีกทั้งยังสามารถช่วยลดปัญหาเรื่องแบคทีเรียที่สามารถพบได้บนผิวหนังที่เกิดจากเหงื่อติดตามเสื้อผ้า มักเป็นที่สะสมของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งส่งผลให้เกิดกลิ่นอับไม่พึงประสงค์บนร่างกายของเรา (Mia และคณะ, 2023) การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์หลักในการศึกษาสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดเมทานอลจากผลกระโดนและกระมอ รวมทั้งความเป็นพิษต่อเซลล์เคอราติโนไซต์

เอกสารนี้ของผิวน้ำมนุษย์ HaCaT ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จะมีความสำคัญและมีประโยชน์เพื่อพัฒนาเป็นนวัตกรรมที่ปลอดภัยยิ่งขึ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตภัณฑ์สีย้อมผ้าทางชีวภาพเป็นทางเลือกที่ยั่งยืนแทนการใช้สารเคมีในกระบวนการย้อมผ้าใน
อนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 การศึกษาสารพฤษเคมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย และความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัด
เมทานอลจากผลกระโดนและกระมอบ

1.2.2 การพัฒนาผลิตภัณฑ์สีย้อมผ้าโดยใช้สารสกัดจากผลกระโดน

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ทดสอบสารพฤษเคมี โดยแยกออกเป็น 5 กลุ่ม คือ อัลคาลอยด์ แทนนิน ซาโปนิน
คูมาริน และฟลาโวนอยด์

1.3.2 ศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากกระโดน และกระมอบ โดยใช้วิธี Paper
disk diffusion

1.3.3 ทดสอบการย้อมผ้าด้วยสารสกัดจากกระโดน นำมาทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย โดย
ใช้วิธี Paper disk diffusion

1.3.4 ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ จากผ้าที่ย้อมสารสกัดกระโดน โดยใช้วิธี MTT

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบข้อมูลการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดกระโดนและกระมอบ ได้แก่
สารพฤษเคมีเบื้องต้น ฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย และความเป็นพิษต่อเซลล์

1.4.2 สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สีย้อมผ้าจากสารสกัดของกระโดน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์และประโยชน์ของกระโดน

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกระโดน (*Kradon: Careya arborea* Roxb.) จัดอยู่ในวงศ์ Lecythidaceae ซึ่งเป็นต้นไม้ผลัดใบขนาดกลาง สามารถเจริญเติบโตได้สูงถึง 10-30 เมตร มีลำต้นที่มีโครงสร้างแข็งแรงและมีเปลือกลำต้นที่หนาและมีสีเทาเข้ม (ดังรูป 2.1 ก) บนเปลือกลำต้นนั้นมักจะพบรอยแตก ผลกระโดนเป็นรูปกลม มีเนื้อคล้ายเบอร์รี่ขนาดใหญ่ค่อนข้างแข็ง มีสีเขียวเข้มและมีลักษณะเกลี้ยงเกลา (ดังรูป 2.1 ข) และดอกมีลักษณะเป็นดอกใหญ่ มีช่อกระจาย ออกตามปลายกิ่งที่ไม่มีใบ เป็นดอกเดี่ยว (ราชบัณฑิตยสถาน, 2538) พบพืชชนิดนี้ได้ตามภูมิภาคเอเชีย เช่น บังกลาเทศ กัมพูชา อินเดีย ลาว มาลายา พม่า เนปาล ไทย และเวียดนาม (International Plant Names Index, 2023)

ประโยชน์ของกระโดน มีความสำคัญทางการแพทย์และมีประโยชน์ต่อมนุษย์ ซึ่งมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา เช่น เป็นยาต้านจุลชีพ มีสารต้านอนุมูลอิสระ มีฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง สามารถใช้เป็นยาแก้ปวดและยาแก้ท้องร่วงได้ อีกทั้งพืชชนิดนี้ยังมีสารประกอบทางเคมีที่สำคัญ เช่น ฟลาโวนอยด์ แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ และสเตอรอล (Ambardar และคณะ, 2013)



รูปที่ 2.1 ลักษณะของต้นกระโดน ลำต้น (ก) ผลกระโดน (ข)

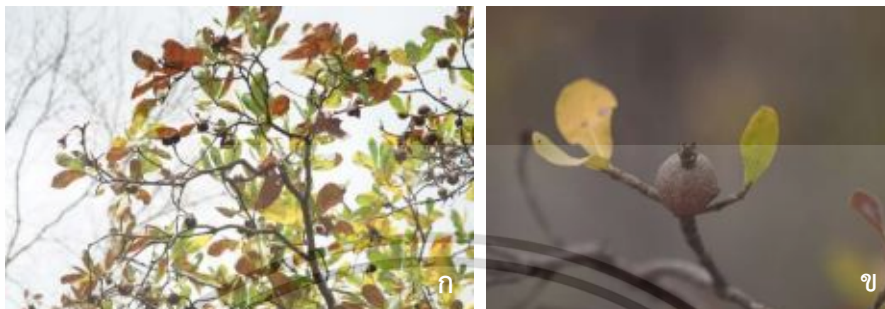
(ที่มา : ธนารักษ์ และคณะ, 2022)

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์และประโยชน์ของกระมอบ

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกระมอบ (*Kramop: Gardenia obtusifolia* Roxb. Ex Kurz) อยู่ในวงศ์ Rubiaceae ซึ่งเป็นพุ่มไม้กึ่งไม้ต้น (ดังรูป 2.2 ก) ผลัดใบขณะออกดอก มีลักษณะใบเรียวยาว ดอกใหญ่และมีกลิ่นหอม ลักษณะคล้ายถุงหรือกระจุกเปิด มีสีขาว ผลมีเนื้อรูปกลม ผนังหนา สีน้ำตาลอมเขียว ส่วนบนของผลมีกลีบเลี้ยงสั้นๆอยู่ (ดังรูป 2.2 ข) พบพืชชนิดนี้ได้ตามภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สามารถพบได้ในหลายประเทศเช่น ไทย มาเลเซีย และอินโดนีเซีย (International Plant Names Index, 2023) ประโยชน์ของกระมอบ มีคุณสมบัติทางการแพทย์ พบว่าเปลือกต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ส่วนบุคคลเท่านั้น ไม่ควรเผยแพร่ให้ผู้อื่นใช้ประโยชน์โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถใช้ผลยาระงับแผลในกระเพาะอาหาร ยาแก้ปวด สารต้านแบคทีเรียและเชื้อรา (Thant และคณะ, 2019) รวมถึงยังนำมาใช้ประโยชน์ในงานด้านศิลปะไม้ประดับและถูกนำมาใช้ในการศึกษาวิทยาศาสตร์ทางชีวภาพ ซึ่งช่วยในการวิจัยและพัฒนาทางการแพทย์ที่มีคุณค่าทางเภสัชกรรม



รูปที่ 2.2 ลักษณะของต้นกระมะอบ ลักษณะลำต้น (ก) ผลกระมะอบ (ข)
(ที่มา : กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, 2013)

2.3 การตรวจสอบสารพฤกษเคมี

สารพฤกษเคมีเป็นส่วนสำคัญของชีวิตประจำวันของมนุษย์ มีบทบาทสำคัญในหลายด้านที่มีผลกับสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม สารพฤกษเคมีสามารถพบได้ส่วนมากในพืช โดยเฉพาะ เปลือกไม้ ใบ ดอก ราก ผล และเมล็ดของพืช ตัวอย่างสารพฤกษเคมีที่สกัดจากพืชมีหลากหลายชนิด ซึ่งมีประโยชน์ทางการเกษตร การแพทย์ การวิจัยและพัฒนา เช่น อัลคาลอยด์ แทนนิน ซาโปนิน คูมาริน และฟลาโวนอยด์ สารพฤกษเคมีเกิดขึ้นด้วยกระบวนการสังเคราะห์เมตาบอลิซึมของสิ่งมีชีวิตในระดับปฐมภูมิหรือทุติยภูมิ โดยทุติยภูมิเป็นสารประกอบที่มีความหลากหลายทั้งทางเคมี และทางอนุกรมวิธาน การสังเคราะห์เมตาบอลิซึมนี้เป็นกระบวนการที่ธรรมชาติและความหลากหลายของสารพฤกษเคมีเกิดขึ้น และมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อมในหลายด้าน (BOCSO และคณะ, 2022)

อัลคาลอยด์ (Alkaloids) เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ มักพบในพืชชั้นสูง มีสูตรโครงสร้างซับซ้อนและแตกต่างกันมากมาย คุณสมบัติ คือ ส่วนใหญ่มีรสขม ไม่ละลายน้ำ ละลายได้ในสารละลายอินทรีย์ และมีฤทธิ์เป็นด่าง มีประโยชน์ในการรักษาโรค เช่น ใช้เป็นยาระงับปวด ยาแก้ไอ ยารักษาแผลในกระเพาะ

แทนนิน (Tannins) เป็นสารจำพวกสารประกอบฟีนอลิก มีโครงสร้างซับซ้อนพบได้เฉพาะในพืช คุณสมบัติ คือ มีรสฝาด สามารถตกตะกอนโปรตีนได้ เช่น ตกตะกอนเจลาติน เป็นสารที่ไม่ตกผลึกเมื่อนำมาละลายน้ำ และมีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน มีประโยชน์ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง และใช้เป็นยาฝาดสมาน

ซาโปนิน (Saponins) เป็นสารพวกสเตอรอยด์ มีคุณสมบัติบางอย่างคล้ายสบู่ เช่น สามารถเกิดฟองเมื่อเขย่ากับน้ำ มีประโยชน์ในการเป็นสารลดแรงตึงผิวที่ดี เช่น กลีซีร์ริซิน พบในชะเอมเทศ เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า และสามารถทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คูมาริน (Coumarin) เป็นสารประกอบที่โครงสร้างมีวงแหวนแลกโตน ในพืชจะพบได้ทั้งในรูปอิสระและไกลโคไซด์ มีคุณสมบัติ คือ มีกลิ่นหอม มีประโยชน์ในการใช้เป็นสารแต่งกลิ่น และช่วยป้องกันการแข็งตัวของเลือด

ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) มีโครงสร้างหลัก ได้แก่ ฟีนิลเบนซิล-แกมมา-ไพโรน พบทั่วไปในแบคทีเรีย รา แมลงบางชนิด พืชต่าง ๆ ยกเว้น สาหร่าย พบมากในพืชชั้นสูง ได้แก่ Kaempferol และ Quercetin มีคุณสมบัติ คือ เป็นสารที่ไม่มีสีแต่สามารถดูดกลืนรังสีได้ในช่วง 315–380 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงคลื่นที่แมลงสามารถมองเห็นได้ มีประโยชน์ในการล่อแมลงเพื่อการผสมเกสร (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

จากงานวิจัยของ Kashyp และคณะ (2023) ได้ศึกษาฤทธิ์ทางพิษวิทยาของสารสกัดเมทานอลจากรากของ *Careya arborea* พบสารพิษเคมีกลุ่มฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ เทอร์พีนอยด์ สเตียรอยด์ แทนนิน ซาโปนิน ฟีนอล และสเตอรอล จากงานวิจัยของ Triveni และคณะ (2022) วิเคราะห์พิษวิทยาของสารสกัดเมทานอลจากผลของ *Careya arborea* พบว่ามี อัลคาลอยด์ แทนนิน ซาโปนิน สเตียรอยด์ เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และไกลโคไซด์

จากการศึกษา Wong และคณะ (2015) พบว่าสกัดสารเฮกเซน อะซีโตน เอทานอล และสารสกัดเมทานอลจากทั้งต้นของพืช *Borreria exilis*, *B. laevicaulis*, *B. latifolia*, *B. remotifolia* และ *Richardia brasiliensis* ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกันกับกระมอบ Rubiaceae มีสารพิษเคมี ได้แก่ ฟีนอลิก อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน และเทอร์พีนอยด์

จากงานวิจัยของ Kesavan และคณะ (2018) ได้ประเมินสารพิษเคมีของสารสกัดเอทานอลจากใบของ *Gardenia jasminoides* ในวงศ์ Rubiaceae พบสารพิษเคมีกลุ่มซาโปนิน แทนนิน ฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ ไกลโคไซด์ และฟีนอล ในงานวิจัยของ Sundar และคณะ (2018) ศึกษาฤทธิ์ทางพิษวิทยาของสารสกัดเอทานอลจากใบ และเปลือกของ *Gardenia latifolia* ในวงศ์ Rubiaceae ผลการศึกษาพบว่ามีอัลคาลอยด์ สเตียรอยด์ ซาโปนิน และฟลาโวนอยด์

2.4 การศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย

การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสมุนไพรเป็นกระบวนการที่ใช้ในการตรวจสอบความสามารถในการยับยั้งหรือฆ่าจุลินทรีย์โดยใช้สารสกัดหรือสารเคมีที่พบในสมุนไพรต่าง ๆ วิธีการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลินทรีย์มีหลายวิธีที่สามารถนำมาใช้ มีวิธีการหลัก ๆ อยู่ 2 แบบ ได้แก่ Dilution Susceptibility Test และ Agar Diffusion Test

Dilution Susceptibility Test หรือ Minimal inhibition concentration (MIC) สามารถทราบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ เป็นการทดสอบเพื่อวัดเชิงปริมาณวิธีนี้เริ่มต้นด้วยการผสมสารสกัดหรือสารเคมีจากสมุนไพรกับเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบในอาหาร

เหลว เช่น Broth medium จากนั้นจะทำการผสมสารต้านจุลินทรีย์แบบต่าง ๆ และนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีเชื้อจุลินทรีย์อยู่ โดยใช้สัดส่วนที่ต่างกัน หลังจากเชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโตในอาหาร

เหลวเป็นระยะเวลาที่กำหนด จะทำการวัดความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์ที่เพาะขึ้นมา โดยนำมาทดสอบสารต้านจุลินทรีย์ว่ามีผลต่อเชื้อจุลินทรีย์หรือไม่ โดยวัดความเข้มข้นของเชื้อที่ยังเป็นอยู่ จากนั้นตรวจผลค่า MIC โดยสังเกตความขุ่นหรือใสของอาหารเหลว และมีหรือไม่มีเชื้อเจริญบนอาหารแข็ง

Agar dilution test วิธีที่มีการใช้แพร่หลายมากที่สุดคือ Disk diffusion วิธีนี้ไม่เหมาะกับเชื้อที่เจริญช้า โดยใช้แผ่นดิสก์ (Paper disk) ที่มีสารสกัดหรือสารเคมีจากสมุนไพรที่ต้องการทดสอบวางลงบนพื้นผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton (MH) Agar ที่มีเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แผ่นดิสก์จะทำให้สารต้านจุลินทรีย์ละลายใน (MH) Agar และสร้างโซนที่มีสารต้านจุลินทรีย์ตามรอบแผ่นดิสก์เมื่อเชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโตบน (MH) Agar จะพบโซนที่มีสารต้านจุลินทรีย์ จะแสดงให้เห็นว่าเชื้อจุลินทรีย์แสดงความไวต่อสารหรือไม่ โดยวัดรัศมีของโซน (Inhibition zone) ที่ไม่มีการเจริญเติบโต (Hudzicki และ Jan, 2009)

การศึกษาของ Prabhakaran และคณะ (2014) ได้ทดสอบสารสกัดจากเอทานอล จากผลกระโดน (*Careya arborea*) ทดสอบโดยวิธี agar well diffusion ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครลิตร พบโซนยับยั้งแบคทีเรีย 16 มิลลิเมตรต่อเชื้อ *S. aureus* และ 22 มิลลิเมตรต่อเชื้อ *S. epidermidis*

จากการศึกษา Sultana และคณะ (2019) สารสกัดจากเปลือกของพืช *Barringtonia Racemosa* (Lam.) ในวงศ์ Lecythidaceae มีการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 ไมโครกรัมต่อดิสก์พบโซนยับยั้ง 12.14 กับ 13.46 มิลลิเมตร ตามลำดับ ต่อเชื้อ *S. aureus* และ 12.32 กับ 15.04 มิลลิเมตร ต่อเชื้อ *S. epidermidis*

จากการศึกษาของ Manjima และคณะ (2014) ทดสอบกิจกรรมต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเอทานอล ด้วยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดจากกระโดนที่ความเข้มข้น 100 ไมโครลิตร 150 ไมโครลิตร และ 200 ไมโครลิตร มีผลต่อแบคทีเรีย *S. aureus* พบบริเวณยับยั้ง 25, 30, 33 มิลลิเมตร ตามลำดับ และ *S. epidermis* พบบริเวณยับยั้ง 22, 24, 26 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยมีเจนนตามัยซินความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม เป็นยามาตรฐานควบคุมการทดลอง การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงสารสกัดเอทานอลจากผลแห้งของ *Careya arborea* มีคุณสมบัติต้านแบคทีเรียที่สำคัญ

จากการศึกษาของ Wong และคณะ (2015) ในการศึกษาครั้งนี้ นักวิจัยได้ทำการตรวจสอบสารสกัดจาก *Borreria exilis*, *B. laevicaulis*, *B. latifolia*, *B. remotifolia* และ *Richardia brasiliensis* โดยใช้สารสกัดด้วยเฮกเซน อะซิโตน เอทานอล และเมทานอล หลังจากนั้นได้นำสารสกัดมาทดสอบเพื่อคัดกรองทางพิษเคมี และประเมินฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ทดสอบโดยใช้วิธีการ Disk diffusion พบว่าสารสกัดจาก *B. laevicaulis* ในชั้นเฮกเซนมีประสิทธิภาพมากที่สุดโดยแสดงโซนที่ใหญ่ที่สุดในการยับยั้ง *S. aureus* และ *Candida albicans* โดยมีขนาดเป็น 22.15 มิลลิเมตร และ 25.65 มิลลิเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้ การศึกษาเพิ่มเติมยังระบุว่าความเข้มข้นในการยับยั้งขั้นต่ำของสารสกัดจากเอทานอล *B. laevicaulis* พบว่าอยู่ที่ 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เทียบกับ *S. aureus* และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อ *C. albicans* ซึ่งเป็นเชื้อที่ดื้อยาปฏิชีวนะ นอกจากนี้ โซนของการยับยั้งสารสกัดจาก

B. laevicaulis ยังสูงกว่า ยาปฏิชีวนะชนิด nystatin อย่างมีนัยสำคัญ *B. laevicaulis* อยู่ในวงศ์ Rubiaceae เป็นสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *C. albicans* ที่มีความทนทานต่อยาปฏิชีวนะ

จากการศึกษาของ Tchouya และคณะ (2014) พบว่าสารสกัดเมทานอลของเปลือกลำต้นของ *Schumanniphthon magnificum* ซึ่งอยู่ในวงศ์ Rubiaceae มีฤทธิ์การต้านแบคทีเรียแกรมบวกได้ คือ *S. aureus* และ *S. saprophyticus*

ลักษณะทั่วไปของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*)

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม (cocci) ขนาด 0.5-1.5 ไมโครเมตร อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น โคโลนิขนาดเล็กมีสีขาวหรือสีครีม สามารถเจริญได้ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจนและมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

S. epidermidis มักพบอยู่บนผิวหนังของมนุษย์และเป็นส่วนหนึ่งของระบบไมโครฟลอรา (microbiota) บนผิวหนัง โดยทั่วไปแล้วเชื้อแบคทีเรียนี้ไม่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ แต่มีความสำคัญในการสังเกตว่าอาจเป็นปัจจัยที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อในสถานที่แผลที่มีออกซิเจนน้อย เช่นในกระบวนการผ่าตัดหรือการป้องกันการติดเชื้อในอุปกรณ์การแพทย์ นอกจากนี้ ยังมีบทบาทสำคัญในภูมิคุ้มกันบนผิวหนัง โดยเป็นส่วนหนึ่งของระบบที่ช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียอื่น ๆ และช่วยรักษาสมดุลทางจิตและสุขภาพของผิวหนังอย่างมีประสิทธิภาพ (Goering และคณะ, 2012)

ลักษณะทั่วไปของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ส่วนใหญ่ไม่มีแคปซูล มีรูปร่างกลม (cocci) มักพบเป็นคู่เกาะกันด้วยสายสั้น ๆ เป็นกิ่งหรือเป็นลักษณะพวงองุ่น และโคโลนิขนาดเล็กถึงปานกลาง มีสีที่แตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ โคโลนิที่มีสีเหลืองทอง สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งในสภาวะที่ไม่มีอากาศ และมีอากาศ (facultative anaerobes) เจริญได้ในระดับความเข้มข้นเกลือสูง อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 15-45 องศาเซลเซียส

S. aureus มักพบอยู่ในสิ่งแวดล้อมในที่ต่าง ๆ อย่างแพร่หลาย สามารถพบได้ในผิวหนังของมนุษย์และสัตว์ มีบทบาททางการแพทย์ โดย *S. aureus* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ได้ เช่น การติดเชื้อในแผลและการระบาดของโรคหลายชนิด รวมถึงเป็นตัวก่อโรคร้ายแรงเมื่อเข้าสู่ระบบไหลเวียนเลือด เช่น โรคหลอดเลือดอาหารอักเสบ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสายพันธุ์ของ *S. aureus* ที่มีความเสี่ยงต่อการดื้อยาต่อต้านการใชยาปฏิชีวนะ เป็นปัจจัยที่ทำให้การรักษาการติดเชื้อเชื้อแบคทีเรียนี้ยากต่อการรักษา (Goering และคณะ, 2012)

2.5 เทคนิคการย้อมสีผ้าด้วยสารสกัดจากพืช

การย้อมสีผ้าด้วยสารสกัดจากพืชเป็นวิธีการย้อมสีที่ใช้สารสกัดจากพืชเพื่อให้ผ้าได้สีที่ต้องการ สารสกัดจากพืชที่ใช้ในกระบวนการย้อมสีมักเป็นสารที่มีสีธรรมชาติ เช่น สารสกัดจากใบไม้ ผลไม้ หรือส่วนต่าง ๆ ของพืช โดยผ้าที่จะย้อมสีต้องถูกเตรียมความพร้อมโดยการล้างให้สะอาดและแช่ในน้ำ

ก่อนเพื่อให้ผ้าดูดสารสกัสดได้ดีขึ้น สารสกัสดจากพีชจะถูกสกัดออกมาโดยการเดือดในน้ำหรือสารสกัสดอื่น ๆ ที่เหมาะสม แล้วกรองเพื่อรีไซเคิลสารสกัสด ผ้าที่เตรียมไว้จะถูกแช่ในสารสกัสดจากพีชที่สกัดไว้ และปรับความเข้มข้นของสีโดยการปรับระยะเวลาที่ผ้าแช่ในสารสกัสดหรือการเพิ่มปริมาณของสารสกัสด การย้อมสีด้วยสารสกัสดจากพีชอาจจะต้องควบคุมสีโดยการปรับปริมาณสารสกัสดหรือการใช้สารที่ช่วยปรับสี ผ้าที่ย้อมสีแล้วจะถูกล้างสีโดยการแช่ในสารล้างสีเพื่อให้สีติดทนและไม่ถลอกง่าย ผ้าที่ย้อมสีแล้วจะถูกนึ่งหรือซักเพื่อล้างสารเสียทิ้งและเตรียมใช้งาน

จากการศึกษาของ ผ่องศรี รอดโพธิ์ทอง (2008) ทำการทดลองย้อมสีด้วยสารสกัสดพีช เริ่มต้นด้วยการหักเปลือกต้นโปรงขาวแห้งเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วชั่งน้ำหนัก 1 กิโลกรัม จากนั้นใส่ลงในหม้อและเติมน้ำ 5 ลิตร หลังจากนั้นปิดฝาและนำขึ้นตั้งที่เตาเพื่อทำกระบวนการย้อมสี ควบคุมอุณหภูมิในช่วงระหว่าง 80-90 องศาเซลเซียส เพื่อให้กระบวนการย้อมสีเป็นไปได้อย่างเหมาะสม ปิดตัวจากเตาเมื่อครบรอบ 1 ชั่วโมง เมื่อครบรอบ 1 ชั่วโมง ให้ปิดไฟและทิ้งไว้ในหม้ออีก 15 นาที หลังจากนั้นใช้กระชอนและผ้าบางในการกรองเอาเปลือกต้นโปรงขาวออกจากน้ำสีที่ได้ น้ำสีที่ได้จะเป็นผลลัพธ์จากกระบวนการนี้ น้ำสีที่ได้จะถูกนำมาใช้ในกระบวนการย้อมผ้า อัตราส่วนผ้าต่อน้ำสี คือ 1 : 30 โดยใส่ผ้าและน้ำสีลงในกระถางย้อม ควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 80-90 องศาเซลเซียส เวลาประมาณ 60 นาที เพิ่มสารช่วยติด เช่น น้ำปูนขาว สารส้ม และน้ำสนิม โดยอัตราส่วน 1 : 40 ย้อมผ้าที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำผ้าไปล้างด้วยน้ำสะอาด 3 ครั้ง ให้ผ้าแห้งโดยตามขั้นตอนปกติของการล้างและตากผ้าให้แห้ง

จากการศึกษาของ Sotthisawad และ Kaewkanlaya (2021) ศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของผ้าย้อมคราม ซึ่งได้รวบรวมตัวอย่างจำนวน 16 ตัวอย่างที่ผลิตและจัดจำหน่ายในจังหวัดสกลนคร นอกจากนี้ การศึกษานี้ยังสำรวจผลของความชื้นและค่า pH ของผ้าย้อมครามต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ผลการศึกษาชี้ชัดแจ้งว่าการทดสอบ agar diffusion plate test ของตัวอย่างทั้งหมดสามารถยับยั้งแบคทีเรียชนิด *S. aureus* ในระดับ 100% และมีเพียง 9 ตัวอย่างเท่านั้นที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียชนิด *E. coli* ในระดับ 56.25% นอกจากนี้ การศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยใช้วิธีทดสอบ AATCC 100 (Antimicrobial Fabric Test) ที่ใช้เวลา 24 ชั่วโมง พบว่าผ้าย้อมสีครามธรรมชาติ สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ในระดับสูงสุด ผลการวิจัยยังตรวจสอบผลของความชื้นและค่า pH ของผ้าย้อมครามต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย พบว่าการเพิ่มความชื้นของผ้าย้อมครามส่งผลในการลดประสิทธิภาพในการยับยั้งของแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ ในขณะที่ความชื้นของผ้าย้อมสีครามที่มีค่า pH 3.0 ได้รับการพิจารณาว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ได้มากที่สุด นอกจากนี้ ภาพที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope) ยืนยันคุณสมบัติของผ้าย้อมครามในการยับยั้งแบคทีเรียชนิด *S. aureus* และ *E. coli*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 ผ้า

ผ้าฝ้าย เป็นผ้าที่มีความนิยมใช้ในภูมิภาคอินเดียและยุโรป มีลักษณะเนื้อผ้าบางละเอียด มีความลื่นพอสระมาณ และสามารถระบายอากาศได้ดี ไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง และแห้งเร็ว จากการวิจัยของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ศึกษาผ้าฝ้ายในการผลิตหน้ากากอนามัย พบว่าผ้าฝ้ายมีคุณสมบัติกันละอองน้ำได้ดี เมื่อนำมาเย็บสองชั้น สามารถป้องกันอนุภาคขนาดเล็กต่าง ๆ จากทางเดินหายใจ นอกจากนี้ยังสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ด้วยการซักหลายครั้ง ทำให้เหมาะสมกับการนำมาใช้ในการผลิตหน้ากากอนามัย เสื้อชั้นใน ผ้าเช็ดหน้า ปลอกหมอน เป็นต้น (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2020)

ผ้าลินิน เป็นผ้าที่ได้รับความนิยมในภูมิภาคยุโรป มีลักษณะเนื้อผ้ามันวาวและมีเส้นใยที่ทนทาน มีความเหนียว ไม่ยับง่าย สวมใส่สบายสามารถระบายความร้อนได้ดี แห้งง่าย และไม่เก็บกลิ่นหรือความชื้น จากการศึกษาคณะจิราพร เกิดแก้ว (2015) ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของผ้าชนิดต่าง ๆ พบว่าผ้าลินินละลายได้ในกรดแก่เข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป ทนต่อสารละลายอินทรีย์ ทนต่อสารฟอกขาว และมีความทนต่อแสงแดดที่สูง ทำให้เหมาะสมกับการนำมาใช้ในการผลิตเสื้อผ้า ผ้านักปั่น เป็นอน ผ้าเช็ดตัว และผ้าปูที่นอน เป็นต้น

ผ้าสาหลู เป็นผ้าที่ได้รับความนิยมใช้ในภูมิภาคเอเชีย มีลักษณะเนื้อผ้าโปร่ง นุ่ม ไม่เป็นขุย มีน้ำหนักเบา คุณสมบัติเด่นของผ้าสาหลูคือยิ่งซักหลายครั้งผ้ายิ่งนุ่มขึ้น ระบายอากาศได้ดี แห้งไว ไม่ยับขึ้น และไม่ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง จากการศึกษาคณะ Nasom และคณะ (2023) ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของผ้าสาหลูที่นำมาผลิตหมวกทหารคลุมศีรษะทหารบกแรกเกิดสำหรับป้องกันดวงตาทหารที่มีภาวะตัวเหลือง เพื่อการเข้ารับการรักษา พบว่าผ้าสาหลูเกิดขุยเล็กน้อย มีความทนต่อการซักล้าง การติดเป็อนสีบนผ้าเล็กน้อย และระบายความร้อนได้ดี ทำให้ผ้าสาหลูเหมาะสมกับการนำมาใช้ในการผลิตผ้าอ้อมเด็ก หมวกทหาร ผ้าเช็ดหน้า ผ้าปูที่นอน เป็นต้น

2.7 ความเป็นพิษต่อเซลล์

การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวิธี 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) เป็นวิธีที่ใช้หาปริมาณของเซลล์ที่รอดชีวิต เซลล์ที่มีชีวิตอยู่จะมี enzyme succinate dehydrogenase ซึ่งจะเปลี่ยน tetrazolium salt เป็น formazan ด้วยปฏิกิริยา reduction ถ้าเซลล์ยังมีชีวิตอยู่ enzyme mitochondrial reductase บน mitochondria จะจับกับ MTT ที่มีสีเหลือง กลายเป็นผลิตภัณฑ์ formazan ที่มีสีม่วง ละลายผลิตภัณฑ์ formazan ด้วยสารละลาย DMSO และตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 550-590 นาโนเมตร ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงจะแปรผันตรงกับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต

จากการศึกษาของ Ramdurga และคณะ (2021) ที่ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดเมทานอลจากรากของ *Careya arborea* โดยทำการทดสอบกับเซลล์มะเร็ง 5 ชนิด ได้แก่ เซลล์มะเร็งเอ็กสาร์นีสมอง ชนิด U-87 เซลล์มะเร็งปากมดลูก ชนิด HeLa เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ ชนิด HCT-116 ไม่ว่าการเซลล์มะเร็งเต้านม ชนิด MCF-7 และเซลล์มะเร็งปอด ชนิด A549 พบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์ โดย

มีค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) อยู่ในช่วง 46.49 ± 0.4 ถึง 54.73 ± 3.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับทุกเซลล์

จากการศึกษาของ Senthilkumar และคณะ (2007) พบว่าสารสกัดเมทานอล จากเปลือกไม้กระโดน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แข็งแกร่งต่อสารออกซิแดนซ์หลายชนิดในการทดสอบต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณฟีนอลรวมสูงได้รับการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง 3 ชนิด ได้แก่ Rhabdomyosarcoma, human cell line และ Immortalized cell line รวมถึงเซลล์ปกติ 1 ชนิด คือ Vero cells ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดเมทานอล แสดงความเป็นพิษอย่างมากต่อเซลล์ HeLa โดยมีค่า IC_{50} คือ 127.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดเหล่านี้แสดงความเป็นพิษสูงต่อเซลล์ RD และ HEP-2 เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติ Vero ซึ่งมีค่า IC_{50} ที่สูงกว่าเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิด บ่งบอกถึงความปลอดภัยต่อเซลล์ปกติ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่างสารสกัดกระมอบ และตัวอย่างผลกระโดน

สารสกัดหยาบเมทานอลจากผลกระมอบ และผลดิบของกระโดน (*Careya arborea* Roxb.)
ได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ. ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม

3.2 เชื้อแบคทีเรีย

3.2.1 *Staphylococcus epidermidis* TISTR746

3.2.2 *Staphylococcus aureus* TISTR2141

3.3 ผ้า

3.3.1 ผ้าฝ้ายลิน

3.3.2 ผ้าลินิน

3.3.3 ผ้าสาหลู

3.4 เซลล์ไลน์

3.4.1 เซลล์เคอราติโนไซต์ (Human keratinocyte cell) ชนิด HaCaT

3.5 สารเคมี

3.5.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดสาร

3.5.1.1 เมทานอล (Methanol)

3.5.2 สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบสารพิษเคมี

3.5.2.1 Dragendroff's reagent

3.5.2.2 Gelatin salt solution

3.5.2.3 Gelatin solution

3.5.2.4 Wagner' reagent

3.5.2.5 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl)

3.5.2.6 โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride, NaCl) 10 เปอร์เซ็นต์

3.5.2.7 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide, NaOH)

3.5.2.8 น้ำกลั่น (Distilled water)

3.5.2.9 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (Phosphate buffer saline, PBS)

3.5.2.10 เฟอร์ริกคลอไรด์ (Ferric chloride, FeCl₃) 1 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่แบบสงวนเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.5.2.11 เลือดมนุษย์ (Blood)
- 3.5.2.12 สารมาตรฐานกรดแทนนิก (Tannic acid)
- 3.5.2.13 สารมาตรฐานโคลชิซิน (Colchicine)
- 3.5.2.14 สารมาตรฐานแอสซิน (Aescin)
- 3.5.2.15 สารละลายมาตรฐานใบชา (Fresh tea leaf)
- 3.5.2.16 สารละลายมาตรฐานผงซาโปนิน (Saponins)
- 3.5.2.17 สารละลายมาตรฐานวาร์ฟาริน (Warfarin)
- 3.5.2.18 เอทานอล (Ethanol)

3.5.3 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย

- 3.5.3.1 Muller-Hinton agar (MHA)
- 3.5.3.2 Muller-Hinton broth (MHB)
- 3.5.3.3 Nutrient agar (NA)
- 3.5.3.4 Nutrient broth (NB)
- 3.5.3.5 Tryptic soy agar (TSA)
- 3.5.3.6 Tryptic soy broth (TSB)
- 3.5.3.7 เจนตามัยซิน (Gentamicin)
- 3.5.3.8 พงวุ้น (Agar)
- 3.5.3.9 เมทานอล (Methanol)
- 3.5.3.10 แอลกอฮอล์ (Alcohol) 95 เปอร์เซ็นต์

3.5.4 สารเคมีในการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวิธี MTT

- 3.5.4.1 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)
- 3.5.4.2 Dimethyl sulfoxide (DMSO)
- 3.5.4.3 Phosphate buffer saline (PBS)
- 3.5.4.4 Trypan blue
- 3.5.4.5 ไมโทมายซินซี (Mitomycin C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.6.1 กรรไกร (Scissors)
- 3.6.2 กรวยกรองบุชเนอร์ (Buchner funnel)
- 3.6.3 กระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 (Whatman No.1 filter paper)
- 3.6.4 กระดาษทิชชู (Tissue paper)
- 3.6.5 กระบอกตวง (Cylinder)
- 3.6.6 กล้องจุลทรรศน์เชิงซ้อน (Compound light microscope)
- 3.6.7 กล้องจุลทรรศน์หัวกลับ (Inverted microscope)
- 3.6.8 โกร่ง (Mortar) และที่บด (Pestle)
- 3.6.9 ขวดแก้วดูแรน (Duran bottle)
- 3.6.10 ขวดโหลแก้ว (Glass jar)
- 3.6.11 คิวเวต (Cuvettes)
- 3.6.12 เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker)
- 3.6.13 เครื่องชั่งสาร (Balance)
- 3.6.14 เครื่องนับจำนวน (Counter)
- 3.6.15 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
- 3.6.16 เครื่องผสมสาร (Vortex mixer)
- 3.6.17 เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (Microplate reader)
- 3.6.18 เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator)
- 3.6.19 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
- 3.6.20 เครื่องอบแห้งสุญญากาศ (Vacuum drier)
- 3.6.21 จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dishes)
- 3.6.22 ช้อนตักสาร (Spatula)
- 3.6.23 ชุดไมโครปิเปต (Micropipettes)
- 3.6.24 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol lamp)
- 3.6.25 ตู้บ่ม (Incubator)
- 3.6.26 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)
- 3.6.27 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- 3.6.28 ถุงมือยาง (Rubber glove)
- 3.6.29 ทิป (Micropipette tips)
- 3.6.30 ที่ใส่หลอดทดลอง (Rack)

เอกสารนี้เป็นเอกสาร 3.6.31 แท่งแก้วคนสาร (Glass stirring rod) เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใด 3.6.32 ปีกเกอร์ (Beaker) แปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.6.33 ปากคีบ (Forceps)
- 3.6.34 ผ้าขาวบาง (White cloth)
- 3.6.35 แผ่นดิสก์ (Paper disc)
- 3.6.36 ไม้ก้านสำลี (Cotton swab)
- 3.6.37 ไมโครปิเปต (Micropipette)
- 3.6.38 ไมโครปิเปต ทิป (Micropipette tip)
- 3.6.39 ไมโครเพลท 96 หลุม (96-well plates)
- 3.6.40 ไมโครเวฟ (Microwave oven)
- 3.6.41 ลวดแมกนีเซียม (Magnesium wire)
- 3.6.42 เวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier Caliper)
- 3.6.43 สไลด์นับจำนวนเซลล์ (Hemocytometer)
- 3.6.44 หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)
- 3.6.45 หลอดทดลอง (tubes)
- 3.6.46 หลอดหยดสาร (Dropper)
- 3.6.47 ห่วงเชี่ย (Loop)

3.7 วิธีการทดลอง

3.7.1 การสกัดสาร

นำผลกระโดนที่อบแห้งจากตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มาบดด้วยโกร่งและที่บด นำผงกระโดนมาซึ่งประมาณ 50 กรัม ห่อด้วยผ้าขาวบาง นำใส่ขวดโหล จากนั้นเติมเมทานอล 300 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดโหล นำไปใส่ลงในเครื่องเขย่า ด้วยความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน นำสารสกัดมากรองด้วยกรวยกรองบุชเนอร์ จากนั้นนำสารสกัดมาระเหยเมทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ แล้วนำสารสกัดมาทำการให้แห้งด้วยเครื่องอบแห้งสุญญากาศ เก็บสารสกัดตัวอย่างในรูปแบบผงแห้งไว้ในขวดแก้วป้องกันแสงแดด ใส่ในโถดูดความชื้น จากนั้นทำการชั่งน้ำหนักแห้งของสารสกัด แล้วนำมาคิดผลได้ร้อยละ (% Yield) ตามสมการดังนี้

$$\text{ผลได้ร้อยละ} = \left(\frac{\text{น้ำหนักสารสกัดที่ได้ออก}}{\text{น้ำหนักแห้งที่ใช้}} \right) \times 100$$

3.7.2 การตรวจสอบสารพฤษเคมีเบื้องต้น

การตรวจสอบสารพฤษเคมีเบื้องต้นของสารสกัด 5 กลุ่มโดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสี การเกิดฟอง และการเกิดตะกอน ตามวิธีจาก (พฤษวรรษ, 2559; จุฑารัตน์, 2559)

3.7.2.1 การทดสอบอัลคาลอยด์

ชั่งสารสกัด 0.3 กรัม ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริก 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร

9 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที กรองด้วยกระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า แบ่งสารละลายเป็น 3 หลอด หลอดละ 1 มิลลิลิตร นำมาทดสอบกับสาร ทดสอบ 2 ชนิด คือ ไม้ว่ากรณเตฯ ทั้งสน ยกทั้งห้ามมเหตดแบสงเนอหาและตองยงองตงเงาของเอกสวทุกตวงทมการนไปใช้

Dragendroff's reagent และ Wagner' reagent โดยหยด 2-3 หยด สังเกตการเกิดตะกอน หากมีตะกอนแสดงว่ามีอัลคาลอยด์ โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานโคลชิซิน

3.7.2.2 การทดสอบแทนนิน

ชั่งสารสกัด 0.1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง แบ่งสารละลายเป็น 3 หลอด หลอดละ 3 มิลลิลิตร แล้วหยดสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 10 เปอร์เซ็นต์ 2-3 หยด นำมาทดสอบกับสาร ทดสอบ 3 ชนิด คือ Gelatin solution กับ Gelatin salt solution โดยหยด 2-3 หยด ถ้าเกิดตะกอนขาวเมื่อหยดด้วย Gelatin solution กับ Gelatin salt solution และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 1 เปอร์เซ็นต์ ถ้าเกิดตะกอนสีน้ำเงินเขียว แสดงว่ามีแทนนิน และสารประกอบฟีนอลิก ถ้าไม่เกิดตะกอนขาว แต่เกิดตะกอนสีน้ำเงินเขียว แสดงว่ามีแต่สารประกอบฟีนอลิก โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแทนนิก

3.7.2.3 การทดสอบซาโปนิน

Froth test

เตรียมสารสกัดความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วเขย่า 5 นาที สังเกตการเกิดฟอง ถ้าเกิดฟองแบบคงตัวในระยะเวลา 30 นาที แสดงว่ามีซาโปนิน โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานผงซาโปนิน

Hemolysis

เตรียมสารสกัดความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายสารสกัด 10 มิลลิกรัม ด้วย PBS 2 มิลลิลิตร จากนั้นปั่นเหวี่ยง 2200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นดูดสารละลายใสหลอดใหม่ และเตรียมเซลล์เม็ดเลือดแดงโดยใช้เม็ดเลือดมนุษย์ 1 มิลลิลิตร นำมาปั่นเหวี่ยง 2200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายส่วนใสทิ้ง ล้างเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วย PBS จำนวน 2 ครั้ง จากนั้นเจือจางเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วย PBS ให้มีความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร

ทดสอบการแตกของเซลล์เม็ดเลือดแดง โดยนำเซลล์เม็ดเลือดแดงความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผสมกับสารสกัด 300 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยง 1500 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ถ้าเกิดสีแดงของฮีโมโกลบินในสารละลายส่วนใสแสดงว่าเกิดตะกอนของเม็ดเลือดแดง แสดงว่ามีซาโปนิน โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานแอสซินิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7.2.4 การทดสอบคูมาริน

ซังสารสกัด 0.1 กรัม ละลายด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 6 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร หากพบว่าสารสกัดมีสีเหลืองเข้มขึ้น แสดงว่ามีคูมาริน โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานวารฟาริน

3.7.2.5 การทดสอบฟลาโวนอยด์

ซังสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร แบ่งเป็น 3 หลอด หลอดละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลวดแมกนีเซียมไป 2 ชิ้นเล็ก ๆ จากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริก 1 มิลลิลิตร สังเกตการเปลี่ยนสี หากเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ส้ม แดง และชมพู แสดงว่ามี ฟลาโวนอยด์ โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานใบชา

3.7.3 การทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรีย

ทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียเบื้องต้นด้วยวิธี Paper disk diffusion ดัดแปลงจาก Humphries และคณะ (2021) เชื้อ *Staphylococcus epidermidis* TISTR746 และ *Staphylococcus aureus* TISTR2141 โดยเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี Streak plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เชื้อเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ 1-2 โคโลนี ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller-Hinton broth (MHB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียมาปรับค่าความขุ่นของเชื้อโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MHB ให้มีค่าการดูดกลืนแสง (O.D.) ประมาณ 0.08-0.13 ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร โดยวัดด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง จากนั้นนำมา Swab โดยใช้ไม้ก้านสำลีปลอดเชื้อจุ่มลงในเชื้อแบคทีเรียที่ปรับค่าความขุ่นแล้ว ป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller-Hinton agar (MHA)

การเตรียมแผ่นดิสก์ โดยใช้กระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 นำมาเจาะให้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ เตรียมสารสกัดกระโดน และกระมอบ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อดิสก์ โดยทำการละลายสารสกัดด้วยเมทานอล ใช้ชุดควบคุมเชิงบวก คือ เจนตามัยซิน ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อดิสก์ ชุดควบคุมเชิงลบ คือ เมทานอล และเตรียมสารสกัดกระโดนความเข้มข้น 1.6 มิลลิกรัมต่อดิสก์ โดยละลายสารสกัดกระโดนด้วยน้ำกลั่น ชี้ถ้าความเข้มข้น 1.6 มิลลิกรัมต่อดิสก์ สารสกัดกระโดนผสมกับชี้ถ้าความเข้มข้น 1.6 มิลลิลิตรต่อดิสก์ จากนั้นหยดสารสกัดที่เตรียมไว้ลงในแผ่นดิสก์ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร

การเตรียมแผ่นดิสก์ผ้า โดยใช้ผ้าสามชนิด คือ ผ้าสาธู ผ้ามัสลิน และลินิน ซึ่งประกอบด้วย ผ้าเปล่า ผ้าย้อมชี้ถ้า ผ้าย้อมสารสกัดกระโดน และผ้าย้อมสารสกัดกระโดนผสมชี้ถ้า นำผ้ามาเจาะให้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จากนั้นไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ แผ่นดิสก์ที่เตรียมไว้จะถูกคีบด้วยปากคีบและวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วบันทึกผลการทดสอบการต้านแบคทีเรียโดยใช้ เวอร์เนียคาลิเปออร์ วัดบริเวณวงใสที่เกิดขึ้นรอบแผ่นดิสก์ โดยทำจำนวน 3 ซ้ำ

3.7.4 การย้อมผ้า

การย้อมผ้าจากสารสกัดกระโดน โดยใช้ผ้าสามชนิด ได้แก่ ผ้าสาหลู ผ้าลินิน และผ้าฝ้ายลินิน เตรียมสารสกัดหยาบของกระโดนในสัดส่วน 1 : 6 (สารสกัดต่อน้ำกลั่น) นำไปต้มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน กรองเอาตะกอนออก จากนั้นนำไปต้มกับผ้า ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที หลังจากนั้นนำผ้าที่ผ่านการย้อมไปตากให้แห้ง สำหรับการย้อมใช้สารช่วยติดสี คือ ซึ้เถ้า ใช้ซึ้เถ้าละลายด้วยน้ำกลั่นในสัดส่วน 1 : 6 (ซึ้เถ้าต่อน้ำกลั่น) กรองตะกอนออก แล้วนำผ้าที่ผ่านการย้อมสีไปแช่ในน้ำซึ้เถ้า เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำผ้าไปตากให้แห้ง

3.7.5 การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวิธี MTT

ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวิธี 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) โดยทำการเก็บเกี่ยวเซลล์เคอราติโนไซต์ (Human keratinocyte cell) ชนิด HaCaT นับเซลล์ด้วยฮีมาโตไซโตมิเตอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่ได้จากการเลี้ยงเพาะเลี้ยงในอาหาร RPMI 1640 ที่มี FBS 8 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส คาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์

เตรียม stock ผ้าที่ย้อมสารสกัดกระโดน ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยซังผ้าสาหลู ผ้าฝ้ายลินิน และผ้าลินิน ที่ย้อมสารสกัด 10 มิลลิกรัม นำมาแช่ลงในอาหาร RPMI 1640 ที่มี FBS 8 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มในตู้เย็นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาเจือจางด้วยอาหาร RPMI 1640 ที่มี FBS 8 เปอร์เซ็นต์ ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เพาะเลี้ยงเซลล์เคอราติโนไซต์ (Human keratinocyte cell) ชนิด HaCaT ในอาหาร RPMI 1640 ที่มี FBS 8 เปอร์เซ็นต์ ใน 96-well plate โดยใช้ความเข้มข้นเซลล์ 1×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส คาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นใส่สารสกัดที่มีความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาดูดสารละลายทุกหลุมออก และล้างด้วย PBS ปริมาตร 200 ไมโครลิตร จำนวน 1 ครั้ง ใส่อาหาร RPMI 1640 ที่มี FBS 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และใส่สารละลาย MTT ที่มีความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงทุกหลุม บ่มเป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมง ทำการดูดสารละลายทุกหลุมออก ใส่สารละลาย DMSO ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เพื่อละลายผลิตภัณฑ์มาซาน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ (% Cytotoxicity) ตามสมการดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\% \text{ cytotoxicity} = \left[\frac{(A-B)}{A} \right] \times 100$$

A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม (อาหารเลี้ยงเซลล์ และเซลล์)

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมทดสอบ (สารสกัด และเซลล์)

A และ B ต้องหักลบจากค่าการดูดกลืนแสงของ Blank (อาหารเลี้ยงเซลล์) ก่อน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและการอภิปรายผล

4.1 ผลการสกัดสารหยาบเมทานอลจากผลกระทวมอบและกระโดน

สารสกัดหยาบเมทานอลจากผลกระทวมอบได้รับความอนุเคราะห์จากอาจารย์ รศ. ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม และสารสกัดผลกระโดน เมื่อนำกระโดนอบแห้งที่ผ่านการบดหรือป่นให้มีขนาดเล็กลงปริมาณ 600 กรัม แช่ด้วยเมทานอล หลังจากนั้นนำมาระเหยสารสกัดออก และนำไปอบแห้ง ได้สารสกัดหยาบ 86.87 กรัม ซึ่งมีน้ำหนักร้อยละ และผลได้เท่ากับ 14.48 ลักษณะของกระทวมอบเป็นสารสกัดหยาบ มีความแข็งคล้ายก้อนกรวด มีความหนืดเล็กน้อย ในส่วนของกระโดนสารสกัดมีความแห้ง กรอบ ไม่หนืด แสดงลักษณะของสารสกัดดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ลักษณะของสารสกัดและผลได้ของสารสกัดเมทานอลจากผลกระทวมอบและกระโดน

สารสกัด	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ผลได้ (ร้อยละ)	สีสารสกัด	รหัสสีสารสกัด
กระทวมอบ	-	-		RHS 166C
กระโดน	86.87	14.48		RHS 199C

4.2 ผลการประเมินสารพิษเคมีเบื้องต้น

ประเมินสารพิษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดกระทวมอบและสารสกัดกระโดน เมื่อทำการทดสอบอัลคาลอยด์ ด้วย Dragendroff's reagent และ Wagner' reagent พบการเกิดตะกอน แสดงว่ามีอัลคาลอยด์ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานโคลชิซิน เมื่อทดสอบแทนนินด้วย Gelatin solution และ Gelatin salt solution พบการเกิดตะกอนขาวในสารสกัดผลกระโดน แต่สารสกัดผลกระทวมอบไม่เกิดตะกอนขาว เมื่อทดสอบกับสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์พบการเกิดตะกอนสีน้ำเงินในสารสกัดผลกระโดน แต่สารสกัดผลกระทวมอบไม่เกิดตะกอนสีน้ำเงิน ซึ่งแสดงผลว่าพบแทนนินในสารสกัดผลกระโดน เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานกรดแทนนิก เมื่อทดสอบซาโปนินด้วยวิธี Froth test โดยสังเกตความคงตัวของฟองหลังจากเขย่าและทิ้งไว้ 30 นาที สารสกัดทั้ง 2 ชนิดไม่พบการเกิดฟองแบบคงตัวเมื่อผ่านไป 30 นาที ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานผงซาโปนิน และเมื่อทดสอบด้วยวิธี Hemolysis ไม่พบการแตกตัวของเม็ดเลือด จึงสรุปได้ว่าไม่มีซาโปนิน เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานแอสซินิก เมื่อทำการทดสอบคูมาริน โดยการเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 6 โมลาร์ แล้วสังเกตสีของสารละลาย พบว่ามีสีที่เข้มขึ้น แสดงว่ามีคูมาริน โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานวารฟาริน และเมื่อทดสอบฟลาโวนอยด์ โดยการเติมกรดไฮโดรคลอริก สังเกตการเปลี่ยนสี พบว่ามีสีเหลืองน้ำตาลที่มีสีเข้มขึ้นทั้งกระโดนและกระมอบ แสดงว่ามีฟลาโวนอยด์ โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานใบชา ดังรายละเอียดในตารางที่ 4.2

จากการศึกษา Wong และคณะ (2015) พบว่าสกัดสารเฮกเซน อะซิโตน เอทานอล และสารสกัดเมทานอลจากทั้งต้นของพืช *Borreria exilis*, *B. laevicaulis*, *B. latifolia*, *B. remotifolia* และ *Richardia brasiliensis* ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกันกับกระมอบ Rubiaceae มีสารพฤกษเคมีได้แก่ ฟีนอลิก อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน และเทอร์ปีนอยด์ ซึ่งสอดคล้องเพียงบางส่วนในการทดลองครั้งนี้ กระมอบมีเพียง อัลคาลอยด์ คูมาริน ฟลาโวนอยด์ แต่ไม่มีแทนนินกับซาโปนิน คาดว่าสารสกัดอาจถูกพบในส่วนอื่น ๆ เช่น ใบ เปลือก ลำต้น อีกทั้งสารสกัดถูกสกัดมาเพียงแค่ส่วนผลดิบ ควรมีการศึกษาในส่วนอื่น ๆ เพื่อยืนยันผล ในส่วนสารสกัดกระโดนอีกทั้งยังมีการศึกษาจากงานวิจัยของ Kashyp และคณะ (2023) ได้ศึกษาฤทธิ์ทางพฤกษเคมีของสารสกัดเมทานอลจากรากของ *Careya arborea* พบสารพฤกษเคมีกลุ่มฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ แทนนิน ซาโปนิน ฟีนอล และสเตอรอล ซึ่งเป็นพืชชนิดเดียวกันเพียงแต่สกัดสารในส่วนที่แตกต่างกัน เลยอาจไม่พบซาโปนินได้ในส่วนของผลกระโดนโดยรวมสารพฤกษเคมีที่ถูกรับมีความใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 4.2 ผลการประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดผลกระทวมอบและกระโดน

กลุ่มสารที่ประเมิน	วิธีทดสอบ	สารสกัดหยาบละลายด้วยเมทานอล		
		กระโดน	กระทวมอบ	สารมาตรฐาน
Alkaloid	Dragendroff's reagent	+	+	+++
	Wagner's reagent	+	+	+++
Tannin	Gelatin solution	+++	-	+++
	Gelatin salt solution	+++	-	+++
	Ferric chloride (FeCl ₃)	+++	-	+++
Saponin	Froth test	-	-	+++
	Hemolysis test	-	-	+++
Coumarin	Coumarin test	++	+	+++
Flavonoid	Flavonoid test	+++	+	+++

หมายเหตุ - ไม่พบสารในกลุ่มที่ประเมิน
 + พบสารในกลุ่มที่ประเมินเล็กน้อย
 ++ พบสารในกลุ่มที่ประเมินปานกลาง
 +++ พบสารในกลุ่มที่ประเมินปริมาณมาก

4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย

จากการสกัดสารด้วยเมทานอลจากผลกระทวมอบและกระโดนได้สารสกัดหยาบ นำมาทดสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียจำนวน 2 สายพันธุ์ คือ *Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี paper disk diffusion ที่มีความเข้มข้นสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อดิสก์ โดยใช้ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อดิสก์ เป็นตัวควบคุมเชิงบวก ใช้เมทานอลเป็นตัวควบคุมเชิงลบ พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลจากผลกระโดนสามารถต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ได้ มีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 7.67 มิลลิเมตร (แสดงดังรูปที่ 4.1 ก) และ 11.0 มิลลิเมตร (แสดงดังรูปที่ 4.1 ข) ตามลำดับ สารสกัดหยาบเมทานอลจากผลกระทวมอบ ไม่พบบริเวณการต้านแบคทีเรีย โดยสรุปผลการต้านแบคทีเรียของสารสกัดเมทานอลจากผลกระทวมอบและกระโดน ดังตารางที่ 4.3 อย่างไรก็ตามแม้กระทวมอบจะไม่เกิดโซนยับยั้งแบคทีเรียแต่ยังมีการศึกษาในพืชวงศ์เดียวกันที่มีฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย จากการศึกษาของ Tchouya และคณะ (2014) พบว่าสารสกัดเมทานอลของเปลือกลำต้นของ *Schumanniphhton magnificum* ซึ่งอยู่ในวงศ์ Rubiaceae มีฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย แกมมบวักได้ คือ *S. aureus* และ *S. saprophyticus* จึงควรศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับ

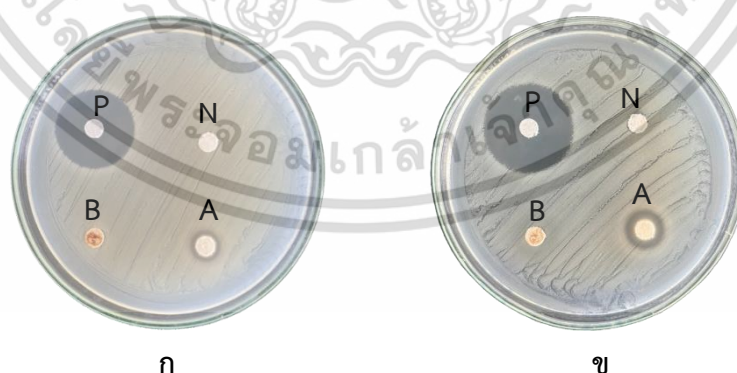
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ได้ส่วนใด ๆ
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระมอบในส่วนอื่น ๆ นอกจากผลกระมอบ เพื่อพัฒนาฤทธิ์ทางจุลชีพต่อไปในอนาคต ในส่วนของสารสกัดเมทานอลจากผลกระโดนมีประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ ซึ่งมีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Prabhakaran และคณะ (2014) ได้ทดสอบสารสกัดจากเอทิลแอลกอฮอล์ สารสกัดจากเอทานอล และสารสกัดจากเฮกเซน จากผลไม้สดและผลไม้อบแห้งของ *Careya arborea* เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก พบว่ามีฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, และ *S. epidermidis* ซึ่งมีประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียที่คล้ายคลึงกับการศึกษาข้างต้นจึงทำการเลือกสารสกัดกระโดนมาทำการทดลองต่อ โดยการนำมาย้อมกับผ้า 3 ชนิด คือ ผ้าสาหลู ผ้าลินิน และผ้ามีสลินต่อไป

ตารางที่ 4.3 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ของสารสกัดหยาบเมทานอลจากผลกระมอบและกระโดน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อดิสก์ และยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อดิสก์

สารสกัด	บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)		
	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	
กระมอบ	0	0	
กระโดน	7.67±1.96	11.0±0.42	
ตัวควบคุมเชิงบวก	เจนตามัยซิน	23.23±2.81	27.83±0.88

หมายเหตุ ตัวเลขในตารางแสดงค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของบริเวณยับยั้งเชื้อ



รูปที่ 4.1 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (ก) *S. epidermidis* (ข) ของสารสกัดผลกระโดน โดย P คือ ตัวควบคุมเชิงบวก เจนตามัยซิน ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อดิสก์ N คือ ตัวควบคุมเชิง



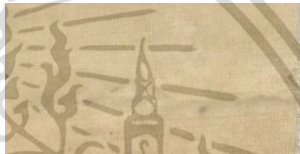

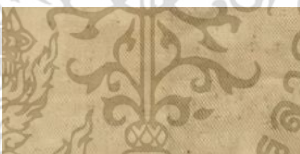
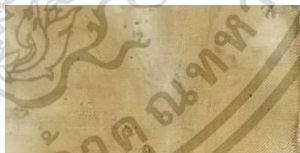
เอกสารนี้ลบหรือเมทานอล A คือกระโดน และ B คือกระมอบเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการย้อมผ้าด้วยสีย้อมจากสารสกัดผลกระโดน

จากการทดลองย้อมสีผ้าฝ้าย 3 ชนิด ผ้าสาหลู ผ้ามัสลิน และลินิน จากสีย้อมสารสกัดผลกระโดน โดยใช้สัดส่วนสารสกัดหยาบต่อน้ำ 1 : 6 และสารช่วยติดสีซี้เถ้าหลังย้อมผ้า สัดส่วนสารต่อน้ำ 1 : 6 (คิดเป็นความเข้มข้น 16.7 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้อัตราส่วนเดียวกันในการย้อมผ้าทั้งหมด) พบว่าผ้าแต่ละประเภทแสดงผลการให้สีที่แตกต่างกัน เนื่องจากลักษณะเนื้อผ้ามีความหนาบางที่ต่างกัน ผ้าฝ้ายลินินมีสีเข้มที่สุดเพราะมีความหนาของผ้าสูงสุด รองลงมาคือ มัสลิน และสาหลู ตามลำดับ รวมถึงผ้าฝ้ายที่หลังย้อมสีเสร็จไปแช่สารช่วยติดสี (mordant) จากธรรมชาติซี้เถ้า พบว่าลักษณะของสีเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน โดยซี้เถ้าเป็นน้ำต่าง สารช่วยติดสี โดยเฉพาะเมื่อใช้กับสีย้อมธรรมชาติ ช่วยให้สีติดทนนานและไม่ซีดจางง่าย โดยลักษณะของผ้าดิบ 3 ชนิด ดังผลตารางที่ 4.4

เมื่อสังเกตผลจากผ้าทั้ง 3 ชนิด ผ้าสาหลู ผ้ามัสลิน และลินิน จากสีย้อมสารสกัดผลกระโดน พบว่าลักษณะสีสำหรับผ้าที่ย้อมด้วยสีจากสารสกัดผลกระโดนเพียงอย่างเดียวมีความแตกต่างกับผ้าแช่สารช่วยติดสีหลังย้อมสีย้อมจากสารสกัด สีของเนื้อผ้ามีความเข้มข้นอย่างเห็นได้ชัดหลังแช่สารติดสี จากการศึกษาของ ภัทราศรีสุขุโข และคณะ (2019) ได้ทดลองการย้อมผ้าจากสีย้อมธรรมชาติหลายชนิด รวมถึงใช้สารติดสีซี้เถ้ามาใช้เป็นสารติดสี แสดงให้เห็นถึงการใช้น้ำต่างซี้เถ้าในการย้อมผ้าสามารถทำให้สีเข้มขึ้นและช่วยให้สีติดทนนานขึ้นได้ สอดคล้องกับผ้าที่แช่สารติดสีที่มีความเข้มของสีอย่างเห็นได้ชัด

ตารางที่ 4.4 ลักษณะของผ้าดิบ 3 ชนิด ที่ย้อมสีด้วยสีย้อมจากสารสกัดผลกระโดน

ประเภทผ้า	สภาวะการย้อม	เวลานาที	อุณหภูมิ	ลักษณะสีย้อมผ้า	รหัสสีย้อมผ้า
ลินิน	ไม่ใส่สารช่วยติดสี	60	90		RHS 173D
	ใส่สารช่วยติดสี				RHS 173C
มัสลิน	ไม่ใส่สารช่วยติดสี	60	90		RHS 168D
	ใส่สารช่วยติดสี				RHS 168B
สาธู	ใส่สารช่วยติดสี	60	90		RHS 168D
	ใส่สารช่วยติดสี				RHS 168B

4.4 ผลการศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของผ้าที่ผ่านการย้อมสีย้อมผลกระโดน

จากผลการทดลองทดสอบการต้านแบคทีเรียบนดิสก์ผ้าทั้ง 3 ชนิด เปรียบเทียบดิสก์กระดาษโดยใช้สีย้อมสารสกัดกระโดน สัดส่วนสารสกัดหยาบต่อน้ำ 1 : 6 และสารช่วยติดสีขี้เถ้าหลังย้อมผ้า สัดส่วนสารต่อน้ำ 1 : 6 (คิดเป็นความเข้มข้น 1.6 มิลลิกรัมต่อดิสก์หรือ 16.7 เปอร์เซ็นต์) โดยใช้อัตราส่วนสารสกัดสีย้อมที่หยดลงบนดิสก์กระดาษเหมือนกับอัตราส่วนสารที่ใช้ย้อมดิสก์ผ้า พบว่ามีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ของสีย้อมผ้าจากสารสกัดหยาบเมทานอล เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับการทดลองกับดิสก์กระดาษที่หยดสีย้อมความเข้มข้นเดียวกันทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* สีย้อมผลกระโดน มีโซนการยับยั้ง 10.38 มิลลิเมตร สีย้อมผลกระโดนผสมกับสารติดสี

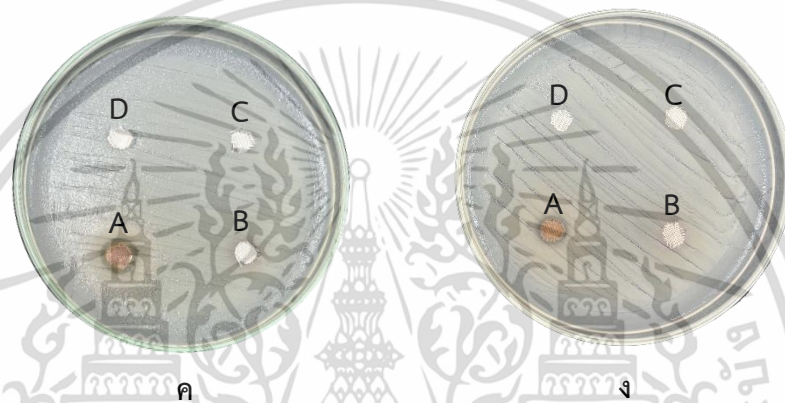
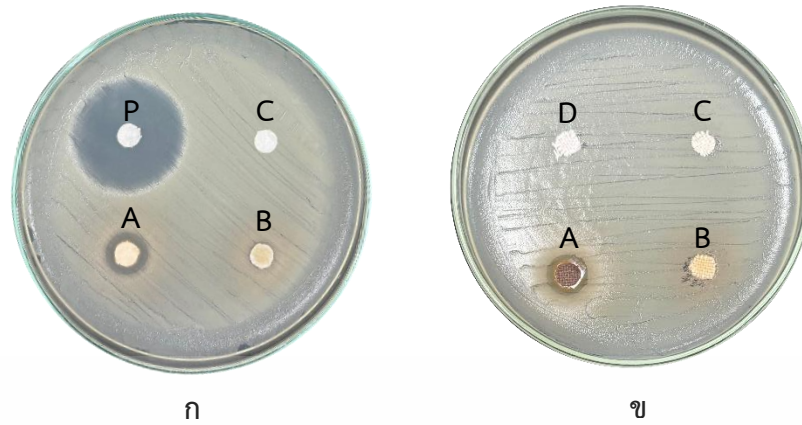
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซี่งั้เ้้า มีโชนการยับยั้ง 6.31 มิลลิเมตร ในส่วนของสารช่วยติดซี่งั้เ้้าเพียงอย่างเดียวไม่พบโชนยับยั้ง และตัวควบคุมเชิงบวก เจนตามัยซิน มีโชนยับยั้ง 29.05 มิลลิเมตร (ดังแสดงในรูป 4.2 ก) และนำไปเปรียบเทียบกับ การทดลองติดซี่งั้เ้้า เชื้อ *S. aureus* ในส่วนของติดซี่งั้เ้้าที่ย้อมสารสกัดเพียงอย่างเดียว ติดซี่งั้เ้้าลินิน มัสลิน และสาธู มีค่าโชนยับยั้ง คือ 10.37 มิลลิเมตร (ดังแสดงในรูปที่ 4.2 ข) 9.47 มิลลิเมตร (ดังแสดงในรูปที่ 4.2 ค) 7.92 มิลลิเมตร (ดังแสดงในรูปที่ 4.2 ง) ตามลำดับ ในส่วนของติดซี่งั้เ้้าที่ย้อมด้วยสารสกัดผลกระโดนและตามด้วยการแช่สารช่วยติดซี่งั้เ้้า ติดซี่งั้เ้้าแช่สารติดซี่งั้เ้้าและติดซี่งั้เ้้าเปล่า ไม่พบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และเชื้อ *S. epidermidis* เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับ การทดลองกับติดซี่งั้เ้้าที่หดยดซี่งั้เ้้าความเข้มข้นเดียวกัน สีย้อมผลกระโดน มีโชนการยับยั้ง 11.78 มิลลิเมตร สีย้อมผลกระโดนผสมกับสารติดซี่งั้เ้้า มีโชนการยับยั้ง 7.02 มิลลิเมตร ในส่วนของ สารช่วยติดซี่งั้เ้้าเพียงอย่างเดียวไม่พบโชนยับยั้ง และตัวควบคุมเชิงบวก เจนตามัยซิน มีโชนยับยั้ง 27.63 มิลลิเมตร (ดังแสดงในรูป 4.3 ก) เมื่อเทียบกับการทดลองติดซี่งั้เ้้า ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ของติดซี่งั้เ้้าที่ย้อมสีสารสกัดเพียงอย่างเดียว ติดซี่งั้เ้้าลินิน มัสลิน และสาธู มีค่าการยับยั้งคือ 13.35 มิลลิเมตร (ดังแสดงในรูปที่ 4.3 ข) 12.25 มิลลิเมตร (ดังแสดงในรูปที่ 4.3 ค) และ 9.97 มิลลิเมตร (ดังแสดงในรูปที่ 4.3 ง) ตามลำดับแสดงผลดังตารางที่ 4.5

แสดงให้เห้นว่าซี่งั้เ้้าที่ย้อมด้วยสีย้อมสารสกัดผลกระโดนมีฤทธิ์การต้านแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ *S. epidermidis* และ *S. aureus* เมื่อนำไปแช่สารติดซี่งั้เ้้าไม่พบฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับติดซี่งั้เ้้าในส่วนของสารสกัดกระโดนผสมกับสารช่วยติดซี่งั้เ้้า นั้น พบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับติดซี่งั้เ้้าที่หดยดกับสารสกัดกระโดนเพียงอย่างเดียว จึงคาดว่า สารช่วยติดซี่งั้เ้้าที่มีคุณสมบัติเป็นน้ำค้างไปลดฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของสารสกัดผลกระโดน อีกทั้ง บริเวณการยับยั้งของซี่งั้เ้้าแต่ละชนิดที่แตกต่างกันอันเนื่องมาจากซี่งั้เ้้าแต่ละชนิดมีความหนาบางที่ แตกต่างกัน โดยซี่งั้เ้้าที่มีความหนามากที่สุด คือ ลินิน มัสลิน และสาธู มีฤทธิ์การยับยั้งมากที่สุดถึง น้อยที่สุดตามลำดับ

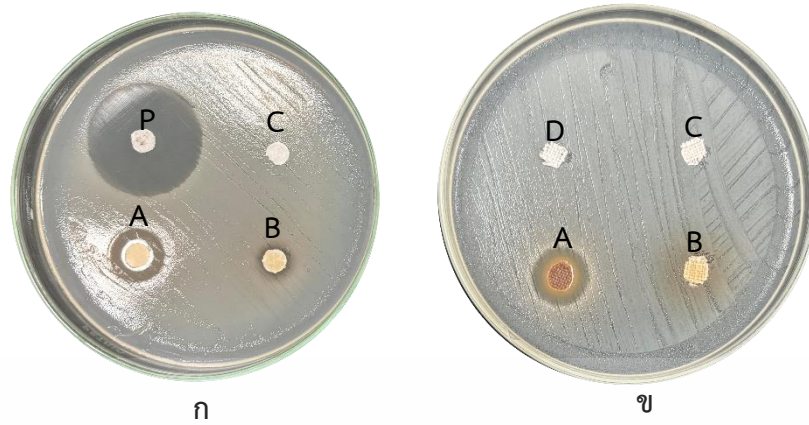
มีการศึกษา Sultana และคณะ (2019) สารสกัดจากเปลือกของพืช *Barringtonia Racemosa* (Lam.) ในวงศ์ Lecythidaceae มีการศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย *S. aureus*, *S. epidermidis* ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 ไมโครกรัมต่อติดซี่งั้เ้้าพบโชนยับยั้ง 12.14 มิลลิเมตร และ 13.46 มิลลิเมตร ตามลำดับ ต่อเชื้อ *S. aureus* และ 12.32 มิลลิเมตร และ 15.04 มิลลิเมตร ตามลำดับ ต่อเชื้อ *S. epidermidis* เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดผลกระโดน เป็นพืชวงศ์เดียวกัน ซึ่งมีโชนยับยั้งที่ใกล้เคียงกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ของสีย้อมสารสกัดผลกระทอน ดิสก์กระดาษ (ก) ดิสก์ผ้าลินิน (ข) ดิสก์ผ้ามัสลิน (ค) ดิสก์ผ้าสาหลู (ง) P คือ ตัวควบคุมเชิงบวก เจนตามัยซินความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อดิสก์ A คือ สีย้อมกระทอน B คือ ย้อมกระทอนแช่ช่วยสารติดสีซี้เกล้า และ C คือ สารช่วยติดสีซี้เกล้า และ D คือ ผ้าที่ไม่ผ่านการย้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermis* ของสีย้อมสารสกัดผลกระโดน ดิสก์กระดาษ (ก) ดิสก์ผ้าลินิน (ข) ดิสก์ผ้ามีสลิน (ค) ดิสก์ผ้าสาธู (ง) P คือ ตัว ควบคุมเชิงบวก เจนตามัยซินความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อดิสก์ A คือ สีย้อมกระโดน B คือ ย้อมกระโดนแช่ช่วยสารติดสีซี้เกล้า และ C คือ สารช่วยติดสีซี้เกล้า และ D คือ ผ้าที่ไม่ผ่านการย้อม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. epidermidis* ของสีย้อมผ้าจากสารสกัดหยาบเมทานอลจากผลกระโดนความเข้มข้น 1.6 มิลลิกรัมต่อดิस्क (คิดเป็นความเข้มข้น 16.7 เปอร์เซ็นต์ และยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อดิस्क)

แผ่นดิस्क	แผ่นดิस्कกระดาษ	สารสกัด	บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)	
			<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
กระดาษ		กระโดน (A)	10.38±0.25	11.78±0.85
		กระโดน+ซีเถ้า (B)	6.31±0.20	7.02±0.16
		ซีเถ้า (C)	0	0
ตัวควบคุมเชิงบวก		เจนตามัยซิน	29.05±0.44	27.63±0.25
ลินิน		กระโดน (A)	10.37±0.16	13.35±0.23
		กระโดน+ซีเถ้า (B)	0	0
		ย้อมซีเถ้า (C)	0	0
		ผ้าเปล่า (D)	0	0
มัสลิน		กระโดน (A)	9.47±0.28	12.25±0.15
		กระโดน+ซีเถ้า (B)	0	0
		ย้อมซีเถ้า (C)	0	0
		ผ้าเปล่า (D)	0	0
สาตุ		กระโดน (A)	7.92±0.10	9.97±0.23
		กระโดน+ซีเถ้า (B)	0	0
		ย้อมซีเถ้า (C)	0	0
		ผ้าเปล่า (D)	0	0

หมายเหตุ ตัวเลขในตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลการศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์

ผลการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดเมทานอลจากสีย้อมสารสกัดผลกระโดนบนผ้า 3 ชนิด ได้แก่ ผ้าลินิน มัสลิน และสาลู โดยมีการย้อมผ้าที่แตกต่างกันที่ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดสอบกับเซลล์เคอราติโนไซต์ (Human keratinocyte cell) ชนิด HaCaT แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร พบว่าที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของย้อมสารสกัดผลกระโดน มีความเป็นพิษสูงที่สุดต่อเซลล์เคอราติโนไซต์ ชนิด HaCaT และที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าความเป็นพิษลดลง

ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ ของสารสกัดเมทานอลจากสีย้อมสารสกัดกระโดนบนผ้า 3 ทดสอบที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้แก่ ผ้าลินิน มัสลิน และสาลู ผ้าที่ย้อมด้วยสีย้อมสารสกัดกระโดนความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ เท่ากับ 57.08, 54.93 และ 51.85 ตามลำดับ ผ้าที่ย้อมด้วยสีย้อมสารสกัดผลกระโดนแ่สารช่วยติดสีซี้เ้า ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ เท่ากับ 1.02, 15.76 และ 18.44 ตามลำดับ พบค่าความเป็นพิษที่ลดลงเมื่อเทียบกับสีย้อมสารสกัดกระโดนเพียงอย่างเดียว อีกทั้งผ้าที่ย้อมด้วยซี้เ้าความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ เท่ากับ 10.33, 3.17 และ 4.11 ตามลำดับ รวมถึงผ้าเปล่าทั้ง 3 ชนิด มีค่าความเป็นพิษต่ำใกล้เคียงกันจึงทำการทดสอบเพิ่มที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรกับผ้าลินิน มัสลิน และสาลู ผ้าที่ย้อมด้วยสีย้อมสารสกัดกระโดนความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ เท่ากับ 70.47, 83.13 และ 77.83 ตามลำดับ ผ้าที่ย้อมด้วยสีย้อมสารสกัดผลกระโดนแ่สารช่วยติดสีซี้เ้าความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ เท่ากับ 37.99, 14.29 และ 38.33 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรแสดงให้เห็นค่าความเป็นพิษที่เพิ่มขึ้นอีกทั้งสีย้อมสารสกัดกระโดนที่แ่สารติดสีช่วยลดค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ ผิวหนังมนุษย์ HaCaT ลดลงอย่างเห็นได้ชัดในผ้าทั้ง 3 ชนิด สังเกตได้จากตารางที่ 4.6

จากการศึกษาของ Ramdurga และคณะ (2021) พบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง 5 ชนิด ได้แก่ เซลล์มะเร็งสมอง ชนิด U-87 เซลล์มะเร็งปากมดลูก ชนิด HeLa เซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ ชนิด HCT-116 เซลล์มะเร็งเต้านม ชนิด MCF-7 และเซลล์มะเร็งปอด ชนิด A549 พบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยมีค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) อยู่ในช่วง 46.49 ± 0.4 ถึง 54.73 ± 3.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างไรก็ตามจากการทดลองมีการสกัดสารมาจาก รากของกระโดนซึ่งแตกต่างจากผลกระโดนทำให้เห็นว่ามีสารพิษเคมีหรือฤทธิ์ทางจุลชีพที่คล้ายกัน ในการแสดงถึงความเป็นพิษต่อเซลล์ที่หลากหลาย และการศึกษาของ Senthilkumar และคณะ (2007) พบว่าสารสกัดเมทานอล จากเปลือกไม้ของกระโดน ได้รับการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง 3 ชนิด ได้แก่ Rhabdomyosarcoma, human cell line และ Immortalized cell line รวมถึงเซลล์ปกติ 1 ชนิด คือ Vero cells ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดเมทานอล แสดงความเป็นพิษอย่างมากต่อเซลล์ HeLa โดยมีค่า IC_{50} คือ 127.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่า

สารสกัดเหล่านี้แสดงความเป็นพิษสูงต่อเซลล์ RD และ HEP-2 เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติ Vero ซึ่งมีค่า IC_{50} ที่สูงกว่าเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ชนิด บ่งบอกถึงความปลอดภัยต่อเซลล์ปกติ จากการศึกษาครั้งนี้บ่งบอกถึงความพิษต่อเซลล์หลากหลายชนิดเปรียบเทียบของสารสกัดกระโดน *Careya arborea* ชนิดเดียวกันในการทดลองโดยใช้เปลือก อย่างไรก็ตามการศึกษาข้างต้นแม้ว่าจะไม่เป็นพิษกับเซลล์ปกติ แต่มีการทดสอบที่แตกต่างกัน ใช้ส่วนของสารสกัดที่แตกต่างกัน ความเข้มข้น ปริมาณของเซลล์ เริ่มต้นที่ไม่เหมือนกัน รวมถึงทดสอบกับเซลล์ต่างชนิด จึงยังไม่สามารถยืนยันได้ว่ามีความสอดคล้องกันหรือไม่ ทั้งนี้ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนต่าง ๆ ของพืชกระโดนนอกจากผลกระโดน เพื่อยืนยันความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังต่อไป

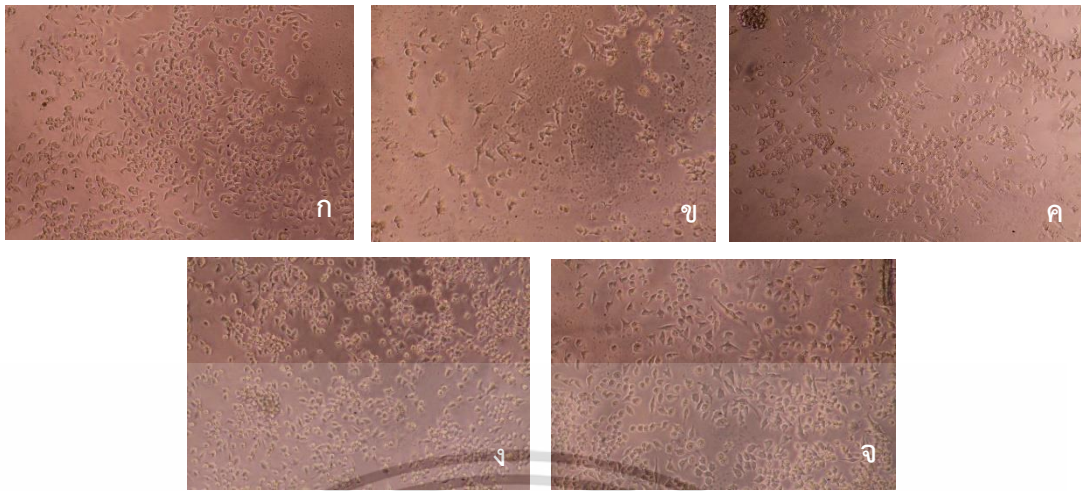
ได้ทำการศึกษาลักษณะสัญญาณของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ชนิด HaCaT ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ได้ทำการเปรียบเทียบเซลล์หลุมควบคุมกับเซลล์หลุมใส่สารสกัดสี่ย้อมที่ทดสอบ ลักษณะของเซลล์ที่แสดงให้เห็นมีความปกติ มีความเกาะติดพื้นผิว โดยลักษณะของเซลล์หลุมที่ทดสอบทั้ง 4 รูปแบบ แบ่งเป็น กระโดน กระโดนแฉ่สารติดสี ขี้เถ้า และผ้าเปลา่ ทดสอบกับผ้า 3 ชนิด ผ้าลินิน มีสลิน และสาลู มีเพียงเซลล์หลุมสารสกัดสี่ย้อมกระโดนเพียงอย่างเดียวไม่เกิดผลึกฟอรัมาซาน ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรก่อนหยุด MTT เมื่อนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กับหลุมสี่ย้อมผ้าทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ผ้าลินิน หลุมเซลล์ควบคุม (ตั้งรูปที่ 4.4 ก) หลุมเซลล์ผ้าลินินย้อมสารสกัดกระโดน (ตั้งรูปที่ 4.4 ข) หลุมเซลล์ผ้าลินินย้อมสารสกัดกระโดนแฉ่สารติดสี (ตั้งรูปที่ 4.4 ค) หลุมเซลล์ผ้าลินินแฉ่สารขี้เถ้า (ตั้งรูปที่ 4.4 ง) หลุมเซลล์ผ้าลินินที่ไม่ผ่านการย้อม (ตั้งรูปที่ 4.4 จ) ผ้ามีสลิน หลุมเซลล์ควบคุม (ตั้งรูปที่ 4.5 ก) หลุมเซลล์ผ้ามีสลินย้อมสารสกัดกระโดน (ตั้งรูปที่ 4.5 ข) หลุมเซลล์ผ้ามีสลินย้อมสารสกัดกระโดนแฉ่สารติดสี (ตั้งรูปที่ 4.5 ค) หลุมเซลล์ผ้ามีสลินแฉ่สารขี้เถ้า (ตั้งรูปที่ 4.5 ง) หลุมเซลล์ผ้ามีสลินที่ไม่ผ่านการย้อม (ตั้งรูปที่ 4.5 จ) ผ้าสาลู หลุมเซลล์ควบคุม (ตั้งรูปที่ 4.6 ก) หลุมเซลล์ผ้าสาลูย้อมสารสกัดกระโดน (ตั้งรูปที่ 4.6 ข) หลุมเซลล์ผ้าสาลูย้อมสารสกัดกระโดนแฉ่สารติดสี (ตั้งรูปที่ 4.6 ค) หลุมเซลล์ผ้าสาลูแฉ่สารขี้เถ้า (ตั้งรูปที่ 4.6 ง) หลุมเซลล์ผ้าสาลูที่ไม่ผ่านการย้อม (ตั้งรูปที่ 4.6 จ) และความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรก่อนหยุด MTT ได้แก่ ผ้าลินิน หลุมเซลล์ควบคุม (ตั้งรูปที่ 4.7 ก) หลุมเซลล์ผ้าลินินย้อมสารสกัดกระโดน (ตั้งรูปที่ 4.7 ข) หลุมเซลล์ผ้าลินินย้อมสารสกัดกระโดนแฉ่สารติดสี (ตั้งรูปที่ 4.7 ค) หลุมเซลล์ผ้าลินินแฉ่สารขี้เถ้า (ตั้งรูปที่ 4.7 ง) หลุมเซลล์ผ้าลินินที่ไม่ผ่านการย้อม (ตั้งรูปที่ 4.7 จ) ผ้ามีสลิน หลุมเซลล์ควบคุม (ตั้งรูปที่ 4.8 ก) หลุมเซลล์ผ้ามีสลินย้อมสารสกัดกระโดน (ตั้งรูปที่ 4.8 ข) หลุมเซลล์ผ้ามีสลินย้อมสารสกัดกระโดนแฉ่สารติดสี (ตั้งรูปที่ 4.8 ค) หลุมเซลล์ผ้ามีสลินแฉ่สารขี้เถ้า (ตั้งรูปที่ 4.8 ง) หลุมเซลล์ผ้ามีสลินที่ไม่ผ่านการย้อม (ตั้งรูปที่ 4.8 จ) ผ้าสาลู หลุมเซลล์ควบคุม (ตั้งรูปที่ 4.9 ก) หลุมเซลล์ผ้าสาลูย้อมสารสกัดกระโดน (ตั้งรูปที่ 4.9 ข) หลุมเซลล์ผ้าสาลูย้อมสารสกัดกระโดนแฉ่สารติดสี (ตั้งรูปที่ 4.9 ค) หลุมเซลล์ผ้าสาลูแฉ่สารขี้เถ้า (ตั้งรูปที่ 4.9 ง) หลุมเซลล์ผ้าสาลูที่ไม่ผ่านการย้อม (ตั้งรูปที่ 4.9 จ) หลังจากเติม MTT เป็นระยะเวลา 4 ชั่วโมงแล้ว ในเซลล์หลุมควบคุมเกิดผลึกฟอรัมาซาน ไม่สามารถมองเห็นได้ชัดเป็นจำนวนมาก ตัวอย่างผลึกฟอรัมาซานที่เกิดขึ้น (แสดงตั้งรูปที่ 4.10) แสดงให้เห็นถึง

การมีชีวิตอยู่ของเซลล์ เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาเอนไซม์ mitochondrial reductase ที่รีดิวซ์สาร MTT กลายเป็นผลึกฟอร์มาซานสีม่วงได้ การเจริญของเซลล์ลดลงอย่างมากในหลุมสี่เหลี่ยมกระโถนแสดงความเป็นพิษของสี่เหลี่ยมผ้าจากสารสกัดกระโถนต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ HaCaT อย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับหลุมควบคุมและเมื่อไปเปรียบเทียบกับสี่เหลี่ยมผ้าจากสารสกัดกระโถนร่วมกับสารช่วยติดสี ให้ค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ลดลงอย่างมาก ทั้งความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงให้เห็นถึงกิจกรรมของสารช่วยติดสีซี้ถ้าเมื่อนำไปแช่ผ้าที่ย้อมสีจากสารสกัดกระโถน ช่วยลดความเป็นพิษต่อสารสกัดที่มีต่อเซลล์ได้ ในส่วนของผ้าที่ถูกย้อมด้วยซี้ถ้า และผ้าเปล่าของแต่ละชนิดค่าความเป็นพิษอยู่ในระดับต่ำมีความใกล้เคียงกัน โดยผ้ามีสลิ้นมีค่าความเป็นพิษสูงที่สุดคือ 83.13 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในหลุมสี่เหลี่ยมกระโถนก่อนหยด MTT เมื่อเปรียบเทียบกับผ้าชนิดอื่นในความเข้มข้นเดียวกันของหลุมสี่เหลี่ยมพบว่าผ้าลินินมีค่าความเป็นพิษต่ำที่สุด เมื่อดูภาพเซลล์ภายใต้กล้องไม่ได้มีความแตกต่างกันมากนักเนื่องจากผ้าทั้งสามชนิดมีความเป็นพิษสูงใกล้เคียงกันจึงยืนยันได้เพียงสี่เหลี่ยมสารสกัดจากผลกระโถนมีความเป็นพิษต่อเซลล์ HaCaT และในปัจจุบันยังไม่มี การสารสกัดกระโถนมาทำเป็นผลิตภัณฑ์สี่เหลี่ยมผ้าจึงต้องทำการศึกษาอย่างอื่นเพิ่มเพื่อยืนยันผลการทดลอง

ตารางที่ 4.6 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความเป็นพิษต่อเซลล์เคอราติโนไซต์ (Human keratinocyte cell) ชนิด HaCaT ที่ทดสอบด้วยสารสกัดเมทานอลจากสี่เหลี่ยมผ้าจากผลกระโถนที่ถูกย้อมลงบนผ้าฝ้ายดิบแต่ละชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

รูปแบบการย้อมผ้า	ความเข้มข้น (mg/ml)	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์		
		ความเป็นพิษต่อเซลล์ของผ้าแต่ละชนิด		
		ลินิน	มีสลิ้น	สาสุ
ผ้าสารสกัด		57.08±0.09	54.93±1.98	51.85±0.47
ผ้าสารสกัด+สารติดสี	1	17.17±1.04	19.98±1.04	16.63±2.55
ผ้าซี้ถ้า		10.33±1.79	3.17±2.46	4.11±4.35
ผ้าที่ไม่ผ่านการย้อม		8.73±0.66	3.71±1.32	14.42±2.08
ผ้าสารสกัด		70.47±3.88	83.13±0.18	77.83±0.28
ผ้าสารสกัด+สารติดสี	2	37.99±2.65	24.20±1.70	38.33±0.22
ผ้าซี้ถ้า		21.45±2.36	9.20±4.54	27.54±0.76
ผ้าที่ไม่ผ่านการย้อม		2.97±1.04	5.18±4.16	15.49±0.38

ตัวเลขในตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานค่าเปอร์เซ็นต์ความเป็นพิษต่อเซลล์ เอกสารนี้เป็นเอกสารทงสวนวิชาสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

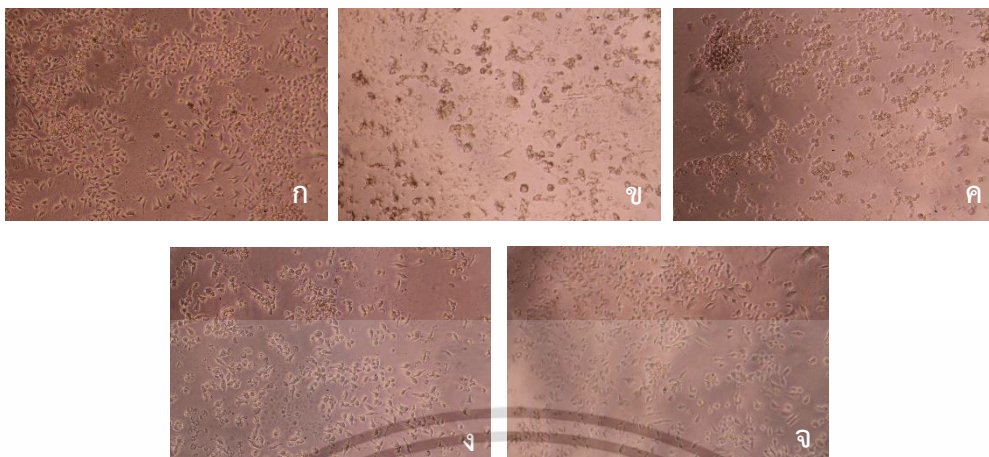


รูปที่ 4.4 ลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ไลน์ HaCaT ที่ทดสอบด้วยสารสกัดเมทานอลจากผลกระโดนที่ถูกย่อยลงบนผ้าลินิน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อนหยุด MTT ภาพถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า หลุมเซลล์ควบคุม (ก) หลุมเซลล์ผ้าย่อยสารสกัดกระโดน (ข) หลุมเซลล์ผ้าย่อยสารสกัดกระโดนแฉะสารติดสี (ค) หลุมเซลล์ผ้าแฉะสารซีไธ้า (ง) หลุมเซลล์ผ้าที่ไม่ผ่านการย่อย (จ)

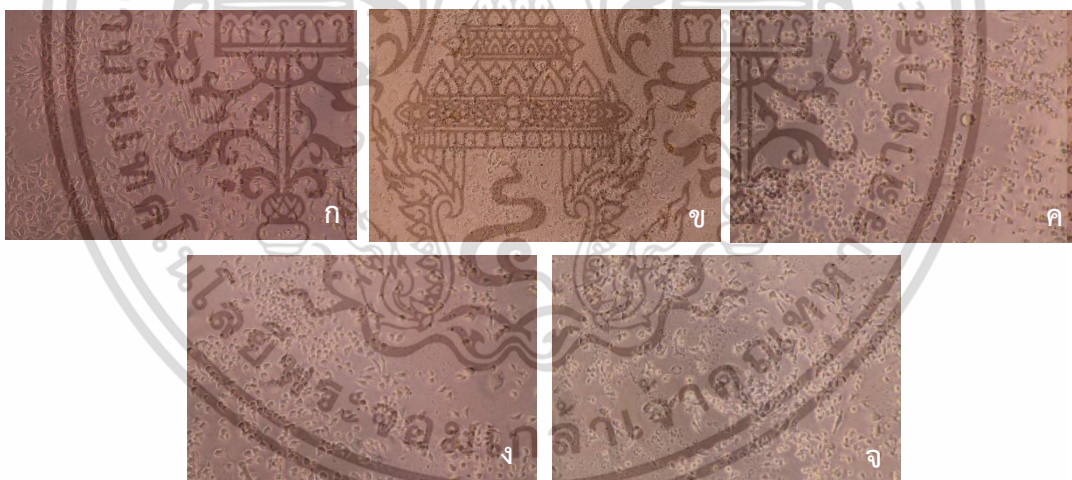


รูปที่ 4.5 ลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ไลน์ HaCaT ที่ทดสอบด้วยสารสกัดเมทานอลจากผลกระโดนที่ถูกย่อยลงบนผ้าลินิน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อนหยุด MTT ภาพถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า หลุมเซลล์ควบคุม (ก) หลุมเซลล์ผ้าย่อยสารสกัดกระโดน (ข) หลุมเซลล์ผ้าย่อยสารสกัดกระโดนแฉะสารติดสี (ค) หลุมเซลล์ผ้าแฉะสารซีไธ้า (ง) หลุมเซลล์ผ้าที่ไม่ผ่านการย่อย (จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

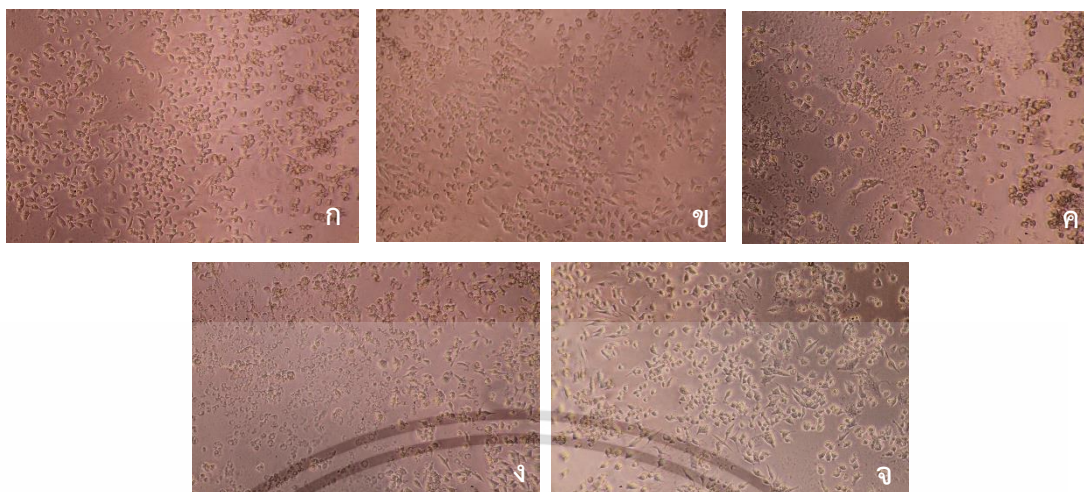


รูปที่ 4.6 ลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ไลน์ HaCaT ที่ทดสอบด้วยสารสกัดเมทานอลจากผลกระโดนที่ถูกย้อมลงบนผ้าสาธู ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อนหยุด MTT ภาพถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า หลุมเซลล์ควบคุม (ก) หลุมเซลล์ผ้าย้อมสารสกัดกระโดน (ข) หลุมเซลล์ผ้าย้อมสารสกัดกระโดนแฉสารดีดีสี (ค) หลุมเซลล์ผ้าแฉสารซีไ้ถ้ำ (ง) หลุมเซลล์ผ้าที่ไม่ผ่านการย้อม (จ)



รูปที่ 4.7 ลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ไลน์ HaCaT ที่ทดสอบด้วยสารสกัดเมทานอลจากผลกระโดนที่ถูกย้อมลงบนผ้าลินิน ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อนหยุด MTT ภาพถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า หลุมเซลล์ควบคุม (ก) หลุมเซลล์ผ้าย้อมสารสกัดกระโดน (ข) หลุมเซลล์ผ้าย้อมสารสกัดกระโดนแฉสารดีดีสี (ค) หลุมเซลล์ผ้าแฉสารซีไ้ถ้ำ (ง) หลุมเซลล์ผ้าที่ไม่ผ่านการย้อม (จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

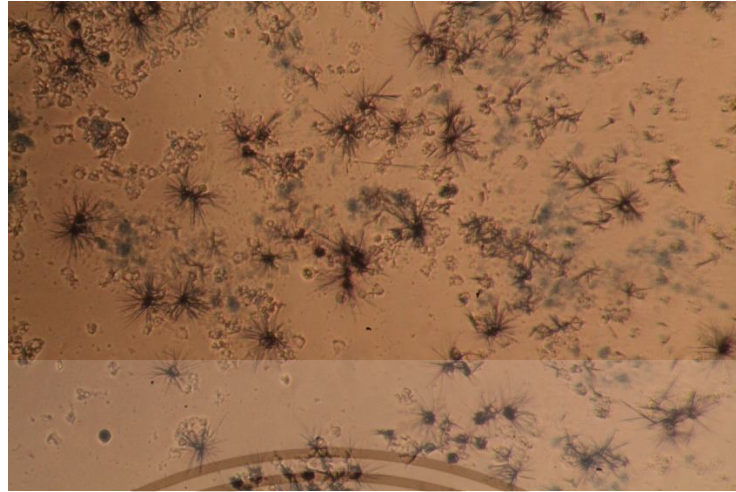


รูปที่ 4.8 ลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ไลน์ HaCaT ที่ทดสอบด้วยสารสกัดเมทานอลจากผลกระโดนที่ถูกย้อมลงบนผ้ามีสลิ้น ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อนหยุด MTT ภาพถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า หลุมเซลล์ควบคุม (ก) หลุมเซลล์ฟ้าย้อมสารสกัดกระโดน (ข) หลุมเซลล์ฟ้าย้อมสารสกัดกระโดนแช่สารติดสี (ค) หลุมเซลล์ฟ้าย้อมสารชี้เถ้า (ง) หลุมเซลล์ผ้าที่ไม่ผ่านการย้อม (จ)



รูปที่ 4.9 ลักษณะสัญญาณวิทยาของเซลล์ไลน์ HaCaT ที่ทดสอบด้วยสารสกัดเมทานอลจากผลกระโดนที่ถูกย้อมลงบนผ้าสาธู ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก่อนหยุด MTT ภาพถ่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า หลุมเซลล์ควบคุม (ก) หลุมเซลล์ฟ้าย้อมสารสกัดกระโดน (ข) หลุมเซลล์ฟ้าย้อมสารสกัดกระโดนแช่สารติดสี (ค) หลุมเซลล์ฟ้าย้อมสารชี้เถ้า (ง) หลุมเซลล์ผ้าที่ไม่ผ่านการย้อม (จ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ไลน์ HaCaT ที่มีชีวิตจะเกิด ผลึกฟอร์มazan หลังหยด MTT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ผลการสกัดสารหยาบเมทานอลจากผลกระมอบ (*Gardenia obtusifolia* Roxb) และ ผลกระโดน (*Careya arborea* Roxb.) จากการประเมินสารพฤกษเคมีเบื้องต้น สารสกัดผลกระมอบมี อัลคาลอยด์ คูมาริน และฟลาโวนอยด์ แต่ไม่มีแทนนิน และซาโปนิน ส่วนสารสกัดผลกระโดนมี อัลคาลอยด์ แทนนิน คูมาริน และฟลาโวนอยด์ แต่ไม่พบซาโปนิน ทั้งนี้สารพฤกษเคมีอาจพบในส่วนอื่น ๆ ของพืช จึงควรมีการศึกษาต่อไปเพื่อยืนยันผลที่ได้

ผลการศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรียสารสกัดเมทานอลจากผลกระโดนมีฤทธิ์การต้านแบคทีเรียต่อ *Staphylococcus epidermidis* และ *Staphylococcus aureus* พบว่าโซนยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียเท่ากับ 11 มิลลิเมตร และ 7.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากผลกระมอบไม่มีฤทธิ์ดังกล่าว แต่ควรมีการศึกษาส่วนอื่น ๆ ของกระมอบเพื่อค้นหาฤทธิ์ทางจุลชีพเพิ่มเติมในอนาคต เนื่องจากสารสกัดเมทานอลจากผลกระโดนมีประสิทธิภาพในการต้านแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ การทดลองต่อไปจะนำสารสกัดนี้มาย้อมผ้า 3 ชนิด คือ ผ้าสาหลู ผ้าลินิน และผ้ามัสลิน เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพการต้านแบคทีเรียของผ้าย้อม

การทดลองย้อมสีผ้าฝ้ายติดด้วยสีย้อมจากสารสกัดผลกระโดน พบว่า ผ้าทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ผ้าสาหลู ผ้ามัสลิน และผ้าลินิน โดยมิลัดับความเข้มของสีจากเข้มที่สุดไปจางที่สุด ดังนี้ ผ้าลินิน ผ้ามัสลิน และ ผ้าสาหลู นอกจากนี้ เมื่อแช่ผ้าที่ผ่านการย้อมสีเสร็จแล้วในสารช่วยติดสี (mordant) จากธรรมชาติ ขี้เถ้า ซึ่งเป็นน้ำต่าง พบว่าลักษณะของสีเข้มขึ้นอย่างชัดเจน สารช่วยติดสี โดยเฉพาะเมื่อนำมาใช้กับสีย้อมธรรมชาติ ช่วยให้สีติดทนนานและไม่ซีดจางง่าย การย้อมสีผ้าฝ้ายติดด้วยสีย้อมจากสารสกัดกระโดน ผ้าลินินมีสีเข้มที่สุด รองลงมาคือผ้ามัสลินและผ้าสาหลู การใช้สารช่วยติดสีจากขี้เถ้าช่วยเพิ่มความเข้มและความทนทานของสีอย่างมีนัยสำคัญ

การศึกษาย้อมจากสารสกัดผลกระโดนมีฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย พบว่า สีย้อมจากสารสกัดผลกระโดนมีฤทธิ์การต้านแบคทีเรียทั้ง *S. epidermidis* และ *S. aureus* บนดิสก์ผ้าลินิน มัสลิน และสาหลู โดยผ้าลินินมีฤทธิ์การต้านแบคทีเรียสูงสุด รองลงมาคือผ้ามัสลินและผ้าสาหลู ตามลำดับ เมื่อใช้สารช่วยติดสีขี้เถ้าไม่พบฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย และสารสกัดผลกระโดนที่ผสมกับสารช่วยติดสีขี้เถ้า บนดิสก์กระดาษมีฤทธิ์การต้านแบคทีเรียลดลงเมื่อเทียบกับสารสกัดกระโดนเพียงอย่างเดียว อีกทั้ง ลำดับความเข้มของสีและฤทธิ์การต้านแบคทีเรียลดหลั่นตามความหนาของผ้า โดยฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย *S. epidermidis* ของผ้าที่ย้อมสีย้อมสารกระโดนพบโซนยับยั้งสูงที่สุด ผ้าลินิน 13.35 มิลลิเมตร ผ้ามัสลิน 12.25 มิลลิเมตร และผ้าสาหลู 9.97 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์จากสารสกัดเมทานอลของสีย้อมกระโดน ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าสีย้อมจากสารสกัดกระโดนมีความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ HaCaT อย่างชัดเจน โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นสูงที่ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าเฉลี่ยร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ ผ่าลึนิน 70.47 เปอร์เซ็นต์ ผ่ามีสลิน 83.13 เปอร์เซ็นต์ และผ่าสาลู 77.83 เปอร์เซ็นต์ การใช้สารช่วยติดสีชี้เข้าช่วยลดความเป็นพิษได้อย่างมาก ในการศึกษาลักษณะสัญญาณของเซลล์ผิวหนังมนุษย์ HaCaT ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเซลล์ที่ได้รับสารสกัดสีย้อมกระโดนเพียงอย่างเดียวไม่เกิดผลึกพอร์มาซาน ซึ่งแสดงถึงความเป็นพิษต่อเซลล์อย่างชัดเจน เมื่อใช้สารช่วยติดสีชี้เข้าร่วมด้วย ความเป็นพิษต่อเซลล์ลดลงอย่างมาก สารสกัดจากกระโดนมีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์อย่างชัดเจน โดยเฉพาะเมื่อไม่มีการใช้สารช่วยติดสี

5.2 ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากสารสกัดจากผลกระโดนแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง การศึกษาส่วนอื่น ๆ ของพืช เช่น เปลือกไม้ ราก หรือใบ อาจพบสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย และมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติ น้อยลง นอกจากนี้ การปรับปรุงการทดสอบในระดับเซลล์เพื่อศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ชนิดอื่น ๆ รวมถึงการใช้เซลล์ผิวหนังมนุษย์ประเภทอื่น เช่น เซลล์ไฟโบรบลาสต์ เพื่อเปรียบเทียบผลและประเมินความปลอดภัยก็มีความสำคัญ ในการทดลองนี้เซลล์ถูกบ่มในสารสกัดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งเซลล์สัมผัสกับสารสกัดตลอดเวลา อาจไม่สะท้อนถึงสภาพจริง เนื่องจากมนุษย์ไม่ได้ใส่เสื้อผ้าตลอดเวลา ดังนั้นการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับระยะเวลาในการทดสอบจึงมีความสำคัญ นอกจากนี้ ผ้ายังไม่ผ่านกระบวนการซักล้าง อาจมีผลต่อการทดลองต่าง ๆ ได้ ในการย้อมสีจากสารสกัด ควรศึกษาการใช้สารช่วยติดสีจากธรรมชาติชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ลดฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและมีความปลอดภัยต่อเซลล์มากกว่า เช่น เหล็กซัลเฟต ซึ่งอาจเป็นทางเลือกที่ดีในการย้อมผ้า รวมถึงการทดลองกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์อื่น ๆ ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ จะช่วยขยายขอบเขตการทดสอบและประเมินประสิทธิภาพของสารสกัดได้ครอบคลุมมากขึ้น สารสกัดจากผลกระโดนอาจถูกประยุกต์ใช้เป็นยารักษาโรคที่เกี่ยวกับการติดเชื้อแบคทีเรียทางผิวหนังได้หากสามารถพิสูจน์ประสิทธิภาพและความปลอดภัยในระดับที่เพียงพอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2020. ทดสอบผ้าฝ้ายมัสลินเหมาะสมที่สุดทำหน้ากากผ้า. [Online]. เข้าถึงได้จาก <https://msto.dmsc.moph.go.th/login/showimgdetil.php?id=209>
- กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 2556. ฐานข้อมูลพฤกษศาสตร์พื้นบ้าน. [Online]. เข้าถึงได้จาก <http://www.qsbg.org/Datab ase/plantdb/mdp/medicinalspecimen .asp?i d=962>
- จิราพร เกิดแก้ว. 2558. การศึกษาผ้าชนิดต่าง ๆ ด้วยเทคนิค ATR-FTIR, TGA และ DSC เพื่อประโยชน์ทางนิติวิทยาศาสตร์. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- จตุรรัตน์ ศรีประเสริฐ. 2559. การทดสอบสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของแคนา. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ธนารักษ์ จันทประสิทธิ์, นฤมล ตั้งธีระสุนันท์ และสุพัตรา โพธิ์เอี่ยม. (2022). สำนวจความหลากหลายเบื้องต้น ของพันธุ์พืชและเชื้อราในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี. การประชุมวิชาการและการนำเสนอผลงานชมรมคณะปฏิบัติการนิเทศศาสตร์ อพ.สธ .ครั้งที่ 10. นครศรีธรรมราช.
- ผ่องศรี รอดโพธิ์ทอง. 2551. การศึกษาวิธีการย้อมสีผ้าฝ้ายด้วยเปลือกต้นโปรง. วารสารวิชาการ คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์ 2: 1-13.
- พฤษวรัช หลอดเข็ม. 2559. ฤทธิ์ทางชีวภาพและความหลากหลายทางพันธุกรรมของดีปลากั้ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ภัทราศรี สุโข, ณภัค แสงจันทร์ และธนกฤต ใจสุดา. 2562. การศึกษาสีธรรมชาติจากพันธุ์พืชป่าชายเลน ตำบลบ่อ อำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี โดยกระบวนการมีส่วนร่วมของชุมชน. วารสารวิจัย รำไพ พรรณี. 1: 64-73.
- รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ราชบัณฑิตยสถาน. 2547. อนุกรมวิธานพืช อักษร ก. กรุงเทพฯ. ราชบัณฑิตยสถาน.
- Ambardar, N. and Aeri, V. 2013. A better understanding of traditional uses of *Careya arborea* Roxb. Phytochemical and Pharmacological Review. 4: 1-7.
- Bocso, N., Sebastian, S. and Butnariu, M. 2022. The biological role of primary and secondary plants metabolites. Journal of Nutrition and Food Processing. 3: 1-7.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Goering, R., Dockrell, H., Zuckerman, M., Roitt, I. and Chiodini, P. 2012. Mims' medical microbiology. Elsevier Health Sciences.
- Hudzicki, J. 2009. Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. American Society for Microbiology. 15: 55-63.
- Humphries, R., Bobenchik, A., Hindler, J. and Schuetz, A. 2021. Overview of changes to the clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing M1. Journal of Clinical Microbiology. 12: 10-28.
- IPNI 2024. International plant names index. [Online]. <http://www.ipni.org>.
- Kashyp, K., Das, A.K., Bhardwaj, A.K., Roymahapatra, G., Ghosh, A., Hiat, M. and Jain, R. 2023. Phytochemical analysis of *Careya arborea* Roxb. root extracts a qualitative analytical approach. ES General, 1: 1-5.
- Kesavan, K., Gnanasekaran, J., Gurunagarajan, S. and Nayagam, A. 2018. Microscopic, physicochemical and phytochemical analysis of *Gardenia jasminoides* (Ellis). International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 1: 97-102.
- Manjima, P., Bincy, R. and Kumar, D.S. 2014. Antibacterial activity of fruit of *Careya arborea* Roxb Lecythidaceae. Hygeia-Journal for Drugs and Medicine. 1: 20-24.
- Mia, R., Das, S., Banna, B., Ahmed, T. and Bakar, M. 2023. Enhancing antibacterial properties of organic cotton fabric using mahogany wood waste. Case Studies in Chemical and Environmental Engineering. 8: 100387.
- Nasom, C., Chonsakorn, S., and Srivorradatpaisan, S. 2023. Headgear design for protecting the eyes of jaundiced newborn during phototherapy treatment. Rmuti Journal Science and Technology. 2: 1-12.
- Prabhakaran, M., Reejo, B., and Kumar, D.S. 2014. Antibacterial activity of the fruits of *Careya arborea* Roxb. (Lecythidaceae). Hygeia-Journal for Drugs and Medicine. 1: 20-24.
- Ramdurga, B., Jat, R.K., and Badami, S. 2021. In vitro cytotoxic and antioxidant activities of *Careya arborea* root extracts. International Journal of

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นโดยระบบอัตโนมัติ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Satish, K.B., Vrushabendra, S.B., Kamal, K.G., and Mohan, B.G. 2010. Review on *Careya arborea* Roxb. International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy (IJRAP). 2: 306-315.
- Senthilkumar, N., Badami, S., Cherian, M.M., and Hariharapura, R.C. 2007. Potent in vitro cytotoxic and antioxidant activity of *Careya arborea* bark extracts. Phytotherapy Research an International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives. 5: 492-495.
- Sotthisawad, K. 2021. Antibacterial activity of indigo dyed fabrics. RMUTP Research Journal. 1: 105-115.
- Sultana, N.A., Aovi, F.I., and Rahman, M.S. 2019. Bioactivity assessment of a widely distributed mangrove plant: *Barringtonia Acutangula*. Pharma Online. 3: 301-308
- Sundar, R.A., and Habibur, R.C. 2018. Pharmacognostic, phytochemical and antioxidant studies of *Gardenia latifolia* Aiton: An ethnomedicinal tree plant. Int. J. Pharmacogn. Phytochem. 10: 216-228.
- Tchouya, G.R.F., Foundikou, H., and Lebibi, J. 2014. Phytochemical and in vitro antimicrobial evaluation of the stem bark of *Schumanniphyton magnificum* (Rubiaceae). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 4: 185-189.
- Thant, C.C. 2019. Some medicinal tree species found in padaung township. In 2nd Myanmar Korea Conference Research Journal. 1: 52-59.
- Triveni, A.G., Gaddad, S.M., Mendem, S.K., and Shivakumar Singh, P. 2022. Phytochemical analysis, antibiofilm and antibacterial activity of crude methanol extract of *Careya arborea* Roxb. Fruit against multi drug resistant strains. Journal of Pharmaceutical Negative Results. 13: 6769-6775.
- Wong, K.Y., Vikram, P., Chiruvella, K.K., and Mohammed, A. 2015. Phytochemical screening and antimicrobial potentials of *Borreria* sps (Rubiaceae). Journal of King Saud University Science. 4: 302-311.
- Zongram, O, Ruangrunsi, N, and Rungsihirunrat, K. 2017. RAPD Fingerprinting and genetic relationship of *Gardenia* species in Thailand. Songklanakarin J Sci Technol. 4: 471-477.
- เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี

1. Dragendroff's reagent

เตรียมสารละลาย Dragendroff's reagent ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ละลายบิสมาท์ไนเตรท 8 กรัม เติมกรดไนตริก 30 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 27.2 กรัม ใน น้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายบิสมาท์ไนเตรท ค่อยๆ ในสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

2. Gelatin solution

เตรียมสารละลาย Gelatin solution ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ละลายเจลาติน 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร จากนั้นให้ความร้อนปานกลางจนเจลาตินละลายหมด

3. Gelatin salt solution

นำ Gelatin solution ผสมกับ 10 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคลอไรด์ ในอัตราส่วน 1 : 1

4. Wagner's reagent

เตรียมสารละลาย Wagner's reagent ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 0.2 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 6 มิลลิลิตร จากนั้นค่อย ๆ เติมสารละลายไอโอดีน 0.127 กรัม ลงไปแล้วคนจนสารละลายหมด แล้วปรับปริมาตรให้เท่ากับ 10 มิลลิลิตร

5. โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride, NaCl) 10 เปอร์เซ็นต์

ชั่ง NaCl 10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

6. การเตรียมเฟอร์ริกคลอไรด์ (Ferric chloride, FeCl₃) 1 เปอร์เซ็นต์

การเตรียมสารละลาย Ferric chloride 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยชั่ง FeCl₃.6H₂O 0.17 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร

7. สารมาตรฐานกรดแทนนิก (Tannic acid)

ทำการชั่งกรดแทนนิก 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำการกรองสารมาตรฐานด้วยกระดาษ whatman No.1 และหยด 10 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคลอไรด์ 3-4 หยด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. สารมาตรฐานโคลชิซิน (Colchicine)

ทำการบดยาโคลชิซินปริมาณ 0.3 กรัม โดยละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่ความเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นทำการกรองด้วยกระดาษกรอง whatman No.1

9. สารมาตรฐานแอสซิน (Aescin)

เตรียมแอสซินความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายด้วยแอสซิน 10 มิลลิกรัม ด้วย PBS 2 มิลลิลิตร จากนั้นปั่นเหวี่ยง 2200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นดูดสารละลายใส่หลอดใหม่

10. สารละลายมาตรฐานใบชา (Fresh tea leaf)

ชั่งใบชา 0.2 กรัม ละลายด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร แบ่งเป็น 3 หลอด หลอดละ 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดแมกนีเซียมลงไป 2 ชิ้นเล็ก ๆ และเติมกรดไฮโดรคลอริก

11. สารละลายมาตรฐานผงซาโปนิน (Saponins)

เตรียมซาโปนินความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 5 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

12. สารละลายมาตรฐานวาร์ฟาริน (Warfarin)

ชั่ง วาฟาริน 0.6 กรัม ละลายใน 50 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล 3 มิลลิลิตร จากนั้นทำการกรองด้วยกระดาษกรอง whatman No.1 และเติมสาร 6 โมลาร์ โซเดียมไฮดรอกไซด์

13. การเตรียมอาหาร Mueller hinton agar (MHA)

ชั่งอาหารสำเร็จ Mueller hinton 38 กรัม และผงวุ้น 15 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

14. การเตรียมอาหาร Muller-Hinton broth (MHB)

ชั่งอาหารสำเร็จ Mueller hinton 1.9 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร นำไปละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่หลอดทดลองหลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

15. Nutrient agar (NA)

ชั่งอาหารสำเร็จ Nutrient broth 13 กรัม และผงวุ้น 15 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

16. Nutrient broth (NB)

ชั่งอาหารสำเร็จ Nutrient broth 0.65 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร นำไปละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่หลอดทดลองหลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

17. Tryptic soy agar (TSA)

ชั่งอาหารสำเร็จ Tryptic soy 30 กรัม และผงวุ้น 18 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

18. Tryptic soy broth (TSB)

ชั่งอาหารสำเร็จ Tryptic soy 1.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร นำไปละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งใส่หลอดทดลองหลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

19. Phosphate buffer saline (PBS)

เตรียม PBS โดยการชั่ง NaCl 0.8 กรัม KCl 0.2 กรัม NaHPO_4 1.15 กรัม และ KH_2PO_4 0.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้เข้ากัน นำไปปรับพีเอชให้ได้ 7 จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง whatman NO.1 และนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

20. อาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI เสริมด้วย FBS 8 เปอร์เซ็นต์

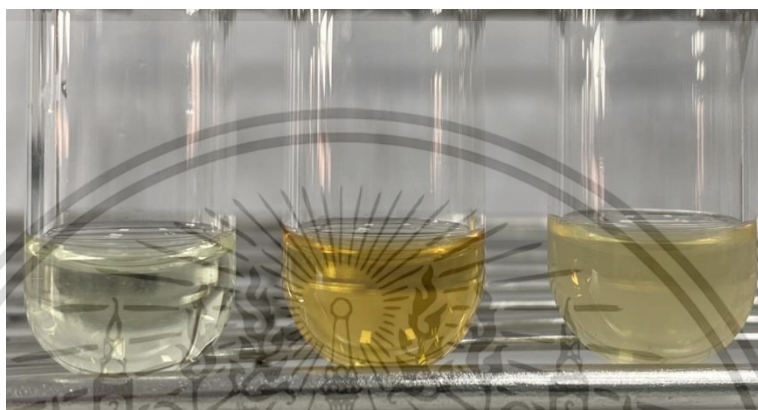
เตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI 1640 เสริมด้วย FBS 8 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยเตรียม FBS โดยทำการ Heat inactivate ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส 30 นาที ก่อนใช้จากนั้นผสม FBS ปริมาตร 8 มิลลิลิตร กับสารละลายเจนนตามัยซิน 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรให้เท่ากับ 100 มิลลิลิตร ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI 1640 กรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ข

การตรวจสอบพิกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดเมทานอลจากกระมอ และกระโดน

1. อัลคาลอยด์

ก่อนหยดสารทดสอบ



สารมาตรฐาน

กระมอ

กระโดน

โคลชิซิน

หลังหยดสารทดสอบ

- Dragendorff's reagent



สารมาตรฐาน

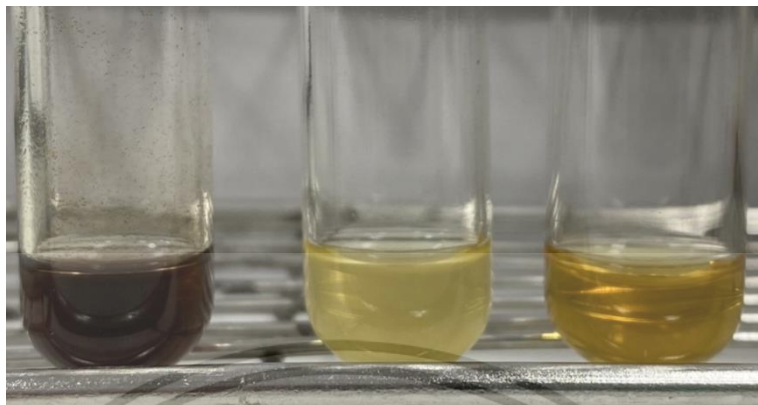
กระมอ

กระโดน

โคลชิซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-Wagner's reagent



สารมาตรฐาน
โคลชิซิน กระโดน กระมอบ

หมายเหตุ การอ่านผล : สังเกตการเกิดตะกอน หากมีตะกอนแสดงว่ามีอัลคาลอยด์ โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานโคลชิซิน

รูปภาพผนวก ข-1 การตรวจสอบอัลคาลอยด์ ของสารสกัดเมทานอลจากกระมอบ และกระโดน

2. แทนนิน

ก่อนหยดสารทดสอบ

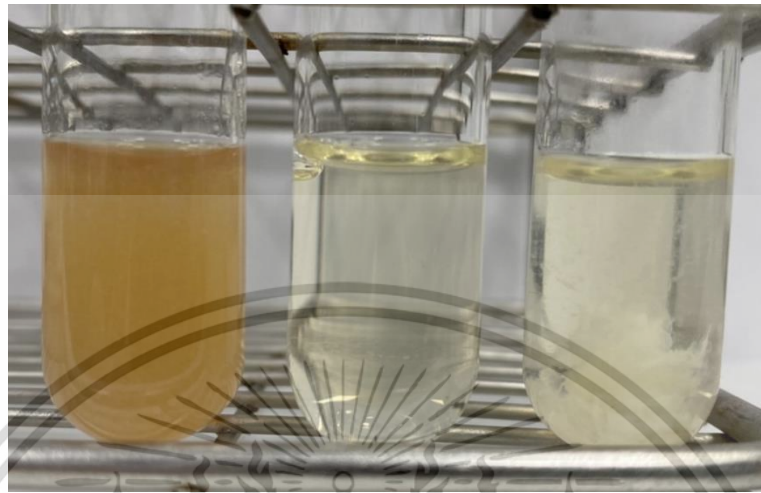


สารมาตรฐาน
แทนนิน กระมอบ กระโดน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังหยดสารทดสอบ

- Gelatin solution



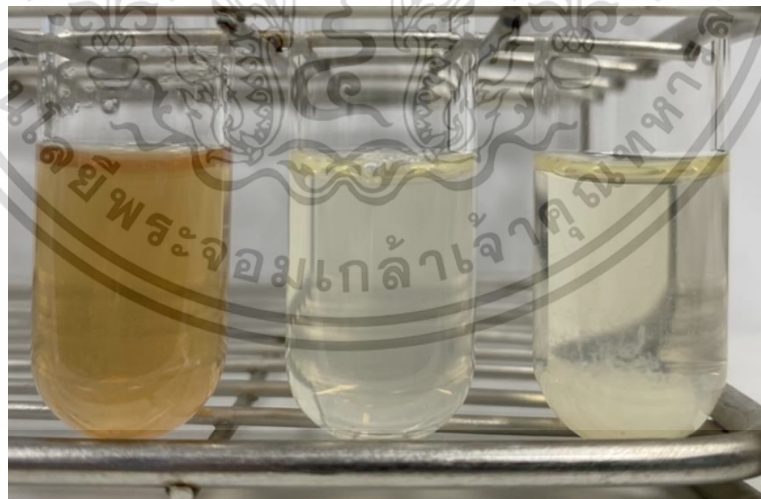
สารมาตรฐาน

กระมอบ

กระโดน

แทนนิก

- Gelatin salt solution



สารมาตรฐาน

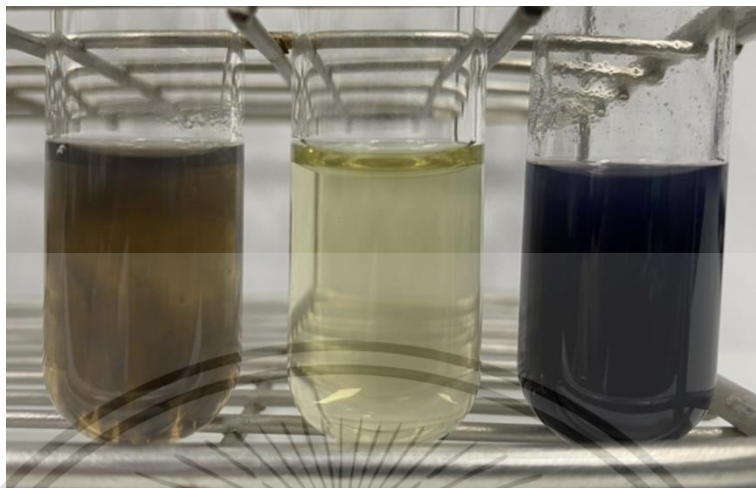
กระมอบ

กระโดน

แทนนิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เฟอร์ริกคลอไรด์ 1 เปอร์เซ็นต์



สารมาตรฐาน
แทนนิก

กระมอบ

กระโดน

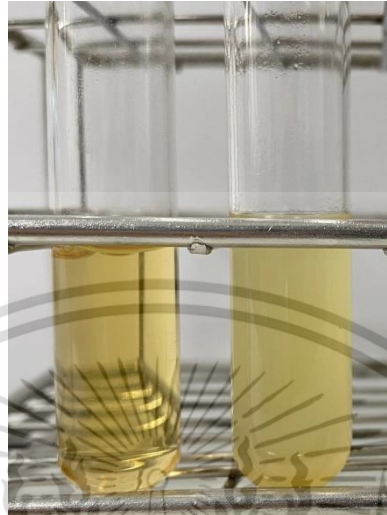
หมายเหตุ การอ่านผล : ถ้าเกิดตะกอนขาวเมื่อหยดด้วย Gelatin solution กับ Gelatin salt solution ถ้าเกิดตะกอนขาว และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 1 เปอร์เซ็นต์ ถ้าเกิดตะกอนสีน้ำเงินเขียว แสดงว่ามีแทนนิน และสารประกอบฟีนอลิก ถ้าไม่เกิดตะกอนขาว แต่เกิดตะกอนสีน้ำเงินเขียว แสดงว่ามีแต่สารประกอบฟีนอลิก โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแทนนิก

รูปภาคผนวก ข-2 การตรวจสอบแทนนิน ของสารสกัดเมทานอลจากกระมอบ และกระโดน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ซาโปนิน Froth test

ก่อนจับเวลาทดสอบ



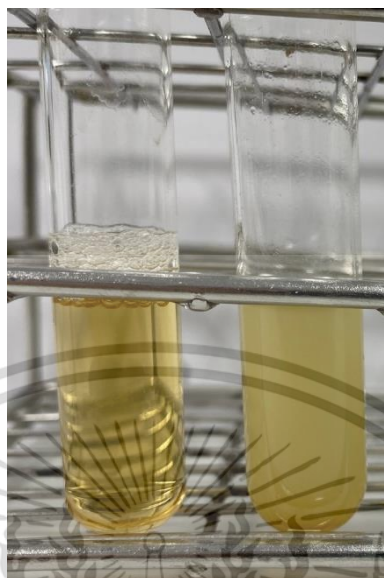
สารมาตรฐาน ผงซาโปนิน กระมอบ



สารมาตรฐาน ผงซาโปนิน กระโดน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจับเวลาครบ 30 นาที



สารมาตรฐาน กระทบ
ผงซาโปนิน



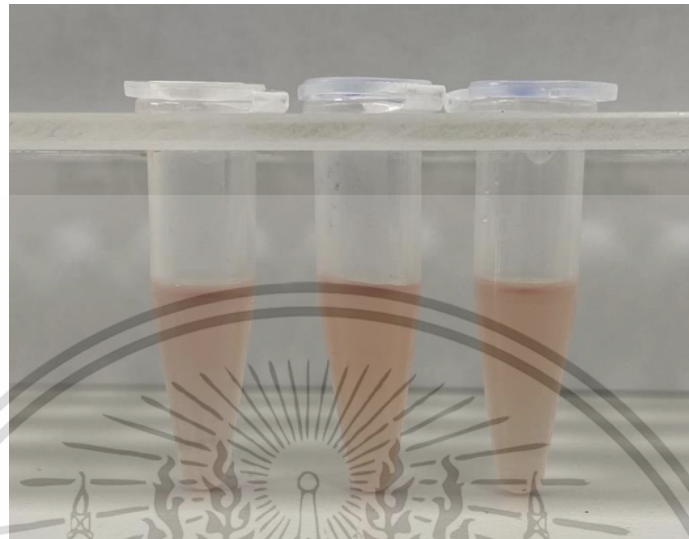
สารมาตรฐาน กระโดน
ผงซาโปนิน

หมายเหตุ การอ่านผล : สังเกตการเกิดฟอง ถ้าเกิดฟองแบบคงตัวในระยะเวลา 30 นาที แสดงว่ามี
ซาโปนิน โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานผงซาโปนิน
รูปภาพผนวก ข-3 การตรวจสอบซาโปนิน Froth test ของสารสกัดเมทานอลจากกระทบ และ
กระโดน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ซาโปนิน Hemolysis

ก่อนนำมาปั่นเหวี่ยง



แอสซึน

กระโดน

กระมอบ

หลังจากปั่นเหวี่ยง



แอสซึน

กระโดน

กระมอบ

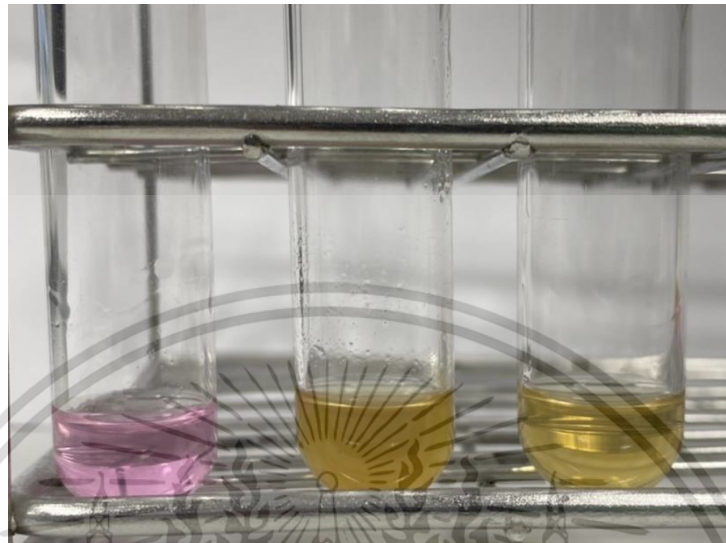
หมายเหตุ การอ่านผล : ถ้าเกิดสีแดงของฮีโมโกลบินในสารละลายส่วนใสแสดงว่าเกิดตะกอนของเม็ดเลือดแดง แสดงว่ามีซาโปนิน โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานแอสซึน

รูปภาพผนวก ข-4 การตรวจสอบซาโปนิน Hemolysis ของสารสกัดเมทานอลจากกระมอบ และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้กระโดนการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. คูมาริน

ก่อนเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์

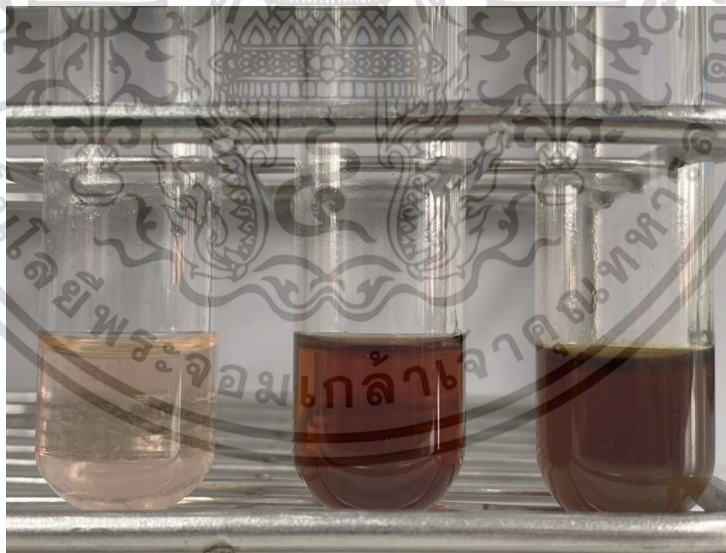


วาร์ฟาริน

กระมอบ

กระโดน

หลังเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์



วาร์ฟาริน

กระมอบ

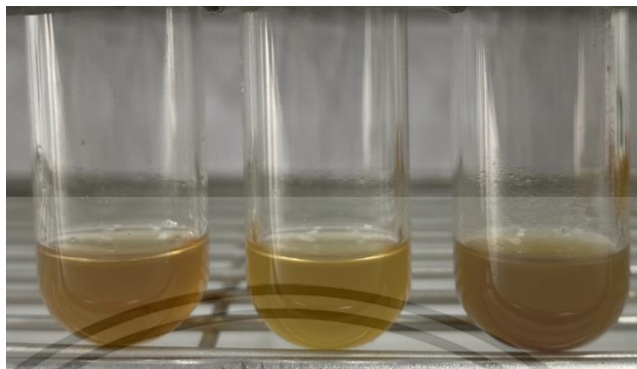
กระโดน

หมายเหตุ การอ่านผล : หากพบว่าสารสกัดมีสีเหลืองเข้มขึ้น แสดงว่ามีคูมาริน โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานวาร์ฟาริน

รูปภาพผนวก ข-5 การตรวจสอบคูมาริน ของสารสกัดเมทานอลจากกระมอบ และกระโดน เอกสารนี้เป็นเอกสารทสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ฟลาโวนอยด์

ก่อนเติมกรดไฮโดรคลอริก



สารมาตรฐาน ไบซา กระโดน กระจมอบ

หลังเติมกรดไฮโดรคลอริก



สารมาตรฐาน ไบซา กระโดน กระจมอบ

หมายเหตุ การอ่านผล : สังเกตการเปลี่ยนสี หากเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ส้ม แดง และชมพู แสดงว่ามีฟลาโวนอยด์ โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานไบซา

รูปภาพผนวก ข-6 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ ของสารสกัดเมทานอลจากกระจมอบ และกระโดน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
แบบฟอร์มการตรวจสอบการคัดลอกผลงานทางวิชาการ

ข้าพเจ้า นายพงศกร ศรีลาวัตร รหัสประจำตัว 63050503 และ นายอนุรักษ์ ดอกไม้
รหัสประจำตัว 63050528 ระดับปริญญาตรี สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ ได้เสนอ โครงการพิเศษ

เรื่อง

(ชื่อภาษาไทย) การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด เมทานอลจากผลกระโดนและกระมอบ เพื่อ
พัฒนาสีย้อมผ้า

(ชื่อภาษาอังกฤษ) Study of biological activities of methanolic extracts from kradon and
kramob fruits for developing fabric dyes

โดยได้ตรวจเช็ค โครงการพิเศษ ในภาคเรียนที่ 2/2566 วันที่ 6 เดือนมิถุนายน ปี2567 โดยใช้
โปรแกรม อักษรวิสุทธิ์ ตรวจสอบความเหมือนของเนื้อหา 1.40 % โดยอาจารย์ที่ปรึกษา
(โครงการพิเศษ) ยอมรับได้ที่จะสามารถดำเนินการสอบจบวิทยานิพนธ์หรือปริญญาโทหรือปัญหา
พิเศษหรือรายงานค้นคว้าอิสระ

ลายมือชื่อนักศึกษา..... พงศกร ศรีลาวัตร
(นายพงศกร ศรีลาวัตร)
11 / 06 / 2567

ลายมือชื่อนักศึกษา..... อนุรักษ์ ดอกไม้
(นายอนุรักษ์ ดอกไม้)
11 / 06 / 2567

ได้รับความเห็นชอบจากอาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ศุภัตดา โพธิ์เอี่ยม
(รศ. ดร.ศุภัตดา โพธิ์เอี่ยม)
11 / 06 / 2567

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้