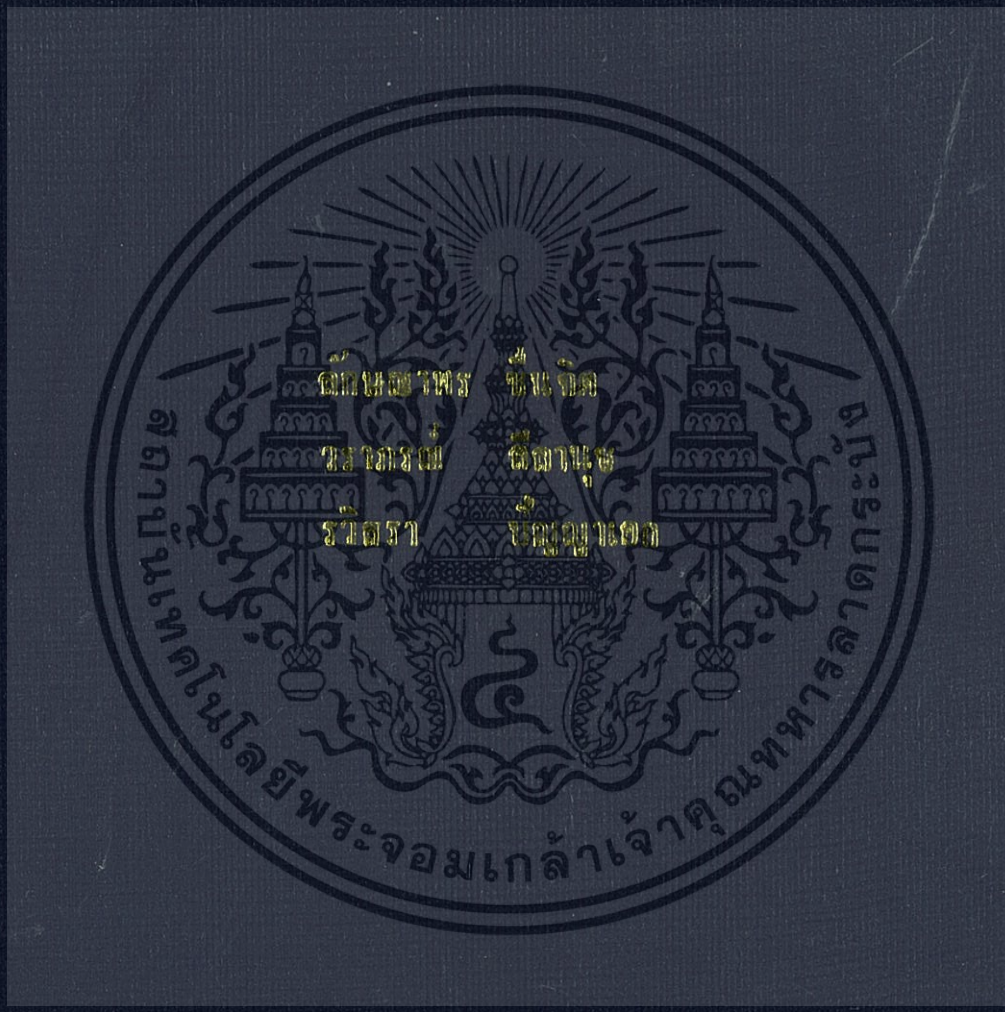


ฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์ของ  
สารสกัดจากส่วนต่างๆของต้นชงโค

Antioxidation Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Crude Extract  
from different parts of *Bauhinia purpurea*



โครงการพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาค้นคว้าทางเทคโนโลยีชีววิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2555

ฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์ของ  
สารสกัดจากส่วนต่างๆของต้นชงโค

Antioxidation Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Crude Extract  
from different parts of *Bauhinia purpurea*



T130311



นางสาวลักษณาพร ชื่นจิต  
นางสาววราภรณ์ ดิลานุช  
นางสาววิสรา ปัญญาเอก

217  
ค 227 ก  
2555

เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน 130311  
วันเดือนปี 4 มิ.ย. 2557

b. 12582359  
i. ....

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2555

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ANTIOXIDATION ANTIMICROBIAL AND CYTOTOXIC  
ACTIVITIES OF CRUDE EXTRACT FROM DIFFERENT PARTS OF  
*Bauhinia purpurea***



**A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF  
SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY PROGRAM  
FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
ACADEMIC YEAR 2012**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ ฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดจากส่วนต่างๆของชงโค

Antioxidation antimicrobial and cytotoxic activities of crude extract from different parts of *Bauhinia purpurea*

ชื่อนักศึกษา นางสาวลักขณาพร ชื่นจิต  
นางสาววรภรณ์ ลีลาบุช  
นางสาววิสรา ปัญญาเอก

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต  
สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.สุทธีจิต ศรีวัชรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ประจำปีการศึกษา 2555

คณะกรรมการตรวจสอบ		ลายมือชื่อ
รศ. สุขใจ ชูจันทร์		สุขใจ ชูจันทร์
ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์		วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์
ดร. สุทธีจิต ศรีวัชรกุล		สุทธีจิต ศรีวัชรกุล

(รศ.ดวงใจ โอชัยกุล)  
ประธานสาขาชีววิทยา

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	ฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดจากส่วนต่างๆของขงโค	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวลักษณาพร	ชื่นจิต
	นางสาววรารภรณ์	ลีลานุช
	นางสาวรวีสร่า	ปัญญาเอก
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต	
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต	ศรีวัชรกุล

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นขงโค ที่ทำการสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ผลจากการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด 5 สายพันธุ์ ; *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 27853, *Micrococcus luteus* TISTR 9341, *Salmonella typhimurium* TISTR 0562, *Clostridium sporogenes* TISTR 549, *Streptococcus thermophilus* โดยใช้เทคนิค Agar well diffusion พบว่าที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทดลอง (50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สารสกัดจากทั้ง 3 ส่วนสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยสารสกัดหยาบจากใบขงโคทำให้เกิดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. luteus* กว้างที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากส่วนอื่นในทุกความเข้มข้น และสารสกัดหยาบจากเมล็ดขงโคที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* ตีกว่ายาปฏิชีวนะ Gentamicin และมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. sporogenes* ใกล้เคียงกับยาปฏิชีวนะ ciprofloxacin อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากเมล็ดขงโคมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยมีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $1.563 \times 10^{-15}$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่าร้อยละการลดลงของ DPPH ใกล้เคียงกับวิตามินอีซึ่งเป็นชุดควบคุมเชิงบวกเท่ากับ 78.08 ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบพบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นขงโคมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดเท่ากับ 347.16 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และเมื่อทำการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบที่มีต่อเซลล์มะเร็งปอด (ChaGo) พบว่ามีเพียงสารสกัดจากเมล็ดขงโคเท่านั้นที่แสดงความเป็น

พิษต่อเซลล์มะเร็งปอดในทุกความเข้มข้น ขณะที่สารสกัดหยาบจากใบและเปลือกขงโคไม่พบว่ามี  
ความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งปอดยกเว้นที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

คำสำคัญ : ขงโค, การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์, การต้านอนุมูลอิสระ, สารประกอบฟีนอลิก  
ทั้งหมด, ความเป็นพิษต่อเซลล์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Title** Antioxidation antimicrobial and cytotoxic activities of crude extract from different parts of *Bauhinia purpurea*

**Students** Miss Luksanaporn Chuenjit  
Miss Waraporn Leelanut  
Miss Rawissara Panya-ake

**Degree** Bachelor of Science

**Major** Biotechnology

**Academic Year** 2012

**Special Project Advisor** Dr. Sutijit Sriwatcharakul

## ABSTRACT

This research describes the antimicrobial activity, antioxidant activity (DPPH reduction scavenging assay), Total phenolic contents and MTT cytotoxicity activity of crude extract from leaves, seeds and barks of *Bauhinia purpurea* which were extracted with 95% ethanol. The antibacterial properties were tested against five different bacterial species (*Pseudomonas aeruginosa* TISTR 27853, *Micrococcus luteus* TISTR 9341, *Salmonella typhimurium* TISTR 0562, *Clostridium sporogenes* TISTR 549, *Streptococcus thermophilus*) using agar well diffusion method. The present investigation showed that the lowest concentration (50mg/ml) of crude extracts from three different parts could inhibit all five species of microorganisms. The leaves crude extract has the widest inhibit area of growth with *M. luteus* compared with other crude extracts in all concentrations. Moreover, seeds crude extract at 100 mg/ml could inhibit the growth of *S. typhimurium* more than antibiotics gentamicin and had inhibit area with *C. sporogenes* as wide as antibiotics ciprofloxacin significantly. The result of DPPH reduction scavenging assay showed seeds crude extract gave the strongest DPPH reduction 78.08% at 0.625 mg/ml ( $IC_{50}$   $1.563 \times 10^{-15}$  mg/ml). From Total phenolic contents results, barks crude extract had the highest phenolic content 347.16 GAE/g dry weight. Finally, the determination of MTT cytotoxicity activity showed seeds crude extract in all of concentrations was toxic to ChaGo cells, while crude extract from leaves and barks encouraged the growth of ChaGo cells except the 1000  $\mu$ g/ml concentration.

**Keywords :** *Bauhinia purpurea*, antimicrobial activity, antioxidant activity, total phenolic content, cytotoxicity activity

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจากท่านอาจารย์ ซึ่งผู้จัดทำโครงการพิเศษนี้ขอกราบขอบพระคุณ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ที่ปรึกษาโครงการพิเศษที่กรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือ ชี้แนะ และปรับปรุงแก้ไขงาน ด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่งตลอดมา

ผู้ทำโครงการพิเศษขอขอบพระคุณ รศ.สุขใจ ชูจันทร์ ประธานกรรมการสอบโครงการพิเศษ และ ดร.วรภัทร์ สวงน ไชยไผ่วงศ์ กรรมการสอบโครงการพิเศษที่ช่วยให้คำแนะนำตรวจสอบข้อผิดพลาด ชี้แนะในการแก้ไขโครงการพิเศษให้มีความเรียบร้อยและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ประจำภาควิชาชีววิทยาที่ตึกเก่าและอาคารจุฬารัตน์วลัยลักษณ์ 1 ที่ให้ความกรุณาช่วยเหลือในด้านอุปกรณ์ สถานที่ และสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.วิชัย เจริญชีวศาสตร์ อาจารย์ประจำภาควิชา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และคุณสุพัทธา ชาวลิตพงษ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ สถานที่ และเซลล์มะเร็งปอดมาใช้ในงานวิจัย รวมถึงให้คำแนะนำในการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งและการจัดเตรียมสารเคมีต่างๆ

อีกทั้งขอขอบคุณบิดา มารดา รวมถึงเพื่อนๆทุกคน ที่เป็นกำลังใจและคอยให้ความสนับสนุนช่วยเหลือมาโดยตลอด

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงการพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้สนใจหรือผู้ที่ต้องการค้นคว้าและศึกษางานวิจัยทางด้านนี้ไม่มากนักน้อย หากมีข้อผิดพลาดประการใด คณะผู้จัดทำขออภัย ณ โอกาสนี้ด้วย

นางสาวลักขณาพร	ชินจิต
นางสาววรภรณ์	ลีลานุช
นางสาววิสรา	ปัญญาเอก

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	IV
สารบัญ	V
สารบัญตาราง	IX
สารบัญภาพ	X
<b>บทที่ 1 บทนำ</b>	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	4
2.1 ชงโค	4
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	4
2.1.2 ประโยชน์ทางยา	5
2.1.3 องค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	6
2.2 การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร	7
2.3 อนุมูลอิสระ (Free radical)	7
2.3.1 การเกิดอนุมูลอิสระ	8
2.3.2 กลไกการทำงานของอนุมูลอิสระ	9
2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)	10
2.4.1 ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ	11
2.4.2 กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ	11
2.4.3 แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ	12

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4.4 สารต้านอนุมูลอิสระกับการป้องกันโรค	13
2.5 การวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ	13
2.6 วิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol)	17
2.7 ยาต้านจุลชีพ	18
2.7.1 หลักการใช้ยาต้านจุลชีพ	19
2.7.2 ประเภทของยาต้านจุลชีพ	20
2.7.3 การแพ้ยาต้านจุลชีพและข้อควรระวังในการใช้ยา	22
2.8 ยาปฏิชีวนะ Gentamicin	22
2.9 ยาปฏิชีวนะ Cifloxin	23
2.10 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลชีพของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ	23
2.10.1 การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ	24
2.10.2 MIC (minimal inhibitory concentration)	24
2.10.3 การเลือกรูปแบบวิธีการทดสอบ	24
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน</b>	26
3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ	26
3.2 เชื้อจุลินทรีย์	26
3.3 สารเคมี	26
3.4 อุปกรณ์	27
3.5 วิธีการทดลอง	28
3.5.1 การเตรียมตัวอย่าง	28
3.5.2 การสกัดสารตัวอย่างจากต้นขงโค	28
3.5.3 การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดขงด้วย DPPH (DPPH reduction scavenging assay)	28

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.5.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	29
3.5.5 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC; Minimum inhibition concentration)	29
3.5.6 การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (ChaGo) โดยวิธี MTT	30
<b>บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง</b>	<b>32</b>
4.1 สารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้ในการทดลอง	32
4.2 การตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากพืช โดยวิธี DPPH Radical Scavenging	32
4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากพืช ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu's reagent	34
4.4 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบจากพืช	36
4.4.1 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> TISTR 27853	37
4.4.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Micrococcus luteus</i> TISTR 9341	39
4.4.3 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Salmonella typhimurium</i> TISTR 0562	41
4.4.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Clostridium sporogenes</i> TISTR 549	43
4.4.5 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Streptococcus thermophilus</i>	45
4.4.6 การเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	48
4.5 การวิเคราะห์ความมีชีวิตและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (ChaGo) โดยวิธี MTT	49

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	52
5.1 สรุปผลการทดลอง	52
5.2 ข้อเสนอแนะ	54
เอกสารอ้างอิง	55
ภาคผนวก ก	58
ภาคผนวก ข	66
ภาคผนวก ค	68
ภาคผนวก ง	70
ภาคผนวก จ	72
ภาคผนวก ฉ	96



### VIII

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ร้อยละการลดลงของอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากใบ เปลือกต้น เมล็ดของชงโค และวิตามินอี (positive control)	33
4.2 ค่า IC <sub>50</sub> ของการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด เปลือกต้น ของชงโค	34
4.3 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ เปลือกต้น และเมล็ดของชงโค	35
4.4 ตารางแสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> TISTR 27853	38
4.5 ตารางแสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Micrococcus luteus</i> TISTR 9341	40
4.6 ตารางแสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Salmonella typhimurium</i> TISTR 0562	42
4.7 ตารางแสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Clostridium sporogenes</i> TISTR 549	44
4.8 ตารางแสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Streptococcus thermophilus</i>	46
4.9 การเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อของสารสกัดจาก ใบ เปลือกต้น และเมล็ดของชงโคที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	48
4.10 ค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของชงโค	50
4.11 ค่า IC <sub>50</sub> ของความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของชงโค	50

# สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 ต้นชงโค	4
2.2 ส่วนต่างๆของชงโค	5
4.1 กราฟแสดงกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากต้นชงโค	33
4.2 แสดงฤทธิ์เบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	37
4.3 แสดงความกว้างของบริเวณยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> TISTR 27853 รอบหลุมทดสอบที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	39
4.4 แสดงความกว้างของบริเวณยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ <i>Micrococcus luteus</i> TISTR 9341 รอบหลุมทดสอบที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	41
4.5 แสดงความกว้างของบริเวณยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ <i>Salmonella typhimurium</i> TISTR 0562 รอบหลุมทดสอบ ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	43
4.6 แสดงความกว้างของบริเวณยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ <i>Clostridium sporogenes</i> TISTR 549 รอบหลุมทดสอบที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	45
4.7 แสดงความกว้างของบริเวณยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ <i>Streptococcus thermophilus</i> รอบหลุมทดสอบที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	47
4.8 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (ChaGo)	49

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

ในสมัยอดีตได้มีการใช้พืชเพื่อวัตถุประสงค์ในการรักษาโรคเนื่องจากในพืชเหล่านี้มีสารประกอบที่มีคุณสมบัติเป็นยารักษาได้ (Charaka และ Sofovora Basu, 2000) และเมื่อมาถึงยุคปัจจุบัน ประชากรส่วนใหญ่ก็ได้หันมาให้ความสนใจเกี่ยวกับการดูแลสุขภาพและการเลือกใช้ยามากขึ้นเนื่องจากสภาพแวดล้อมต่างๆที่เปลี่ยนแปลงไปส่งผลกระทบต่อร่างกายและอาจก่อให้เกิดปัญหาในการใช้ชีวิต ด้วยเหตุนี้การรักษาโรคโดยยาต่างๆจึงมีการเลือกใช้ส่วนประกอบหรือการเลือกวัตถุดิบที่ผลิตจากธรรมชาติมากขึ้น ซึ่งตัวเลือกนั้นก็คือสารสกัดที่ได้จากพืชนั่นเอง เนื่องจากมีสรรพคุณมากมาย สามารถหาได้ง่ายและไม่ก่อให้เกิดผลกระทบหรือส่งผลข้างเคียงดังเช่นการใช้ยาที่สังเคราะห์ทางเคมี และทางเลือกนี้ยังได้รับการยอมรับกันอย่างแพร่หลายและมีแนวโน้มว่าการใช้ในการรักษาหรือบำบัดโรคจะเพิ่มสูงมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งจะนำไปสู่การวิจัยเพื่อตรวจสอบถึงการใช้สารสกัดจากพืชในการรักษาโรคต่างๆและเพื่อช่วยในการพัฒนายาปฏิชีวนะที่มีความทนทานต่อเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยที่ขงโคก็จัดเป็นพืชชนิดหนึ่งที่ถูกเลือกนำมาใช้ด้วยเช่นกัน

ขงโค มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Bauhinia purpurea* Linn อยู่ในวงศ์ Leguminosae สกุล *Bauhinia* และมีชื่อสามัญว่า Orchid Tree หรือ Purder จัดเป็นพรรณไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดเล็ก มีถิ่นกำเนิดเดิมอยู่ในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น อินเดีย พม่า ไทย กัมพูชา มาเลเซีย และสิงคโปร์ เป็นต้น โดยในประเทศไทยจะพบขึ้นปะปนอยู่กับต้นไม้ชนิดอื่นๆ ในป่าโปร่งผสมและป่าเบญจพรรณ ทางภาคเหนือและภาคกลางจะพบมากกว่าภาคอื่น ส่วนประกอบของขงโคนั้นมีสรรพคุณทางยามากมาย ซึ่งจะถูกใช้รักษาโรคความดันโลหิตสูง โรคไขข้ออักเสบ การชัก การแพ้ และการติดเชื้อในกระแสโลหิต (Asolker และคณะ, 2000) โดยที่เปลือกของต้นขงโคจะแก้ท้องเสีย แก้บิด นอกจากนี้ยังถูกใช้เป็นยาสมานแผล และยาต้มจากส่วนนี้ก็ได้รับการแนะนำแล้วว่าดีสำหรับใช้เป็นน้ำยาล้างแผลพุพอง (Kirthikar และ Basu, 2000) ส่วนของใบจะใช้ฟอกฝีแผล ใช้ต้มกินรักษาอาการไอ เนื่องจากมี alkaloid ส่วนของดอกขงโคใช้ผสมกับอื่นๆเป็นเครื่องยา รักษาอาการไข้ดับพิษไข้ และเป็นยาระบาย ส่วนรากจะใช้เป็นยาขับลม หรือใช้โกลกผสมกับน้ำกินเป็นรักษาอาการไข้

โดยจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางพฤกษเคมีและการประเมินฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์และสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกต้นขงโคพบว่า มีสารจำพวก alkaloids flavonoids steroids saponins triterpenes และคาร์โบไฮเดรต โดยส่วนมากสารเหล่านี้จะพบอยู่ในสารที่สกัดด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมทานอล และน้ำ แต่บางส่วนก็อาจพบในสารสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่น (Avinash P. และคณะ, 2011) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าส่วนของพืชที่อยู่เหนือดินประกอบด้วย flavone glycosides , foliar flavonoids, 6-butyl-3-hydroxy flavanone , amino acids , phenyl fatty ester , lutine และ  $\beta$ -sitosterol (Yadava และTripathi, 2000) ซึ่งเชื่อว่าสารประกอบที่มีประสิทธิภาพเหล่านี้จะเกี่ยวข้องกับการรักษาโรคของพืช (Salantino และ Blatt, 1999)

จากที่กล่าวมาในข้างต้น จะเห็นได้ว่าขงโคมีคุณสมบัติประโยชน์มากมาย ดังนั้นในการทำโครงการพิเศษครั้งนี้จึงมีความสนใจที่จะศึกษาขงโค โดยเลือกใช้ส่วนต่างๆดังนี้ คือ ใบ ฟัก และเปลือกต้นขงโค แล้วนำมาทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ และความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดที่ได้จากส่วนต่างๆของขงโค เพื่อสามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนต่างๆของขงโค
2. เพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 27853, *Micrococcus luteus* TISTR 9341, *Salmonella typhimurium* TISTR 0562, *Clostridium sporogenes* TISTR 549, *Streptococcus thermophilus* ของสารสกัดจากส่วนต่างๆของขงโค
3. เพื่อศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (ChaGo) ของสารสกัดจากส่วนต่างๆของขงโค

## 1.3 ขอบเขตของโครงการพิเศษ

ทำการสกัดส่วนต่างๆของขงโค คือ ใบ เปลือกต้น และเมล็ดขงโคโดยการสกัดด้วยเอทานอล จากนั้นนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระรวมถึงหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด นอกจากนี้ยังศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration : MIC) โดยใช้วิธี Agar well diffusion ซึ่งทดสอบกับเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 27853, *Micrococcus luteus* TISTR 9341, *Salmonella typhimurium* TISTR 0562, *Clostridium sporogenes* TISTR 549, *Streptococcus thermophilus* และยังศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (ChaGo)

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนต่างๆของขงโคสำหรับผู้สนใจใช้ในการศึกษา ค้นคว้า และวิจัยต่อไป
2. สามารถนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ต่างๆที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพ
3. สามารถนำไปศึกษาเพิ่มเติม และพัฒนาเพื่อใช้เป็นส่วนประกอบร่วมกับยารักษาโรคได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 ชงโค



รูปที่ 2.1 ต้นชงโค

ที่มา : <http://www.udyc.ac.th/images/tree/b1/tonmai16.htm> (3 มี.ค. 2556)

#### 2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Bauhinia purpurea*

ชื่อสามัญ : Purple Orchid Tree, Hong Kong Orchid Tree, Purple Bauhinia

ชื่ออื่น : เลี้ยวดอกแดง (ภาคเหนือ), เลี้ยวหวาน (แม่ฮ่องสอน)

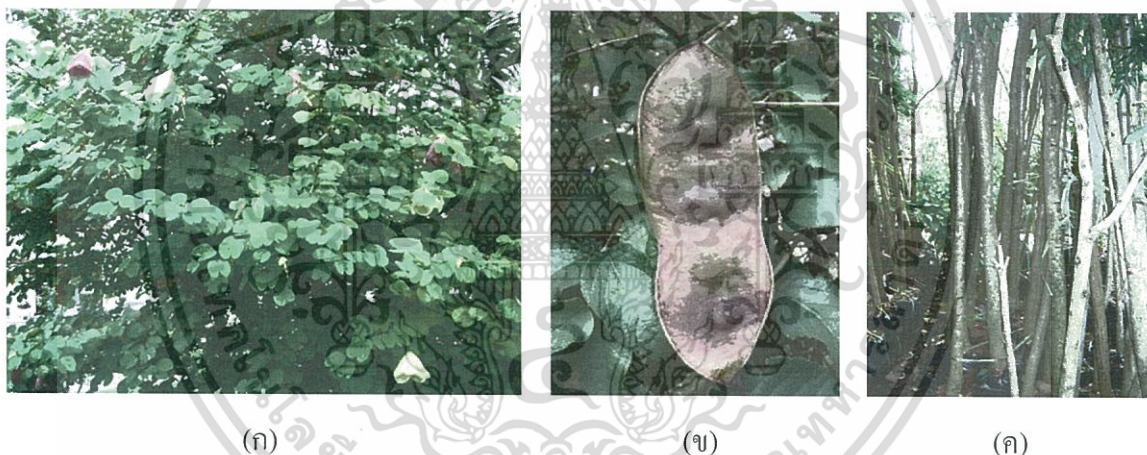
วงศ์ : LEGUMINOSAE-CAESAL

ชงโคเป็นไม้พุ่มหรือไม้ต้นผลัดใบขนาดกลาง มักพบการเจริญเติบโตของพืชชนิดนี้ในเกือบทุกพื้นที่ตั้งแต่ที่ราบลุ่มป่าดงดิบ ป่าฝนไปจนถึงป่าดิบเขาที่ระดับความสูง 2000 ถึง 3000 เมตร และยังพบในทุ่งหญ้าสะวันนา ป่าเต็งแกระแกรน ป่าเบญจพรรณแห้ง ป่าพรุ และตามดินในที่ต่างๆ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการวิจัยเท่านั้น มิใช่เพื่อเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต การค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อีกด้วย ชงโคเป็นพืชพื้นเมืองทางใต้ของจีนและแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และยังขึ้นใน Hawaii, California, Texas และ Florida มีต้นสูงประมาณ 15 เมตร เรือนยอดแผ่กว้างรูปทรงไม่แน่นอน ใบเดี่ยว เรียงสลับ เป็นรูปไข่แยกเป็น 2 แฉกเล็ก คล้ายใบติดกันหรือใบแผด มีขนาดประมาณ 20 ซม. ดอกสีชมพูอมม่วง, สีม่วงสดคล้ายกล้วยไม้และสีขาว มีกลิ่นหอมอ่อนๆตลอดวัน ดอกบานเต็มที่ขนาด 6 - 8 เซนติเมตร ช่อดอกออกตามซอกใบและปลายกิ่ง มีจำนวนดอกน้อย เกสรตัวผู้ 3 อัน ขนาดไม่เท่ากัน ออกดอกเกือบตลอดปี ออกดอกมากในฤดูหนาว การขยายพันธุ์ใช้การตอนกิ่ง ปักชำและเพาะเมล็ด

### 2.1.2 ประโยชน์ทางยา

พืชชนิดนี้ตามหลักจะถูกใช้รักษาโรคบวม น้ำ อากาศปวด โรคไขข้ออักเสบ การชัก การแพ้ และการติดเชื้อในกระแสโลหิต (Asolker และคณะ 2000) เคยใช้ในการรักษาเนื้องอกในกระเพาะอาหาร รักษาแผล ต่อม้ำเหลืองบวม โรคท้องร่วงและอาการเจ็บป่วย (Ismail Ibrahim Latif และคณะ, 2011)



รูปที่ 2.2 ส่วนต่างๆของชงโค

(ก) ใบของชงโค (leave)

(ข) เมล็ดของชงโค (seed)

(ค) เปลือกต้นของชงโค (bark)

เปลือกไม้ ถูกใช้เป็นยาสมานแผล และยาต้มจากส่วนนี้ก็ได้รับการแนะนำแล้วว่าดีสำหรับใช้เป็นน้ำยาล้างแผลพุพอง (Kirthikar และ Basu, 2000)

ใบ ใช้ฟอกฝี แผล ใช้ต้มกินรักษาอาการไอ เนื่องจากมี alkaloid สารสกัดจากใบชงโคด้วยน้ำจะมีฤทธิ์ยับยั้งอาการเจ็บปวดและลดอาการอักเสบ (Ismail Ibrahim Latif และคณะ, 2011)

ดอกชงโค ใช้ผสมกับอื่นๆเป็นเครื่องยา รักษาอาการไข้ ดับพิษไข้ และเป็นยาระบาย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ราก ใช้เป็นยาขับลม หรือใช้โבלกผสมกับน้ำกินเป็นยารักษาอาการไข้

### 2.1.3 องค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางพฤกษเคมีและการประเมินฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์และสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกต้นชงโค (*Bauhinia purpurea*) พบว่ามีสารจำพวก alkaloids flavonoids steroids saponins triterpenes และคาร์โบไฮเดรต โดยส่วนมากสารเหล่านี้จะพบอยู่ในสารที่สกัดด้วยเมทานอลและน้ำ แต่บางส่วนก็อาจพบในสารสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่น (P. Avinash และคณะ, 2011)

โดยสารสกัดจากใบชงโคด้วยน้ำจะมีฤทธิ์ยับยั้งอาการเจ็บปวดและลดอาการอักเสบ ซึ่งสารประกอบทางเคมีในพืชที่ศึกษาจะพบ flavonoids, triterpenes, tannins และ steroids ส่วนอื่นๆ ของชงโคจะประกอบด้วย haempferol, quercetin และ isorhamnetin ซึ่งสาร Bauhiniastatins 1-4 ที่พบจะมีฤทธิ์ต้านเชื้อมะเร็งกับ minipanel ในเซลล์มะเร็ง เช่น P388 (มะเร็งเม็ดเลือดขาว) นอกจากนี้ยังมีการพิสูจน์ว่าส่วนประกอบบางส่วนของเปลือกสามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย ด้านเชื้อมาลาเรีย ด้านเชื้อรา ความเป็นพิษต่อเซลล์และยับยั้งการอักเสบ (Ismail Ibrahim Latif และคณะ, 2011)

อีกทั้ง Panda และ Kar (1999) ได้พิสูจน์ให้เห็นความสามารถของสารสกัดจากเปลือกต้นชงโคที่กระตุ้นการทำงานของต่อมไทรอยด์ในหนูเพศเมียโดยเพิ่มซีรัม triiodothyronin (T3) และ thyroxine (T4) ที่มีความเข้มข้นตลอดจนการเพิ่มเอนไซม์ glucose-6-phosphatase ที่ตับและกิจกรรม peroxidative สารสกัดจากเปลือกต้นชงโคและใบมีความสามารถในการเหนี่ยวนำ metformin ได้ดีขึ้นในภาวะฮอร์โมนไทรอยด์ในร่างกายต่ำในหนูที่เป็นเบาหวาน

ในบรรดาสารสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน สารที่สกัดด้วยน้ำ จะแสดงให้เห็นถึงสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ออกฤทธิ์กว้าง ซึ่งพบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ดีกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Bacillus subtilis* *Staphylococcus aureus* และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Escherichia coli* และ *Klebsiella pneumonia* แล้วยังมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรากับ *Candida albicans* ในขณะที่สารสกัดด้วยเมทานอล พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ดีพอสมควรกับเชื้อ *B. subtilis* *E. coli* และ *K. pneumonia* ส่วนสารสกัดด้วย hexane chloroform และ ethyl acetate ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียหรือเชื้อราใดๆเมื่อทำการทดสอบกับเชื้อราและแบคทีเรีย

เมื่อประเมินการยับยั้งอนุมูลอิสระจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกไม้โดยใช้ 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) พบว่าสารสกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ดีในระดับปานกลาง และรองลงมาคือสารสกัดด้วยเมทานอล

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าส่วนของพืชที่อยู่เหนือดินประกอบด้วย flavone glycosides , foliar flavonoids , 6-butyl-3-hydroxy flavanone , amino acids , phenyl fatty ester , lutine และ  $\beta$ -sitosterol (Yadava และ Tripathi, 2000) ซึ่งเชื่อว่าสารประกอบที่มีประสิทธิภาพเหล่านี้จะเกี่ยวข้องกับการรักษาโรคของพืช (Salantino และ Blatt, 1999)

## 2.2 การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร

### 2.2.1 การสกัดสารจากพืช

การสกัดสารจากพืชสามารถทำได้ 3 วิธี คือ

1. Maceration วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุด โดยเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมกับ สารในพืชสมุนไพร แล้วนำสมุนไพรไปแช่ในภาชนะที่ปิด เขย่าเป็นเวลา และแช่ไว้อย่างน้อย 2-7 วัน จากนั้นนำมากรองเอาสารสกัดออกจากกากสมุนไพรให้ได้มากที่สุด นำสารสกัดที่ได้มา ระเหยตัวทำละลายออก แล้วจึงนำสารที่ได้ไปใช้ประโยชน์ต่อ วิธีนี้มีข้อดีคือ สารสกัดจะไม่ถูก ความร้อน ทำให้โอกาสในการสลายตัวของสารสกัดลดลง ข้อเสียของวิธีนี้คือจะสิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก

2. Soxhlet Extraction เป็นวิธีที่ใช้ความร้อนในการสกัดและต้องอาศัยการควบแน่นเข้า ช่วยเป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง จึงไม่เหมาะกับการสกัดสารจากพืชสมุนไพรที่มีสารที่ระเหยง่าย เป็นองค์ประกอบ วิธีการสกัดแบบต่อเนื่องนี้เหมาะสำหรับการสกัดสารองค์ประกอบที่ทน ต่อความร้อน และใช้ตัวทำละลายน้อยไม่สิ้นเปลือง

3. Extraction of volatile oil ใช้สำหรับการสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีการต่างๆ หลายวิธี เลือกใช้ตามความเหมาะสมของพืชแต่ละชนิด เช่นการดูดซับ การใช้ตัวทำละลาย วิธีการบีบ การกลั่นโดยน้ำหรือไอน้ำ สารสกัดที่ได้นี้จะเป็นสารผสมที่มีสารออกฤทธิ์หลายชนิดปนกันอยู่ ถ้าต้องการสกัดที่บริสุทธิ์มากขึ้น หรือแยกสารประกอบต่างๆ เพื่อนำไปทดสอบต่อก็สามารถใช้เทคนิคอื่นๆ ที่ เหมาะสมในการแยกต่อไปได้อีก เช่น chromatography แบบต่างๆ เพื่อแยกสารออกเป็น fraction เป็นต้น

## 2.3 อนุมูลอิสระ (Free radical)

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่ อยู่ในวงอิเล็กตรอนวงนอกสุด (outer orbital) เนื่องจากการมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยว (unpaired electron) อยู่ในวงโคจรของโมเลกุล ทำให้ไม่เสถียร ทำให้อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก โดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียง เพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นใหม่นี้จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลูกโซ่ (chain reaction) ต่อกันไปเรื่อยๆ (Halliwell, 1991) โดยที่อนุมูลอิสระก็มีสมบัติเหมือนสารทั่วๆ ไป ตรงที่ความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิ ความเป็นกรดต่าง (pH) และความชื้น เป็นต้น

### 2.3.1 การเกิดอนุมูลอิสระ

มีสาเหตุมาจาก ปัจจัย ทั้งภายในและภายนอกร่างกายดังนี้

#### 1. ปัจจัยภายในร่างกาย

ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตจะมีปฏิกิริยามากมาย ที่เกี่ยวข้องกับทั้งการสร้างและการสลายโมเลกุลของ สารที่เรียกว่ากระบวนการเมทาบอลิซึมซึ่งถือเป็น สาเหตุหลักอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ตัวอย่าง ปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระได้แก่

1.1 ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเอง (auto-oxidation) (Nawar, 1996)

1.2 ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีเอ็นไซม์เป็นตัวเร่ง (Halliwell และคณะ 1995) การทำงานของเอ็นไซม์ สำคัญ 2 ชนิดที่มีผลกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระภายในร่างกาย ได้แก่ เอ็นไซม์แซนทีนออกซิเดส (xanthine oxidase : XO) และเอ็นไซม์ไลโปออกซิจีเนส (lipoxygenase: LOX)

1.3 กระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว (Konstan และ Berger, 1993) ในขั้นตอน การทำลายสิ่งแปลกปลอมโดยเฉพาะเชื้อโรคที่ถูกกลืนกินเข้ามาภายในร่างกาย เซลล์เม็ดเลือดขาวจะมีการดึง โมเลกุลออกซิเจนมาใช้เป็นจำนวนมากเพื่อผลิตเป็นอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์โดยการทำงานของเอ็นไซม์ NADPH ออกซิเดส (NADPH oxidase) ที่อยู่บนเยื่อชั้นนอก (outer membrane) ของเม็ดเลือดขาว นอกจากนี้ในเม็ดสี (granule) ของเม็ดเลือดขาวยังมีเอ็นไซม์ไมอีโลเพอโรกซิเดส (myeloperoxidase) ทำให้เกิดอนุมูลไฮโปคลอไรต์ (hypochlorus) ซึ่งเป็นสารที่ทำลายจุลชีพได้

1.4 โลหะทรานสิชัน (transition metal) (Halliwell, 1999) โลหะทรานสิชัน 2 ชนิดคือ เหล็ก ( $Fe^{2+}$ ) และ ทองแดง ( $Cu^{2+}$ ) ที่มีอยู่ทั่วไปในร่างกาย สามารถเร่งการสร้างอนุมูลไฮดรอกซิลจากซูเปอร์ออกไซด์ และ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide,  $H_2O_2$ ) ในปฏิกิริยา Fenton (Fenton's reaction)

#### 2. ปัจจัยภายนอกในร่างกาย

ยารักษาโรค ยาบางชนิดที่รับประทานเข้าไป ในร่างกายสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ยาในกลุ่มต้านจุลชีพและต้านมะเร็ง เช่น บลีโอไมซิน (bleomycin), แอนทราไซคลินส์ (anthracyclines) (Voest และคณะ 1994) และเมโททรีเสต (methotrexate) (Gressier และคณะ, 1994) เนื่องจากมีฤทธิ์เสริมปฏิกิริยาออกซิเดชัน (pro-oxidation)

รังสี : การใช้รังสีรักษาโรค เช่น รังสีเอกซ์ (X-ray), รังสีแกมมา ( $\gamma$ -ray) อาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายจากการถ่ายทอดพลังงานให้กับน้ำ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์

แล้วก่อให้เกิดปฏิกิริยาขั้นต่อไป (secondary reaction) กับออกซิเจนที่ละลายอยู่ในเซลล์นั้น ได้อนุมูลอิสระเกิดขึ้น (Halliwell และคณะ, 1995)

ควันทูหรี : ในควันทูหรีมีส่วนประกอบของไนตริกออกไซด์ (NO), ไนโตรเจนออกไซด์ (NO<sub>2</sub>) และเพอรอกซีไนไตรท์รวมทั้งสารมลพิษ ได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO<sub>2</sub>) และ คาร์บอนเตตระคลอไรด์ (CCl<sub>4</sub>) ซึ่งจะถูกกำจัดออกจากร่างกายโดยการทำงานของเอนไซม์ไซโทโครม P-450 ไฮดรอกซีเจส (cytochrome P-450 hydroxylase) ที่มีอยู่มากใน เซลล์ตับและพบได้บ้างในเซลล์ปอดและลำไส้เล็กทำให้เป็นสาเหตุของการสร้างอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ภายในเซลล์ดังกล่าว (Bast และคณะ, 1991)

ไอโซน : ไอโซนไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระแต่จัดเป็นสารออกซิไดส์แรงสูงซึ่งสามารถเปลี่ยนรูปเป็นอนุมูลไฮดรอกซิลได้จากการกระตุ้นของคลื่นแสง (Valacchi และคณะ, 2004)

### 2.3.2 กลไกการทำงานของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือ เมื่อออกซิเจนในอากาศได้รับความร้อนหรือถูกแสงจะเกิดการแตกพันธะแบบเสมอภาค (hemolytic cleavage) อนุมูลอิสระของออกซิเจนที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวสองตัว เรียกว่า ไดเรดิคัล (diradicals) และเมื่อมีเรดิคัลอื่นที่เหมาะสม (Ra) มารับไฮโดรเจนจากสารอินทรีย์ไปจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ เรดิคัลตัวเริ่มต้น (Ra) จะรับเอา H จากโมเลกุลของสารอินทรีย์ (R-H) แล้วให้แอลคิลเรดิคัล (R) ไปรวมกับออกซิเจน กลายเป็นเปอร์ออกซีเรดิคัล (ROO) ซึ่งมีความว่องไวสูงกว่าออกซิเจนไดเรดิคัล (O-O) จึงสารรับเอา H จาก R-H ได้ เกิดเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (ROOH) และให้แอลคิลเรดิคัลเข้าไปทำปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป กลไกนี้จะเกิดได้เร็วขึ้นเมื่อมีไอออนของโลหะ (M<sup>n+</sup>) บางชนิด เช่น Fe<sup>2+</sup> Cu<sup>2+</sup> หรือ Co<sup>2+</sup> ร่วมอยู่ด้วย จะทำให้ช่วยเหนี่ยวนำลดลง โดยไอออนของโลหะทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนกับไฮโดรเปอร์ออกไซด์อย่างรวดเร็ว กลายเป็นแอลคอกซิลเรดิคัล (RO) และเมื่อ M<sup>(n+1)+</sup> เพิ่มมากขึ้น จะสามารถทำปฏิกิริยากับไฮโดรเปอร์ออกไซด์โมเลกุลอื่น โดยรับอิเล็กตรอน 1 ตัว กลับมาเป็น M<sup>n+</sup> เข้าไปทำปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อไปได้อีก ไอออนของ Fe<sup>2+</sup> จะเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่า Fe<sup>3+</sup> และ Fe<sup>3+</sup> จะเร่งปฏิกิริยาได้ดีกว่า Cu<sup>2+</sup>

นอกจากนี้ปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน (autoxidation) เป็นการที่ไขมันกับออกซิเจนในอากาศทำปฏิกิริยากันได้สารประกอบเปอร์ออกไซด์ ซึ่งมีสาเหตุการเกิดจากออกซิเจนและแสง เรียกกลไกนี้ว่า กลไกแบบโฟโตออกซิเดชัน (photooxidation) (ศิวาพร, 2535) โดยกลไกแบบนี้จะไม่มีช่วงเวลาเหนี่ยวนำ ออกซิเจนในสภาวะปกติจะมีอิเล็กตรอนอยู่ในสภาวะที่มีพลังงานต่ำสุดหรือสภาวะพื้น (ground state) การจัดอิเล็กตรอน (electron spin) เป็นแบบ <sup>3</sup>O<sub>2</sub> (triplet electron state) เมื่อทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์ R-H จะได้เป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

แต่เมื่อปฏิกิริยาออกซิเดชันมีแสงที่ตัวเร่งปฏิกิริยาและมีสารที่ไวต่อปฏิกิริยา (sensitizer) ชนิดอื่น เช่นคลอโรฟิลล์ พอร์ไฟริน บิลิรูบิน หรือไรโบฟลาวิน ร่วมอยู่ในปฏิกิริยาดังกล่าว จะทำให้เกิดโฟโตออกซิเดชัน

## 2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือสารปริมาณน้อยที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของอนุมูลอิสระได้ (Halliwell, 2009) สารเหล่านี้มีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ เช่น ดักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับ (chelate) กับโลหะเพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ (Sies, 1991)

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารประกอบที่ทนต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในเซลล์ (Chattopadhyay และคณะ, 2010) โดยทั่วไปสารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในธรรมชาติจากสารหลาย ชนิด เช่น สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) สารประกอบไนโตรเจน (nitrogen compounds) และแคโรทีนอยด์ (carotenoid) (Velioglu และคณะ, 1998) บทบาทสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระคือ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันใน ร่างกายซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆของมนุษย์ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็น สาเหตุหลักของการเสื่อมคุณภาพในอาหาร ปัจจุบันองค์กรที่เกี่ยวข้องในอุตสาหกรรมอาหารและยา ได้ พยายามพัฒนาสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติ เช่น สาหร่ายทะเล แบคทีเรีย เชื้อรา และพืชชั้นสูง (Chattopadhyay และคณะ, 2010) อย่างไรก็ตาม ในภาวะปกติร่างกายของคนเรา จะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระอยู่แล้วซึ่งแบ่งออกเป็นสองส่วน คือ ส่วนแรกเกิดจากร่างกายสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุล และส่วนที่สองคือกลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากวิตามินเอ ซี อี หรือ เบต้าแคโรทีน ( $\beta$ - carotenoid) รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอลซึ่งเป็นพฤษเคมีที่สามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้เพื่อเข้าไปช่วยเสริมสร้างระบบการต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายให้มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดียิ่งขึ้น (Shapoval และ Gromovaia, 2003) ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกาย เช่น เอนไซม์คะตะเลส (catalase), กลูตาไธโอนเพอรอกซิเดส (glutathione peroxidase) และซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) หรือ สารประกอบ/โปรตีนบางอย่าง เช่น อัลบูมิน(albumin), บิลิรูบิน (bilirubin), เซอรูโลพลาสมิน (ceruloplasmin), กลูตาไธโอน (glutathione), ทรานสเฟอร์ริน (transferrin) , ยูบิควินอล (ubiquinol) และยูเรต (urate) เป็นต้น สารเหล่านี้มีหน้าที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คอยควบคุมอนุมูลอิสระต่าง ๆ ให้อยู่ในระดับพอเหมาะแต่ถ้าเมื่อใดที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในปริมาณมากเกินกว่าที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมดจะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า “oxidative stress” ขึ้น ภายใต้อาการดังกล่าวอนุมูลอิสระจะทำอันตรายต่อ อวัยวะและเนื้อเยื่อต่างๆของร่างกาย ซึ่งถ้าสะสม มากๆอาจนำไปสู่ความผิดปกติหรือพยาธิสภาพหลายอย่าง

#### 2.4.1 ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ

##### 1. สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ

เป็นสารที่หยุดปฏิกิริยาอนุมูลอิสระโดยการให้อนุมูลไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระโดยตรง เป็นผลให้อนุมูลนั้นกลายเป็นสารที่มีความเสถียรขึ้น สารออกฤทธิ์ในลักษณะดังกล่าว ได้แก่ สารประกอบกลุ่ม phenolic เช่น flavonoids , eugenol และ vanillin เป็นต้น มีรายงานว่าสารต้านอนุมูลอิสระชนิดนี้จะทำหน้าที่ได้ดีที่ความเข้มข้นต่ำๆ แต่เมื่อมีความเข้มข้นสูงขึ้นอาจกลายเป็นสารเสริมฤทธิ์ออกซิเดชันได้ (Rajalakshi และ Narasimhan, 1996)

##### 2. สารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ

สารต้านอนุมูลประเภทนี้ไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระแต่จะช่วยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิในลักษณะต่างๆ เช่น จับกับ  $Fe^{2+}$  ดักจับออกซิเจน ควบคุมรังสียูวีไว้ เป็นต้น (Gordon, 2001)

#### 2.4.2 กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ (Yanishlieva, 2001)

จากรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทำงาน ของสารต้านอนุมูลอิสระพบว่ามีหลายกลไกดังนี้

1. ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) เป็นที่ทราบดีว่า สารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้โดยการทำให้โมเลกุลของอนุมูลอิสระมีความเสถียรขึ้นซึ่งกลไกของปฏิกิริยาเกิดโดยการให้ ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ (Valacchi และคณะ, 2004)

2. ยับยั้งการทำงานของซิงเกิ้ลทออกซิเจน (Singlet oxygen quenching) สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) สามารถยับยั้งการทำงานของซิงเกิ้ลทออกซิเจน โดยการเปลี่ยนให้อยู่ในรูปทริปเปรีท (triplet oxygen ( $3O_2$ )) และปล่อย พลังงานที่ได้รับออกไปในรูปความร้อน โดยที่แคโรทีนอยด์จำนวน 1 โมเลกุล สามารถทำปฏิกิริยากับซิงเกิ้ลทออกซิเจนได้ถึง 1,000 โมเลกุล (Sies และคณะ, 1992)

3. จับกับโลหะที่สามารถเร่งสารกลุ่มนี้ได้แก่ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (metal chelation) (Sanchez-Moreno และคณะ, 2000) โลหะที่มีผลต่อการเกิดอนุมูลอิสระคือ  $Fe^{2+}$  และ  $Cu^{2+}$  ฟลาโ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอยด์ (flavonoids) ฟอสฟอริกแอซิด (phosphoric acid) และซิตริกแอซิด (citric acid) เป็นต้น สำหรับกลไกการจับโลหะของสารประกอบฟลาโวนอยด์

4. หยุคปฏิกิริยาการสร้าองอนุมูลอิสระ (chain-breaking) วิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol; Toc-OH) สามารถป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ให้ถูกทำลาย จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid autooxidation) โดยทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน (electron-acceptor antioxidants) จากอนุมูล peroxy ( $\text{ROO}\cdot$ ) (Burton และ Traber, 1990)

5. เสริมฤทธิ์ (synergism) สารชนิดนี้จะช่วยสนับสนุนให้สารต้านอนุมูลอิสระทำงานได้ดีขึ้น เช่น การทำงานร่วมกันระหว่างวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) กับวิตามินซี (ascorbic acid) โดยที่วิตามินซีไม่สามารถทำงานในในสภาวะไม่มีขั้ว (hydrophobic condition) ได้เหมือนกับวิตามินอี แต่จะให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลแอลฟา-โทโคฟีรอลเปอร์ออกไซด์ ( $\alpha$ -tocopherol peroxy) ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างแอลฟา-โทโคฟีรอลกับอนุมูลเปอร์ออกไซด์ ( $\text{ROO}\cdot$ ) เพื่อเปลี่ยนรูปกลับไปเป็นแอลฟา-โทโคฟีรอลที่สามารถทำงานได้ (Frankel, 1998)

6. ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (enzyme inhibition) สารประกอบฟีนอลิก บางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก (phenolic acid) และแกลเลต (gallates) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ลิพอกซีจีเนส (lipoxygenase) โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) ส่งผลให้เอนไซม์ดังกล่าวไม่สามารถทำงานได้ (Puerta, 1999)

#### 2.4.3 แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ แบ่งได้ 2 ชนิด ได้แก่

1. สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants) สารประกอบฟีนอลิก สังเคราะห์ 5 ชนิด ได้แก่ propyl gallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylate hydroxyanisole, BHT (butylated hydroxytoluene) และ tertiary butylhydroquinone เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันอันเป็นสาเหตุให้อาหารมีกลิ่น สี และ รสชาติที่เปลี่ยนไป สารสังเคราะห์เหล่านี้มีประสิทธิภาพและความคงตัวสูงกว่าสารสกัดจากธรรมชาติแต่มีข้อจำกัดของการใช้เนื่องจากปัญหาด้านความปลอดภัยในการบริโภค (Yang และคณะ, 2000 ; Pokorny และคณะ, 2001)

2. สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants) สารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจและมีการค้นคว้าอย่างมากในปัจจุบันเนื่องจากความเชื่อมั่นว่ามีความปลอดภัยในการบริโภคมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้พบได้ทั้งในจุลชีพ สัตว์ และพืช เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่ง มีทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และสารที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (non-nutrient) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิกโดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) เช่น แซนโทน (xanthone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลที่เกาะบนวงเบนซีน (aromatic hydroxyl) ตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไปหมู่ฟังก์ชัน (functional group) เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการดักจับอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้นหรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยการให้อนุมูล  $H\cdot$  แก่อนุมูลอิสระเหล่านั้น นอกจากนี้สารประกอบโพลีฟีนอลที่มีโครงสร้างของ ortho-dihydroxyl phenol อยู่ในโมเลกุลยังสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูล  $OH\cdot$  ในปฏิกิริยาที่มีอนุมูลโลหะทรานซิชัน คือ  $Fe^{2+}$  และ  $Cu^{2+}$  เป็นตัวเหนี่ยวนำได้โดยการเข้าจับกับโลหะดังกล่าวเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (complex) (Sanchez-Moreno และคณะ 2000) สารประกอบ กลุ่มโพลีฟีนอล ซึ่งพบในพืชพรรณธรรมชาติสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีทั้งในห้องปฏิบัติการ (*in vitro*)

#### 2.4.4 สารต้านอนุมูลอิสระกับการป้องกันโรค

การศึกษากฎทางชีวภาพของสารต้านอนุมูลอิสระได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากอนุมูลอิสระส่งผลเสียต่อร่างกายและเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหลายชนิดในมนุษย์ เช่น โรคมะเร็ง ความดันโลหิตสูง เบาหวาน รูมาตอยด์ (Cornish และ Garbary, 2010) การศึกษาข้อมูลทางเภสัชวิทยาของสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่ามีสารออกฤทธิ์หลายชนิดที่มีส่วนส่งเสริมสุขภาพและป้องกันการเกิดโรคในมนุษย์

### 2.5 การวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ

วิธีการวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ 7 วิธี ได้แก่

#### 1. วิธี Scavenging activity of ABTS radical (Re และคณะ, 1999)

วิธีนี้เป็นวิธีวัดทางอ้อม โดยใช้สาร 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) หรือ ABTS มีสูตรโมเลกุล  $C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$  มาทำให้เป็นอนุมูลอิสระโดยการถูกออกซิไดซ์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตให้กลายเป็น  $ABTS^+$  ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีสีฟ้า - เขียว มี  $\lambda_{max}$  ที่ 660, 734 และ 820 nm แต่จะนิยมวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm โดยปรับค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น  $ABTS^+$  ให้เป็น  $0.700 \pm 0.02$  เมื่อเติมสารทดสอบที่มีกิจกรรมต้านออกซิเดชัน จะทำให้  $ABTS^+$  ลดลง ซึ่งทำให้สีจางลงและสามารถนำไปคำนวณเป็น % inhibition ได้ตามสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{734} \text{ control} - A_{734} \text{ test sample}) / A_{734} \text{ control}] \times 100$$

ผลการวิเคราะห์จะคำนวณเป็นค่าที่สัมพันธ์กับสารต้านออกซิเดชันมาตรฐาน Trolox จึงมีชื่อว่า Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อดีของวิธีนี้ คือ ทำได้ง่าย อนุมูล ABTS<sup>+</sup> จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารต้านออกซิเดชันอนุมูล ABTS<sup>+</sup> ละลายได้ทั้งในน้ำและสารทำละลายอินทรีย์ จึงทำให้ศึกษาได้ทั้งในสารที่ละลายในน้ำหรือละลายในไขมัน ส่วนข้อเสียของวิธีนี้ คือ ABTS ไม่เป็นสารตามธรรมชาติที่ก่อให้เกิดอนุมูลในเซลล์หรือร่างกาย

## 2. วิธี DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical (Hou และคณะ, 2001)

อนุมูล DPPH<sup>•</sup> เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้ว โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลเหมือนกับกรณีอนุมูล ABTS<sup>+</sup> การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยวิธีให้ไฮโดรเจนอะตอม การวัดทำโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง(spectrophotometer) วัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารต้านออกซิเดชันลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร DPPH radical ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง (scavenging activity) สารละลายของ DPPH<sup>•</sup> มีสีม่วงในเอทานอล และเมื่อได้รับ H จะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง (Blois, 1958)

ค่าที่วัดได้จะแสดงความสามารถในการสารต้านออกซิเดชันออกมาในค่า % inhibition ตามสมการดังนี้

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{517} \text{ control} - A_{517} \text{ test sample}) / A_{517} \text{ control}] \times 100$$

ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้ง่าย นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ

ข้อเสียของวิธีนี้คือ อนุมูล DPPH<sup>•</sup> มีความคงตัวไม่ไวต่อการทำปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้

## 3. วิธี Hydroxyl (OH) radical scavenging activity (Ohkawa และคณะ, 1979)

Hydroxyl radical (OH<sup>•</sup>) เป็นอนุมูลอิสระที่ว่องไว สามารถจู่โจมชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกายโดยการเกิดปฏิกิริยาถูกโซ่อย่างต่อเนื่อง (Spencer และคณะ, 1994) สิ่งมีชีวิตสามารถสร้าง OH<sup>•</sup> radical โดย 2 กลไก ได้แก่

a. ปฏิกิริยาของไฮดรอกซิลเพอร์ออกไซด์ (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) แม้ว่าเกลือของโลหะทรานซิชันทั่วไปทำปฏิกิริยากับ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ได้ OH<sup>•</sup> แต่ในร่างกายนั้น เป็นไปได้ว่าเกิดจากเหล็ก Fe<sup>2+</sup> ทำปฏิกิริยากับ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ได้ OH<sup>•</sup> โดยเรียกปฏิกิริยานี้ว่า Fenton reaction

b. การแตกตัวของน้ำ เนื่องจากการถูกแสงหรือรังสี

ในการศึกษาความสามารถในการยับยั้ง OH<sup>•</sup> radical ของสารตัวอย่าง ต้องทำการสังเคราะห์ Hydroxyl radical (OH<sup>•</sup>) จากน้ำตาล deoxyribose โดยปฏิกิริยา Fenton reaction model system เมื่อเติมสาร Thiobarbituric acid (TBA) และ Trichloroacetic acid จะเกิดเป็นสีชมพู เมื่อเติมสารที่เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้องการทดสอบที่มีความสามารถในการยับยั้ง OH• radical ลงไป จะทำให้สีชมพูของสารละลายจางลง โดยสามารถตรวจสอบได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 nm (Mathew และ Abraham, 2006) จากนั้นนำไปคำนวณเป็น % inhibition ได้ตามสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{532} \text{ control} - A_{532} \text{ test sample}) / A_{532} \text{ control}] \times 100$$

#### 4. วิธี Lipid peroxidation in liver homogenates (Halliwell และคณะ, 1987)

เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันแบบลูกโซ่ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว อนุมูลอิสระเพียง 1 อนุมูลสามารถทำให้เกิดลิพิดเปอร์ออกไซด์ เป็นจำนวนหลายร้อยโมเลกุลก่อนที่จะสิ้นสุดปฏิกิริยาเนื่องจากปฏิกิริยา Lipid peroxidation สามารถเกิดได้ง่ายกับเยื่อหุ้มเซลล์ ที่ประกอบด้วยลิพิด 2 ชั้น การเกิดลิพิดออกซิเดชันกับลิพิดในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ มีคุณสมบัติที่เปลี่ยนไป ยังส่งผลกระทบต่อเอนไซม์และรีเซพเตอร์ที่ฝังตัวอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เอนไซม์และรีเซพเตอร์มีการทำงานที่เสียไปเป็นสาเหตุในเกิดโรคต่างๆได้อีกด้วย ผลผลิตที่เกิดขึ้นมาจาก Lipid peroxidation ได้แก่ สารไฮโดรคาร์บอน เช่น อีเทน อีthin และเพนเทน รวมถึง สารคีโตน และสารอัลดีไฮด์ เป็นต้น ซึ่งสารอัลดีไฮด์ที่มีความสำคัญ คือ มาลอนไดอัลดีไฮด์ (Malondialdehyde, MDA) Lipid peroxidation เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ ปฏิกิริยาเริ่มต้นของการเกิดโซ่ ปฏิกิริยาการทวีเพิ่มขึ้น และการสิ้นสุดปฏิกิริยา ปฏิกิริยาลูกโซ่เริ่มต้นด้วยการมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น และอนุมูลอิสระนี้เข้าทำปฏิกิริยากับลิพิดและทำให้เกิดอนุมูลลิพิด (L• หรือ R•) (โอภา และคณะ, 2549)

วิธีนี้เป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ของสารสกัดทดสอบ โดยใช้ดับหนุมทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แล้วทำให้เกิดผลผลิตจากปฏิกิริยา Lipid peroxidation ได้เป็นสารมาลอนไดอัลดีไฮด์ (Malondialdehyde, MDA) จากนั้นเติมกรดไทโอบาร์บิทูริกในสภาวะกรดสาร MDA จะทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาร์บิทูริก ได้เป็นสารมีสีเรียกว่า TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) เมื่อเติมสารสกัดทดสอบที่มีความสามารถในการยับยั้ง Lipid peroxidation ลงไป จะทำให้สารสีจางลง จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 nm (โอภาและคณะ, 2549)

ข้อดีของวิธีการนี้ คือ ทำการศึกษาง่าย สะดวก ไม่ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาสูง แต่มีข้อเสียคือ

ต้องใช้สิ่งมีชีวิตในการทำการทดลอง ทำให้ลดความนิยมลง

เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงแล้วนำไปคำนวณหา % inhibition ตามสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{532} \text{ control} - A_{532} \text{ test sample}) / A_{532} \text{ control}] \times 100$$

#### 5. วิธี Metal chelating activity (Dinis และคณะ, 1994)

การวัดความสามารถในการแย่งจับกับโลหะเป็นวิธีหนึ่งที่น่าสนใจในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารที่ต้องการทดสอบ เพราะโลหะไอออนเป็นตัวการสำคัญในการเร่งเอกซาร์เนชันเป็นเอกซาร์เนชันที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะเป็นใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยาทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระต่างๆมากมายหลายชนิด โดยเฉพาะธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์รัส หรือ  $Fe^{2+}$  จะทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศ เกิดเป็นสารอนุมูล Superoxide anion radical ( $O_2^{\cdot-}$ ) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นๆต่อไป ดังนั้นวิธีการวัดความสามารถในการแย่งจับโลหะ  $Fe^{2+}$  ของสารที่ต้องการทดสอบนั้น อาศัยจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 562 nm ที่มีค่าลดลง โดยเมื่อเติมสาร Ferrozine ลงไป สารนี้จะไปจับกับ  $Fe^{2+}$  แล้วอยู่ในรูป Ferrozine - $Fe^{2+}$  complex ซึ่งจะให้สีแดง และถ้าสารที่ต้องการทดสอบมีความสามารถในการแย่งจับกับ  $Fe^{2+}$  จะอยู่ในรูป Antioxidant -  $Fe^{2+}$  complex แล้วจะทำให้สีแดงของ Ferrozine -  $Fe^{2+}$  complex จางลงได้

เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงแล้วนำไปคำนวณหา % inhibition ตามสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [ ( A_{562} \text{ control} - A_{562} \text{ test sample} ) / A_{562} \text{ control} ] \times 100$$

#### 6. วิธี Superoxide radical scavenging (Nikishimi และคณะ, 1972)

Superoxide anion radical ( $O_2^{\cdot-}$ ) เป็นอนุมูลเริ่มแรกที่เกิดขึ้นในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและเป็นตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นๆอีกมากมายจากการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ นอกจากจะทำให้อนุมูลอิสระมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นแล้ว อุณหภูมิและความแรงของอนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาลูกโซ่เป็นอันตรายสูงขึ้นด้วย แต่ตัวของ  $O_2^{\cdot-}$  จะมีความว่องไวน้อยกว่า  $OH^{\cdot}$  ซึ่งการเกิด  $O_2^{\cdot-}$

เมื่อ  $O_2^{\cdot-}$  ทำปฏิกิริยากับ  $H_2O_2$  จะทำให้เกิด  $OH^{\cdot}$  เรียกปฏิกิริยานี้ว่า Haber-Weiss reaction (Kappus, 1992)

การศึกษาสมบัติการเป็นสารจับ  $O_2^{\cdot-}$  ของสารตัวอย่าง ซึ่ง  $O_2^{\cdot-}$  จะผลิตมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารในระบบ Phenazine methosulphate (PMS) - Nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) อนุมูล  $O_2^{\cdot-}$  ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับสาร Nitrobluetetrazolium (NBT) ซึ่งมีสีเหลือง

ปฏิกิริยาระหว่าง  $O_2^{\cdot-}$  กับสาร NBT ให้ผลิตภัณฑ์เป็นสาร diformazan (DF) ที่มีสีน้ำเงิน และสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ 560 nm จากนั้นนำไปคำนวณเป็น % inhibition ได้ตามสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [ ( A_{560} \text{ control} - A_{560} \text{ test sample} ) / A_{560} \text{ control} ] \times 100$$

#### 7. วิธี Reducing power (Oyaizu, 1986)

ความสามารถของการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันของสารที่ต้องการทดสอบ สามารถใช้ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้ วิธีนี้เป็นการศึกษาความสามารถในการรีดิวซ์ หรือให้อิเล็กตรอนของสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบแก่สารอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้นภายในระบบ โดยสารที่ต้องการทดสอบจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระแล้วทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัว อีกทั้งยังสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระอีกด้วย โดยอาศัยจากการวัดปฏิกิริยา reduction ของ  $Fe^{3+}(CN)_6$  ไปเป็น  $Fe^{2+}(CN)_6$  ซึ่งจะทำให้มีสีน้ำเงินที่เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้น สามารถตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ได้ จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 nm ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นแสดงถึง ความสามารถในการรีดิวซ์ที่มากขึ้น

## 2.6 วิตามินอี (α-tocopherol)

วิตามินอี เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในร่างกาย ร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นมาได้ มีชื่อทางเคมีว่า Tocopherol เป็นพวกแอลกอฮอล์ไม่อิ่มตัว มีอยู่ในธรรมชาติ 7 ชนิดด้วยกัน ได้แก่ -alpha, -beta, -delta, -epsilon, -gamma และ -zeta Alphanatocopherol เป็นตัวที่สำคัญที่สุดเนื่องจากมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี วิตามินอีเป็นวิตามินที่มีการค้นพบกันมานาน แต่ วิตามินอีที่มีการศึกษาและพูดถึงกันมากคือ โทโคไตรอีนอล (tocotrienols) ซึ่งเป็นวิตามินที่ได้จากน้ำมันปาล์ม และมีบทบาทสำคัญคล้าย โทโคฟีรอล ที่มีในน้ำมันพืชทั่วไป

วิตามินอีที่บริสุทธิ์จะมีสีเหลืองอ่อนค่อนข้างเหนียวเหมือนน้ำมัน สามารถละลายได้ในไขมันและตัวทำละลายไขมัน ทนความร้อนได้สูงถึง 200 องศาเซลเซียส ทนต่อกรด แต่ถูกทำลายได้ง่ายในด่าง แสงอัลตราไวโอเลต ออกซิเดชัน หรือในน้ำมันเหม็นหืน การปรุงโดยใช้ความร้อนสูงหรือถูกแสงแดด การขัดสี การบดเพื่อทำแป้ง และการกลั่นน้ำมันพืช รวมทั้งการแปรรูปที่มีความสลับซับซ้อน จะทำให้สูญเสียวิตามินอีได้

พบมากใน น้ำมันพืช เช่นจากถั่วเหลือง ข้าวโพด และดอกคำฝอย น้ำมันจมูกข้าวสาลี น้ำมันตับปลา น้ำมันมะกอก น้ำมันเมล็ดทานตะวัน นอกจากนี้ยังพบในผักใบเขียว และพบน้อยลงในเนื้อ ปลา ผลไม้ เป็นต้น

จะถูกดูดซึมที่ลำไส้ เข้าไปในระบบน้ำเหลือง ต่อไปสู่กระแสเลือดในรูปของโคไลไมคอล พบว่าการดูดซึมวิตามินอีต่ำๆ จะมีประสิทธิภาพดีกว่าวิตามินอีปริมาณสูงๆ และส่งต่อไปเก็บสะสมที่ตับ นอกจากนี้ยังพบอยู่ตาม เนื้อเยื่อไขมัน หัวใจ ปอด และอยู่ในชั้นผิวหนังของอวัยวะนั้นๆ มีการสะสมได้เป็นเวลานาน มีการขับออกทางอุจจาระโดยผ่านที่ตับ ส่วนเมตาบอไลต์จะออกทางปัสสาวะ

### ประโยชน์ของวิตามินอีต่อร่างกาย

วิตามินอีจะช่วยปกป้องเซลล์ในร่างกายจากสารอนุมูลอิสระ โดยไปขัดขวางปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารในร่างกาย โดยอาศัยคุณสมบัติของมันเองที่เป็นตัวที่ไวต่อการถูกออกซิไดส์มาก จึงเป็นตัวที่ถูกออกซิไดส์เองแทนสารอื่นๆในร่างกายที่มีความไวต่อการถูกออกซิไดส์ได้น้อยกว่า ป้องกันไขมันไม่อิ่มตัวที่กินเข้าไปรวมกับออกซิเจนซึ่งจะก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ เป็นสารต้านไม่ให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัด 130311 และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลอดเลือดแข็งตัว และยังขยายหลอดเลือดฝอยเล็กๆ ได้อีกด้วย ทำให้การไหลเวียนดีขึ้น ป้องกันการเกาะตัวของเกร็ดเลือดที่ผนังหลอดเลือด จึงช่วยลดการอุดตันของคอเลสเตอรอล ทั้งตัวมันเองยังมีฤทธิ์ลดคอเลสเตอรอลทำให้ร่างกายมีการนำพาออกซิเจนได้อย่างสะดวก ส่งผลให้ร่างกายใช้ออกซิเจนได้ดีขึ้น ทำให้กล้ามเนื้อมีกำลังมากขึ้น อีกทั้งยังช่วยให้มีการผลิตผิวหนังขึ้นมาใหม่ ช่วยเพิ่มการทำงานของอินซูลิน ทำให้ระบบประสาทดีขึ้นสามารถทำงานได้ตามปกติ ช่วยทำให้ระบบสืบพันธุ์เป็นปกติ รักษาอาการเป็นหมันได้ ช่วยป้องกันการเกิดต่อกระดูกได้ และยังเชื่อว่าทำลายฤทธิ์ของสารก่อมะเร็งได้ด้วย

ยังไม่มีหลักฐานว่าคนที่มีความสุขปกติและมีการดูแลสุขภาพได้ดีจะมีภาวะขาดวิตามินอี นอกจากทารกที่คลอดก่อนกำหนด ที่จะเกิดภาวะโลหิตจางเนื่องจากเม็ดเลือดแดงแตกง่าย แต่อย่างไรก็ตามอาการที่ขาดวิตามินอีคือ ระบบการไหลเวียนของโลหิตจะผิดปกติ โดยเฉพาะปลายมือปลายเท้า อาจส่งผลต่อระบบหัวใจ โดยส่งผลต่อกล้ามเนื้อหัวใจ เกิดกล้ามเนื้ออ่อนแรง มีการแตกของเม็ดเลือดแดงได้ง่าย อายุของเม็ดเลือดลดลง การดูดซึมเหล็กลดลง และอาจจะเป็นสาเหตุทำให้ตับและไตถูกทำลายได้

นอกจากนี้ ยังพบว่าถ้าได้รับวิตามินอีวันละ 300 มิลลิกรัมเป็นเวลาหลายเดือนจะส่งผลให้ปวดท้อง คลื่นไส้ อ่อนเพลีย ซึม สายตามัว ถ้ามากกว่า 2000 มิลลิกรัมขึ้นไปเป็นเวลา 3 เดือน จะเกิดอาการมูมปากและริมฝีปากอักเสบ กล้ามเนื้อไม่มีกำลังได้ ในคนปกติไม่ควรเสริมวิตามินอี เพราะไม่มีหลักฐานแสดงถึงประโยชน์ และในแต่ละวันการทานอาหารให้ครบ 5 หมู่ ก็จะได้รับวิตามินอีเพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย

## 2.7 ยาต้านจุลชีพ

ยาต้านจุลชีพเป็นยาถึงสังเคราะห์ที่ได้มาจากสารสกัดจากจุลชีพด้วยกัน เช่น จากแบคทีเรียหรือเชื้อรา แล้วนำมาปรับปรุงสูตรโครงสร้างอีกเล็กน้อยเพื่อให้ออกฤทธิ์ดีขึ้น หรือบริหารง่ายขึ้น หรือมีความปลอดภัยเพิ่มมากขึ้น จนสามารถสังเคราะห์ยาได้เองโดยไม่ต้องสกัดสารใดๆ จากจุลชีพอีกต่อไป ยาต้านจุลชีพบางขนานจึงเป็นสารเป้าหมายในตัวจุลชีพ จนสามารถขัดขวางกระบวนการเจริญเติบโต หรือการแบ่งตัว ทำให้จุลชีพหยุดการเจริญเติบโตหรือตายไปในที่สุด วงการแพทย์แบ่งยาเหล่านี้ออกเป็นประเภทต่างๆ หลายกลุ่ม เช่น เบต้าแลคแทม , คาร์บาพีแนม , มาโครไลด์ , เตตราไซคลิน เป็นต้น ตัวอย่างของยาต้านจุลชีพได้แก่ penicillin , sulfa หรือ sulphonamide , amoxicillin , ampicillin เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการออกฤทธิ์โดยจับกับสารเป้าหมายในตัวจุลชีพนั้น เป็นลักษณะเฉพาะตัวของยาแต่ละขนานกับจุลชีพแต่ละชนิด ดังนั้น ยาจึงออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้บางชนิด และไม่สามารถทำลายเชื้อทุกชนิดได้ จึงไม่มียาต้านจุลชีพใดที่กว้างครอบคลุมจริง การใช้ยาจึงต้องเลือกให้ "ตรง" กับเชื้อโรคด้วย มิฉะนั้นจะไม่สามารถทำลายเชื้อก่อโรค หรือรักษาโรคได้ถึงแม้ยาที่มีราคาแพงมากก็ตาม นอกจากนั้น ยังมีเชื้อก่อโรคบางชนิดที่ยังไม่มียาต้านจุลชีพไปทำลายได้ เชื้อกลุ่มนี้มักอยู่ในกลุ่มไวรัส เช่น เชื้อก่อโรคไข้หวัด ไข้เลือดออก ไข้สมองอักเสบ โรคพิษสุนัขบ้า เป็นต้น

โดยในวงการแพทย์ยาแก้อักเสบและยาต้านจุลชีพเป็นยาคนละกลุ่ม ยาต้านจุลชีพเป็นยาทำลายเชื้อหรือยับยั้งการเจริญเติบโต เมื่อให้ยาต้านที่ตรงกับเชื้อโรค ยาจะไปทำลายเชื้อนั้น และทำให้ปฏิกิริยาอักเสบลดลงและหายไปในที่สุด ส่วนยาแก้อักเสบไปยับยั้งกระบวนการอักเสบที่ร่างกายนำมาต่อสู้สิ่งแปลกปลอมหรือจุลชีพที่บุกรุกเข้ามาสู่ร่างกายยาแก้อักเสบจึงไปลดกระบวนการต่อสู้ของร่างกายทำให้ปฏิกิริยาอักเสบซึ่งได้แก่ ยาเพรดนิโซน (prednisone) ยาเม็ดเบอร์ 5 หรือ ยาถูกกลอนบางชนิดที่ผสมยาแผนปัจจุบันเข้าไปด้วยโดยรู้เท่าไม่ถึงการณ์ เมื่อมีการติดเชื้อและกินยาแก้ต้านจุลชีพ จึงไม่ควรกินยาแก้อักเสบดังกล่าวไปพร้อมกัน

### จุลชีพในร่างกาย

จุลชีพในร่างกายมีทั้งชนิดที่ก่อโรคและชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย จุลชีพที่เป็นประโยชน์ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในช่องปาก ช่องคลอด ทางเดินอาหาร และลำไส้ แบคทีเรียเหล่านี้ย่อยเศษอาหารที่เหลือใช้ สร้างวิตามินให้เราและหลั่งสารหรือกรดที่คอยป้องกันจุลชีพแปลกปลอมหรือเชื้อโรคเข้ามาเพิ่มจำนวนหรือบุกรุกเข้าสู่ร่างกาย แบคทีเรียเหล่านี้ไวต่อยาต้านจุลชีพกลุ่มนี้ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายด้วย การกินยาต้านจุลชีพที่ไม่จำเป็นจึงเกิดผลเสียได้เพราะยาไปทำลายจุลชีพชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายจนทำให้เกิดโรคบางอย่างได้เอง เช่น ตกขาวคันที่ช่องคลอดจากเชื้อรา อูจาระร่วงอย่างรุนแรงและยังทำให้แบคทีเรียคือยาด้านจุลชีพงายขึ้นด้วย

#### 2.7.1 หลักการใช้ยาต้านจุลชีพ

โดยทั่วไปโรคติดเชื้อทำให้เกิดไข้และกระบวนการอักเสบตามมา ทำให้ปวดศีรษะ ปวดเมื่อยตามตัว อ่อนเพลีย เบื่ออาหาร และอาการเฉพาะที่ตามอวัยวะต่างๆ เช่น ถ้ามีการติดเชื้อที่ปอด จะทำให้เกิดอาการไอ มีเสมหะเจ็บหน้าอก และหอบเหนื่อยได้ เชื้อก่อโรคมีหลายชนิด ตั้งแต่ เชื้อไวรัส (ทำให้เกิดไข้หวัด ไข้หวัดใหญ่ หลอดลมอักเสบฉับพลัน ไข้เลือดออก เป็นต้น) chlamydia , rickettsia , mycoplasma เชื้อแบคทีเรีย เชื้อสโไฟโรคิด เชื้อรา เป็นต้น เชื้อบางชนิดก่อโรคชั่วคราวแล้วโรคหายได้เอง บางชนิดก่อโรคชั่วคราวแล้วโรคหายได้เอง บางชนิดก่อโรครุนแรงจนถึงแก่กรรมได้ การเลือกยาต้านจุลชีพจึงต้องเลือกยาให้ "ตรง" กับเชื้อ แพทย์จะทราบว่าคุณมีอาการแบบนี้ น่าจะเกิดจากเชื้อโรคชนิดใดหรือกลุ่มใด ก็จะเลือกให้ยาหรือแนะนำตามข้อมูลที่ได้จากผู้ป่วย หรือได้จากการชันสูตรเพิ่มเติม โดยขอเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยมาเพาะหาเชื้อก่อโรค เช่น เจาะเลือดเพื่อเพาะเชื้อหรือเก็บปัสสาวะมาเพาะเชื้อ เป็นต้น เมื่อเพาะได้เชื้อจากตัวอย่างแล้ว ห้องปฏิบัติการเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถทดสอบว่า เชื้อดังกล่าวไวต่อยาต้านจุลชีพขนานใด ทำให้เลือกยาต้านจุลชีพได้แม่นยำขึ้นอีก

ในกรณีที่โรคเกิดจากเชื้อที่ยังไม่มียาต้านจุลชีพทำลายเชื้อได้ เช่น เชื้อไวรัสบางชนิดที่ก่อโรคไข้หวัดใหญ่ ไข้เลือดออก ไข้หวัด-เจ็บคอ เป็นต้น ถ้าโรคหายได้เอง แพทย์อาจจะให้ยารักษาตามอาการเพื่อทำให้ผู้ป่วยรู้สึกสบายและพักผ่อนนอนหลับได้ดีขึ้น แต่ถ้าเป็นโรคร้ายแรงและไม่หายเอง เช่น ไข้เลือดออกอีโบลา ไข้ทรพิษ เป็นต้น เราต้องป้องกันการกระจายของโรคไปสู่ผู้อื่น

โรคบางชนิดมีอาการเหมือนกัน แต่เกิดจากเชื้อได้หลายชนิด ตัวอย่างเช่น ไข้-เจ็บคอ มีเชื้อก่อโรคส่วนใหญ่เป็นไวรัสที่ไม่มียาต้านจุลชีพทำลายได้ ส่วนน้อยเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่มียาต้านจุลชีพทำลายได้ การตรวจคอหอยโดยดูว่า มีหนองหรือไม่จะชี้แนะถึงเชื้อก่อโรคว่า เป็น ไวรัสหรือแบคทีเรีย ถ้าไม่พบหนองที่ต่อมทอลซิลจะเกิดจากไวรัสและไม่ต้องกินยาต้านจุลชีพ ถ้าพบจุดหนองที่ต่อมทอลซิลหรือต่อมน้ำเหลือง 1 เม็ด ใต้มุมขากรรไกร โดและเจ็บ จะเกิดจากแบคทีเรีย และต้องกินยาต้านจุลชีพทำลายเชื้อ โรคจะหายเร็วขึ้น นอกจากนี้ โรคอาจจะเกิดจากเชื้อต่างชนิดกันแต่มียาทำลายได้ทั้งคู่และเป็นยากคนละประเภท ยาต้านจุลชีพที่กินก็อาจจะแตกต่างกันได้ด้วย จึงสรุปได้ว่าแม้อาการของโรคจะเหมือนกัน ผู้ป่วยอาจจะไม่ต้องกินยาต้านจุลชีพ หรือต้องกินยาต้านจุลชีพ แต่เป็นต้นจุลชีพคนละชนิดกันก็ได้ เพราะเชื้อที่ก่อโรคเป็นคนละชนิดกัน ระยะเวลาที่กินยาอาจจะสั้นคือกินเพียงครั้งเดียว หรือกินนานหลายเดือนเป็นปี จึงต้องกินยาต้านจุลชีพให้ครบกำหนดระยะเวลาที่กำหนดโดยเฉพาะ โรคที่ต้องรักษายาวนาน เช่น วัณโรค การหยุดยาก่อนกำหนดจะทำให้โรคลกลับเป็นซ้ำใหม่ได้ง่ายและมีเชื้อที่ดื้อยาเพิ่มขึ้น ทำให้การรักษายุ่งยากขึ้น

สำหรับผู้ที่รับประทานยาต้านจุลชีพ ควรถามแพทย์หรือเภสัชกรถึงประเภทและชื่อยาต้านจุลชีพที่ให้กิน ความจำเป็นที่ต้องกินยาต้านจุลชีพขนานนี้ในการรักษาโรค วิธีการอื่นๆ ที่รักษาโรคนี้อาจได้ผลดีเช่นกัน ควรทราบว่า โรคนี้หายเองได้ไหมและการกินยาต้านจุลชีพทำให้โรคหายเร็วกว่าเดิมจริงหรือไม่ การกินยาทำให้เกิดอาการข้างเคียงหรือแพ้ยาได้อย่างไรบ้าง ควรบอกประวัติอดีตที่เคยแพ้ยาต้านจุลชีพให้แพทย์และเภสัชกรทราบด้วย

ผู้ที่มีโรคประจำตัวอยู่ เช่น โรคไตหรือตับพิการ ต้องแจ้งให้แพทย์ทราบด้วยเพื่อจะได้หลีกเลี่ยงยาที่อาจจะมีพิษต่ออวัยวะนั้น หรือเพื่อจัดขนาดยาให้เหมาะสม ส่วนยาที่กินอยู่เป็นประจำ ควรแจ้งให้แพทย์ทราบด้วย เพราะการกินยาจุลชีพพร้อมกับยาบางอย่าง เช่น ยาแก้หอบหืดทำให้ระดับยาแก้หอบหืดสูงมากในเลือดจนมือหรือใจสั่นได้

### 2.7.2 ประเภทของยาต้านจุลชีพ

แบ่งตามขอบเขตของการออกฤทธิ์ทางยา

- 1) ออกฤทธิ์กับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก คือ เชื้อแบคทีเรียที่ย้อมติดสีม่วงเนื่องจากผนังเซลล์มีส่วนประกอบของ peptidoglycan เช่น Penicillin

- 2) ออกฤทธิ์กับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ คือ เชื้อแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแดงเนื่องจากผนังเซลล์มีส่วนประกอบของ lipopolysaccharide เช่น Amionglycoside
- 3) กลุ่มที่มีขอบเขตการออกฤทธิ์แคบ (Narrow spectrum) คือ ยาที่มีฤทธิ์ต่อเชื้อแกรมบวกทั้งที่เป็นรูปกลมและรูปแท่ง เช่น Penicillin และ Vancomycin รวมทั้งยาที่มีฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง เช่น ยาในกลุ่ม Aminoglycoside
- 4) กลุ่มที่มีการออกฤทธิ์ปานกลาง (Intermediate spectrum) คือ ยาที่มีฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบบางชนิด เช่น Cephalosporin บางตัว
- 5) กลุ่มที่มีขอบเขตการออกฤทธิ์กว้าง (Broad spectrum) คือ ยาที่มีผลออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลมและแกรมลบรูปแท่ง เช่น Ampicillin และ Tetracycline

แบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์ของยาที่มีต่อผนังเซลล์

- 1) Bactericidal : ยาที่ออกฤทธิ์ต่อผนังเซลล์ เซลล์เมมเบรน DNA หรือยาที่ความเข้มข้นสูงทำให้มีฤทธิ์ฆ่าจุลชีพ (99.9% ของเซลล์แบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงถูกฆ่าในเวลาที่กำหนด)
- 2) Bacteriostatic : ยาออกฤทธิ์ต่อขบวนการสร้าง โปรตีนหรือยาที่ความเข้มข้นต่ำทำให้ยับยั้งการเจริญเติบโตและจะต้องอาศัยกลไกในการต้านทานโรคของร่างกายมาช่วยในการกำจัดเชื้อพร้อมด้วย

แบ่งตามกลไกการออกฤทธิ์ของยาที่มีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์

- 1) กลุ่มที่มีฤทธิ์ขัดขวางการสร้างผนังหุ้มเซลล์ - ยากลุ่มนี้ประกอบด้วย Penicillin, Cephalosporin, Vancomycin, Bacitracin และ Cycloserine ยากลุ่มนี้ทำลายผนังหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแตกและตายทันที จึงจัดเป็นยากลุ่ม Bactericidal action
- 2) กลุ่มที่มีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ - ยากลุ่มนี้มีผลทำให้ของเหลวภายในเซลล์ซึมผ่านออกนอกเซลล์และทำให้เซลล์ตายในที่สุด ยากลุ่มนี้อาจจัดได้ว่าเป็นยาที่มีพิษต่อคนมากที่สุดเพราะเยื่อหุ้มเซลล์ของคนสามารถถูกทำลายโดยยากลุ่มนี้ได้เช่นกัน แต่ด้วยคุณสมบัติบางประการ จึงส่งผลให้ยาออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียได้ดีกว่าคน
- 3) กลุ่มที่มีผลขัดขวางการสร้างโปรตีน - ยากลุ่มนี้มีผลยับยั้งการทำงานของไรโบโซมซึ่งเป็นกลไกที่สำคัญของเซลล์ในการสร้างโปรตีน จึงมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยตรง ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องอาศัยการทำงานของภูมิต้านทานของร่างกายในการทำลายเชื้อที่เหลืออยู่ ยากลุ่มนี้แบ่งย่อยได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีผลต่อไรโบโซมชนิด 50s ได้แก่ Chloramphenicol, Clindamycin, Erythromycin และกลุ่มที่มีผลต่อไรโบโซมชนิด 30s ได้แก่ Tetracycline
- 4) กลุ่มที่มีผลทำให้ขบวนการสร้างโปรตีนของแบคทีเรียผิดปกติ - เกิดจากการที่ยาจับกับไรโบโซมชนิด 30s และทำให้เกิดการสร้างโปรตีนที่ผิดปกติเป็นผลทำให้แบคทีเรียถูกทำลาย ยาจึงมีคุณสมบัติจัดเป็นยากลุ่ม Bactericidal action เช่น Streptomycin, Neomycin เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 5) กลุ่มที่มีผลยับยั้งการสร้างกรดนิวคลีอิก - ยากลุ่มนี้ทำให้เซลล์ไม่สามารถสร้าง DNA ซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของแบคทีเรีย จึงมีฤทธิ์อยู่ในกลุ่ม Bacteriostatic action
- 6) กลุ่มที่ขัดขวางขบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย - ได้แก่ ยาในกลุ่ม Sulphonamide และ Trimethoprim ซึ่งจะไปยับยั้งขบวนการเมตาบอลิซึมของกรดโฟลิก ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเจริญเติบโตและแบ่งตัวต่อไปได้ ยาจึงออกฤทธิ์เป็น Bacteriostatic action

### 2.7.3 การแพ้ยาต้านจุลชีพและข้อควรระวังในการใช้ยา

การแพ้ยาต้านจุลชีพเป็นสิ่งที่พบได้เสมอ และส่วนใหญ่เกิดขึ้นระหว่างร้อยละ 0.1-10 ของผู้ที่กินยา อาการที่พบได้บ่อยสำหรับยากินคือ คลื่นไส้ อาเจียน อุจจาระร่วง อาการอื่นๆ พบได้บ้าง ได้แก่ ผื่นคันหลังจากกินแอมพิซิลลิน หรือผิวหนังรอบปากบวม และมีสีดำหลังจากกินยาซัลฟา หรือเตตราไซคลิน ผิวหนังบวมแดงเมื่อถูกแสงแดดจัดๆ ถ้ากินยาควิน โนโลนบางขนาน บางรายแพ้ยาแล้วมีดีซ่าน เป็นต้น บางรายแพ้ยารุนแรงถึงแก่กรรมได้ เช่น แพ้ยาเพนิซิลลินทำให้มีอาการแน่นหน้าอก หายใจไม่ออก ยาคลอแรมเฟนิคอลอาจทำให้ไขกระดูกฝ่อ หรือยากลุ่มอื่นอาจจะทำให้ผิวหนังลอกหลุดทั่วร่างกายเหมือนกับถูกไฟไหม้ทำให้โรครุนแรงถึงแก่กรรมได้ ยาเตตราไซคลินที่หมดอายุทำให้เกิดโรคไตพิการ ดังนั้น เมื่อได้ยาต้านจุลชีพมาแล้ว ควรเก็บไว้ในที่เย็นหรือในตู้เย็น และใช้ให้หมด ไม่ควรนำยาที่เหลืออยู่กับมาใช้อีกโดยเฉพาะยาต้านจุลชีพที่ผสมน้ำก่อนนำมาใช้

เมื่อมีอาการผิดปกติและไม่แน่ใจว่า แพ้ยา ให้หยุดยาไว้ก่อนและสอบถามผู้ที่สั่งยาหรือแพทย์หรือเภสัชกร เพื่อตรวจสอบว่า แพ้ยาหรือไม่ ถ้าเป็นแพ้ยา ต้องจำให้แม่นยำหรือจดไว้ว่า แพ้ยาขนานใดเพื่อจะหลีกเลี่ยงการกินยาขนานนั้นต่อไปในอนาคต

### 2.8 ยาปฏิชีวนะเจนตาไมซิน (Gentamicin)

สรรพคุณ : Gentamicin เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่มของ aminoglycoside ที่มีฤทธิ์ทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมลบและชนิดแกรมบวกได้บางส่วน ซึ่งเชื้อที่ไวต่อยานี้ ได้แก่ *Staphylococci*, *E. coli sp.*, *Enterobacter sp.*, *Salmonella sp.*, *Serratia sp.*, *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.*, *Pasteurella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium sp.* และ *Actinobacillus sp.* เป็นต้น

ข้อบ่งใช้ : รักษาการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมลบ รวมถึง *Pseudomonas*, *Proteus*, *Serratia* ที่ไวต่อยานี้ และแกรมบวกสแตปฟีโลคอคคัส ซึ่งเป็นสาเหตุการติดเชื้อต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย เช่น กระดูก ระบบทางเดินหายใจ ผิวหนังและเยื่อหุ้มช่องท้อง ระบบทางเดินปัสสาวะ หัวใจและระบบเลือด ใช้ป้องกันการติดเชื้อที่หัวใจ โดยการให้ก่อนการผ่าตัด

- ข้อห้ามใช้ : 1. ผู้ป่วยที่แพ้ยาหรือส่วนประกอบของยานี้ หรือแพ้ยากลุ่มอะมิโนกลัยโคไซด์
2. หญิงตั้งครรภ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเก็บรักษา : เก็บที่อุณหภูมิไม่ควรเกิน 25°C และพ้นจากแสงแดด

## 2.9 ยาปฏิชีวนะ Cifloxin

ชื่อสามัญ : Ciprofloxacin

ชื่อการค้า : Cifloxin

ลักษณะ : จัดเป็น ยาปฏิชีวนะกลุ่มควิโนโลน (Quinolones) มีใช้แพร่หลายในโรงพยาบาล ชื่อที่คุ้นหู ได้แก่ ไซโปรเบหรือซิโปรเบ (Ciprobay)

สรรพคุณ : ใช้รักษาการติดเชื้อของหูชั้นกลาง ไชนัสอักเสบ ทางเดินปัสสาวะอักเสบ กระเพาะปัสสาวะอักเสบ และการติดเชื้อในกระแสเลือด (กระแสโลหิต) มีกลไกการออกฤทธิ์ ยับยั้งการสังเคราะห์สารพันธุกรรมของแบคทีเรียที่เรียกว่า ดี เอ็น เอ (DNA) จึงส่งผลยับยั้งการแพร่พันธุ์ของแบคทีเรีย

รูปแบบการจัดจำหน่าย มีดังนี้ :

- ยาเม็ดขนาด 250 มิลลิกรัม และ 500 มิลลิกรัม
- ยาฉีดขนาด 100 มิลลิกรัม ในน้ำยา 50 มิลลิลิตร
- ยาฉีดขนาด 200 มิลลิกรัม ในน้ำยา 100 มิลลิลิตร
- ยาฉีดขนาด 400 มก. ในน้ำยา 200 มิลลิลิตร
- น้ำยาหยอดหู

ข้อควรระวังในการใช้ :

- ยานี้อาจรบกวนการทำงานของสมอง และระบบประสาทส่วนกลาง ต้องระวังและห้ามใช้กับผู้ที่มึนประวัติเป็นโรคลมชักเพราะจะเพิ่มโอกาสชักให้สูงขึ้น
  - ระวังการช้ำยาในผู้ที่แพ้ยา (การแพ้ยา) นี้
  - ระวังการช้ำยากับผู้ที่แพ้แอลกอฮอล์ในกระเพาะอาหาร และ/หรือ ลำไส้ เพราะก่อการระคายเคืองกระเพาะอาหาร และลำไส้
  - ห้ามใช้ยากับหญิงตั้งครรภ์ เพราะอาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตของทารกในครรภ์ได้
- ปฏิบัติตามข้อปฏิบัติพื้นฐานในการใช้ยาทุกชนิด

## 2.10 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ

ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ คือ ความสามารถในการยับยั้งการเจริญ (microbiostatic) และ/หรือความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (microbicidal) การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพร คือ การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในสมุนไพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.10.1 การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพ

The National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้กำหนดวิธีการทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลชีพเป็นวิธีมาตรฐานไว้ โดยมีขั้นตอนที่ชัดเจนตามชนิดของเชื้อ (รวมถึงเชื้อดื้อยาที่เป็นปัญหา) อาหารเลี้ยงเชื้อ ความหนาของอาหารเลี้ยงเชื้อ การเตรียมเชื้อในการทดสอบ อุณหภูมิ เวลา และสภาวะในการบ่มเพาะเชื้อ ตลอดจนการอ่านและแปลผล ดังนั้นห้องปฏิบัติการต้องปฏิบัติตามแบบแผนอย่างถูกต้องทุกขั้นตอน จึงจะทำให้ผลการทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพเชื่อถือได้และทำให้การอ่านและแปลผลถูกต้อง

### 2.10.2 MIC (minimal inhibitory concentration)

เป็นความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ หน่วยที่ใช้โดยทั่วไป คือ ไมโครกรัม ( $\mu\text{g}$ ) ต่อมิลลิลิตร (ml) หรือหน่วยสากล (IU, international unit) ต่อมิลลิลิตร ค่า MIC นี้สามารถนำมาใช้เป็นค่าเปรียบเทียบเพื่อดูความไวของเชื้อหนึ่งๆ ต่อยาด้านจุลชีพหลายๆ ชนิด หรือความไวของเชื้อหลายๆ ชนิดต่อยาหนึ่งๆ และรวมทั้งเพื่อประเมินค่าอื่นที่เกี่ยวข้องกับยาหรือแปรผลของยาต่อเชื้อในการทดสอบเพื่อหาค่า MIC ยาควรได้รับการเจือจางให้มีความเข้มข้นลดลงทุก 2 เท่าไปเรื่อยๆ (2-fold serial dilution)

### 2.10.3 การเลือกรูปแบบวิธีการทดสอบ ขึ้นกับปัจจัยหลายอย่างที่สำคัญ คือ

1. ลักษณะของงาน เช่น เป็นงานวิจัย งานตรวจสอบในห้องปฏิบัติการที่ทำเป็นประจำหรือนานๆ ทำครั้ง งานที่ต้องรู้ค่า MBC (Minimum Bactericidal Concentration) งานตรวจสอบในห้องปฏิบัติการที่นานๆ ทำครั้ง และแต่ละครั้งมีจำนวนเชื้อที่ทดสอบน้อย จะนิยมใช้ agar diffusion test (เพื่อตัดปัญหาต้องเตรียมและเก็บสารละลายของตัวยาที่ต้องใช้ใน dilution test) ขณะที่งานที่ต้องการรู้ค่า MBC ของตัวยาจะนิยมใช้ broth dilution test

2. ชนิดของเชื้อทดสอบ เช่น เชื้อที่เจริญช้าหรือเลือกเฟ้นการใช้อาหารมาก (fastidious dilution test) จะนิยมใช้ broth dilution test ขณะที่เชื้อซึ่งต้องเจริญบนเลือดหรือไม่ต้องการออกซิเจน (anaerobe) มักใช้ agar diffusion test หรือเชื้อที่มีอัตราการเจริญไม่คงที่ควรเลือก dilution test

3. จำนวนเชื้อทดสอบ เช่น มีจำนวนเชื้อทดสอบมากและต้องการหาค่า MIC จะนิยมทำ agar dilution test

4. ชนิดของยาทดสอบ เช่น ตัวยาแพร่กระจาย (diffuse) ใน agar medium ไม่ดี จะนิยมหาค่า MIC ด้วยวิธี dilution test เป็นต้น

5. จำนวนยาทดสอบ เช่น มีตัวยาจำนวนมากแต่มีเชื้อจำนวนน้อย จะนิยมใช้ agar diffusion test

เมื่อเลือกรูปแบบวิธีการทดสอบได้แล้ว อาจต้องพิจารณาปัจจัยต่างๆ ที่อาจมีผลต่อการทดสอบ อาทิ ชนิดของ medium สำหรับ medium ที่ดินั้นควรยอมให้เชื้อทุกชนิดเจริญได้ ไม่มีการเอกลากรุ่นเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนแปลงของความเป็นกรด-ด่าง (pH) มากขณะที่มีเชื้อเจริญไม่มีสารรบกวนการออกฤทธิ์ของยา มีส่วนผสมที่ปรากฏใน broth และ agar medium เหมือนกัน (ยกเว้นสารช่วยให้แข็ง) และควรทดสอบก่อนว่าเชื้อชนิดที่ต้องการทดสอบสามารถเจริญได้ (Alderman and Smith, 2001) medium ที่นิยมใช้ ได้แก่ Mueller Hinton (MH) broth (agar) ถ้าทดสอบพวกที่เจริญยากจะนิยมใช้ brain heart infusion broth (agar) หรือ trypticase soy broth (agar) ในการทดสอบเชื้อรา medium ที่ใช้มีหลายชนิด ขึ้นกับชนิดของรา และชนิดของยาที่ทดสอบ กล่าวคือ ถ้าเป็นราชั้นสูงจะใช้ Sabouraud dextrose broth (agar), tryptic soy broth (agar), potato dextrose agar แต่ถ้าเป็นราชั้นต่ำจะใช้ glucose yeast extract broth (agar) เป็นต้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงาน

#### 3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ

ส่วนของใบ เปลือกต้น และเมล็ดของต้นชงโค (*Bauhinia purpurea* L.) จากจังหวัด กรุงเทพมหานคร เก็บเมื่อมิถุนายน 2555

#### 3.2 เชื้อจุลินทรีย์

*Pseudomonas aeruginosa* TISTR 27853

*Micrococcus luteus* TISTR 9341

*Salmonella typhimurium* TISTR 0562

*Clostridium sporogenes* TISTR 549

*Streptococcus thermophilus*

#### 3.3 สารเคมี

เอทานอลความเข้มข้น 95 และ 99.99 เปอร์เซ็นต์

ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethylsulfoxide; DMSO)

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

3-(4, 5-dimethyl thiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT)

โซเดียมคลอไรด์ (Sodium Chloride; NaCl)

แบเรียมคลอไรด์ 1 เปอร์เซ็นต์ (Barium Chloride; BaCl<sub>2</sub>)

กรดซัลฟูริก 1 เปอร์เซ็นต์ (Sulfuric Acid; H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate; NaCO<sub>3</sub>)

วิตามินอี (α - tocopherol)

สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate Buffer; PBS)

Folin – Ciocalteu’s reagent

Trypsin (GIBCO™)

ยาปฏิชีวนะไซฟลอกซิน (ciprofloxacin)

ยาปฏิชีวนะเจนต้าไมซิน (gentamicin)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Nutrient agar; NA  
 อาหารกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ Nutrient broth ; NB  
 อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Mueller Hinton Agar ; MHA  
 อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งปอด (ChaGo) ; RPMI1640

### 3.4 อุปกรณ์

ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและ 37 องศาเซลเซียส (temperature incubator)  
 ตู้ปลอดเชื้อชนิดลมเป่า (laminar air flow hood)  
 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (autoclave)  
 เครื่องอบลมร้อน (hot air oven)  
 ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส  
 เครื่องปั่น (blender)  
 เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (balance)  
 ชุดกรองสูญญากาศ  
 เครื่องระเหยระบบสูญญากาศ (rotary evaporator)  
 กระดาษกรอง Whatman No 2 และ 4  
 ปากคีบ (forceps)  
 Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร  
 ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 10 100 และ 1,000 ไมโครลิตร  
 Multichannel micropipette ขนาด 300 ไมโครลิตร  
 งานเพาะเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 35 มิลลิเมตร  
 งานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม (96-well plate)  
 ไมโครเพลทรีดเดอร์ (microplate reader)  
 หลอดทดลอง (test tube)  
 ปิเปตแก้วขนาด 1 5 และ 10 มิลลิลิตร  
 ขวด vial  
 ขวด Duran ขนาด 250 500 และ 1,000 มิลลิลิตร  
 ขวดวัดปริมาตรขนาด 10 และ 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบอกตวงขนาด 1,000 มิลลิลิตร

พาสเจอร์ปีเปต

เครื่องเขย่าสาร (vortex)

### 3.5 วิธีการทดลอง

#### 3.5.1 การเตรียมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างใบ เปลือกต้น และเมล็ดขงโคที่ปลูกในจังหวัดกรุงเทพมหานคร ผึ่งลมให้แห้งเป็นเวลา 1 สัปดาห์ นำมาอบในตู้อบลมร้อนเพื่อลดความชื้นและหยุดกิจกรรมของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำแต่ละส่วนของพืชมาปั่นจนละเอียดเป็นผง

#### 3.5.2 การสกัดสารตัวอย่างจากต้นขงโค

นำตัวอย่างแต่ละส่วนที่ปั่นละเอียดอย่างละ 100 กรัม ห่อในผ้าขาวบาง นำไปใส่ขวดโหลขนาด 2000 มิลลิลิตร แล้วเติมเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 900 มิลลิลิตรลงไป ปิดฝาให้สนิททิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำสารสกัดที่ผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 2 เฉพาะส่วนใสไปทำให้เข้มข้นโดยนำไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบจากใบ เปลือกต้น และเมล็ดขงโคที่มีความหนืด นำมาเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

#### 3.5.3 การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบด้วย DPPH (DPPH reduction scavenging assay)

เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 ไมโครโมล และเตรียมวิตามินอี ( $\alpha$  - tocopherol) ความเข้มข้น 500 ไมโครโมล จากนั้นชั่งสารสกัดหยาบจากใบ เปลือกต้น และเมล็ดขงโคมาส่วนละ 10 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอล 99.9 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วทำการเจือจางด้วยเอทานอล 99.9 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ความเข้มข้นทั้งหมด 5 ระดับ คือ 10 5 2.5 1.25 และ 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงในหลุมของจานเพาะเลี้ยงเซลล์ 96 หลุม (96 well plate) หลังจากนั้นหยดสารละลาย DPPH ปริมาตร 190 ไมโครลิตร ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ นำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร โดยใช้วิตามินอี ( $\alpha$  - tocopherol) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) และใช้เอทานอล 99.9 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (negative control) นำผลค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาเปรียบเทียบกับผลของตัวควบคุมเชิงบวก และนำไปคำนวณหาร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระ

#### การคำนวณร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระ (Free Radical Scavenging)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระสามารถคำนวณได้ ดังสมการต่อไปนี้

$$\% \text{ DPPH Reduction} = (A-B) / A \times 100$$

A = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร หลังจากรบ่ม

B = ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร หลังจากรบ่ม

สำหรับการประเมินค่า IC<sub>50</sub> ของสารที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระทำได้โดยเขียนกราฟระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่นำมาทดสอบเทียบกับ % DPPH Reduction ที่ได้จากการคำนวณ จากนั้นจะหาค่า IC<sub>50</sub> โดยวิเคราะห์จากกราฟ

### 3.5.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Assay)

เตรียมสารสกัดหยาบจากใบ เปลือกต้น และเมล็ดของต้นชงโคให้มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย ใส่สารสกัดหยาบจากใบ เปลือกต้น และเมล็ดปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลุมของจานเพาะเลี้ยงเซลล์ 96 หลุม (96-well plate) จากนั้นเติมสารละลาย Folin – Ciocalteu’s reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากใบ เปลือกต้น และเมล็ดของต้นชงโค โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) รายงานผลในรูปแบบ มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

### 3.5.5 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC; Minimum inhibition concentration)

การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ทำโดยใช้วิธี Agar well Diffusion ซึ่งเป็นการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากใบ เปลือกต้น และเมล็ดของต้นชงโค โดยเชื้อที่ใช้ในการทดสอบได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 27853, *Micrococcus luteus* TISTR 9341, *Salmonella typhimurium* TISTR 0562, *Clostridium sporogenes* TISTR 549, *Streptococcus thermophilus* มีวิธีการทดสอบคือ ถ้ายเชื้อที่ต้องการทดสอบจากหลอดอาหารแข็ง Nutrient Agar (NA) ลงใน Nutrient broth (NB) ปริมาตร 5 มิลลิลิตรที่เตรียมไว้ในหลอดทดลอง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อมีการเพิ่มจำนวน จากนั้นนำอาหาร NB ที่บ่มเชื้อเอาไว้มาเจือจางด้วยน้ำเกลือ (normal salt saline 0.85%) และปรับให้มีความเข้มข้นเท่ากับมาตรฐาน 0.5 McFarland ซึ่งมีจำนวนเซลล์ประมาณ  $1.5 \times 10^8$  CFU/มิลลิลิตร จากนั้นเปิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายของเชื้อมาใส่ใน microcentrifuge tube 0.5 มิลลิลิตร เพื่อใช้ในการ swab ลงบนอาหาร Muller Hinton agar (MHA) ที่เตรียมไว้ในจานอาหารเพาะเลี้ยง เจาะผิวหน้าอาหารให้เป็นหลุมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ทำการหยดสารสกัดจากส่วนต่างๆของพืชลงในแต่ละหลุม (เริ่มที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยมียาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (gentamicin) และยาปฏิชีวนะไซฟลอกซิน (Cifloxin) เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) ใช้ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นชุดควบคุมเชิงลบ (negative control) โดยแต่ละหลุมมีปริมาตร 20 ไมโครลิตร หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาตรวจผล โดยดูจากพื้นที่ของบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (clear zone) โดยวัด 5 จุดรอบๆหลุมของสารสกัดที่ทดสอบแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย เพื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเชิงบวกและชุดควบคุมเชิงลบ หากสารสกัดจากพืชส่วนใดให้ผลบวกจึงนำสารสกัดส่วนที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์นั้นมาลดความเข้มข้นลงทีละครึ่ง (two-fold dilution) เพื่อทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC)

### 3.5.6 การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (ChaGo) โดยวิธี MTT

#### 3.5.6.1 การเตรียมสารตัวอย่าง

ซึ่งสารสกัดหยดแต่ละชนิด 0.1 กรัม ลงในหลอดเซนต์ริฟฟ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติม DMSO ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อให้สารตัวอย่างละลายดีขึ้น จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 100,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 7 ระดับ คือ 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

#### 3.5.6.2 การเตรียมสารละลาย MTT

เจือจาง MTT ด้วยน้ำ Deionize ให้มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายจนหมด ไม่ให้มีตะกอน (เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส)

#### 3.5.6.3 การเตรียมเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (suspension cell)

ปีเปิดเซลล์มะเร็งปอด (ChaGo) จากขวดเลี้ยงเซลล์มา 1 มิลลิลิตร แล้วเติมลงในขวดที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทำการ Subculture cell เพื่อเป็นการรักษาเซลล์ (maintain cell) และเตรียม cell suspension ให้ได้เซลล์จำนวน  $5 \times 10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

#### 3.5.6.4 การข่มสีเซลล์ (dry exclusion)

นำขวดเลี้ยงเซลล์มาดูดอาหารออก แล้วใส่ Phosphate Buffer Saline (PBS) ลงไป 3 มิลลิลิตร เพื่อล้างของเสียที่เซลล์สร้างขึ้นและเป็นการปรับ pH แล้วดูด PBS ออกให้หมด ใส่ trypsin ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงไปเพื่อย่อยเซลล์ประมาณ 1 นาที แล้วปีเปิด trypsin ออกให้หมด จากนั้นปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปิดอาหารใหม่ 4 มิลลิลิตร ลงไปในขวดที่มีเซลล์ นำเซลล์มะเร็งปอด (ChaGo) มาย้อมสีด้วย trypan blue โดยจะทำการดูดเซลล์มา 0.2 มิลลิลิตร และดูด trypan blue 0.4 เปอร์เซนต์ ใส่ลงไป 0.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ Auto pipette ดูดขึ้นลงเบาๆ ปล่อยให้ไวประมาณ 5 - 10 นาที นำไปนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต

#### 3.5.6.5 การนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (viable cell count)

นำเซลล์ที่ย้อมสีแล้วไปหยดบน Haemocytometer ที่มี cover slide ปิดอยู่แล้วนำไปนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 (เซลล์ที่ตายจะติดสีน้ำเงินของ trypan blue) นำจำนวนเซลล์ที่นับได้คำนวณค่า dilution number เพื่อเป็นข้อมูลการเจือจาง cell suspension ให้ได้ stock cell suspension จำนวน  $5 \times 10^4$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร

#### 3.5.6.6 การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

เปิดเซลล์และอาหารจากขวดเลี้ยงเซลล์ที่ทำการนับจำนวนเซลล์แล้ว 100 ไมโครลิตร ใส่ลงแต่ละหลุมของจานเพาะเลี้ยงเซลล์ 96 หลุม (96-well plate) จากนั้นเปิดสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงไป บ่มทิ้งไว้เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วทำการดูดเอาอาหารและสารตัวอย่างออก เติม MTT 10 ไมโครลิตร และอาหาร 190 ไมโครลิตรลงไป บ่มในที่มืดเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นดูดเอา MTT และอาหารออก เติม DMSO 150 ไมโครลิตร นำเข้าเครื่อง microplate reader แล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร คำนวณหาค่า % cytotoxicity ของแต่ละความเข้มข้น ดังสมการต่อไปนี้

$$\% \text{ cytotoxicity} = (A-B)/A \times 100$$

A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม (หลุมที่มีเฉพาะเซลล์ในอาหารเพาะเลี้ยง)

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่มีเซลล์ในสารสกัดหยาบแต่ละความเข้มข้น

โดยทั้งค่า A และ B จะต้องลบด้วยค่าการดูดกลืนแสงของ Blank (เซลล์ และ DMSO) ก่อน จึงนำไปคำนวณดังสมการข้างต้น

## บทที่ 4

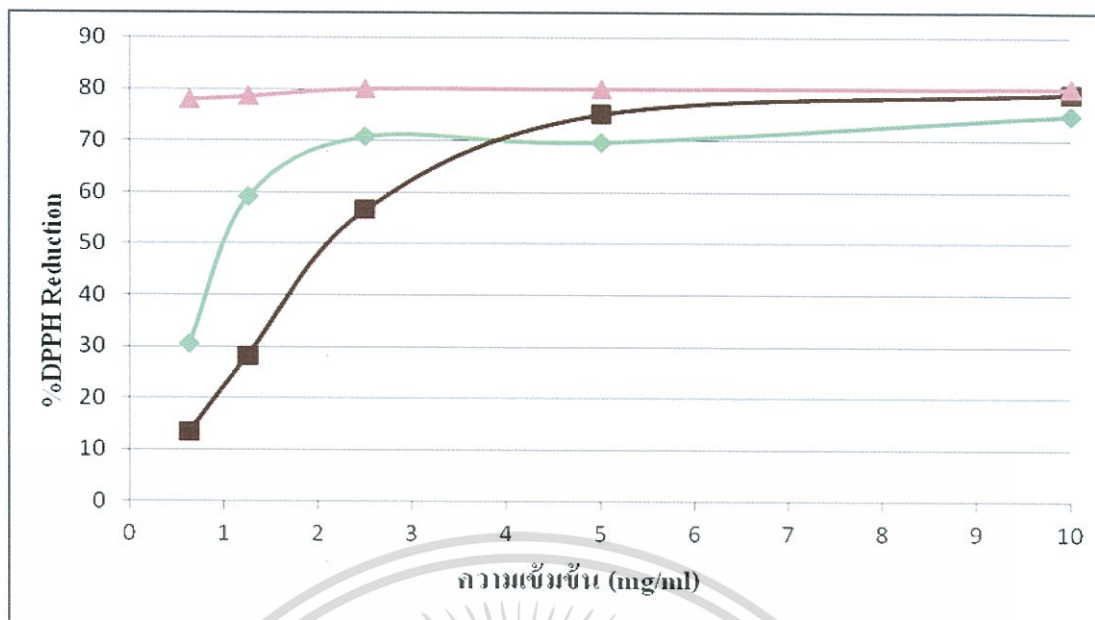
### ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 4.1 สารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้ในการทดลอง

สารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้ในการทดลองได้จากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของขงโคที่ปลูกในจังหวัดกรุงเทพมหานคร โดยนำมาผ่านกระบวนการอบแห้งและบดให้เป็นผง จากนั้นนำมาสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 จนได้สารสกัดหยาบ นำสารสกัดหยาบที่ได้มาทำให้เข้มข้นโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ จะได้ปริมาณสารสกัดหยาบเข้มข้นของใบ เมล็ด และเปลือกต้นของขงโค ปริมาณสารสกัดหยาบจากส่วนของใบ 300 กรัม น้ำหนักแห้ง จะได้สารสกัดหยาบ 39.17 กรัม (0.130 กรัม สารสกัดหยาบต่อกรัม น้ำหนักแห้ง) จากส่วนของเมล็ด 200 กรัม น้ำหนักแห้ง จะได้สารสกัดหยาบ 17.01 (0.085 กรัม สารสกัดหยาบต่อกรัม น้ำหนักแห้ง) และส่วนของเปลือกต้น 100 กรัม น้ำหนักแห้ง จะได้สารสกัดหยาบ 16.39 กรัม (0.164 กรัม สารสกัดหยาบต่อกรัม น้ำหนักแห้ง)

#### 4.2 การตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากพืชโดยวิธี DPPH Radical Scavenging

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของขงโคที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มาทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธีดักจับอนุมูลอิสระของ DPPH (DPPH Radical Scavenging Method) เมื่อวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ โดยทำการเจือจางสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นให้มีความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 10, 5, 2.5, 1.25 และ 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดจากเปลือกต้นขงโคที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากเมล็ดขงโคที่ความเข้มข้น 0.625 และ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าร้อยละของการลดลงของ DPPH ใกล้เคียงกับวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) ที่ความเข้มข้น 500 ไมโครโมล ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าร้อยละการลดลงของ DPPH เท่ากับ 79.14 , 78.66, 78.08 และ 78.49 ตามลำดับ



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากขิงโค  
(— สารสกัดจากใบ, — สารสกัดจากเปลือกต้น, — สารสกัดจากเมล็ด)

ตารางที่ 4.1 ร้อยละการลดลงของอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด เปลือกต้นของขิงโค และวิตามินอี (positive control)

ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	% DPPH Reduction		
	ใบ	เมล็ด	เปลือกต้น
10	75.06 <sup>d</sup>	80.20 <sup>b</sup>	79.14 <sup>c</sup>
5	69.83 <sup>c</sup>	80.11 <sup>b</sup>	75.14 <sup>d</sup>
2.5	70.86 <sup>c</sup>	80.11 <sup>b</sup>	56.57 <sup>c</sup>
1.25	59.14 <sup>b</sup>	78.66 <sup>a</sup>	28.29 <sup>b</sup>
0.625	30.57 <sup>a</sup>	78.08 <sup>a</sup>	13.43 <sup>a</sup>
วิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) ความเข้มข้น 500 ไมโครโมล	78.49 <sup>e</sup>	78.49 <sup>a</sup>	78.49 <sup>c</sup>

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p \leq 0.05$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของพืชสามารถแสดงในรูปของค่า  $IC_{50}$  (Inhibition concentration 50%) หรือค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระลดลงร้อยละ 50 ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ค่า  $IC_{50}$  ของการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของชงโค

สารสกัดหยาบ	ค่า $IC_{50}$ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ใบ	1.156
เมล็ด	$1.563 \times 10^{-15}$
เปลือกต้น	2.480

เมื่อพิจารณาค่า  $IC_{50}$  พบว่าสารสกัดจากส่วนของเมล็ดมีค่า  $IC_{50}$  น้อยที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ  $1.563 \times 10^{-15}$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเมล็ดมีความสามารถในการลดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลงได้ร้อยละ 50 จากความเข้มข้นของ DPPH เริ่มต้นได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดจากส่วนอื่น

จากงานวิจัยของ Zakaria และคณะ (2011) ที่ได้ทำการศึกษาลักษณะการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากใบของชงโคด้วยวิธี DPPH radical scavenging โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ที่ความเข้มข้น 20, 100 and 500  $\mu\text{g/ml}$  พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นจะมีค่าร้อยละการลดลงของอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ คือ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของชงโค ค่าร้อยละการลดลงของอนุมูลอิสระ DPPH ก็เพิ่มขึ้นเช่นกัน

#### 4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากพืชด้วยวิธี Folin-Ciocalteu's reagent

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของชงโคที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย โดยใช้วิธีทดสอบด้วยสารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent แล้วทำการเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดจากพืชกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (Gallic acid)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ เมล็ด และเปลือกต้นของขงโค ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก พบว่า สารสกัดหยาบจากเปลือกต้นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 0.2117 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด รองลงมา คือ สารสกัดหยาบจากเมล็ดและใบ โดยมีค่าเท่ากับ 0.0357 และ 0.0355 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของขงโค

สารสกัด หยาบ	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสาร สกัด)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของ น้ำหนักแห้ง)
ใบ	0.0355 <sup>a</sup> ± 0.00026	46.15
เมล็ด	0.0357 <sup>a</sup> ± 0.00333	30.38
เปลือกต้น	0.2117 <sup>b</sup> ± 0.02800	347.16

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกัน ในสคมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p \leq 0.05$ )

เมื่อพิจารณาตามสัดส่วนของน้ำหนักแห้งต่อสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในพืช พบว่าส่วนของใบ เมล็ด และเปลือกต้นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเทียบเท่ากับ 46.15 30.38 และ 347.16 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของขงโค พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระของ DPPH ซึ่งมีผลไปในทิศทางเดียวกันกับผลจากงานวิจัยของปรานอม ธรรมศิริ (2012) ที่ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระในสมุนไพรประกอบชาดองและชาดองเห็ด โดยทำการวิเคราะห์สมุนไพรประกอบชาดองที่ดองในเหล้าขาวจำนวน 22 ชนิด และชาดองเห็ดในเหล้าขาวจำนวน 4 สูตร ผลการศึกษาพบว่าสารปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมไม่มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ

#### 4.4 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบจากพืช

ทดสอบโดยการนำสารสกัดหยาบจากพืชทั้งสามส่วน คือ ใบ เมล็ด และเปลือกต้นของชงโคมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเบื้องต้นกับแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 27853, *Micrococcus luteus* TISTR 9341, *Salmonella typhimurium* TISTR 0562, *Clostridium sporogenes* TISTR 549 และ *Streptococcus thermophilus* โดยวิธี Agar well Diffusion และทำการวัดความกว้างของบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรอบหลุมทดสอบที่มีสารสกัดหยาบ โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเริ่มต้นที่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมียาปฏิชีวนะเจนตั้มัยซินและไซฟลอกซินเป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) และเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นชุดควบคุมเชิงลบ (negative control) ผลการทดสอบแสดงในรูปที่ 4.2

จากผลการทดสอบฤทธิ์สารสกัดจากชงโคที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดทั้งสามชนิดจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของชงโคมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 5 ชนิด สังเกตได้จากบริเวณที่มีฤทธิ์รอบหลุมทดสอบที่มีสารสกัดหยาบ โดยที่สารสกัดหยาบจากใบ จะเห็นบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ชัดเจนมากกว่าสารสกัดหยาบจากเมล็ดและเปลือกต้นชงโค แต่ความกว้างของบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งรอบหลุมทดสอบของสารสกัดหยาบทั้งสามชนิดนั้นมีค่าน้อย จึงได้ทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดขึ้นเป็น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดแต่ละส่วนมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อเพิ่มขึ้น โดยบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อของสารสกัดจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นมีค่าเท่ากับ 1.29 1.27 และ 1.24 มิลลิเมตร ตามลำดับ

**ตารางที่ 4.4** ตารางแสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 27853

สารสกัด หยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
ใบ	50	$0.41^d \pm 0.06$
	100	$1.29^c \pm 0.22$
เมล็ด	50	$0.62^d \pm 0.06$
	100	$1.27^c \pm 0.23$
เปลือกต้น	50	$0.36^{de} \pm 0.020$
	100	$1.24^c \pm 0.15$
<b>ชุดควบคุม</b>	<b>ความเข้มข้น</b>	<b>บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)</b>
Gentamicin	20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$2.62^b \pm 0.12$
Cifloxin	20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$6.45^a \pm 0.11$
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	$0.00^c \pm 0.00$

**หมายเหตุ :** ตัวอักษรที่ต่างกันในสทมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p \leq 0.05$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**รูปที่ 4.3** แสดงความกว้างของบริเวณยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 27853 รอบหลุมทดสอบของสารสกัดจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของชงโคที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**หมายเหตุ**

- 1 : สารสกัดหยาบจากใบของชงโค
- 2 : สารสกัดหยาบจากเมล็ดของชงโค
- 3 : สารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของชงโค
- 4 : ยาปฏิชีวนะไซฟลอกซิน (ciprofloxacin) (20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
- 5 : ยาปฏิชีวนะเจนต้าไมซิน (gentamicin) (20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
- 6 : เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

#### 4.4.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 9341 ของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของชงโค

จากการทดสอบสารสกัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าทั้งส่วนของใบ เมล็ด และเปลือกต้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. luteus* TISTR 9341 โดยสารสกัดจากใบ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากส่วนของเมล็ดและเปลือกต้นที่ความเข้มข้นเดียวกัน โดยมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 2.54 มิลลิเมตร ส่วนเมล็ดและเปลือกต้น มีค่าเท่ากับ 0.79 และ 1.53 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งดีกว่ายาปฏิชีวนะ Cyfloxin ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ยังคงถือว่ามียาค่าน้อย จึงทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดแต่ละส่วนมีฤทธิ์ในการยับยั้งการ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญของเชื้อเพิ่มขึ้น โดยบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรอบหลุมทดสอบของใบมีค่าสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาคือเมล็ดและเปลือกต้น ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.05 1.00 และ 2.30 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4.5 ตารางแสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 9341

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
ใบ	50	2.54 <sup>c</sup> ± 0.22
	100	4.05 <sup>b</sup> ± 0.70
เมล็ด	50	0.79 <sup>efg</sup> ± 0.07
	100	1.00 <sup>cf</sup> ± 0.15
เปลือกต้น	50	1.53 <sup>de</sup> ± 0.07
	100	2.30 <sup>cd</sup> ± 0.25
ชุดควบคุม	ความเข้มข้น	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
Gentamicin	20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	6.60 <sup>a</sup> ± 0.06
Cyfloxin	10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	0.28 <sup>fg</sup> ± 0.16
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	0.00 <sup>g</sup> ± 0.00

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสมมุติเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p \leq 0.05$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**รูปที่ 4.4** แสดงความกว้างของบริเวณยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ *Micrococcus luteus* TISTR 9341 รอบหลุมทดสอบของสารสกัดจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของขงโค ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**หมายเหตุ**

- 1 : สารสกัดหยาบจากใบของขงโค
- 2 : สารสกัดหยาบจากเมล็ดของขงโค
- 3 : สารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของขงโค
- 4 : ยาปฏิชีวนะไซฟลอกซิน (ciprofloxacin) (20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
- 5 : ยาปฏิชีวนะเจนต้าไมซิน (gentamicin) (10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
- 6 : เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

#### 4.4.3 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 0562 ของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของขงโค

จากการทดสอบสารสกัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าทั้งส่วนของใบ เมล็ด และเปลือกต้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* TISTR 0562 โดยสารสกัดจากใบมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากส่วนของเมล็ด และเปลือกต้นที่ความเข้มข้นเดียวกัน โดยมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 1.45 มิลลิเมตร ส่วนเมล็ดและเปลือกต้นมีค่าเท่ากับ 0.88 และ 1.27 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งถือว่ามีค่าน้อย จึงทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดแต่ละส่วนมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อเพิ่มขึ้น โดยบริเวณยับยั้งการเจริญของเมล็ดมีค่าสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ และมีค่ามากกว่าบริเวณยับยั้งของยาปฏิชีวนะเจนต้าไมซิน ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.03 มิลลิเมตร สารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

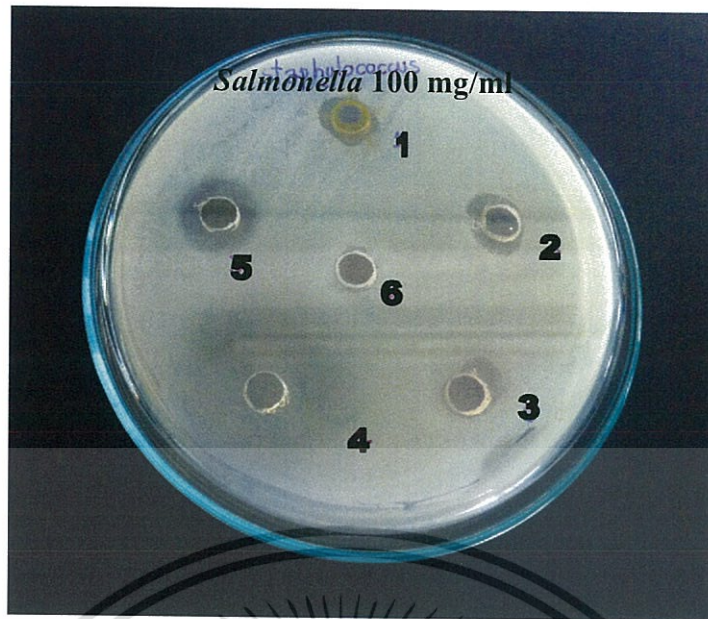
จากเปลือกต้นมีค่ายับยั้งใกล้เคียงกับยาปฏิชีวนะเจนต้าไมซิน คือ 2.04 และ 2.32 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากใบมีค่าการยับยั้งต่ำที่สุด เท่ากับ 1.84 มิลลิเมตร

ตารางที่ 4.6 ตารางแสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของ เชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 0562

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
ใบ	50	1.45 <sup>bcd</sup> ± 0.11
	100	1.84 <sup>bcd</sup> ± 0.25
เมล็ด	50	0.88 <sup>cd</sup> ± 0.12
	100	3.03 <sup>b</sup> ± 1.34
เปลือกต้น	50	1.27 <sup>bcd</sup> ± 0.29
	100	2.04 <sup>bc</sup> ± 0.94
ชุดควบคุม	ความเข้มข้น	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
Gentamicin	5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	2.32 <sup>bc</sup> ± .061
Cifloxin	10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	8.69 <sup>a</sup> ± 0.15
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	0.00 <sup>d</sup> ± 0.00

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p \leq 0.05$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**รูปที่ 4.5** แสดงความกว้างของบริเวณยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ *Salmonella typhimurium* TISTR 0562 รอบหลุมทดสอบของสารสกัดจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของชงโคที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**หมายเหตุ**

- 1 : สารสกัดหยาบจากใบของชงโค
- 2 : สารสกัดหยาบจากเมล็ดของชงโค
- 3 : สารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของชงโค
- 4 : ยาปฏิชีวนะไซฟลอกซิน (cifloxin) (5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
- 5 : ยาปฏิชีวนะเจนต้าไมซิน (gentamicin) (10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
- 6 : เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

#### 4.4.4 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Clostridium sporogenes* TISTR 549 ของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของชงโค

จากการทดสอบสารสกัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าทั้งส่วนของใบ เมล็ด และเปลือกต้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. sporogenes* TISTR 549 โดยสารสกัดจากใบมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากส่วนของเมล็ด และเปลือกต้นที่ความเข้มข้นเดียวกัน โดยมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 0.77 มิลลิเมตร ส่วนเมล็ดและเปลือก มีค่าเท่ากับ 0.55 และ 0.44 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งถือว่ามีค่าน้อยเมื่อ จึงทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดแต่ละส่วนมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อเพิ่มขึ้น โดยบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรอบหลุมทดสอบของสารสกัดจากเมล็ดมีค่ามากที่สุดและใกล้เคียงกับบริเวณยับยั้งของยาปฏิชีวนะ cifloxin อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

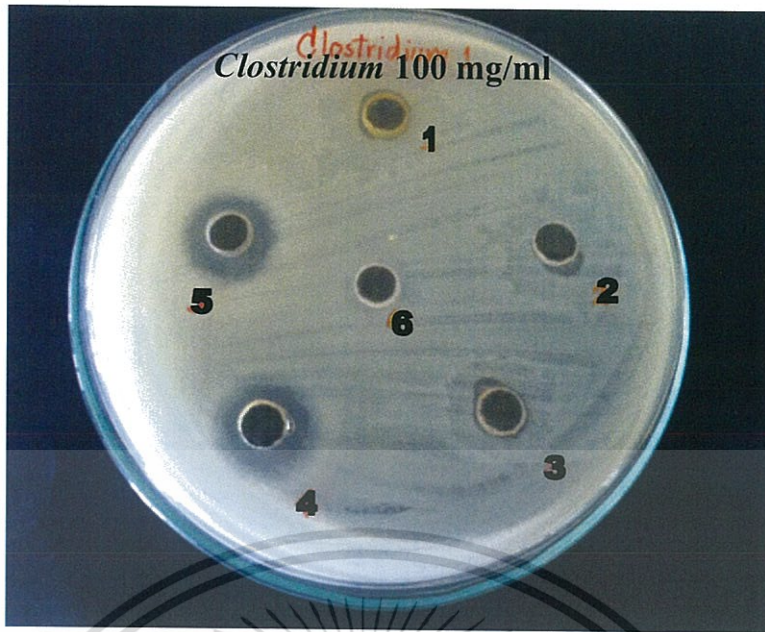
ค่าเท่ากับ 1.57 และ 1.69 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกต้นและใบ ซึ่งมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 1.45 และ 0.89 ตามลำดับ

**ตารางที่ 4.7** ตารางแสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Clostridium sporogenes* TISTR 549

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
ใบ	50	0.77 <sup>d</sup> ± 0.12
	100	0.89 <sup>cd</sup> ± 0.05
เมล็ด	50	0.55 <sup>dc</sup> ± 0.19
	100	1.57 <sup>b</sup> ± 0.34
เปลือกต้น	50	0.44 <sup>dc</sup> ± 0.03
	100	1.45 <sup>bc</sup> ± 0.33
ชุดควบคุม	ความเข้มข้น	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
Gentamicin	20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	2.54 <sup>a</sup> ± 0.04
Cifloxin	20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	1.69 <sup>b</sup> ± 0.34
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	0.00 <sup>c</sup> ± 0.00

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p \leq 0.05$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 แสดงความกว้างของบริเวณยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ *Clostridium sporogenes* TISTR 549 รอบหลุมทดสอบของสารสกัดจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของชงโค ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ

- 1 : สารสกัดหยาบจากใบของชงโค
- 2 : สารสกัดหยาบจากเมล็ดของชงโค
- 3 : สารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของชงโค
- 4 : ยาปฏิชีวนะไซฟลอกซิน (ciprofloxacin) (20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
- 5 : ยาปฏิชีวนะเจนต้าไมซิน (gentamicin) (20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
- 6 : เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

#### 4.4.5 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Streptococcus thermophilus* ของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของชงโค

จากการทดสอบสารสกัดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าทั้งส่วนของใบ เมล็ด และเปลือกต้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. thermophilus* โดยสารสกัดจากส่วนของเปลือกต้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากส่วนของใบ และเมล็ดที่ความเข้มข้นเดียวกัน โดยมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 0.93 มิลลิเมตร ส่วนเมล็ดและใบ มีค่าเท่ากับ 0.87 และ 0.38 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งถือว่ามีค่าน้อย จึงทำการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดแต่ละส่วนมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อเพิ่มขึ้น โดยบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อรอบหลุมทดสอบของใบ เมล็ด และเปลือกต้นมีค่าเท่ากับ 1.73 1.06 และ 1.19 มิลลิเมตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ตารางแสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Streptococcus thermophilus*

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
ใบ	50	0.38 <sup>cf</sup> ± 0.04
	100	1.73 <sup>c</sup> ± 0.29
เมล็ดค	50	0.87 <sup>de</sup> ± 0.46
	100	1.06 <sup>cde</sup> ± 0.02
เปลือกต้น	50	0.93 <sup>de</sup> ± 0.11
	100	1.19 <sup>cd</sup> ± 0.10
ชุดควบคุม	ความเข้มข้น	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
Gentamicin	20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	6.91 <sup>a</sup> ± 0.20
Cifloxin	10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	3.95 <sup>b</sup> ± 0.31
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	0.00 <sup>f</sup> ± 0.00

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p \leq 0.05$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 แสดงความกว้างของบริเวณยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ *Streptococcus thermophilus* รอบหลุมทดสอบของสารสกัดจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของขงโคที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ

- 1 : สารสกัดหยาบจากใบของขงโค
- 2 : สารสกัดหยาบจากเมล็ดของขงโค
- 3 : สารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของขงโค
- 4 : ยาปฏิชีวนะไซฟลอกซิน (ciprofloxacin) (20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
- 5 : ยาปฏิชีวนะเจนต้าไมซิน (gentamicin) (10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
- 6 : เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.4.6 การเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทดสอบของสารสกัดจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของชงโคที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.9 การเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อของสารสกัดจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของชงโค ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด หยาบ	ความกว้างของบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)				
	<i>P. aeruginosa</i> TISTR 27853	<i>M. luteus</i> TISTR 9341	<i>S. typhimurium</i> TISTR 0562	<i>C. sporogenes</i> TISTR 549	<i>S. thermophilus</i>
ใบ	0.40 <sup>b</sup> ± 0.01	2.54 <sup>a</sup> ± 0.02	1.45 <sup>a</sup> ± 0.01	0.80 <sup>a</sup> ± 0.01	0.38 <sup>a</sup> ± 0.00
เมล็ด	0.62 <sup>a</sup> ± 0.01	0.79 <sup>c</sup> ± 0.01	0.88 <sup>a</sup> ± 0.01	0.55 <sup>a</sup> ± 0.02	0.87 <sup>a</sup> ± 0.046
เปลือกต้น	0.36 <sup>b</sup> ± 0.00	1.53 <sup>b</sup> ± 0.01	1.27 <sup>a</sup> ± 0.03	0.44 <sup>a</sup> ± 0.00	0.93 <sup>a</sup> ± 0.01

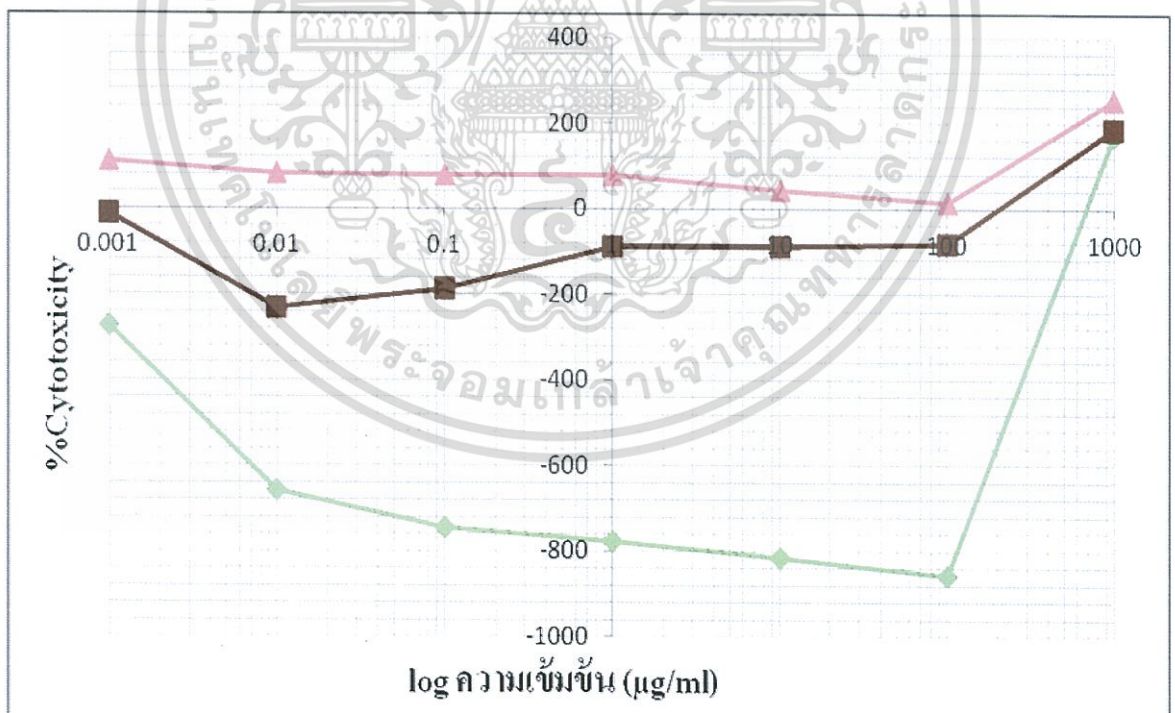
หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสมรภูมิต่ียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ( $p \leq 0.05$ )

ผลจากการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบของใบ เมล็ด และเปลือกของชงโคที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 5 ชนิด โดยเชื้อ *P. aeruginosa* จะมีบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจากสารสกัดเมล็ดดีที่สุด คือ 0.62 มิลลิเมตร เชื้อ *M. luteus* จะมีบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจากสารสกัดใบดีที่สุด คือ 2.54 มิลลิเมตร ในขณะที่เชื้อ *S. typhimurium*, *C. sporogenes* และ *S. thermophilus* นั้น สารสกัดทั้งสามชนิดให้ฤทธิ์ในการยับยั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยเชื้อ *S. typhimurium* และ *C. sporogenes* นั้น สารสกัดจากใบให้ค่าการยับยั้งมากที่สุดเท่ากับ 1.45 และ 0.80 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนเชื้อ *S. thermophilus* นั้น สารสกัดจากเปลือกต้นให้ค่าการยับยั้งมากที่สุดเท่ากับ 0.93 มิลลิเมตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย Yik Ling Chew และคณะ (2011) ที่ทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียในพืชสมุนไพรวงศ์ Leguminosae ที่มีขงโครมอยู่ด้วย โดยใช้วิธี Disc diffusion พบว่า สารสกัดจากใบของชงโคมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *M. luteus* ได้ดีที่สุดจากเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่เลือกใช้ทั้ง 5 ชนิด

#### 4.5 การวิเคราะห์ความมีชีวิตและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (ChaGo) โดยวิธี

##### MTT

จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (ChaGo) ของสารสกัดหยาบจากใบเปลือกต้น และเมล็ดของชงโค โดยทำการเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดหยาบให้มีความเข้มข้นที่ระดับ 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำสารสกัดทั้งหมดมาทดสอบกับเซลล์มะเร็ง 5 ซ้ำเพื่อหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์สูงสุด พบว่า สารสกัดหยาบจากเมล็ดของชงโคมีความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งปอดในทุกความเข้มข้น และที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีค่าร้อยละความเป็นพิษกับเซลล์สูงสุดคือ 252.73 รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกต้นและใบ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 186.10 และ 170.29 ตามลำดับ โดยสารสกัดจากเปลือกต้นความเป็นพิษกับเซลล์จะค่อยๆเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มมากขึ้น (0.01 - 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ในขณะที่สารสกัดจากใบและเมล็ดในช่วงแรก (0.001 - 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นความเป็นพิษต่อเซลล์จะลดลง แต่ที่ความเข้มข้นสูงสุด (1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) จะมีความเป็นพิษสูงสุด ดังที่จะเห็นได้จากกราฟซึ่งแสดงในรูปที่ 4.8



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (ChaGo)

(— สารสกัดจากใบ, — สารสกัดจากเปลือกต้น, — สารสกัดจากเมล็ด)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของชงโค

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	% Cytotoxicity		
	ใบ	เมล็ด	เปลือกต้น
0.001	-274.46	109.62	-13.48
0.01	-657.61	81.36	-234.04
0.1	-743.66	77.38	-188.65
1	-816.12	78.16	-89.36
10	-776.27	43.32	-82.70
100	-858.42	12.64	-88.65
1000	170.29	252.73	186.10

ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของพืชสามารถแสดงในรูปของค่า  $IC_{50}$  (Inhibition concentration 50%) หรือ ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่เป็นพิษต่อเซลล์ลดลงร้อยละ 50 ดังแสดงในตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 ค่า  $IC_{50}$  ของความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของชงโค

สารสกัดหยาบ	ค่า $IC_{50}$ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
ใบ	877.87
เมล็ด	4.00
เปลือกต้น	556.32

เมื่อพิจารณาค่า  $IC_{50}$  พบว่าสารสกัดจากเมล็ดมีความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุดโดยใช้สารสกัดเพียง 4.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ก็สามารถทำให้เซลล์มะเร็งลดลงได้ร้อยละ 50 รองลงมาคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดจากเปลือกต้นและใบ โดยมีค่าเท่ากับ 556.32 และ 877.87 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากงานวิจัย กนกกร โต้ะพาน และคณะ (2012) ซึ่งทำการศึกษาเกี่ยวกับการต้านการเจริญต่อเซลล์มะเร็งปอด (ChaGo) โดยสมุนไพรรไทยในกลุ่มยาอายุวัฒนะทั้ง 10 ชนิด ได้แก่ ขันทองพยาบาท กันเกรา มะขามป้อม บอระเพ็ด เลี่ยน กำลั้วเถลิง ข่อย กวาวเครือแดง กำลั้วหนุมาน และกระถินไทย โดยใช้สารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรรที่ความเข้มข้น 0.1- 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร วัดผลด้วยวิธี MTT พบว่าสารสกัดหยาบที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอดที่มีค่า  $IC_{50}$  ระหว่าง 100 - 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมีผลสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการนำสารสกัดของใบ เมล็ด และเปลือกต้นของชงโค ที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มาทำการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH Radical Scavenging พบว่า สารสกัดจากเมล็ดของชงโคมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด โดยพิจารณาได้จากค่า  $IC_{50}$  ของสารสกัด ซึ่งมีค่าเท่ากับ  $1.563 \times 10^{-15}$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่ใบและเปลือกต้น มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ 1.107 และ 2.480 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าค่า  $IC_{50}$  ของเมล็ดมีค่าน้อยที่สุด ซึ่งหมายถึงสารสกัดจากเมล็ดที่มีความเข้มข้นเพียง  $1.563 \times 10^{-15}$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรนั้น สามารถลดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลงได้ร้อยละ 50 จากความเข้มข้นของ DPPH เริ่มต้น และเมื่อพิจารณาค่าร้อยละการลดลงของ DPPH พบว่า สารสกัดจากเมล็ดของชงโคที่มีความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ทำการทดลอง (0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มีค่าร้อยละของการลดลงของ DPPH เท่ากับ 78.08 ซึ่งใกล้เคียงกับวิตามินอี ความเข้มข้น 500 ไมโครโมล แสดงให้เห็นว่าส่วนเมล็ดของชงโคสามารถนำไปทำการทดลองเพื่อศึกษาถึงชนิดและคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในพืช รวมถึงนำไปประยุกต์ใช้ในวงการแพทย์และเภสัชกรรมต่อไปได้

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของชงโคด้วยวิธี Total Phenolic ซึ่งทดสอบด้วยสารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent โดยใช้สารสกัดที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อพิจารณาสัดส่วนของน้ำหนักแห้งต่อสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในส่วนต่างๆของพืช พบว่า สารสกัดส่วนของใบ เมล็ด และเปลือกต้น มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเทียบเท่ากับ 46.15 30.38 และ 347.16 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าส่วนของเปลือกต้นปริมาณ 1 กรัมมีสารประกอบฟีนอลิกอยู่มากที่สุด เหมาะที่จะนำไปปรับใช้เพื่อประโยชน์ในอุตสาหกรรมที่ต้องการสารประกอบฟีนอลิกเป็นจำนวนมาก

จากการนำสารสกัดหยาบจากพืชมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเบื้องต้น โดยทดสอบกับแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด คือ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 27853, *Micrococcus luteus* TISTR 9341, *Salmonella typhimurium* TISTR 0562, *Clostridium sporogenes* TISTR 549 และ *Streptococcus thermophilus* ด้วยวิธี Agar well Diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของชงโคมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด ซึ่งความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ใช้ในการทดลองคือ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดจากใบที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *M. luteus* ได้ดีที่สุดในการสกัดทั้งหมด โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 2.54 มิลลิเมตร และมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ใกล้เคียงกับสารสกัดจากเปลือกต้น โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 0.40 มิลลิเมตร ส่วนการยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium*, *C. sporogenes* และ *S. thermophilus* มีค่าใกล้เคียงกับสารสกัดชนิดอื่น ซึ่งเกิดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 1.45 0.80 และ 0.38 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ )

สารสกัดจากเปลือกต้นที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium*, *C. sporogenes* และ *S. thermophilus* ได้ใกล้เคียงกับสารสกัดชนิดอื่น ซึ่งเกิดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 1.27 0.44 และ 0.93 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) ส่วนเชื้อ *P. aeruginosa* นั้น สารสกัดจากเปลือกต้นมีความสามารถในการยับยั้งใกล้เคียงกับสารสกัดจากใบ โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 0.36 มิลลิเมตร และมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *M. luteus* เป็นอันดับที่ 2 รองจากสารสกัดจากใบ โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 1.53 มิลลิเมตร

สารสกัดจากเมล็ดที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ดีที่สุดจากสารสกัดทั้งหมด โดยมีบริเวณยับยั้งกับ 0.62 มิลลิเมตร แต่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *M. luteus* ต่ำที่สุด โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 0.79 มิลลิเมตร ส่วนการยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium*, *C. sporogenes* และ *S. thermophilus* มีค่าใกล้เคียงกับสารสกัดชนิดอื่น ซึ่งเกิดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเท่ากับ 0.88 0.55 และ 0.87 ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p \leq 0.05$ ) นอกจากนี้สารสกัดจากเมล็ดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยังมีความสามารถในการยับยั้งมากกว่าเชื้อ *S. typhimurium* และยาปฏิชีวนะ gentamicin ที่ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญอีกด้วย

จากการนำสารสกัดที่ได้จากใบ เมล็ด และเปลือกต้นของขงโคมาวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด (ChaGo) ด้วยวิธี MTT โดยทำการเจือจางสารสกัดหยาบแต่ละส่วนให้มีความเข้มข้นที่ระดับ 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่า สารสกัดจากเมล็ดจะแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งในทุกความเข้มข้น โดยที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งสูงสุดเท่ากับ 252.73 ขณะที่สารสกัดหยาบจากใบและเปลือกต้นของขงโคที่ความเข้มข้น 0.001 จนถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีฤทธิ์ในการส่งเสริมการเจริญของเซลล์มะเร็ง แต่ที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดทั้งสองนี้จะแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง โดยมีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเท่ากับ 170.29 และ 186.10 ตามลำดับ จากข้อมูลอาจสรุปได้ว่าการใช้สารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ขึ้นต้นการคำ  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูงมาก ๆ ดังเช่นที่ใช้ในการทดสอบ คือ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อาจจะทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งได้

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

ในกระบวนการสกัดสารสำคัญจากพืชเพื่อนำมาใช้ประโยชน์สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงก็คือ การเลือกชนิดของตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติเหมาะสมกับวัตถุประสงค์ที่นำไปใช้ในการสกัดเพื่อให้ได้สารสำคัญจากพืชที่สนใจในปริมาณมาก เนื่องจากตัวทำละลายที่แตกต่างกันก็จะให้สารสกัดที่แตกต่างกันออกไป อีกทั้งยังต้องกำจัดตัวทำละลายออกจากสารสกัดที่ต้องการให้หมดหรือเหลือตกค้างให้น้อยที่สุด และควรเลือกใช้วิธีที่มีผลทำให้เกิดการสูญเสียสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพให้น้อยที่สุด อีกด้วย

นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงธรรมชาติของพืช สภาวะแวดล้อมในการเจริญเติบโต ฤดูกาลและช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างพืช ซึ่งการเก็บตัวอย่างพืชนั้นต้องทำในระยะเวลาที่เหมาะสมและระวังเรื่องพืชเป็นโรค ซึ่งนับเป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดคุณภาพของพืช เนื่องจากปัจจัยเหล่านี้อาจส่งผลต่อปริมาณการสังเคราะห์สารสำคัญที่อยู่ในพืชได้เช่นกัน

## เอกสารอ้างอิง

- กนกกร โต้ะพาน และคณะ. 2012. การต้านการเจริญต่อเซลล์มะเร็งปอด (ChaGo) โดยสมุนไพรไทยในกลุ่มยาอายุวัฒนะ. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ
- กิตติยา มาลานิยม, ณัฐธิดา เกิดแล้ว. 2554. การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากดอกและใบหางนกยูงฝรั่ง. โครงการงานพิเศษ ภาควิชาชีววิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบัน เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ
- เจนจิรา จิรัมย์, ประสงค์ สีหานาม. 2554. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์ ฉบับที่ 1
- ชลดา สร้อยแสง, วลัยลักษณ์ ดีชื่น, ปรางทิพย์ มณีสะอาด. 2552. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์จากสารสกัดหยาบของใบมะรุ้ม. โครงการงานพิเศษ ภาควิชาชีววิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ
- ประสาทพร บริสุทธิ์เพชร. 2551. การทดสอบฤทธิ์ด้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ. คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- ปรานอม ธรรมศิริ. 2555. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรประกอบยอดองและยอดองเห็ด. ศูนย์วิทยาศาสตร์ศึกษามหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพฯ
- ระวีวรรณ แก้วอมตวงศ์. 2551. สารทุติยภูมิและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของพืชสกุลชงโค. วารสารวิชาการ. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
- A. Kottai Muthu et al. In-vitro antioxidant potential of various extracts from whole plant of *Bauhinia purpurea* (Linn). *Int.J. PharmTech Res.* 2011, 3(2) : 919-924.
- Lakshmi et al. (2011). Antihyperlipidemic activity of *Bauhiniapurpurea* extracts in hypercholesterolemicalbino rats. *Int.J. PharmTech.* 3(3) : 1265- 1266.
- Murugan M and Mohan V.R.. Evaluation of phytochemical analysis andantibacterial activity of *Bauhinia purpurea* L. and *Hiptage benghalensis* L. *Kurz. Journal of Applied Pharmaceutical Science* 01 (09); 2011: 157-160
- Mopuri Ramgopal et al. Evaluation of Antilipidemic and Anti Obesity Efficacy of *Bauhinia purpurea* Bark Extract on Rats Fed with High Fat Diet. *Journal of Plant Sciences* 3 (3):

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

104-107, 2010 Academic

Latif Ibrahim. (2011). Cytoprotective effects of *Bauhinia purpurea* leaf extract against ethanol-induced gastric mucosal ulcer in rats. Academic Journals Vol. 6(25), 5396-5402.

Pawanjit Kaur et al. Superoxide anion radical scavenging activity of *Bauhinia purpurea* and *Bauhinia galpinii*. Journal of Chinese clinical medicine. 247-254

P. Avinash et al. (2011). *In vitro* antimicrobial and antioxidant activities of bark extracts of *Bauhinia purpurea*. Afr. J. Biotechnol. 10(45) : 9160-9162.

Yik Ling Chew, Elaine Wan Ling Chan, Pei Ling Tan, Yau Yan Lim, Johnson Stanslas, Joo Kheng Goh. (2011). Assessment of phytochemical content, polyphenolic composition, antioxidant and antibacterial activities of Leguminosae medicinal plants in Peninsular Malaysia. BMC Complement Altern Med.

Zakaria et al. (2011) *Bauhinia purpurea* leaves' extracts exhibited *in vitro* antiproliferative and antioxidant activities. Afr. J. Biotechnol. Vol. 10(1), 65-74.

[Online]. Available : [http://feedmeal.igetweb.com/index.php?mo=18&display=view\\_single&pid=456113](http://feedmeal.igetweb.com/index.php?mo=18&display=view_single&pid=456113) (3 มี.ค. 2556)

[Online]. Available : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1077/yogurt> (3 มี.ค. 2556)

[Online]. Available : <http://haamor.com> (3 มี.ค. 2556)

[Online]. Available : [http://www.hpacultures.org.uk/products/celllines/generalcell/detail.jsp?refId=96020948&collection=ecacc\\_gc](http://www.hpacultures.org.uk/products/celllines/generalcell/detail.jsp?refId=96020948&collection=ecacc_gc) (26 มี.ค. 2556)

[Online]. Available : [www.il.mahidol.ac.th/emedial/plants/webcontent3/interactive\\_key/key/describ/chongko.htm](http://www.il.mahidol.ac.th/emedial/plants/webcontent3/interactive_key/key/describ/chongko.htm) (3 มี.ค. 2556)

[Online]. Available : <http://www.meedee.net/magazine/med/diag-n-px-line/3085> (3 มี.ค. 2556)

[Online]. Available : <http://moomsabuy.exteen.com/20070717/clostridium-spp> (1 มี.ค. 2556)

[Online]. Available : [http://www.nanhospital.go.th/pdf\\_pharm/gentamycin.pdf](http://www.nanhospital.go.th/pdf_pharm/gentamycin.pdf) (3 มี.ค. 2556)

[Online]. Available : [http://www.naturalwellbeing.com/learning-center/Streptococcus\\_Thermophilus](http://www.naturalwellbeing.com/learning-center/Streptococcus_Thermophilus) (3 มี.ค. 2556)

[Online]. Available : <http://www.ppdictionary.com/bacteria/gnbac/typhimurium.htm> (3 มี.ค. 2556)

[Online]. Available : <http://www.sigmaldrich.com/catalog/product/sigma/96020948?lang=en&region=TH> (26 มี.ค. 2556)

[Online]. Available : [http://wich246.blogspot.com/2008/02/blog-post\\_11.html](http://wich246.blogspot.com/2008/02/blog-post_11.html) (3 มี.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[Online].Available : [http://www.worldagroforestry.org/treedb2/AFTPDFS/Bauhinia\\_purpurea.pdf](http://www.worldagroforestry.org/treedb2/AFTPDFS/Bauhinia_purpurea.pdf)

(3 มี.ค. 2556)

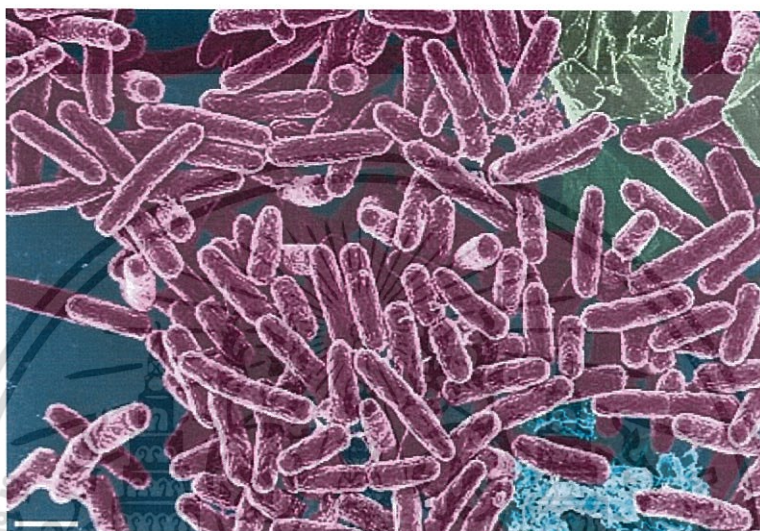


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

#### ก.1 *Pseudomonas aeruginosa*



รูปภาคผนวก ก ที่ 1 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา : [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pseudomonas\\_aeruginosa\\_SEM.jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pseudomonas_aeruginosa_SEM.jpg) (3 มี.ค. 2556)

*P. aeruginosa* เป็นแบคทีเรียรูปท่อนหรือโค้งเล็กน้อย เคลื่อนที่ด้วยโพลาร์แฟลกเจลลา ติดสีแกรมลบ ผนังเซลล์ประกอบด้วยลิพโพลีแซ็กคาไรด์ (Lipopolysaccharide, LPS) ส่วนของโพลีแซ็กคาไรด์ที่ยื่นออกมาจากเมมเบรนชั้นนอก (LPS) เชื่อว่าเกี่ยวข้องกับความสามารถทางซีโรโลยีและความไว (susceptible) ต่อแบคทีริโอซินหรือไพโอซิน (bacteriocin หรือ pyocin) และแบคทีริโอเฟจ *P. aeruginosa* ยังมีชั้นเมือก (slime layer) ที่ประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์และมีฟีโลอยู่ที่ผิวเซลล์

*P. aeruginosa* เป็นเชื้อชนิดหนึ่งที่ทำให้ผลบวกกับออกซิเดส เคลื่อนที่ได้ และไม่เฟอร์เมนต์ แล็กโทสเมื่อเลี้ยงใน Mac conkey agar สร้างรงควัตถุไพโอไซยานิน (pyocyanin) ที่มีสีฟ้า และไพโอเวอดิน (pyoverdine) สีเหลืองที่เป็นสีเหลือง (fluorescence) เมื่อส่องแสงอัลตราไวโอเล็ต รงควัตถุทั้ง 2 สีสรรวมกันเป็นสีเขียว ละลายน้ำได้ และแพร่เข้ามาในอาหารเลี้ยงเชื้อ บางสายพันธุ์ให้รงควัตถุสีสนิมไพโอรูบริน (pyorubrin)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยปกติแล้ว *P. aeruginosa* ไม่ค่อยทำให้เกิดโรคในคนที่มีความสุขภาพดี แต่จะเป็นเชื้อฉวยโอกาสทำให้เกิดโรคได้ในคนที่ภูมิคุ้มกันต่ำหรืออ่อนแอ หรือเมื่อเชื้อเข้าสู่ร่างกายในบริเวณที่ไม่มี ความต้านทานปกติ เช่น เชื้อเมือกหรือผิวหนังที่ถลอก คนไข้ในโรงพยาบาลจะมีการติดเชื้อ *Pseudomonas* ได้ง่ายและรุนแรง โดยที่เชื้อเพิ่มจำนวนอยู่ในน้ำหรือที่ที่มีความชื้นตามเครื่องมือ หรือเครื่องช่วยหายใจ การติดเชื้อจะเกิดขึ้นเมื่อมีการใช้เครื่องมือทางการแพทย์เพื่อตรวจหรือรักษา เช่น การใช้เครื่องสวนในหลอดเลือดหรือปัสสาวะ คนที่มีแผลเปื่อยอักเสบ แผลไฟไหม้ การติดเชื้อ ที่ตา คนไข้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำหรือสูงอายุ โรคที่ภูมิคุ้มกันถูกกด เช่น มะเร็งเม็ดเลือดขาว และคนที่ ได้รับยากดภูมิคุ้มกันมักเกิดการติดเชื้อ *Pseudomonas* ได้ง่าย ทำให้เชื้อเข้าสู่ร่างกาย และเกิดปอด บวมตามมา

การติดเชื้อ *P. aeruginosa* มักร้ายแรงและคือต่อยาที่ใช้รักษา ทำให้เชื้อเพิ่มจำนวนขึ้นเมื่อ เชื้อแบคทีเรียอื่นที่ไวต่อยาถูกระงับการเจริญ การที่เชื้อพัฒนาการคือยาที่ใช้รักษาเนื่องจากการ กระตุ้นของเอนไซม์ เช่น  $\beta$ -lactamase หรือการถ่ายทอดพลาสมิดที่นำยีนการคือยาจากเชื้อหนึ่งไป ยังอีกเชื้อหนึ่ง นอกจากนี้ยาปฏิชีวนะบางกลุ่ม เช่น อะมิโนไกลโคไซด์ ก็ไม่มีประสิทธิภาพในการ ทำลายเชื้อตรงบริเวณที่เกิดการติดเชื้อ เนื่องจากบริเวณที่ติดเชื้อเกิดหนอง มีสภาพเป็นกรดมาก ประสิทธิภาพของยาจึงลดลง

การรักษาในปัจจุบัน เนื่องจากเชื้อนี้คือต่อยาปฏิชีวนะหลายชนิด จึงต้องมีการทดสอบความ ไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะก่อนใช้ การใช้ยาชนิดเดียวจะไม่ค่อยได้ผลในการรักษา จึงมักใช้ยาในกลุ่ม เพนนิซิลินร่วมกับยาในกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ คนไข้ที่มีบาดแผลไฟไหม้รุนแรง อาจรักษาด้วยการ ใช้ยาปฏิชีวนะร่วมกับทำให้ IgG (ของคน) ที่มีแอนติบอดีต่อโพลีแซ็กคาไรด์แอนติเจนของเชื้อ *P. aeruginosa* จะช่วยลดอัตราการตายได้ดีกว่าการใช้ยาปฏิชีวนะอย่างเดียว การให้วัคซีนชนิดพอลิวา ลেন্ট (polyvalent vaccine) ที่ประกอบด้วยสารสกัดจากเซลล์ *P. aeruginosa* ก็ให้ผลในการป้องกันการ ติดเชื้อได้ดี

## ก. 2 *Micrococcus luteus*

*M. luteus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม พบได้ทั่วไปในดิน ฝุ่นละออง น้ำ และ อากาศ นอกจากนี้ยังเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นบนผิวหนังของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยพบในมนุษย์ บริเวณปาก เชื้อเมือก ทางเดินหายใจ สามารถทนต่อความแห้งแล้งและปริมาณความเข้มข้นของ เกลือที่สูงได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ยังพบการติดเชื้อ *M. luteus* จากการรักษาในโรงพยาบาลด้วย พบ

มากในอากาศภายในอาคาร เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดอาการอักเสบ แล้วแต่ตำแหน่งของอวัยวะที่ติดเชื้อ เช่น ฝีหนองบนผิวหนัง หรือปอดอักเสบ



รูปภาพผนวก ก ที่ 2 เชื้อ *Micrococcus luteus*

ที่มา : <http://cellbiology.med.unsw.edu.au/units/science/lecture0802.htm> (3 มี.ค. 2556)

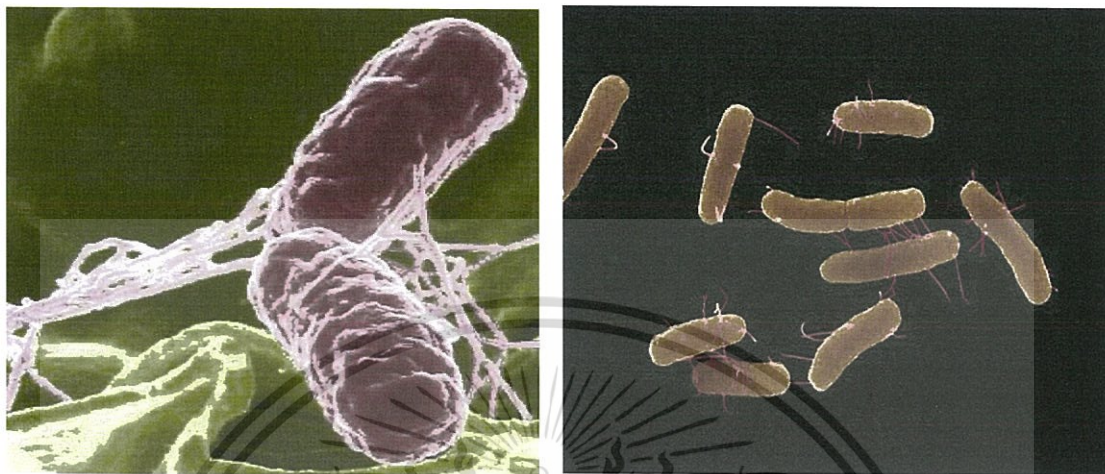
### ก.3 *Salmonella typhimurium*

*Salmonella typhimurium* เป็นแบคทีเรียรูปท่อน แกรมลบ เมื่อเลี้ยงในอาหารทั่วไปจะเกิดเป็นโคโลนีทรงกลมเรียบ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 - 4 มิลลิเมตร และเมื่อเลี้ยงใน Hektoen enteric agar โคโลนีจะมีสีน้ำตาลอมเขียวและมีสีดำอยู่ตรงกลาง แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์นี้ไม่หมักแลคโทส (เป็นธรรมชาติของสายพันธุ์ *Salmonella*) ซึ่งการใช้อาหาร Hektoen enteric agar นี้ถูกออกแบบมาเพื่อการตรวจสอบแบคทีเรียชนิดนี้โดยเฉพาะ

การเคลื่อนไหวทำได้โดยใช้แฟลกเจลลาที่ยื่นออกมารอบๆ เซลล์ (peritrichous flagella) อีกทั้งบางส่วนของขบวนการเมทาบอลิซึมยังสามารถช่วยระบุถึงคุณสมบัติต่างๆ ของเชื้อแบคทีเรียนี้ได้ เช่น เป็นเชื้อที่ไม่หมักแลคโทส (lactose negative) มีความสามารถในการใช้ citrate เป็นแหล่งคาร์บอน (citrate positive) มีปฏิกิริยา lysine decarboxylase (lysine decarboxylase positive) ไม่มี gelatinase enzyme สำหรับย่อยเจลาติน (gelatin hydrolysis negative) และมีการผลิตไฮโดรเจนซัลไฟด์ *S. typhimurium* สามารถพบได้ในอาหารบางชนิดและในอุจจาระของสัตว์ที่ติดเชื้อ การแยกและวิเคราะห์อุจจาระหรืออาหารที่คาดว่าจะมีการติดเชื้อ ทำได้โดยนำเชื้อแบคทีเรียไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บ่มที่อุณหภูมิ 37°C และปล่อยให้เจริญเติบโตเป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำออกจากเพลทไปเลี้ยงใน selective agar อาหารเหลวที่นิยมใช้กันมากที่สุดสำหรับการแยกเพื่อระบุว่าเป็นเชื้อ *S. typhimurium* คือ Rappaport-Vassiliadis soy broth



รูปภาคผนวก ก ที่ 3 เชื้อ *Salmonella typhimurium*

ที่มา : [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Salmonella\\_typhimurium.png](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Salmonella_typhimurium.png) (3 มี.ค. 2556)

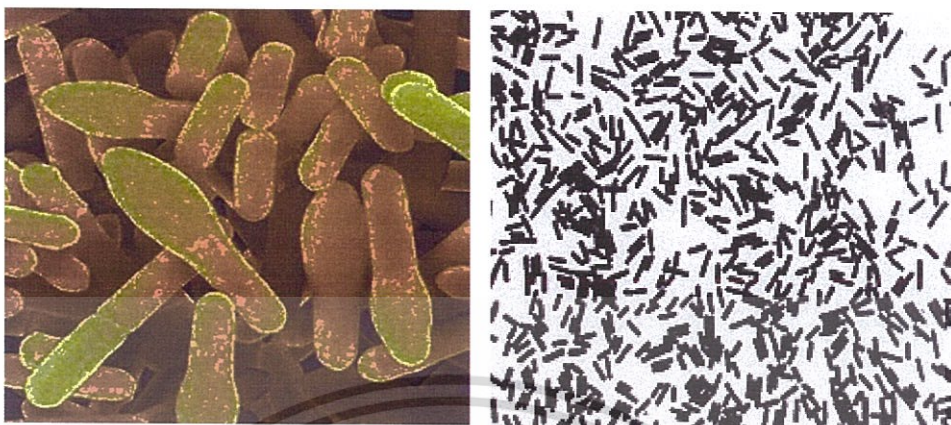
*S. typhimurium* เป็น aerobic bacteria แต่ในทางกลับกันก็สามารถเพาะเลี้ยงได้ในสภาพไร้ออกซิเจน และเป็นที่รู้จักกันดีว่าเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษในมนุษย์ ส่งผลให้เกิดกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบในมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่นๆ โรคอาหารเป็นพิษมักจะเกิดจากการที่คนรับประทานเนื้อสัตว์ดิบๆ หรือมีการสัมผัสกับอุจจาระของผู้ที่ติดเชื้อ ในธรรมชาติ *S. typhimurium* อาจมีชีวิตรอดอยู่ได้ในดินนานหลายปี และเมื่อได้รับเชื้อเข้าไปแล้วจะไม่สังเกตเห็นอาการจนกระทั่งเวลาผ่านไป 12 - 24 ชั่วโมง อาการที่พบบ่อยมากที่สุด ได้แก่ โรคท้องร่วง อาเจียน และมีไข้ ซึ่งอาการเหล่านี้จะกินระยะเวลา 2 - 5 วัน โดย *S. typhimurium* จะเข้าสู่โฮสต์ได้โดยการเจาะที่เยื่อเมือกในลำไส้ จากนั้นก็ย้ายไปยังตับและม้ามซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดความผิดปกติของระบบต่างๆ ภายในร่างกาย (systemic disease) (Rosenberger et al., 2000)

#### ก.4 *Clostridium sporogenes*

*Clostridium spp.* มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายซากพืชซากสัตว์ พบได้ทั่วไปในน้ำ ดิน ตามพืชผักต่างๆ บางสปีชีส์เป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และมีเพียง 2 - 3 สปีชีส์ในลำไส้ที่ทำให้เกิดโรค เช่น *Clostridium botulinum* เป็นสาเหตุสำคัญของโบทูลิซุม (botulism)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Clostridium tetani* ทำให้เกิดโรคบาดทะยัก (tatanus) และ *Clostridium perfringens* ทำให้เกิดก๊าซแกงกรีน (gas gangrene)



รูปภาคผนวก ก ที่ 4 เชื้อ *Clostridium sporogenes*

ที่มา : <http://www.avianbiotech.com/diseases/clostridium.htm> (3 มี.ค. 2556)

#### ลักษณะวิทยาและสรีระวิทยาของเชื้อ *Clostridium spp.*

*Clostridium* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อน สร้างสปอร์ได้ เซลล์มีความยาวตั้งแต่ 3 - 8 ไมโครเมตร และกว้าง 0.4 - 1.2 ไมโครเมตร เป็นพวก obligate anaerobes หรือมีบางพวกเป็น aero tolerant ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลลาที่มีอยู่รอบตัว สปอร์จะไม่งอกถ้าขาด สภาพที่เหมาะสมคือ สภาพที่ไม่มีออกซิเจน สปอร์ทนความร้อนได้ดี สามารถทนอุณหภูมิได้ถึง 120°C ได้นานถึง 10 - 15 นาที การเพาะเลี้ยงเชื้อทำได้ในสภาพไร้ออกซิเจน โดยส่วนใหญ่ใช้การเลี้ยงใน blood agar และ egg yolk agar ในสภาพที่ไม่มีอากาศเป็นเวลา 48 - 72 ชั่วโมง โคโลนีจาก blood agar สามารถนำมาตรวจดูปฏิกิริยาการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง ลักษณะโคโลนี ส่วนเชื้อที่เจริญใน egg yolk agar สามารถตรวจหาการทำงานของเอนไซม์ lecithinase โดยดูจากลักษณะตกตะกอนขุ่นขาวในเนื้อวุ้น และตรวจหาการทำงานของเอนไซม์ lipase โดยดูจากความเป็นเงา (iridescent sheen) ที่ผิวหน้าเชื้อ

การแยกเชื้อ *Clostridium* ออกจากเชื้ออื่นที่ปะปนอยู่ (primary isolation) ทำได้โดยนำตัวอย่างมาให้ความร้อน 80°C นาน 10 - 15 นาที เพื่อทำลายเซลล์ปกติ และบ่มไว้ที่ 37°C ก่อนนำไปเลี้ยงต่อ (subculture) ในอาหาร หรือนำตัวอย่างใส่ในอาหาร thioglycolate broth ที่มีกลูโคส บ่มไว้ 24 - 48 ชั่วโมง เชื้อ *Clostridium* จะเปลี่ยนกลูโคสได้เป็นกรดที่จะไปยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบได้ นอกจากนี้ยังสามารถนำตัวอย่างใส่ใน chopped meat medium ปิดฝาสนิทด้วย petrolatum หลังจากบ่มไว้ที่ 37°C แล้วจึง subculture ไปยังอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

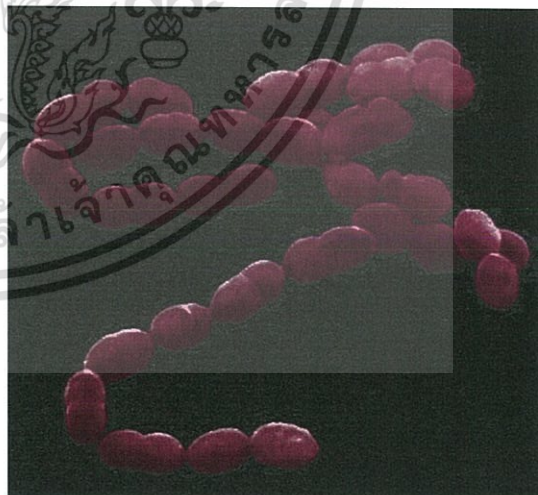
ลักษณะสำคัญของ *Clostridium* แต่ละสปีชีส์ คือ ความสามารถในการ ferment น้ำตาลต่างชนิดกันได้ นอกจากนี้ *Clostridium* บางชนิดยังสามารถให้ก๊าซมากพอที่จะนำมาใช้ในการจำแนกเชื้อได้

### โรคที่เกิดจาก *Clostridium*

*C.botulinum* *C. tetani* และ *C. perfringens* มี exotoxin ที่รุนแรงสามารถทำให้เกิดโรคร้ายแรงได้ คือ โรคอาหารเป็นพิษ botulism gas asngarene และบาดทะยัก ตามลำดับ

### ก.5 *Streptococcus thermophilus*

*Streptococcus thermophilus* เป็นหนึ่งใน lactic acid bacteria (LAB) เชิงพาณิชย์ที่สำคัญมากที่สุด เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เจริญได้ทั้งที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 40°C ในสภาพที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำหรือไม่มีออกซิเจนจะเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตส (lactose) นำนมเป็นกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดแลคติก (lactic acid) และยังสร้างกรดฟอร์มิก (formic acid) ทำให้ pH ลดลง ประมาณ 5.5 ซึ่งส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในกลุ่ม *Lactobacillus* มักจะพบในผลิตภัณฑ์นมหมัก เช่น โยเกิร์ต ชีส และเครื่องดื่มนม และยังเป็นหนึ่งในแบคทีเรียที่มีประโยชน์มากมายที่มักจะถูกเพิ่มเข้าไปในอาหารและเครื่องดื่มนมเพื่อเสริมสร้างการทำงานของระบบของภูมิคุ้มกันในคนและช่วยให้ลำไส้ใหญ่มีสุขภาพดีอีกด้วย



รูปภาคผนวก ก ที่ 5 เชื้อ *Streptococcus thermophilus*

ที่มา : <http://www.probioticsnews.creativetesting.co.uk/library/scientific-visuals/high-resolution>

(3 มี.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถในการอยู่รอดของเชื้อ *Streptococcus thermophilus* นั้นเป็นเรื่องง่าย เนื่องจาก การมีผนังเซลล์ที่หนาจะช่วยให้สามารถอยู่รอดได้ในอุณหภูมิสูง ซึ่งผลิตภัณฑ์จากนมมักจะใช้ความร้อนในกระบวนการผลิตสูงถึง 100°C ขึ้นไปและแบคทีเรียชนิดนี้ก็ยังสามารถทนต่ออุณหภูมิที่สูงนี้ได้เป็นอย่างดี

ในปัจจุบัน จะใช้เชื้อ *Streptococcus thermophilus* เพื่อต่อสู้กับการแพร่กระจายของแบคทีเรียที่เป็นอันตรายในลำไส้ วิธีนี้เรียกว่า “Probiotics treatment” โดยเชื้อ *Streptococcus thermophilus* และเชื้อแบคทีเรียที่ดีสายพันธุ์อื่นจะมีชีวิตอยู่ในผลิตภัณฑ์นมต่างๆ เช่น โยเกิร์ต เครื่องดื่มนม เพื่อใช้สำหรับต่อสู้กับแบคทีเรียที่ไม่ดี ยีสต์ เชื้อรา และสารพิษในร่างกาย

การมีระบบย่อยอาหารที่ดีจะช่วยให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกาย และการดูดซึมสารอาหารที่เหมาะสมจะเป็นการส่งเสริมให้สารอาหารที่มีประโยชน์นั้นถูกระบบต่างๆภายในร่างกายนำไปใช้งาน ซึ่งพลังงานจากอาหารที่ท่านเข้าไปจะถูกนำมาใช้ในการเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ

โดยเด็กที่ได้รับอาหารเสริมที่มีเชื้อ *Streptococcus thermophilus* จะมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูงขึ้นเป็นเมื่อเปรียบเทียบกับเด็กที่เพียงแคทานเครื่องดื่มนมปกติ

*Streptococcus thermophilus* นั้น ไม่มีผลข้างเคียง แม้แต่หญิงที่ตั้งครรภ์และให้นมบุตรก็ควรบริโภค โยเกิร์ตและเครื่องดื่มนมเสริมด้วยเพื่อให้มีแบคทีเรียที่มีประโยชน์

#### ก.6 เซลล์มะเร็งปอด (ChaGo)



รูปภาคผนวก ก ที่ 6 ChaGo-K-1

ที่มา : [http://hpacultures.org.uk/media/F83/47/96020948\\_ChaGo-K-1\\_Images.pdf](http://hpacultures.org.uk/media/F83/47/96020948_ChaGo-K-1_Images.pdf) (16/03/56)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตเห็น ใบใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อสายพันธุ์ของเซลล์ : Chago-K-1

คำสำคัญ : ปอดหลอดลมของมนุษย์มะเร็ง

รายละเอียดสายพันธุ์ของเซลล์ : สายพันธุ์ของเซลล์นี้ได้มาจากมะเร็ง bronchogenic ของชาย 45 ปี  
ผลิต เซลล์ระดับสูงของ MUC-1 mRNA mucin, ระดับต่ำของ mRNA MUC-2 แต่ไม่แสดงออกของ  
ยีน MUC-3

แหล่งกำเนิด : เนื้อเยื่อปอด (หลอดลม) จากมนุษย์

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา : เชื้อราผิว

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง : RPMI 1640 + 2 mM Glutamine + 1 mM Sodium Pyruvate (NaP) +  
10% Foetal Bovine Serum (FBS).

อุณหภูมิการเก็บรักษา : -196 °C



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

### สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

#### 1. Mueller Hinton Agar (MHA)

Beef infusion form	300	กรัม
Casein acid hydrolysate	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar	17	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร
pH	7.3 ± 0.2	

#### วิธีการเตรียม

การเตรียมอาหาร Mueller Hinton Agar โดยใช้อาหารสำเร็จรูป ทำได้โดยชั่งอาหาร MHA สำเร็จรูป 38 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนำเข้าหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที อาหารที่ได้จะมีลักษณะใส สีเหลืองอ่อน ข้างน้ำตาล

#### 2. Nutrient agar medium (NA)

Nutrient broth	8.0	กรัม
ผงวุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

#### วิธีการเตรียม

ละลาย Nutrient broth ลงในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร คนด้วยแท่งแก้วให้สารอาหารละลาย ปรับ pH ด้วย 0.1 NaOH หรือ 0.1 N HCl จนได้ประมาณ 6.8-7 ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร นำไปผสมวุ้นต้มจนละลาย เทอาหารใส่ขวดปริมาตรขวดละ 200 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลี ปิดทับด้วยกระดาษอีกชั้น นำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 20 นาที

### 3. Nutrient Broth (NB)

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม

#### วิธีการเตรียม

การเตรียมอาหาร Nutrient broth โดยใช้อาหารสำเร็จรูป ทำได้โดยชั่งอาหาร NB สำเร็จรูป 8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนำเข้าหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที อาหารที่ได้จะมีลักษณะใส สีเหลือง

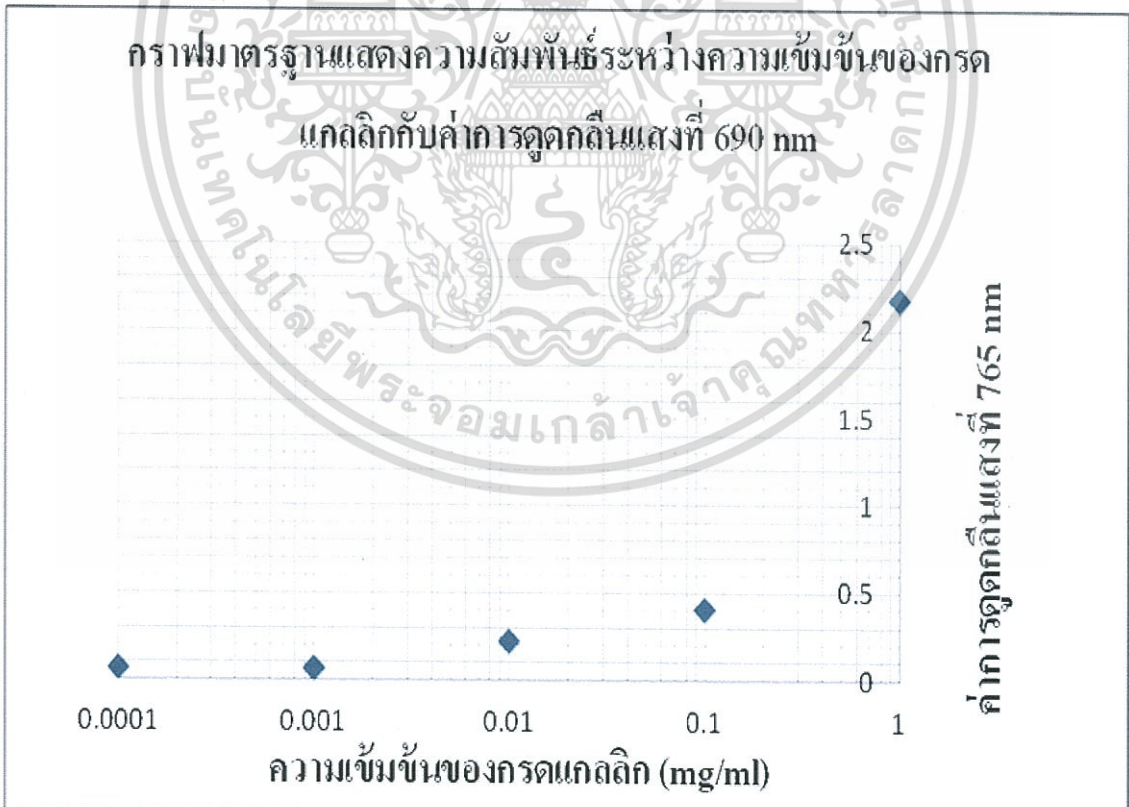


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### 1. การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
2. ทำการเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 0.0001-1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ลงใน well plate ปริมาตร 20 ไมโครลิตร
4. เตรียมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและวางทิ้งไว้
5. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
6. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร
7. เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปภาคผนวก ก ที่ 1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2. การเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อใช้ในการทดลอง

### 2.1 การเตรียมสารละลาย DPPH ใน Absolute Ethanol

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

หมายเหตุ : 1. ควรเตรียมทันทีก่อนใช้

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  $1 \times 10^{-4}$  M จำนวน 100 mL

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

### 2.2 การเตรียมสารละลายวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol)

เตรียมสารละลายวิตามินอี หรือ  $\alpha$ -tocopherol ความเข้มข้น 500 ไมโครโมลโดยทำการชั่ง วิตามินอี 0.0215 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

## ภาคผนวก ง

### การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

#### 1. Agar well diffusion method

วิธี agar well diffusion เป็นวิธีทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากพืชวิธีหนึ่งที่ได้รับคามนิยม เนื่องจากสามารถที่จะเติมสารสกัดจากพืชลงไปได้ในปริมาณที่ต้องการและความเข้มข้นที่ต้องการ โดยอาศัยหลักการเจาะรูให้เป็นหลุม ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร และหยดสารสกัดลงในหลุมเพื่อให้สารสกัดแพร่ผ่านรูไปรอบๆหลุม โดยความเข้มข้นของสารสกัดจะแปรผันตามระยะห่างระหว่างหลุมกับสารที่แพร่ออกไปทำให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้น โดยหากสารมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก็ทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่รอบๆหลุมไม่สามารถที่จะเจริญเติบโตได้ จึงสังเกตเห็นเป็น โซนใสรอบหลุม โดยความกว้างของโซนใสขึ้นอยู่กับฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดดังกล่าว หากสารสกัดความเข้มข้นเพียงเล็กน้อยก็สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ก็จะเป็น โซนใสที่กว้าง

#### วิธีการ Agar well Diffusion method

1. เตรียมสารละลายของเชื้อโดยการเฉยเชื้อจากอาหารแข็ง NA ลงในน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปรับสารละลายให้มีความขุ่นเท่ากับ 0.5 Mc Farland
2. ปิเปิดเชื้อมา 0.5 มิลลิลิตร ทำการ Swab สารละลายของเชื้อลงบนอาหาร MHA
3. ทำการเจาะผิวหน้ารูให้มีเส้นผ่านศูนย์กลางหลุมละ 6 มิลลิเมตรจำนวน 6 หลุม โดยแต่ละหลุมมีระยะห่างกันพอสมควรเพื่อให้เกิด โซนยับยั้งการเจริญของเชื้อ
4. เติมสารตัวอย่างลงในแต่ละหลุมปริมาตร 20 ไมโครลิตรทั้งหมด 3 หลุม ส่วนอีก 3 หลุม เติมเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และยาปฏิชีวนะ Cifloxin กับ Gentamicin
5. บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการทดลองโดยวัดความกว้างบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)

#### 2. การเตรียม MaFarland standard No. 0.5

1. เตรียมสารละลายแบเรียมคลอไรด์ ( $BaCl_2$ ) ความเข้มข้น 0.048 โมลต่อมิลลิลิตร (1.17%w/v  $BaCl_2 \cdot H_2O$ )
2. เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 0.18 โมลต่อลิตร (1%w/v)
3. นำสารละลายแบเรียมคลอไรด์ 0.5 มิลลิลิตร ผสมสารไฮโดรคลอริก 99.5 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.วิธีการ swab

1. การนำเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 1 ลูบ ใส่ลงในสารละลายน้ำเกลือ 0.85% ที่ปราศจากเชื้อ 10 มิลลิลิตร
2. นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อให้เชื้อเข้ากัน นำไปเทียบความขุ่น McFarland Standard No. 0.5
3. นำไม้พันสำลีไปจุ่มลงในหลอดเชื้อจุลินทรีย์ ระวังอย่าให้สำลีชุ่มมากเกินไป และนำไม้พันสำลีนั้นมาทางลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยป้าย 3 ทิศทาง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก จ

### การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ทำการคำนวณค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 16.0 แบบ One-Way ANOVA ตามวิธีของ Duncan

#### 1. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกของชงโค

##### Descriptives

##### Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	.0355	.00045	.00026	.0343	.0366	.04	.04
เปลือก	3	.0357	.00577	.00333	.0214	.0501	.03	.04
เมล็ด	3	.2117	.04850	.02800	.0912	.3322	.16	.26
Total	9	.0943	.09137	.03046	.0241	.1645	.03	.26

##### Test of Homogeneity of Variances

##### Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.510	2	6	.098

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

## Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.062	2	.031	38.995	.000
Within Groups	.005	6	.001		
Total	.067	8			

## Post Hoc Tests

## Homogeneous Subsets

## Duncan

	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ใบ	3	.0355	
เปลือก	3	.0357	
เมล็ด	3		.2117
Sig.		.991	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกของชงโค

2.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกของชงโคที่ความเข้มข้นต่างกัน

2.1.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 27853

### Descriptives

#### Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ 50 mg/ml	3	.4067	.10786	.06227	.1387	.6746	.33	.53
ใบ 100 mg/ml	3	1.2867	.38018	.21949	.3423	2.2311	.90	1.66
เมล็ด 50 mg/ml	3	.6167	.09815	.05667	.3728	.8605	.56	.73
เมล็ด 100 mg/ml	3	1.2667	.37859	.21858	.3262	2.2071	1.00	1.70
เปลือก 50 mg/ml	3	.3633	.03512	.02028	.2761	.4506	.33	.40
เปลือก 100 mg/ml	3	1.2400	.25942	.14978	.5956	1.8844	1.03	1.53
Cifloxin 20 ug/ml	3	6.4500	.18520	.10693	5.9899	6.9101	6.26	6.63
Gentamycin 20 ug/ml	3	2.6200	.21517	.12423	2.0855	3.1545	2.40	2.83
ethanol 95%	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	27	1.5833	1.91206	.36798	.8269	2.3397	.00	6.63

### Test of Homogeneity of Variances

#### Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.632	8	18	.042

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

## Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	94.139	8	11.767	231.102	.000
Within Groups	.917	18	.051		
Total	95.055	26			

## Post Hoc Tests

## Homogeneous Subsets

## Data

## Duncan

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
ethanol 95%	3	.0000				
เปลือก 50 mg/ml	3	.3633	.3633			
ใบ 50 mg/ml	3		.4067			
เมล็ด 50 mg/ml	3		.6167			
เปลือก 100 mg/ml	3			1.2400		
เมล็ด 100 mg/ml	3			1.2667		
ใบ 100 mg/ml	3			1.2867		
Gentamycin 20 ug/ml	3				2.6200	
Cifloxin 20 ug/ml	3					6.4500
Sig.		.064	.209	.814	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 9341

### Descriptive

#### Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					ใบ 50 mg/ml	3		
ใบ 100 mg/ml	3	4.0533	1.21517	.70158	1.0347	7.0720	3.13	5.43
เมล็ด 50 mg/ml	3	.7933	.11547	.06667	.5065	1.0802	.66	.86
เมล็ด 100 mg/ml	3	.9967	.26312	.15191	.3430	1.6503	.83	1.30
เปลือก 50 mg/ml	3	1.5300	.11790	.06807	1.2371	1.8229	1.43	1.66
เปลือก 100 mg/ml	3	2.2967	.43616	.25182	1.2132	3.3801	2.03	2.80
Cifloxin 20 ug/ml	3	.2767	.28042	.16190	-.4199	.9733	.10	.60
Gentamycin 10 mg/ml	3	6.6000	.10000	.05774	6.3516	6.8484	6.50	6.70
ethanol 95%	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	27	2.1207	2.05523	.39553	1.3077	2.9338	.00	6.70

### Test of Homogeneity of Variances

#### Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7.215	8	18	.000

### ANOVA

#### Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	105.834	8	13.229	59.703	.000
Within Groups	3.989	18	.222		
Total	109.823	26			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ภายในเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests

### Homogeneous Subsets

#### Data

#### Duncan

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
ethanol 95%	3	.0000						
Cifloxin 20 ug/ml	3	.2767	.2767					
เม็สึด 50 mg/ml	3	.7933	.7933	.7933				
เม็สึด 100 mg/ml	3		.9967	.9967				
เป็ลืออก 50 mg/ml	3			1.5300	1.5300			
เป็ลืออก 100 mg/ml	3				2.2967	2.2967		
ไบ 50 mg/ml	3					2.5400		
ไบ 100 mg/ml	3						4.0533	
Gentamycin 10 mg/ml	3							6.6000
Sig.		.065	.092	.085	.061	.535	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 0562

### Descriptive

#### Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ 50 mg/ml	3	1.4533	.18583	.10729	.9917	1.9150	1.30	1.66
ใบ 100 mg/ml	3	1.8433	.43155	.24915	.7713	2.9154	1.56	2.34
เมล็ด 50 mg/ml	3	.8767	.20404	.11780	.3698	1.3835	.70	1.10
เมล็ด 100 mg/ml	3	3.0300	2.32742	1.34374	-2.7516	8.8116	1.43	5.70
เปลือก 50 mg/ml	3	1.2733	.50846	.29356	.0102	2.5364	.96	1.86
เปลือก 100 mg/ml	3	2.0400	1.63009	.94113	-2.0094	6.0894	.86	3.90
Cifloxin 5 ug/ml	3	8.6933	.25166	.14530	8.0682	9.3185	8.46	8.96
Gentamycin 10 ug/ml	3	2.3200	.10583	.06110	2.0571	2.5829	2.20	2.40
ethanol 95%	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	27	2.3922	2.55269	.49127	1.3824	3.4020	.00	8.96

### Test of Homogeneity of Variances

#### Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9.240	8	18	.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

## Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	152.083	8	19.010	19.735	.000
Within Groups	17.339	18	.963		
Total	169.422	26			

## Post Hoc Tests

## Homogeneous Subsets

## Duncan

	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ethanol 95%	3	.0000			
เม็ตติด 50 mg/ml	3	.8767	.8767		
เป็ล็ด็อก 50 mg/ml	3	1.2733	1.2733	1.2733	
ไบ 50 mg/ml	3	1.4533	1.4533	1.4533	
ไบ 100 mg/ml	3	1.8433	1.8433	1.8433	
เป็ล็ด็อก 100 mg/ml	3		2.0400	2.0400	
Gentamycin 10 ug/ml	3		2.3200	2.3200	
เม็ตติด 100 mg/ml	3			3.0300	
Cifloxin 5 ug/ml	3				8.6933
Sig.		.051	.126	.066	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Clostridium sporogenes* TISTR 549

### Descriptive

#### Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ 50 mg/ml	3	.7867	.21362	.12333	.2560	1.3173	.63	1.03
ใบ 100 mg/ml	3	.8933	.09292	.05364	.6625	1.1241	.83	1.00
เมล็ด 50 mg/ml	3	.5533	.33561	.19376	-.2804	1.3870	.23	.90
เมล็ด 100 mg/ml	3	1.5667	.59652	.34440	.0848	3.0485	1.15	2.25
เปลือก 50 mg/ml	3	.4433	.05132	.02963	.3159	.5708	.40	.50
เปลือก 100 mg/ml	3	1.4500	.56789	.32787	.0393	2.8607	.80	1.85
Cifloxacin 20 ug/ml	3	1.6933	.58595	.33830	.2378	3.1489	1.26	2.36
Gentamycin 20 ug/ml	3	2.5400	.07211	.04163	2.3609	2.7191	2.46	2.60
9	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	27	1.1030	.80702	.15531	.7837	1.4222	.00	2.60

### Test of Homogeneity of Variances

#### Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.551	8	18	.001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

## Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14.540	8	1.818	13.673	.000
Within Groups	2.393	18	.133		
Total	16.933	26			

## Post Hoc Tests

## Homogeneous Subsets

## Duncan

	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
9	3	.0000				
เปลือก 50 mg/ml	3	.4433	.4433			
เมล็ด 50 mg/ml	3	.5533	.5533			
ใบ 50 mg/ml	3		.7867			
ใบ 100 mg/ml	3		.8933	.8933		
เปลือก 100 mg/ml	3			1.4500	1.4500	
เมล็ด 100 mg/ml	3				1.5667	
Cifloxin 20 ug/ml	3				1.6933	
Gentamycin 20 ug/ml	3					2.5400
Sig.		.094	.181	.078	.450	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Streptococcus thermophilus*

**Descriptive**

**Data**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					ใบ 50 mg/ml	3		
ใบ 100 mg/ml	3	1.7267	.50332	.29059	.4763	2.9770	1.26	2.26
เมล็ด 50 mg/ml	3	.8700	.79925	.46145	-1.1154	2.8554	.15	1.73
เมล็ด 100 mg/ml	3	1.0633	.03512	.02028	.9761	1.1506	1.03	1.10
เปลือก 50 mg/ml	3	.9300	.20000	.11547	.4332	1.4268	.73	1.13
เปลือก 100 mg/ml	3	1.1867	.18037	.10414	.7386	1.6347	1.00	1.36
Cifloxin 20 ug/ml	3	3.9533	.54096	.31232	2.6095	5.2971	3.33	4.30
Gentamycin 10 ug/ml	3	6.9100	.34395	.19858	6.0556	7.7644	6.53	7.20
ethanol 95%	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	27	1.8915	2.13184	.41027	1.0482	2.7348	.00	7.20

**Test of Homogeneity of Variances**

**Data**

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.671	8	18	.010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

## Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	115.400	8	14.425	93.976	.000
Within Groups	2.763	18	.153		
Total	118.163	26			

## Post Hoc Tests

## Homogeneous Subsets

## Data

## Duncan

	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
ethanol 95%	3	.0000					
ใบ 50 mg/ml	3	.3833	.3833				
เมล็ด 50 mg/ml	3		.8700	.8700			
เปลือก 50 mg/ml	3		.9300	.9300			
เมล็ด 100 mg/ml	3		1.0633	1.0633	1.0633		
เปลือก 100 mg/ml	3			1.1867	1.1867		
ใบ 100 mg/ml	3				1.7267		
Cifloxin 20 ug/ml	3					3.9533	
Gentamycin 10 ug/ml	3						6.9100
Sig.		.246	.065	.376	.064	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกของขงโคที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร

2.2.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 27853

### Descriptive

#### Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	1.2867	.38018	.21949	.3423	2.2311	.90	1.66
เมล็ด	3	1.2667	.37859	.21858	.3262	2.2071	1.00	1.70
เปลือก	3	1.2400	.25942	.14978	.5956	1.8844	1.03	1.53
Total	9	1.2644	.29867	.09956	1.0349	1.4940	.90	1.70

### Test of Homogeneity of Variances

#### Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.288	2	6	.760

### ANOVA

#### Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.003	2	.002	.014	.986
Within Groups	.710	6	.118		
Total	.714	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests

### Homogeneous Subsets

#### Data

#### Duncan

	N	Subset for alpha = 0.05
		1
เปลือก	3	1.2400
เมล็ด	3	1.2667
ใบ	3	1.2867
Sig.		.877

2.2.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 9341

#### Descriptive

#### Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	4.0533	1.21517	.70158	1.0347	7.0720	3.13	5.43
เมล็ด	3	.9967	.26312	.15191	.3430	1.6503	.83	1.30
เปลือก	3	2.2967	.43616	.25182	1.2132	3.3801	2.03	2.80
Total	9	2.4489	1.48287	.49429	1.3091	3.5887	.83	5.43

#### Test of Homogeneity of Variances

#### Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.376	2	6	.046

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

## Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14.119	2	7.060	12.199	.008
Within Groups	3.472	6	.579		
Total	17.591	8			

## Post Hoc Tests

## Homogeneous Subsets

## Duncan

		Data	
VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เมล็ด	3	.9967	
เปลือก	3	2.2967	
ใบ	3		4.0533
Sig.		.081	1.000

2.2.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 0562

## Descriptive

## Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	1.8433	.43155	.24915	.7713	2.9154	1.56	2.34
เมล็ด	3	3.0300	2.32742	1.34374	-2.7516	8.8116	1.43	5.70
เปลือก	3	2.0400	1.63009	.94113	-2.0094	6.0894	.86	3.90
Total	9	2.3044	1.53898	.51299	1.1215	3.4874	.86	5.70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### Test of Homogeneity of Variances

#### Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.654	2	6	.060

### ANOVA

#### Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.427	2	1.213	.441	.663
Within Groups	16.521	6	2.753		
Total	18.948	8			

#### Post Hoc Tests

#### Homogeneous Subsets

#### Duncan

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
			1
ใบ	3		1.8433
เปลือก	3		2.0400
เมล็ด	3		3.0300
Sig.			.429

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.4 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Clostridium sporogenes* TISTR 549

### Descriptive

#### Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	.8933	.09292	.05364	.6625	1.1241	.83	1.00
เมล็ด	3	1.1700	.93579	.54028	-1.1546	3.4946	.60	2.25
เปลือก	3	1.4500	.56789	.32787	.0393	2.8607	.80	1.85
Total	9	1.1711	.59984	.19995	.7100	1.6322	.60	2.25

### Test of Homogeneity of Variances

#### Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.798	2	6	.029

### ANOVA

#### Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.465	2	.232	.578	.590
Within Groups	2.414	6	.402		
Total	2.878	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests

### Homogeneous Subsets

#### Data

#### Duncan

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
ใบ	3	.8933	
เมล็ด	3	1.1700	
เปลือก	3	1.4500	
Sig.		.338	

2.2.5 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Streptococcus thermophilus*

#### Descriptive

#### Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	1.7267	.50332	.29059	.4763	2.9770	1.26	2.26
เมล็ด	3	1.0633	.03512	.02028	.9761	1.1506	1.03	1.10
เปลือก	3	1.1867	.18037	.10414	.7386	1.6347	1.00	1.36
Total	9	1.3256	.40636	.13545	1.0132	1.6379	1.00	2.26

#### Test of Homogeneity of Variances

#### Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.539	2	6	.097

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ANOVA

## Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.747	2	.373	3.902	.082
Within Groups	.574	6	.096		
Total	1.321	8			

## Post Hoc Tests

## Homogeneous Subsets

## Data

## Duncan

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เมล็ด	3	1.0633	
เปลือก	3	1.1867	1.1867
ใบ	3		1.7267
Sig.		.643	.076

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติร้อยละการลดลงของ DPPH ของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกของชงโค

#### 3.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติร้อยละการลดลงของ DPPH ของสารสกัดหยาบจากใบชงโค

##### Descriptive

##### Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ 10 mg/ml	3	.0873	.00115	.00067	.0845	.0902	.09	.09
ใบ 5 mg/ml	3	.1057	.00351	.00203	.0969	.1144	.10	.11
ใบ 2.5 mg/ml	3	.1020	.00100	.00058	.0995	.1045	.10	.10
ใบ 1.25 mg/ml	3	.1430	.00100	.00058	.1405	.1455	.14	.14
ใบ 0.625 mg/ml	3	.2433	.00416	.00240	.2330	.2537	.24	.25
V.E. 500 umol	3	.0753	.00551	.00318	.0617	.0890	.07	.08
Total	18	.1261	.05813	.01370	.0972	.1550	.07	.25

##### Test of Homogeneity of Variances

##### Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.793	5	12	.027

##### ANOVA

##### Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.057	5	.011	1.086E3	.000
Within Groups	.000	12	.000		
Total	.057	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests

### Homogeneous Subsets

#### Data

#### Duncan

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
V.E. 500 umol	3	.0753				
ใบ 10 mg/ml	3		.0873			
ใบ 2.5 mg/ml	3			.1020		
ใบ 5 mg/ml	3			.1057		
ใบ 1.25 mg/ml	3				.1430	
ใบ 0.625 mg/ml	3					.2433
Sig.		1.000	1.000	.192	1.000	1.000

### 3.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติร้อยละการลดลงของ DPPH ของสารสกัดหยาดจากเปลือก

ชงโค

#### Descriptive

#### Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เปลือก 10 mg/ml	3	.0727	.00058	.00033	.0712	.0741	.07	.07
เปลือก 5 mg/ml	3	.0867	.00321	.00186	.0787	.0947	.08	.09
เปลือก 2.5 mg/ml	3	.1523	.01193	.00689	.1227	.1820	.14	.17
เปลือก 1.25 mg/ml	3	.2507	.00874	.00504	.2290	.2724	.24	.26
เปลือก 0.625 mg/ml	3	.3033	.00757	.00437	.2845	.3221	.30	.31
V.E. 500 umol	3	.0753	.00551	.00318	.0617	.0890	.07	.08
Total	18	.1568	.09313	.02195	.1105	.2031	.07	.31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### Test of Homogeneity of Variances

#### Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.842	5	12	.026

### ANOVA

#### Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.147	5	.029	555.750	.000
Within Groups	.001	12	.000		
Total	.147	17			

#### Post Hoc Tests

#### Homogeneous Subsets

#### Duncan

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
เปลือก 10 mg/ml	3	.0727				
V.E. 500 umol	3	.0753	.0753			
เปลือก 5 mg/ml	3		.0867			
เปลือก 2.5 mg/ml	3			.1523		
เปลือก 1.25 mg/ml	3				.2507	
เปลือก 0.625 mg/ml	3					.3033
Sig.		.661	.080	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติร้อยละการลดลงของ DPPH ของสารสกัดหยาบจากเมล็ดชงโค

#### Descriptive

##### Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เมล็ด 10 mg/ml	3	.0693	.00058	.00033	.0679	.0708	.07	.07
เมล็ด 5 mg/ml	3	.0697	.00058	.00033	.0682	.0711	.07	.07
เมล็ด 2.5 mg/ml	3	.0697	.00058	.00033	.0682	.0711	.07	.07
เมล็ด 1.25 mg/ml	3	.0747	.00058	.00033	.0732	.0761	.07	.08
เมล็ด 0.625 mg/ml	3	.0767	.00058	.00033	.0752	.0781	.08	.08
V.E. 500 umol	3	.0753	.00551	.00318	.0617	.0890	.07	.08
Total	18	.0726	.00370	.00087	.0707	.0744	.07	.08

#### Test of Homogeneity of Variances

##### Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
11.333	5	12	.000

#### ANOVA

##### Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	5	.000	6.317	.004
Within Groups	.000	12	.000		
Total	.000	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## Post Hoc Tests

### Homogeneous Subsets

#### Data

#### Duncan

VAR00001	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เมลิค 10 mg/ml	3	.0693	
เมลิค 5 mg/ml	3	.0697	
เมลิค 2.5 mg/ml	3	.0697	
เมลิค 1.25 mg/ml	3		.0747
V.E. 500 umol	3		.0753
เมลิค 0.625 mg/ml	3		.0767
Sig.		.869	.333

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ฉ

### 1. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อหาร้อยละของการดักจับอนุภาคลิเธียจากสารสกัด หยาบจากใบ เปลือกและเมล็ดของชงโค

ตารางภาคผนวก ฉ ที่ 1.1 แสดงค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากใบของชงโคที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร				% DPPH Reduction
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
10	0.088	0.088	0.086	0.0873	75.057
5	0.106	0.109	0.102	0.1056	69.828
2.5	0.103	0.101	0.102	0.102	70.857
1.25	0.144	0.142	0.143	0.143	59.142
0.625	0.24	0.248	0.242	0.243	30.571

ตารางภาคผนวก ฉ ที่ 1.2 แสดงค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากเมล็ดของชงโคที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร				% DPPH Reduction
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
10	0.069	0.069	0.07	0.0693	80.20
5	0.07	0.07	0.069	0.0696	80.11
2.5	0.07	0.069	0.07	0.0696	80.11
1.25	0.075	0.074	0.075	0.0746	78.657
0.625	0.077	0.076	0.077	0.0767	78.08

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก ที่ 1.3 แสดงค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากเปลือกของชงโคที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร				% DPPH Reduction
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
10	0.073	0.072	0.073	0.073	79.142
5	0.089	0.088	0.083	0.0866	75.142
2.5	0.166	0.147	0.144	0.152	56.751
1.25	0.241	0.258	0.253	0.251	28.285
0.625	0.3	0.312	0.298	0.303	13.428

ตารางภาคผนวก ก ที่ 1.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ของวิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol)

ความเข้มข้นของวิตามินอี (ไมโครโมล)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร				% DPPH Reduction
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
500	0.069	0.079	0.078	0.0753	78.485

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจาก ใบ เมล็ด และเปลือกของชงโค

ตารางภาคผนวก ก ที่ 2.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากใบ เมล็ด และเปลือก ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด หยาบ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร				ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนัก แห้ง)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
ใบ	0.078	0.077	0.079	0.078	$0.0355^a \pm 0.00026$
เปลือก	0.071	0.093	0.071	0.0783	$0.0357^a \pm 0.00333$
เมล็ด	0.465	0.358	0.571	0.4646	$0.2117^b \pm 0.02800$

ตารางภาคผนวก ก ที่ 2.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
1	2.203	2.195	2.124	2.1740
0.1	0.384	0.505	0.328	0.4056
0.01	0.123	0.322	0.225	0.2233
0.001	0.082	0.054	0.054	0.0630
0.0001	0.061	0.076	0.059	0.0653

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัด หยาบจากใบ เมล็ด และเปลือกของขงโค

ตารางภาคผนวก ฉ ที่ 3.1 แสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 27853

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
ใบ	50	0.41 <sup>d</sup> ± 0.06
	100	1.29 <sup>c</sup> ± 0.22
เมล็ด	50	0.62 <sup>d</sup> ± 0.06
	100	1.27 <sup>c</sup> ± 0.23
เปลือก	50	0.36 <sup>dc</sup> ± .020
	100	1.24 <sup>c</sup> ± 0.15
ชุดควบคุม	ความเข้มข้น	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
Gentamicin	20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	2.62 <sup>b</sup> ± 0.12
Cifloxin	20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	6.45 <sup>a</sup> ± 0.11
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	0.00 <sup>c</sup> ± 0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก ที่ 3.2 แสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 9341

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
ใบ	50	2.54 <sup>c</sup> ± 0.22
	100	4.05 <sup>b</sup> ± 0.70
เมล็ด	50	0.79 <sup>cfg</sup> ± 0.07
	100	1.00 <sup>ef</sup> ± 0.15
เปลือก	50	1.53 <sup>dc</sup> ± 0.07
	100	2.30 <sup>cd</sup> ± 0.25
ชุดควบคุม	ความเข้มข้น	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
Gentamicin	20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	6.60 <sup>a</sup> ± 0.06
Cyfloxin	10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	0.28 <sup>fg</sup> ± 0.16
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	0.00 <sup>e</sup> ± 0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ฉ ที่ 3.3 แสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 0562

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
ใบ	50	1.45 <sup>bcd</sup> ± 0.11
	100	1.84 <sup>bcd</sup> ± 0.25
เมล็ด	50	0.88 <sup>cd</sup> ± 0.12
	100	3.03 <sup>b</sup> ± 1.34
เปลือก	50	1.27 <sup>bcd</sup> ± 0.29
	100	2.04 <sup>bc</sup> ± 0.94
ชุดควบคุม	ความเข้มข้น	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
Gentamicin	5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	2.32 <sup>bc</sup> ± .061
Cifloxin	10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	8.69 <sup>a</sup> ± 0.15
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	0.00 <sup>d</sup> ± 0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ก ที่ 3.4 แสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Clostridium sporogenes* TISTR 549

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
ใบ	50	$0.77^d \pm 0.12$
	100	$0.89^{cd} \pm 0.05$
เมล็ด	50	$0.55^{de} \pm 0.19$
	100	$1.57^b \pm 0.34$
เปลือก	50	$0.44^{de} \pm 0.03$
	100	$1.45^{bc} \pm 0.33$
ชุดควบคุม	ความเข้มข้น	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
Gentamicin	20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$2.54^a \pm 0.04$
Cifloxin	20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$1.69^b \pm 0.34$
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	$0.00^c \pm 0.00$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ฉ ที่ 3.5 แสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Streptococcus thermophilus*

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
ใบ	50	$0.38^{cf} \pm 0.04$
	100	$1.73^c \pm 0.29$
เมล็ด	50	$0.87^{de} \pm 0.46$
	100	$1.06^{cde} \pm 0.02$
เปลือก	50	$0.93^{de} \pm 0.11$
	100	$1.19^{cd} \pm 0.10$
ชุดควบคุม	ความเข้มข้น	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
Gentamicin	20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$6.91^a \pm 0.20$
Cifloxin	10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	$3.95^b \pm 0.31$
Ethanol	95 เปอร์เซ็นต์	$0.00^f \pm 0.00$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4. ข้อมูลผลการทดลองความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม of ChaGo ของสารสกัดหยาบจาก ใบ เมล็ด และเปลือกของชงโค

ตารางภาคผนวก ก ที่ 4.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากใบของชงโค

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
Control	0.31	0.311	0.318	0.313
0.001	0.682	0.641	0.525	0.616
0.01	1.013	0.987	1.119	1.039
0.1	1.16	1.115	1.127	1.134
1	1.221	1.221	1.201	1.214
10	1.239	1.187	1.084	1.170
100	1.38	1.173	1.229	1.261
1000	0.127	0.121	0.127	0.125

ตารางภาคผนวก ก ที่ 4.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากเมล็ดของชงโค

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
Control	1.11	0.972	1.127	1.0696
0.001	0.567	0.707	0.67	0.648
0.01	0.757	0.87	0.643	0.7567
0.1	0.948	1.124	0.246	0.772
1	0.834	0.649	0.825	0.769
10	1.093	0.736	1.069	0.966
100	1.109	0.979	1.234	1.1073
1000	0.098	0.098	0.097	0.0976

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ฉ ที่ 4.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ของสารสกัด  
หยาดจากเปลือกของชงโค

ความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร			
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
Control	0.88	0.759	0.791	0.81
0.001	0.81	1.076	0.859	0.826
0.01	1.035	1.166	1.219	1.14
0.1	1.193	1.279	0.756	1.076
1	0.921	0.908	0.98	0.936
10	0.787	0.989	1.004	0.9266
100	0.966	1.015	0.825	0.935
1000	0.0564	0.552	0.527	0.5476

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้