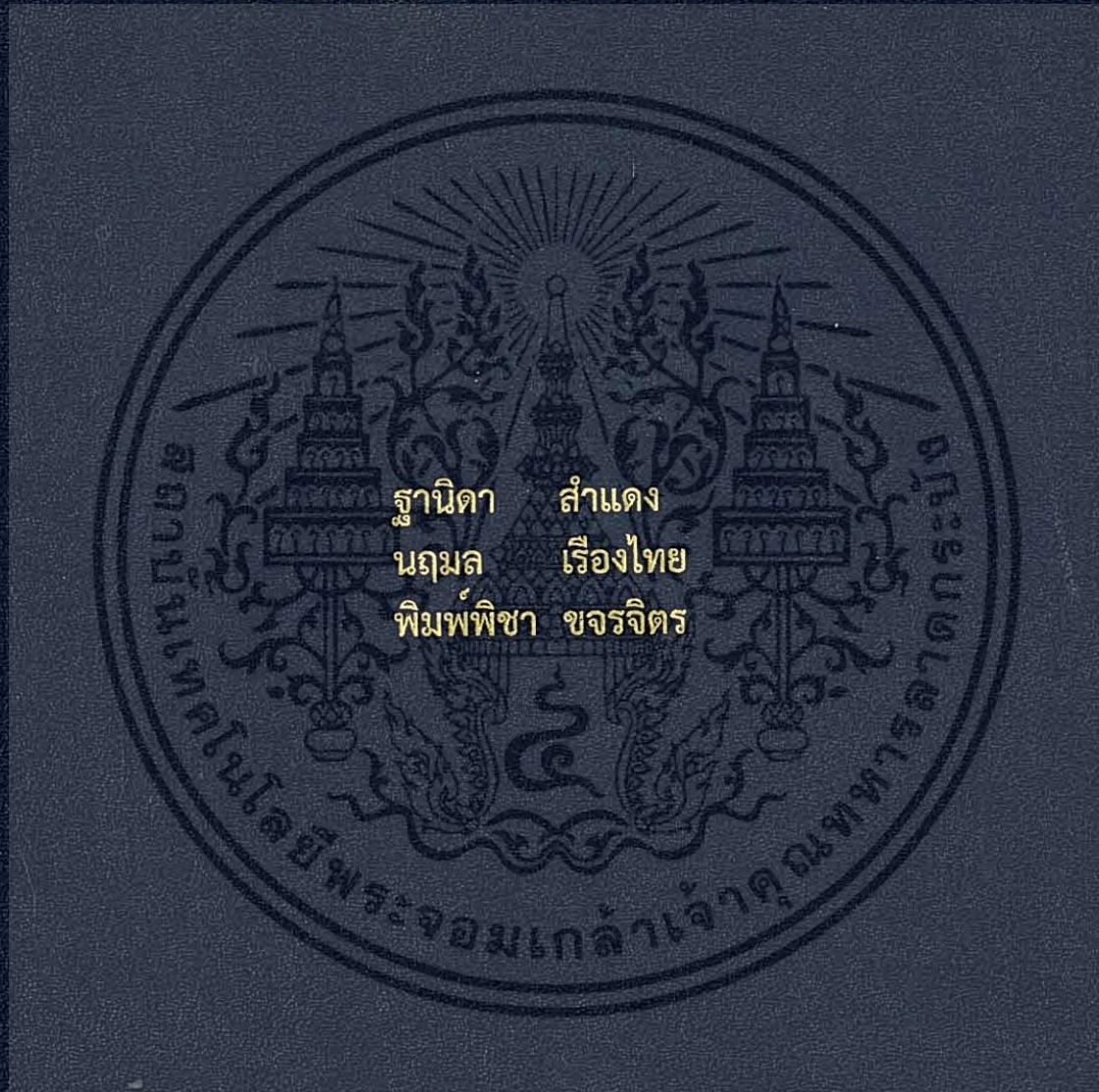


ฤทธิ์ของสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ต่อการต้านอนุมูล
อิสระและยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

THE EFFECT OF *Carissa carandas* Linn. EXTRACTS TO
ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

ฤทธิ์ของสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ต่อการต้านอนุมูล
อิสระและยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

THE EFFECT OF *Carissa carandas* Linn. EXTRACTS TO
ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE EFFECT OF *Carissa carandas* Linn. EXTRACTS TO
ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

ฤทธิ์ของสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ต่อการต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

THE EFFECT OF *Carissa carandas* Linn. EXTRACTS TO ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL

ชื่อนักศึกษา

นางสาวฐานิตา สำแดง รหัสนักศึกษา 56050982

นางสาวนฤมล เรืองไทย รหัสนักศึกษา 56051012

นางสาวพิมพ์พิชา ขจรจิตร รหัสนักศึกษา 56051038

ปริญญา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา

ชีววิทยา

ปีการศึกษา

2559

อาจารย์ที่ปรึกษา

ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดวงใจ โอชัยกุล ประธานกรรมการ	
ผศ.ลินจง สุขล้าภู กรรมการ	
ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาดูเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	ฤทธิ์ของสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ต่อการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย THE EFFECT OF <i>Carissa carandas</i> Linn. EXTRACTS TO ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL
ชื่อนักศึกษา	นางสาวฐานิดา สำแดง รหัสนักศึกษา 56050982 นางสาวนฤมล เรืองไทย รหัสนักศึกษา 56051012 นางสาวพิมพ์พิชา ขจรจิตร รหัสนักศึกษา 56051038
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

บทคัดย่อ

ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ (*Carissa carandas* Linn.) โดยนำสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ มาวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระ สมบัติทางพิษเคมีบางประการ เช่น การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ สารประกอบแทนนินและปริมาณแอนโทไซยานิน ศึกษากิจกรรมการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค พบว่าสารสกัดหยาบจากใบนั้นมีค่าการดักจับอนุมูลอิสระ (IC₅₀) ดีที่สุด คือ 0.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สารสกัดจากใบพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ และปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุดเทียบเท่ากับ 12.96 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง 31555.13 มิลลิกรัมของเคอร์ซีตินต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง และ 28.35 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณแทนนินพบมากที่สุดในสารสกัดจากเมล็ดเทียบเท่ากับ 6397.58 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง และเมื่อนำสารสกัดทั้งสามส่วนไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ 6 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25299, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella typhimurium* DMST 0526, *Bacillus cereus* TISTR 678 และ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 โดยใช้วิธี Agar Well diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนใบมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด 3 ชนิด คือ *Y. enterocolitica*, *B. cereus* และ *S. typhimurium* ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่สารสกัดหยาบจากเนื้อผลมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย คือ *B. cereus* ที่ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด เท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบจากเมล็ดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด 2 ชนิด คือ *Y. enterocolitica* และ *B. cereus* ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการทดลองทั้งหมด สารสกัดจากใบมีความโดดเด่นที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสารสกัดจากทั้งสามส่วน โดยมีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระสูงที่สุด สามารถยับยั้งชนิดของแบคทีเรียได้มากที่สุด และมีปริมาณของสารพฤกษเคมีสูงที่สุดสามชนิด

คำสำคัญ : มะม่วงหาวมะนาวโห่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การต้านแบคทีเรีย สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ สารประกอบแทนนิน ปริมาณแอนโทไซยานิน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	THE EFFECT OF <i>Carissa carandas</i> Linn. EXTRACTS TO ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL
Students	Miss Thanida Samdeang Student ID 56050982 Miss Narumon Rueangthai Student ID 56051012 Miss Pimpicha Khajornjit Student ID 56051038
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2016
Advisor	Dr. Suttijit Sriwatcharakul

Abstract

A study on biological activity of *Carissa carandas* Linn. crude extract from leaves, fruits and seeds to analyze the antioxidant activity and phytochemical properties such as total phenolic compounds, flavonoid, tannin and anthocyanin contents including studied on antibacterial activity. The results showed that leaves extract expressed the DPPH free radical scavenging with IC_{50} of 0.19 mg/ml and the highest total phenolic, flavonoid and anthocyanin contents as 12.96 mgGAE/100 g dry weight, 31555.13 mgQAE/100 g dry weight and 28.35 mg cyanidin-3-glucoside/100 g dry weight, respectively. However the highest tannin was contained in seeds extract as 6397.58 mgTAE/100 g dry weight. All crude extracts were tested antibacterial activity with six bacterial species ; *Escherichia coli* ATCC 25299, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella typhimurium* DMST 0526, *Bacillus cereus* TISTR 678 and *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 by agar well diffusion method. The results exhibited that the minimum concentration of leaves extract to inhibit *Y. enterocolitica* and *B. cereus* was 3.125 mg/ml. From the results expressed that leaves extract is remarkable with the most phytochemical properties that able to inhibit many type of bacterial species and the highest antioxidant activity.

Keywords : *Carissa carandas*, antioxidant, antibacterial, total phenolic compound, flavonoid, tannin, anthocyanin

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในครั้งนี้ จะสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ที่ปรึกษาโครงการพิเศษที่กรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือชี้แนะและปรับปรุงแก้ไขด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่งตลอดมา

ผู้ทำโครงการงานพิเศษขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล ประธานกรรมการ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ลินจง สุขล่ำภู กรรมการสอบโครงการที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือชี้แนะในการแก้ไขโครงการพิเศษให้มีความเรียบร้อยและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณคณาจารย์ภาควิชาชีววิทยา ที่ช่วยเหลือและให้คำปรึกษาในการทำโครงการพิเศษ อีกทั้งยังเสนอแนะและให้คำแนะนำในการทำการทดลอง จนโครงการพิเศษสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ประจำภาควิชาชีววิทยา ที่คอยให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะในการทำการทดลอง และช่วยในการวางแผนในการทำการทดลอง รวมทั้งยังช่วยในการเปิดอุปกรณ์ในการทำการทดลองเสมอมา

ขอขอบคุณ ครอบครัวเรื่องไทย ครอบครัวสำแดง และครอบครัวขจรจิตร ที่คอยให้กำลังใจและทุนทรัพย์ที่ดีเสมอมา อีกทั้งยังทำงานหนักเพื่อหาเงินส่งจนสำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาตรี

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงการพิเศษฉบับนี้จะมีประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจหรือผู้ที่ต้องการค้นคว้าและศึกษางานวิจัยทางด้านนี้ไม่มากนัก

ฐานิดา สำแดง
นฤมล เรื่องไทย
พิมพ์พิชา ขจรจิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ค
กิตติกรรมประกาศ.....	ง
สารบัญ.....	จ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	1
1.3 ขอบเขต.....	1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 มะม่วงหาวมะนาวโห่.....	3
2.1.1 ลักษณะทางพรรณพฤกษศาสตร์.....	3
2.1.2 สรรพคุณของมะม่วงหาวมะนาวโห่.....	4
2.1.3 ประโยชน์มะม่วงหาวมะนาวโห่.....	4
2.1.4 สารเคมีที่พบในมะม่วงหาวมะนาวโห่.....	5
2.1.5 รงควัตถุที่พืชใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสง.....	5
2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร.....	6
2.2.1 น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย.....	6
2.2.2 การทำสารสกัดให้เข้มข้น.....	7
2.3 การทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ.....	8
2.3.1 วิธีทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ.....	9
2.4 สารอนุมูลอิสระ.....	11
2.4.1 นิยามและความหมายของสารอนุมูลอิสระ.....	11
2.4.2 ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ.....	11
2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ.....	12
2.5.1 นิยามและความหมายของสารต้านอนุมูลอิสระ.....	12
2.5.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช.....	13
2.6 สารประกอบฟีนอลิก.....	13
2.6.1 นิยามและความหมายของสารประกอบฟีนอลิก.....	13
2.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลรวม.....	14
2.7 วิตามินอี.....	14
2.7.1 โครงสร้างวิตามินอี.....	15
2.8 กรดแกลลิก.....	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์ที่จัดทำขึ้นเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ผู้อื่นใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 แอนโทไซยานิน.....	16
2.9.1 นิยามและความหมายของแอนโทไซยานิน	16
2.9.2 โครงสร้างแอนโทไซยานิน	16
2.10 แทนนิน.....	17
2.10.1 นิยามและความหมายของแทนนิน.....	17
2.10.2 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของแทนนิน	17
2.11 ฟลาโวนอยด์	19
2.12 เชื้อแบคทีเรีย.....	20
2.12.1 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	20
2.12.2 <i>Bacillus cereus</i>	21
2.12.3 <i>Salmonella</i> spp.....	22
2.12.4 <i>Yersinia enterocolitica</i>	22
2.12.5 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23
2.12.6 <i>Escherichia coli</i>	25
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	27
3.1 พีชที่ใช้ในการทดสอบ	27
3.2 เชื้อแบคทีเรีย.....	27
3.3 สารเคมี.....	27
3.4 อุปกรณ์	27
3.5 วิธีการทดลอง	28
3.5.1 กระบวนการทำสารสกัดหยาบของมะม่วงหาวมะนาวโห่	28
3.5.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH	28
3.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	28
3.5.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์.....	29
3.5.5 การวิเคราะห์หาปริมาณสารแทนนิน.....	29
3.5.6 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานิน.....	30
3.5.7 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย	30
3.5.8 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยวิธี agar well diffusion	30
3.5.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ	31
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	32
4.1 สารสกัดหยาบจากพีชที่ใช้ในการทดลอง	32
4.2 การตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากพีชโดยวิธี DPPH radical scavenging	32
4.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น	34
4.3.1 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด.....	34
4.3.2 สารประกอบฟลาโวนอยด์.....	35
4.3.3 สารประกอบแทนนิน	35

4.3.4 สารประกอบแอนโทไซยานิน.....	36
4.4 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดหยาดจากพืช	37
4.4.1 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ <i>Escherichia coli</i> ATCC 25299	40
4.4.2 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 1228	42
4.4.3 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ <i>Yersinia enterocolitica</i>	44
4.4.4 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ <i>Salmonella typhimurium</i> DMST 0526	46
4.4.5 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ <i>Bacillus cereus</i> TISTR 678	48
4.4.6 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> TISTR 781	50
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	52
เอกสารอ้างอิง	54
ภาคผนวก.....	60
ภาคผนวก ก.....	61
ภาคผนวก ข.....	62
ภาคผนวก ค.....	66
ภาคผนวก ง.....	67
ภาคผนวก จ.....	104



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 แสดงน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดโดยเครื่องระเหยสุญญากาศ.....	32
4.2 ร้อยละการดักจับอนุภาคของ DPPH ในสารสกัดหยาบจาก ใบ เนื้อผล และเมล็ด จากมะม่วงหาวมะนาวโห่.....	33
4.3 ค่า IC ₅₀ ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่.....	34
4.4 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ด ของมะม่วงหาวมะนาวโห่.....	34
4.5 แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาว มะนาวโห่.....	35
4.6 แสดงปริมาณแทนนินในสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่..	36
4.7 แสดงปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาว มะนาวโห่.....	36
4.8 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และ เมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่.....	41
4.9 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ <i>S. epidermidis</i> ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่.....	43
4.10 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ <i>Y. enterocolitica</i> ของสารสกัดหยาบจาก ใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่.....	45
4.11 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ <i>S. typhimurium</i> ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดมะม่วงหาวมะนาวโห่	47
4.12 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ <i>B. cereus</i> ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่	49
4.13 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ <i>P. aeruginosa</i> ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน.....	8
2.2 สูตรโครงสร้างของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH radical)	13
2.3 วิตามินอี	14
2.4 โครงสร้างพันธะทางเคมีของวิตามินอี (α – Tocopherol).....	15
2.5 โครงสร้างทางเคมีของกรดแกลลิก	15
2.6 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน	16
2.7 โครงสร้างแทนนิน.....	17
2.8 ผงแทนนิน	18
2.9 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์	20
2.10 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	20
2.11 <i>Bacillus cereus</i> (spore forming bacteria).....	21
2.12 <i>Salmonella</i> spp.....	22
2.13 <i>Yersinia enterocolitica</i>	23
2.14 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
2.15 เซลล์อีโคโนไลภายใต้กล้องจุลทรรศน์	26
4.1 กราฟแสดงกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดจาก มะม่วงหาวมะนาวโห่.....	33
4.2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Y. enterocolitica</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>B. cereus</i> และ <i>P.aeruginosa</i> โดยสารสกัดหยาบจาก ใบ เนื้อผล และ เมล็ด มะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	38
4.3 แสดงรูปแบบของการใส่สารสกัด.....	39
4.4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้น 3.125 – 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	40
4.5 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ <i>S. epidermidis</i> ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้น 50 – 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	42
4.6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ <i>Y. enterocolitica</i> ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้น 3.125 – 200 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร	44
4.7 ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของ มะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้น 3.125 – 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการยับยั้งเชื้อ จุลินทรีย์ <i>S. typhimurium</i> DMST 0526	46
4.8 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ <i>B. cereus</i> ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้น 3.125 – 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	48
4.9 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ <i>P. aeruginosa</i> ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้น 3.125 – 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะม่วงหาวมะนาวโห่ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Carissa carandas* Linn. จัดอยู่ในวงศ์ Apocynaceae เช่นเดียวกับ ตระกูลตีนเป็ด ลั่นทม ฯลฯ เป็นพืชสมุนไพรที่พบได้ง่ายและเป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายในภาคกลางของประเทศไทย ซึ่งเดิมมีถิ่นกำเนิดจากประเทศอินเดีย มะม่วงหาวมะนาวโห่มีลักษณะเป็นไม้พุ่ม ยืนต้นสูงประมาณ 2-3 เมตร ตามกิ่งก้านมีหนามค่อนข้างยาวและแหลม ลักษณะใบเป็นใบเดี่ยว รูปไข่รี ปลายโค้งมน ขอบเรียบ ดอกเล็กสีขาวออกเป็นช่อ ผลมีรูปร่างกลมและรี ในระยะแรกจะมีผลสีขาว แล้วค่อยเปลี่ยนเป็นสีแดงอมชมพู ให้รสชาติเปรี้ยว เมื่อสุกเต็มที่จะมีผลสีดำ ให้รสชาติหวานเล็กน้อย (จุฑามาสและคณะ, 2556)

ปัจจุบันคนส่วนใหญ่นิยมปลูกมะม่วงหาวมะนาวโห่มากขึ้น เนื่องจากทุกส่วนของพืช มีสรรพคุณทางด้านยาหลายด้าน โดยเฉพาะเนื้อผลที่เต็มไปด้วยสารแอนโทไซยานินปริมาณสูง รวมถึงอุดมไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุหลายชนิด โดยสารเหล่านี้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี อาทิเช่น ช่วยต้านเซลล์มะเร็ง ป้องกันการเสื่อมสภาพของเซลล์ ลดไขมันในเส้นเลือด บรรเทาอาการท้องเสีย ช่วยขับพยาธิ เสริมภูมิคุ้มกันต้านทาน บรรเทาอาการโรคเบาหวาน อาการร้อนใน กลากเกลื่อน เป็นต้น (ดาลัย, 2551)

ดังนั้นการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ จึงเป็นหัวข้อที่น่าสนใจอีกหัวข้อหนึ่ง เนื่องจากมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ทางคณะผู้ศึกษานี้ได้เห็นถึงคุณประโยชน์ของมะม่วงหาวมะนาวโห่ จึงได้นำส่วนใบ เนื้อผล และเมล็ด มาใช้ในการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ พืชเคมีบางชนิดและยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาและลดความเสี่ยงของโรคในอนาคตได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาหาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบของมะม่วงหาวมะนาวโห่
- 2) เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ
- 3) เพื่อศึกษาพืชเคมีบางชนิดที่มีอยู่ในมะม่วงหาวมะนาวโห่ ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ สารประกอบแทนนิน และสารประกอบแอนโทไซยานิน
- 4) เพื่อศึกษาเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบส่วนใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่เก็บตัวอย่างมาจากไร่สุขวิมลไพศาล อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ในช่วงปลายเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2559 ในการสกัดสารจะใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศแบบเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมุน (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิและภายใต้ความดันตามมาตรฐานของการระเหยตัวทำละลาย เอทานอล รวมทั้งศึกษาหาความเข้มข้นของสารสกัดที่น้อยที่สุดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (minimum inhibitory concentration; MIC) โดยใช้สารสกัดจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ มาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 6 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228, *Bacillus cereus* TISTR 678, *Escherichia coli* ATCC 25299, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Yersinia enterocolitica* และ *Salmonella typhimurium* DMST 0526 หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH วิเคราะห์หาปริมาณสารแทนนิน วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ วิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในด้านทางการแพทย์ต่อไป
- 2) สารพฤกษเคมีจากส่วนต่างๆของมะม่วงหาวมะนาวโห่สามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้อง
- 3) ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในด้านทางการแพทย์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มะม่วงหาวมะนาวโห่

มะม่วงหาวมะนาวโห่หรือหนามแดง (Bengal Currants) เป็นพืชสมุนไพรไทยชื่อแปลกอีกชนิดหนึ่งที่มีประโยชน์และสรรพคุณที่หลากหลาย โดยที่มะม่วงหาวมะนาวโห่ จัดเป็นผลไม้ประเภทรับประทานผลสุก มีรสชาติเปรี้ยวเฉพาะตัว ผลสุกสีแดงขนาดเล็ก คล้ายกับมะเขือเทศราชินีหรืออู๋งุ่นแดง ประโยชน์ของมะม่วงหาวมะนาวโห่ไม่ได้มีเพียงแค่การรับประทานผลสุกเท่านั้น ทุกส่วนของลำต้นสามารถใช้ประโยชน์ได้ทั้งสิ้นในรูปแบบของสมุนไพรรักษาโรค (ดาลัย, 2551)

มะม่วงหาวมะนาวโห่ มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Carissa carandas* เป็นพันธุ์ไม้พุ่ม จัดแบ่งหมวดหมู่ตามหลักอนุกรมวิธานได้ดังนี้ (Sunil และคณะ, 2013)

อาณาจักร: Plantae

ดิวิชั่น: Magnoliophyta

ชั้น: Magnoliopsida

อันดับ: Gentianales

วงศ์: Apocynaceae

สกุล: *Carissa*

สปีชีส์: *carandas*

มีชื่อสามัญว่า Bengal Currants, Christ's thorn, Karanda และมีชื่อท้องถิ่น ไทยตามภาคต่างๆ เช่น

ภาคกลาง และทั่วไป : มะม่วงหาวมะนาวโห่ มะม่วงไม่รู้หาวมะนาวไม่รู้โห่ หนามแดง
มะนาวไม่รู้โห่

ภาคเหนือ : หนามขี้แฮด

ภาคใต้ : มะนาวโห่

2.1.1 ลักษณะทางพรรณพฤกษศาสตร์

ลำต้น ลำต้นมะม่วงหาวมะนาวโห่ เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงประมาณ 2 -5 เมตร เปลือกลำต้นสีน้ำตาลเข้ม เมื่อใช้มีดสับจะมียางสีขาวไหลออกมา ลำต้นแตกกิ่งจำนวนมาก และมีหนามแหลมคม ยาวประมาณ 2 นิ้ว กระจายทั่วไป

ใบ แทงออกเป็นใบเดี่ยว แทงออกตรงข้ามกันบนกิ่ง ใบมีรูปทรงไข่ และป้อม สีเขียวเข้ม โคนใบมน ปลายใบโค้งหยักเข้าตรงกลาง ใบกว้างประมาณ 2 - 4 ซม. ยาวประมาณ 4 - 8 ซม. แผ่นใบและขอบใบเรียบ แผ่นใบเกลี้ยง และเป็นมัน ท้องใบมีสีจางกว่าด้านบน และมีเส้นใบมองเห็นได้ชัดเจน

ดอก ดอกมะม่วงหาวมะนาวโห่ แทงออกเป็นช่อบริเวณซอกใบตามปลายกิ่ง มีก้านชูดอกสีแดงเข้มมีกลีบรองดอก กลีบดอกมี 5 กลีบ สีขาวอมชมพู ยาวประมาณ 1 ซม. โคนกลีบเชื่อมติดกัน ปลายกลีบแยกออก และมีรูปทรงกรวย ภายในดอกประกอบด้วยเกสรตัวผู้ 5 อัน และเกสรตัวเมีย 1 อัน ส่วนด้านล่างสุดเป็นรังไข่ที่จะเจริญต่อมาเป็นผล

ผล และเมล็ด ผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีรูปร่างกลม และรี ขนาดผลประมาณ 1 - 1.5 ซม.ยาวประมาณ 2 - 4 ซม. ผลอ่อนมีเปลือกสีขาว แล้วค่อยเปลี่ยนเป็นสีแดงอมชมพู และเมื่อสุกเต็มที่จะมีสีดำ ส่วนเนื้อผลเมื่อยังดิบจะมีสีขาว และเมื่อสุกเต็มที่จะมีสีแดงอมชมพู เนื้อผลมีลักษณะกรอบแม้เมื่อสุกแล้ว และภายในผลบริเวณตรงกลางจะมีเมล็ดแทรกรวมกันอยู่ 4 - 6 เมล็ด เมล็ดมีรูปร่างแบนมีเปลือกหุ้มเมล็ดสีน้ำตาล

2.1.2 สรรพคุณของมะม่วงหาวมะนาวโห่

ผล ผลมีสารประกอบหลายชนิดที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี ทำให้ช่วยชะลอการเสื่อมสภาพของเซลล์ ผิวพรรณแลดูเต่งตึง ดูอ่อนเยาว์ รวมถึงช่วยชะลอการเสื่อมสภาพของอวัยวะภายในทำให้อวัยวะทำหน้าที่ได้สมบูรณ์ ไม่ป่วยง่าย ช่วยขับสารพิษออกจากร่างกาย และส่งเสริมการทำงานของตับ และไต เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ร่างกายแข็งแรง ไม่ป่วยง่าย สร้างการทำงานของสมองต้านเซลล์มะเร็ง ลดความเสี่ยงการเกิดมะเร็ง กระตุ้นการทำงานของระบบประสาท ทำให้ตื่นตัวอยู่เสมอ แก้อาการเมาเรือ เมาเร็ว รวมถึงอาการเมาค้าง เมาสารเคมี กระตุ้นการหลั่งของน้ำลาย ทำให้ย่อยอาหาร ลดไขมันในเส้นเลือด โดยเฉพาะไขมันคอเลสเตอรอล ป้องกันและลดอาการเลือดออกตามไรฟัน ลดอาการคันคอ อาการคออักเสบ และลดอาการไอ ช่วยขับเสมหะ รักษาแผลในช่องปาก และการติดเชื้อในช่องปาก บรรเทาอาการของโรคเบาหวาน ป้องกัน และลดความเสี่ยงการเป็นโรคโลหิตจาง ช่วยขับปัสสาวะ ลดอาการปัสสาวะเล็ดหรือปัสสาวะออกยาก ลดความเสี่ยงต่อการเป็นอัมพฤกษ์ อัมพาต

น้ำยางจากเปลือก และผล นำมาทารักษาโรคผิวหนังต่างๆ เช่น เกาต์ รักษาแผลสด ทำให้แผลแห้งเร็ว ทาตาปลาตามร่างกาย ช่วยในการผลัดเซลล์ออก

ใบ (นำมาต้มน้ำดื่มหรือบดทาพอกภายนอก) เป็นยาแก้ท้องร่วง แก้อาการปวดหู แก้ไข้แก้เจ็บคอ เจ็บปาก ลดอาการอักเสบภายในลำคอ บรรเทาโรคลมชักไม่ให้เกิดขึ้นถี่ บรรเทาอาการท้องร่วง ท้องเสีย นำใบมาชงก่อนใช้ประคบแผลเพื่อช่วยห้ามเลือด นำมาต้มน้ำอาบ ช่วยป้องกัน และรักษาโรคผื่นคัน รวมถึงโรคผิวหนังจากเชื้อราต่างๆ

เปลือก และเนื้อผลไม้ (นำมาต้มน้ำดื่ม) ใช้ยาบำรุงธาตุ บำรุงร่างกาย ช่วยในการเจริญอาหาร บรรเทาอาการเป็นไข้ ลดอาการเป็นหวัด อาการวิงเวียนศีรษะ อาการร้อนใน ขับพยาธิ นำมาบดหรือฝนสำหรับทาแผลเป็นหนอง แผลติดเชื้อ ช่วยให้แผลหายเร็ว นำมาบดเป็นผง แล้วผสมน้ำเล็กน้อยก่อนทาบริเวณผิวหนังเพื่อลดอาการคัน เป็นผดผื่น นำเปลือกหรือแก่นมาต้มน้ำอาบ ช่วยในการรักษาโรคผิวหนัง ป้องกันการลุกลามของโรคผิวหนัง เช่น กลาก เกาต์ เป็นต้น

ราก (นำมาต้มน้ำดื่ม และอื่นๆ) เป็นยาขับพยาธิ ช่วยบำรุงร่างกาย ทำให้เจริญอาหาร ช่วยในการขับปัสสาวะ บรรเทาอาการท้องเสีย นำมาบดสำหรับทาพอกแก้อาการผื่นคัน

2.1.3 ประโยชน์มะม่วงหาวมะนาวโห่

มะม่วงหาวมะนาวโห่ เป็นผลไม้ที่อุดมด้วยธาตุเหล็กและมีส่วนผสมของวิตามินซี (Vitamin C) อยู่มาก มีการใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับผู้ขาดวิตามินซี ดังผู้ป่วยเป็นโรคเลือดออกตามไรฟัน และบางครั้งสำหรับผู้ป่วยเป็นโรคโลหิตจาง (anaemia) ก็สามารถนำผลที่สุกแล้วมาทานได้ ซึ่งจะมีรสเปรี้ยว หรือว่าเหมาะสำหรับทำผักดอง ผลในช่วงที่ออกเยอะจะทานหรือว่าใช้ไม่ทัน ก็สามารถนำมาทำให้แห้งแล้วเก็บไว้ได้เหมือนกับกระเจี๊ยบ ซึ่งผลแห้งนั้นจะมีเพคติน (Pectin) และสามารถบดเป็นผง ใช้เป็นส่วนผสมของอาหารที่ให้ความเป็นเยื่อใย สามารถเป็นส่วนของอาหารพวกเยลลี่ (Jelly) แยม (Jam) น้ำเชื่อม (Syrup) และเครื่องปรุงเติมในอาหารให้ได้รับรสชาติที่ดี ผลสดเมื่อเอกลากรนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เด็ดจากต้น จะคายยางสีขาวออกมา คนที่จะนำไปบริโภคควรทำให้สุกก่อนจะดีหรือจะปล่อยให้คาย
ยางออกมาจนแห้งดีก่อนเพื่อลดผลจากยางที่ยังไม่สุก (ดาสัต, 2551)

2.1.4 สารเคมีที่พบในมะม่วงหาวมะนาวโห่

ผล เป็นพวกโปรตีน (เช่น alanine, glycine, glutamine) คาร์โบไฮเดรต ฟลาโวนอยด์
ไตรเทอร์ปีนส์ สารจำพวกแอนโทไซยานินจำนวนมาก ได้แก่ cyanidin-3-O-rhamnoside,
pelargonidin-3-O-glucoside และ cyanidin-3-O-glucoside (Rajeshkannan และคณะ, 2010)

ลำต้นและราก เป็นพวกลิกแนน

ใบ เป็นพวกไตรเทอร์ปีนส์ สเตียรอยด์

2.1.5 รงควัตถุที่พืชใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสง

รงควัตถุที่พืชใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสง สารที่ดูดแสง (visible light) ได้เรียกว่า “รงควัตถุ
(pigments)” รงควัตถุ สารที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของแสงที่ส่องผ่านหรือสะท้อนอันเนื่องมาจาก
สมบัติการดูดกลืนแสงของสารนั้น เช่น เมื่อแสงส่องมายังคลอโรฟิลล์ เฉพาะแสงสีเขียวที่ส่องผ่านมายัง
ตาเนื่องจากคลอโรฟิลล์ดูดกลืนแสงสีอื่นๆ ใน visible light ยกเว้นแสงสีเขียว สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดที่
สังเคราะห์ด้วยแสงได้ มีรงควัตถุอยู่หลายประเภท ซึ่งเราได้พบว่า พืชและสาหร่ายสีเขียวมีคลอโรฟิลล์
2 ชนิดคือ คลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี นอกจากคลอโรฟิลล์แล้วยังมีแคโรทีนอยด์ และพบว่า
สาหร่ายบางชนิดมีไฟโคบิลิคลอโรฟิลล์ เป็นสารรงควัตถุสีเขียวอยู่ภายในเม็ดคลอโรพลาสต์ เป็นสาร
จำพวกโปรตีนชนิดหนึ่งไม่ละลายน้ำแต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น แอลกอฮอล์ เฮกเซน
เป็นต้น ทำหน้าที่ดูดพลังงานแสงเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง พืชสร้างคลอโรฟิลล์
จากโปรตีนและแร่ธาตุต่างๆ เช่น แมกนีเซียม (Mg) เหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) เป็นต้น แต่
คลอโรฟิลล์ไม่ได้เป็นรงควัตถุชนิดเดียวที่อยู่ในใบไม้ ยังมีรงควัตถุชนิดอื่นๆ อีกที่ช่วยเก็บเกี่ยวพลังงาน
แสง (accessory absorber) เช่น แคโรทีน (Carotene) ที่มีสีเหลืองและสีส้ม และแอนโทไซยานิน
(Anthocyanin) ที่มีสีแดงและสีม่วง ในฤดูร้อนจะถูกสีเขียวของคลอโรฟิลล์บดบังไว้หมด แต่เนื่องจาก
แคโรทีนและแอนโทไซยานินมีความเสถียรมากกว่าคลอโรฟิลล์ จึงสลายตัวได้น้อยกว่าคลอโรฟิลล์มาก
เมื่อเข้าสู่ฤดูหนาวและพืชไม่สามารถสร้างคลอโรฟิลล์ขึ้นมาทดแทน ทำให้คลอโรฟิลล์สลายตัวไป
สีเขียวก็จะจางลง เผยให้เห็นสีเหลือง สีส้ม สีแดงและสีม่วงของแคโรทีนและแอนโทไซยานินที่ซ่อน
เอาไว้ เราจึงเห็นใบไม้หลากหลายสีกันในฤดูใบไม้ร่วง จนกระทั่งรงควัตถุทั้งสองสลายตัวไปหมด
คงเหลือไว้แต่เพียงเส้นใยเซลลูโลสและลุดร่วลงสู่พื้นดินสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดที่สังเคราะห์แสงได้มีสาร
สีอยู่หลายประเภท ซึ่งเราได้พบว่า พืชและสาหร่ายสีเขียวมีคลอโรฟิลล์ 2 ชนิด คือ คลอโรฟิลล์ เอ
และคลอโรฟิลล์ บี นอกจากคลอโรฟิลล์แล้วยังมีแคโรทีนอยด์ และพบว่าสาหร่ายบางชนิดมีไฟโคบิ
ลินแคโรทีนอยด์เป็นสารประกอบประเภทไขมัน ซึ่งประกอบไปด้วยสาร 2 ชนิด คือ แคโรทีนเป็นสารสี
แดง หรือสีส้ม และแซนโทฟิลล์ เป็นสารสีเหลืองหรือสีน้ำตาล แคโรทีนอยด์มีอยู่ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด
ไฟโคบิลินมีในสาหร่ายสีแดงและไซยาโนแบคทีเรีย ซึ่งไฟโคบิลิน ประกอบด้วยไฟโคอีริทริน ซึ่งดูดแสง
สีเหลืองและเขียว และไฟโคไซยานินที่ดูดแสงสีเหลืองและสีส้ม สารเหล่านี้ทำหน้าที่รับพลังงานแสง
แล้วส่งต่อให้คลอโรฟิลล์ เอ ที่เป็นศูนย์กลางปฏิกิริยาของระบบแสงอีกต่อหนึ่ง กลุ่มสารสีที่ทำหน้าที่
รับพลังงานแล้วส่งต่ออีกทีให้คลอโรฟิลล์ เอ ซึ่งเป็นศูนย์กลางของปฏิกิริยาเรียกว่า แอนเทนนา ที่
สังเคราะห์ด้วยแสงได้ในพืชชั้นสูงพบว่าสารสีเหล่านี้อยู่ในคลอโรพลาสต์ (Yoshikazu และคณะ,
2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร

การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปการสกัดเบื้องต้นไม่ว่าจะสกัดด้วยวิธีการใดหรือใช้ตัวทำละลายใด ก็จะต้องประกอบเป็นของผสมหรือสารสกัดอย่างหยาบ (crude extract) ซึ่งเป็นสิ่งที่สกัดออกมาจากสมุนไพรโดยใช้น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย (solvent) สารสกัดอย่างหยาบนี้เป็นของผสมขององค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรซึ่งจะมีทั้งองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (pharmacologically active constituents) ซึ่งมักเรียกว่า สารสำคัญ (active constituents) และองค์ประกอบที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (pharmacologically inactive constituents) ซึ่งเรียกว่า สารเฉื่อย (inert substances) ชนิดและสัดส่วนขององค์ประกอบในสารสกัดจะแปรเปลี่ยนไปตามสภาพของสมุนไพรที่ใช้ในการสกัด วัตถุประสงค์ของการสกัดพืชสมุนไพร

1. เพื่อสกัดแยกเอาสารสำคัญออกจากสมุนไพร
2. เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นของสารสำคัญสูง
3. เพื่อลดขนาด (dose) ของการใช้สมุนไพรลงให้อยู่ในปริมาณที่เหมาะสม

2.2.1 น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย

ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการเตรียมสารสกัด ได้แก่ น้ำ (water), แอลกอฮอล์ (alcohol) หรือ สารละลายผสมของสารละลายทั้ง 2 ชนิด นอกจากนี้อาจใช้กรด ต่างเติมลงในน้ำยาสกัดเพื่อปรับความเป็นกรด-ด่างของน้ำยาสกัดให้เหมาะสมยิ่งขึ้น ส่วนสารละลายชนิดอื่นๆ เช่น อีเทอร์ (ether) คลอโรฟอร์ม (chloroform) มีใช้บางเฉพาะกรณี

น้ำ จัดเป็นตัวทำละลายที่ดี หาง่ายและราคาถูก แต่การใช้น้ำยาอย่างเดียวนั้นเป็นตัวทำละลายในการสกัดพืชสมุนไพรมีข้อเสียหลายประการ คือ สามารถละลายองค์ประกอบที่ไม่ต้องการออกมาได้มาก เช่นเดียวกับสารสำคัญที่ต้องการ สารเฉื่อยที่ละลายออกมากับน้ำ เช่น น้ำตาล, แป้ง ส่วนเป็นอาหารที่ดีของเชื้อจุลินทรีย์ จึงทำให้เกิดการบูดเสียของสารสกัดเนื่องจากจุลินทรีย์ได้ ถ้าไม่ใส่สารกันบูด (preservative) นอกจากนี้น้ำระเหยได้ที่อุณหภูมิสูง ถ้าต้องการทำให้สารสกัดในน้ำเข้มข้นจะต้องใช้อุณหภูมิสูงในการระเหยไล่ไอน้ำออกไป ซึ่งอาจเกิดความเสียหายกับสารสำคัญได้ จึงไม่ค่อยนิยมใช้น้ำเดี่ยวๆ เป็นน้ำยาสกัด แต่ใช้ร่วมกับตัวทำละลายอื่นๆ เช่น แอลกอฮอล์หรือกรด หากเติมกรดเล็กน้อยลงในน้ำ (acidified water) ใช้สกัดองค์ประกอบสำคัญในพืชสมุนไพรที่มีองค์ประกอบสำคัญเป็นสารประกอบแอลคาลอยด์ ส่วนน้ำที่เติมด่างลงไปเล็กน้อย (alkalised water) จะสกัดพืชสมุนไพรบางชนิด เช่น เปลือกคาสคารา (Cascara bark) เป็นต้น

แอลกอฮอล์ จัดเป็นตัวทำละลายที่ดีมากเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำ แอลกอฮอล์มีข้อดีกว่าดังนี้

1. มีความจำเพาะ (selectivity) ในการละลายมากกว่าน้ำ
2. มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
3. หากต้องการทำให้สารสกัดเข้มข้นจะระเหยได้ง่าย แต่ราคาของแอลกอฮอล์จะแพงกว่าน้ำ

น้ำยาผสมแอลกอฮอล์ (hydroalcoholic mixture) เป็นน้ำยาสกัดที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากสามารถละลายสารสำคัญในพืชสมุนไพรได้ใกล้เคียงกับแอลกอฮอล์ แต่ราคาถูกกว่า และยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้อีกด้วย นอกจากนี้ การใช้น้ำยาผสมแอลกอฮอล์ยังช่วยป้องกันการแยกตัวของสารต่างๆ ในสารสกัดเมื่อตั้งทิ้งไว้ ซึ่งมักเกิดขึ้นในกรณีที่ใช้ น้ำยาอย่างเดียวนในการสกัด

นอกจากนี้ยาสกัดต่างๆ ที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ตัวทำละลายอินทรีย์ก็อาจใช้ในการสกัดพืชสมุนไพรได้ เช่น เฮกเซน (hexane) และปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) ใช้สกัดพืชสมุนไพรในขั้นต้นเพื่อขจัดสารพวกไขมันออกไปก่อนที่จะทำการสกัดสารสำคัญ แต่ต้องระเหยเอาน้ำยาสกัดเหล่านี้ออกไปจนหมดก่อนทำการสกัดขั้นต่อไป ตัวทำละลายเหล่านี้นิยมใช้สารสกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้ว (non polar component) เช่น ไขมัน (lipids), สเตียรอยด์ (steroids), เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) เป็นต้น

คลอโรฟอร์ม (chloroform) และอีเทอร์ (ether) จัดเป็นตัวทำละลายที่มีขั้ว (polarity) ปานกลาง ใช้สกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้ว (non-polar component) ไปจนถึงสารที่มีขั้วปานกลาง

เมทานอล (methanol) เป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญที่มีขั้ว (polar active constituent) เช่นเดียวกับแอลกอฮอล์ แต่นิยมใช้แอลกอฮอล์มากกว่า เพราะราคาถูกกว่า และมีความเป็นพิษน้อยกว่า

2.2.2 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

สารสกัดอย่างหยาบที่ได้จะมีปริมาณมากและเจือจาง ทำให้นำไปแยกองค์ประกอบได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นเสียก่อนด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้

1. การระเหย (free evaporation) เป็นการนำตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัด โดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (water bath) หรือแผ่นความร้อน (hot plate) วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้เนื่องจากอุณหภูมิสูงเกินไป และหากใช้สารละลายอินทรีย์ (organic solvent) ในการสกัด การระเหยโดยให้ความร้อนโดยตรง (direct heat) บนแผ่นความร้อน อาจเกิดอันตรายได้ง่าย นอกจากนี้ควรคำนึงถึงอุณหภูมิที่จะทำให้เกิดการสลายตัวของสารสำคัญ เมื่อใช้ความร้อน

2. การกลั่นในภาวะสุญญากาศ (distillation in vacuo) จัดเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดโดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ พร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) เครื่องมือนี้เรียกว่า เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator รูปที่ 2.1) ซึ่งประกอบด้วยส่วนต่างๆ 3 ส่วน คือ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบที่จะกลั่น (distillation flask) ส่วนคอนเดนเซอร์หรือส่วนควบแน่นไอสารละลาย (condenser) และภาชนะรองรับสารละลายหลังการกลั่น (receiving flask) โดยสารสกัดอย่างหยาบซึ่งบรรจุในภาชนะจะแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิได้และจะหมุน (rotate) ตลอดเวลาทำงาน เพื่อให้มีการกระจายความร้อนอย่างทั่วถึงและสม่ำเสมอ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบนี้จะต่อเข้ากับส่วนควบแน่น ซึ่งมีระบบทำความเย็นหล่ออยู่ตลอดเวลา ปลายของส่วนควบแน่นจะมีภาชนะรองรับ โดยทั้งระบบจะต่อเข้ากับระบบสุญญากาศ สารละลายที่ระเหยออกจากภาชนะบรรจุจะควบแน่นที่บริเวณคอนเดนเซอร์และหยดลงมาในภาชนะรองรับสารละลายหลังจากกลั่น ซึ่งสารละลายดังกล่าวสามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์และนำกลับมาใช้ใหม่ได้

3. การทำให้แห้ง (drying) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดจนแห้งได้สารสกัดออกมาในสภาพของแข็งหรือกึ่งของแข็ง มีหลายวิธี เช่น การใช้ความเย็น (lyophilizer หรือ freeze dryer) หรือการใช้ความร้อน (spray dryer)

4. อัลตราฟิวเทรชัน (ultrafiltration) เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (membrane) ใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) สูงกว่า 5,000 (รัตนาน, 2550)



รูปที่ 2.1 เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน

ที่มา : <http://thumbs3.ebaystatic.com/d/l225/m/mVRensbHLXOobT6ndWT71xw.jpg>

(สืบค้นวันที่ 21 มีนาคม 2560)

2.3 การทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ

The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้กำหนดวิธีการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพเป็นวิธีมาตรฐานไว้ โดยมีขั้นตอนที่ชัดเจนตามชนิดของเชื้อ (รวมถึงเชื้อดื้อยาที่เป็นปัญหา) อาหารเลี้ยงเชื้อ ความหนาของอาหารเลี้ยงเชื้อ การเตรียมเชื้อในการทดสอบ อุณหภูมิ เวลา และสถานะในการบ่ม เพาะเชื้อ ตลอดจนการอ่านและแปลผล ดังนั้นห้องปฏิบัติการต้องปฏิบัติตามแบบแผนอย่าง ถูกต้องทุกขั้นตอน จึงจะทำให้ผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพเชื่อถือได้และทำให้การ อ่านและแปลผลถูกต้อง

MIC (minimal inhibitory concentration)

เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ หน่วยที่ใช้โดยทั่วไป คือ ไมโครกรัม (μg) ต่อมิลลิลิตร (mL) หรือหน่วยสากล (IU, international unit) ต่อมิลลิลิตร ค่า MIC นี้สามารถนำมาใช้เป็นค่าเปรียบเทียบเพื่อดูความไวของเชื้อหนึ่งๆ ต่อยาต้านจุลชีพหลายๆ ชนิดหรือความไวของเชื้อหลายๆ ชนิดต่อยาหนึ่งๆ และรวมทั้งเพื่อประเมินค่าอื่นที่เกี่ยวข้องกับยาหรือแปลผลของยาต่อเชื้อ ในการทดสอบเพื่อหาค่า MIC ยาควรได้รับการเจือจางให้มีความเข้มข้นลดลงทุก 2 เท่าไปเรื่อยๆ (2-fold serial dilution)

MLC (minimal lethal concentration)

เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถฆ่าทำลายเชื้อ (หรือมีเชื้อเจริญไม่เกินกำหนด) หากเชื้อทดสอบเป็นแบคทีเรีย อาจใช้คำที่จำเพาะเจาะจงกว่าคือ MBC (minimal bactericidal concentration) แต่ถ้าเป็นรา อาจใช้คำว่า MFC (minimal fungicidal concentration)

ยาต้านจุลชีพที่มีวิธีการออกฤทธิ์เป็นชนิดฆ่าทำลาย (microbicidal) จะมีค่า MIC และ MLC เหมือนเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือใกล้เคียงกัน (ไม่เกินหนึ่งหรือสองความเข้มข้น; $MLC/MIC \leq 4$) ยกเว้นแบคทีเรียบางชนิดที่ถูกวิธีทดสอบความไวของเชื้อต่อยามียหลายวิธี หากเชื้อทดสอบเป็นแบคทีเรียและรา สามารถทำได้ทั้งในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (broth medium) และอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (agar medium)

2.3.1 วิธีทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ

วิธีหลักอยู่ 2 รูปแบบ คือ (1) dilution susceptibility test และ (2) agar diffusion test

1. Dilution susceptibility test

Broth dilution method เป็นการทดสอบหาความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ โดยวิธีนี้เป็นวิธีละเอียดวิธีหนึ่ง การทดสอบนี้จะทำให้ทราบทั้ง MIC (Minimum Inhibitory Concentration) และ MBC (Minimum Bactericidal Concentration) ของยาปฏิชีวนะนั้นๆ กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบ หลักการโดยทั่วไปของวิธีนี้คือ เลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวซึ่งมียาปฏิชีวนะในปริมาณต่างๆกันผสมอยู่และสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อในอาหารที่เลี้ยงเชื้อซึ่งมียาปฏิชีวนะในปริมาณต่างๆกัน ค่าความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่เชื้อไม่เจริญ ถือว่าเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ MIC (Minimum Inhibitory Concentration) การหาค่า MBC ทำได้โดยนำ broth จากหลอดที่ดูแล้วว่าไม่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง ตรวจสอบผลการเจริญเติบโตของเชื้อ ค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของยาปฏิชีวนะซึ่งสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ให้ลดลงไม่น้อยกว่าร้อยละ 99.9 ถือว่าเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (MBC)

2. Agar diffusion test

วิธีที่ใช้แพร่หลายมากที่สุด คือ Disk diffusion method (Kirby-Bauer) เนื่องจากสะดวก ประหยัด และใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่นๆ ผลที่ได้มีค่าสอดคล้องกับค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ (minimum inhibitory concentration : MIC และ เป็นข้อมูลเบื้องต้นแก่แพทย์ในการเลือกใช้ยารักษาผู้ป่วย

Disk diffusion method (อิสยาและวัชรินทร์, 2553) มีหลักการคือ สารต้านจุลชีพจำนวนแน่นอนจะแพร่ออกจากแผ่นกระดาษกรอง (filter paper disk) ครอบคลุมทุกทิศทาง เพื่อไปยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงบนผิวหน้าอาหารแข็ง ความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพสูงสุดจะอยู่ใกล้แผ่นกระดาษ และลดลงตามระยะห่างจากแผ่นกระดาษ โดยสารต้านจุลชีพที่มีน้ำหนัก

โมเลกุลขนาดใหญ่จะเคลื่อนที่ช้ากว่าสารต้านจุลชีพที่มีน้ำหนักโมเลกุลขนาดเล็ก หลังจากบ่มเชื้อในสภาวะที่เหมาะสมแล้ว จะนำจานอาหารออกมาตรวจวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงกลมใสรอบแผ่นกระดาษที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียถูกยับยั้งการเจริญ (inhibition zone) เป็นหน่วยมิลลิเมตร ปัจจัยที่มีผลต่อการทดสอบ disk diffusion test

1. อาหารทดสอบ (test medium) อาหารมาตรฐานสำหรับทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพของแบคทีเรียคือ Mueller Hinton agar (MHA) ที่มีพีเอชเป็นกลางอยู่ระหว่าง 7.2 - 7.4 และมีการควบคุมปริมาณอ็อกซิเจนประจุ เนื่องจากพีเอชและสารดังกล่าวจะมีผลต่อฤทธิ์ของสารต้าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลชีพบางชนิด ความหนาของอาหารอยู่ที่ระดับ 4 มิลลิเมตร เตรียมโดยใช้อาหารปริมาตร 25 มิลลิลิตร ในจานอาหาร

2. ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย (inoculum size) การเตรียมแบคทีเรียสามารถทำได้ 2 วิธีคือ การเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวและบ่มเป็นเวลา 3 - 5 ชั่วโมง (growth method) เพื่อให้เชื้ออยู่ในระยะ log phase หรือเขี่ยเชื้อจากโคโลนีที่มีอายุ 16 - 24 ชั่วโมง มาแขวงในน้ำเกลือปกติ (direct colony suspension) และนำเชื้อที่เตรียมได้ทั้งสองวิธีมาปรับเทียบความขุ่นให้เท่ากับ 0.5 McFarland standard (เตรียมโดยใช้แบเรียมคลอไรด์ร้อยละ 1.175 จำนวน 0.5 มิลลิลิตร+กรดซัลฟิวริกร้อยละ 1 จำนวน 99.5 มิลลิลิตร) ด้วยตาเปล่าหรือใช้เครื่องวัดความขุ่นของแบคทีเรีย (Bench-top nephelometer) เพื่อให้ได้เชื้อประมาณ 1.5×10^8 colony forming unit/ml (CFU/ml) และนำมาใช้ภายใน 15 นาที

3. วิธีเพาะเชื้อและการบ่มเชื้อ โดยจุ่มไม้พันสำลีปราศจากเชื้อในน้ำเกลือปกติที่มีความขุ่นของเชื้อเท่ากับ 0.5 McFarland standard บิดสำลีกับผนังหลอดอาหารให้หมดและป้ายถึงขอบผิวหน้าอาหาร MHA 3 ระบาย แต่ระบายทำมุมกันประมาณ 60 องศา เพื่อให้แบคทีเรียกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ จากนั้นวางแผ่นสารต้านจุลชีพไม่เกิน 12 แผ่นต่อจานอาหารที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 150 มิลลิเมตร แต่ไม่เกิน 6 แผ่นต่อจานอาหาร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร เพื่อป้องกันการทับซ้อนของวงใสที่เชื้อถูกยับยั้งการเจริญ การวางแผ่นสารต้านจุลชีพสามารถใช้เครื่องมือ multiple disk dispenser ที่สามารถวางแผ่นสารต้านจุลชีพได้ถึง 12 แผ่น หรือใช้ปากคีบ (forceps) ปราศจากเชื้อคีบแผ่นสารต้านจุลชีพจากหลอดครั้งละ 1 แผ่น วางลงบนผิวหน้าอาหารแล้วกดเบาๆ เพื่อให้ติดแน่นกับผิวหน้าอาหาร นำจานอาหารไปบ่มในตู้บ่มเชื้อชนิดบรรยากาศปกติ ภายในเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 - 24 ชั่วโมง ในกรณีที่ต้องการทดสอบเชื้อที่ต้องการก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเจริญเติบโต เช่น *S. pneumoniae*, *H. influenzae* และ *N. gonorrhoeae* จะต้องบ่มในตู้ชนิดควบคุมปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (ร้อยละ 5) หรือใน candle jar เท่านั้น

4. แผ่นสารต้านจุลชีพ (antimicrobial disk) มีลักษณะเป็นแผ่นกระดาษทรงรูปกลมสีขาว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ระบายเยื่อบนแผ่นสารต้านจุลชีพประกอบด้วย ชื่อย่อและปริมาณยา (disk content) เช่น AM 10 หมายความว่า แผ่นสารต้านจุลชีพนี้มียาแอมพิซิลลินปริมาณ 10 ไมโครกรัม เพราะปัจจุบันมีบริษัทผลิตและจัดจำหน่ายแผ่นสารต้านจุลชีพในเชิงการค้า ได้แก่ Difco, BBL และ Oxoid เป็นต้น โดยบรรจุแผ่นสารต้านจุลชีพในหลอดพลาสติก (vial) หลอดละ 50 แผ่น และมีสารดูดความชื้น พร้อมกับบรรจุวันหมดอายุไว้ที่ข้างหลอด

Agar well diffusion method เป็นวิธีที่ใช้แพร่หลายมากที่สุดเนื่องจากสะดวก ประหยัด และใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่น ๆ วิธีนี้เป็นการทดสอบในเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลได้ว่าเชื้อมีความไวต่อการทดสอบหรือไม่ ไม่เหมาะในการทดสอบเชื้อที่เจริญช้าและเชื้อแอนแอโรบ (anaerobe) โดยจะไม่ทราบค่า MIC หรือ MBC ได้ หลักการทั่วไปคือ การเจาะอาหารและเติมยาปฏิชีวนะทำให้ยาเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้กระจายเชื้อในจำนวนที่เหมาะสมไว้แล้วนำไปเพาะเลี้ยงให้เชื้อเจริญเติบโต อ่านผลการทดสอบโดยการวัดขนาดของ zone of inhibition ซึ่งจะเห็นเป็นวงใสรอบหลุม (ประสาทพร และคณะ, 2551)

2.4 สารอนุมูลอิสระ

2.4.1 นิยามและความหมายของสารอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radical หรือ oxidant) คือ โมเลกุล หรือ ไอออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอกเป็น โมเลกุลที่ไม่เสถียรและมีความว่องไวต่อการอนุมูลอิสระกลุ่มที่ไวต่อการทำปฏิกิริยาเป็นอย่างมากคือกลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น ไฮดรอกซิล ($^{\cdot}\text{OH}$) เพอรอกซิล (ROO^{\cdot}) อัลคอกซิล (RO^{\cdot}) ซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ($\text{O}_2^{\cdot-}$) เกิดปฏิกิริยาเคมีในลักษณะเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ที่อยู่รอบข้าง ในทันทีที่ถูกสร้างขึ้น ส่งผลให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ภายในร่างกาย ไม่ว่าจะเป็นการทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ (DNA) การเปลี่ยนสภาพโปรตีนและไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ หรือการสร้างพันธะโควาเลนต์ (covalent bond) กับโปรตีนหรือเอนไซม์บางชนิดจนทำให้การทำงานของโปรตีนหรือเอนไซม์เหล่านั้นผิดปกติ (Ames และคณะ, 1993) เป็นสาเหตุสำคัญของโรคหลายชนิดอนุมูลอิสระเกิดจากผลพลอยได้จากการใช้ออกซิเจนของกระบวนการเมตาบอลิซึม (metabolism) ของเซลล์ รวมทั้งปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ได้แก่ มลพิษ การติดเชื้อโรค รังสียูวี (UV-ray) โอโซน (ozone) คิวโนนจากท่อไอเสีย รถยนต์ และควันทูบหรี่

2.4.2 ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ

ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระจัดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (Free radical chain reaction) ซึ่งมีกลไกในการเกิดปฏิกิริยา 3 ขั้นตอน (โอบา, 2549) คือ

1. Initiation step ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์ มักเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการสลายพันธะด้วยน้ำ (Hydrolysis) แสง (Photolysis) รังสี (Radiolysis) หรือปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox reaction) นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์อื่นๆ อีกหลายชนิดที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในเซลล์ รวมถึงโมเลกุลที่มีความไวสูงในการทำปฏิกิริยา เช่น nitric oxide (NO) และ singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) ซึ่งหมายถึงออกซิเจนในสถานะที่ถูกกระตุ้น (Excited state) สิ่งเหล่านี้ล้วนทำให้เกิดขั้นตอนอินิทิเอชันของปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ ดังเช่น สมการที่ 1

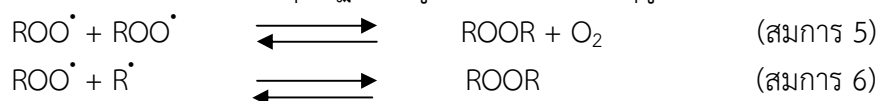


2. Propagation step อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในขั้นตอนอินิทิเอชันจะดำเนินปฏิกิริยาต่อไปในขั้นตอนโพรพาเกชันโดยเกิดปฏิกิริยาขึ้น 2 ทาง คือ โดยการดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลข้างเคียง หรือโดยการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเจนที่อยู่ในสถานะ ground state ทำให้ได้อนุมูลอิสระตัวใหม่ ดังสมการที่ 2 - 4



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Termination step ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น 2 อนุมูลมารวมกันได้ เป็นสารที่มีความเสถียรจึงเป็นการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ ดังสมการที่ 5 และ 6



2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ

2.5.1 นิยามและความหมายของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือสารปริมาณน้อยที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระได้ (Halliwell, 2009) สารเหล่านี้มี กลไกในการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ เช่น ตักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับกับโลหะ เพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ (Sies, 1991) สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารประกอบที่ทนต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในเซลล์ (Chattopadhyay และคณะ, 2008) โดยทั่วไป สารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในธรรมชาติจากสารหลายชนิด เช่น สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) สารประกอบไนโตรเจน (nitrogen compounds) และแคโรทีนอยด์ (Velioglu และคณะ, 1998) บทบาทสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระคือ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆของมนุษย์

โดยทั่วไปสารต้านอนุมูลอิสระแบ่งเป็น 5 ประเภทใหญ่ๆ ดังนี้ (อัญชญา, 2545)

1. Primary antioxidant สารในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ทำหน้าที่หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน นอกจากนี้ยังรวมถึงสารโทโคฟีโนลธรรมชาติและสังเคราะห์ (Natural and synthetic tocopherol) alkyl gallate BHA BHT TBHQ และอื่นๆ ซึ่งสารในกลุ่มดังกล่าวทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอน

2. Oxygen scavenger สารในกลุ่มนี้ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก หรือวิตามินซี เป็นต้น สารในกลุ่มนี้จะเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจน จึงเป็นการช่วยกำจัดออกซิเจนในระบบปิดได้

3. Secondary antioxidant สารในกลุ่มนี้ได้แก่ dialcyl thiopropionate และ thiopropionic acid ทำหน้าที่สลายโมเลกุลของ lipid hydroperoxide ให้เป็นสารที่มีความเสถียร

4. Enzymic antioxidant สารในกลุ่มนี้ได้แก่ เอนไซม์ต่างๆ ซึ่งแบ่งเป็น primary antioxidant enzyme และ auxiliary antioxidant enzyme สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่กำจัดออกซิเจนหรืออนุพันธ์ของออกซิเจน โดยเฉพาะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

5. Chelating agent หรือ sequestrant สารในกลุ่มนี้เช่น กรดซิตริก กรดอะมิโน เป็นต้น สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ไปจับกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก และทองแดง ซึ่งไอออนเหล่านี้เป็นไอออนที่ส่งเสริม และเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียร

2.5.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay

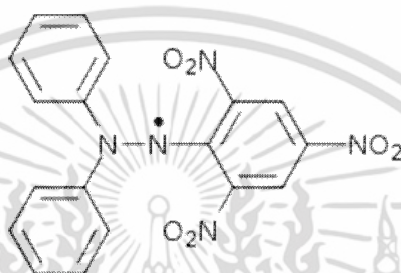
DPPH assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ซึ่งใช้ reagent คือ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl เป็น stable radical ในตัวทำละลาย methanol ซึ่งสารละลายนี้มีสีม่วง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรเมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอล (สารที่ให้อิเล็กตรอน) จะทำให้สีม่วงจางลง ๆ จนเป็นสีเหลือง เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ตั้งสมการ) ซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ทำให้สามารถหาการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูตรคำนวณได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงจากการใส่ตัวอย่างเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น (ก่อนใส่สารตัวอย่าง) (Brand-William และคณะ, 1995; Gil และคณะ, 2002) ดังนี้



$$\text{DPPH radical scavenging (\%)} = [(A_0 - A_s) / A_0] \times 100$$

โดย A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น และ A_s = ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากเติมสารตัวอย่าง



รูปที่ 2.2 สูตรโครงสร้างของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH radical)

ที่มา : <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/d9132?lang=en®ion=TH> (สืบค้นวันที่ 21 มีนาคม 2560)

2.6 สารประกอบฟีนอลิก

2.6.1 นิยามและความหมายของสารประกอบฟีนอลิก

ทฤษฎีสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compounds) เป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป มีคุณสมบัติเป็นสารอินทรีย์ที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็น Aromatic Ring ที่มีจำนวน Hydroxyl Group อย่างน้อย 1 หมู่ในโมเลกุลสามารถละลายน้ำได้ นอกจากนี้ยังรวมไปถึงอนุพันธ์ของสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีการแทนที่ด้วยหมู่เคมีต่างๆ ตัวอย่างสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ Flavonoids, Lignin, Abscisic Acid, Cinnamic Acid, Caffeic Acid, Chlorogenic Acid, Tyrosine

คุณสมบัติที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบันของสารประกอบฟีนอลิก คือการเป็นสารต้านออกซิเดชัน และสารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagens) ซึ่งเกิดจากอนุมูลอิสระ (free radical) และการใช้สารประกอบฟีนอลในการป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือดและมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอลจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็วดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

2.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลรวม (Total phenolic compounds)

วิธี Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งอาศัยการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของโมลิบโดทังสเตตไอออนรีเอเจนต์ประกอบด้วยโซเดียมทังสเตต (Sodium tungstate) โซเดียมโพลิบเดต (Sodium polybdate) เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่เชิงพาณิชย์ การค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid) และโซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงของไอออน Mo(VI) ซึ่งมีสีเหลือง เมื่อได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป Mo(V) ซึ่งมีสีน้ำเงินวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร และรายงานค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมในรูปของมิลลิกรัมของกรดแกลลิก (Velioğlu และคณะ, 1998)

2.7 วิตามินอี (Vitamin E)

วิตามินอี (Vitamin E, Tocopherol) เป็นเป็นสารชีวโมเลกุลที่พบมากในพืช และสัตว์ทุกชนิด จัดเป็นสารสำคัญที่มีสรรพคุณในหลายด้าน อาทิ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน และช่วยป้องกันโรคต่างๆ อาทิ โรคความดันเลือด โรคไต โรคกระเพาะ และโรคหลอดเลือดตีบ เป็นต้น

วิตามินอี เป็นแอลกอฮอล์ไม่อิ่มตัว มีสถานะเป็นของเหลว (น้ำมันสีเหลือง) ละลายได้ดีในไขมัน ทนต่อสภาพความร้อน และกรดได้ดี แต่เสื่อมสภาพได้ง่ายเมื่อถูกด่าง แสงแดด รังสีอัลตราไวโอเล็ต และเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อสัมผัสกับอากาศ ซึ่งจะทำให้เกิดการเหม็นหืน โดยมีชนิด Alpha - tocopherol เป็นชนิดที่สำคัญที่สุดเนื่องจากพบมากที่สุด และต้านอนุมูลอิสระได้ดี



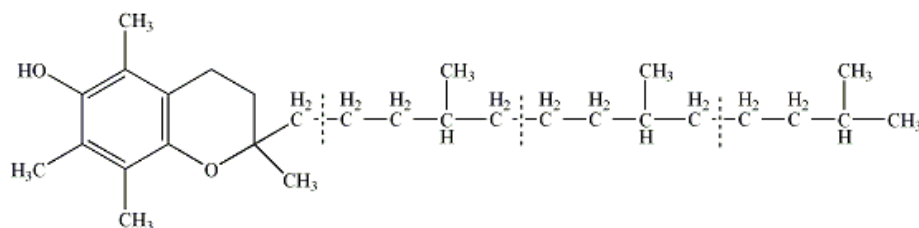
รูปที่ 2.3 วิตามินอี

ที่มา : <http://www.siamchemi.com/วิตามินอี>
(สืบค้นวันที่ 21 มีนาคม 2560)

2.7.1 โครงสร้างวิตามินอี

โครงสร้างโมเลกุลของวิตามินอีประกอบด้วยส่วนที่มีหัวของวงแหวนโครแมน (chroman ring) ซึ่งเป็นส่วนหัวที่เป็นส่วนที่ออกฤทธิ์เป็น antioxidant และส่วนหางของ tocopherol เป็นหมู่ที่แทนที่ด้านข้างด้วยส่วนที่ไม่มีหัวจากหมู่ phytyl group ในขณะที่ส่วนหางของ tocotrienol เป็น polyisoprenoid group ส่วนหางนี้ ทำหน้าที่ฝังตัว และยึดเหนี่ยวกับสารไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์ และแกนของ lipoprotein แต่ละชนิดมีความแตกต่างกันที่จำนวน และตำแหน่งของหมู่เมทิล (methyl group, -CH₃) ในวงแหวนโครแมน ตำแหน่งคาร์บอนที่ 5, 7 และ 8 (Wolf R. และคณะ, 1998.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



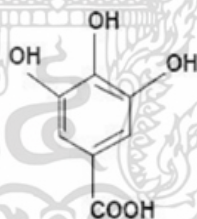
รูปที่ 2.4 โครงสร้างพันธะทางเคมีของวิตามินอี (α - Tocopherol)

ที่มา : <http://www.siamchemi.com/วิตามินอี>

(สืบค้นวันที่ 21 มีนาคม 2560)

2.8 กรดแกลลิก

กรดแกลลิก เป็นกรดอินทรีย์มีโครงสร้างทางเคมี ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยป้องกันเซลล์จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation reaction) ช่วยป้องกันเซลล์จากความเครียดเมื่ออายุมากขึ้น ซึ่งช่วยลดโรคหัวใจและโรคมะเร็งในผู้สูงอายุ โดยสามารถพบได้ในอาหาร เช่น บลูเบอร์รี่ แอปเปิ้ล ใบบัว วอลนัท โดยผลไม้ตระกูลเบอร์รี่นั้นจัดว่ามีปริมาณกรดแกลลิกมากโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผลราสเบอร์รี่สีแดงและพบว่าในพืชที่ถูกตัดแปลงพันธุกรรมจะมีปริมาณกรดแกลลิกสูงขึ้น โดยการตัดแปลงพันธุกรรมจะช่วยป้องกันไม่ให้เกิดเชื้อราในผัก อย่างเช่น วอลนัททำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดแกลลิกในวอลนัท (Pulugurtha, 2011; Tremblay, 2011)



รูปที่ 2.5 โครงสร้างทางเคมีของกรดแกลลิก

ที่มา : <http://www.themodernemalmer.com/tannin.html>

(สืบค้นวันที่ 21 มีนาคม 2560)

2.9 แอนโทไซยานิน

2.9.1 นิยามและความหมายของแอนโทไซยานิน

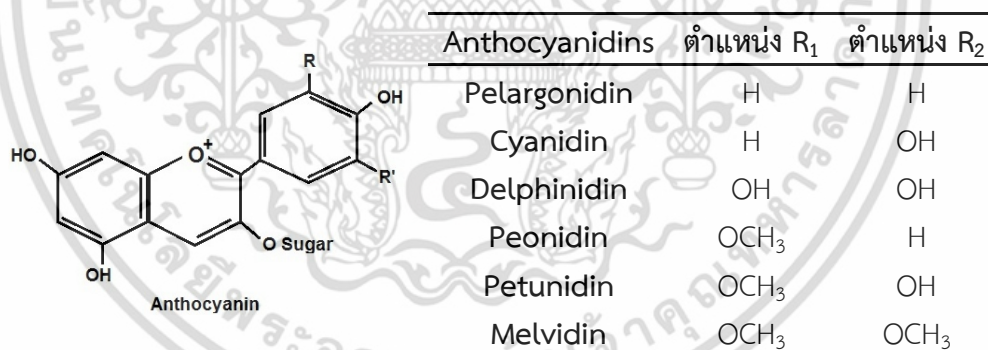
แอนโทไซยานิน (anthocyanins) มีชื่อย่อมาจากรากศัพท์เดิมของกรีกคือ anthos แปลว่า ดอกไม้ และ Kyanos แปลว่า สีน้ำเงิน แอนโทไซยานินจึงหมายถึง ดอกไม้สีน้ำเงิน แอนโทไซยานิน เป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำ ได้ (water-soluble pigments) จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-ด่าง โดยมีสีน้ำเงินเข้มในสภาวะที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นด่าง (pH มากกว่า 7) มีสีม่วงเมื่อเป็นกลาง (pH 7) และจะเปลี่ยนเป็นสีแดงส้มในสภาวะที่เป็นกรด (pH น้อยกว่า 7) สามารถพบแอนโทไซยานินได้ทั่วไปใน แวคิวโอลและเซลล์เนื้อผลเยื่อชั้นนอกของดอก ผล และใบของพืชดอก (angiosperms) ยกเว้นในพืชพวก ตะบองเพชร ผักกาดหัว ผักโขม และพืชพวกสาหร่าย บางครั้งปรากฏในส่วนเนื้อผลเยื่อพืช (plant tissue) ได้แก่ ราก หัวใต้ดินของพืช (tuber) ลำต้น หน่อย่อย (blbil) และพืชเมล็ดเปลือย (gymnosperms) ต่างๆ เช่น เฟิร์นและไบโอฟิต (bryophytes) นอกจากนี้แอนโทไซยานินจะทำให้ดอกไม้มีสีสันสวยงามแล้วยังช่วยป้องกันพืชไม่ให้เกิดอันตรายจากสิ่งแวดล้อมและแมลงต่างๆ แอนโทไซยานินจากธรรมชาติสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม และผลิตภัณฑ์อื่นๆ ได้หลายชนิดแต่ที่ได้รับความนิยมมากในปัจจุบันคือ คุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) จึงมีแนวโน้มนำมาประยุกต์ใช้ในด้านสุขภาพและความงามโดยช่วยลดการเกิดริ้วรอยของผิวจากรังสียูวีและมลภาวะ อีกทั้งช่วยป้องกันเซลล์เส้นผมไม่ให้อ่อนแอ และทำให้เส้นผมเงางามแข็งแรง

2.9.2 โครงสร้างแอนโทไซยานิน

ประกอบด้วย สารประกอบ 2 หรือ 3 ชนิด ได้แก่ ชนิดที่ 1 คือ แอนโทไซยานิดิน หรือ อะไกลโคโคน (Aglycone) โครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานิดินนั้น ประกอบด้วย คาร์บอน 6 อะตอม คาร์บอน 3 อะตอม คาร์บอน 6 อะตอม (C-6-C-3-C-6) เชื่อมต่อกันดังภาพที่ 1 ซึ่งแอนโทไซยานิดินที่พบมากในปัจจุบันจะมีอยู่ 6 ชนิด คือ เพลาโกนินิดิน (Pelargonidin), ไชยานิดิน (Cyanidin), เดลฟินิดิน (Delphinidin), พีโอนิดิน (Peonidin), เพทูนิดิน (Petunidin) และมอลวิดิดิน (Malvidin) ซึ่งจะแตกต่างกันตรงตำแหน่ง 3' หรือ 5' ว่ามีหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl) หรือเมธอกซิล (Methoxyl) ดังภาพ



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของแอนโทไซยานิดิน

ที่มา : <http://ejournals.swu.ac.th/index.php/SWUJournal/article/view/1826>

(สืบค้นวันที่ 21 มีนาคม 2560)

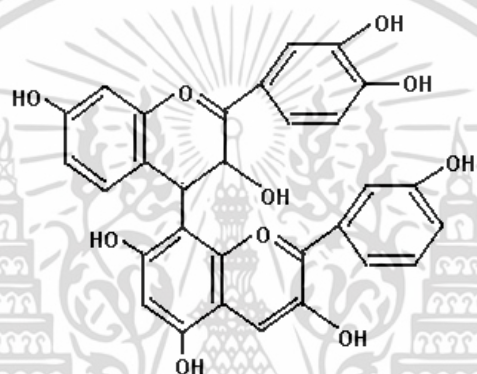
ชนิดที่ 2 คือ น้ำตาล ซึ่งน้ำตาลจะเกิดพันธะกับคาร์บอน ตำแหน่งที่ 3 หรือตำแหน่งที่ 3 และ 5 โดยน้ำตาลที่เกิดพันธะได้ เช่น น้ำตาลกลูโคส (Glucose) น้ำตาลกาแลคโตส (Galactose) น้ำตาลรูทีโนส (Rutinose) น้ำตาลแรมนโนส (Rhamnose) เป็นต้น และชนิดที่ 3 คือ กรด ซึ่งส่วนนี้อาจมีหรือไม่มี ถ้าแอนโทไซยานินมีกรดเป็นองค์ประกอบจะเรียกว่า นอนอะซิลเลตเทต แอนโทไซยานิน (Non acylated anthocyanin) แต่ถ้าไม่มีกรดเป็นองค์ประกอบจะเรียกว่า อะซิลเลตเทต แอนโทไซยานิน (Acylated anthocyanin) โดยกรดจะเกิดการเอสเทอร์ฟิเคชัน (Esterification) กับน้ำตาลที่จับกับ Carbon

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นใบเซอร์viceขอขุดลอกการกษา
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตำแหน่งที่ 3 และหรือตำแหน่งที่ 5 กรดที่เกิดพันธะเอสเทอร์กับน้ำตาล เช่น กรดคูมาริก (Coumaric acid), กรดเฟอร์รูริก (Ferulic acid), กรดคาร์แฟอิก (Caffeic acid) เป็นต้น ซึ่งการเกิดเอซิลชัน (Acylation) ในโครงสร้างของแอนโทไซยานินจะทำให้ตัวแอนโทไซยานินชนิดนั้นมีความคงตัวดีขึ้น (Mazza G., 1993)

2.10 แทนนิน

แทนนิน (Tannin) เป็นสารที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมไม้อัด ไม้แปรรูป นิยมนำมาใช้มาก สำหรับการผลิตกาวสำหรับเกาะยึดไม้ รวมถึงมีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ อย่างกว้างขวาง อาทิ อุตสาหกรรมฟอกหนัง อาหาร ยา และอื่นๆ



รูปที่ 2.7 โครงสร้างแทนนิน

ที่มา : <http://www.siamchemi.com/แทนนิน/>
(สืบค้นวันที่ 21 มีนาคม 2560)

2.10.1 นิยามและความหมายของแทนนิน

แทนนินถูกค้นพบครั้งแรกเมื่อ ค.ศ. 1796 เรียกว่า tannare ที่มาจากภาษาลาติน แปลว่า เปลือกต้นโอ๊ก เป็นสารประกอบจำพวกโพลีฟีนอล (polyphenol) ที่ละลายได้ในน้ำ และแอลกอฮอล์ ให้สีเหลืองหรือสีน้ำตาล มีน้ำหนักโมเลกุล 500-3000 ดาลตัน มีโครงสร้างสลับซับซ้อน และแตกต่างกันในแต่ละชนิดพืช แทนนินทั่วไปจะมีสีเหลืองหรือน้ำตาล มีรสขม ฝาด พบได้ในพืชทุกชนิดในส่วนของเปลือก ใบ ผล ซึ่งพบปริมาณมากในเปลือกไม้

2.10.2 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของแทนนิน

ส่วนมากไม่สามารถตกผลึกได้ แต่สามารถตกตะกอนได้กับสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต กรดโครมิก แทนนินมีรสฝาด จับตัวกับโปรตีนของหนังสัตว์ได้ดี สามารถละลายได้ในน้ำ แอลกอฮอล์ อะซิโตน ไม่ละลายในอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม ทำปฏิกิริยากับเกลือของเหล็กได้สารประกอบสีน้ำเงินหรือสีเขียว ในสารละลายที่มีคุณสมบัติเป็นด่าง แทนนินจะดูดซับออกซิเจนเปลี่ยนสารละลายเป็นสีคล้ำขึ้น ทำปฏิกิริยากับสารละลายโพแทสเซียมเพอริคไซยานิด และแอมโมเนียเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 ผงแทนนิน

ที่มา : <http://www.siamchemi.com/แทนนิน/>

(สืบค้นวันที่ 21 มีนาคม 2560)

ชนิดของแทนนิน

1. ไฮโดรไลเซเบอ แทนนิน (Hydrolyzable tannins) เป็นชนิดของแทนนินที่ประกอบด้วยโครงสร้างของสาร 2 กลุ่ม คือ ส่วนที่เป็นน้ำตาล ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส และสารประกอบโพลีออล ส่วนที่เป็นกรดฟีนอลิก ได้แก่ กรดแกลลิก, กรดเฮกซะไฮดรอกซีไดฟีนิค และอนุพันธ์ของ HHDP ทั้งนี้องค์ประกอบส่วนใหญ่จะพบส่วนกรดฟีนอลมากกว่าน้ำตาล แบ่งออกเป็นชนิดย่อยได้ 2 ชนิด คือ

1. แกลโลแทนนิน (Gallotannins) เป็นสารที่ประกอบด้วยกรดแกลลิกเชื่อมต่อกับน้ำตาลด้วยพันธะเอสเทอร์ เมื่อสลายตัวจะได้กรดแกลลิก และน้ำตาลกลูโคส พบในพืช ได้แก่ โกศน้ำเต้า กานพลู กุหลาบแดง และเหลือก 2. แอลลาจิกแทนนิน (Ellagitannins) เป็นชนิดที่ประกอบด้วยโครงสร้างของกรดเฮกซะไฮดรอกซีไดฟีนิค เช่น กรดชิบิวลิก และกรดไฮโดรเฮกซะไฮดรอกซีไดฟีนิคที่รวมอยู่กับน้ำตาลแอลลาจิกแทนนิน เมื่อสลายตัวจะได้กรดเฮกซะไฮดรอกซีไดฟีนิค และเกิดปฏิกิริยาที่ได้กรดแอลลาจิกตามมา พบได้ในพืช เช่น ผลทับทิม ผลสมอไทย ต้นโศก ต้นยูคาลิปตัส เป็นต้น

2. คอนเดนเซต แทนนิน (Condensed tannins) เป็นสารประกอบโพลีฟีนอล (polyphenol) ที่มีความซับซ้อน มีสภาพความคงตัวสูง สลายตัวด้วยน้ำยากกว่าชนิดไฮโดรไลเซเบอแทนนิน พบได้ในกลุ่มพืชอบเชย, ชินโคนา, หลิว, โอค, โกโก้ และใบชา

ประโยชน์แทนนิน

1. ใช้สำหรับเป็นสารฟอกหนังสัตว์ ทำให้โปรตีนตกตะกอน ทำให้หนังสัตว์อ่อนนุ่ม ช่วยเคลือบติดหนังสัตว์ทำให้ไม่เน่าเปื่อย ป้องกันเชื้อจุลินทรีย์

2. ใช้เป็นส่วนผสมของยาภายใน และภายนอก อาทิ ยารักษาโรคเบาหวานเพื่อช่วยควบคุมสมดุลการหลั่งฮอร์โมนจากตับอ่อน รวมถึงใช้เป็นส่วนผสมในยาถ่ายพยาธิ, ยาแก้ท้องเสีย และท้องเดิน ส่วนยาใช้ภายนอกมักใช้เป็นส่วนผสมของยารักษา และสมานแผลช่วยให้เส้นเลือดหดตัว ป้องกันการสูญเสีย น้ำของแผล โดยเฉพาะแผลที่โดนไฟไหม้ น้ำร้อนลวกจะช่วยให้แผลหายได้เร็ว

3. ใช้ผสมยาลดกรดเพื่อแต่งรส รวมถึงมีฤทธิ์ช่วยลดกรดได้ด้วย

4. ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม อาทิ เบียร์ ไวน์ ชา และกาแฟ เพื่อให้มีสีใส และมีรสขม ผาด

การป้องกันการเหม็นหืน การป้องกัน และต้านเชื้อแบคทีเรียในอาหาร ป้องกันการเน่าเสีย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารเสริม ช่วยต้านอนุมูลอิสระ และลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเส้นเลือด
6. ใช้เคลือบยา อาหารหรืออาหารเสริมในรูปของส่วนผสมหรือแคปซูลสำหรับป้องกันการย่อยด้วยบริเวณกระเพาะอาหารเพื่อให้ถูกดูดกลืนบริเวณลำไส้มากที่สุด
7. ใช้แทนนินเป็นสารจับกับโปรตีน และไอออนของโลหะในกระบวนการผลิตอาหาร เครื่องดื่มเพื่อกำจัดกลิ่น รสที่ไม่ต้องการ และตกตะกอนโลหะที่เจือปน
8. ใช้สำหรับผลิตกาวไม้อัด เช่น การใช้โปรแอนโทไซยานินแทนนินแทนสารฟีนอลสังเคราะห์ในการผลิตไม้อัด
9. ใช้แทนนินจับกับเกลือของเหล็ก ได้สารประกอบสีน้ำเงินสำหรับผลิตเป็นหมึกพิมพ์ สี และสีย้อม
10. ใช้แทนนินทำปฏิกิริยากับเจลาตินสำหรับใช้เคลือบอาหารบางชนิด เช่น เนื้อผลสัตว์ เพื่อยืดอายุการเก็บให้นานขึ้น
11. ใช้สำหรับการย้อมแห อวน เชือก เพื่อให้เกิดสีเหลืองหรือน้ำตาล และทำให้มีความทนทานต่อสภาพความเป็นกรด และการผุพัง

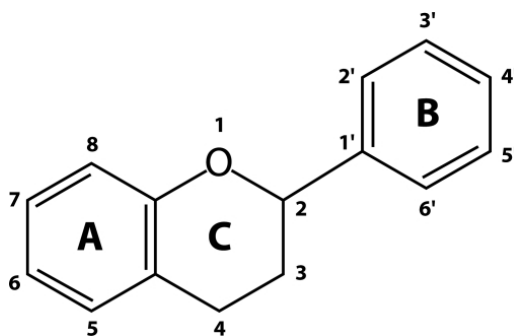
การสกัดแทนนิน

1. การใช้น้ำ และแอลกอฮอล์หรือตัวทำละลายอื่นๆ
2. การสกัดด้วยวิธีสมัยใหม่
 - 2.1 Supercritical fluid extraction
 - 2.2 Vortical extraction
 - 2.3 extraction by electrical energy

พืชของแทนนิน สามารถรวมตัวกับโปรตีน และทำปฏิกิริยากับกรดหรือเอนไซม์ได้ดี หากร่างกายได้รับแทนนินในระบบทางเดินอาหารมาากๆจะมีผลทำให้ท้องอืด ท้องผูก อาหารไม่ย่อย มีอาการคล้ายการดื่มชา (ประกร, 2553)

2.11 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)

ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (Hertog และคณะ, 1992) และเป็นกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบในพืชซึ่งมีมากกว่า 8,000 ชนิดในธรรมชาติ โดยฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วย 15 คาร์บอนจัดเรียงโครงสร้างกันด้วย C₆-C₃-C₆ ซึ่งประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก A และ B ซึ่งวงแหวน B ถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายทำให้เกิดการเปิดของวงแหวนที่อะตอมออกซิเจน (Havsteen, 1983) และเชื่อมต่อกันด้วยวงแหวนออกซิเจนเฮเทอโรไซคลิก (heterocyclic ring) C ซึ่งโครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์สามารถแสดงได้ดังนี้



รูปที่ 2.9 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์

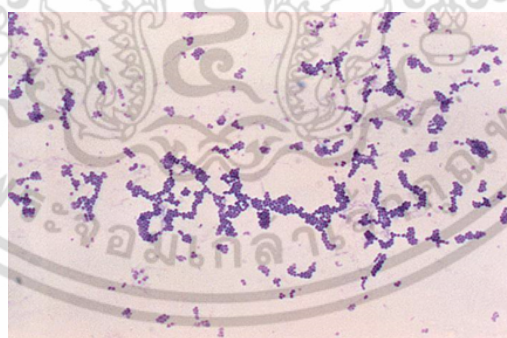
ที่มา : Farkas และคณะ (2004)

(สืบค้นวันที่ 21 มีนาคม 2560)

รูปแบบการจัดเรียงตัวที่หลากหลายของวงแหวน C (heterocyclic benzopyran) ทำให้ฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งย่อยออกเป็นกลุ่มหลักๆ คือ ฟลาโวนอล (flavonols), ฟลาโวน (flavones), ฟลาวาโนน (flavanonols), ฟลาวานอล (flavanols หรือ catechins), ไอโซฟลาโวน (isoflavones), ฟลาวาโนนอล (flavanonols) และแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) (Balasundram และคณะ, 2006)

2.12 เชื้อแบคทีเรีย

2.12.1 *Staphylococcus epidermidis*



รูปที่ 2.10 *Staphylococcus epidermidis*

ที่มา : http://faculty.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanua/lab6/images/Sepiderm01_scale.jpg

(สืบค้นวันที่ 21 มีนาคม 2560)

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม ขนาด 0.5-1.5 ไมโครเมตร อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ลักษณะโคโลนีขนาดเล็ก สีขาว สามารถเจริญได้ทั้งภาวะที่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นแบคทีเรียที่พบได้บ่อยที่สุดในกลุ่ม *Staphylococcus* ที่ไม่สร้าง coagulase นอกจากนั้นยังไม่สามารถสร้างแอลฟาไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ออกซิน (α -toxin), เอกซ์โฟลิวเอติน (exfoliatin) และซูเปอร์แอนติเจนที่ออกซิน (superantigen toxins) ได้ *Staphylococcus epidermidis* พบเป็นเชื้อประจำถิ่น (normal flora) ที่ผิวหนัง โพรงจมูก รูหูและทางเดินปัสสาวะส่วนปลาย ในอดีตไม่ค่อยเป็นสาเหตุของการติดเชื้อ แต่เนื่องจากการใช้ catheters และ prosthesis กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น จึงพบว่ามีผลสำคัญในการก่อการติดเชื้อในโรงพยาบาลมากขึ้น (ภัทรชัย, 2549)

2.12.2 *Bacillus cereus*

คือแบคทีเรีย (bacteria) ในกลุ่ม *Bacillus* ซึ่งเป็นชนิดที่ทำให้เกิดโรค (pathogen) ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) สร้างสปอร์ (spore forming bacteria) เจริญได้ในที่มีอากาศ (aerobic bacteria) หรือสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobic bacteria) บางสายพันธุ์สร้างแคปซูลได้ และบางสปีชีส์เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลา สามารถสร้างสารพิษ (toxin) ที่ทนต่อความร้อนได้ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง ในร่างกายมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 28-37 องศาเซลเซียส ไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส และสูงกว่า 55 องศาเซลเซียส



รูปที่ 2.11 *Bacillus cereus* (spore forming bacteria)

ที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com/uploaded/bacillus%20cereus.jpg>

(สืบค้นวันที่ 21 มีนาคม 2560)

พบทั่วไปในธรรมชาติในดิน น้ำเชื้อสร้างสปอร์ซึ่งทนความแห้งแล้งได้ดี สปอร์จึงพบได้ทั่วไปในฝุ่น ครัน และ ปะปนมากับอาหารแห้ง เช่น น้ำตาล วัตถุเจือปนอาหาร เครื่องเทศ และพบบ่อยในอาหารกลุ่ม แป้ง เมล็ดธัญชาติ (cereal grain) เช่น ข้าวหุงสุก เส้นก๋วยเตี๋ยว พาสต้า อาหารกึ่งสำเร็จรูป เช่น ข้าวกึ่งสำเร็จรูป (ภัทรชัย, 2549)

2.12.3 *Salmonella* spp.

ลักษณะของเชื้อ เป็นแบคทีเรียลักษณะรูปท่อน เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลารอบเซลล์ เป็นแบคทีเรียต้องการออกซิเจน เจริญได้ดีที่อุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 37 องศา ช่วง pH 4.1-9.0, ปริมาณน้ำอิสระในอาหารที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเติบโต (A_w) ประมาณ 0.93-0.95



รูปที่ 2.12 *Salmonella* spp.

ที่มา : http://4.bp.blogspot.com/_9tDQLoihz18/TIJ8ygVdZ-I/AAAAAAAAAoE/8PTVklrIjfs/s1600/salmonella_T.jpg
(สืบค้นวันที่ 21 มีนาคม 2560)

อันตรายของเชื้อซาลโมเนลลาเป็นแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเป็นพิษที่เรียกว่า Salmonellosis เมื่อร่างกายรับเชื้อ เชื้อโรคจะมุ่งเข้าสู่เซลล์น้ำเหลืองของลำไส้เล็ก และจะเจริญแบ่งตัวที่นั่น (ยังไม่มีอาการ เป็นระยะฟักตัว) เชื้อแพร่เข้าสู่กระแสเลือดกระจายสู่ส่วนต่างๆ ของร่างกาย เริ่มแสดงอาการอาการจะเกิดขึ้นหลังบริโภคประมาณ 6-48 ชั่วโมง มีอาการอยู่ในระหว่าง 1-5 วัน อาการทั่วไป ซีพจรเต้นช้ากว่าปกติ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องเดิน ปวดศรีษะ ปวดท้อง มีไข้ หนาวสั่น และอ่อนเพลีย ผู้ป่วยที่เสียชีวิตด้วยโรคนี้น่าเนื่องจากเลือดออกในลำไส้เล็ก และลำไส้ทะลุ โรคที่เกิดจากเชื้อซาลโมเนลลาที่สำคัญได้แก่ โรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis) โรคโลหิตเป็นพิษ (Septicemia) และไข้ไทฟอยด์ (Typhoid Fever) (ภทรชัย, 2549)

2.12.4 *Yersinia enterocolitica*

Yersinia enterocolitica อาจเขียนย่อว่า *Y. enterocolitica* คือแบคทีเรียก่อโรค (pathogen) ชนิดหนึ่งอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae ย้อมติดสีแกรมลบ (Gram negative bacteria) มีลักษณะเป็นท่อนสั้น (rod-shaped) มีขนาดเล็ก ขนาดประมาณ 0.5 - 0.8 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์



รูปที่ 2.13 *Yersinia enterocolitica*

ที่มา : <http://odpc3.ddc.moph.go.th/DataCenter/outbreak2/agent-information.php?idagg=14>(สืบค้นวันที่ 21 มีนาคม 2560)

แหล่งที่พบ *Yersinia enterocolitica* พบบ่อยในสัตว์เลี้ยง โดยมีหมูเป็นแหล่งแพร่เชื้อสู่คน และยังพบในทางเดินอาหารของสัตว์ต่างๆ เช่น หมู สุนัข แมว นก หนู หมัดหนู รวมทั้ง สัตว์ป่า กระรอกและมักพบในแหล่งน้ำธรรมชาติ เช่น ห้วย หนอง บึง ทะเลสาบ น้ำอุปโภค บริโภคที่มีการปนเปื้อนจากสิ่งปฏิกูล

Yersinia enterocolitica เป็นอันตรายทางชีวภาพ (biological hazard) เป็นสาเหตุของโรคที่มีอาหารเป็นสื่อ (foodborne disease) คือโรคเยอซินิโอซิส (Yersiniosis) มักพบในประเทศเขตหนาวปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรค (infective dose) คือ 10⁴ เซลล์เมื่อผ่านเข้าสู่ทางเดินอาหาร จะเพิ่มจำนวนในลำไส้ ทำให้เกิดโรคเยอซินิโอซิส ซึ่งเกิดจากสารพิษ enterotoxin ที่ทนต่อความร้อน เรียกว่า *Yersinia enterocolitica* heat stable toxin (YEST) มีอาการกระเพาะและลำไส้อักเสบ (gastroenteritis) อาการสำคัญคือ ท้องเสีย (diarrhea) อาจมีการอาเจียน (vomiting) มีไข้และปวดท้อง อาการคล้ายไส้ติ่งอักเสบ (appendicitis) ทำให้อาจวินิจฉัยผิดว่าเป็นไส้ติ่งอักเสบ อาจทำให้เกิดการติดเชื้อที่บริเวณอื่น เช่น ผิวหนังมีผื่นแดง และทางเดินปัสสาวะอักเสบ ระยะเกิดอาการคือ 24 ถึง 48 ชั่วโมง หลังรับประทานอาหารหรือเครื่องดื่มที่ปนเปื้อนเชื้อ แต่อาจเกิดขึ้นหลังจากได้รับเชื้อ 3 - 7 วันได้ อาการปวดท้องปานกลาง และปวดท้องเรื้อรังเกิดขึ้นต่อเนื่อง 2-3 วัน ในบางรายอาจเป็นนาน 1-2 สัปดาห์ ส่วนใหญ่ผู้ป่วยจะไม่เสียชีวิตนอกจากมีโรคแทรกซ้อนอื่น ผู้ที่เป็นกลุ่มเสี่ยง คือเด็กทารก คนชรา รวมทั้งผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง (ภัทรชัย, 2549)

2.12.5 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างแท่ง อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือเป็นคู่ ไม่สร้างสปอร์ บางสายพันธุ์สามารถสร้างแคปซูลได้ aerobic เป็นแบคทีเรียในวงศ์ Pseudomonadaceae สามารถเคลื่อนที่ได้โดย flagellum 1 เส้นที่ติดอยู่ตรงหัว ปกติจะพบกระจายในดิน น้ำ ขยะ หรือในพืช และเป็น normal flora ในลำไส้คน *P. aeruginosa* สามารถทำให้เกิดโรคในคนได้ รวมทั้งสัตว์ แมลงและต้นไม้ได้บ้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.14 *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา : <http://i2.cdn.turner.com/cnn/dam/assets/130916171000-multi-drug-resistant-pseudomonas-aeruginosa-horizontal-gallery.jpg>
(สืบค้นวันที่ 21 มีนาคม 2560)

Pseudomonas aeruginosa เป็นเชื้อโรคฉวยโอกาสจะมีการติดเชื้อมักเกิดกับผู้ที่ภูมิคุ้มกันต่ำหรือป่วยมากๆ หรือผู้ป่วยที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาล บางทีจึงเรียกโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *Pseudomonas aeruginosa* ว่าโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล จากผู้ป่วยโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลมีสาเหตุมาจาก *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่ง *Pseudomonas aeruginosa* เป็นสาเหตุอันดับสองในการทำให้เกิดโรคปอดบวมในโรงพยาบาล และเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ในการก่อให้เกิดโรคปอดบวม ในห้อง ICU โรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas aeruginosa* สามารถแพร่กระจายภายในโรงพยาบาลโดยบุคลากร อุปกรณ์การแพทย์ ผิวน้ำ น้ายาฆ่าเชื้อ และอาหาร โรคติดเชื้อนี้เป็นปัญหาที่รุนแรงมากในโรงพยาบาลมากเนื่องจากผู้ป่วยซึ่งมีอาการหนักอยู่แล้วจะเสียชีวิตเนื่องจากโรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* และ *Pseudomonas* ตื้อต่อยาปฏิชีวนะมาก ทำให้ยากต่อการรักษา

Pseudomonas aeruginosa สามารถติดเชื้อมีหลายระบบในร่างกายเนื่องจากมีหลายปัจจัยในการก่อให้เกิด เช่น ความสามารถในการเกาะยึดติดกับเยื่อเมือก ตื้อต่อยาปฏิชีวนะ สร้างโปรตีนที่ฆ่าทำลายเนื้อเยื่อ และมี protective outer coat *Pseudomonas aeruginosa* สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อได้ในหลายส่วนของร่างกาย

หัวใจ และกระแสเลือด *Pseudomonas aeruginosa* เป็นสาเหตุอันดับ 4 ในการก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในกระแสเลือดการติดเชื้อในกระแสเลือดจะเกิดกับผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดและผู้ที่ติดเชื้อในบริเวณอื่นของร่างกาย *Pseudomonas aeruginosa* จะมีการติดเชื้อที่ลิ้นหัวใจในผู้ติดยาที่ฉีดยาเข้าเส้นเลือดดำหรือผู้ที่ใช้ลิ้นหัวใจเทียม

กระดูกและข้อต่อ การติดเชื้อในส่วนนี้อาจเกิดจากการบาดเจ็บหรือมีการแพร่กระจายของเชื้อมาจากเนื้อเยื่ออื่นหรือการติดเชื้อในกระแสเลือด ซึ่งผู้ป่วยโรคเบาหวาน ผู้ติดยาที่ฉีดยาเข้าเส้นเลือดดำ หรือติดเชื้อในกระแสเลือดจะมีความเสี่ยงในการติดเชื้อที่กระดูกและข้อต่อ

ระบบประสาทส่วนกลาง *Pseudomonas aeruginosa* จะทำให้เกิดโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ซึ่งอาจเกิดจากการที่สมองได้รับบาดเจ็บจากการผ่าตัด จากการแพร่กระจายจากส่วนของร่างกาย หรือจากการติดเชื้อในกระแสเลือด

ตาและหู *Pseudomonas aeruginosa* จะก่อให้เกิดการติดเชื้อที่หูส่วนนอกที่เรียกว่า “swimmer’s ear” ซึ่งสามารถหายได้เอง แบคทีเรียจะก่อให้เกิดอาการที่รุนแรงในผู้สูงอายุ ซึ่งเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปสู่ปัญหาด้านการได้ยิน ใบหน้าเป็นอัมพาตหรือเสียชีวิต ส่วนการติดเชื้อที่ตามักเกิดจากการได้รับบาดเจ็บ ซึ่งจะทำให้เกิดรอยแผลเป็นที่กระจกตาซึ่งจะทำให้ตาบอดในที่สุด ปัจจัยที่มีผลในการทำให้เกิดความเสี่ยงในการติดเชื้อที่ตา รวมถึงการใส่ซอฟต์แวร์คอนแทคเลนส์ การใช้ยาตาที่มี corticosteroid มีอาการโคม่า ถูกไฟไหม้รุนแรง หรือรักษาตัวอยู่ในห้อง ICU

ทางเดินปัสสาวะ ติดได้จากการใช้เครื่องทางการแพทย์หรือการผ่าตัด

ปอด ปัจจัยที่มีผลในการทำให้เกิดความเสี่ยงในการติดเชื้อที่ปอดได้แก่ เป็นโรคปอดเรื้อรัง ภูมิคุ้มกันต่ำ ใ้ยาปฏิชีวนะ และผู้ป่วยหัวใจล้มเหลว

ผิวหนังและเนื้อเยื่ออ่อน คนสุขภาพดีก็สามารถติดเชื้อได้ จากการอาบน้ำหรือเล่นน้ำในสระว่ายน้ำ hot tubs ที่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่ ซึ่งโรคติดเชื้อ *Pseudomonas* ที่ผิวหนังนี้มักจะเกิดการสับสนกับโรคอีสุกอีใสและจะเกิดอาการรุนแรงได้กับผู้ที่เชื้อในกระแสเลือดร่วมด้วย *Pseudomonas aeruginosa* เป็นสาเหตุอันดับสองในการก่อให้เกิดโรคติดเชื้อในบาดแผลไฟไหม้ในผู้ป่วยที่พักรักษาตัวที่โรงพยาบาล

เนื่องจาก *Pseudomonas aeruginosa* คือตัวยาปฏิชีวนะ ดังนั้นในการรักษาจึงนิยมให้ยาปฏิชีวนะสองตัวร่วมกัน โรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas* มักรักษาโดยการให้ยาร่วมกัน เช่น ยา ceftazidime, ciprofloxacin imipenem gentamicin tobramycin ticarcillin-clavulonate หรือ piperacillin-tazobactam ให้โดยฉีดเข้าเส้นเลือดดำหรือรับประทาน เป็นเวลา 2- 6 สัปดาห์ ถ้าเป็นการรักษาตาควรจะต้องใ้ยาหยอดตา หรือใช้การผ่าตัด ซึ่งบางครั้งจำเป็นที่จะต้องตัดเนื้อเยื่อส่วนที่ติดเชื้อและถูกทำลายออกไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่สมองอักเสบ ติดเชื้อที่ตา กระจกและข้อต่อ หัวใจหรือบาดแผล

แต่อย่างไรก็ตามโรคติดเชื้อจาก *Pseudomonas aeruginosa* ก็มีอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยสูง โดยเฉพาะจากการติดเชื้อในกระแสเลือด และการติดเชื้อที่ปอด อัตราการเสียชีวิตมีช่วงที่กว้าง โดยผู้ป่วยที่ติดเชื้อที่หูจะมีอัตราการเสียชีวิต 15 – 20 % จนถึงผู้ป่วยที่ติดเชื้อที่หัวใจห้องซ้ายซึ่งมีอัตราการเสียชีวิต 89 % (ภัทรชัย, 2549)

2.12.6 *Escherichia coli*

เชื้ออีโคไล (*Escherichia coli*) เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นท่อน (Gram negative rod) อยู่ในกลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรียซี (Family Enterobacteriaceae) ปกติอาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น พบเป็นจำนวนมากในอุจจาระ แต่ไม่พบในปัสสาวะ ด้วยเหตุนี้ ทำให้อีโคไลมีความสำคัญ ในการตรวจเชื้อเพื่อควบคุมคุณภาพของอาหารและผลิตภัณฑ์ต่างๆ โดยใช้เป็นตัวบ่งชี้ (Indicator) ที่บ่งบอกว่าผลิตภัณฑ์มีการปนเปื้อนของสิ่งปนื้อกหรือไม่มี



รูปที่ 2.15 เซลล์อีโคไลภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ที่มา : <http://www.oshthai.org/attachments/article/130/130.pdf>

(สืบค้นวันที่ 21 มีนาคม 2560)

ในภาวะร่างกายปกติ เชื้ออีโคไลไม่ทำให้เกิดโรค แต่จะก่อให้เกิดโรคได้ในกรณีภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรือในสภาวะที่ร่างกายอ่อนแอ เรียกว่า เชื้อฉวยโอกาส (Opportunistic pathogen) ซึ่งเป็นตัวการสำคัญที่ก่อให้เกิดปัญหาการติดเชื้อในโรงพยาบาล (Secondary infection) นอกเหนือจากกลุ่มที่กล่าวมาข้างต้น กลุ่มผู้ที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อที่สำคัญคือ ผู้ที่ต้องทำงานเกี่ยวข้องกับเชื้อโรคทำให้เกิดการติดเชื้อจากการทำงาน (Occupational infection) ได้แก่ บุคลากรทางการแพทย์ที่สัมผัสกับผู้ป่วยที่ติดเชื้อและผู้ที่ทำงานในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ ซึ่งต้องสัมผัสกับสารคัดหลั่งจากร่างกายผู้ที่ติดเชื้อ เป็นต้น เชื้ออีโคไลทำให้เกิดการติดเชื้อโดยเกาะกับผนังเซลล์ของอวัยวะส่วนต่างๆ เช่น ไต กระเพาะปัสสาวะ และจะสร้างสารช่วยในการยึดเกาะให้เชื้ออยู่ในบริเวณนั้นได้ และจะสร้างสารต่างๆ ออกมาเพื่อทำลายเซลล์ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อขึ้น เชื้ออีโคไลทำให้เกิดกลุ่มอาการที่สำคัญคือ การติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ เยื่อหุ้มสมองอักเสบในทารก และท้องร่วง

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ

เก็บใบ เนื้อผลห่าม และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ โดยเก็บตัวอย่างมาจากไร่สุขวิมลไพศาล อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี เก็บรวบรวมในช่วงปลายเดือนกรกฎาคม ปี พ.ศ. 2559

3.2 เชื้อแบคทีเรีย

<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 1228
<i>Bacillus cereus</i>	TISTR 678
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25299
<i>Salmonella typhimurium</i>	DMST 0526
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	TISTR 781
<i>Yersinia enterocolitica</i>	

3.3 สารเคมี

กรดแทนนิก (Tannic acid, Sigma-Aldrich, china)
 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate, Ajax Finechem Pty Ltd.,Australia)
 โซเดียมคลอไรด์ (Sodium Chloride, Ajax Finechem Pty Ltd.,Australia)
 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide, Ajax Finechem Pty Ltd.,Australia)
 โซเดียมอะซิเตตรต(Sodium Hydroxide, Ajax Finechem Pty Ltd.,Australia)
 อะลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium chloride, Ajax Finechem Pty Ltd.,Australia)
 บัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ (LR grad, Sisco Research Laboratories, India)
 เอทานอล (Ethanol, Avantor Performance Materials, Ins.,USA)
 วิตามินอี (α – tocopherol)
 อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Nutrient agar; NA ยี่ห้อ LAB M
 อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Mueller Hinton Agar; MHA ยี่ห้อ LAB M
 สารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid, 48630, Fluka ,Spain)
 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (DPPH, D9132, Sigma-Aldrich,Germany)
 Folin – Ciocalteu’s reagent (Folin – Ciocalteu’s reagent, Fluka ,Switzerland)
 Folin-Denis (Folin-Denis’ reagent, Fluka, Switzerland)

3.4 อุปกรณ์

ตู้อบลมร้อน (Hot air over) ยี่ห้อ Memmert

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องบดอาหารแห้ง ยี่ห้อ WARING COMMERCIAL
 เครื่องชั่งน้ำหนัก ยี่ห้อ METTLER TOLEDO รุ่น PG803
 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) ยี่ห้อ Memmert
 เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary Evaporator) ยี่ห้อ Heidolph
 ตู้เขี่ยเชื้อ (laminar air flow) MICROTECH ของบริษัท แล็บไมโคร จำกัด
 ชุดกรองสุญญากาศ (vacuum funnel) ยี่ห้อ PALL Life Sciences
 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (autoclave) ยี่ห้อ HIRAYAMA รุ่น HVE-50
 เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (Microplate Reader) ยี่ห้อ FLUOStar Omega
 ไมโครปิเปต ขนาด 2-20, 20-200 และ 100-1000 ไมโครลิตร
 แท่งเจาะรู (Cock borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร
 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectrophotometer) ยี่ห้อ SHIMADZU รุ่น UV-1201V

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 กระบวนการทำสารสกัดหยาบของมะม่วงหาวมะนาวโห่

นำมะม่วงหาวมะนาวโห่มาแยกส่วนใบ เนื้อผลห่าม และเมล็ด มาอบให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส แล้วบดด้วยเครื่องปั่นละเอียดให้เป็นผง จากนั้นห่อด้วยผ้าขาวบาง แข่งลงในเอทานอลร้อยละ 95 โดยใช้อัตราส่วนของผงต่อเอทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 95) 200 กรัมต่อ 1800 มิลลิลิตร ด้วยภาชนะที่ปิดสนิทและเก็บไว้ในที่มืดเป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จึงนำไปกรองด้วยกระดาษ whatman เบอร์ 1 ส่วนที่กรองได้จะนำไประเหยเอาเอทานอลออกด้วย เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความดันอากาศ 175 มิลลิบาร์ จนได้ สารสกัดหยาบชั้นหนืด ใส่ในขวดสีชาพร้อมทั้งหุ้มปากขวดด้วยอะลูมิเนียมฟรอยด์ที่เจาะรูแล้วเก็บไว้ในที่มืด (Khushbu และคณะ, 2015)

3.5.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (DPPH radical scavenging activity)

เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 mM จากนั้นนำสารสกัดหยาบทั้งสามส่วนมาทำการเจือจางด้วยเอทานอลร้อยละ 99.5 แล้วนำสารตัวอย่างของแต่ละส่วนมาหยดลงในไมโครเพลท 96 หลุม ปริมาตร 10 μ l จากนั้นหยดสารละลาย DPPH 190 μ l บ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้วิตามินอี (α -tocopherol) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และเอทานอลเป็นตัวควบคุมเชิงลบ ค่าที่ได้จะนำไปคำนวณหาร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระจากสูตร (Jittawan และคณะ, 2010)

$$\text{DPPH inhibition (\%)} = [(A_0 - A_s)/A_0] \times 100$$

โดย A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น และ A_s = ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากเติมสารตัวอย่าง

3.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

เตรียมสารสกัดหยาบส่วนใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลร้อยละ 99.5 เป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำสารสกัดทั้งสามส่วน ปริมาตร 20 ไมโครลิตร มาหยดในแต่ละหลุมของไมโครเพลท โดยใช้สารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบกำหนดนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรายงานในหน่วยกรัมกรดแกลลิกเปรียบเทียบกับต่อกรัมของสารสกัด (Singleton และคณะ, 1999)

3.5.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ วิเคราะห์ตามวิธีของ (Kathirvel และ Sujatha, 2012) โดยปีเปตสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่แต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตรในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลงไป ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตรและน้ำกลั่นปริมาตร 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของควอซีตินจากนั้นรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของควอซีตินต่อกรัมของสารสกัด (mg quercetin equivalents (QE)/g extract)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของควอซีติน ที่ระดับความเข้มข้น 1 ถึง 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ด้วย วิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตรฐานควอซีตินที่ความเข้มข้นต่างๆ แทนสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ ส่วนแบลนค์ (blank) ใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของสารละลายมาตรฐานควอซีตินที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้ว นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณควอซีตินกับค่าการดูดกลืนแสงของควอซีตินจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่มีในตัวอย่างที่วิเคราะห์

3.5.5 การวิเคราะห์หาปริมาณสารแทนนิน

การวิเคราะห์หาปริมาณสารแทนนินในสารสกัดหยาบจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ จะวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Denis (Kathirvel และ Sujatha, 2012) ทำได้โดยปีเปตสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้นละ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 7.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายฟอลิน-เดนิซ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร พร้อมทั้งผสมให้เข้ากัน จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น แล้วผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นั้นมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบแทนนินต่อกรัมของสารสกัด (mg of tannin acid equivalent (TAE)/g of extract))

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิก ความเข้มข้น 1000, 100, 10, 1 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบแทนนินด้วยวิธีเดียวกันกับวิธีข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่างๆแทนสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ ส่วนแบลนค์ (blank) เป็นเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแทนนิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแทนนิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง

3.5.6 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานิน

ใช้วิธี pH differential ดัดแปลงจากวิธีของ Wrolstad ในปี 1976 โดยนำสารละลายของสารสกัดหยาบจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ 40 ไมโครกรัม ละลายน้ำกลั่น 1000 ไมโครลิตร ปริมาตร 30 ไมโครลิตร โดยหลอดที่ 1 ผสมสารสกัดตัวอย่างกับบัฟเฟอร์ KCl pH 1.0 ปริมาตร 270 ไมโครลิตร และหลอดที่ 2 ผสมสารสกัดตัวอย่างกับ บัฟเฟอร์ CH_3COONa pH 4.5 ปริมาตร 270 ไมโครลิตร ผสมด้วยเครื่องเขย่าตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และ 700 นาโนเมตรตามลำดับ แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมของแอนโทไซยานินต่อลิตรของสารละลาย คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินของสารสกัดจากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณแอนโทไซยานิน(มิลลิกรัม/ลิตร)} = (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (\epsilon \times 1)$$

$$\text{โดยที่ } A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4.5}$$

MW = มวลโมเลกุล

DF = Dilution factor

ϵ = Molar absorptivity

3.5.7 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

ทำการถ่ายเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228, *Bacillus cereus* TISTR 678, *Escherichia coli* ATCC 25299, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Yersinia enterocolitica* และ *Salmonella typhimurium* DMST 0526 ลงในหลอดอาหาร Nutrient broth (NB) แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเชื้อเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดลงในสารละลายน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปรับความขุ่นให้เท่ากับ McFarland standard เบอร์ 0.5 ซึ่งมีความเข้มข้นของเซลล์ประมาณ 1.5×10^8 CFU/ml (Bauer และคณะ, 1966)

3.5.8 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยวิธี agar well diffusion

ทำการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบทั้งสามส่วน โดยมีวิธีทดสอบคือ เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) (ZHANG Tao และคณะ, 2009; Priti และคณะ, 2012; Olosunde O. และคณะ, 2012) แล้วนำไม้พ่นสำลีจุ่มเชื้อที่เทียบกับ McFarland standard no 0.5 แล้วมาทา (swap) บนผิวหน้าอาหารแข็งให้ทั่วด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ แล้วปล่อยให้แห้งจากนั้นใช้แท่งเจาะรู (cork borer) เจาะอาหารแข็งให้เป็นหลุม เพื่อหยดสารสกัดแต่ละส่วนที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และใช้ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (gentamicin) ที่ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (British society for antimicrobial chemotherapy, 2013) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) และใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมงแล้ววัดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณการยับยั้ง (clear zone) ในหน่วยมิลลิเมตร หากสารสกัดส่วนใดสามารถ

ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ จะนำสารสกัดนั้นมาลดความเข้มข้นลงทีละครึ่ง

3.5.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) แบบ Compare Means จำนวน 3 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 สารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้ในการทดลอง

สารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้ในการทดลองได้จากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ มาผ่านกระบวนการอบแห้งแล้วนำมาบดให้เป็นผง จากนั้นนำมาสกัดโดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 จนได้สารสกัดหยาบเข้มข้นของพืชแต่ละส่วน ซึ่งปริมาณสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ได้ผล (ดังตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 แสดงน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดโดยเครื่องระเหยสุญญากาศ

ชนิดสารสกัดหยาบ	น้ำหนักสารสกัดหยาบทั้งหมด (กรัม)	น้ำหนักสารสกัดหยาบต่อ200กรัม	ร้อยละของผลได้ของสารสกัดหยาบ
ใบ	63.44	63.44	31.72
เนื้อผล	53.11	53.11	26.55
เมล็ด	48.41	64.55	32.27

โดยสารสกัดหยาบที่ได้จากเมล็ดมีปริมาตรร้อยละผลได้สูงที่สุด คือ 32.27 ลักษณะของสารสกัดจากใบจะมีสีเขียวเข้มหนืด จากเนื้อผลและเมล็ดจะมีสีน้ำตาลอมแดงข้นหนืด

4.2 การตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากพืช โดยวิธี DPPH radical scavenging

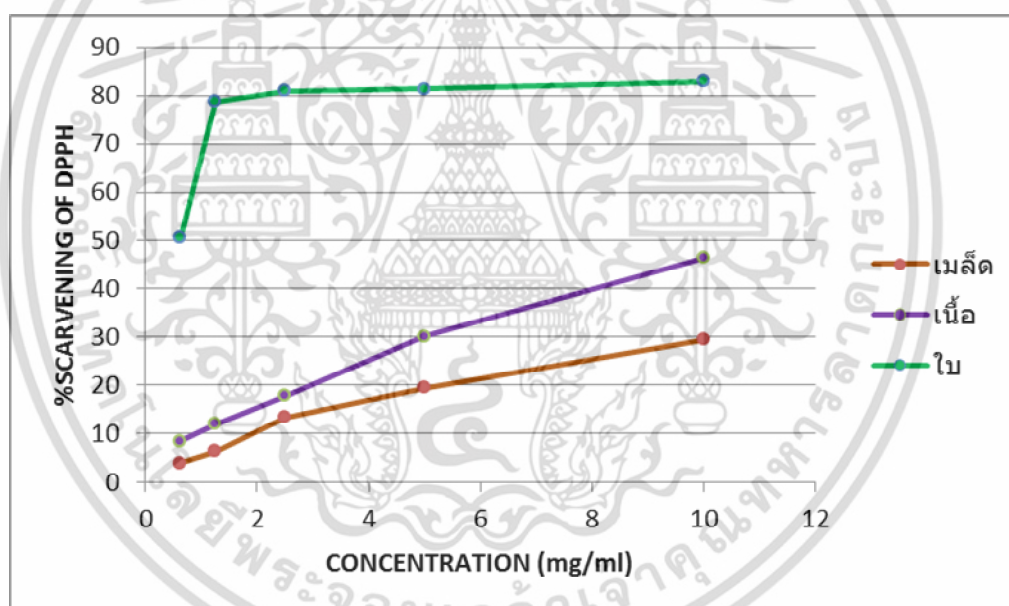
นำสารสกัดหยาบที่สกัดจากใบ เนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มาทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธีดักจับอนุมูลอิสระของ DPPH (DPPH Radical Scavenging method) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยทำการเจือจางสารสกัดหยาบจากแต่ละส่วนให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ทำการทดลองสารสกัดหยาบจากใบของมะม่วงหาวมะนาวโห่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับร้อยละ 82.93 รองลงมาคือสารสกัดจากเนื้อผลและเมล็ด เท่ากับ 46.49 และ 29.46 ตามลำดับ พบว่า สารสกัดทุกชนิดจะมีค่าร้อยละการดักจับสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับวิตามินอีที่เป็นตัวควบคุมเชิงบวกนั้น มีค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 84.86 ซึ่งสารสกัดจากใบที่มีความเข้มข้น 10.5 2.5 และ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับตัวควบคุมเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากผลการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของมะม่วงหาวมะนาวโห่พบว่าค่าของตัวควบคุมเชิงบวกมีค่ามากกว่าสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wachiraporn และคณะ ในปี 2014 ที่ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่และพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่าน้อยกว่าสารมาตรฐาน (ดังตาราง 4.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ร้อยละการดักจับอนุมูลของ DPPH ในสารสกัดหยาบจาก ใบ เนื้อผล และเมล็ดจาก มะม่วงหาวมะนาวโห่

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ร้อยละการดักจับอนุมูลของDPPH		
	ใบ	เนื้อผล	เมล็ด
0.625	50.56 ^b ±8.00	8.44 ^f ±2.08	4.08 ^e ±1.42
1.25	78.73 ^a ±1.35	11.89 ^e ±0.62	6.34 ^e ±0.57
2.5	80.87 ^a ±3.02	17.86 ^d ±0.49	13.42 ^d ±2.44
5	81.41 ^a ±7.97	30.16 ^c ±2.29	19.46 ^c ±0.49
10	82.93 ^a ±0.63	46.49 ^b ±0.07	29.46 ^b ±4.33
α-tocopherol	84.86 ^a ±0.17	84.86 ^a ±0.17	84.86 ^a ±0.17

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่

คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของมะม่วงหาวมะนาวโห่แสดงในรูปของค่า IC₅₀ (Inhibition concentration 50%) หรือค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัดที่ใช้ในการลดความเข้มข้นของ DPPH เริ่มต้นลดลงร้อยละ 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ค่า IC₅₀ ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่

สารสกัดหยาบ	ค่า IC ₅₀ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ใบ	0.19
เนื้อผล	10.55
เมล็ด	17.26

เมื่อพิจารณาค่า IC₅₀ พบว่าสารสกัดหยาบจากใบให้ฤทธิ์ในการยับยั้งได้ดีที่สุดมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าสูงกว่าผลการศึกษาของ Yakut ในปี 2013 ที่มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.01292 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากใบของมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่สกัดด้วยเอทานอล ส่วนสารสกัดหยาบจากเนื้อผลมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 10.55 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าสูงกว่าผลการศึกษาของ Chananth ในปี 2556 ที่มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.437 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อาจมีผลมาจากพืชที่นำมาใช้ในการทดลองมาจากแหล่งที่แตกต่างกัน ในส่วนของสารสกัดเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ยังไม่พบว่ามีผลการศึกษาที่เกี่ยวข้องก่อนหน้านี้

4.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

4.3.1 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ โดยทดสอบด้วยวิธี Folin- Ciocalteu's method ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทำการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก พบว่าสารสกัดหยาบจากใบของมะม่วงหาวมะนาวโห่มีสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเนื้อผลและสารสกัดหยาบจากเมล็ดมีสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุด โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเทียบเท่ากับ 12.96, 9.86 และ 2.19 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ดังตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่

สารสกัดหยาบ	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	
	mgGAE/100g น้ำหนักแห้ง	mgGAE/g สารสกัด
ใบ	12.96 ^a ± 1.01	0.41 ^a ± 0.03
เนื้อผล	9.86 ^b ± 2.09	0.37 ^a ± 0.07
เมล็ด	2.19 ^c ± 0.41	0.06 ^b ± 0.01

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในระดับเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ จากตารางที่ 4.4 พบว่าผลที่ได้มีทิศทางเดียวกับงานวิจัยของ Wachiraporn และคณะ ในปี 2013 คือปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดใบสูงกว่าสารสกัดเนื้อผลแก่ สารสกัดหยาบใบและเนื้อผลที่ได้จากการทดลองมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยกว่า โดยพบปริมาณสารสกัดหยาบใบและเนื้อผลเท่ากับ 24.91, 1.25 mgGAE/g สารสกัดตามลำดับ อาจมีผลจากวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์แตกต่างกัน แต่สารสกัดหยาบจากเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ยังไม่พบว่ามีผลการศึกษาก่อนหน้านี้

4.3.2 สารประกอบฟลาโวนอยด์

ผลจากการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ได้ค่าการดูดกลืนแสงในสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ แล้วนำมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของควอซิทิน พบว่า ใบใบมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุด รองลงมาเป็นเมล็ด และเนื้อผล ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีปริมาณ เท่ากับ 31555.13, 24366.09 และ 19503.97 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (ดังตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่

สารสกัดหยาบ	ปริมาณฟลาโวนอยด์	
	mgQE/100g น้ำหนักแห้ง	mgQE/g สารสกัด
ใบ	31555.13 ^a ± 78.66	994.80 ^a ± 2.48
เนื้อผล	19503.97 ^c ± 178.81	734.47 ^c ± 6.73
เมล็ด	24366.09 ^b ± 219.52	754.99 ^b ± 6.08

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เนื่องจากการตรวจเอกสารยังไม่พบการศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ จึงนำงานวิจัยที่เกี่ยวข้องของ Matthias และคณะ ในปี 2015 ซึ่งได้ทำการเลือกพืชสมุนไพร *Allamanda cathartica* วงศ์ Apocynaceae ซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกับมะม่วงหาวมะนาวโห่ ในประเทศไนจีเรียมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ พบว่าในสารสกัดหยาบจากใบของ *A. cathartica* มีปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุดเท่ากับ 170.30 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งมีปริมาณฟลาโวนอยด์ต่ำกว่าในสารสกัดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่

4.3.3 สารประกอบแทนนิน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบจาก ใบ เนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่ พบว่าปริมาณสารประกอบแทนนินของสารสกัดหยาบจากเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่ามากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญเทียบเท่ากับ 189.49 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด รองลงปริมาณสารประกอบแทนนินของสารสกัดหยาบจากใบของมะม่วงหาวมะนาวโห่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์และสงวนสิทธิในข้อมูลทั้งหมดไว้เป็นของตนเอง ไม่สามารถนำข้อมูลไปใช้ซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาตจากผู้จัดทำเอกสาร

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เทียบเท่ากับ 1.51 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด และปริมาณสารประกอบแทนนินของสารสกัดหยาบจากเนื้อผลของมะม่วงหาวมะนาวโห่มีค่าน้อยที่สุดเทียบเท่ากับ 0.23 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด เมื่อศึกษางานวิจัยของ Shakti และคณะ ในปี 2011 ที่หาสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบใบและเนื้อผลโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย พบว่ามีสารแทนนินในสารสกัดหยาบใบ แต่ในสารสกัดหยาบเนื้อผลไม่พบสารแทนนิน อาจมีผลมาจากตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดแตกต่างกัน ส่วนสารสกัดหยาบจากเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ยังไม่พบว่ามีผลการศึกษาที่เกี่ยวข้องก่อนหน้านี้ (ดังตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 แสดงปริมาณแทนนินในสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่

สารสกัดหยาบ	สารประกอบแทนนิน	
	mgTAE/100g น้ำหนักแห้ง	mgTAE/g สารสกัด
ใบ	47.90 ^b ± 4.23	1.51 ^b ± 0.13
เนื้อผล	6.25 ^b ± 1.08	0.23 ^b ± 0.03
เมล็ด	6397.58 ^a ± 914.82	189.49 ^a ± 18.75

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.3.4 สารประกอบแอนโทไซยานิน

ผลจากการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยวิธี pH – differential พบว่า สารสกัดจากใบมีปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุดคือ 28.35 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง รองลงมาเป็นสารสกัดจากเมล็ดและเนื้อผลซึ่งมีปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 13.89 และ 9.96 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (ดังตารางที่ 4.7)

ตารางที่ 4.7 แสดงปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่

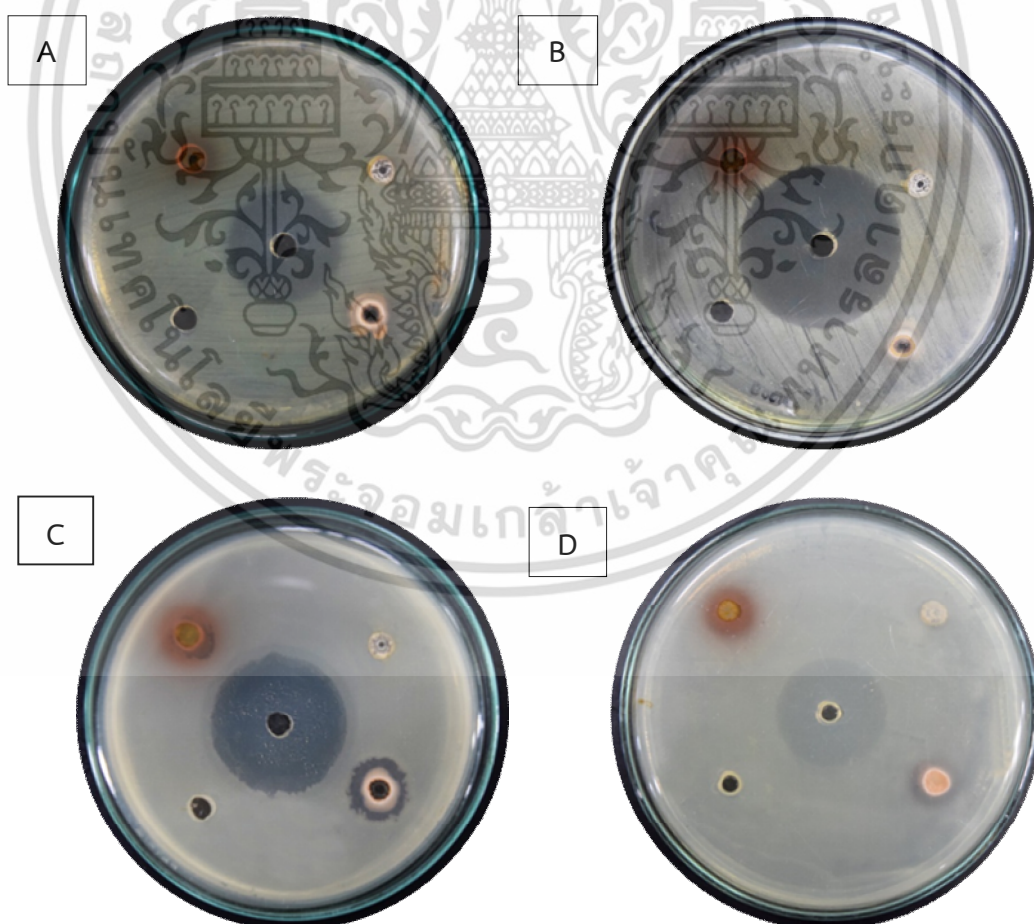
สารสกัดหยาบ	ปริมาณแอนโทไซยานิน	
	mg ของ cyanidin-3-glucoside/100g น้ำหนักแห้ง	mg ของ cyanidin-3-glucoside/l สารสกัด
ใบ	28.35 ^a ± 14.29	0.89 ^a ± 0.45
เนื้อผล	9.96 ^b ± 2.08	0.38 ^a ± 0.08
เมล็ด	13.89 ^{ab} ± 1.93	0.43 ^a ± 0.06

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

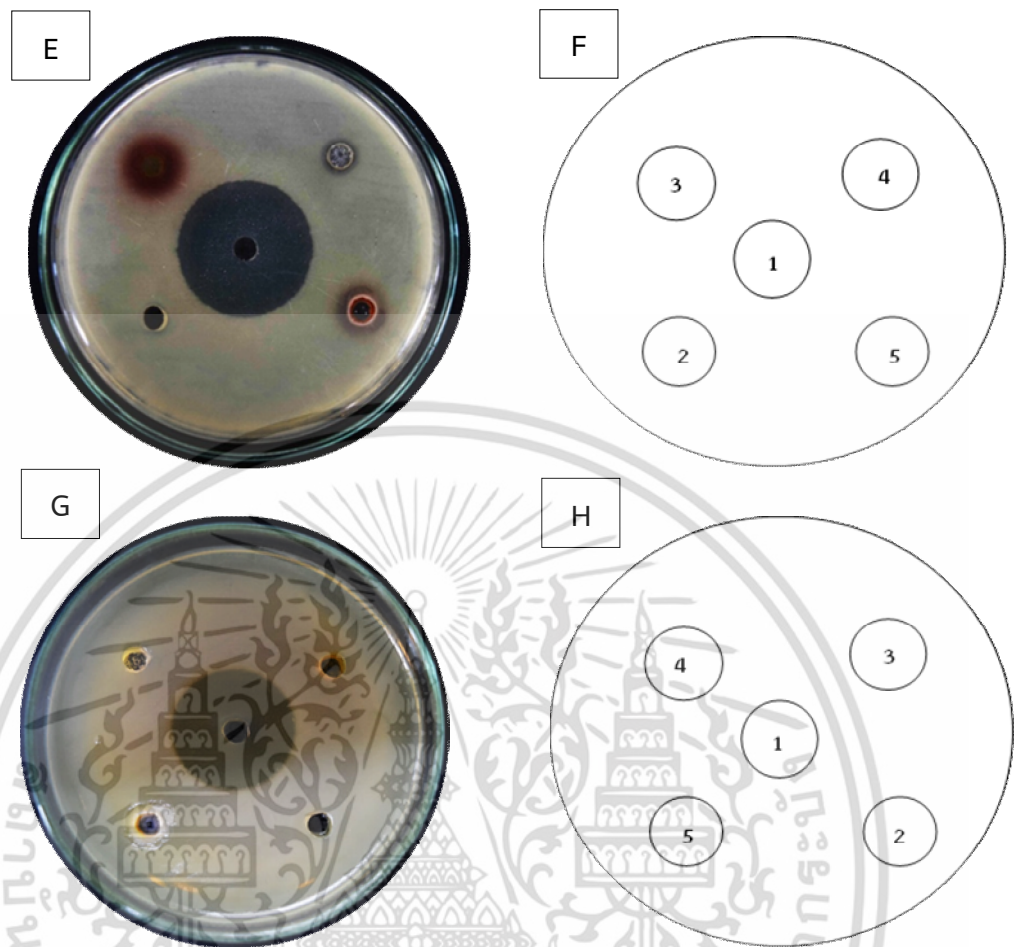
จากผลการศึกษาพบว่า สารสกัดหยาบจากใบมีปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 0.89 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตรของสารสกัด ในขณะที่งานวิจัยของ Wachiraporn และคณะ ในปี 2014 สารสกัดหยาบจากใบไม่พบปริมาณแอนโทไซยานิน ส่วนสารสกัดหยาบเนื้อผลที่ได้ทำการทดสอบพบว่า มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าเนื้อผลในงานวิจัยของ Rajeshkannan และคณะ ในปี 2010 โดยมีปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 0.03 มิลลิกรัมของ cyanidin-3-glucoside ต่อลิตรของสารสกัด

4.4 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบจากพืช

โดยนำสารสกัดหยาบจากมะม่วงหาวมะนาวโห่มาทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25299, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella typhimurium* DMST 0526, *Bacillus cereus* TISTR 678 และ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวิธี Agar well Diffusion และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่เชื้อไม่เจริญรอบๆ หลุมทดสอบสารสกัดหยาบ ดังแสดงในรูป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *S. epidermidis*, *Y. enterocolitica*, *S. typhimurium*, *B. cereus* และ *P.aeruginosa* โดยสารสกัดหยาดจาก ใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ A : *Escherichia coli*

B : *Staphylococcus epidermidis*

C : *Yersinia enterocolitica*

D : *Salmonella typhimurium*

E : *Bacillus cereus*

F : รูปแบบการจัดหลุม (รูป 4.3ก)

G : *Pseudomonas aeruginosa*

H : รูปแบบการจัดหลุม (รูป 4.3ก)

1 : ยาปฏิชีวนะ gentamicin (ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

2 : เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95

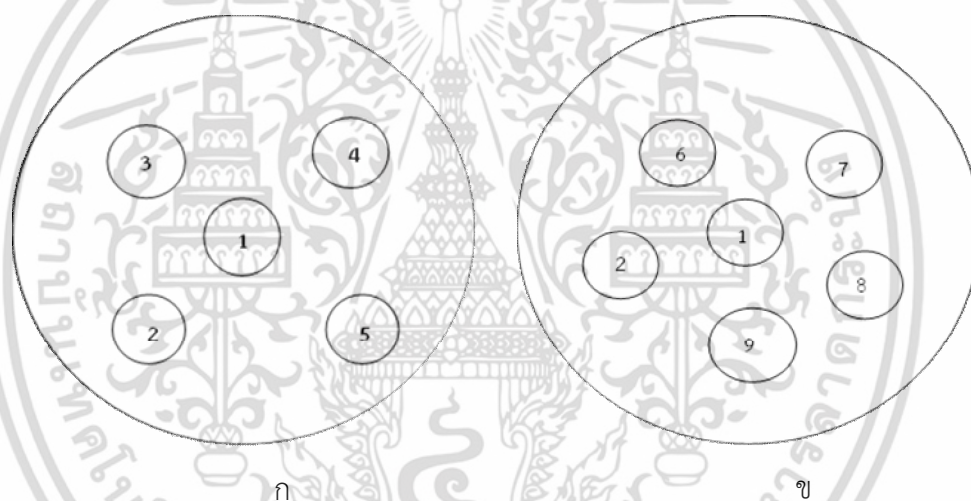
3 : สารสกัดหยาดจากใบ

4 : สารสกัดหยาดจากเนื้อผล

5 : สารสกัดหยาดจากเมล็ด

จากสารสกัดหยาดส่วนใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ เมื่อนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย โดยการทดสอบเบื้องต้น จะใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาดแต่ละส่วนเท่ากับ 50 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดหยาบในส่วนใบมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *S. typhimurium*, *E. coli*, *Y. enterocolitica* และ *B. cereus* ดังนั้นจึงทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบลง เพื่อหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สารสกัดหยาบสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ในขณะที่เชื้อ *P. aeruginosa* และ *S. epidermidis* ไม่พบการยับยั้ง จึงทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบขึ้นจนถึง 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และในการทดสอบความสามารถของสารสกัดหยาบในส่วนของเนื้อผล พบว่า สารสกัดหยาบมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้เพียงชนิดเดียว คือ *B. cereus* จึงนำ *B. cereus* ไปทดสอบโดยการใส่สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นลดลง และทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในการทดสอบเชื้ออื่นอีก 5 ชนิด จนถึง 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อทำการทดสอบความสามารถของสารสกัดหยาบในส่วนของเมล็ด พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *S. typhimurium*, *Y. enterocolitica* และ *B. cereus* จึงนำเชื้อทั้ง 3 ชนิดไปทำการทดสอบโดยใช้ความเข้มข้นสารสกัดหยาบที่ลดลง และให้เชื้อ *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *S. epidermidis* เพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบขึ้นจนถึง 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

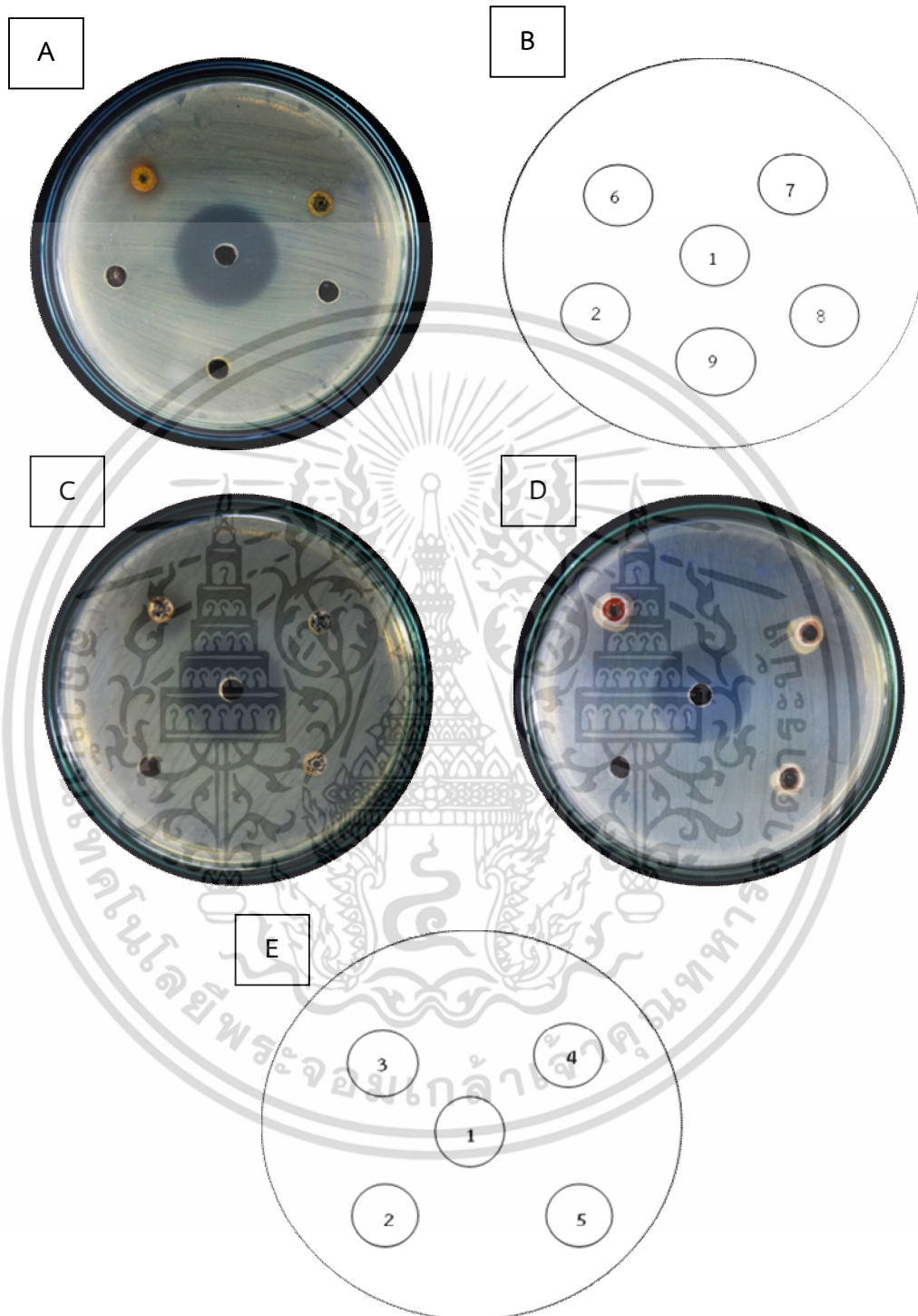


รูปที่ 4.3 แสดงรูปแบบของการใส่สารสกัด

- หมายเหตุ 1 : ยาปฏิชีวนะ gentamicin ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
 2 : เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95
 3 : สารสกัดหยาบจากใบ/เนื้อผล/เมล็ดที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 4 : สารสกัดหยาบจากใบ/เนื้อผล/เมล็ดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 5 : สารสกัดหยาบจากใบ/เนื้อผล/เมล็ดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 6 : สารสกัดหยาบจากใบ/เนื้อผล/เมล็ดที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 7 : สารสกัดหยาบจากใบ/เนื้อผล/เมล็ดที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 8 : สารสกัดหยาบจากใบ/เนื้อผล/เมล็ดที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
 9 : สารสกัดหยาบจากใบ/เนื้อผล/เมล็ดที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25299 จากสารสกัดหยาบจากใบ
เนือผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่



รูปที่ 4.4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดหยาบจากใบ เนือผล
และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้น 3.125 – 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ A : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากใบ
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- B : รูปแบบหลุมของสารสกัดหยาบจากใบ (รูป 4.3ข)
 C : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากเนื้อผล
 D : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากเมล็ด
 E : รูปแบบหลุมของสารสกัดหยาบจากเนื้อผลและเมล็ด (รูป 4.3ก)

ตารางที่ 4.8 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่

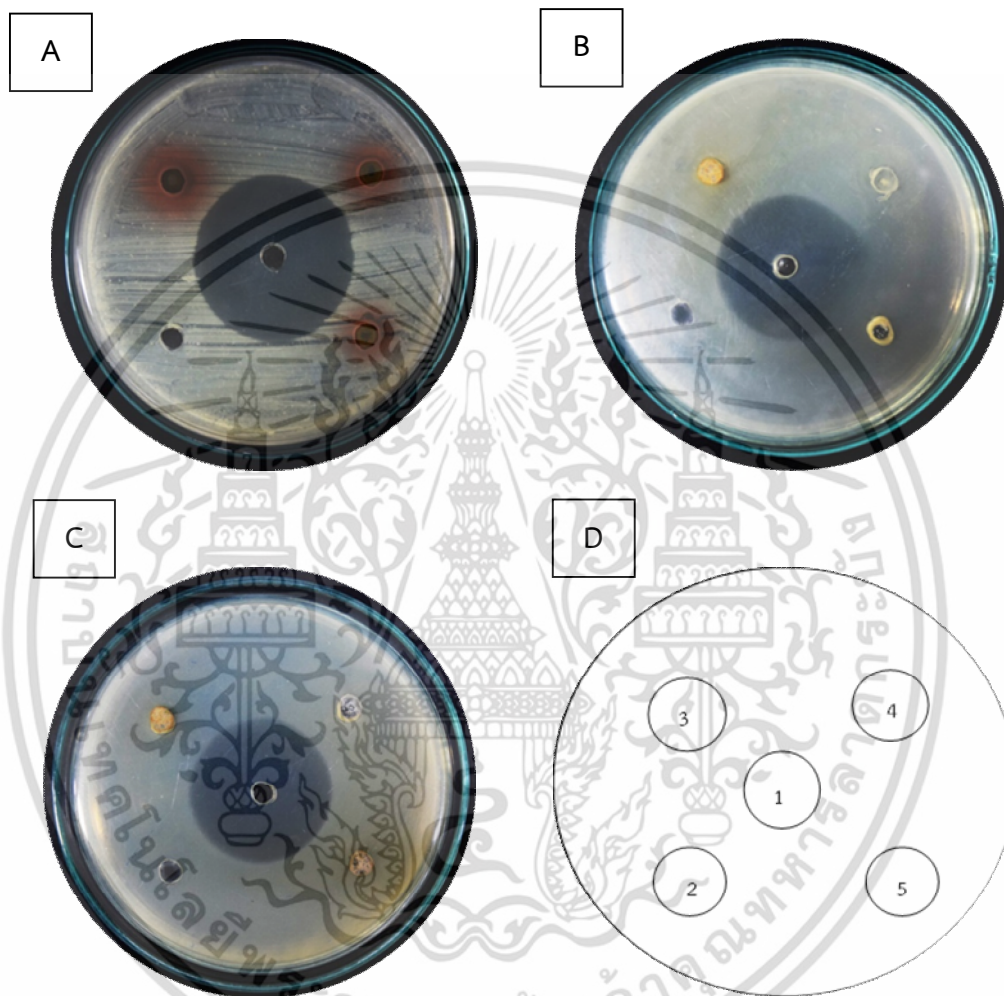
สารสกัดหยาบ จากมะม่วงหาวมะนาวโห่	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)
ใบ	3.125	6.00 ^d ± 0.00
	6.25	6.00 ^d ± 0.00
	12.5	6.00 ^d ± 0.00
	25	11.50 ^c ± 0.43
	50	14.50 ^b ± 0.50
เนื้อผล	50	6.00 ^c ± 0.00
	100	6.00 ^c ± 0.00
	200	15.25 ^b ± 0.90
เมล็ด	50	6.00 ^b ± 0.00
	100	6.00 ^b ± 0.00
	200	6.00 ^b ± 0.00
ชุดควบคุม		
ยาปฏิชีวนะ Gentamicin (20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		27.08 ^a ± 0.14
เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95		6.00 ^d ± 0.00

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.8 เมื่อพิจารณาจากความสามารถของสารสกัดหยาบมะม่วงหาวมะนาวโห่ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* พบว่า สารสกัดหยาบในส่วนใบมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้กว้าง 11.50 มิลลิเมตร โดยที่ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ต่ำที่สุด คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและจากการทดลองยังพบว่าสารสกัดหยาบในส่วนของเนื้อผล มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้กว้าง 15.25 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ต่ำที่สุด คือ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดหยาบในส่วนของเมล็ดไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* โดยสารสกัดหยาบในส่วนของใบให้ผลที่แตกต่างจากผลการทดลองของ Tarun และคณะ ในปี 2012 ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้กว้าง 21 มิลลิเมตร โดยที่ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเห็นได้ชัดว่าสารสกัดหยาบในส่วนของใบของ Tarun และคณะ ให้ผลการทดลองที่ดีกว่า เนื่องจาก ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สูงกว่า และใช้ Cork

borer ที่มีขนาดใหญ่กว่าในการเจาะ (8 มิลลิเมตร) และสำหรับสารสกัดหยาบในส่วนของเนื้อผลและเมล็ดนี้ยังไม่พบรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

4.4.2 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 จากสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่



รูปที่ 4.5 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้น 50 – 200 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร

- หมายเหตุ A : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากใบ
 B : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากเนื้อผล
 C : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากเมล็ด
 D : รูปแบบของหลุมของสารสกัดหยาบ (รูป 4.3ก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

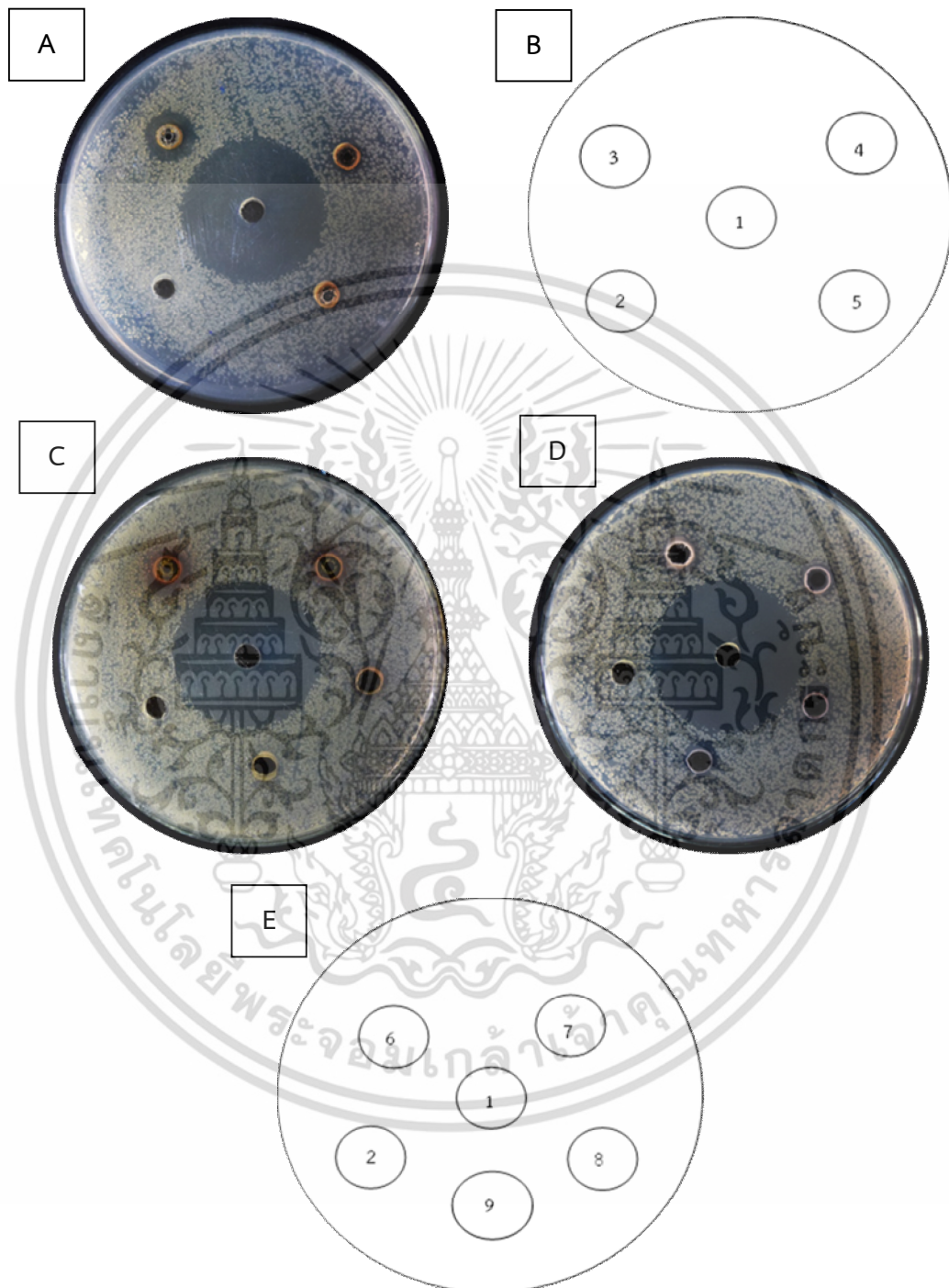
ตารางที่ 4.9 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่

สารสกัดหยาบจากมะม่วงหาวมะนาวโห่	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)
ใบ	50	6.00 ^d ± 0.00
	100	9.33 ^c ± 0.14
	200	11.67 ^b ± 0.14
เนื้อผล	50	6.00 ^b ± 0.00
	100	6.00 ^b ± 0.00
	200	6.00 ^b ± 0.00
เมล็ด	50	6.00 ^b ± 0.00
	100	6.00 ^b ± 0.00
	200	6.00 ^b ± 0.00
ชุดควบคุม		
ยาปฏิชีวนะ Gentamicin (20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		39.67 ^a ± 0.29
เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95		6.00 ^d ± 0.00

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.9 เมื่อพิจารณาจากความสามารถของสารสกัดหยาบมะม่วงหาวมะนาวโห่ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* พบว่า สารสกัดหยาบในส่วนของใบมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* ได้กว้าง 9.33 มิลลิเมตร โดยที่ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ต่ำที่สุด คือ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และจากการทดลองยังพบว่าสารสกัดหยาบในส่วนของเนื้อผลและเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ไม่เกิดการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* แม้ว่าใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเมื่อเทียบกับผลการทดลองของ Yogeshkumar ในปี 2009 พบว่าให้ผลที่แตกต่างจากการทดลอง โดยการทดลองของ Yogeshkumar สารสกัดหยาบในส่วนของใบไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. epidermidis* โดยความเข้มข้นที่ใช้คือ 600 µg/disc ซึ่งถือได้ว่าสารสกัดหยาบในส่วนของใบให้ผลการทดลองที่ดีกว่า อาจเนื่องมาจากการทดลองของ Yogeshkumar ใช้อะซิโตนเป็นตัวสกัด วิธีในการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพที่แตกต่างกัน และอาจเนื่องมาจากการทดลองใช้สารสกัดในส่วนของใบที่ความเข้มข้นที่สูงกว่า และสำหรับสารสกัดหยาบในส่วนของเนื้อผลและเมล็ดนี้ยังไม่มียางานการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

4.4.3 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Yersinia enterocolitica* จากสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่



รูปที่ 4.6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica* ของสารสกัดหยาบจาก ใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้น 3.125 – 200 มิลลิกรัม ต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- หมายเหตุ A : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากเนื้อผล
 B : รูปแบบหลุมของสารสกัดหยาบจากเนื้อผล (รูป 4.3ก)
 C : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากใบ
 D : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากเมล็ด
 E : รูปแบบของหลุมของสารสกัดหยาบจากใบและเมล็ด (รูป 4.3ข)

ตารางที่ 4.10 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica* ของสารสกัดหยาบจาก ใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่

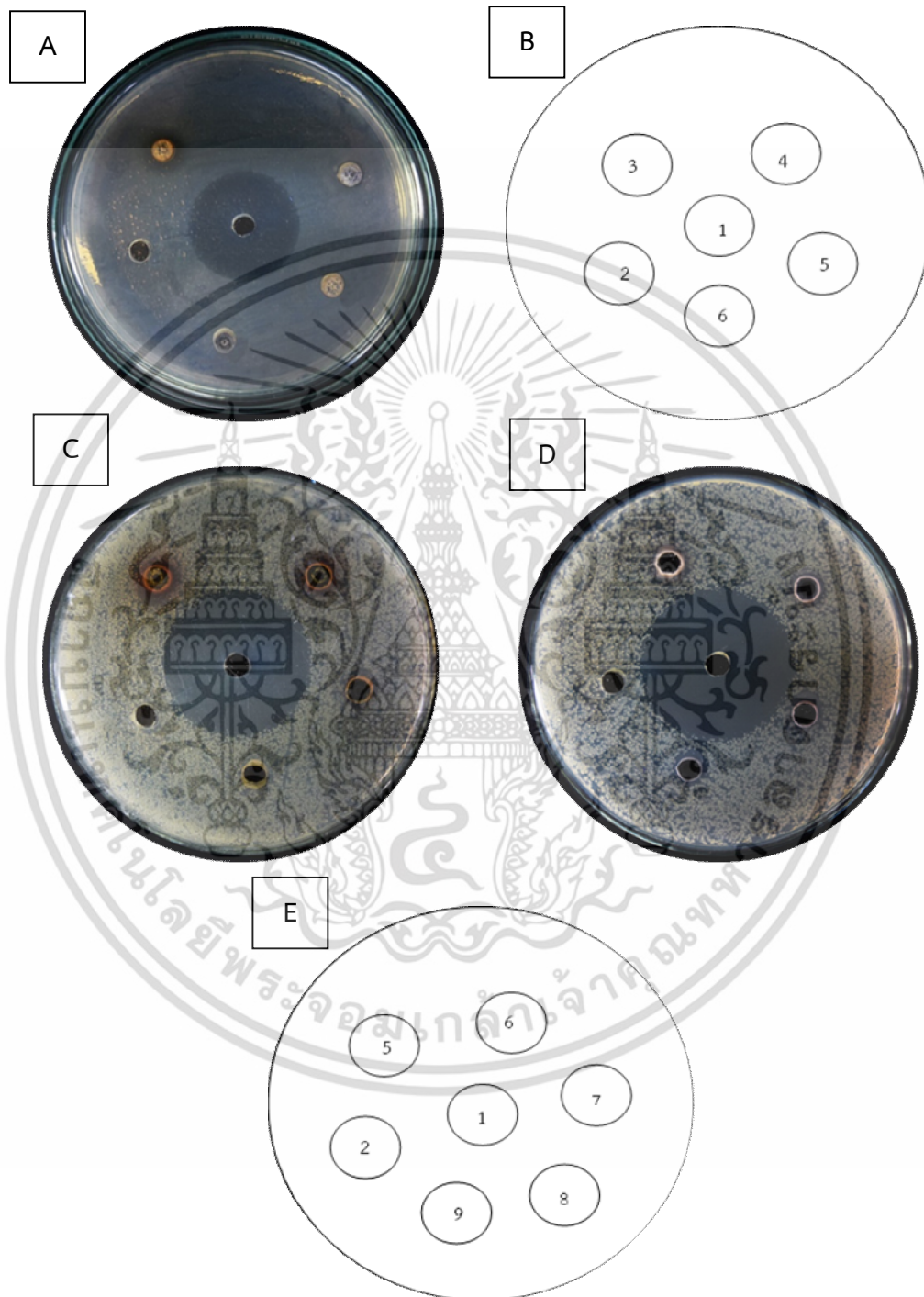
สารสกัดหยาบจากมะม่วงหาวมะนาวโห่	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้ง (มิลลิเมตร)
ใบ	3.125	6.00 ^f ± 0.00
	6.25	9.92 ^e ± 0.52
	12.5	11.00 ^d ± 0.75
	25	12.83 ^c ± 0.58
	50	15.25 ^b ± 0.25
เนื้อผล	50	6.00 ^d ± 0.00
	100	12.42 ^c ± 0.95
	200	16.17 ^b ± 0.29
เมล็ด	3.125	9.42 ^d ± 0.52
	6.25	9.50 ^d ± 0.50
	12.5	10.75 ^{cd} ± 0.25
	25	12.25 ^c ± 0.25
	50	15.58 ^b ± 1.01
ชุดควบคุม		
ยาปฏิชีวนะ Gentamicin (20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		36.58 ^a ± 0.38
เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95		6.00 ^f ± 0.00

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการศึกษาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบจาก ใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Y. enterocolitica* ได้ พบว่า ได้ผลเป็นไปตามตารางที่ 4.10 โดยที่สารสกัดหยาบในส่วนของเมล็ด มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด คือมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้กว้าง 9.42 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ สารสกัดหยาบในส่วนของใบมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญได้กว้าง 9.92 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบในส่วนของเนื้อผล มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้น้อยที่สุด มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญได้กว้าง 12.42 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด

100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยในการทดสอบนี้ยังไม่พบรายงานการวิจัยที่นำสารสกัดหยาบทั้ง 3 ส่วน มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica*

4.4.4 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella typhimurium* DMST 0526 จากสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่



รูปที่ 4.7 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของ มะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้น 3.125 – 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการยับยั้ง เชื้อจุลินทรีย์ *S. typhimurium* DMST 0526

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- หมายเหตุ A : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากเนื้อผล
 B : รูปแบบหลุมของสารสกัดหยาบจากเนื้อผล (รูป 4.3ก และ ข)
 C : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากใบ
 D : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากเมล็ด
 E : รูปแบบของหลุมของสารสกัดหยาบจากใบและเมล็ด (รูป 4.3ก และ ข)

ตารางที่ 4.11 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* ของสารสกัดหยาบจากใบเนื้อผล และเมล็ดมะม่วงหาวมะนาวโห่

สารสกัดหยาบจากมะม่วงหาวมะนาวโห่	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้ง (มิลลิเมตร)
ใบ	3.125	6.00 ^d ± 0.00
	6.25	7.00 ^c ± 0.25
	12.5	7.50 ^{bc} ± 0.25
	25	8.00 ^{bc} ± 0.00
	50	8.67 ^b ± 0.14
เนื้อผล	50	6.00 ^c ± 0.00
	100	6.00 ^c ± 0.00
	200	13.50 ^b ± 0.00
เมล็ด	3.125	6.00 ^e ± 0.00
	6.25	9.67 ^d ± 0.29
	12.5	12.50 ^c ± 0.00
	25	13.92 ^{bc} ± 0.14
	50	15.42 ^b ± 0.14
ชุดควบคุม		
ยาปฏิชีวนะ Gentamicin (20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		30.83 ^a ± 0.14
เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95		6.00 ^e ± 0.14

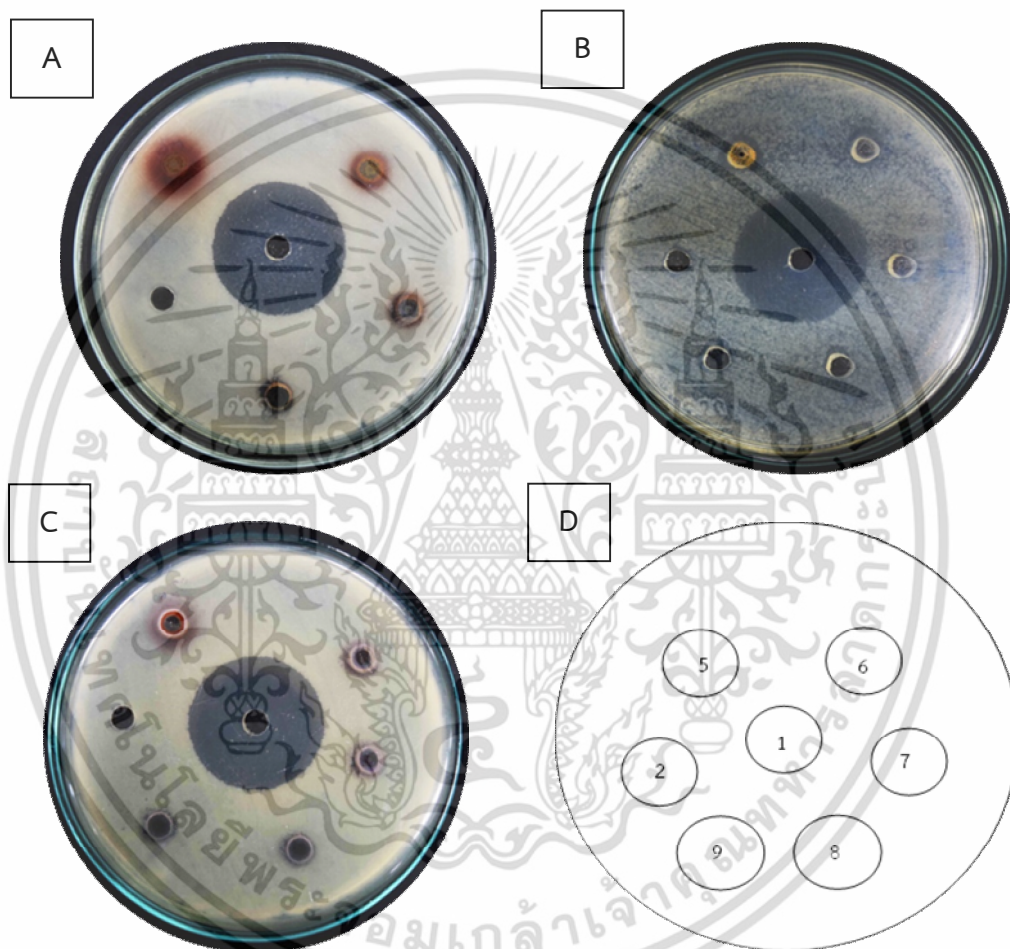
หมายเหตุ ตัวอย่างที่ต่างกันในระดับความเข้มข้นเดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.11 เมื่อพิจารณาจากความสามารถของสารสกัดหยาบมะม่วงหาวมะนาวโห่ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. typhimurium* DMST 0526 พบว่า สารสกัดหยาบในส่วนของใบและเนื้อผลมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* ได้ โดยยับยั้งเชื้อได้กว้าง 7.00 มิลลิเมตร และ 13.50 มิลลิเมตร โดยใช้ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่ยับยั้ง คือ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และจากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบในส่วนของเมล็ด พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* ได้กว้าง 9.67 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีผลที่สอดคล้องกับผลการทดลองของจันทนา ในปี 2558 โดยจากการทดลองของจันทนา สารสกัดหยาบส่วนใบและเนื้อผลมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* ได้กว้าง 18.33 มิลลิเมตร และ 11.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยที่ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในส่วนของใบและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่ข้อมูลใด ๆ ให้แก่บุคคลอื่นโดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของลิขสิทธิ์ไว้ก่อนนั้น ถือว่าผิดกฎหมาย และต้องแจ้งถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อผล 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อนำมาเทียบกับผลการทดลอง พบว่า สารสกัดหยาบทั้ง 2 ส่วนให้ผลการทดลองที่ดีกว่า อาจเนื่องมาจากการทดลองของจินทนาใช้เอทิลอะซิเตตเป็นตัวสกัดสารสกัดหยาบ แต่การทดลองของสารสกัดหยาบในส่วนของเมล็ดยังไม่พบงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และจากการทดลองนี้พบว่า สารสกัดหยาบในส่วนของเมล็ดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบในส่วนของใบและเนื้อผลตามลำดับ

4.4.5 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 678 จากสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่



รูปที่ 4.8 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้น 3.125 – 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

- หมายเหตุ A : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากใบ
 B : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากเนื้อผล
 C : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากเมล็ด
 D : รูปแบบของหลุมของสารสกัดหยาบ (รูป 4.3ก และ ข)

ยกเว้น ที่รูป A (สารสกัดหยาบจากใบ) ไม่มีรูปแบบของหลุมที่ 9 สารสกัดหยาบจากใบ/เนื้อผล/เมล็ดที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

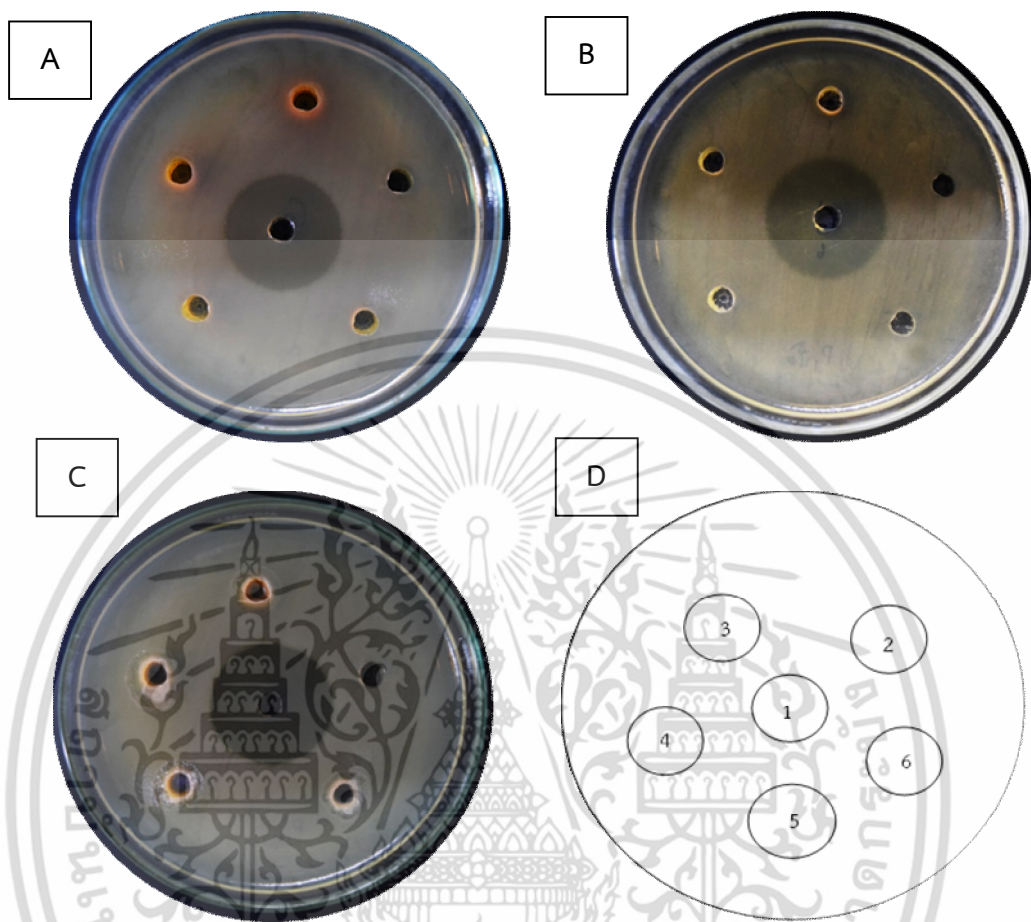
ตารางที่ 4.12 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ของสารสกัดหยาบจากใบ
เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่

สารสกัดหยาบ จากมะม่วงหาวมะนาวโห่	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ ยับยั้ง (มิลลิเมตร)
ใบ	6.25	9.33 ^e ± 0.29
	12.5	10.25 ^d ± 0.25
	25	11.17 ^c ± 0.29
	50	14.25 ^b ± 0.25
เนื้อผล	3.125	6.00 ^d ± 0.00
	6.25	7.08 ^c ± 0.38
	12.5	7.58 ^c ± 0.14
	25	11.17 ^b ± 0.76
เมล็ด	50	11.83 ^b ± 0.29
	3.125	8.17 ^f ± 0.29
	6.25	9.50 ^e ± 0.00
	12.5	11.50 ^d ± 0.00
ชุดควบคุม	25	11.83 ^c ± 0.29
	50	12.83 ^b ± 0.29
ยาปฏิชีวนะ Gentamicin (20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		33.00 ^a ± 0.00
เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95		6.00 ^g ± 0.29

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดมีความแตกต่างกันทางสถิติ
ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.12 เมื่อพิจารณาจากความสามารถของสารสกัดหยาบมะม่วงหาวมะนาวโห่ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* TISTR 678 พบว่า สารสกัดหยาบในส่วนของใบและของเนื้อผลเกิดการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้กว้าง 9.33 มิลลิเมตร และ 7.08 มิลลิเมตร ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด คือ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบในส่วนของเมล็ด พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้กว้าง 8.17 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งให้ผลที่แตกต่างจากผลการทดลองของ Yogeshkumar ในปี 2009 โดยจากการทดลองของ Yogeshkumar สารสกัดหยาบในส่วนของใบมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้กว้าง 10 มิลลิเมตร โดยที่ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 600 µg/disc อาจเป็นผลเนื่องมาจากการทดลองของ Yogeshkumar ใช้อะซิโตนเป็นตัวสกัด และใช้วิธีในการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพที่แตกต่างกัน และสำหรับผลการทดลองในส่วนของเนื้อผลและเมล็ดยังไม่พบรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้อง ซึ่งจากการทดลองนี้พบว่า สารสกัดหยาบในส่วนของเมล็ดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบในส่วนของใบและเนื้อผล ตามลำดับ

4.4.6 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 จากสารสกัด
หยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่



รูปที่ 4.9 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดหยาบจากใบ
เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ที่ความเข้มข้น 3.125 – 200 มิลลิกรัมต่อ
มิลลิลิตร

- หมายเหตุ A : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากใบ
B : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากเนื้อผล
C : ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากเมล็ด
D : รูปแบบของหลุมของสารสกัดหยาบ (รูป 4.3ก และ ข)

ตารางที่ 4.13 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ของสารสกัดหยาบจากใบเนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่

สารสกัดหยาบจากมะม่วงหาวมะนาวโห่	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้ง (มิลลิเมตร)
ใบ	25	6.00 ^b ± 0.00
	50	6.00 ^b ± 0.00
	100	6.00 ^b ± 0.00
	200	6.00 ^b ± 0.00
เนื้อผล	25	6.00 ^c ± 0.00
	50	6.00 ^c ± 0.00
	100	6.00 ^c ± 0.00
	200	13.42 ^b ± 0.52
เมล็ด	25	6.00 ^c ± 0.00
	50	6.00 ^c ± 0.00
	100	6.00 ^c ± 0.00
	200	15.33 ^b ± 0.76
ชุดควบคุม		
ยาปฏิชีวนะ Gentamicin (20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		30.23 ^a ± 0.64
เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95		6.00 ^c ± 0.00

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันของแต่ละส่วนของสารสกัดมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.13 เมื่อพิจารณาจากความสามารถของสารสกัดหยาบมะม่วงหาวมะนาวโห่ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* TISTR 781 พบว่า สารสกัดหยาบในส่วนใบไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* แม้ว่าใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบสูง 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดหยาบจากเนื้อผลและเมล็ด เกิดการยับยั้งเชื้อได้กว้าง 13.42 มิลลิเมตร และ 15.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งให้ผลที่แตกต่างจากการทดลองของ Tarun และคณะ ในปี 2012 โดยจากการทดลองของ Tarun และคณะ สารสกัดหยาบในส่วนใบมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ได้กว้าง 17 มิลลิเมตร โดยที่ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่จากผลการทดลองที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองต่ำเกินไปกว่าจะยับยั้งและใช้ Cork borer ที่มีขนาดเล็กกว่าในการเจาะ (6 มิลลิเมตร) สำหรับผลการทดลองในส่วนของเนื้อผลและเมล็ดยังไม่พบรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และจากการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบในส่วนของเมล็ดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ดีที่สุดในรองลงมาคือ สารสกัดหยาบในส่วนของเนื้อผล และสารสกัดหยาบในส่วนของใบไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginos*

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ มาทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีดักจับอนุมูลอิสระของ DPPH พบว่าในสารสกัดจากใบมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยังศึกษาสมบัติทางพิษเคมีบางประการ โดยวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ สารประกอบแทนนินและปริมาณแอนโทไซยานิน จากสารสกัดหยาบทั้งหมด พบว่าสารสกัดจากใบมีปริมาณของสารพิษเคมีสูงที่สุดสามชนิด ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ และปริมาณแอนโทไซยานิน เท่ากับ 0.41 mgGAE/g สารสกัด 994.80 mgQE/g สารสกัดและ 0.89 mg ของ cyanidin - 3 - glucoside/l สารสกัด ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดจากเมล็ดมีสารประกอบแทนนินสูงที่สุด เท่ากับ 1.51 mgTAB/g สารสกัด

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบ ใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยนำมาทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเจริญของเชื้อด้วยวิธี Agar well diffusion กับเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 6 ชนิด ได้แก่ *E. coli* ATCC 25299, *S. epidermidis* ATCC 1228, *Y. enterocolitica*, *S. typhimurium* DMST 0526, *B. cereus* TISTR 678 และ *P. aeruginosa* TISTR 781 โดยใช้ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมเชิงบวก และใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นชุดควบคุมเชิงลบ เมื่อทดสอบเบื้องต้นที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดจากใบสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *S. typhimurium* และ *B. cereus* และสารสกัดจากเมล็ดสามารถยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica*, *S. typhimurium* และ *B. cereus* จึงทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดลงเพื่อหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อแต่ละชนิด ส่วนสารสกัดจากเนื้อผลไม่มีการยับยั้งเชื้อที่ความเข้มข้นนี้ จึงนำสารสกัดต่างๆที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อเบื้องต้นได้ มาเพิ่มความเข้มข้นในการทดสอบแต่ไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดจากใบมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica* และ *S. typhimurium* และ *B. cereus* ที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ที่ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ในขณะที่สารสกัดจากเมล็ดมีความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *Y. enterocolitica*, *S. typhimurium* และ *B. cereus* ที่ความเข้มข้น 3.125, 6.25 และ 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อ *S. epidermidis* มีค่า MIC เท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากสารสกัดใบ และเชื้อ *P. aeruginosa* มีค่า MIC เท่ากับ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารสกัดจากเมล็ดและเนื้อผล

5.2 ข้อเสนอแนะ

การสกัดสารเป็นขั้นตอนที่สำคัญเพื่อให้ได้สารกลุ่มที่ต้องการ ดังนั้นควรสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่สดด้วยตัวทำละลายหลายๆชนิด เนื่องจากพืชแต่ละชนิดมีชนิดและปริมาณสารที่แตกต่างกัน อีกทั้งวิธีการทดสอบ ควรทดสอบฤทธิ์ โดยวิธีอื่น ๆ ด้วย เพื่อเป็นการยืนยันผลอีกทางหนึ่ง และในการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย สารสกัดที่ใช้อาจมีความเข้มข้นน้อยเกินไป หากเพิ่มความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบอาจทำให้ได้ผลการยับยั้งที่ดีมากขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- จุฑามาส สื่อประสาท, ทานตะวัน พิรัชช์ และศิริพร เรียบร้อย, 2556. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารแอนโทไซยานินจากผลหนามแดง.
- จันทนา กาญจนกมล. 2558. Antibacterial Activities of *Carissa carandas* L. Extracts. การประชุมสวนสุนันทาวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ ๒. 26-27 พฤศจิกายน 2558. หน้า 601-607
- ดาลัด ศิริวัน, 2551. พฤษเคมี สารต้านอนุมูลอิสระในอาหาร : ของขวัญจากธรรมชาติ.
- ประกร รามกุล .2553. นวัตกรรมตัวดูดซับแทนนินในการแยกโลหะจากสารละลาย . (72)17-29 น.
- ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร, พิทัย กาญจนบุตร และสาธิต พรตระกูลพิพัฒน์. 2551. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรมะนาวในห้องปฏิบัติการ. พิมพ์ครั้งที่ 9 : กรุงเทพฯ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- ภัทรชัย กิรติสิน. 2549. ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์ (textbook of medical bacteriology). พิมพ์ครั้งที่ 1: กรุงเทพฯ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
- รัตนา อินทรานุกกรณ์. 2550. การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพรมะนาว. พิมพ์ครั้งที่ 2 : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- อัญชญา เจนวิถีสุข. การตรวจหาและบ่งชี้ชนิดสารต้านอนุมูลอิสระจากผักพื้นบ้านและสมุนไพรมะนาว. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท สาขาเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2545
- โอภา วัชรคุปต์. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : นิเวศมิตรการพิมพ์
- อิสยา จันทร์วิทย์พานิชิต และวัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์. 2553. แบคทีเรียทางแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 2 : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- Ames, B.N., Shigenaga, M.K. และ Hagen, T.M. 1993. "Oxidants, antioxidants, and the Degenerative disease of aging." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 90 : 7915-7922.
- Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and industrial by-products: antioxidant activity, occurrence and potential uses. Food Chemistry, 99: 191-203.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Bauer, A.W., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris และ M. Turck. 1966. **Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method.** *Am. J. Clin. Pathol.* 45 : 493-496.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. และ Berset, C. 1995. “**Use of free radical method to evaluate antioxidant activity.**” *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie.* 28 : 25-30.
- British society for antimicrobial chemotherapy. 2013. **BSAC Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing.** [Online]. Available: http://www.bsac.org.uk/wp-content/uploads/2012/02/Version-12-Apr-2013_final.pdf
- Chattopadhyay, K. and Chattopadhyay, B. D. 2008. “**Effect of nicotine on lipid profile, peroxidation & antioxidant enzymes in female rats with restricted dietary protein.**” *Journal of research and education in indian medicine.* 127: 571-576.
- Halliwell, B. 2009. “**The wanderings of a free radical.**” *Free Radical Biology and Medicine.* 46 : 531- 542.
- Havsteen, B. 1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochememical pharmacology*, 32:1141-1148.
- Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H. and Katan, M.B. 1992. *journal of agricultural and food chemistry*, 40: 2379.
- Jittawan Kubola , Sirithon Siriamornpun และ Naret Meeso. 2010. **Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits.** *Food chemistry.* 2 : 1-10
- Kathirvel, A. and Sujatha, V. 2012. Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Barringtonia acutangula* (L.) Gaertn. leaves. *International Journal of Pharmacy and pharmaceutical Sciences* 4(2):277-81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Khushbu Verma, Divya Shrivastava, Gaurav Kumar. 2015. **Antioxidant activity and DNA damage inhibition *in vitro* by amethanolic extract of *Carissa carandas* (Apocynaceae) leaves.** ScienceDirect. 2 : 1-7.
- Matthias Onyebuchi Agbo, Philip Felix Uzor, Uchenna Nneamaka, Akazie-Nneji, Chidozie Uzoma Eze Odurukwe, Uchenna Basilia Ogbatue และ Emmanuel Chukwunwike Mbaoji. 2015. **Antioxidant, Total Phenolic and Flavonoid Content of Selected Nigerian Medicinal Plants.** Department of Pharmaceutical and Medicinal Chemistry, University of Nigeria. 38: 35-41
- Mazza, G. และ Miniati, E. 1993. Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains. Boca Raton: CRC Press
- Olosunde O. Funmilayo, Abu-Saeed Kamaldeen และ Abu-Saeed Muhammad Buhari. Phytochemical screening and antimicrobial properties of a Common Brand of Black Tea (*Camellia sinensis*) Marketed in Nigerian environment, *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2012, 2(2), 259-263
- Pulugurtha, S. 2011. Gallic acid & its uses. [Online]. Available: <http://www.livestrong.com/article/496550-gallic-acid-its-uses/>
- Priti Gupta, Anubhuti Sharma และ A.K.Verma. 2012. GC/MS Propiling and antimicrobial effect of six Indian Tropical Fruit residues against clinically pathogenic bacterial strian, *International Journal of Advances in Pharmaceutical Research* 1230 :1229 – 1235
- Rice-Evans, C.A., N.J. Miller, and G. Paganga. 1997. **Antioxidant properties of phenolic compounds.** Trends Plant Sci. 2: 152-159.
- Rajeshkannan Chinnasamy, Supriya Sasindranathan, Murugesan Shourimuthu และ Senthilkumar Natchiappan. 2010. Analysis of Anthocyanin in *Caesalpinia sappan* Linn. and *Carissa carandas* Linn. using HPLC. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research* Volume 1 Number 1 pp. 115–123

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Shakti Verma และ Hotam Singh Chaudhary. 2011. **Effect of *Carissa carandas* against Clinically Pathogenic bacterial strains.** *Pharmacy research*.1:1-3
- Sies, H., Stahl, W. and Sundquist, A. 1991. “**Antioxidant functions of vitamins, vitamin E and C, beta-carotene and other carotenoids.**” *Annals of the New York Academy of sciences*. 368 : 7-19.
- Sunil Kumar, Pallavi Gupta และ Virupaksha Gupta K.L. 2013. A Critical Review on Karamarda (*Carissa carandas* Linn.), *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives* 2013; 4(4): 637 – 642
- Tarun Agarwal, Rachana Singh, Amar Deep Shukla และ Imran Waris. 2012. In vitro study of antibacterial activity of *Carissa carandas* leaf extracts. *Asian Journal of Plant Science and Research*. 2 (1):36-40
- Tremblay, L. 2011. Foods with gallic acid. [Online]. Available: <http://www.livestrong.com/article/535607-foods-with-gallic-acid/>
- Yakut Bint-e-Sadek, Naiyyum Choudhury and Mohammad Shahriar. 2013. Biological Investigations of the Leaf Extracts of *Carissa Carandas*. Vol.5 No.2 July-December 2013, pp. 97-105
- Yogeshkumar Vaghasiya. 2009. Screening of some medicinal Plants for Antimicrobial Properties - Phytochemical and Pharmacological Studies of a Selected Medicinal Plant. Saurashtra University
- Yoshikazu Tanaka, Nobuhiro Sasaki and Akemi Ohmiya. 2008. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. (Online) Available : <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-313X.2008.03447.x/full>
- Velioglu, Y.S., Mazza, G. Gao, L. and Oomah, B.D. 1998. “**Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products.**” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46 : 4113-4117.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Singleton V.L., R. Orthofer, R.M. Lamuela-Raventos. **Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent**, *Methods Enzymol.* 299 (1999) 152–178

Wachiraporn Pewlong, Surasak Sajjabut, Jaruratana Eamsiri and Sirilak Chookaew. 2014. **Evaluation of antioxidant activities, anthocyanins, total phenolic content, vitamin C content and cytotoxicity of *Carissa carandas* Linn.** *CMUJ NS Special Issue on Food and Applied Bioscience* (2014) Vol.13(1) P: 509-517

Wolf R., Wolf D., และ Rvocco V., 1998 **Vitamin E: the radical protector**. P 4: 1-6

Wrolstad, R.E. 1976. Color and pigment analyses in fruit products. *Oregon Agr. Expt. Sta. Bul.* 624

ZHANG Tao, HUANG Hui-ling, ZHANG Shuang, LU Ping, HU Ge, SUO Zhan-wei, JIANG Dai-xun และ MU Xiang. 2009. Differences Between the Concentrations in Rabbit Body Fluid of Berberine Hydrochloride, Chlorogenic Acid, Baicalin, and Their Minimal Inhibitory Concentrations, *ScienceDirect.* 8(9): 1143-1147

“เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน” เข้าถึงเมื่อ 21 มีนาคม 2560 สืบค้นได้จาก <http://thumbs3.ebaystatic.com/d/l225/m/mVRensbHLXOobT6ndWT71xw.jpg>

“โครงสร้างพันธะทางเคมีของวิตามินอี (α – Tocopherol)” เข้าถึงเมื่อ 21 มีนาคม 2560 สืบค้นได้จาก <http://www.siamchemi.com/วิตามินอี>

“โครงสร้างทางเคมีของกรดแกลลิก” เข้าถึงเมื่อ 21 มีนาคม 2560 สืบค้นได้จาก <http://www.themodernembalmer.com/tannin.html>

“โครงสร้างแทนนิน” เข้าถึงเมื่อ 21 มีนาคม 2560 สืบค้นได้จาก <http://www.siamchemi.com/แทนนิน/>

“วิตามินอี” เข้าถึงเมื่อ 21 มีนาคม 2560 สืบค้นได้จาก <http://www.siamchemi.com/วิตามินอี>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- “สูตรโครงสร้างของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH radical)” เข้าถึงเมื่อ 21 มีนาคม 2560 สืบค้นได้จาก <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/d9132?lang=en®ion=TH>
- “ผงแทนนิน” เข้าถึงเมื่อ 21 มีนาคม 2560 สืบค้นได้จาก <http://www.siamchemi.com/แทนนิน/>
- Durst, R.W. และ Wrolstad, R.E. 2001. “โครงสร้างของแอนโทไซยานิน” เข้าถึงเมื่อ 21 มีนาคม 2560 สืบค้นได้จาก <http://ejournals.swu.ac.th/index.php/SWUJournal/article/view/1826>
- Farkas, O., Jakus, J. and herberger, K. 2004. Quantitative Structure-Antioxidant Activity Relationship of Flavonoid compounds. *Molecules*, 9:1079-1088.
- “*Staphylococcus epidermidis*” เข้าถึงเมื่อ 21 มีนาคม 2560 สืบค้นได้จาก http://faculty.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanua/lab6/images/Sepiderm01_scale.jpg
- “*Bacillus cereus* (spore forming bacteria)” เข้าถึงเมื่อ 21 มีนาคม 2560 สืบค้นได้จาก <http://www.foodnetworksolution.com/uploaded/bacillus%20cereus.jpg>
- “*Salmonella* spp.” เข้าถึงเมื่อ 21 มีนาคม 2560 สืบค้นได้จาก http://4.bp.blogspot.com/_9tDQLoihz18/TUj8ygVdZ-I/AAAAAAAAAoE/8PTVklrfljs/s1600/salmonella_T.jpg
- “*Yersinia enterocolitica*” เข้าถึงเมื่อ 21 มีนาคม 2560 สืบค้นได้จาก <http://odpc3.ddc.moph.go.th/DataCenter/outbreak2/agentinformation.php?idagg=14>
- “*Pseudomonas aeruginosa*” เข้าถึงเมื่อ 21 มีนาคม 2560 สืบค้นได้จาก <http://i2.cdn.turner.com/cnn/dam/assets/130916171000-multi-drug-resistant-pseudomonas-aeruginosa-horizontal-gallery.jpg>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

สูตรอาหาร

Nutrient Broth (NB)

เป็นอาหารสำเร็จรูป ปริมาตรที่ใช้ 13 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม

Nutrient Agar (NA)

ใช้อาหาร NB ปริมาตร 13 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร แล้วเติม Agar 15 กรัม

Mueller Hinton Agar (MHA)

เป็นอาหารสำเร็จรูป ปริมาตรที่ใช้ 38 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

Beef infusion	300	กรัม
Casamino Acid	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar	17	กรัม

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารละลาย

1. การเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ DPPH Radical Scavenging Assay

การเตรียมสารละลายตัวอย่างในเอทานอลของสารสกัด 3 ชนิด ได้แก่ ใบ เนื้อผล และเมล็ด จากมะม่วงหาวมะนาวโห่ ทำการเตรียม 95% Ethanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด Micro tube 1 หลอด และปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด ต่อสารสกัด 1 ชนิด แล้วทำการระบุความเข้มข้นของสารสกัดไว้ที่หลอดคือ 10, 5, 2.5, 1.25 และ 0.625 โดยหลอด Micro tube ที่มี 95% Ethanol 1 มิลลิลิตร จะระบุความเข้มข้นที่ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และชั่งสารสกัดหยาบ 10 มิลลิกรัม ใส่ในหลอด Micro tube ผสมให้เข้ากัน จากนั้นทำการเจือจางโดยลดความเข้มข้นลงทีละครั้ง โดยใช้ไมโครปิเปตดูดมาปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด Micro tube ที่ระบุความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มี 95% Ethanol ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จะได้ปริมาตรสุทธิ 1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางต่อจะได้ความเข้มข้น 2.5 1.25, 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

1.1 การเตรียมสารละลาย DPPH ใน Absolute Ethanol

การเตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 ไมโครโมล โดยชั่ง DPPH 0.0039 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

หมายเหตุ

1. ควรเตรียมก่อนใช้
2. คำนวณความเข้มข้นของ DPPH (น้ำหนักโมเลกุลของ DPPH = 394.33)

$$\begin{aligned} \text{น้ำหนักสาร (g)} &= 1 \times 10^{-4} \text{ mole/L} \times 394.33 \text{ g/mole} \\ &= 0.039 \text{ g/L} \end{aligned}$$

ถ้าต้องการเตรียม DPPH ให้มีความเข้มข้น 1×10^{-4} mole จำนวน 100 มิลลิลิตร

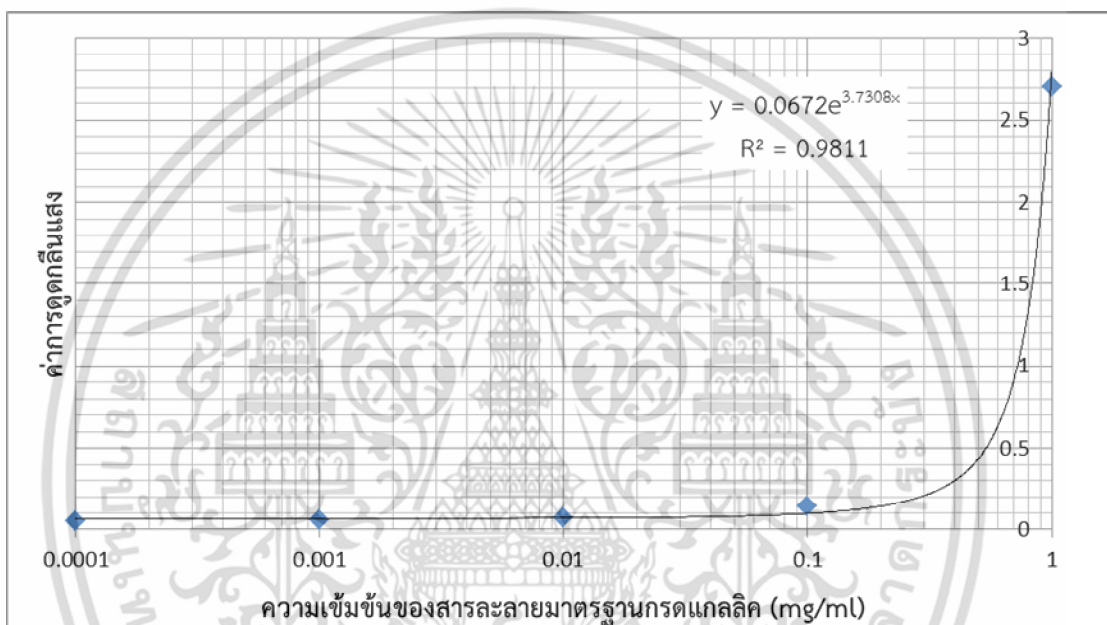
$$\begin{aligned} \text{จะต้องชั่ง DPPH} &= (0.039 \text{ g} \times 100 \text{ mL}) / 1000 \text{ mL} \\ &= 0.0039 \text{ g} \end{aligned}$$

1.2 การเตรียมสารละลายวิตามินอี (α-Tocopherol)

เตรียมสารละลายวิตามินอี หรือ Alpha-tocopherol ความเข้มข้น 50 ไมโครโมล โดยทำการชั่งวิตามินอี 0.00215 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

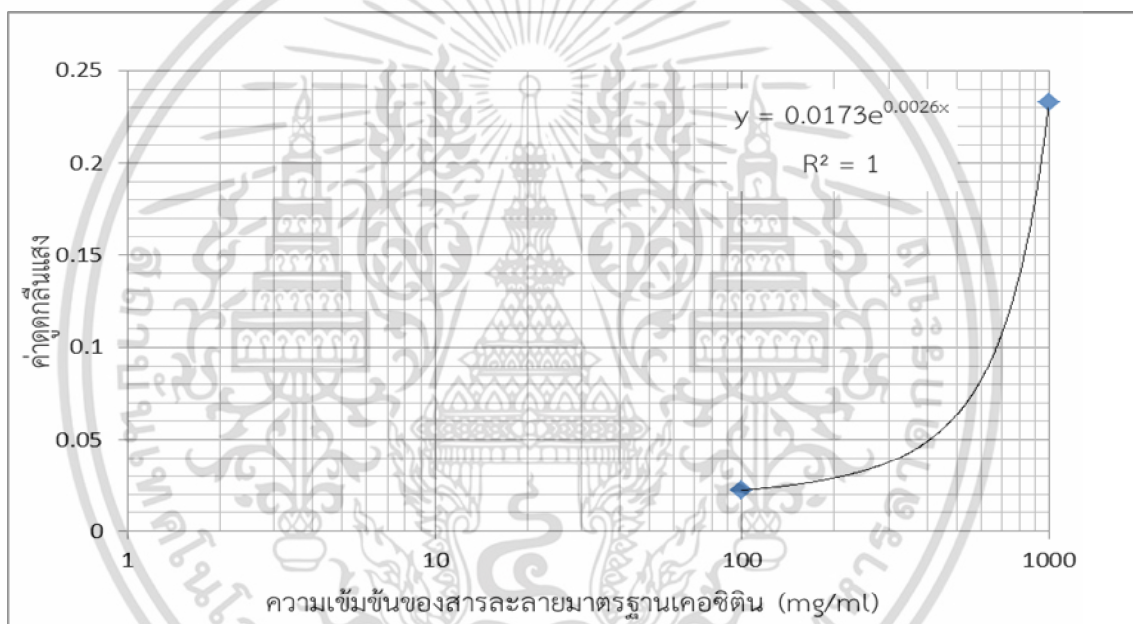
เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 1 , 0.1 , 0.01 , 0.001 และ 0.0001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปิดสารละลายมาตรฐานแกลลิกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ลงใน well plate ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เติมน้ำ Folin-Ciocalteu ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงใน well plate ผสมให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่น 10 ไมโครลิตรลงในแต่ละ well plate ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงกับปริมาณแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม



รูปภาคผนวก ข ที่ 1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

3. การเตรียมสารละลายมาตรฐานของควอซิทิน

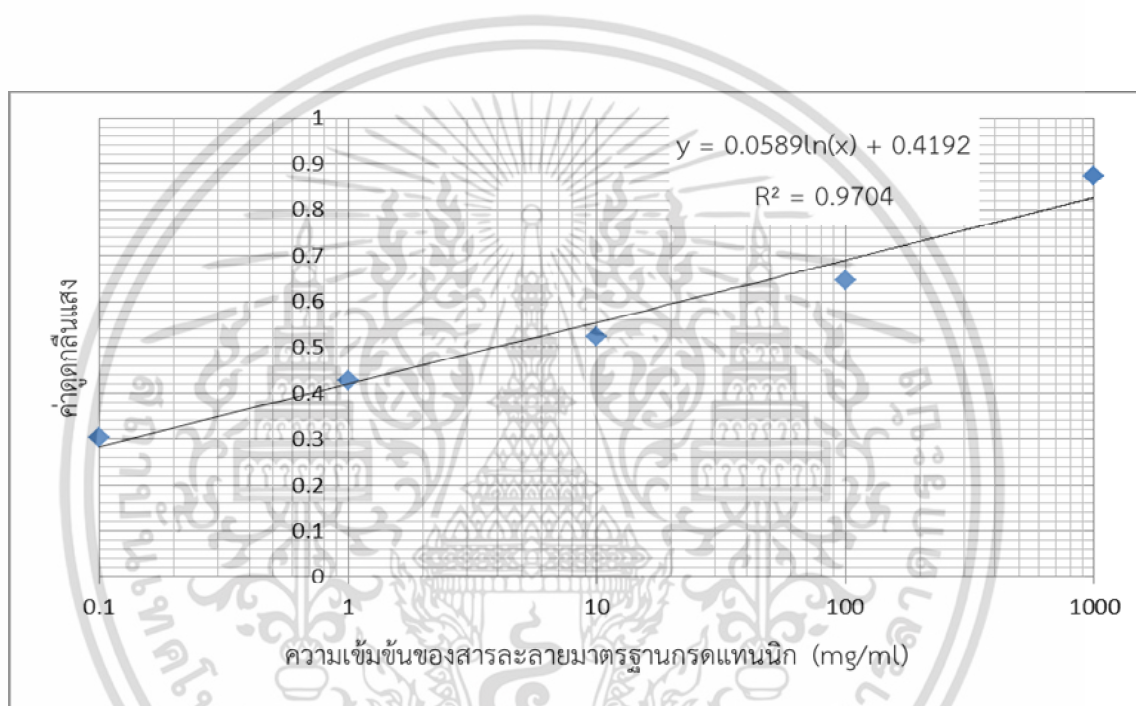
ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของควอซิทิน ที่ระดับความเข้มข้น 1 ถึง 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตรในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลงไป ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตรและน้ำกลั่นปริมาตร 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของควอซิทินจากนั้นรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด



รูปภาคผนวก ข ที่ 2 กราฟมาตรฐานของของควอซิทิน

4. การเตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิก

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิก ความเข้มข้น 1000, 100, 10, 1 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 7.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายโพลิน-เดนนิช ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร พร้อมทั้งผสมให้เข้ากัน จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น แล้วผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นั้นมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบแทนนินต่อกรัมของสารสกัด



รูปภาคผนวก ข ที่ 3 กราฟมาตรฐานของของกรดแทนนิก

ภาคผนวก ค

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

1. Agar Well Diffusion Method

การวิเคราะห์ผลทางชีววิทยาโดยวิธี Agar Well Diffusion เป็นวิธีการวิเคราะห์ปริมาณของสารชีวภาพโดยอาศัยหลักการแพร่ ซึ่งทั่วไปนิยมใช้อาหาร NA แล้วตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็ง ทำการเจาะรูแล้วหยอดสารที่ต้องการวิเคราะห์ลงในแต่ละหลุม โดยสารที่ต้องการวิเคราะห์จะแพร่กระจายเข้าสู่อาหารแข็งและเกิดบริเวณใสรอบๆ หลุม

วิธีการทำ Agar Well Diffusion Method

1. เชื้อเชื้อที่ทดสอบใส่ในน้ำเกลือที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ให้มีความขุ่นเทียบเท่ากับ McFarland 0.5 ซึ่งจะได้เชื้อประมาณ 1.5×10^8 colony forming unit/ml (CFU/ml) และนำมาใช้ ภายใน 15 นาที

2. ใช้ไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุ่มเชื้อที่ละลายในน้ำเกลือ จากนั้นทำการ swab เชื้อลงบนอาหารแข็งให้ทั่วผิวหน้าของอาหาร

3. ทำการเจาะอาหารด้วย Cork borer ที่มีขนาดกว้าง 6 มิลลิเมตร แล้วเชียวุ่นออกให้เป็นหลุม

4. หยดสารที่ต้องการทดสอบ 20 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม

5. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาแล้วจึงวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส

การเตรียม McFarland NO. 0.5

1. เตรียมสารละลายแบเรียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.048 โมลต่อลิตร

2. เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.18 โมลต่อลิตร

3. นำสารละลายแบเรียมคลอไรด์ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 99.5 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ง
การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

1. ค่าวิเคราะห์ทางสถิติของ DPPH Radical Scavenging จากสารสกัดหยาบจากใบ ^{ผู้}เนือผล และเมล็ดจากมะม่วงทางมะนาวโห่

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	50.559395	8.0086983	4.6238241	30.664685	70.454104	43.1145	59.0326
	3	78.734781	1.3536100	.7815071	75.372228	82.097335	77.1718	79.5163
	3	80.873643	3.0150029	1.7407127	73.383960	88.363325	77.4186	82.9714
	3	81.408358	1.9678963	1.1361655	76.519833	86.296883	79.1461	82.7246
	3	82.930240	.6332183	.3655888	81.357239	84.503242	82.2310	83.4650
Total	15	74.901283	13.1142403	3.3860823	67.638859	82.163708	43.1145	83.4650
เนือผล	3	4.080290	1.4194993	.8195483	.554058	7.606521	2.6407	5.4788
	3	6.342547	.5654708	.3264747	4.937839	7.747254	5.8490	6.9595
	3	13.417243	2.4379140	1.4075303	7.361128	19.473357	10.7848	15.5972
	3	19.463639	.4986984	.2879237	18.224804	20.702475	19.1757	20.0395
	3	29.458704	4.3282463	2.4989141	18.706744	40.210663	24.9753	33.6130

Total	15	14.552484	9.7414495	2.5152314	9.157849	19.947119	2.6407	33.6130
เมล็ด	3	8.440276	2.0758396	1.1984865	3.283605	13.596948	6.0958	10.0444
1.25	3	11.895360	.6169793	.3562131	10.362699	13.428022	11.2784	12.5123
2.5	3	17.859493	.4986984	.2879237	16.620658	19.098329	17.3248	18.3119
5	3	30.157947	2.2853232	1.3194320	24.480889	35.835004	27.9368	32.5025
10	3	46.487331	.0712426	.0411319	46.310355	46.664308	46.4462	46.5696
Total	15	22.968082	14.4275534	3.7251783	14.978369	30.957794	6.0958	46.5696

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ไ้	2249.096	4	562.274	35.437	.000
Between Groups	158.671	10	15.867		
Within Groups	2407.766	14			
Total	1274.021	4	318.505	58.419	.000
Between Groups	54.521	10	5.452		
Within Groups	1328.542	14			
Total	2893.828	4	723.457	355.813	.000
Between Groups	20.333	10	2.033		
Within Groups	2914.160	14			
Total					

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำข้อมูลไปใช้ในการค้า
 ไม่ว่าการณ์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ใบ

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0.625	3	50.559395	
1.25	3		78.734781
2.5	3		80.873643
5	3		81.408358
10	3		82.930240
Sig.		1.000	.256

เนื้อผล

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0.625	3	4.080290			
1.25	3	6.342547			
2.5	3		13.417243		
5	3			19.463639	
10	3				29.458704
Sig.		.263	1.000	1.000	1.000

เมล็ด

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0.625	3	8.440276				
1.25	3		11.895360			
2.5	3			17.859493		
5	3				30.157947	
10	3					46.487331
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดของมะม่วงหาวมะนาวโห่
 2.1 เที่ยบบกับน้ำหนักสารสกัด

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	.408800	.0320557	.0185074	.329169	.488431	.3796	.4431
เนื้อผล	3	.371600	.0778909	.0449704	.178108	.565092	.2896	.4446
เมล็ด	3	.068000	.0126440	.0073000	.036591	.099409	.0534	.0753
Total	9	.282800	.1674105	.0558035	.154117	.411483	.0534	.4446

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.210	2	.105	43.360	.000
Within Groups	.015	6	.002		
Total	.224	8			

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

Duncan^a

	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เมล็ด	3		
เนื้อผล	3	.068000	
ใบ	3		
Sig.		1.000	.390

2.2 เทียบกับน้ำหนักแห้ง

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	12.967133	1.0168548	.5870814	10.441126	15.493141	12.0409	14.0552
เนื้อผล	3	9.855767	2.0875014	1.2052195	4.670126	15.041408	7.6541	11.8064
เมล็ด	3	2.194567	.4081289	.2356333	1.180718	3.208415	1.7233	2.4302
Total	9	8.339156	4.9439260	1.6479753	4.538918	12.139393	1.7233	14.0552

ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.040	2	.020	5444.486	.000
Within Groups	.000	12	.000		
Total	.040	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan^a

	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
เมล็ด	3	2.194567		
เนื้อผล	3		9.855767	
ใบ	3			12.967133
Sig.		1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ค่าทางสถิติของการวิเคราะห์หาค่าปริมาตรสารปลาไว้นอยด้อยในสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดจากมังคุดทางมะนาวไว้
3.1 เที่ยบกับน้ำหนักสารสกัดแห้ง

Descriptives								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	5	994.802400	2.4799037	1.1090466	991.723193	997.881607	991.7843	998.4734
เนื้อผล	5	734.474500	6.7335163	3.0113200	726.113735	742.835265	728.5483	741.6988
เมล็ด	5	754.991500	6.8018243	3.0418683	746.545920	763.437080	744.9174	760.6182
Total	15	828.089467	122.4431075	31.6146744	760.282734	895.896200	728.5483	998.4734

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	209501.384	2	104750.692	3214.691	.000
Within Groups	391.020	12	32.585		
Total	209892.404	14			

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

Duncan^a

	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
เนื้อผล	5	734.474500	754.991500	994.802400
เมล็ด	5			
ใบ	5			
Sig.		1.000	1.000	1.000

3.2 เทียบกับน้ำหนักแห้ง

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean			Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound			
ใบ	5	31555.132100	78.6625892	35.1789793	31457.459595	31652.804605	31459.3979	31671.5763	
เนื้อผล	5	19503.970380	178.8085600	79.9656190	19281.950228	19725.990532	19346.6001	19695.8117	
เมล็ด	5	24366.092340	219.5175523	98.1712339	24093.525298	24638.659382	24040.9675	24547.6847	
Total	15	25141.731607	5126.4981231	1323.6561237	22302.771573	27980.691640	19346.6001	31671.5763	

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

Duncan^a

	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
เนื้องอก	5	19503.970380	24366.092340	31555.132100
เมล็ด	5			
ใบ	5			
Sig.		1.000	1.000	1.000

4. ค่าทางสถิติของการวิเคราะห์ปริมาณสารแทนนินในสารสกัดจากใบ เนื้องอก และเมล็ดจากมะม่วงทวายมะนาวไท่

4.1 เที่ยบบกับน้ำหนักสารสกัด

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	1.510367	.1337119	.0771986	1.178208	1.842525	1.3996	1.6589
เนื้องอก	3	.225733	.0328990	.0189942	.144008	.307459	.1888	.2519
เมล็ด	3	189.494233	18.7533706	10.8272635	142.908278	236.080188	167.9958	202.4911
Total	9	63.743444	94.7797217	31.5932406	-9.110699	136.597588	.1888	202.4911

ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	71162.150	2	35581.075	303.500	.000
Within Groups	703.416	6	117.236		
Total	71865.565	8			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan^a

	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เนื้อผล	3	.225733	189.494233
ใบ	3	1.510367	
เมล็ด	3		
Sig.		.889	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 เที่ยบบัญชีน้ำหนักแห้ง

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	47.904467	4.2343400	2.4446973	37.385783	58.423150	44.3953	52.6076
เนื้อผล	3	6.246633	1.0819136	.6246431	3.559011	8.934256	5.0136	7.0371
เมล็ด	3	6397.569733	914.8211368	528.1722296	4125.028048	8670.111419	5421.7844	7235.8621
Total	9	2150.573611	3217.9735271	1072.6578424	-322.979809	4624.127031	5.0136	7235.8621

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	81168995.342	2	40584497.671	145.479	.000
Within Groups	1673833.625	6	278972.271		
Total	82842828.967	8			

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

Duncan^a

	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เนื้อผล	3	6.246633	
ใบ	3	47.904467	
เมล็ด	3		6397.569733
Sig.		.926	1.000

5 ค่าทางสถิติของการวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่
5.1 เทียบกับน้ำหนักสารสกัด

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	.893667	.4505311	.2601143	-.225515	2.012848	.3806	1.2247
เนื้อผล	3	.375100	.0782405	.0451722	.180740	.569460	.3144	.4634
เมล็ด	3	.430267	.0596996	.0344676	.281965	.578569	.3806	.4965
Total	9	.566344	.3376430	.1125477	.306809	.825880	.3144	1.2247

ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.487	2	.243	3.433	.101
Within Groups	.425	6	.071		
Total	.912	8			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Duncan^a

	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
เนื้อผล	3		.375100
เมล็ด	3		.430267
ใบ	3		.893667
Sig.			.061

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 เที่ยบบัญชีน้ำหนักแห้ง

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	28.347100	14.2908709	8.2508382	-7.153391	63.847591	12.0726	38.8475
เนื้อผล	3	9.960800	2.0776731	1.1995451	4.799574	15.122026	8.3489	12.3056
เมล็ด	3	13.886133	1.9267095	1.1123863	9.099921	18.672345	12.2832	16.0237
Total	9	17.398011	11.1079908	3.7026636	8.859654	25.936369	8.3489	38.8475

ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	562.584	2	281.292	3.976	.080
Within Groups	424.516	6	70.753		
Total	987.100	8			

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

Duncan^a

	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เนื้อผล	3	9.960800	
เมล็ด	3	13.886133	13.886133
ใบ	3		28.347100
Sig.		.588	.080

6. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงหาวพาน้ำที่ทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์

6.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงหาวพาน้ำที่ทดสอบกับเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25299

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
3.125	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
6.25	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
12.5	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000

25	3	11.500000	.4330127	.2500000	10.424337	12.575663	11.2500	12.0000
50	3	14.500000	.5000000	.2886751	13.257931	15.742069	14.0000	15.0000
Gen	3	28.750000	.0000000	.0000000	28.750000	28.750000	28.7500	28.7500
Ethanol	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	21	11.250000	8.0070282	1.7472768	7.605244	14.894756	6.0000	28.7500

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เนื้อผล	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
200	3	15.250000	.9013878	.5204165	13.010829	17.489171	14.2500	16.0000
Gen	3	28.250000	.4330127	.2500000	27.174337	29.325663	28.0000	28.7500
Ethanol	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	15	12.300000	9.0574555	2.3386250	7.284148	17.315852	6.0000	28.7500
เมล็ด	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
200	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Gen	3	27.083333	.1443376	.0833333	26.724779	27.441888	27.0000	27.2500

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ethanol	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.000000	6.0000
Total	15	10.216667	8.7294998	2.2539472	5.382431	15.050903	6.0000	27.2500

ANOVA								
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.			
Between Groups	1281.375	6	213.563	3417.000	.000			
Within Groups	.875	14	.063					
Total	1282.250	20						

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1146.525	4	286.631	1433.156	.000
Within Groups	2.000	10	.200		
Total	1148.525	14			
Between Groups	1066.817	4	266.704	64009.000	.000
Within Groups	.042	10	.004		
Total	1066.858	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่งไปไว้ใช้สำหรับเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าการณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

ใบ

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
3.125	3	6.000000			
6.25	3	6.000000			
12.5	3	6.000000			
Ethanol	3	6.000000			
25	3		11.500000		
50	3			14.500000	
Gen	3				28.750000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

เนื่อผล

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
50	3	6.000000		
100	3	6.000000		
Ethanol	3	6.000000		
200	3		15.250000	
Gen	3			28.250000
Sig.		1.000	1.000	1.000

เมล็ด

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50	3	6.000000	
100	3	6.000000	
200	3	6.000000	
Ethanol	3	6.000000	
Gen	3		27.083333
Sig.		1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหายจากใบ เนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงทางมะนาวที่ทดสอบกับเชื้อ *Staphylococcus epidermidis*

ATCC 1228

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
100	3	9.333333	.1443376	.0833333	8.974779	9.691888	9.2500	9.5000
200	3	11.666667	.1443376	.0833333	11.308112	12.025221	11.5000	11.7500
Gen	3	40.000000	.5000000	.2886751	38.757931	41.242069	39.5000	40.5000
Ethanol	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	15	14.600000	13.3332292	3.4426250	7.216304	21.983696	6.0000	40.5000
เนื้อผล	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
200	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Gen	3	39.666667	.2886751	.1666667	38.949558	40.383775	39.5000	40.0000
Ethanol	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	15	12.733333	13.9397513	3.5992283	5.013756	20.452910	6.0000	40.0000
เมล็ด	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000

200	3	6.000000	.00000000	.00000000	6.000000	6.000000	6.000000	6.0000
Gen	3	39.6666667	.2886751	.16666667	38.949558	40.383775	39.5000	40.0000
Ethanol	3	6.000000	.00000000	.00000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	15	12.7333333	13.9397513	3.5992283	5.013756	20.452910	6.0000	40.0000

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ไป					
Between Groups	2488.267	4	622.067	10664.000	.000
Within Groups	.583	10	.058		
Total	2488.850	14			
เนื้อผลไม้					
Between Groups	2720.267	4	680.067	40804.000	.000
Within Groups	.167	10	.017		
Total	2720.433	14			
เมล็ด					
Between Groups	2720.267	4	680.067	40804.000	.000
Within Groups	.167	10	.017		
Total	2720.433	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้งานเพื่อศึกษาเท่านั้น ไม่ควรนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าการใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

ใบ

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
50	3	6.000000			
Ethanol	3	6.000000			
100	3		9.333333		
200	3			11.666667	
Gen	3				40.000000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

เนื้อผล

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50	3	6.000000	
100	3	6.000000	
200	3	6.000000	
Ethanol	3	6.000000	
Gen	3		39.666667
Sig.		1.000	1.000

เมล็ด

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50	3	6.000000	
100	3	6.000000	
200	3	6.000000	
Ethanol	3	6.000000	
Gen	3		39.666667
Sig.		1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงทางมะนาวไฟที่ทดสอบกับเชื้อ *Yersinia enterocolitica*

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3.125	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	6.25	9.916667	.5204165	.3004626	8.623880	11.209453	9.5000	10.5000
	12.5	11.000000	.7500000	.4330127	9.136897	12.863103	10.2500	11.7500
	25	12.833333	.5773503	.3333333	11.399116	14.267551	12.5000	13.5000
	50	15.250000	.2500000	.1443376	14.628966	15.871034	15.0000	15.5000
	Gen	36.583333	.3818813	.2204793	35.634688	37.531979	36.2500	37.0000
	Ethanal	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
เมล็ด	Total	13.940476	10.0062183	2.1835358	9.385700	18.495252	6.0000	37.0000
	3.125	9.416667	.5204165	.3004626	8.123880	10.709453	9.0000	10.0000
	6.25	9.500000	.5000000	.2886751	8.257931	10.742069	9.0000	10.0000
	12.5	10.750000	.2500000	.1443376	10.128966	11.371034	10.5000	11.0000
	25	12.250000	.2500000	.1443376	11.628966	12.871034	12.0000	12.5000
	50	15.583333	1.0103630	.5833333	13.073453	18.093214	15.0000	16.7500
	Gen	33.666667	2.8867513	1.6666667	26.495579	40.837755	32.0000	37.0000
Ethanal	Total	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	Total	13.880952	8.7869289	1.9174651	9.881190	17.880714	6.0000	37.0000

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
200	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
100	3	12.416667	.9464847	.5464532	10.065468	14.767865	11.7500	13.5000
50	3	16.166667	.2886751	.1666667	15.449558	16.883775	16.0000	16.5000
Gen	3	36.500000	.0000000	.0000000	36.500000	36.500000	36.5000	36.5000
Ethanol	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	15	15.416667	11.6380175	3.0049232	8.971747	21.861586	6.0000	36.5000

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	1999.738	6	333.290	1696.747	.000
Within Groups	2.750	14	.196		
Total	2002.488	20			
เมล็ด	1524.202	6	254.034	177.824	.000
Within Groups	20.000	14	1.429		
Total	1544.202	20			

ANOVA

เนื้อผล

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1894.250	4	473.563	2418.191	.000
Within Groups	1.958	10	.196		
Total	1896.208	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ใบ

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
3.125	3	6.000000					
Ethanal	3	6.000000					
6.25	3		9.916667				
12.5	3			11.000000			
25	3				12.833333		
50	3					15.250000	
Gen	3						36.583333
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

เมล็ด

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Ethanal	3	6.000000				
3.125	3		9.416667			
6.25	3		9.500000			
12.5	3		10.750000	10.750000		
25	3			12.250000		
50	3				15.583333	
Gen	3					33.666667
Sig.		1.000	.215	.147	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อผล

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
200	3	6.000000			
Ethanol	3	6.000000			
100	3		12.416667		
50	3			16.166667	
Gen	3				36.500000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.4 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงทางมะนาวไฟที่ทดสอบกับเชื้อ *Salmonella typhimurium* DMST

0526

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ								
3.125	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
6.25	3	7.000000	.2500000	.1443376	6.378966	7.621034	6.7500	7.2500
12.5	3	7.500000	.2500000	.1443376	6.878966	8.121034	7.2500	7.7500
25	3	8.000000	.0000000	.0000000	8.000000	8.000000	8.0000	8.0000
50	3	8.666667	.1443376	.0833333	8.308112	9.025221	8.5000	8.7500
Gen	3	31.000000	1.7320508	1.0000000	26.697347	35.302653	30.0000	33.0000
Ethanol	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	21	10.595238	8.6050407	1.8777738	6.678271	14.512206	6.0000	33.0000
เมล็ด								
3.125	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
6.25	3	9.666667	.2886751	.1666667	8.949558	10.383775	9.5000	10.0000
12.5	3	12.500000	.0000000	.0000000	12.500000	12.500000	12.5000	12.5000
25	3	13.916667	.1443376	.0833333	13.558112	14.275221	13.7500	14.0000
50	3	15.416667	.1443376	.0833333	15.058112	15.775221	15.2500	15.5000
Gen	3	31.333333	2.4664414	1.4240006	25.206353	37.460314	28.5000	33.0000
Ethanol	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	21	13.547619	8.2540214	1.8011751	9.790434	17.304805	6.0000	33.0000

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
50	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
200	3	13.500000	.0000000	.0000000	13.500000	13.500000	13.5000	13.5000
Gen	3	30.833333	.1443376	.0833333	30.474779	31.191888	30.7500	31.0000
Ethanol	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	15	12.466667	9.9699847	2.5742390	6.945473	17.987860	6.0000	31.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	1474.643	6	245.774	546.887	.000
	Within Groups	6.292	14	.449		
	Total	1480.935	20			
เมล็ด	Between Groups	1350.161	6	225.027	253.721	.000
	Within Groups	12.417	14	.887		
	Total	1362.577	20			

ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1391.567	4	347.892	83494.000	.000
Within Groups	.042	10	.004		
Total	1391.608	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ใบ

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
3.125	3	6.000000			
Ethanol	3	6.000000			
6.25	3	7.000000	7.000000		
12.5	3		7.500000	7.500000	
25	3		8.000000	8.000000	
50	3			8.666667	
Gen	3				31.000000
Sig.		.104	.104	.061	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมลิ็ด

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
3.125	3	6.000000				
Ethanol	3	6.000000				
6.25	3		9.666667			
12.5	3			12.500000		
25	3			13.916667	13.916667	
50	3				15.416667	
Gen	3					31.333333
Sig.		1.000	1.000	.087	.071	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.5 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงทางมะนาวไฟที่ทดสอบกับเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 678

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
6.25	3	9.333333	.2886751	.1666667	8.616225	10.050442	9.0000	9.5000
12.5	3	10.250000	.2500000	.1443376	9.628966	10.871034	10.0000	10.5000
25	3	11.166667	.2886751	.1666667	10.449558	11.883775	11.0000	11.5000
50	3	14.250000	.2500000	.1443376	13.628966	14.871034	14.0000	14.5000
Gen	3	33.166667	.5773503	.3333333	31.732449	34.600884	32.5000	33.5000
Ethanal	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	18	14.027778	9.1622984	2.1595744	9.471474	18.584082	6.0000	33.5000

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เนื้อผล	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
6.25	3	7.083333	.3818813	.2204793	6.134688	8.031979	6.7500	7.5000
12.5	3	7.583333	.1443376	.0833333	7.224779	7.941888	7.5000	7.7500
25	3	11.166667	.2886751	.1666667	10.449558	11.883775	11.0000	11.5000
50	3	11.833333	.7637626	.4409586	9.936042	13.730625	11.0000	12.5000
Gen	3	33.000000	.8660254	.5000000	30.848674	35.151326	32.0000	33.5000
Ethanol	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	21	11.809524	9.1504456	1.9967909	7.644291	15.974757	6.0000	33.5000
เมล็ด	3	8.166667	.2886751	.1666667	7.449558	8.883775	8.0000	8.5000
6.25	3	9.500000	.0000000	.0000000	9.500000	9.500000	9.5000	9.5000
12.5	3	11.500000	.0000000	.0000000	11.500000	11.500000	11.5000	11.5000
25	3	11.833333	.2886751	.1666667	11.116225	12.550442	11.5000	12.0000
50	3	12.833333	.2886751	.1666667	12.116225	13.550442	12.5000	13.0000
Gen	3	33.000000	.0000000	.0000000	33.000000	33.000000	33.0000	33.0000
Ethanol	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	21	13.261905	8.5551433	1.8668853	9.367650	17.156159	6.0000	33.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

ใบ

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1425.861	5	285.172	2737.653	.000
Within Groups	1.250	12	.104		
Total	1427.111	17			

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
เนื้อผล	Between Groups	1671.446	6	278.574	1231.592	.000
	Within Groups	3.167	14	.226		
	Total	1674.613	20			
เมล็ด	Between Groups	1463.310	6	243.885	6828.778	.000
	Within Groups	.500	14	.036		
	Total	1463.810	20			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ใบ

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Ethanol	3	6.000000					
6.25	3		9.333333				
12.5	3			10.250000			
25	3				11.166667		
50	3					14.250000	
Gen	3						33.166667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อหาผล

Duncan ^a		N	Subset for alpha = 0.05			
ความเข้มข้น			1	2	3	4
3.125	3	6.000000				
Ethanol	3	6.000000				
6.25	3		7.083333			
12.5	3		7.583333			
25	3			11.166667		
50	3			11.833333		
Gen	3	1.000	.219	.108		
Sig.					33.000000	
					1.000	

เมล็ด

Duncan ^a		N	Subset for alpha = 0.05			
ความเข้มข้น			1	2	3	4
Ethanol	3	6.000000				
3.125	3		8.166667			
6.25	3			9.500000		
12.5	3				11.500000	
25	3				11.833333	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสาร การนำข้อมูลไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย

200	3	13.416667	.5204165	.3004626	12.123880	14.709453	13.0000	14.0000
Gen	3	29.000000	1.0000000	.5773503	26.515862	31.484138	28.0000	30.0000
Ethanol	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	18	11.069444	8.7177159	2.0547853	6.734226	15.404663	6.0000	30.0000
เมล็ด	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
50	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
100	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
200	3	15.333333	.7637626	.4409586	13.436042	17.230625	14.5000	16.0000
Gen	3	30.233333	.6429101	.3711843	28.636256	31.830410	29.5000	30.7000
Ethanol	3	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
Total	18	11.594444	9.2727604	2.1856106	6.983209	16.205680	6.0000	30.7000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ					
Between Groups	1420.069	5	284.014	1573.000	.000
Within Groups	2.167	12	.181		
Total	1422.236	17			
เนื้อผล					
Between Groups	1289.434	5	257.887	1217.564	.000
Within Groups	2.542	12	.212		
Total	1291.976	17			
เมล็ด					
Between Groups	1459.736	5	291.947	1757.542	.000
Within Groups	1.993	12	.166		
Total	1461.729	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้ภายในเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

ใบ

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
25	3	6.000000	
50	3	6.000000	
100	3	6.000000	
200	3	6.000000	
Ethanol	3	6.000000	
Gen	3		29.833333
Sig.		1.000	1.000

เนื้อผล

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
25	3	6.000000		
50	3	6.000000		
100	3	6.000000		
Ethanol	3	6.000000		
200	3		13.416667	
Gen	3			29.000000
Sig.		1.000	1.000	1.000

เมล็ด

Duncan^a

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
25	3	6.000000		
50	3	6.000000		
100	3	6.000000		
Ethanol	3	6.000000		
200	3		15.333333	
Gen	3			30.233333
Sig.		1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์และสงวนสิทธิ์ในเนื้อหาและข้อมูลทั้งหมดไว้เป็นของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ข้อมูลผลการทดลอง

1. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อหาร้อยละของการดักจับอนุภาคนิวเคลียร์จากสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่

ตารางภาคผนวก จ ที่ 1.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากใบ

ความเข้มข้น (มก/มล)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% DPPH Reduction
	1	2	3	เฉลี่ย	
0.625	0.461	0.332	0.409	0.401	50.56
1.25	0.166	0.166	0.185	0.171	78.73
2.5	0.138	0.183	0.144	0.155	80.87
5	0.143	0.169	0.140	0.151	81.41
10	0.144	0.137	0.134	0.138	82.93

ตารางภาคผนวก จ ที่ 1.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากเนื้อผล

ความเข้มข้น (มก/มล)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% DPPH Reduction
	1	2	3	เฉลี่ย	
0.625	0.761	0.736	0.729	0.742	4.08
1.25	0.714	0.714	0.709	0.712	6.34
2.5	0.670	0.662	0.665	0.666	13.42
5	0.567	0.547	0.584	0.566	19.46
10	0.434	0.433	0.434	0.434	29.46

ตารางภาคผนวก จ ที่ 1.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากเมล็ด

ความเข้มข้น (มก/มล)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				% DPPH Reduction
	1	2	3	เฉลี่ย	
0.625	0.777	0.766	0.789	0.775	8.44
1.25	0.760	0.763	0.754	0.759	11.89
2.5	0.723	0.698	0.684	0.702	17.86
5	0.655	0.648	0.655	0.653	30.16
10	0.569	0.608	0.538	0.572	46.49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ ที่ 1.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของวิตามินอี

ความเข้มข้น (มก/มล)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว คลื่น 517นาโนเมตร	% DPPH Reduction
2.5	0.28	84.88

2. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดหยาบจากใบ
เนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่

ตารางภาคผนวก จ ที่ 2.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของสารสกัด
หยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ด

สารสกัดหยาบ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 765 นาโนเมตร			เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
ใบ	0.351	0.277	0.303	0.3103
เนื้อผล	0.278	0.353	0.198	0.2763
เมล็ด	0.082	0.089	0.089	0.0867

ตารางภาคผนวก จ ที่ 2.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของ
สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

ความเข้มข้น (มก/มล)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 765 นาโนเมตร
0.0001	0.0546
0.001	0.0580
0.01	0.0718
0.1	0.1413
1	2.7030

3. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล
และเมล็ดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่

ตารางภาคผนวก จ ที่ 3.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสาร
สกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ด

สารสกัด หยาบ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 510 นาโนเมตร					เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	
ใบ	0.230	0.228	0.229	0.232	0.230	0.230
เนื้อผล	0.115	0.116	0.119	0.119	0.115	0.117
เมล็ด	0.124	0.120	0.125	0.122	0.125	0.123

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ ที่ 3.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของสารละลายมาตรฐานเคอซีติน

ความเข้มข้น (มก/มล)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 510 นาโนเมตร
100	0.0224
1000	0.2328

4. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อหาปริมาณสารประกอบแทนนินจากสารสกัดหยาบจากใบเนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่

ตารางภาคผนวก จ ที่ 4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ด

สารสกัดหยาบ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 700 นาโนเมตร					เฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	
ใบ	0.442	0.449	0.484	0.439	0.457	0.454
เนื้อผล	0.341	0.321	0.299	0.338	0.355	0.331
เมล็ด	0.699	0.732	0.721	0.738	0.760	0.730

ตารางภาคผนวก จ ที่ 4.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก

ความเข้มข้น (มก/มล)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 700 นาโนเมตร
0.1	0.304333
1	0.427
10	0.5238
100	0.6462
1000	0.873

5. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อหาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบจากใบเนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่

ตารางภาคผนวก จ ที่ 5.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงการหาปริมาณแอนโทไซยานิน

สารสกัดหยาบ	$A = (A_{520} - A_{700})_{pH1.0} - (A_{520} - A_{700})_{pH4.5}$			ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
ใบ	0.065	0.074	0.023	0.054
เนื้อผล	0.021	0.019	0.028	0.023
เมล็ด	0.025	0.03	0.023	0.026

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ข้อมูลที่ได้จากการทดลองเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์นินจากสารสกัด
หยาบจากใบ เนื้อผล และเมล็ดจากมะม่วงหาวมะนาวโห่

ตารางภาคผนวก จ ที่ 6.1 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และ
เมล็ด ในการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* ATCC 25299

เชื้อแบคทีเรีย		ความเข้มข้น (มก/มล)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งการเจริญ (มิลลิเมตร)			
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
<i>Escherichia coli</i>	ใบ	50	15.00	14.00	14.50	
		25	12.00	11.25	11.25	
		12.5	6.00	6.00	6.00	
		6.25	6.00	6.00	6.00	
		3.125	6.00	6.00	6.00	
	เนื้อผล	200	16.00	15.50	14.25	
		100	6.00	6.00	6.00	
		50	6.00	6.00	6.00	
		200	6.00	6.00	6.00	
		เมล็ด	100	6.00	6.00	6.00
			50	6.00	6.00	6.00

ตารางภาคผนวก จ ที่ 6.2 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และ
เมล็ด ในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus epidermidis*
ATCC 1228

เชื้อแบคทีเรีย		ความเข้มข้น (มก/มล)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งการเจริญ (มิลลิเมตร)		
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ใบ	200	11.75	11.50	11.75
		100	9.25	9.50	9.25
		50	6.00	6.00	6.00
	เนื้อผล	200	6.00	6.00	6.00
		100	6.00	6.00	6.00
		50	6.00	6.00	6.00
	เมล็ด	200	6.00	6.00	6.00
		100	6.00	6.00	6.00
		50	6.00	6.00	6.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก จ ที่ 6.3 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และ เมล็ด ในการยับยั้งการเจริญของ *Yersinia enterocolitica*

เชื้อแบคทีเรีย		ความเข้มข้น (มก/มล)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งการเจริญ (มิลลิเมตร)			
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ใบ	50	15.25	15.00	15.50	
		25	13.50	12.50	12.50	
		12.5	11.75	11.00	10.25	
		6.25	10.50	9.75	9.50	
		3.125	6.00	6.00	6.00	
	เนื้อผล	200	11.50	11.00	11.00	
		100	12.00	11.00	12.50	
		50	7.50	7.75	7.50	
	เมล็ด	50	15.00	15.00	16.75	
		25	12.50	12.00	12.25	
		12.5	10.50	10.75	10.50	
		6.25	9.25	10.00	9.00	
			3.125	6.00	6.00	6.00

ตารางภาคผนวก จ ที่ 6.4 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และ เมล็ด ในการยับยั้งการเจริญของ *Salmonella typhimurium* DMST 0526

เชื้อแบคทีเรีย		ความเข้มข้น (มก/มล)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งการเจริญ (มิลลิเมตร)		
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
<i>Salmonella typhimurium</i>	ใบ	50	8.50	8.75	8.75
		25	8.00	8.00	8.75
		12.5	7.50	7.75	7.25
		6.25	7.00	7.25	6.75
		3.125	6.00	6.00	6.00
	เนื้อผล	200	13.50	13.50	13.50
		100	6.00	6.00	6.00
		50	6.00	6.00	6.00
		25	6.00	6.00	6.00
	เมล็ด	50	15.50	15.25	15.50
		25	14.00	13.75	14.00
		12.5	12.50	12.50	12.50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้ท่านไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		6.25	9.50	9.50	10.00
		3.125	6.00	6.00	6.00

ตารางภาคผนวก จ ที่ 6.5 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และ เมล็ด ในการยับยั้งการเจริญของ *Bacillus cereus* TISTR 678

เชื้อแบคทีเรีย		ความเข้มข้น (มก/มล)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งการเจริญ (มิลลิเมตร)			
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	
<i>Bacillus cereus</i>	ใบ	50	14.00	14.50	14.25	
		25	11.00	11.00	11.50	
		12.5	10.00	10.50	10.25	
		6.25	9.50	9.50	9.00	
	เนื้อผล	50	11.50	11.00	11.00	
		25	12.00	11.00	12.50	
		12.5	7.50	7.75	7.50	
		6.25	7.50	7.00	6.75	
	เมล็ด	3.125	6.00	6.00	6.00	
		50	12.50	13.00	13.00	
		25	12.00	11.50	12.00	
		12.5	11.50	11.50	11.50	
			6.25	9.50	9.50	9.50
			3.125	8.00	8.50	8.00

ตารางภาคผนวก จ ที่ 6.6 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสารสกัดหยาบจากใบ เนื้อผล และ เมล็ด ในการยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781

เชื้อแบคทีเรีย		ความเข้มข้น (มก/มล)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งการเจริญ (มิลลิเมตร)		
			ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ใบ	200	6.00	6.00	6.00
		100	6.00	6.00	6.00
		50	6.00	6.00	6.00
		25	6.00	6.00	6.00
	เนื้อผล	200	13.00	13.25	14.00
		100	6.00	6.00	6.00
		50	6.00	6.00	6.00
		25	6.00	6.00	6.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	เมล็ด	200	14.50	16.00	15.50
		100	6.00	6.00	6.00
		50	6.00	6.00	6.00
		25	6.00	6.00	6.00



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้