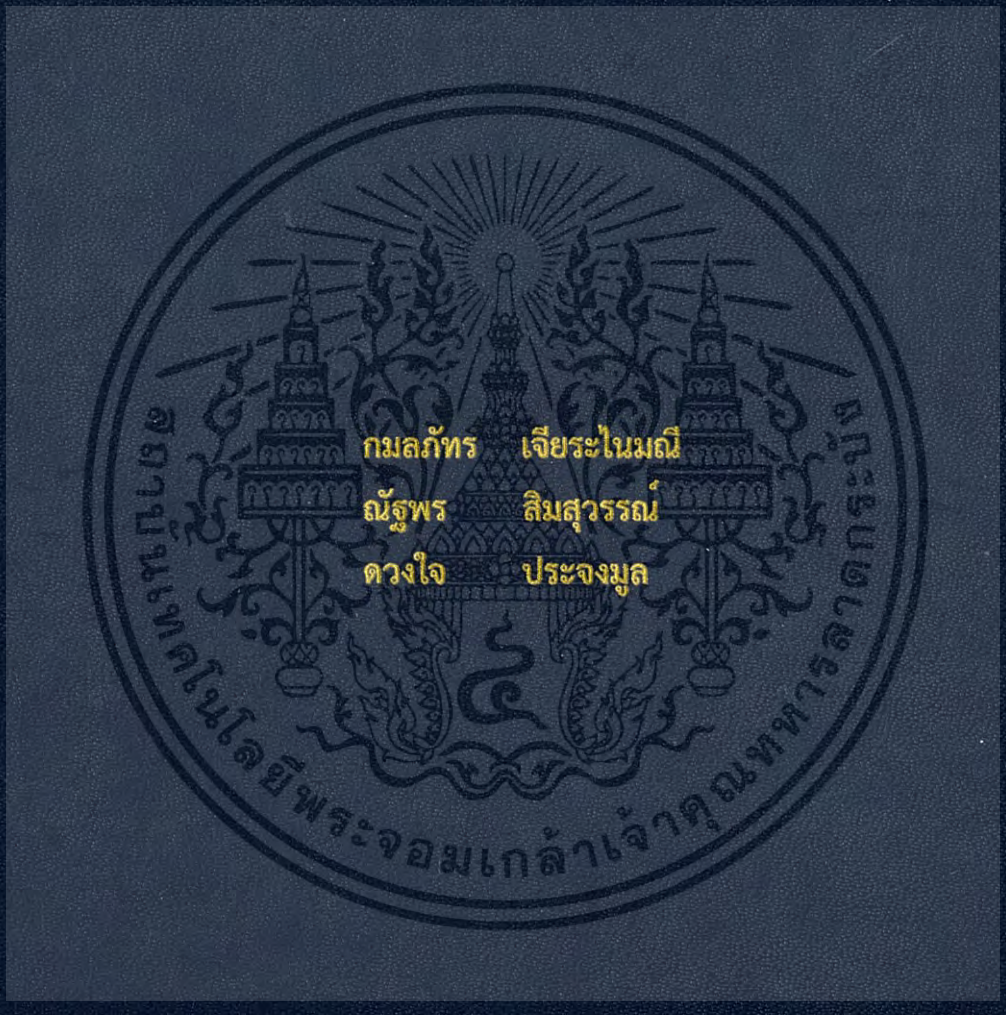
การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรีย การต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดไมยราบยักษ์

Antibacterial, antioxidant and cytotoxic activity Of *Mimosa pigra* Linn.



กมลภัทร เจียระไนมณี
ณัฐพร สิมสุวรรณ์
ดวงใจ ประจงมูล

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2557

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรีย การต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดไมยราบยักษ์

Antibacterial, antioxidant and cytotoxic activity of *Mimosa pigra* Linn.

T142289

กมลภัทร เจียระไนมณี
ณัฐพร สิมสุวรรณ์
ดวงใจ ประจงมูล

วพ.
ว 1360
2557
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....142289
วัน,เดือน,ปี.29 เม.ย. 2558
b.12770279
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIBACTERIAL, ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF *Mimosa pigra* Linn.

KAMOLPAT JEARANAIMANEE
NATTHAPORN SIMSUWAN
DUANGJAIPRA JONEMOON

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN INDUSTRAL MICROBIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEME YEAR 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรีย, การต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดไมยราบยักษ์ Antibacterial, Antioxidant and Cytotoxic Activities of *Mimosa pigra* Linn.
ชื่อนักศึกษา	นายกมลภัทร เจียระไนมณี รหัสนักศึกษา 54051153 นางสาวณัฐพร สิมสุวรรณ์ รหัสนักศึกษา 54051193 นางสาวดวงใจ ประจงมูล รหัสนักศึกษา 54051199
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา	2557
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2557

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

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรีย การต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดไมยราบยักษ์ Antibacterial, antioxidant and cytotoxic activity of *Mimosa pigra* Linn.
ชื่อนักศึกษา	นายกมลภัทร เจียระไนมณี 54051153 นางสาวณัฐพร สิมสุวรรณ์ 54051193 นางสาวดวงใจ ประจงมูล 54051199
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา	2557
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรีย, การต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดไมยราบยักษ์ในส่วนของ ใบ กิ่งต้น และราก ที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 และในการวิเคราะห์สารพฤกษเคมี พบว่าสารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สูงที่สุดคือสารสกัดหยาบจากใบ โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1,251.53 รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากราก และกิ่งต้น มีปริมาณเท่ากับ 722.83 และ 423.69 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 262.35 รองลงมาคือสารสกัดจากรากและกิ่งต้น มีปริมาณเท่ากับ 221.18 และ 198.82 มิลลิกรัมควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ ส่วนการทดสอบหาสารประกอบแทนนินทั้งหมดที่มีปริมาณสูงที่สุดคือสารสกัดหยาบจากราก โดยมีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 151.08 รองลงมาคือสารสกัดจากใบ และกิ่งต้น มีปริมาณเท่ากับ 70.41 และ 5.36 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ สำหรับการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดหยาบจากราก มีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุดเมื่อเทียบกับสารสกัดหยาบจากส่วนอื่นคือ ร้อยละ76.69 รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากกิ่งต้นและใบ เท่ากับร้อยละ 75.26 และร้อยละ 72.24 ตามลำดับนอกจากนี้การนำสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของพืชมาศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ได้แก่ *Escherichia coli* TISTR780, *Bacillus cereus* TTISTR687, *Staphylococcus aureus* TTISTR1466, *Salmonella thyphimurium* TTISTR292,และ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR781 โดยใช้วิธี Agar well diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากรากมีฤทธิ์ในการยังยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 2 ชนิด คือ *B. cereus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TTISTR 687 และ *S. aureus* TTISTR 1466 ส่วนสารสกัดหยาบจากกิ่งต้น มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ 1 ชนิดคือ *B. cereus* และเมื่อนำไปหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธีการเจือจางในอาหารแข็งพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เกิดบริเวณยับยั้งเท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์เท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก(Hela) ด้วยวิธี MTT ของสารสกัดพบว่าความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการทดสอบ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดทั้งสามแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งโดยค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งสูงสุดของสารสกัดรากใบ และกิ่งต้น มีค่าเท่ากับ 87.27 63.66 และ 46.64 ตามลำดับ

คำสำคัญ : การต้านอนุมูลอิสระ, คุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรีย, ความเป็นพิษต่อเซลล์, ไมยราบยักษ์, สารพฤกษเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antibacterial, antioxidant and cytotoxic activity of *Mimosa pigra* Linn.		
Student	Kamolpat	Jearanaimanee	54051153
	Natthaporn	Simsuwan	54051193
	Duangjai	Prajongmoon	54051199
Degree	Bachelor of Science		
Major Program	Industrial microbiology		
Academic Year	2557		
Advisor	Dr.Suttijit	Sriwatcharakul	

Abstract

The study on antibacterial, antioxidant and cytotoxicity activity of *Mimosa pigra* crude extract. The leave, stem and root are extracted with 95 percent ethanol. Phytochemical analysis, found that leave extracts containing the highest total phenolic compounds and flavonoid content 1,251.53 mgGAE/g extract and 262.35 mgQE/g extract respectively in total. The high volume is extracted of leaves at 1,251.53, followed by extract of roots and stem of the volume of 722.83 and 423.69 mg GAE/g extract respectively. Regarding Tannin assay, high volume is extracted from the roots at 151.08, followed by the extract from the leaves and stem at 70.41 and 5.36 mgTAE/g extract respectively. High flavonoid obtained from leave extract at 262.35, followed by the extract of the roots and stem at 221.18 and 198.82 mgQE/g extract respectively. Antioxidants activity by DPPH found that extracts of root showed the highest antioxidant activity at 76.69 percent, followed by extracts of stem and leaves at 75.26 and 72.24 percent respectively. Besides this, the extracts from various parts of *Mimosa pigra* to study against five species bacteria, i.e. *Escherichia coli* TISTR780, *Bacillus cereus* TTISTR687, *Staphylococcus aureus* TTISTR1466, *Salmonella thyphimurium* TTISTR292, and *Pseudomonas aeruginosa* TISTR781 by agar well diffusion method found out that extracts of root inhibited of two types of bacteria are *B. cereus* TTISTR 687 and *S. aureus* TTISTR 1466, and extracts of stem inhibited of one bacteria is *B. cereus*. Minimum inhibition concentration (MIC) showed result at 25 mg/ml. Tested the toxicity of cervical cancer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cells (Hela) by MTT method using the maximum concentration 1,000 µg/ml. all three extracts showed toxicity against cancer cells by extracts of roots of 87.27 percent, extracts of leaves of 63.66 percent and extracts of stem of 46.64 percent.

Keywords : antioxidant, antibacterial activity, cytotoxicity, *Mimosa pigra* Phytochemical

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา ซึ่งเป็นผู้จัดทำโครงงานพิเศษขอกราบขอบพระคุณ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ที่ให้คำแนะนำตลอดจนได้ทำการถ่ายทอดความรู้และให้ความช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษ ด้วยความเอาใจใส่ตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล และ ผศ.ลินจง สุขลำภู กรรมการสอบโครงงานพิเศษรวมทั้งให้คำแนะนำ ตรวจสอบ และชี้แนะการแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมืออุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งสถานที่ในการปฏิบัติงานวิจัยและอำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงาน

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ที่ให้การสนับสนุนในการขอซื้อเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อนำมาใช้ในการปฏิบัติงานวิจัยของโครงงานพิเศษฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาของผู้จัดทำที่เป็นกำลังใจ และให้คำปรึกษาในการทำโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนและพี่ๆ ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่อง ให้ข้อคิดเห็น กำลังใจและมิตรภาพที่ดีตลอดมา

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้ คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจหรือผู้ที่ต้องการค้นคว้าและศึกษาในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้ไม่มากก็น้อย

นายกมลภัทร เจียระไนมณี
นางสาวณัฐพร สิมสุวรรณ์
นางสาวดวงใจ ประจงมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญรูป	ฏ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	
2.1 ไมยราบยักษ์	3
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	3
2.1.2 สรรพคุณของไมยราบยักษ์	5
2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร	6
2.2.1 น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย	6
2.2.2 การเลือกน้ำยาสกัด	7
2.2.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้น	8
2.2.3.1 การระเหย	8
2.2.3.2 การกลั่นในภาวะสุญญากาศ	8
2.2.3.3 การทำให้แห้ง	9
2.2.3.4 อัลตราฟิวเทชั่น	9
2.3 สารอนุมูลอิสระ	
2.3.1 ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.3.1.1 Initiation step	10
2.3.1.2 Propagation step	10
2.3.1.3 Termination step	10
2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ	10
2.4.1 วิตามินอี หรือ แอลฟา-โทโคฟีรอล	11
2.4.2 วิตามินเอ	11
2.4.3 ซิลิเนียม	11
2.4.4 ฟลาโวนอยด์	11
2.4.4.1 สารฟลาโวนอยด์ที่พบในพืช	11
2.4.4.2 การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH	12
2.5 สารสำคัญในพืชสมุนไพร	12
2.5.1 แอลคาลอยด์	12
2.5.2 ไกลโคไซด์	12
2.5.3 แทนนิน	13
2.5.4 เทอร์พีนอยด์	13
2.5.5 ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์	13
2.6 เชื้อจุลินทรีย์	14
2.6.1 *Escherichia coli*	14
2.6.2 *Bacillus cereus*	16
2.6.3 *Pseudomonas aeruginosa*	17
2.6.4 *Staphylococcus aureus*	18
2.6.5 *Salmonella typhimurium*	20
2.6.6 กลไกการออกฤทธิ์ของสารพฤกษเคมีต่อคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์	20
2.6.6.1 สารออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์	21
2.6.6.2 สารออกฤทธิ์ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.6.6.3 สารออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน 21
2.6.6.4 สารออกฤทธิ์ต่อกรดนิวคลีอิก 21
2.6.6.5 สารออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์สารเมตาโบไลท์ 22
2.7 มะเร็ง 22
2.7.1 มะเร็งปากมดลูก 22
2.8 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 23

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์ 26
3.1.1 วัตถุดิบในการทดลอง 26
3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง 26
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง 26
3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 26
3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง 27
3.2 วิธีการทดลอง 28
3.2.1 การเตรียมตัวอย่างพืชแห้ง 28
3.2.2 การสกัดสารสกัดหยาบและการทำสารสกัดหยาบให้เข้มข้น 28
3.2.3 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญ 28
ของแบคทีเรียก่อโรคด้วยวิธี Well diffusion
3.2.3.1 การเตรียมจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ 28
3.2.3.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของ 29
สารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของ
ไมยราบยักษ์ด้วยวิธีAgar Well diffusion
3.2.3.3 การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของ 29
สารสกัดหยาบไมยราบยักษ์ในการยับยั้ง
การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีเจือจางในอาหารแข็ง
3.2.3.4 การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุด 30
ของสารสกัดหยาบจากไมยราบยักษ์ในการ
ทำลายเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.4 การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH	30
3.2.5 การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Follin-Ciocalteu Reagent	31
3.2.6 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด	32
3.2.7 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	32
3.2.8 การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) โดยวิธี MTT	33
3.2.8.1 การเตรียมสารตัวอย่าง	33
3.2.8.2 การเตรียมสารละลายในการทดสอบ	33
3.2.8.3 การวางแผนการทดสอบ	33
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	
4.1 สารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้ในการทดลอง	35
4.2 สมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบไมยราบยักษ์	35
4.2.1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TTISTR 687 ของสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์	36
4.2.2 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TTISTR 1466 ของสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์	37
4.2.3 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780, *Salmonella typhimurium* TTISTR 292, และ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 ของสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์	39
4.2.4 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ในการยับยั้ง การเจริญและการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีเจือจางในอาหารแข็ง	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 สมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) โดยวิธี MTT	42
4.4 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบไมยราบยักษ์	44
4.4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบไมยราบยักษ์	44
4.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบไมยราบยักษ์	46
4.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบไมยราบยักษ์	46
4.4.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH	47
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการทดลอง	50
5.2 ข้อเสนอแนะ	51
เอกสารอ้างอิง	53
ภาคผนวก ก	57
ภาคผนวก ข	58
ภาคผนวก ค	60
ภาคผนวก ง	72
ภาคผนวก จ	78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบ 36
ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* TTISTR 687

ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบ 38
มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ S. *aureus* TTISTR 1466

ตารางที่ 4.3 สมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ 42
ของสารสกัดหยาบจาก กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์
ที่ความเข้มข้นต่ำสุดด้วยวิธีเจือจางในอาหารแข็ง

ตารางที่ 4.4 แสดงร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบใบ 42
กิ่งต้น และรากไมยราบยักษ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 4.5 ค่า CC_{50}ของความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกของ 43
สารสกัดหยาบจาก ใบ กิ่งต้น และ รากของไมยราบยักษ์

ตารางที่ 4.6 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ 45
กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

ตารางที่ 4.7 แสดงปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ 46
กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

ตารางที่ 4.8 แสดงปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ 47
กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

ตารางที่ 4.9 ร้อยละการลดลงของอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากใบ 48
กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์และวิตามินอี

ตารางที่ 4.10 ค่า IC_{50} ของการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากใบ 49
กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 ต้นไมยราบยักษ์	3
รูปที่ 2.2 ใบไมยราบยักษ์	4
รูปที่ 2.3 ดอกไมยราบยักษ์	4
รูปที่ 2.4 ผลแห้งไมยราบยักษ์	5
รูปที่ 2.5 *Escherichia coli*	14
รูปที่ 2.6 *Bacillus cereus*	16
รูปที่ 2.7 *Pseudomonas aeruginosa*	17
รูปที่ 2.8 *Staphylococcus aureus*	18
รูปที่ 2.9 *Salmonella typhimurium*	20
รูปที่ 4.1 แสดงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* TTISTR 687 ของสารสกัดหยาบจากไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	37
รูปที่ 4.2 แสดงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* TTISTR 1466 ของสารสกัดหยาบจากไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	39
รูปที่ 4.3 แสดงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* TISTR 780 *S. typhimurium* TTISTR 292 และ *P. aeruginosa* TISTR 781 ของสารสกัดหยาบจากไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	41
รูปที่ 4.4 แสดงกิจกรรมความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ของสารสกัดหยาบจากไมยราบยักษ์	43
รูปที่ 4.5 กราฟแสดงกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากไมยราบยักษ์	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ปัจจุบันมีการแพร่ระบาดของไมยราบยักษ์อยู่ทั่วทุกภาคของประเทศไทยเพราะสภาพทั่วไปของประเทศไทยนั้นเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชชนิดนี้ประกอบกับไมยราบยักษ์นั้นมีความสามารถที่จะปรับตัวให้ดำรงชีวิตอยู่ในดินแทบทุกชนิดทำให้การขยายตัวเกิดขึ้นได้รวดเร็วมากจึงสามารถพบเห็นได้ทั่วไปเช่น ภูเขา ถนน แม่น้ำ ลำคลอง ไร่นาและที่ว่างเปล่าทั่วไป ไมยราบยักษ์มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Mimosa pigra* Linn. เป็นไม้พุ่มยืนต้นขนาดกลาง ถิ่นกำเนิดของไมยราบยักษ์นั้นอยู่ที่ประเทศแถบอเมริกากลางและทางตอนเหนือของทวีปอเมริกาใต้ ไมยราบยักษ์เป็นวัชพืชชนิดพันธุ์ต่างถิ่นหรือ alien species ไมยราบยักษ์นั้นเป็นวัชพืชที่กำจัดได้ยากต้องใช้สารเคมีในการกำจัด ดังนั้นการนำไมยราบยักษ์ซึ่งเป็นวัชพืชไปใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคต่างๆนั้นเป็นอีกทางเลือกที่ทำให้เราสามารถกำจัดไมยราบยักษ์โดยไม่กระทบต่อสิ่งแวดล้อม ในประเทศไทยนั้นไมยราบยักษ์จัดเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่มีประโยชน์ ในการรักษาโรคต่างๆ และเป็นส่วนผสมของยาแผนโบราณหลายตำหรับ เช่น ใช้ไมยราบยักษ์ (ตลอดต้นจนถึงราก) มาต้มดื่มเป็นยาแก้ไอ แก้แผลในกระเพาะอาหารและรักษาโรคเบาหวาน (แก้ว, 2553) และในประเทศต่างๆก็มีการใช้ไมยราบยักษ์เป็นยาแผนโบราณเช่นในประเทศบังคลาเทศมีการใช้ไมยราบยักษ์เป็นยาแผนโบราณ ในการระงับอาการปวดและใช้รักษาโรคเบาหวาน (Tasnuva A และคณะ, 2012) ประเทศเม็กซิโกชนเผ่ามายันใช้ไมยราบยักษ์ในการรักษาอาการท้องร่วงโดยการนำไมยราบยักษ์ในแช่น้ำแล้วนำไปดื่ม นอกจากนี้ยังมีการใช้สารสกัดจากไมยราบยักษ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เช่นเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa, Salmonella thypimurium, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis* และเชื้อยีสต์ *Candida albicans* และมีการตรวจพบสารพฤกษเคมี อาทิ เช่น สารฟลาโวนอยด์ ควิโนน ซาโปนิน แทนนิน และ สเตียรอยด์ ในสารสกัดไมยราบยักษ์(Rosado-valladoและคณะ, 2000) จากคุณสมบัติของไมยราบยักษ์ที่ได้กล่าวไว้ข้างต้นทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดของไมยราบยักษ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก รวมถึงการวิเคราะห์ชนิดของสารชีวภาพบางชนิดในสารสกัดที่ได้จากไมยราบยักษ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณของสารสกัดที่ได้จากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

1.2.2 ศึกษาการยับยั้งการเจริญและฤทธิ์ในการทำลายของแบคทีเรีย (antibacterial activity) จากสารสกัดจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

1.2.3 ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) จากสารสกัดจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

1.2.4 ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกจากสารสกัดจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ คือ *Escherichia coli* TISTR 780, *Bacillus cereus* TTISTR 687, *Staphylococcus aureus* TTISTR 1466, *Salmonella thyphimurium* TTISTR292, และ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 รวมทั้งศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกของสารสกัดเอทานอลจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 วิเคราะห์ชนิดของสารบางชนิดที่มีในสารสกัดที่ได้จากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

1.4.2 ทราบถึงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

1.4.3 ทราบถึงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

1.4.4 สามารถทดสอบความเป็นพิษของเซลล์มะเร็งปากมดลูกของสารสกัดจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ไมยราบยักษ์

รูปที่ 2.1 ต้นไมยราบยักษ์
ที่มา :(ดวงใจ, 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์ :: *Mimosa pigra* Linn.
ชื่อวงศ์ : MIMOSACEAE
ชื่อพื้นบ้าน : กระทืบยอด หนามหญ้าราบ (จันทบุรี), กระหงับ (ภาคใต้) ก้านทอง (นครศรีธรรมราช), นาหมื่อม้ะ (แม่ฮ่องสอน) ไมยราบระงับ (ภาคกลาง) ,หญ้าจิยอบ หญ้าปันยอด (ภาคเหนือ) , ห่ำชิวเช่า , ไจชิวเช่า (จีน) (แก้ว, 2553)

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ (จักรพันธุ์, 2545)

ไมยราบยักษ์เป็นไม้พุ่มยืนต้นขนาดกลางต้นสูงประมาณ 5 เมตรลักษณะลำต้นใบและดอกคล้ายต้นกระถินต่างกันที่ไมยราบยักษ์มีดอกสีชมพูปนม่วงและมีหนามแหลมคมทั้งที่ใบและลำต้น ต้นอ่อนมีสีเขียวจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่ออายุมากขึ้น มีหนามตามผิวลำต้น เนื้อไม้ค่อนข้างแข็งเหนียว

ใบ เป็นแบบ bipinateมี 2 ชั้น ชั้นแรก (pinna) ยาวประมาณ 2.5 ถึง 6.25 เซนติเมตรมีประมาณ 6 ถึง 16 คู่ ก้านใบยาว 0.3 ถึง 1.5 เซนติเมตร มีหูใบเล็ก 1 คู่สีน้ำตาล ใบชั้นที่สองมีก้านใบยาวประมาณ 3.5 ถึง12.0 เซนติเมตร มีใบย่อยเล็ก (pinnule) ประมาณ 20 ถึง 24 คู่ รูปร่างลักษณะของใบเป็น linear-oblong มีความยาว 3 ถึง 12.5 มิลลิเมตร กว้าง 0.5 ถึง 12.5 มิลลิเมตร เส้นใบแยกขนานกับเส้นกลางใบ ขอบใบมีขนสีเหลืองอ่อนๆเรียงอยู่ห่างๆ บนก้านใบใหญ่ที่เป็นช่วงอยู่ระหว่างก้านใบย่อยของแต่ละใบ (rachis) และระหว่างคู่ใบย่อยในชั้นแรกจะมีหนามแหลมในแนวตั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และหนามแหลมเล็กๆในแนวนอนระหว่างช่วงของใบย่อยชั้นแรกช่วงละ 2 อัน โดยใบของต้นไมยราบยักษ์มีคุณสมบัติหุบเมื่อโดนสัมผัส ตามกิ่งของลำต้นจะมีหนามเล็กๆขึ้นประปราย

รูปที่ 2.2 ใบไมยราบยักษ์
ที่มา: (ดวงใจ, 2557)

ดอก เป็นดอกสมบูรณ์เพศ ออกเป็นช่อเป็นกระจุกกลม ลักษณะของดอกคล้ายดอกกระถิน เส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ถึง 2 เซนติเมตร ประกอบด้วยดอกย่อยประมาณ 100 ดอก แต่ละดอกย่อยมีกลีบดอกและกลีบเลี้ยงอย่างละ 4 กลีบ กลีบเลี้ยงมีขนาดเล็กยาวประมาณ 0.75 ถึง 1.0 มิลลิเมตร กลีบดอกยาวประมาณ 2.5 ถึง 3.0 มิลลิเมตร เกสรตัวผู้มี 8 ถึง10 อัน สั้น 4 อัน ยาว 4 อัน ก้านชูอับเรณูมีสีชมพู กระเปาะหุ้มอับเรณูมีสีเหลืองกระเปาะนี้จะแตกออกตามยาวเมื่อเรณูสุก เกสรตัวเมียมี 1 อันส่วนรังไข่อยู่เหนือกลีบดอกและเกสรตัวผู้ (hypogenous) รูปร่างยาว ภายในมีไข่อ่อนเรียงอยู่เป็นแถวประมาณ 16 ถึง24 ใบ ไข่อ่อนยึดติดผนังรังไข่

รูปที่ 2.3 ดอกไมยราบยักษ์
ที่มา:http://www.lrm.nt.gov.au/weeds/find/mimosa#U_jB-aMgSZQ(10ตุลาคม2557)

ผล เป็นผลเดี่ยวชนิดแห้ง มีลักษณะเป็นฝักยาวประมาณ 3.5 ถึง 7.5 เซนติเมตร กว้าง 1.0 ถึง 1.2 เซนติเมตร มีขนยาวปกคลุมแต่ละฝักจะมีเมล็ด 10 ถึง 25 เมล็ด ขึ้นอยู่กับขนาดของฝัก ฝักอ่อนขณะเจริญจะมีสีเขียวอ่อน เมื่อแก่หรือสุกแล้วจะแห้งกลายเป็นสีดำและแตกตามขวางเป็นส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่ละส่วนจะยาวประมาณ 3 ถึง4 มิลลิเมตร ในแต่ละส่วนจะมีเมล็ดอยู่ 1 เมล็ด การหลุดออกของแต่ละส่วนนั้นอาจจะเป็นไปในขณะที่โครงของฝักยังติดอยู่กับต้นระยะหนึ่ง

รูป 2.4 ผลแห้งไมยราบยักษ์
ที่มา : (ดวงใจ, 2557)

เมล็ด ขณะที่อ่อนมีสีเขียวเปลือกเป็นมัน พอแก่จะมีสีเขียวปนน้ำตาล เมล็ดมีความยาวประมาณ 0.4 ถึง 0.6 เซนติเมตร กว้าง 0.2 ถึง 0.3 เซนติเมตร รูปร่างของเมล็ดด้านหนึ่งจะแหลมรี มี hilum ผิวเมล็ดเป็นมันและค่อนข้างแข็ง

ราก เป็นพืชยืนต้นมีระบบรากแก้ว ในต้นไมยราบยักษ์ที่สูง 2 ถึง 3 เซนติเมตร จะมีรากแก้วยาว 2 ถึง4 เท่าของความสูง ส่วนต้นที่สูง ประมาณ 3 ถึง 5 เมตรพบรากแก้วยาว 1 ถึง 2 เมตร และพบปมรากที่บริเวณรากฝอยและพบในดินทรายมากกว่าดินร่วน

รูปแบบของขยายพันธุ์ ไมยราบยักษ์จะเริ่มออกดอกภายใน 6 ถึง 8 เดือนหลังจากที่งอกดอกตูมจะใช้เวลาในการเจริญเติบโตให้เต็มที่ประมาณ 7 ถึง 9 วันเริ่มนับจากวันที่เริ่มมีการผลิดอกและจะพัฒนาเป็นฝักที่โตเต็มที่ประมาณ 25 วันหรือมากกว่านั้น หลังจากที่ดอกได้โตเต็มที่แล้วโดยจะได้เมล็ดมากสุดในช่วงระหว่างปลายฤดูฝนและต้นฤดูแล้ง ผลผลิตเมล็ดพันธุ์ที่ได้จะอยู่ระหว่าง 40000-50000 เมล็ดต่อปี

2.1.2 สรรพคุณของไมยราบยักษ์

ไมยราบยักษ์จัดเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่มีประโยชน์ ในการรักษาโรคต่างๆ คือ แก้ไอ ขับเสมหะ แก้หลอดลมอักเสบเรื้อรัง ระงับประสาท แก้บิด ขับปัสสาวะ แก้ทางเดินปัสสาวะอักเสบ รักษาอาการ ปวดเวลามีประจำเดือน ขับระดูขาว แก้ไตพิการ ขับโลหิต แก้ปวดบวม แผลฝีหนอง แก้หัด และผื่นคัน (วุฒิธรรมเวช, 2540) โดยจะใช้รากต้นไมยราบสดประมาณ 1 กำมือ ล้างให้สะอาด แล้วนำมาต้มกับน้ำ 3 ถ้วย เคี่ยวให้เหลือ 1 ถ้วยครึ่งเอาแต่น้ำมาดื่ม รสขมเล็กน้อยฝาดเป็นยาแก้ไอ ขับเสมหะ แก้หลอดลมอักเสบเรื้อรัง และแก้กระเพาะอาหารอักเสบเรื้อรัง ใช้ทั้งต้น (ตลอดต้นจนถึงราก) นำมาล้างให้สะอาดและสับเป็นชิ้น ตากแดดให้แห้ง คั่วไฟให้สุกเหลืองใช้ชงกับน้ำร้อนดื่มเป็นชาเป็นยาแก้ไอ แก้อาการนอนไม่หลับ แก้โรคหัวใจสั่น แก้แผลในกระเพาะอาหาร หรือ ลำไส้อักเสบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และรักษาโรคเบาหวาน (แก้ว, 2553) หรือนำรากไมยราบและต้นฟันจักรศรี (ต้นครอบจักรวาล) นำมาสับเป็นท่อนๆแล้วนำไปคั่วไฟให้เหลืองเก็บใส่โหลไว้เวลาใช้นำออกมาทีละ 1 กำมือต้มกับน้ำร้อนหรือชงเหมือนชา กินน้ำยาต่างน้ำชา โรคเบาหวานจะค่อยๆหายไป(ลำปาง, 2550)

2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร (รัตนา,2547)

การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปการสกัดเบื้องต้นไม่ว่าจะสกัดด้วยวิธีใดหรือใช้ตัวทำละลายใด ก็จะได้องค์ประกอบเป็นของผสมหรือสารสกัดอย่างหยาบ (crude extract) ซึ่งเป็นสิ่งที่สกัดออกมาจากสมุนไพรโดยใช้น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย (solvent) สารสกัดอย่างหยาบนี้เป็นของผสมขององค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรซึ่งจะมีองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (pharmacologically active constituents) ซึ่งมักเรียกว่าสาระสำคัญ (active constituents) และองค์ประกอบที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (pharmacologically inactive constituents) ซึ่งเรียกว่า สารเฉื่อย (inert substances) ชนิดและสัดส่วนขององค์ประกอบในสารสกัดจะแปรเปลี่ยนไปตามสภาพของสมุนไพรที่ใช้และสภาวะที่ใช้ในการสกัด

วัตถุประสงค์ของการสกัดพืชสมุนไพรคือ

1. เพื่อสกัดแยกเอาสารสำคัญออกจากสมุนไพร
2. เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นของสารสำคัญสูง

2.2.1 น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย

ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการเตรียมสารสกัด ได้แก่ น้ำ (water), แอลกอฮอล์ (alcohol) หรือสารละลายผสมของสารละลายทั้ง 2 ชนิดนี้ นอกจากนี้อาจใช้กรด-ด่าง เติมลงในน้ำยาสกัดเพื่อปรับความเป็นกรด-ด่างของน้ำยาสกัดให้เหมาะสมยิ่งขึ้น ส่วนสารละลายชนิดอื่นๆ เช่น อีเทอร์ (ether) คลอโรฟอร์ม (chloroform) มีใช้บ้างเฉพาะกรณี

น้ำเป็นตัวทำละลายที่ดี หาง่ายและราคาถูก แต่การใช้น้ำอย่างเดียวเป็นตัวทำละลายในการสกัดพืชสมุนไพรมีข้อเสียหลายประการ คือ สามารถละลายองค์ประกอบที่ไม่ต้องการออกมาได้มากเช่นเดียวกับสารสำคัญที่ต้องการ สารเฉื่อยที่ละลายออกมากับน้ำ เช่น น้ำตาล แป้ง ล้วนเป็นอาหารที่ดีของเชื้อจุลินทรีย์ จึงทำให้เกิดการบูดเสียของสารสกัดเนื่องจากจุลินทรีย์ได้ถ้าไม่ใส่สารกันบูด (preservative) นอกจากนี้น้ำระเหยได้ที่อุณหภูมิสูง ถ้าต้องการทำให้สารสกัดในน้ำเข้มข้นจะต้องใช้อุณหภูมิสูงในการระเหยไล่น้ำออกไป ซึ่งอาจจะเกิดความเสียหายกับสารสำคัญได้ ดังนั้นจึงไม่ค่อยนิยมใช้น้ำเดี่ยวๆเป็นน้ำยาสกัด แต่ใช้ร่วมกับตัวทำละลายอื่นๆ เช่น แอลกอฮอล์หรือกรด หากเติมกรดเล็กน้อยลงในน้ำ (acidified water) ใช้สกัดองค์ประกอบสำคัญในพืชสมุนไพรที่มีองค์ประกอบสำคัญเป็นสารประกอบแอลคาลอยด์ ส่วนน้ำที่เติมด่างลงไปเล็กน้อย (alkanised water) จะใช้สกัดพืชสมุนไพรบางชนิด เช่น เปลือกคาสคารา (Cascara bark) เป็นต้นแอลกอฮอล์ จัดเป็นตัวทำละลายที่ดีมากเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำ แอลกอฮอล์ มีข้อดีกว่าดังนี้

1. มีความจำเพาะ (selectivity) ในการละลายมากกว่าน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

3. หากต้องการทำให้สารสกัดเข้มข้นจะระเหยได้ง่าย

4. แต่ราคาของแอลกอฮอล์จะแพงกว่าน้ำ

น้ำยาผสมแอลกอฮอล์ (hydroalcoholic mixture) เป็นน้ำยาสกัดที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากสามารถละลายสารสำคัญในพืชสมุนไพรได้ใกล้เคียงกับแอลกอฮอล์ แต่ราคาถูกกว่า และยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้อีกด้วย นอกจากนี้การใช้น้ำยาผสมแอลกอฮอล์ ยังช่วยป้องกันการแยกตัวของสารต่างๆ ในสารสกัดเมื่อตั้งทิ้งไว้ ซึ่งมักเกิดขึ้นในกรณีที่ใช้น้ำอย่างเดียวในการสกัด

นอกจากน้ำยาสกัดต่างๆ ที่กล่าวมาข้างต้น ตัวทำละลายอินทรีย์ก็อาจใช้ในการสกัดพืชสมุนไพรได้ เช่น เฮกเซน (hexane) และปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) ใช้สกัดพืชสมุนไพรในขั้นต้นเพื่อขจัดสารพวกไขมันออกไปก่อนที่จะทำการสกัดสารสำคัญ แต่ต้องระเหยเอาน้ำยาสกัดเหล่านี้ออกไปจนหมดก่อนทำการสกัดขั้นตอนต่อไป ตัวทำละลายเหล่านี้นิยมใช้สกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้ว (non polar component) เช่น ไขมัน (lipid) สเตียรอยด์ (steroids) เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) เป็นต้น

คลอโรฟอร์ม (chloroform) และอีเทอร์ (ether) จัดเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลางใช้สกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้ว (non-polar omponent) ไปจนถึงสารที่มีขั้วปานกลาง

เมทานอล (methanol) เป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญที่มีขั้ว (polar active constituent) เช่นเดียวกับแอลกอฮอล์ แต่นิยมใช้แอลกอฮอล์มากกว่า เพราะราคาถูกกว่าและมีความเป็นพิษน้อย

2.2.2 การเลือกน้ำยาสกัด

หลังจากทำการเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพรสำหรับการสกัดแล้วควรเลือกน้ำยาสกัดให้เหมาะสมกับชนิดของสารที่ต้องการสกัด โดยน้ำยาสกัดดังกล่าวควรมีคุณสมบัติดังนี้

1. มีความสามารถในการละลายสารสำคัญมากที่สุดและไม่ละลายหรือละลายองค์ประกอบอื่นๆได้น้อย (selectivity) เนื่องจากสารสำคัญส่วนใหญ่เป็นสารประกอบอินทรีย์ ซึ่งอาจมีโครงสร้างสลับซับซ้อนมากน้อยแตกต่างกันและมีอยู่ในพืชทั้งในสภาพอิสระและรวมตัวกับสารอื่นๆ ในสภาพเกลือหรือสารประกอบเชิงซ้อน ดังนั้นควรพิจารณาถึงสภาพหรือรูปแบบของสารสำคัญที่ต้องการสกัดนอกเหนือจากความมีขั้วของสารสกัดดังกล่าว ในการเลือกน้ำยาสกัดมีกฎทั่วไปว่าสิ่งที่เหมือนกันย่อมละลายในกันและกัน (like dissolve like) เช่น คุณสมบัติของสารละลายสำคัญมีขั้ว ก็ควรเลือกตัวทำละลายหรือน้ำยาสกัดที่มีขั้วเช่นเดียวกันในการสกัด

2. มีความคงตัวดี และหาง่าย ราคาถูก ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป

4. สภาพของพืชสมุนไพรที่ทำการสกัด เช่น เมล็ด เป็นส่วนที่มีไขมันอยู่มาก ควรขจัดไขมันพวกนี้ออกก่อนโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ประเภทไม่มีขั้วเช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์ เป็นต้น แล้วจึงนำกากพืชที่เหลือไปสกัดต่อด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม

2.2.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้น (concentration)

สารสกัดหยาบที่ได้จะมีปริมาตรมากและเจือจาง ทำให้นำไปแยกองค์ประกอบได้ไม่สะดวก และไม่มีประสิทธิภาพจึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นก่อนโดยวิธีต่างๆดังนี้

2.2.3.1 การระเหย (Free evaporation)

เป็นการนำตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (water bath) หรือแผ่นความร้อน (hot plate) วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้ เนื่องจากอุณหภูมิสูงเกินไปและหากใช้สารอินทรีย์ในการสกัด การระเหยโดยให้ความร้อนโดยตรง บนแผ่นความร้อนอาจเกิดอันตรายได้ง่าย

2.2.3.2 การกลั่นในภาวะสุญญากาศ (Distillation in vacuum)

จัดว่าเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัด โดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ พร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) เครื่องมือนี้เรียกว่าเครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) ซึ่งประกอบไปด้วยส่วนต่างๆ 3 ส่วน คือภาชนะบรรจุสารสกัดหยาบที่กลั่น (distillation flask) ส่วนคอนเดนเซอร์หรือตัวควบแน่นไอสารละลาย (condenser) และภาชนะรองรับสารละลายหลังกลั่น (receiving flask) โดยสารสกัดหยาบซึ่งบรรจุในภาชนะจะแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิได้และจะหมุนตลอดเวลาที่ทำงานเพื่อให้มีการกระจายความร้อนอย่างทั่วถึง ภาชนะบรรจุสารสกัดหยาบนี้จะต่อเข้ากับส่วนควบแน่น ซึ่งมีระบบทำความเย็นอยู่ตลอดเวลา ปลายของส่วนควบแน่นจะมีภาชนะรองรับ โดยทั้งระบบจะต่อเข้ากับระบบสุญญากาศ สารละลายที่ระเหยออกจากภาชนะบรรจุจะควบแน่นที่บริเวณคอนเดนเซอร์และหยดลงมาในภาชนะรองรับสารละลายหลังกลั่นซึ่งสารละลายดังกล่าวสามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์และนำกลับมาใช้ใหม่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3.3 การทำให้แห้ง (drying)

เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดจนแห้งได้สารสกัดออกมาในสภาพของแข็งหรือกึ่งของแข็ง มีหลายวิธี เช่นการใช้ความเย็น (lyophilizerหรือ freeze dryer) หรือการใช้ความร้อน (spray dryer)

2.2.3.4 อัลตราฟิวเทชั่น (ultrafiltration)

เป็นการนำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (membrane) ใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 5000

2.3 สารอนุมูลอิสระ (Halliwell, 1999)

อนุมูลอิสระ คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่ อยู่ในวงอิเล็กตรอนวงนอกสุด (out orbital) เนื่องจากการมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยว (unpaired electron) อยู่ในวงโคจรของโมเลกุล ทำให้ไม่เสถียร ทำให้อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก โดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดมาใหม่นี้จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ต่อกันไปเรื่อยๆโดยที่อนุมูลอิสระก็มีสมบัติเหมือนสารทั่วๆไปตรงที่ความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และความชื้น เป็นต้น

อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสภาวะที่เป็นกลางทางไฟฟ้า และอนุมูลในสภาวะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีทั้งประจุบวกและประจุลบ สัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูลอิสระ คือ อิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระจะแสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี เช่น อนุมูล $R^{\cdot}$ แทนอะตอมหรือโมเลกุลของอนุมูลอิสระที่ไม่จำเพาะเจาะจง ซึ่งอนุมูลอิสระมีทั้งที่เป็นประจุบวก ($R^{+\cdot}$) เช่น อนุมูล pyridinyl ($NAD^{+\cdot}$)และประจุลบ ($R^{-\cdot}$) เช่น อนุมูล superoxide ($O_2^{+\cdot}$) หรือเป็นกลางเช่น อนุมูลperoxyl ($ROO^{\cdot}$) หรืออนุมูล thiyl ($RS^{\cdot}$) เป็นต้น ซึ่งจากคำจำกัดความนี้ส่งผลให้อะตอมของธาตุและสารละลายหลายชนิดถูกจัดเป็นอนุมูลอิสระด้วย เช่น คลอรีนอะตอม ($Cl^{\cdot}$) และซิลเวอร์อะตอม ($Ag^{\cdot}$) เป็นต้น อนุมูลอิสระที่มีความสำคัญในทางชีวภาพ ได้แก่ Hydroxyl radical ($HO^{\cdot}$) Superoxide ($O_2^{-\cdot}$) เป็นต้น อนุมูลเหล่านี้จัดเป็นอนุมูลที่ไวในการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ (โอภา, 2549)

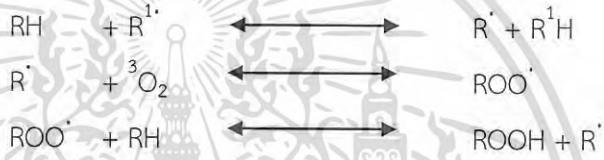
ปฏิกิริยาการเกิดอนูมูลอิสระจัดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ ซึ่งมีกลไกในการเกิดปฏิกิริยา 3ขั้นตอนคือ

2.3.1.1 Initiation step

เป็นระยะที่กรดไขมันแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระโดยมีแสง อุณหภูมิ เป็นตัวเร่งดังสมการ

2.3.1.2 Propagation step

เป็นระยะที่อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยา โดยเกิดปฏิกิริยาขึ้น 2 ทาง คือ โดยการดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกลุข้างเคียง หรือโดยการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเจนที่อยู่ในสถานะ ground state ทำให้ได้อนุมูลอิสระตัวใหม่ ดังสมการ



2.3.1.3 Termination step

เป็นระยะที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น 2 อนุมูลมารวมกันได้เป็นสารที่มีความเสถียร จึงเป็นการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ ดังสมการ

อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้องต่างๆในทางชีววิทยาที่สามารถเป็นตัวตั้งต้นที่ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระได้อีกหลายชนิด สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (Reactive oxygen species, ROS) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (Reactive nitro species, RNS) และกลุ่มที่มีคลอรีนเป็นองค์ประกอบสำคัญ (Reactive chlorine species,RCS) สารบางชนิดสามารถจัดอยู่ได้ 2 กลุ่ม เช่น เปอร์ออกซีไนไตรท์ (Peroxynitrite)

2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

ร่างกายมีการป้องกันสภาวะการสะสมของสารอนุมูลอิสระอยู่ 2 ส่วนด้วยกัน คือ ส่วนแรกนั้นเกิดจากการที่ร่างกายมีการสร้างเอนไซม์หรือกลไกลช เช่น เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant enzymes) ขึ้นมาควบคุมอนุมูลอิสระให้อยู่ในปริมาณที่สมดุล เพราะอนุมูลอิสระเหล่านี้มีหน้าที่ช่วยทำลายสิ่งแปลกปลอม ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อร่างกายเช่นกัน แต่เมื่อใดที่ร่างกายได้รับสารพิษจากภายนอกมาก เช่น การสูบบุหรี่ สัมผัสกับแสงแดดจ้า หรือเลือกรับประทานอาหารที่มีน้ำมัน อาหารปิ้งย่าง เผาไหม้เกรียม ฯลฯ จะส่งผลให้ระบบที่ควบคุมสารพิษในร่างกายทำงานได้น้อยลง สารอนุมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิสระจะมีการสะสมตัวมากขึ้นจนกลายเป็นสารพิษที่คอยทำร้ายร่างกายในทันที ดังนั้นกลไกการควบคุมสารต้านอนุมูลอิสระจากร่างกายอย่างเดียวจึงไม่เพียงพอ มีความจำเป็นต้องพึ่งพาในส่วนที่สองนั่น คือ กลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้มาจากอาหาร เช่น วิตามินเอ (vitamin A) วิตามินซี (vitamin C) วิตามินอี (vitamin E) บีตาแคโรทีน ที่มีในอาหารรวมทั้งกลุ่มพอลิฟีนอล (polyphenols) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ที่พบมากอยู่ในพืช ผัก และผลไม้เพื่อเข้าไปช่วยเสริมสร้างระบบต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ในร่างกายให้มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดียิ่งขึ้น

2.4.1วิตามินอี (vitamin E) หรือ แอลฟา-โทโคฟีรอล (α -tocopherol)

เป็นวิตามินที่ละลายในไขมัน (fat soluble vitamin) เช่นเดียวกับวิตามินเอ (Vitamin A) วิตามินดี (Vitamin D) และวิตามินเค (Vitamin K) ทำให้เม็ดเลือดแดงแข็งแรง ไม่เป็นหมัน ป้องกันการแท้ง และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ป้องกันการหืน (rancidity) อาการขาดพบได้น้อยเนื่องจากวิตามินอีมีในอาหารทั่วไป และร่างกายสะสมไว้ได้อาการขาดอาจพบในเด็กคลอดก่อนกำหนด ทำให้เม็ดเลือดแดงเปราะ และเป็นโรคโลหิตจาง หญิงมีครรภ์ที่ขาดวิตามินอีอาจแท้งได้ง่าย

2.4.2 วิตามินเอ (vitamin A)

ในธรรมชาติวิตามินเอจะพบเฉพาะในสัตว์เท่านั้น แต่ในพืชจะมีสารประกอบแคโรทีนอยด์ (carotenoid) ได้แก่ บีตาแคโรทีน แอลฟาแคโรทีน และ บีตาคริพโทแซนทิน ซึ่งเป็นรงควัตถุที่พบในผักผลไม้ที่มีสีเหลือง และสีส้มร่างกายสามารถเปลี่ยนแคโรทีนอยด์กลุ่มนี้ให้เป็นวิตามินเอได้ที่ผนังลำไส้เล็กและตับ ดังนั้นจึงจัดเป็นสารตั้งต้น (precursor) ของวิตามินเอ

2.4.3 ซิลิเนียม

เป็นแร่ธาตุที่จำเป็นมีหน้าที่สำคัญในการรักษาสุขภาพที่ดีสร้างเสริมภูมิคุ้มกัน และยังเป็นส่วนหนึ่งของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ต่อต้านอนุมูลอิสระ ช่วงวัยทารกและวัยเด็กมีความต้องการซิลิเนียมเนื่องจากอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว

2.4.4 ฟลาโวนอยด์ (flavonoid)

เป็นสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ประเภทโพลีฟีนอล (polyphenol) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนแอโรมาติก (aromatic ring) ที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) รวมอยู่ในโมเลกุล ตั้งแต่ 2 วงขึ้นไป สามารถละลายในน้ำได้ ส่วนใหญ่มักพบอยู่รวมกับน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycosides) สารประกอบ flavonoids ได้แก่ flavonols, flavonones, flavones, isoflavones, flavonolscatechins และ anthocyanins

2.4.4.1สารฟลาโวนอยด์ที่พบในพืช

naringinเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ให้รสขมในเปลือกของผลไม้พืชตระกูลส้ม

catechinพบในใบชาพบมากในชาเขียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ จัดเป็น nutraceutical มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยทำหน้าที่ในการหน่วงเหนี่ยวหรือเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) จึงช่วยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระได้

2.4 4.2 การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH (DPPH reduction scavenging assay)

อนุมูล DPPH เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วง อยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้ว โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลเหมือนกับกรณีอนุมูล $ABTS^{+\cdot}$ การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธีให้ไฮโดรเจนอะตอมการวัดโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) วัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารต้านออกซิเดชันลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร DPPH radical ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของตัวอย่าง สารละลายของ DPPH มีสีม่วงในเอทานอลและเมื่อได้รับ H จะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง ตามสมการดังนี้(Blios M.S., 1958)

$$DPPH^{\cdot} + RH \longrightarrow DPPH\text{-}H + R^{\cdot}$$

สีม่วง ตัวอย่างทดสอบ สีเหลือง

ค่าที่วัดได้จะแสดงความสามารถในการสร้างสารต้านออกซิเดชันออกมาในค่าร้อยละของการยับยั้ง

2.5 สาระสำคัญในพืชสมุนไพร (รัตนา, 2547)

2.5.1 แอลคาลอยด์ (alkaloids)

เป็นสารประกอบกลุ่มใหญ่มากที่สุดกลุ่มหนึ่งที่ได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง พบมากในพืชชั้นสูง เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ (organic nitrogen compound) คุณสมบัติทั่วไปของแอลคาลอยด์ คือ มักมีรสขม มีฤทธิ์เป็นด่าง ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) มีคุณสมบัติทางเคมี ทางกายภาพ และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาต่อมนุษย์และสัตว์แตกต่างกันมาก โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรีย เช่น คิวนิน จากเปลือกต้นชิงโคนา ฤทธิ์ต่อระบบทางเดินอาหาร เช่น อะโทรพีน จากใบเบลลาดอนนา ใช้ต้านมะเร็ง เช่น วินบลาสทีนซัลเฟต และวินคริสทีนซัลเฟต จากลำต้นเหนือดินของแพงพวยฝรั่ง

2.5.2 ไกลโคไซด์ (glycosides)

เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยส่วนอะไกลโคน (aglycone) หรือจีนิน (genin) จับกับน้ำตาลหรืออนุพันธ์ของน้ำตาลหรือเรียกส่วนไกลโคน (glycone) จัดเป็นสารกลุ่มใหญ่อีกกลุ่มหนึ่งที่นำมาใช้ประโยชน์เป็นยารักษาโรคอย่างกว้างขวาง และบางชนิดมีฤทธิ์เป็นสารพิษ โดยทั่วๆไปไกลโคไซด์จะละลายได้ในตัวทำละลายที่มีขั้วขึ้นกับจำนวนและชนิดน้ำตาลของโครงสร้างไกลโคนของไกลโคไซด์ เมื่อทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) จะเกิดการสลายพันธะที่เชื่อมต่อระหว่างอะไกลโคนและไกลโคน ปกติอะไกลโคนของไกลโคไซด์มีโครงสร้างที่แตกต่างกันหลายแบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และนิยมใช้เป็นหลัก ในการจำแนกประเภทของไกลโคไซด์ แม้ว่าค่อนข้างยุ่งยากบ้างแต่การจำแนกไกลโคไซด์ตามสูตรโครงสร้างก็ยังเป็นที่นิยมอยู่

2.5.3 แทนนิน (tannins)

เป็นสารพวกพอลิฟีนอล (polyphenol) มีโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อนพบได้ในพืชหลายชนิด มีรสฝาด จึงใช้เป็นยาฝาดสมาน ยาแก้ท้องเสีย มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง สมุนไพรที่มีแทนนิน เช่น เปลือกทับทิม

2.5.4 เทอร์พีนอยด์ (terpenoids)

เป็นสารประกอบที่ประกอบด้วยหน่วยที่เรียกว่า หน่วยไอโซพรีน (isoprene units) ซึ่งเป็นโซ่แขนง (branched chain) ของคาร์บอน 5 ตัว มีพันธะไม่อิ่มตัว (unsaturated bonds) 2 พันธะ ดังนั้นในบางครั้งอาจเรียกไอโซพรีนอยด์ (isopenoids) ชื่อของสารประกอบประเภทเทอร์พีนอยด์มักลงท้ายด้วย –oid เช่นเดียวกับสารประกอบประเภทแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์และสารประกอบอื่นๆ ส่วน –ene จะใช้ลงท้ายกับพวกไฮโครคาร์บอนไม่อิ่มตัว (unsaturated hydrocarbon) หรือเทอร์พีน (terpene) มากกว่าคำว่าเทอร์พีนอยด์และเทอร์พีนจะใช้ต่างกัน โดยเทอร์พีนอยด์จะใช้กับสารประกอบที่สร้างหรือประกอบด้วยหน่วยไอโซพรีนโดยไม่คำนึงถึงหมู่ฟังก์ชันนัล (functional group) แต่เทอร์พีนจะใช้กับพวกไฮโดรคาร์บอนมากกว่า

2.5.5 ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ (flavonoids glycoside)

จัดเป็นสารประกอบเคมีที่มีความสำคัญกลุ่มใหญ่อีกกลุ่มหนึ่งที่ได้จากพืช มีส่วนอะไกลโคนเป็นสารประกอบจำพวกฟลาโวนอยด์เชื่อมเกาะอยู่กับไกลโคน ส่วนมากเป็นสารประกอบพอลิฟีนอลิก (polyphenolic compound) ที่พบในส่วนต่างๆของพืชโดยเฉพาะในดอกทำให้ดอกไม้มีสีสันสวยงาม สูตรโครงสร้างพื้นฐานเป็นหมู่ C6 จำนวน 2 หมู่มาเชื่อมต่อกันด้วยลูกโซ่ (aliohatic chain) ของอะตอมคาร์บอน 3 อะตอม (C6- C3- C6) หากมีการเพิ่มอะตอมของออกซิเจนเข้าไปที่ลูกโซ่ของอะตอมคาร์บอน 3 อะตอมหรือเพิ่มวงแหวน (oxygen-heterocyclic rings) หรือหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl groups) ในตำแหน่งต่างๆกันทำให้ได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ สารประกอบฟลาโวนอยด์ที่มีโครงสร้างฟลาโวนอยด์แท้ และสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่มีโครงสร้างสัมพันธ์ออกซิเจนเข้าไปที่ลูกโซ่ของอะตอมคาร์บอน 3 อะตอมหรือเพิ่มวงแหวน (oxygen-heterocyclic rings) หรือหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl groups) ในตำแหน่งต่างๆกันทำให้ได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ สารประกอบฟลาโวนอยด์ที่มีโครงสร้างฟลาโวนอยด์แท้ และสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่มีโครงสร้างสัมพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 เชื้อจุลินทรีย์

2.6.1 *Escherichia coli* (บุญศรี, 2552)

รูป 2.5 *Escherichia coli*

ที่มา :http://imgarcade.com/1/e-coli-electron-microscope/(10 ตุลาคม 2557)

Escherichia coli เป็นเซลล์รูปท่อน แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ บางสายพันธุ์แยกได้จากนอกลำไส้สร้างแคปซูลได้ ให้โคโลนีเรียบ ไม่มีสี มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร แต่ถ้าเลี้ยงในอาหารที่แสดงความแตกต่าง เช่น Mac Conkey agar โคโลนีมีสีแดงชมพู ขนาดใหญ่ เนื่องจากเฟอร์เมนต์แล็กโทส หรือเลี้ยงในอาหาร Eosin methylene blue agar (EMB) และ Endo agar โคโลนีมีสีมันวาวคล้ายโลหะมีบางสายพันธุ์ที่เฟอร์เมนต์แล็กโทสได้ช้า ถ้าเลี้ยงบนอาหารผสมเลือดบางสายพันธุ์เกิดการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบบีตาฮีโมไลซิส เชื้อนี้เจริญได้ในอุณหภูมิช่วงกว้าง (15-45 องศาเซลเซียส) บางสายพันธุ์ทนความร้อน 60 องศาเซลเซียส 15 นาที หรือ 55 องศาเซลเซียส 60 นาที

ปัจจัยที่ทำให้เกิดโรค

การที่ *E. coli* ทำให้เกิดโรคได้เนื่องจากมีไวรูเลนซ์แฟกเตอร์หลายชนิด ที่ไม่พบใน *E. coli* ที่เป็นเชื้อประจำถิ่น อย่างน้อยที่สุดจะต้องมีปัจจัยอย่างใดอย่างหนึ่ง คือ

1. มีความสามารถที่จะเกาะติดกับเซลล์บางชนิดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม
2. ความสามารถที่จะบุกรุกและเข้าไปเจริญในเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้
3. ความสามารถในการสร้าง enterotoxin ที่ทำให้ร่างกายสูญเสียน้ำและของเหลว จึงเกิดอาการท้องร่วง การสร้าง cytotoxin ที่ไปขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน จึงทำให้เกิดการตกเลือดที่ลำไส้
4. การมีแคปซูลที่ป้องกันไม่ให้ถูกเม็ดเลือดขาวจับกิน

E. coli สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคอาจทำให้เกิดโรคดังนี้คือ ท้องร่วง ทางเดินปัสสาวะอักเสบ โลหิตเป็นพิษ และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ

1. ท้องร่วงเชื้อ *E. coli* ที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงในคนและสัตว์คือ

1.1 Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) ทำให้เกิดโรคท้องร่วงกับเด็กและผู้ใหญ่ เชื้อจะสร้างเอนเทอโรทอกซินซึ่งเป็นเอกโซทอกซินอย่างหนึ่งทอกซินที่สร้างมี 2 ชนิด คือ 1. ทอกซินชนิดไม่ทน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความร้อน (heat-labile enterotoxin, LT) และ 2. ทอกซินชนิดทนความร้อน (heat-stable-enterotoxin, STa และ STb)

1.2 Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) ทำให้เกิดท้องร่วงในเด็กแรกเกิดและเด็กทารกจนถึง 2 ขวบ ไม่ทำให้เกิดโรคในผู้ใหญ่ *E. coli* สายพันธุ์นี้ทำให้เกิดท้องร่วงแบบเป็นน้ำ ไม่มีเลือดปนและมีอาการมีไข้ คลื่นไส้ อาเจียน

EPEC ไม่สร้างทอกซินทั้ง LT และ ST และไม่มี colonization factor เหมือน ETEC แต่พบว่าทีไซโททอกซินคล้ายกับทอกซินที่สังเคราะห์โดย *Shigella* บางตัว จึงเรียกว่า Shiga-like toxin เชื้อ EPEC จะจับแน่นกับผิวเยื่อบุลำไส้และทำลายไมโครวิลไล เฉพาะที่จึงอาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า enteroadherent *E. coli* แต่เชื้อนี้จะไม่บุกรุกเข้าเซลล์ความสามารถของ EPEC ที่จะจับแน่นกับเซลล์ของลำไส้เล็ก

การป้องกันโรคที่เกิดจาก EPEC พบว่าไม่มีวัคซีนป้องกันการรักษาโรคนี้โดยให้ นีโอไมซิน (neomycin) หรือ เจนตาไมซิน (gentamycin) ร่วมกับการให้น้ำเกลือ

1.3 Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) ทำให้เกิดโรคท้องร่วงคล้ายโรคบิดที่เกิดจาก *Shigella* ถึงแม้ว่า *Shigella* จะมีความรุนแรงมากกว่า เพราะใช้เชื้อน้อยกว่าในการทำให้เกิดอาการ โรคนี้เกิดได้กับทุกวัยทั้งเด็กโตและผู้ใหญ่ นอกจากนี้เชื้อ EIEC มีความคล้ายกับ *Shigella* ทั้งกลไกการเกิดโรคและอาการของโรค รวมถึงยังไม่เคลื่อนที่เหมือน *Shigella* และให้ผลกับแล็กโทสเป็นลบทำปฏิกิริยาข้าม (cross reaction) กับแอนติเจนของ *Shigella* การรักษาและป้องกันปฏิบัติเช่นเดียวกับโรคบิดที่เกิดจาก *Shigella*

1.4 Enteroheomorrhagic *E. coli* (EHEC) พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1982 ในสหรัฐอเมริกา *E. coli* ที่พบคือ *E. coli* 157 ที่พบมากคือ *E. coli* 157 : H7 ที่ทำให้เกิดอาการ คือ

1. ท้องร่วงที่แตกต่างจากโรคบิดที่เกิดจาก *Shigella* และ EIEC คือทำให้เกิดการตกเลือดที่ลำไส้ มีอาหารท้องเสียและปวดท้องรุนแรง อุจจาระมีน้ำมากต่อมามีเลือดปนมากจนถ่ายเป็นเลือด โรคนี้สามารถเกิดได้กับคนทุกวัย แต่ส่วนใหญ่พบในเด็กและหายเองได้

2. โรค hemolytic uremic syndrome (HUS) ซึ่งพบได้ในคนทุกวัย แต่พบมากในเด็กและทารกและเป็นสาเหตุของไตวายในเด็ก โดยผู้ป่วยจะถ่ายอุจจาระเป็นเลือดด้วย มีอาการอาเจียน ซีดขาว

การระบาดของโรคที่เกิดจาก *E. coli* ชนิดนี้ เกิดจากการรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อหรือได้รับความร้อนไม่เพียงพอ เช่น แฮมเบอร์เกอร์ แซนวิช เนื้อบดดิบ นมดิบ รวมทั้งน้ำดื่มน้ำใช้และติดต่อจากบุคคลหนึ่งไปสู่อีกบุคคลหนึ่ง

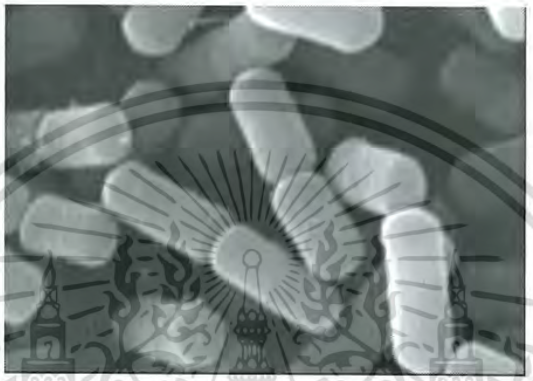
3. ทางเดินปัสสาวะอักเสบเนื่องจาก *E. coli* เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดทางเดินปัสสาวะอักเสบได้บ่อยที่สุด (มากกว่าร้อยละ 80) ในหญิงสาว กลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคได้แก่ ซีโรทัยป์ 1, 2, 4, 6, 7, 9, 15, 16, 18 และ 75 การที่เชื้อโรคได้รุนแรงเนื่องจากสร้างฮีโมไลซิน และเกาะติดกับเยื่อบุผิวของทางเดินปัสสาวะได้ ซึ่งผู้ป่วยที่ได้รับการสวนหลอดปัสสาวะมีโอกาสติดเชื้อประมาณร้อยละ 1ของคนไข้ทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียจำนวนมากอยู่ในน้ำปัสสาวะอาการจะเกิดขึ้นเมื่อเชื้อบุกรุกเข้ามิวโคซา ทำให้เซลล์ตายและเกิดการอักเสบทำให้เกิดโรคกระเพาะปัสสาวะอักเสบ ซื้อที่บุกรุกเข้าสู่ท่อไต เพิ่มจำนวนขึ้นในกรวยไต ซึ่งทำให้เกิดโรคภาวะไตและกรวยไตอักเสบ

4.เยื่อหุ้มสมองอักเสบในเด็กทารก *E. coli* และ streptococci group B เป็นสาเหตุของโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบในเด็กทารกอายุ 1 เดือนแรกมากที่สุด

2.6.2 *Bacillus cereus* (บุญศรี, 2552)



รูป 2.6 *Bacillus cereus*

ที่มา :http://phys.org/news/2013-01-toxin-bacillus-cereus-diarrhea.html (10ตุลาคม2557)

Bacillus cereus เป็นแบคทีเรียรูปท่อนขนาดใหญ่ที่สร้างสปอร์ได้ ติดสีแกรมบวก ที่มีลักษณะคล้าย *B. anthracis* ยกเว้นเคลื่อนที่ได้และไม่สร้างแคปซูล การดำรงชีวิตเป็นแซโพรไฟต์ พบอยู่ในดิน น้ำ ตามพืชผักต่างๆ

ปัจจัยที่ทำให้เกิดโรค

B. cereus อาจทำให้เกิดโรคได้หลายแบบ คือ อาหารเป็นพิษ หรือกระเพาะและลำไส้อักเสบ ตาอักเสบ และการติดเชื้อแบบฉวยโอกาส โดยที่อาการอาหารเป็นพิษหรือกระเพาะและลำไส้อักเสบเกิดจากเอนเทอโรทอกซินซึ่งมี 2 ชนิดคือ เอนเทอโรทอกซินที่ทนความร้อนทำให้อาหารเป็นพิษแบบมีอาการอาเจียนและเอนเทอโรทอกซินที่ไม่ทนความร้อนทำให้เกิดอาการแบบท้องร่วง ส่วนอาการตาอักเสบที่เกิดจาก *B. cereus* นั้นเกิดจากกลไกการทำให้เกิดโรคยังไม่สมบูรณ์แต่มีทอกซินที่เกี่ยวข้องด้วยอย่างน้อย 3 ชนิด คือ สาร necro toxin ซึ่งเป็นเอนเทอโรทอกซินที่ไม่ทนความร้อนสาร cereolysin เป็นฮีโมไลซินที่มีฤทธิ์ร้ายแรง และสาร phospholipase C ซึ่งก็คือเลซิทิเนสที่ทำลายตาอย่างรวดเร็ว เนื่องจากการติดเชื้อ *B. cereus* เป็นผลมาจากการทำงานร่วมกันของทอกซินเหล่านี้และปัจจัยอื่นๆอีก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.6.3 *Pseudomonas aeruginosa* (นงลักษณ์, 2547)

รูป 2.7 *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา :http://www.dimehe.com/2014/10/pseudomonas-aeruginosa-pseudomonas.html (10ตุลาคม2557)

Pseudomonas aeruginosa มีลักษณะเป็นรูปท่อนหรือโค้งเล็กน้อย เคลื่อนที่ด้วยโพลาร์แฟลกเจลลา ติดสีแกรมลบ ผนังเซลล์ประกอบด้วย lipopolysaccharide (LPS) ที่มีโครงสร้างคล้ายของแบคทีเรียในตระกูล Enterobacteriaceae แต่มีสารเคมีบางหมู่ต่างกัน ดำรงชีวิตแบบใช้ออกซิเจน สามารถเจริญและได้พลังงานโดยได้แหล่งของไนโตรเจนและคาร์บอนจากสารอาหารธรรมดา เช่น แอมโมเนียและคาร์บอนไดออกไซด์ ในการเจริญจึงไม่ต้องการสารอาหารซับซ้อน สามารถมีชีวิตและเพิ่มจำนวนในช่วงอุณหภูมิกว้าง ตั้งแต่ 20-42 องศาเซลเซียส ในสภาพแวดล้อมต่างๆได้ รวมทั้งในสภาพที่มีเกลือสูงๆได้ เชื้อสามารถได้พลังงานจากกระบวนการออกซิเดทีฟ และสร้าง cytochrome oxidase ได้มากจึงให้ผลกับออกซิเดสเป็นบวก ถึงแม้จะเป็นพวกที่ใช้ออกซิเจนในการเจริญ แต่ส่วนใหญ่ก็เพิ่มจำนวนได้ช้าๆในที่ไม่มีออกซิเจนถ้ามีไนเตรตเป็นตัวรับไฮโดรเจน

P. aeruginosa สามารถเจริญได้ในอาหารธรรมดาที่ใช้แยกเชื้อ ถึงแม้จะไม่เร็วเท่าแบคทีเรียในตระกูลเอนเทอโรแบคทีริเอซี เมื่อบ่มเชื้อไว้ค้างคืนจะเจริญขึ้นเป็นโคโลนี มักให้รงควัตถุสีเขียว โคโลนีมีขนาดใหญ่และแพร่กระจายมักให้ลักษณะโคโลนีเป็นมันเงาคล้ายโลหะ

การทำให้เกิดโรค

P. aeruginosa ไม่ค่อยทำให้เกิดโรคในคนที่มีสุขภาพที่ดี แต่จะเป็นเชื้อฉวยโอกาสทำให้เกิดโรคได้ในคนที่มีภูมิคุ้มกันต่ำหรืออ่อนแอ หรือเมื่อเชื้อเข้าสู่ร่างกายในบริเวณที่ไม่มีความต้านทานปกติ โดยโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *P. aeruginosa* ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
142289

1. การติดเชื้อในกระแสเลือด และเยื่อบุหัวใจอักเสบ

การติดเชื้อ *P. aeruginosa* ในกระแสเลือดไม่แตกต่างจากการติดเชื้อแกรมลบชนิดอื่น แม้ว่าจะมีอัตราการตายสูงกว่า อาจเนื่องจากเชื้อมักติดเชื้อในคนไข้ที่มีภูมิคุ้มกันผิดปกติ และเนื่องจากความรุนแรงของเชื้อเอง อาการของโรคตอนแรกๆจะเป็นตุ่มใสที่ไม่เจ็บ 2-3 วันต่อมาจะขยายใหญ่และลุกลามเป็นสีม่วงและดำ เกิดเลือดออก เป็นเนื้อตายบริเวณกลางแผล และเกิดแผลเปื่อย

2. การติดเชื้อที่ปอด

การติดเชื้อ *P. aeruginosa* ที่ทางเดินหายใจส่วนล่างมีตั้งแต่หลอดคอและหลอดลมปอดอักเสบ มีการรวมกลุ่มของเชื้อ จนถึงปอดอักเสบที่รุนแรง การติดเชื้อพบในคนไข้ที่เป็นโรคปอดเรื้อรังและผู้ที่มีนิวโทรฟิลน้อยกว่าปกติ และยังมีการติดเชื้อที่หู การติดเชื้อที่แผลไฟไหม้ และการติดเชื้อที่อวัยวะอื่นๆ เช่นทางเดินอาหาร ตา ระบบประสาทส่วนกลาง ระบบกล้ามเนื้อและกระดูก

2.6.4 *Staphylococcus aureus* (บุญศรี, 2552)

รูป 2.8 *Staphylococcus aureus*

ที่มา :http://www.dimehe.com/2014/10/pseudomonas-aeruginosa-pseudomonas.html (10ตุลาคม2557)

Staphylococcus aureus จัดอยู่ในตระกูล Micrococcaceae เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 0.5-1.5 ไมโครเมตร ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ เมื่อแบ่งเซลล์จะติดกันเป็นพวงองุ่น เซลล์อาจอยู่เดี่ยวๆ เป็นคู่ หรือเป็นกลุ่ม เมื่อเจริญบนอาหารแข็ง โคโลนีมีสีทองหรือสีเหลือง แต่บางสายพันธุ์อาจไม่มีสี *Staphylococcus aureus* ส่วนใหญ่สร้างเอนไซม์ coagulase ที่ทำให้เลือดแข็งตัว และสร้าง nuclease ที่ทนต่อความร้อน เป็นพวก facultative แต่เจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนมากกว่าที่ไม่มีออกซิเจน อย่างไรก็ตาม *Staphylococcus* ที่ให้ผล coagulase เป็นบวกไม่จำเป็นต้องเป็นพวกสร้าง enterotoxin เสมอไป

S. aureus ผลิตสารพิษที่แตกต่างกันแบ่งได้ 6 ชนิดได้แก่ type A, B, C_1, C_2, D และ E ซึ่งมีความเป็นพิษแตกต่างกันไป โดยส่วนใหญ่ของอาหารเป็นพิษมักเกิดจาก type A นอกจากนั้นสายพันธุ์ของเชื้อนี้ยังสร้างสารพิษอื่นๆอีกหลายชนิดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Enterotoxin จาก *Staphylococcus* เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 26,000 และ 30,000 เป็นเปปไทด์สายเดี่ยวเชื่อมไขว้กันด้วยพันธะไดซัลไฟด์ มีลักษณะเป็น custine loop โดยส่วนใหญ่มักพบว่า type A และ D เกี่ยวข้องกับการระบาดของโรคอาหารเป็นพิษ สภาพที่เหมาะสมแก่การสร้างสารพิษจะเป็นสภาพที่เหมาะสมแก่การเจริญด้วย โดยเชื้อสามารถสร้างสารพิษได้ในช่วงอุณหภูมิ 15.6-46.1 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่ดีที่สุด คือที่ 40 องศาเซลเซียส ลักษณะสำคัญของ enterotoxin คือความสามารถในการต้านทานต่อความร้อน ซึ่งทั้งนี้อยู่กับปัจจัยบางประการ คือ

1. ปริมาณสารพิษเริ่มต้นแต่ละชนิดในอาหาร
2. อาหารที่นำมาให้ความร้อน
3. อุณหภูมิที่ใช้ในการทำลาย

ปัจจัยที่ทำให้เกิดโรค

แต่ละบุคคลจะมีความไวต่อสารพิษของ *Staphylococcus* แตกต่างกัน บางรายจะมีอาการป่วยเมื่อได้รับอาหารที่มี toxin ของเชื้อนี้แต่บางรายอาจจะไม่เกิดผลกระทบใดๆหรือมีบ้างเพียงเล็กน้อย อาการของโรคโดยทั่วไป คือ มีการหลั่งของน้ำลายมากผิดปกติ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องอย่างรุนแรง ท้องร่วง พบเลือดและเมือกในอุจจาระ และสิ่งที่อาเจียนออกมาในกรณีที่ติดเชื้ออย่างรุนแรง มีอาการปวดศีรษะ ปวดเกร็งกล้ามเนื้อ เหงื่อออกมาก หนาวสั่น ชีพจรเต้นอ่อน และหมดสติ

ภาวะที่เหมาะสมต่อการระบาดของโรค

1. มี *Staphylococcus* ที่สร้าง enterotoxin อยู่ในอาหาร
2. อาหารนั้นจะต้องเป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับการเจริญและการสร้าง toxin ของแบคทีเรีย
3. อุณหภูมิต้องเหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย
4. มีการบริโภคอาหารที่มี enterotoxin เข้าไป

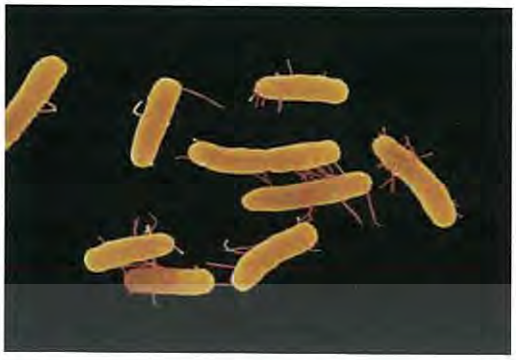
การป้องกันการระบาดของโรค

1. ป้องกันไม่ให้อาหารมีการปนเปื้อนของ *Staphylococcus*
2. ป้องกันไม่ให้มีการเจริญของ *Staphylococcus*
3. ทำลาย *Staphylococcus* ที่มีอยู่ในอาหาร

การลดการปนเปื้อนของ *Staphylococcus* ในอาหารทำได้โดยการมีสุขาภิบาลที่ดี ส่วนผสมต่างๆที่นำมาใช้จะต้องไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อ ส่วนการป้องกันการเจริญของเชื้อทำได้โดยเก็บอาหารไว้ในห้องเย็นที่มีอุณหภูมิเพียงพอและคงที่ หรือการปรับ pH ของอาหารให้มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นตลอดจนการเติมสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียลงไป เช่น serine หรือ สารปฏิชีวนะต่างๆ อาหารบางชนิดอาจต้องทำการฆ่าเชื้อโดยพาสเจอไรซ์ ก่อนนำมาวางไว้ในอุณหภูมิปกติเพื่อจำหน่ายหรือบริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.5 *Salmonella typhimurium* (นงลักษณ์, 2547)



รูป 2.9 *Salmonella typhimurium*

ที่มา :http://www.dimehe.com/2014/10/pseudomonas-aeruginosa-pseudomonas.html (10ตุลาคม2557)

Salmonella typhimurium เป็นจีนัสหนึ่งในตระกูล Enterobacteriaceae ดำรงชีวิตแบบ facultative anaerobe เป็นแกรมลบ มีรูปร่างเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ ไม่มีแคปซูล ที่สามารถเจริญในอาหารค่อนข้างธรรมดาได้ และแตกต่างจากสมาชิกตัวอื่นในตระกูลนี้ตรงที่มีสมบัติทางชีวเคมี และโครงสร้างแอนติเจนที่แตกต่างออกไป ถิ่นที่อยู่ของเชื้อนี้คือ ลำไส้ของคนและสัตว์ และทำให้เกิดโรคในคนและสัตว์ต่างๆได้ สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลกลูโคสและแมนโนสได้กรด บางทีได้ก๊าซ แต่ไม่สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลแล็กโทสและซูโครสได้ เชื้อส่วนใหญ่ไม่ต้องการวิตามินหรือกรดอะมิโน ยกเว้นเชื้อไทฟอยด์บางชนิดต้องการทริปโทเฟน

การเกิดโรค

Salmonella typhimurium ทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบ ซึ่งมีระยะฟักตัวของโรค กินเวลา 12-24 ชั่วโมง อาการของโรค คือ ปวดศีรษะรุนแรง คลื่นไส้อาเจียน อุจจาระร่วงรุนแรง ปวดท้อง มีไข้ต่ำ มักเป็นอยู่ 2-5 วัน เชื้อจะเจริญอยู่ในลำไส้เท่านั้นเมื่อเชื้อบุกรุกเข้าผนังลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ อาจจะปล่อยเอนเทอโรทอกซินออกมาทำให้ถ่ายอุจจาระเหลว มีมูกเลือด เม็ดเลือดขาวปนออกมาไม่พบเชื้อในเลือดแต่จะพบในอุจจาระ

2.6.6 กลไกการออกฤทธิ์ของสารพฤกษเคมีต่อคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์

สารประกอบเคมีในพืชนอกเหนือจากคุณสมบัติในการเป็นยารักษาโรค ยังสามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์ และมีกลไกในการยับยั้งที่แตกต่างกันไป การแบ่งประเภทตามวิธีการออกฤทธิ์ของสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ในการทำลายจุลินทรีย์เป็น 2 แบบ คือ สารที่มีผลในการฆ่าทำลายเชื้อ (bactericidal) และสารที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทำให้ไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ (bacteriostatic) (Tortoraและคณะ, 1992) ซึ่งสารดังกล่าวจะมีคุณสมบัติคล้ายสารปฏิชีวนะและมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลไกการออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม (Todar, 2001) ดังนี้

2.6.6.1 สารออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ (Cell wall synthesis inhibitors)

ผนังเซลล์ของแบคทีเรียประกอบด้วยโครงสร้างร่างแหของ macromolecular network ของสารประกอบ peptidoglycan ซึ่งสารดังกล่าวพบเฉพาะที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียเท่านั้น โดยสารปฏิชีวนะจะมีผลต่อผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่กำลังอยู่ในสภาวะการแบ่งเซลล์ สารดังกล่าวจะป้องกันการเกิดการเชื่อมต่อ (crosslink) ของ peptidoglycan และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ peptidoglycan synthetase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่สร้างพันธะของ peptidoglycan ดังนั้นจึงทำให้โครงสร้างของผนังเซลล์อ่อนแอลงและไม่สมบูรณ์ เซลล์จึงถูกย่อยสลายและแตกได้ในที่สุด

2.6.6.2 สารออกฤทธิ์ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane inhibitors)

เยื่อหุ้มเซลล์เป็นชั้นที่อยู่ถัดจากชั้นของผนังเซลล์แบคทีเรีย สารปฏิชีวนะจะมีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการนำสารเข้าออกของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย เช่น ทำให้เกิดการรั่วไหลของสารออกจากเซลล์ หรือทำให้คุณสมบัติการป้องกันสารเข้าออกของเยื่อหุ้มเซลล์ (osmotic barrier) เสียไป

2.6.6.3 สารออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน(Protein synthesis inhibitors)

สารปฏิชีวนะมีผลในการยับยั้งการสร้างพันธะเปปไทด์ (peptide bond) ของกรดอะมิโนทำให้กรดอะมิโนไม่สามารถต่อกันเป็นโพลีเปปไทด์ในการสังเคราะห์โปรตีนภายในเซลล์ได้ หรือทำให้รูปร่างของไรโบโซม (ribosome) เปลี่ยนแปลงทำให้การอ่านรหัสของยีนบน mRNA ไม่ถูกต้องมีผลทำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีนที่ผิดปกติ

2.6.6.4 สารออกฤทธิ์ต่อกรดนิวคลีอิก (Effects on Nucleic Acids)

สารปฏิชีวนะมีผลในการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ DNA และ RNA หรือยับยั้งการทำงานของ DNA ทำให้ไม่สามารถอ่านข้อมูลทางพันธุกรรม ที่ควบคุมการพัฒนาและกิจกรรมเมตาบอลิซึมของเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.6.5 สารออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์สารเมตาโบไลท์(Competitive Inhibitors)

การออกฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์สารเมตาโบไลท์ (metabolites) ที่จำเป็นสำหรับจุลินทรีย์ต่อการเจริญและการอยู่รอดของเซลล์ ซึ่งสารปฏิชีวนะส่วนใหญ่ทีกลไกการออกฤทธิ์แบบการแย่งจับ (competitive inhibition) โดยอาศัยสูตรโครงสร้างที่คล้ายกันในการแทนที่สารเริ่มต้นที่ใช้สังเคราะห์สารเมตาโบไลท์

2.7 มะเร็ง

เป็นกลุ่มของโรคที่เกิดเนื่องจากเซลล์ของร่างกายมีความผิดปกติ ที่ DNA หรือสารพันธุกรรม ส่งผลให้เซลล์มีการเจริญเติบโต มีการแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ รวดเร็ว และมากกว่าปกติ ดังนั้นจึงอาจทำให้เกิดก้อนเนื้อผิดปกติ และในที่สุดก็จะทำให้เกิดการตายของเซลล์ในก้อนเนื้อนั้น เนื่องจากขาดเลือดไปเลี้ยง เพราะการเจริญเติบโตของหลอดเลือดถ้าเซลล์พวกนี้เกิดอยู่ในอวัยวะใดก็จะเรียกชื่อ มะเร็ง ตามอวัยวะนั้นเช่น มะเร็งปอด มะเร็งสมอง มะเร็งเต้านม มะเร็งปากมดลูก มะเร็งเม็ดเลือดขาว มะเร็งต่อมน้ำเหลือง และมะเร็งผิวหนัง เป็นต้น เท่าที่มีรายงานไว้ในขณะนี้มะเร็งที่พบในร่างกายมนุษย์มีมากกว่า 100 ชนิด มะเร็งแต่ละชนิดจะมีการดำเนินของโรคไม่เหมือนกัน เช่น มะเร็งปอด มะเร็งสมอง จะมีการดำเนินชนิดของ โรค ที่รุนแรง ผู้ป่วยจะมีชีวิตการอยู่รอดสั้นกว่าผู้ป่วยมะเร็งผิวหนัง เป็นต้น

ดังนั้น การรักษามะเร็งแต่ละชนิดจะไม่เหมือนกัน มีวิธีการรักษาที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอวัยวะที่เป็นมะเร็ง ระยะของมะเร็ง สภาพร่างกาย และความเหมาะสมของผู้ป่วยมะเร็ง การรักษาจะยากหรือง่ายนั้นก็ขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์มะเร็ง และการดำเนินโรคของมะเร็งด้วย เช่น มะเร็งต่อมน้ำเหลือง มะเร็งผิวหนัง รักษาง่ายกว่า มะเร็งปอด มะเร็งสมอง เป็นต้น โดยที่มะเร็งปากมดลูกเป็นมะเร็งชนิดที่พบมากที่สุดในประเทศไทย(ชัญวลี, 2552)

2.7.1 มะเร็งปากมดลูก

มะเร็งปากมดลูกเป็นมะเร็งที่พบมากเป็นอันดับ 1 สำหรับผู้หญิงทั่วโลก โดยสามารถพบผู้ป่วยรายใหม่ได้ประมาณปีละ 500,000 คน และมีผู้เสียชีวิตประมาณปีละ 231,000 คน นอกจากนี้ยังพบว่า ผู้ที่เป็นโรคมะเร็งปากมดลูก กว่าร้อยละ 80 ล้วนอาศัยอยู่ในประเทศที่กำลังพัฒนา โดยที่ในประเทศไทย แต่ละปีจะมีผู้หญิงไทยที่เป็นมะเร็งปากมดลูกนี้กว่า 6,200 คน ส่วนใหญ่จะพบมากในช่วงอายุ 35-50 ปี แต่มะเร็งปากมดลูกก็สามารถป้องกันและรักษาให้หายขาดได้ ถ้าตรวจพบและได้รับการรักษาตั้งแต่ในระยะที่เซลล์มะเร็งยังไม่ลุกลาม โดยมะเร็งปากมดลูกนั้นคือเนื้องอกผิดปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บริเวณปากมดลูก ที่มีการเจริญเติบโตผิดปกติและสามารถแพร่กระจายเชื้อแทรกซึมเข้าไปในเซลล์ดีที่อยู่รอบด้านได้ โดยไม่เป็นระเบียบแบบแผนของร่างกายนั่นเอง สาเหตุการเกิดมะเร็งปากมดลูกนั้น ร้อยละ 99.7 เกิดมาจากการติดเชื้อ HPV (Human Papilloma Virus) และส่วนใหญ่จะมีสาเหตุของการติดเชื้อมาจากการมีเพศสัมพันธ์ โดยที่ผิวหนังหรือเยื่อบุของอวัยวะเพศหรือปากมดลูกมีรอยแผลถลอกจนเกิดการติดเชื้อขึ้น นอกจากนี้ในส่วนของระยะต่างๆของมะเร็งสามารถอธิบายได้ ดังนี้ มะเร็งระยะแรกเริ่ม จะเป็นก้อนเนื้อร้ายที่เกิดขึ้นครั้งแรกตามส่วนใดส่วนหนึ่งของร่างกาย ซึ่งการตรวจร่างกายในผู้ที่มีสุขภาพสมบูรณ์ ไม่มีอาการผิดปกติใดๆ แต่ถ้าสังเกตถึงความผิดปกติของร่างกายมาโดยตลอด จะสามารถตรวจพบได้และสามารถบำบัดรักษาให้หายขาดได้ มะเร็งระยะที่สอง ขณะที่เนื้อร้ายแพร่กระจายตัวไปตามส่วนต่างๆของร่างกายจะทำให้ผู้ป่วยบางรายอาจมีความสับสนได้ มะเร็งระยะสุดท้ายผู้ป่วยจะมีอาการเจ็บปวดและทุกข์ทรมานอย่างรุนแรง ซึ่งเกิดจากการลุกลามของเซลล์มะเร็งตามส่วนต่างๆของร่างกาย ซึ่งแพทย์ไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ ส่วนใหญ่จะมีอาการซูบผอม น้ำหนักลด ตัวเหลือง อ่อนเพลีย ปวดหัวและกล้ามเนื้อลีบ ส่วนเชื้อ HPV นั้นเป็นไวรัสในกลุ่ม Papilloma ที่ก่อให้เกิดโรคหูดขึ้น ทั้งในผู้หญิงและผู้ชาย ซึ่งสายพันธุ์ที่ก่อปัญหามากที่สุดคือ HPV 16 และรองลงมาคือ HPV 18 นอกจากนี้โรคหูดหงอนไก่ที่เกิดขึ้นบริเวณอวัยวะเพศนั้น เป็นโรคที่จะเป็นต้นเหตุของการเกิดมะเร็งปากมดลูก และมะเร็งอื่นๆบริเวณอวัยวะเพศรวมถึงทวารหนัก ทั้งในผู้หญิงและผู้ชาย โดยโรคหูดหงอนไก่ที่เกิดขึ้น ส่วนมากร้อยละ 90 จะมีสาเหตุมาจากเชื้อ HPV ซึ่งสายพันธุ์ที่เป็นสาเหตุของโรคหูดหงอนไก่นั้นคือ สายพันธุ์ 6 และ 11 ซึ่งการติดเชื้อนี้ มักจะไม่ทำให้เกิดมะเร็งผิวหนังแต่อย่างใด โดยที่วิธีการรักษาของมะเร็งปากมดลูกสามารถทำได้หลายวิธี ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับอาการ ความรุนแรงของโรค และการแพร่กระจายของเชื้อมะเร็ง ซึ่งวิธีการรักษามะเร็งปากมดลูกมีดังนี้ วิธีการผ่าตัด มักใช้ในกรณีที่มะเร็งอยู่ในเฉพาะปากมดลูกและยังไม่แพร่กระจายไปยังอวัยวะอื่นๆ วิธีการใช้รังสีรักษา สามารถทำได้ 2 วิธี คือ การให้รังสีรักษาจากเครื่องฉายรังสี และการให้รังสีรักษาโดยการฝัง แร่อาบรังสีบริเวณปากมดลูก โดยการฝังแต่ละครั้งจะใช้เวลานานประมาณ 1-3 วัน วิธีการให้ฮอร์โมน ฮอร์โมนจะช่วยทำลายเซลล์มะเร็งได้ในทุกส่วนของร่างกาย โดยการป้องกันไม่ให้เซลล์มะเร็งได้รับฮอร์โมนที่จำเป็นในการแบ่งตัวและช่วยป้องกันการกลับมาเป็นซ้ำของมะเร็งด้วย แต่ใช้ได้เฉพาะในคนที่มีเซลล์มะเร็งชนิดที่ตอบสนองต่อฮอร์โมน Estrogen และ Progesterone เท่านั้น วิธีการใช้เคมีบำบัด โดยแพทย์จะให้เคมีบำบัดเข้าในเส้นเลือดเพื่อฆ่าเซลล์มะเร็ง(พันธิตร์, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องในการใช้สารสกัดจากใบไมยราบยักษ์ ในการยั้บยั้งการเจริญของเชื้อเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis., Aspergillusniger* และ*Candida albicans* พบว่าการใช้น้ำและเมทานอลในการสกัดใบไมยราบยักษ์สามารถยั้งยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis.*,และ*Candida albicans* แต่ไม่สามารถยั้บยั้งเชื้อ *Escherichia coli* และ *Aspergillus niger* จากผลการทดลองของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบนั้นไม่ได้เป็นที่น่าแปลกใจนัก เพราะว่าโดยปกติเชื้อแบคทีเรียแกรมลบจะสามารถต้านทานได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และยังพบสารพฤกษศาสตร์เช่น สารฟลาโวนอยด์ ควิโนน ซาโปนิน แทนนิน และ สเตียรอยด์ ในสารสกัดใบไมยราบยักษ์(Rosado-valladoและคณะ, 2000)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ไมยราบยักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhi* พบว่า ไมยราบยักษ์ที่สกัดด้วยเอทานอลที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhi* และไมยราบยักษ์ที่สกัดด้วยเมทานอลที่มีความเข้มข้น 1.5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhi* และยังพบสารพฤกษศาสตร์เช่น อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน พบสาร ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน สเตียรอยด์ แทนนิน ในการสกัดด้วยเมทานอล(V.C. Mbatchouและคณะ, 2011)

งานวิจัยที่เกี่ยวกับตรวจสอบเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ด้วยวิธี MTT ในงานวิจัยนี้จะหายาต้านมะเร็งชนิดใหม่โดยเลือกทดสอบสารจากธรรมชาติ ที่น่าจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติไม่มากนัก โดยได้คัดเลือกสารสกัด 5 ชนิด คือ สาร phyllanthusol A สารสกัดจากสมุนไพรซาไก สารสกัดจากต้นสอยดาว สารสกัดจากต้นสักขี A และ สารสกัดจากต้นสักขี B สารสกัดทั้ง 5 ชนิด ทำการทดสอบความเป็นพิษในเซลล์มะเร็ง 3 ประเภท คือ เซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) เซลล์มะเร็งลำไส้ (COLO 205) และ เซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ด้วยวิธี MTT assay และทำการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ที่ทำให้เซลล์ตายด้วยกระบวนการ apoptosis โดยผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากสมุนไพรซาไก สารสกัดจากต้นสักขี A และ สารสกัดจากต้นสักขี B มีการออกฤทธิ์อยู่ในระดับดีในเซลล์มะเร็งทั้ง 3 ประเภท คือ มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 4 ถึง 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สาร phyllanthusol A และ สารสกัดจากต้นสอยดาว มีค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 30 ถึง100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทำการศึกษาถึงกระบวนการตายของเซลล์มะเร็งที่ถูกกระตุ้นด้วยสารสกัดจากธรรมชาตินี้ ได้เลือกเซลล์มะเร็งปากมดลูกเป็นแม่แบบในการศึกษา และเลือกสารสกัดจากสมุนไพรซาไกเป็นสารที่ใช้ในการกระตุ้น ซึ่งจากผลการศึกษาพบว่าสมุนไพรซาไกมีความสามารถในการกระตุ้นกระบวนการตายแบบ apoptosis ได้ โดยมีการตรวจพบของ membrane blebbing, chromatin condensation, nuclear fragmentation และ caspase-3 activation นอกจากนั้นจากการทำงานของ caspase-8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

inhibitor และ caspase-9 inhibitor พบว่าสามารถยับยั้งการทำงานของ caspase-3 ด้วย และเมื่อทำการตรวจสอบเพิ่มเติมพบการหลั่งของ cytochrome c และ Bid cleavage ซึ่งสอดคล้องกับการกระตุ้นกลไก apoptosis แบบ type II cell นอกจากนั้นผู้วิจัยได้ทำการทดสอบผลของสารสมุนไพรซาไกต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของยีนที่เกี่ยวข้องกับโรคมะเร็งเพิ่มเติมซึ่งพบว่าสารสมุนไพรซาไกส่งผลให้ยีน p53 มีระดับการแสดงออกเพิ่มขึ้น ในขณะที่ยีน Bcl-2 มีระดับการแสดงออกลดลง จากผลการวิจัยทั้งหมดจึงสรุปได้ว่าสารสกัดสมุนไพรจากธรรมชาติที่นำมาทดสอบมีฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง โดยสารสมุนไพรซาไกเมื่อนำมาทดสอบกับเซลล์มะเร็งปากมดลูกสามารถกระตุ้นกระบวนการ apoptosis ได้โดยมีกลไกเป็นแบบ type II cell คือกระตุ้นจาก caspase-8 ผ่านทาง Bid cleavage และ mitochondrial damage ซึ่งส่งผลให้เกิดการหลั่งของ cytochrome c และการกระตุ้นการทำงาน caspase-9 และ caspase-3 ตามลำดับ ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจที่จะศึกษากลไกในระดับโมเลกุลต่อไป(ธเนศ, 2554)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบในการทดลอง

ส่วนใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ (*Mimosa pigra*) โดยทำการเก็บรวบรวมจากอำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก ในเดือนมิถุนายน ปีพ.ศ.2557 แล้วนำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมงก่อนนำไปสกัด

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อแบคทีเรียที่นำใช้ในการทดสอบ ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TTISTR 687, *Escherichia coli* TISTR 780, *Salmonella typhimurium* TTISTR 292, *Staphylococcus aureus* TTISTR 1466, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 จากศูนย์เก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) และเก็บรักษาเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ Nutrient Broth/Nutrient Agar (NA/NB), Mueller Hinton Agar (MHA)

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1.4.1 เอทานอลร้อยละ 70, 95และ 99.99

3.1.4.2 2, 2' –diphenyl 1-picrylhydrazyl (DPPH)

3.1.4.3 Folin-ciocalteu's reagent

3.1.4.4 3-(4,5-dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; MTT)

3.1.4.5 ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethylsulfoxide; DMSO)

3.1.4.6 โซเดียมคลอไรด์ (Sodium Chloride; NaCl)

3.1.4.7 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate; Na_2CO_3)

3.1.4.8 โซเดียมไนไตรท์ (Sodium Nitrite; $NaNO_2$)

3.1.4.9 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide; NaOH)

3.1.4.10 อลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium Chloride; $AlCl_3$)

3.1.4.11 กรดแกลลิก (Gallic acid)

3.1.4.12 ควอซิทิน (Quercetin)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4.13 กรดแทนนิก (Tannic acid)

3.1.4.14 วิตามิน อี (α-tocopheral)

3.2.4.15 วิตามินซี (Ascorbic acid)

3.1.4.16 Folin-Denis' reagent

3.1.4.17 Trypsin

3.1.4.18 สารละลายมาตรฐาน McFarland เบอร์0.5

3.1.4.19 ยาปฏิชีวนะซิโปรฟลอกซาซิน (Ciprofloxacin)

3.1.4.20 ยาปฏิชีวะเจนต้ามัยซิน (Gentamycin)

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.5.1 เครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator)

3.1.5.2 ชุดกรองสุญญากาศ

3.1.5.3 เครื่องอบลมร้อน (hot air oven)

3.1.5.4 ตู้ปลอดเชื้อชนิดเป่าลม (laminar air flow hood)

3.1.5.5 เครื่องบดไม้

3.1.5.6 เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง

3.1.5.7 เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์

3.1.5.8 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (Autoclave)

3.1.5.9 เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์

3.1.5.10 เครื่องเบลนเดอร์

3.1.5.11 ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

3.1.5.12 ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.1.5.13 เครื่องผสมสาร (Vortex)

3.1.5.14 Multichanel micropipette ขนาด 300 ไมโครลิตร

3.1.5.15 ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 10 100 1000 ไมโครลิตร

3.1.5.16 ปิเปตขนาด 1,5 และ10 มิลลิลิตร

3.1.5.17 Pipette controller

3.1.5.18 ทิป (tip)

3.1.5.19 บีกเกอร์ขนาด 50, 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร

3.1.5.20 ขวดปรับปริมาตร 10 และ 100 มิลลิลิตร

3.1.5.21 ไมโครเวลเพลท (Microwell plate) ชนิด 96 หลุม

3.1.5.22 จานเพาะเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 35 มิลลิเมตร

3.1.5.23 ขวดดูแรนขนาด 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

3.1.5.24 ช้อนตักสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.5.25 แท่งคนสาร

3.1.5.26 ลวดเขี่ยเชื้อ (loop)

3.1.5.27 หลอดทดลอง

3.1.5.28 แผ่นอลูมิเนียม

3.1.5.29 cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

3.1.5.30 ไม้พันสำลี (Cotton swab)

3.1.5.31 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (alcohol burner)

3.1.5.32 กระดาษกรอง Whatman เบอร์1

3.1.5.33 ขวดแก้วขนาดเล็ก

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างพืชแห้ง

นำทุกส่วนของไมยราบยักษ์ มาแยกส่วนของใบ กิ่งต้น และราก ตากให้แห้งในที่ร่ม สับให้มีขนาดเล็กลง จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงเพื่อทำการลดความชื้น และหยุดกิจกรรมของเอนไซม์ นำมาปั่นให้ละเอียดโดยจะปั่นใบด้วยเบลนเดอร์ และบดกิ่งต้นและรากด้วยเครื่องบดไม้ เก็บผงที่ได้ไว้ในที่แห้ง

3.2.2 การสกัดสารสกัดหยาบและการทำสารสกัดหยาบให้เข้มข้น

นำผงที่ได้มาชั่งน้ำหนัก 200 กรัมใส่ลงในโหลแก้วขนาด 2500 มิลลิลิตรแล้วเติมเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 1,800 มิลลิลิตรที่มีอัตราส่วน 1:9 ปิดฝาให้สนิท แล้วแช่ทิ้งไว้เป็นเวลา 7วัน เมื่อครบกำหนดนำสารสกัดที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์1 ด้วยชุดกรองสุญญากาศ จากนั้นนำส่วนใสที่ได้มาทำให้เข้มข้นโดยนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของต้นไมยราบยักษ์ (ทำการสกัดซ้ำ 3 ครั้ง) จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้เก็บไว้ในขวดแก้วขนาดเล็ก เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ4 องศาเซลเซียส

3.2.3 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคด้วยวิธี Well diffusion

3.2.3.1 การเตรียมจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค โดยเชื้อที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *Bacillus cereus* TTISTR 687, *Escherichia coli* TISTR 780, *Salmonella typhimurium* TTISTR 292, *Staphylococcus aureus* TTISTR 1466 และ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 เขี่ยเชื้อแบคทีเรียจากหลอดอาหารที่เก็บไว้ลงในหลอดอาหาร Nutrient Agar (NA) วุ้นเอียง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นย้ายมาเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็นสต็อกเชื้อสำหรับใช้ในการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้นและรากของไมยราบยักษ์ด้วยวิธี Agar Well diffusion (Collins, 2001)

เตรียมจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารแข็ง Mueller Hinton Agar (MHA) ปริมาณ 20 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารละลายเซลล์แขวนลอยเชื้อแต่ละสายพันธุ์ โดยนำเชื้อที่ใช้ทดสอบมาผสมกับน้ำเกลือปราศจากเชื้อความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (normal saline 0.85%) ปรับให้มีความขุ่นเท่ากับสารละลายมาตรฐาน McFarland 0.5 ซึ่งมีจำนวนเซลล์ประมาณ 1x 10^8 CFU/mL จากนั้นปิเปตสารละลายเซลล์แขวนลอยปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วใช้ไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อ swab ลงบนผิวหน้าของอาหารแข็งด้วยเทคนิคปลอดเชื้อในตู้ปลอดเชื้อ ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าแห้ง แล้วนำ cork borer ปราศจากเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6มิลลิเมตร เจาะอาหารMHA นำสารสกัดหยาบของพืชที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบฤทธิ์เบื้องต้น แล้วจึงเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดในการทดสอบเป็น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยใช้สารสกัดปริมาตร 20 ไมโครลิตร หยดลงในหลุมที่เจาะไว้ โดยใช้เอทานอลร้อยละ95 เป็นชุดควบคุมเชิงลบ (negative control) และใช้ยาปฏิชีวนะซิโพรฟล็อกซาซิน (Ciprofloxacin) หรือใช้ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซินใช้กับเชื้อ *B. cereus* TTISTR 687 เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตรวจผลและบันทึกผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ (inhibition zone) ที่แสดงถึงความสามารถของสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคที่นำมาทดสอบแต่ละชนิด และประมวลผลของข้อมูล

3.2.3.3 การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบไมยราบยักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)

การทดลองหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar dilution ตามวิธีของ Collin และคณะ (2001) ดังนี้ เริ่มจากการเจือจางสารสกัดจาก stock dilution ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ โดยปิเปตสารสกัดในปริมาตรที่แตกต่างกันในแต่ละระดับความเข้มข้นลงในหลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อ และปิเปตน้ำกลั่นปลอดเชื้อลงในหลอดที่มีสารสกัด โดยปริมาตรของสารสกัดรวมกับน้ำกลั่นจะต้องเท่ากับ 2,500 ไมโครลิตร จากนั้นปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อ(MHA) ที่ปราศจากเชื้อและมีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ปริมาตร 2,500 ไมโครลิตรลงไป จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน แล้วนำมาเอียงเพื่อให้ได้หลอดอาหารที่มีผิวหน้าเอียง ซึ่งจะได้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดในหลอดอาหารต่างๆ ดังนี้ 100, 50, 25, 10, 5, 2.5 มิลลิกกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นถ่ายเชื้อจากสารละลายแขวนลอยเซลล์จุลินทรีย์แต่ละชนิดลงบนผิวหน้าอาหาร 1 ลูปด้วยเทคนิค Simple streak จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจดูผลการทดลองโดยตรวจดูการเจริญของเชื้อที่แต่ละระดับความเข้มข้น ของสารสกัด รายงานผลเป็นค่า MIC (Minimum

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

inhibitory concentration) ซึ่งก็คือระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้

สำหรับชุดควบคุมเชิงลบ ใช้สารละลายเอทานอลร้อยละ 95 ส่วนชุดควบคุมเชิงบวกจะใช้ยาปฏิชีวนะซิโปรฟลอกซาซิน (Ciprofloxacin) หรือใช้ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซินสำหรับเชื้อ *B. cereus* TTISTR 687

3.2.3.4 การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากไมยราบยักษ์ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum bactericidal concentration)

ทำการทดลองตามวิธีของ Malekzadeh และคณะ (2001) โดยทำการถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารที่ไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ หลังจากหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยวิธี Agar dilution มาลากบนผิวหน้าอาหารMHA ที่ไม่มีการเติมสารสกัดด้วยเทคนิค Simple streak นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจผลการทดลองโดยตรวจดูการเจริญของเชื้อบนผิวหน้าอาหารในหลอดทดลอง แสดงผลเป็นค่า MBC ที่เป็นระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดที่สามารถทำลายหรือฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้

3.2.4 การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH (DPPH reduction scavenging assay)

การเตรียมสารละลาย DPPH (ความเข้มข้น 0.1mM)

ชั่ง DPPH 0.0039 กรัม ละลายในเอทานอลร้อยละ 99.99 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร ผสมให้เข้ากัน จะได้สารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.1mM

ขั้นตอนการดำเนินการ

นำสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์เจือจางด้วยเอทานอลร้อยละ 99.99 ให้มีความเข้มข้น 8, 4, 2, 1, 0.5 และ0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 10ไมโครลิตร หยดลงในจานไมโครเวลเพลทขนาด 96หลุม (96-well plate) และหยดสาร DPPH ปริมาตร 190ไมโครลิตรตามลงไป โดยทดลองซ้ำจำนวน 3 ซ้ำ จากนั้นนำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30นาที เมื่อครบกำหนดนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517นาโนเมตรด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ โดยใช้วิตามินอี (α-tocopherol) และวิตามินซี (Ascorbic acid)เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) และเอทานอลร้อยละ 99.99 เป็นชุดควบคุมเชิงลบ (negative control) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเปรียบเทียบกับผลชุดควบคุมเชิงบวกและนำไปคำนวณหาร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระ (Free Radical Scavenging)

ร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระคำนวณได้ดังสมการ

$$\% \text{ DPPH reduction} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

โดยที่ A คือ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของแบลงก์(Blank)

B คือ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของตัวอย่าง

สำหรับการประเมินค่า IC_{50} ของสารที่มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระทำได้โดยเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดที่นำมาทดสอบเทียบกับ % DPPH reduction ที่ได้จากการคำนวณจากนั้นจะหาค่า IC_{50} จากการวิเคราะห์กราฟ

3.2.5 การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Follin-Ciocalteu Reagent

ทำการทดลองด้วยวิธีการของ Aline และคณะ (2005) ดังนี้ ทำกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกโดยเตรียมกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ให้ได้ความเข้มข้นของกรดแกลลิก 5ระดับ ได้แก่ 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำ 5 ซ้ำ โดยการเติมสาร Folin-ciocalteu's reagent 100 ไมโครลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร เขย่าและวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30นาที หลังจากนั้นทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร แล้วทำกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกระหว่างปริมาณกรดแกลลิกหน่วยมิลลิกรัมต่อค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร การหาฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดโดยชั่งสารสกัด 0.1 มิลลิลิตร ละลายในเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารสกัดปริมาตร 20ไมโครลิตร เติมลงในไมโครเวลเพลท (Microwellplate) ชนิด 96 หลุม หลังจากนั้นเติมสาร Folin-ciocalteu's reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร เขย่าและวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ ห้องเป็นเวลา30นาที หลังจากนั้นทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสงจะได้ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg of gallic acid equivalent (GAE) / g extract) และคำนวณหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับกรดแกลลิกที่น้ำหนักแห้ง 100 กรัมของใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.6 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด (Kathirvel และ Sujatha, 2012)

ปิเปตสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ ที่ความเข้มข้น 1มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมโฟลิน-เดนิช (Folin-Denis' reagent) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากันอีกครั้ง จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบแทนนินจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานกรดแทนนิก รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด (mg of tannic acid equivalent (TAE)/ g of extract)

เตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิกความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทดลองเช่นเดียวกับสารตัวอย่างข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่างๆแทนสารสกัดหยาบของตัวอย่าง และใช้เอทานอลร้อยละ 95เป็นแบลงก์ เมื่อได้ผลการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่างๆ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาพล็อตกราฟมาตรฐานจะแสดงความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดที่มีในตัวอย่าง

3.2.7 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Kathirvel และ Sujatha,2012)

ปิเปตสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเอทานอล 95% ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตรและสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5นาที จากนั้นเติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($Alcl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตรลงไป ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)ความเข้มข้น 1โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของควอซิทิน จากนั้นรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด (mg of quercetin equivalent (QE)/ g of extract)

เตรียมสารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทดลองเช่นเดียวกับสารตัวอย่างข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้นต่างๆแทนสารสกัดหยาบของตัวอย่าง และใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นแบลงก์ เมื่อได้ผลการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของสารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นต่างๆ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มา พล็อตกราฟมาตรฐานจะแสดงความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่มีในตัวอย่าง

3.2.8 การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) โดยวิธี MTT

3.2.8.1 การเตรียมสารตัวอย่าง

ชั่งสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ 0.1 กรัมลงในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ที่ปราศจากเชื้อแล้วเติม DMSO จำนวน 1มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 100,000ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ให้มีความเข้มข้น 1000, 100, 10, 1 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2.8.2 การเตรียมสารละลายในการทดสอบ

เตรียม stock สารสกัดที่ใช้ในการทดสอบ โดยใช้สารละลาย DMSO เป็นตัวทำละลายความเข้มข้นตั้งต้น ประมาณ 100,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ห่อหุ้มด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์ และเก็บในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

ชั่งสาร MTT 50 มิลลิกรัมลงใน PBS 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายMTT ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะได้สารละลายสีเหลือง เก็บสารละลายในขวดที่ปราศจากเชื้อ ห่อหุ้มด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์ และเก็บในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

3.2.8.3 การวางแผนการทดสอบ

วางแผนการทดสอบโดยเตรียมแผนผังของภาชนะเพาะเลี้ยง นั่นคือจานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 96หลุม (96-well plate) ปลูกเซลล์ Hela ลงในจานเพาะเลี้ยง โดยให้มีจำนวนเซลล์มีชีวิตเท่ากับ 1×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100ไมโครลิตรต่อหลุม ทำการทดสอบซ้ำ 5ซ้ำ นำจานเพาะเลี้ยงที่ปลูกเซลล์เรียบร้อยแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37องศาเซลเซียส 5% CO_2 เป็นเวลา 24ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด นำจานเพาะเลี้ยงเซลล์มาดูดอาหารออกจากแต่ละคอลัมน์ แล้วเติมสารสกัดแต่ละความเข้มข้นลงไป จากนั้นนำไปบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิ 37องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48ชั่วโมง เมื่อบ่มเซลล์จนครบกำหนดแล้ว ดูดสารละลาย MTT ความเข้มข้น 5มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ลงไปในแต่ละหลุมที่ทดสอบ ปริมาตร 10ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำสารละลาย MTT ทิ้งแล้วเติมสารละลาย DMSO 150ไมโครลิตรต่อหลุม เพื่อละลายผลึกฟอร์มาซานจะได้สารละลายสีเหลืองหรือสีม่วง นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตรด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ โดยตั้งโปรแกรมการเขย่านาน5 วินาที บันทึกค่าการดูดกลืนแสง และนำค่าที่ได้มาคำนวณ(% cytotoxicity) ของแต่ละความเข้มข้น ดังสมการต่อไปนี้

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

โดย A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่มีเซลล์ในสารสกัดแต่ละความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำผลการคำนวณค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ (% cytotoxicity) คำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 (CC_{50})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 สารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้ในการทดลอง

สารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้ในการทดลองนั้นได้มาจากส่วนของใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ที่เจริญในอำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก โดยนำมาผ่านกระบวนการอบแห้งและบดให้เป็นผงละเอียด จากนั้นนำมาสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 จนได้สารสกัดหยาบ นำสารสกัดที่ได้มาทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ จะได้ปริมาณสารสกัดหยาบเข้มข้นของใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ ปริมาณสารสกัดหยาบจากส่วนใบ 1,000 กรัมน้ำหนักแห้ง จะได้สารสกัดหยาบ 56.9800 กรัม (0.0569 กรัมสารสกัดหยาบต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) ส่วนกิ่งต้น 5,500 กรัมน้ำหนักแห้ง จะได้สารสกัดหยาบ 14.8840 กรัม (0.0027 กรัมสารสกัดหยาบต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) และส่วนของราก 1,000 กรัมน้ำหนักแห้ง จะได้สารสกัดหยาบ 21.8291 กรัม (0.0218 กรัมสารสกัดหยาบต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)

4.2 สมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบไมยราบยักษ์

ทดสอบโดยการนำสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 5 ชนิดได้แก่ *Bacillus cereus* TTISTR 687, *Staphylococcus aureus* TTISTR 1466, *Escherichia coli* TISTR 780, *Salmonella typhimurium* TTISTR 292, และ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 โดยวิธี Agar well Diffusion และ ทำการวัดความกว้างของบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรอบหลุมทดสอบที่มีสารสกัดหยาบ โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเริ่มต้นที่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นการทดสอบเบื้องต้น พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจึงเพิ่มความเข้มข้นในการทดสอบเป็น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ยาเจนต้ามัยซินและซิโพรฟล็อกซาซินเป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) และเอทานอลร้อยละ 95 เป็นชุดควบคุมเชิงลบ (negative control)

จากการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ พบว่าสารสกัดทั้งสามส่วนของไมยราบยักษ์ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียสังเกตได้จากบริเวณรอบหลุมทดสอบที่ไม่มีบริเวณของโซนยับยั้ง (inhibition zone) จึงได้เพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดขึ้นเป็น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบจากกิ่งต้น ของไมยราบยักษ์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ได้ 1 ชนิด จากจำนวนทั้งหมด 5 ชนิด โดยสารสกัดหยาบจากรากของไมยราบยักษ์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรีย ได้ 2 ชนิด จากจำนวนทั้งหมด 5 ชนิด ส่วนสารสกัดหยาบจากใบของไมยราบยักษ์นั้นไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบจาก รากของไมยราบยักษ์นั้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดีที่สุดคือมีเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* เท่ากับ 7.92 มิลลิเมตร เมื่อเทียบกับ สารสกัดหยาบจาก กิ่งต้นของไมยราบยักษ์ มีเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* เท่ากับ 7.86 มิลลิเมตรและสารสกัดหยาบจากรากไมยราบยักษ์มีเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* เท่ากับ 7.17 มิลลิเมตร

4.2.1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TTISTR 687 ของสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

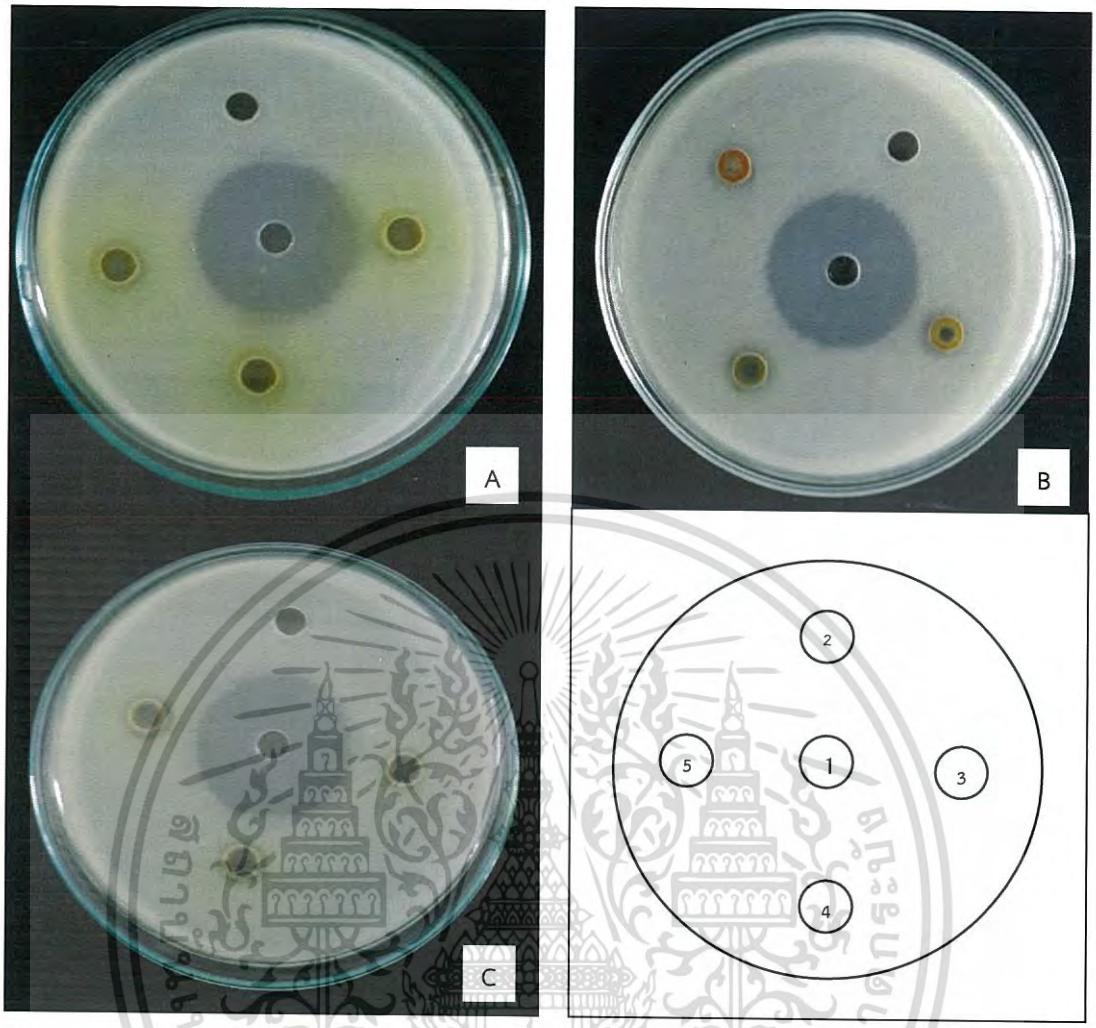
จากการทดสอบสารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าทั้งส่วนของใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TTISTR 687 โดยสังเกตจากบริเวณยับยั้งรอบหลุมทดสอบ จึงเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดจากกิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* TTISTR 687 โดยบริเวณการยับยั้งการเจริญของกิ่งต้น และรากมีค่าเท่ากับ 7.86 และ 7.92 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งส่วนของใบไมยราบยักษ์นั้นไม่พบบริเวณการยับยั้ง

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* TTISTR 687

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
ใบ	100	-
	200	-
กิ่งต้น	100	-
	200	7.86^{b} ±0.52
ราก	100	-
	200	7.92^{b} ±0.81
ชุดควบคุม	**ความเข้มข้น**	**บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)**
Gentamicin	10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	28.82^{a} ±0.01
Ethanol	ร้อยละ 95	0.00^{c} ±0.00

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 แสดงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* TTISTR 687 ของสารสกัดหยาบจากไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ A : สารสกัดหยาบจากใบ B : สารสกัดหยาบจากกิ่งต้น
C : สารสกัดหยาบจากราก
1 : ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน (Gentamicin) 2 : เอทานอลร้อยละ 95
3 – 5 : สารสกัดหยาบจากแต่ละส่วนของไมยราบยักษ์

4.2.2 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TTISTR 1466 ของสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

จากการทดสอบสารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าทั้งส่วนของใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* TTISTR 1466 โดยสังเกตจากบริเวณยับยั้งรอบหลุมที่ทดสอบไม่เกิดโซนการยับยั้ง จึงเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดจากกิ่งต้น และ ใบของไมยราบยักษ์ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* TTISTR 1466 บริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อพบเฉพาะในสารสกัดจากราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

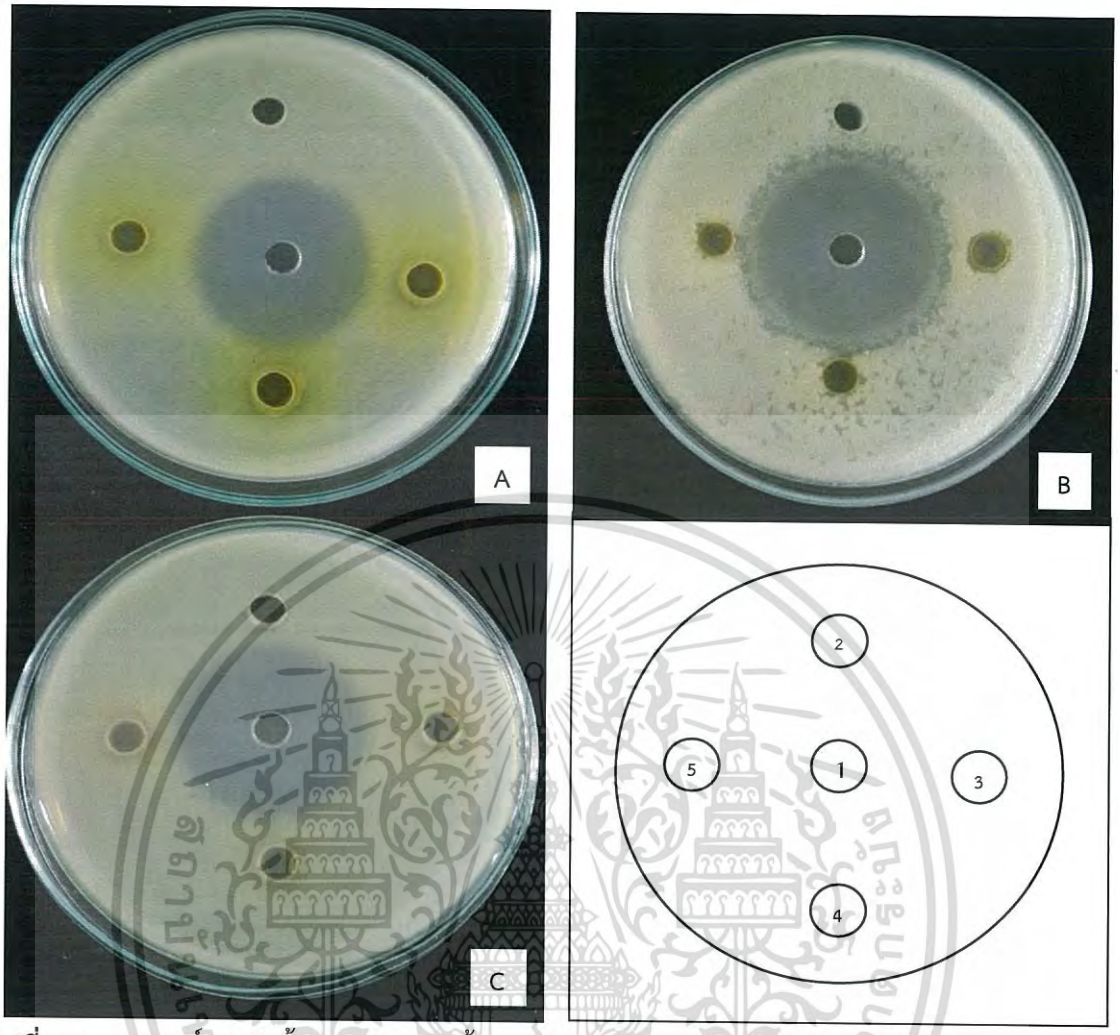
มีค่าเท่ากับ 7.17 มิลลิเมตร (ตารางที่ 4.2) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Debashisha และคณะ (2012) ที่ทำการศึกษาประสิทธิภาพของการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากรากไมยราบโดยใช้วิธี disk diffusion พบว่าสารสกัดจากรากไมยราบสามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ *Bacillus* sp. และ *S. aureus* แต่ในงานวิจัยของ Sadia และคณะ(2008) ที่ทำการศึกษาการยับยั้งแบคทีเรียของส่วนที่แตกต่างกันของไมยราบ พบว่าสารสกัดหยาบจากกิ่งต้น และรากของไมยราบนั้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus* sp. และ *S. aureus* ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้แบคทีเรียที่ต่างสายพันธุ์กัน รวมถึงแหล่งที่มาของไมยราบที่ปลูกในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันของในแต่ละประเทศทำให้การเจริญเติบโตของไมยราบนั้นแตกต่างกัน จึงมีผลต่อชนิดและปริมาณของสารที่มีในสารสกัดหยาบที่ได้จากไมยราบซึ่งส่งผลต่องานวิจัยนี้ด้วย

ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงความเข้มข้นและชนิดของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* TTISTR 1466

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)
ใบ	100	-
	200	-
กิ่งต้น	100	-
	200	-
ราก	100	-
	200	7.17^{b} ±0.04
ชุดควบคุม	**ความเข้มข้น**	**บริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (มิลลิเมตร)**
Ciprofloxacin	10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	31.32^{a} ±0.01
Ethanol	ร้อยละ 95	0.00^{c} ±0.00

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* TTISTR 1466 ของสารสกัดหยาบจากไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

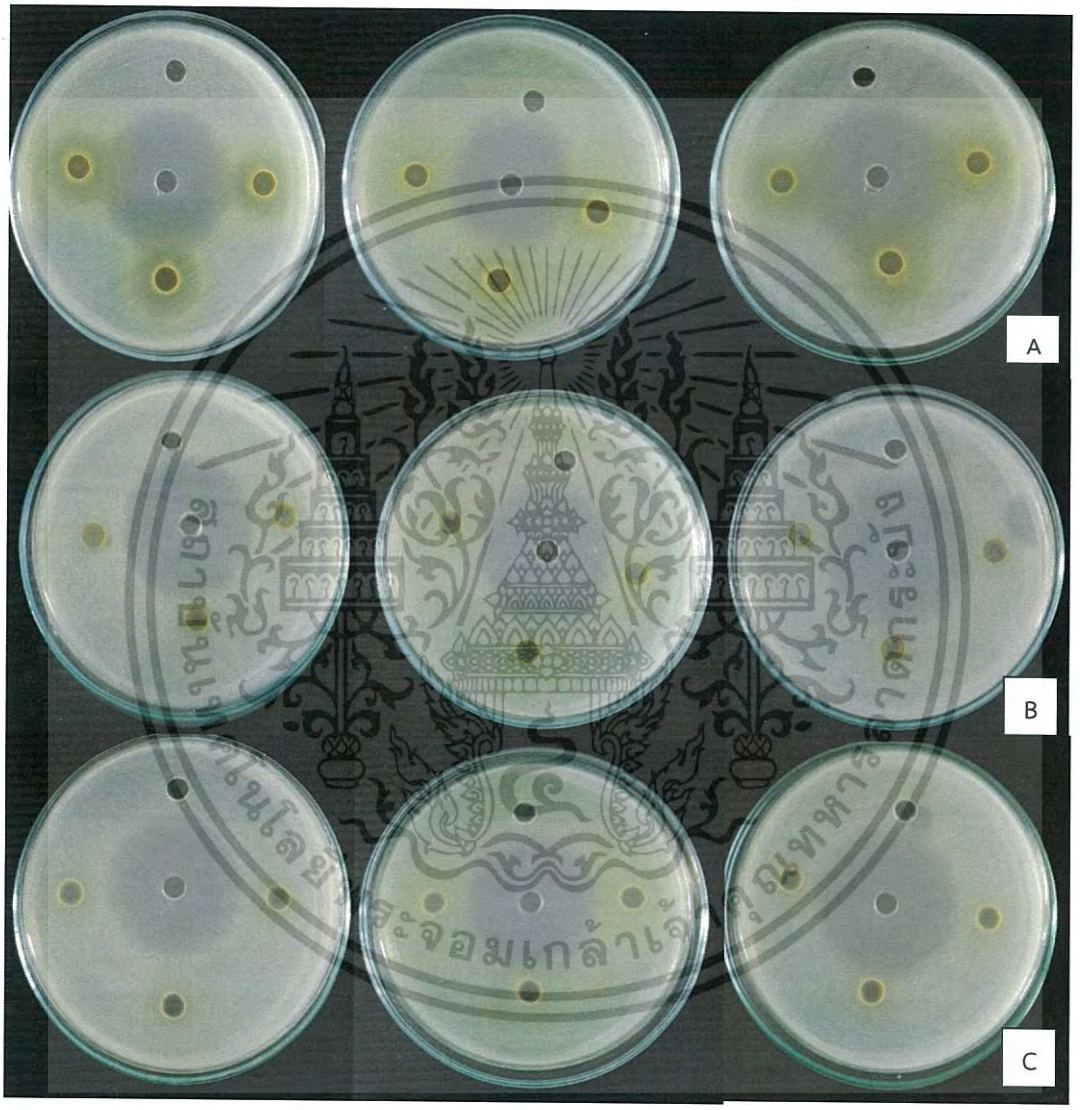
หมายเหตุ A : สารสกัดหยาบจากใบ B : สารสกัดหยาบจากกิ่งต้น
C : สารสกัดหยาบจากราก
1 : ยาปฏิชีวนะซิโพรฟล็อกซาซิน 2 : เอทานอลร้อยละ 95
3 – 5 : สารสกัดหยาบจากแต่ละส่วนของไมยราบยักษ์

4.2.3 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 780, *Salmonella typhimurium* TTISTR 292, และ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 ของสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

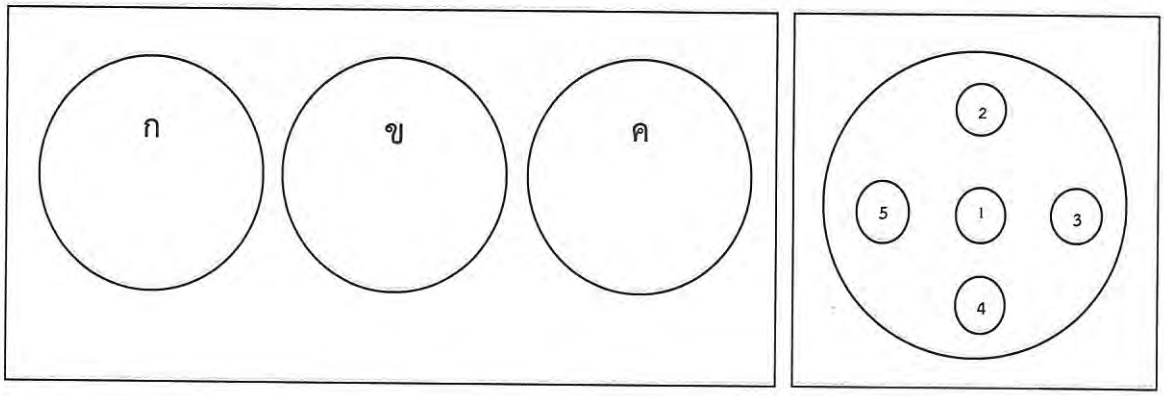
จากการทดสอบสารสกัดเบื้องต้นที่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่พบฤทธิ์ในการยับยั้งจึงทดสอบสารสกัดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าทั้งส่วนของใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* TISTR 780, *S. typhimurium* TTISTR 292, และ *P. aeruginosa* TISTR 781 โดยสังเกตจากบริเวณยับยั้งรอบหลุมทดสอบที่ไม่เกิดโซนการยับยั้งจึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าไม่มีสารสกัดของไมยราบยักษ์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* TISTR 780, *S. typhimurium* TTISTR 292, และ *P. aeroginosa* TISTR 781 เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบนั้นจะมีผนังเซลล์ชั้นนอกซึ่งเป็นสารประกอบในกลุ่ม lipopolypeptide จึงทำให้ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบแข็งแรงกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ทำให้แบคทีเรียแกรมบวกนั้นมีความไวต่อสารสกัดมากกว่า (Quattara และคณะ, 1997)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3. แสดงฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ*Escherichia coli* TISTR 780, *Salmonella typhimurium* TTISTR 292, และ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781ของสารสกัดหยาบจากไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ A : สารสกัดหยาบจากใบ B : สารสกัดหยาบจากกิ่งต้น
C : สารสกัดหยาบจากราก
1 : ยาปฏิชีวนะซิโพรฟล็อกซาซิน 2 : เอทานอลร้อยละ 95
3 – 5 : สารสกัดหยาบจากแต่ละส่วนของไมยราบยักษ์
ก : เชื้อ *E. coli* TISTR 780 ข : เชื้อ *P. aeruginosa* TISTR 781
ค : เชื้อ *S. typhimurium* TTISTR 292

4.2.4 การทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ในการยับยั้งการเจริญและการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)

จากผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้น 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรนั้นพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่พบการยับยั้งการเจริญนั้นอยู่ที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จึงวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ในการยับยั้งการเจริญ (MIC) ด้วยวิธี Agar dilution ที่ความเข้มข้น 100, 50, 25 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบจาก กิ่งต้นและรากของไมยราบยักษ์สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* มี และเชื้อ *S. aureus* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดหยาบจากใบของไมยราบยักษ์นั้นไม่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของของเชื้อ *B. cereus* และ *S. aureus* (ตารางที่ 4.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 สมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากกิ่งต้นและรากของไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้นต่ำสุดด้วยวิธีเจือจางในอาหารแข็ง(Agar dilution)

ชนิดของสารสกัด	ค่า MIC(มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		ค่า MBC(มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	B. cereus TTISTR 687	*S. aureus* TTISTR 1466	*B. cereus* TTISTR 687	*S. aureus* TTISTR 1466
กิ่งต้น	10	10	25	25
ราก	10	10	25	25

4.3 สมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) โดยวิธี MTT

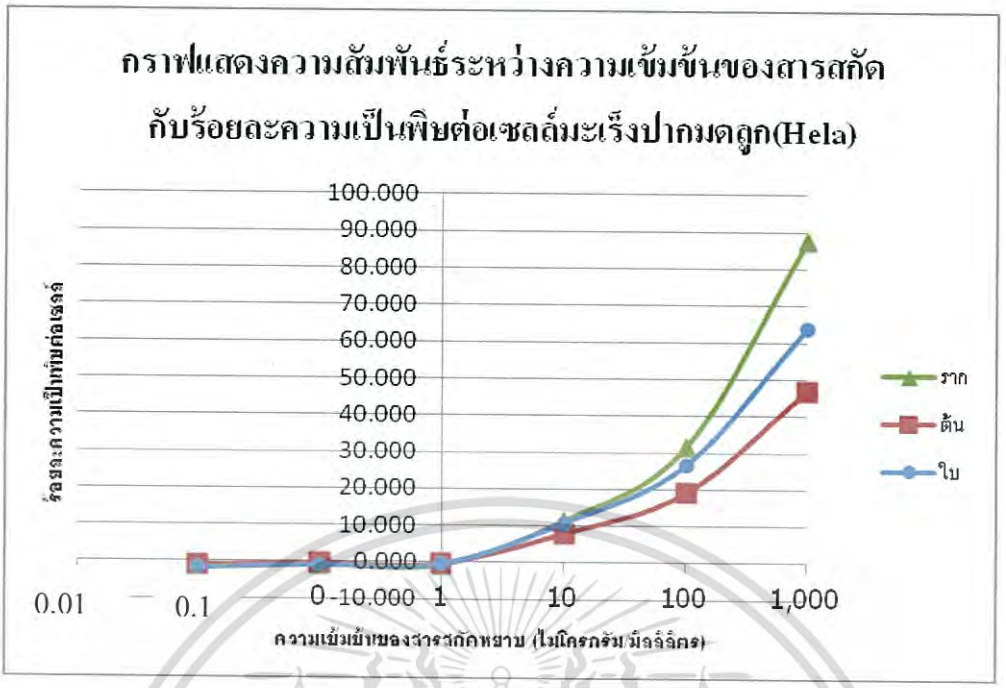
จากการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ในสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ โดยทำการเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดหยาบให้มีความเข้มข้นที่ 0.01, 0.1, 1, 10, 100 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำสารสกัดทั้งหมดมาทดสอบกับเซลล์มะเร็ง 5 ซ้ำเพื่อหาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกทุกความเข้มข้น โดยพบว่าที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนของไมยราบยักษ์ที่มีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) สูงที่สุดคือราก ที่มีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เท่ากับ ร้อยละ 87.27 รองลงมาคือใบและกิ่งต้น ที่มีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เท่ากับ ร้อยละ 63.66 และร้อยละ 46.64 ตามลำดับ (ตารางที่4.4) และเมื่อลดระดับความเข้มข้นลงที่ 100 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรพบว่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกได้ลดลงตามลำดับ แต่เมื่อถึงระดับความเข้มข้น1, 0.1 และ 0.01 นั้นร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์จะมีค่าติดลบ แสดงว่าสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้นต่ำจะมีฤทธิ์ส่งเสริมการเจริญของเซลล์

ตารางที่ 4.4 แสดงร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากไมยราบยักษ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ		
	ใบ	กิ่งต้น	ราก
1000	63.66^{a} ±0.50	46.64^{a} ±0.66	87.27^{a} ±1.08
100	26.61^{b} ±1.29	19.03^{b} ±0.50	31.47^{b} ±5.33
10	10.73^{c} ±0.86	7.87^{c} ±1.51	11.16^{c} ±1.55
1	-0.57^{d} ±2.36	-0.29^{d} ±0.66	-0.86^{d} ±1.36
0.1	$-0.86^{d\pm}$0.86	-0.29^{d} ±0.89	-1.00^{d} ±1.38
0.01	-1.86^{d} ±1.73	-0.72^{d} ±1.51	-1.14^{d} ±1.08

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระกับความเชื่อมั่นร้อยละ 95($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 แสดงกิจกรรมความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ของสารสกัดหยาบจากไมยราบยักษ์

ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของพืชสามารถแสดงในรูปของค่าCC_{50} (Cytotoxic Concentration) หรือค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่เป็นพิษต่อเซลล์ลดลงร้อยละ 50

ตารางที่ 4.5 ค่า CC_{50}ของความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกของสารสกัดหยาบจาก ใบ กิ่งต้น และ รากของไมยราบยักษ์

สารสกัดหยาบ	ค่า CC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
ใบ	746.39
กิ่งต้น	1050.85
ราก	531.92

นอกจากนี้ยังพบว่าที่ระดับร้อยละความพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกร้อยละ 50 ส่วนของรากจะใช้ความเข้มข้นของสารสกัดที่น้อยสุดคือเท่ากับ 531.92 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือใบและส่วนของกิ่งต้นจะใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเพื่อเป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ50เท่ากับ 746.39 และ 1050.85 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากงานวิจัยของศรินรัตน์ และคณะ(2554) ซึ่งทำการศึกษาเกี่ยวกับการสกัดและการตรวจสอบสารสำคัญทางพฤษเคมีเบื้องต้นจากไมยราบ โดยมีการทดสอบฤทธิ์ต้านมะเร็งในช่องปาก มะเร็งเต้านม และมะเร็งปอด พบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากส่วนเหนือดินของไมยราบแห้งมีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งในช่องปาก และมะเร็งปอด ซึ่งในส่วนสกัดเอทิลอะซิเตตพบสารฟลาโวนอยด์ที่ไม่พบในส่วนสกัดอื่นๆ จึงคาดว่าฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งน่าจะเป็นผลเนื่องมาจากสารฟลาโวนอยด์ ทั้งนี้เคยมีรายงานการศึกษาค้นคว้าในหลอดทดลองโดยนำสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์จำนวน55 ชนิด มาทดสอบกับเซลล์มะเร็งจำนวน 5 ชนิดคือ A-549 lung carcinoma, MCF-7 breast carcinoma, HT-29 colon adenocarcinoma, SKMEL-5 melanoma และ MLM melanoma พบว่าฟลาโวนอยด์จำนวน 15 ชนิดจากทั้งหมด 55 ชนิด แสดงฤทธิ์ต้านมะเร็งดังกล่าวอย่างน้อย 1 ชนิด Cushman และคณะ (1991) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่พบว่า สารสกัดจากใบ กิ่งต้น และราก ของไมยราบยักษ์นั้นพบสารฟลาโวนอยด์ และสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งปากมดลูก จึงคาดว่าฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งปากมดลูกของไมยราบยักษ์น่าจะเป็นผลเนื่องมาจากสารฟลาโวนอยด์เช่นเดียวกัน

4.4 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบไมยราบยักษ์

4.4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบไมยราบยักษ์

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย และใช้วิธีการทดสอบด้วยสารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent แล้วเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดจากไมยราบยักษ์กับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (Gallic acid) พบว่า ส่วนที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดคือส่วนของใบ มีปริมาณสารประกอบฟีนอกลิกทั้งหมดเท่ากับ 1,251.53 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาคือส่วนของรากเท่ากับ 722.83 มิลลิกรัม ของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และส่วนของกิ่งต้นนั้นจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุด เท่ากับ 423.69 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

สารสกัดหยาบ	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง)
ใบ	1251.52627[a] ±12.864085	71.2118
กิ่งต้น	423.68740[c] ±2.114834	1.1440
ราก	722.83273[b] ±51.975076	15.7578

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาตามสัดส่วนของน้ำหนักแห้งต่อสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในพืช พบว่าส่วนของใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเทียบเท่ากับ 71.21, 1.14 และ 15.76 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

จากการวิจัยของกล่าวขวัญ และคณะ (2557) ที่ได้วิเคราะห์สารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดเอทานอลของสมุนไพร 15 ชนิด ที่มีไมยราบพืชในวงศ์ Mimosaceae เป็น 1 ใน 15 ของพืชที่ใช้วิเคราะห์ ในการวิเคราะห์จะใช้ส่วนต้นของไมยราบ ที่พบปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 24.6±2.8 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกสมมูลต่อกรัมของสารสกัด หรือร้อยละ 3.5 ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าผลการทดลองที่ได้ เนื่องจากเป็นพืชที่ต่างสปีชีส์และต่างพื้นที่ในการเจริญ จึงอาจเป็นปัจจัยที่ทำให้ค่าที่ได้ต่างกันออกไป

และงานวิจัยของ นฤมล (2557) ได้วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของไมยราบ ที่เจริญในจังหวัดชัยภูมิ โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 65.42 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด และชี้ให้เห็นว่าสารสกัดไมยราบมีศักยภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากแหล่งธรรมชาติ โดยสารประกอบฟีนอลิกนั้นเป็นสารกลุ่มใหญ่ที่มีสูตรโครงสร้างและคุณสมบัติแตกต่างกันออกไปโดยจะมีสารจำพวกสารประกอบแทนนิน และสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมอยู่ด้วย ดังนั้นค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดนั้นอาจรวมไปถึงปริมาณสารประกอบแทนนิน และสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมอยู่ด้วยเช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบไมยราบยักษ์

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย แล้วทำการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก พบว่าส่วนที่มีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดมากที่สุดคือส่วนของราก มีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 150.08 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด ส่วนที่มีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดรองลงมาคือส่วนของใบ และกิ่งต้นเท่ากับ 70.41 และ 5.36 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ

ตารางที่ 4.7 แสดงปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

สารสกัดหยาบ	ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด)	ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง)
ใบ	70.40^{b} ±5.63	4.0061
กิ่งต้น	5.36^{c} ±4.87	0.0145
ราก	150.08^{a} ±12.27	3.2718

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระกับความเชื่อมั่นร้อยละ 95($p \leq 0.05$)

4.4.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบไมยราบยักษ์

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย แล้วทำการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานควอซิทิน พบว่าส่วนที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดคือใบ มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ 262.35 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด ส่วนที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รองลงมาคือรากและกิ่งต้นเท่ากับ 221.18 และ198.82 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ

ตารางที่4.8 แสดงปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

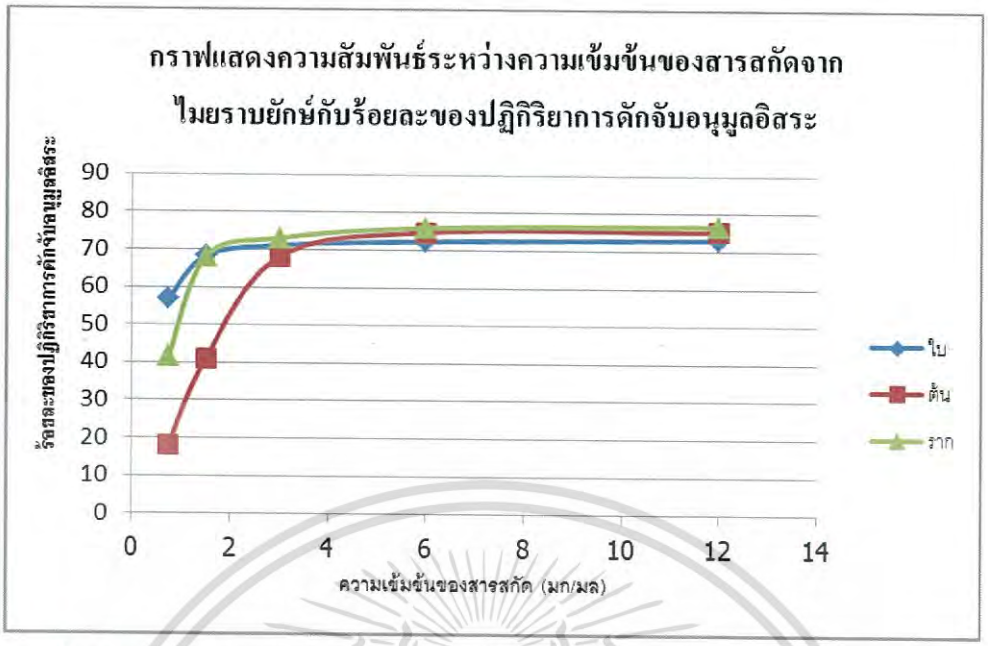
สารสกัดหยาบ	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด(มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด)	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด(มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด)
ใบ	262.35 ^{a} ±2.03	14.927
กิ่งต้น	198.82 ^{c} ±1.17	0.5368
ราก	221.17 ^{b} ±1.17	4.8216

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระกับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

4.4.4 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH (DPPH reduction scavenging assay)

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH ในสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 12, 6, 3, 1.5 และ0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรนั้นส่วนของรากมีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ ร้อยละ 76.69 รองลงมาคือกิ่งต้น เท่ากับร้อยละ 75.26 โดยทั้งส่วนของราก และกิ่งต้นนั้นมีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าวิตามินอีที่ความเข้มข้น 10 mM ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกที่มีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 73.29 แล้วส่วนของใบนั้นมีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดคือ ร้อยละ 72.24 ซึ่งเมื่อเทียบกับความเป็นพิษต่อเซลล์นั้นส่วนของรากที่มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงส่วนอื่นๆของไมยราบยักษ์ มีความสอดคล้องกับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ที่สูงกว่าส่วนอื่นๆของไมยราบยักษ์เช่นเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากไมยราบยักษ์

ตารางที่ 4.9 ร้อยละการลดลงของอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์และวิตามินอี (positive control)

ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระ		
	ใบ	กิ่งต้น	ราก
12	72.24^{a} ±1.178	75.26^{a} ±0.60	76.69^{a} ±0.55
6	72.24^{a} ±0.55	74.62^{a} ±0.55	75.82^{a} ±0.77
3	71.15^{a} ±0.24	68.10^{b} ±1.08	73.03^{b} ±.048
1.5	68.26^{b} ±0.24	40.81^{c} ±0.24	68.02^{c} ±0.24
0.75	56.88^{c} ±0.14	18.22^{d} ±0.55	41.62^{d} ±0.60
ตัวควบคุมเชิงบวก ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมล	ร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระ		
วิตามินอี (α-tocopherol)	73.44		
วิตามินซี (Ascorbic acid)	81.82		

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ สามารถแสดงในรูปของค่า IC_{50} (Inhibition concentration 50%) หรือค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระลดลงร้อยละ 50 ด้วยโปรแกรม Graphpad prims (v. 5.0) ดังแสดงในตารางที่4.10

ตารางที่ 4.10 ค่า IC_{50} ของการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

สารสกัดหยาบ	ค่า IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ใบ	0.621
กิ่งต้น	1.861
ราก	0.939

เมื่อพิจารณาค่า IC_{50} พบว่าสารสกัดจากส่วนของใบ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.621 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบนั้นมีความสามารถในการลดความเข้มข้นของอนุมูล อิสระ DPPH ลงได้ร้อยละ 50 จากความเข้มข้นของ DPPH เริ่มต้นได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดจากส่วนอื่นๆของไมยราบยักษ์ ดังงานวิจัยของ Sadia และคณะ (2008) ที่ทำการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) จากไมยราบซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Mimosaceae ที่มีไมยราบยักษ์รวมอยู่ด้วย โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ซึ่งพบว่าส่วนบนดินของไมยราบสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ปานกลางโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 296.92 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (0.2969 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าไมยราบส่วนที่อยู่ใต้ดินซึ่งก็สอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้

และงานวิจัยของ นฤมล (2557) ที่ได้วิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระของไมยราบ จากจังหวัดชัยภูมิ ซึ่งใช้วิธีABTS assay โดย ABTS จะถูกเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระเมื่อเติมโซเดียมเปอร์ซัลเฟต ($Na_2S_2O_8$) ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร พบว่ามีค่า IC_{50} 0.08±0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งให้ผลดีกว่าจากผลการทดลองที่ได้ อาจเป็นเหตุจากเป็นพืชที่ต่างสปีชีส์กัน และใช้วิธีการวิเคราะห์ต่างกัน จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ผลการทดลองมีค่าที่แตกต่างกันออกไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการนำสารสกัดของใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ (*Mimosa pigra*) ที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มาวิเคราะห์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ความเป็นพิษต่อเซลล์ และสารพฤกษเคมีที่ประกอบด้วยการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบแทนนินทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด รวมถึงการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH Radical Scavenging โดยจากการวิเคราะห์สมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ โดยทดสอบกับแบคทีเรีย 5 ชนิด คือ *Bacillus cereus* TTISTR 687, *Staphylococcus aureus* TTISTR 1466, *Escherichia coli* TISTR 780, *Salmonella typhimurium* TTISTR 292 และ *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 โดยวิธี Agar well Diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากกิ่งต้นของไมยราบยักษ์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ได้ 1 ชนิด สารสกัดหยาบจากรากของไมยราบยักษ์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรีย ได้ 2 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) คือ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถทำลายจุลินทรีย์ (MBC) คือ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าสารสกัดจากใบไมยราบยักษ์นั้นไม่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้ง 5 ชนิดที่กล่าวมาข้างต้น

สารสกัดหยาบของรากไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TTISTR 687 ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดจากส่วนอื่นๆ ของไมยราบยักษ์ โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 7.92 มิลลิเมตร และสามารถยับยั้ง *S. aureus* TTISTR 1466 โดยมีบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 7.17 มิลลิเมตร สำหรับเชื้อ *E. coli* TISTR 780, S. *typhimurium* TTISTR 292, และ *P. aeruginosa* TISTR 781 พบว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

สารสกัดหยาบของกิ่งต้นไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TTISTR 687 ได้ใกล้เคียงกับสารสกัดรากของไมยราบยักษ์ โดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 7.86 มิลลิเมตร สำหรับการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* TTISTR 1466, *E. coli* TISTR 780, *S. typhimurium* TTISTR 292, และ *P. aeruginosa* TISTR 781 ไม่พบบริเวณการยับยั้ง

จากการนำสารสกัดใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์มาวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ด้วยวิธี MTT โดยทำการเจือจางสารสกัดหยาบแต่ละส่วนให้มีความเข้มข้นที่ระดับ 0.01, 0.1, 1, 10, 100 และ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดของรากไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มดลูกสูงสุดเท่ากับร้อยละ 87.27 สารสกัดหยาบจากใบ และกิ่งต้นมีค่าความเป็นพิษต่อเซลล์เท่ากับร้อยละ 63.66 และ 46.64 ตามลำดับ โดยพบว่าสารสกัดจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ที่ระดับความเข้มข้น 0.01 จนถึง 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรจะมีฤทธิ์ในการส่งเสริมการเจริญของเซลล์มะเร็ง ในขณะที่การใช้สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นในระดับสูงๆ อย่างเช่น 1,000 ต่อมิลลิลิตร ทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งอย่างมีประสิทธิภาพ โดยพบว่าตั้งแต่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความเป็นพิษต่อเซลล์จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารที่มากขึ้น

จากการวิเคราะห์สารพฤกษเคมีของสารสกัดใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์พบว่าสารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในปริมาณสูงที่สุดคือ สารสกัดหยาบจากใบ โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1,251.53 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากราก และกิ่งต้น มีปริมาณเท่ากับ 722.83 และ 423.69 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ

สารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในปริมาณสูงที่สุดคือส่วนของราก โดยมีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 151.08 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาคือสารสกัดจากใบ และกิ่งต้น มีปริมาณเท่ากับ 70.41 และ 5.36 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด

สารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณสูงที่สุดคือสารประกอบจากใบมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 262.35 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาคือสารสกัดจากรากและกิ่งต้น มีปริมาณเท่ากับ 221.18 และ 198.82 มิลลิกรัมควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด

สำหรับการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดหยาบจากราก มีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุดเมื่อเทียบกับสารสกัดหยาบจากส่วนอื่นคือ ร้อยละ 76.69 รองลงมาคือสารสกัดจากกิ่งต้นและใบ เท่ากับร้อยละ 75.26 และ ร้อยละ 72.24 ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองสารสกัดเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ พบว่าสารสกัดจากใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ มีสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย และความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกรวมทั้งการต้านสารอนุมูลอิสระ ซึ่งสารสกัดที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดก็คือ สารสกัดหยาบจากรากที่มีค่าการเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกและการต้านสารอนุมูลอิสระที่สูงสุด นอกจากนั้นยังเป็นส่วนที่มีปริมาณแทนนินทั้งหมดสูงที่สุดอีกด้วย จึงควรนำสารสกัดหยาบจากรากนำไปศึกษาต่อในด้านความเป็นพิษต่อเซลล์ของมะเร็งชนิดอื่นๆ เพื่อเป็นประโยชน์ในด้านการแพทย์และเภสัชกรรม นอกจากนั้นควรศึกษาอายุของพืช สภาพแวดล้อม และปัจจัยต่างๆที่ทำให้พืชเจริญเติบโตได้ เนื่องจากพืชที่นำมาใช้เป็นวัชพืชที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติที่เจริญเติบโตและสถานที่ไม่แน่นอน หากนำมาศึกษาต่อแล้วพบว่ามีสารที่มีประโยชน์และสามารถหาวิธีการสกัดให้ได้สารที่ต้องการออกมาในปริมาณมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้เพื่อเป็นประโยชน์ในทางด้านอุตสาหกรรม การเกษตรกรรม ทางการแพทย์และเภสัชกรรม เป็นต้น อีกทั้งยังช่วยลดจำนวนของวัชพืชให้ลดลง ซึ่งเป็นวิธีที่ประหยัดงบประมาณแทนการใช้สารเคมีในการกำจัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กล่าวขวัญ ศรีสุข และคณะ. 2557. "ฤทธิ์ต้านการอักเสบของพืชสมุนไพรบางชนิดในโครงการพัฒนาป่าชุมชน บ้านอ่างเอ็ด จังหวัดจันทบุรี. **วารสารบูรพาฉบับพิเศษ การประชุมวิชาการ ระดับชาติ วิทยาศาสตร์ วิจัยครั้งที่ 6**, มหาวิทยาลัยบูรพา.

แก้ว กาญจนา. 2553. **สมุนไพรไทยเพื่อการบำบัดโรค**. พิมพ์ครั้งที่2. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์นีออน บุ๊ค มีเดีย.

จักรพันธุ์ กังวาฬ. 2545. "หายนะจากต่างแดน." *นิตยสารสารคดี*. ปีที่ 17 ฉบับที่ 20.

ธเนศ พงศ์ธรรม. 2554. "การศึกษาถึงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและการเหนี่ยวนำให้มะเร็งเกิดการตายโดยกระบวนการ apoptosis ด้วยสารสกัดจากธรรมชาติ." มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2547. **แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค**. พิมพ์ครั้งที่3. กรุงเทพมหานคร. โรงพิมพ์NOBLE PRINT

นฤมล เสียงเล็ก. 2557. "ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการเป็นสารต้านเชื้อราของสารสกัดเอทานอลของไมยราบ." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา เคมีประยุกต์, มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

บุญศรี จงเสรีจิตต์. 2552. **จุลชีววิทยาอาหาร**. นครปฐม. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยศิลปากร

พันธิตร์ มะลิสุวรรณ. 2552. **ไขความลับมะเร็งปากมดลูก**. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์อิมเมจิมีเดีย

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. **การตรวจสอบและแยกสารสกัดสาระสำคัญจากสมุนไพร**. พิมพ์ครั้งที่1. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล. 2536. **สมุนไพรรักษาโรคเรื้อรังบางชนิด**. พิมพ์ครั้งที่1. กรุงเทพมหานคร : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

ลำปาง ปาชิโร. 2550. **เคล็ดลับตำหรับยาสมุนไพรรักษาโรค.** กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์มรดกสยาม.

วุฒิ นิ่งวงศ์บูลย์. 2553. **สู้มะเร็งด้วยสมุนไพรและธรรมชาติบำบัด.** กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์ Feel good Publishing.

วุฒิธรรมเวช. 2540. **สารานุกรมสมุนไพรรวมหลักเภสัชกรรมไทย.** กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์ โอเดียนสโตร์.

ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ และกฤษณะ พวงระย้า. 2554. "การสกัดและการตรวจสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมีเบื้องต้นจากไมยราบ." *วารสารวิทยาศาสตร์แห่งมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี.*

อุ่นเรือน เพชราวัลย์ และสุพัตรา โพธิ์เอี่ยม. 2555. **การเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์.** โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

โอภา วัชระคุปต์. 2549. **สารต้านอนุมูลอิสระ.** กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์พี.เอส.พริ้นท์.

Aline, M., Charles, EL., Marco, R., Jeanne, M., Odile, GN. 2005. "Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity." *Food Chemistry.* 91 : 571–577.

Blios, M.S. 1958. "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical." *Nature. 26 :* 1199-1200.

Collins, C. H., Lynes, P. M., Grange, J. M. 2001. "Collins and lyne's Microbiological Methods." (7th Ed.). New York: Oxford University Press Inc, (Chapter 12), pp. 178-205.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

Cushman, M., and Nagarathnam, D. 1991. "Cytotoxicities of some flavonoid analogues." *J. Nat. Prod.* 54 : 1656-1660.

Debashisha Panda, Santosh Kumar Dash and Gouri Kumar Dash. 2012. "Antimicrobial potential of crude extracts and isolates of roots of *Mimosa pudica Linn.*collected from the locality of Mohuda Environ, Ganjam, Odisha." *IJPSR* Vol. 3, Issue 10.

Haliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1999. **Free Radicals in Biology and Medicine.** Oxford University Press, Oxford.

Kathirvel, A.,Sujatha, V. 2012. "In vitro assessment of antioxidant and antibacterial properties of *Terminaliachebula* Retz. Leaves." *Asian Pacific. Journal of Tropical Biomedicin. 2* : 788-795.

Malekzadeh, F., Ehsanifar, H., Shahamat, M., Levin, M., &Colwell, R. R. 2001. "Antibacterial activity of black myrobalan (*Terminalia chebula* Retz.) against *Helicobacter pylori.*" *International Journal of Antimicrobial Agents*. 18 :85-88.

Quattara,R. E .S.,Holley, R. A., Piette, G. J . P and Begin, A. 1997. "Antibacterial activity of selected fatty acid and essential oil against six meat spoilage organisms." *Int. J. Food micro*. 37 : 155-162.

Rosado-Vallado, M., Brito-Loeza, W., Mena-Rejon, G.J.,Quintero-Marmol, E. and Flores-Guido J.S. 2000. "Antimicrobial activity of Fabaceae species used in Yucatantraditional medicine." *Fitoterapia*. 71 : 570–573.

Sadia, A. C., Jannatul I., Mahfujur, R., Mostafizur, R., Nowshin, N. R., Rebeka, S., Nazma, P. 2008. "Cytotoxicity, Antimicrobial and Antioxidant Studies of the Different Plant Parts of *Mimosa Pudica*." Stamford University Bangladesh. 80-84.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

Singleton, V. L., Orthofer, R., &Lamuela-Raventor, R. M. 1999. "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocatue reagent. " *Methods in Enzymlogy.* 299 : 152-178.

Tasnuva A., Khondokar S. U. I., Shiblur R., Sadia M. M., Shahed C., Mostafi J. M., Sharmin J., ShakhawatH.,Mohammed R. 2012. "Antihyperglycemic and antinociceptive activity of Fabaceaefamily plants anevaluation of *Mimosa pigra L.* stems." *Advances in Natural and Applied Sciences.* 6(8) : 1490-1495.

Todar, K. 2001. **The control of microbial growth.** Bacteriology.University of Wisconsin Madison Department of Bacteriology. 303.

Tortora, G. J., Funke, B., Funke, R. ad Case, C.L. 1992. **Microbiology.** 4th edition. California : The enjamin Cummings Publishing Company Inc. 672-676.

V.C. Mbatchou, A.J. Ayebila , O.B. Apea. 2011. "Antibacterial activity of phytochemicals from *Acacia nilotica ,Entadaafricana* and *Mimosa pigra* L. on *Salmonella- typhi.*" *Journal of Animal & Plant Sciences.* 1 : 1248-1258

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหาร

1. Muellur Hinton Agar (MHA)

เป็นอาหารสำเร็จรูป ปริมาณที่ใช้ 38 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

Beef infusion	300	กรัม
Casein hydrolysate	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar	17	กรัม

2. Nutrient Agar (NA)

เป็นอาหารสำเร็จรูป ปริมาณที่ใช้ 13 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 ลิตร ประกอบด้วย

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Agar	15	กรัม

3. Nutrient Broth (NB)

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม

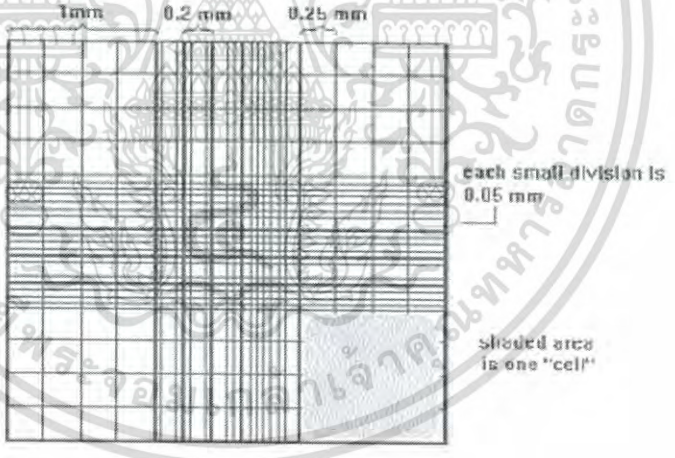
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

1. วิธีการใช้ Haemacytometer

การนับจำนวนเซลล์มีความจำเป็นสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ เพราะจะทำให้เราทราบจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้นหรือเซลล์ที่ลดลง ทำให้ทราบจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตหรือเซลล์ตายได้ มีประโยชน์ในการศึกษาด้านต่างๆ เช่น การศึกษาการเจริญของเซลล์ การทดสอบความเป็นพิษ การปรับปรุงสูตรอาหารเพาะเลี้ยง และการเพิ่มจำนวนไวรัส เป็นต้น การตรวจหาจำนวนเซลล์ในที่นี้ใช้วิธีการย้อมสีทริปแพนบลู (Trypan Blue) ซึ่งสีชนิดนี้ไม่สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปในเซลล์ที่มีชีวิตได้ แต่ถ้าเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์ที่ตายแล้ว เยื่อหุ้มเซลล์เหล่านี้จะขาดคุณสมบัติและยอมให้สารบางอย่างผ่านเข้าออกไปได้ ดังนั้นเซลล์ที่ตายจะติดสีฟ้าหรือสีน้ำตาล

ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemacytometer) ประกอบด้วย chamber โดยแต่ละ chamber จะมีตารางแบ่งออกเป็น 9 ช่องใหญ่ (primary aquares) แต่ละช่องมีความกว้าง 1 มิลลิเมตร ยาว 1 มิลลิเมตร และมีความลึก 0.1 มิลลิเมตร จึงเทียบได้ว่ามีปริมาตรเท่ากับ 10^{-4} โดยช่องใหญ่ในแต่ละมุมจะประกอบด้วย 16 ช่องเล็ก ส่วนช่องใหญ่ตรงกลางจะประกอบด้วย 25 ช่องเล็ก



รูปภาคผนวก ข ที่1 Haemacytometer

ที่มา:http://en.wikibooks.org/wiki/Methods_Manual_for_Salt_Lake_Studies/Phytoplankton

การนับเซลล์จะทำได้โดยสังเกตเซลล์ที่มีชีวิตที่ไม่ติดสีทริปแพนบลู และเซลล์ตายที่จะติดสีฟ้า โดยจะต้องนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ตายไปพร้อมๆกัน และนับทั้งหมด 5 ช่องใหญ่ คือมีช่องที่ A B C D และ E ตามลำดับ เมื่อนับจนครบทุกช่องแล้วสามารถคำนวณหาปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตรได้จากสมการ จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตต่อมิลลิลิตร = จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเฉลี่ย $\times 10^{-4}$ $\times$ ระดับความเจือจาง

ถ้าต้องการปลูกเซลล์ตั้งต้นจากขวดเพาะเลี้ยงเดิมไปยังขวดเพาะเลี้ยงใหม่ให้มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นและปริมาตรตามต้องการ สามารถคำนวณได้จากสมการ

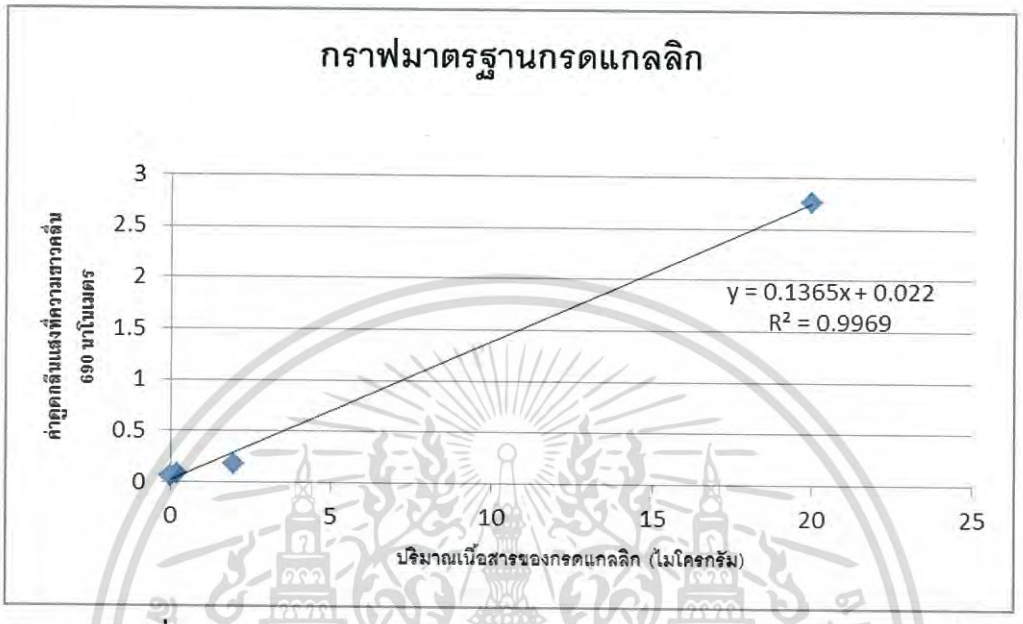
$$C_1V_1 = C_2V_2$$

จำนวนเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตร $\times$ ปริมาตรที่ต้องใช้ = จำนวนเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตรที่ต้องการ $\times$ ปริมาตรที่ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

1. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด



รูปภาพผนวก ค ที่ 2 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตรกับความเข้มข้นของกรดแกลลิก สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ตารางที่ 1.1 ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบกิ่งต้น ใบ และรากของไมยราบยักษ์ที่ความยาวคลื่น 690นาโนเมตร

สารสกัดหยาบ	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
กิ่งต้น	0.138	0.138	0.137	0.138
ใบ	0.367	0.364	0.360	0.364
ราก	0.222	0.232	0.204	0.219

การคำนวณ หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากกิ่งต้น ใบ และรากของไมยราบยักษ์คิดโดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากกิ่งต้น ใบ และรากของไมยราบยักษ์แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบจากกิ่งต้นไมยราบยักษ์ มีค่า $O.D_{690}$ เท่ากับ 0.138

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

$$y = 0.1365X + 0.022$$

เมื่อ x คือ ความเข้มข้นของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร

แทนค่า

$$0.138 = 0.1365X + 0.022$$

$$0.138 - 0.022 = 0.1365X$$

$$X = 0.116 / 0.1365$$

$$= 0.8498 \text{ ไมโครกรัม}$$

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบจากกิ่งต้นไมยราบยักษ์ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ปริมาตร0.02 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.002 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้นปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบ0.002มิลลิกรัมเทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ 0.8498 โมโครกรัม

สารสกัด 1 มก. จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ $\frac{0.8498\ \mu g \times 1\ mg}{0.002\ mg}$

เท่ากับ 424.9084 µg

สารสกัด 1000 มก. จะมีปริมาณเนื้อสารกรดแกลลิก เท่ากับ 424.9084 × 1000

เท่ากับ 424908.4 µg

หรือเท่ากับ 424908.4/1000 เท่ากับ 424.9084 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากกิ่งต้นไมยราบยักษ์มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 424.9084 มิลลิกรัมของ แกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

สารสกัดหยาบจากใบไมยราบยักษ์ มีค่า $O.D_{690}$ เท่ากับ 0.364

จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (x) เท่ากับ (0.364-0.022) / 0.1365 = 2.5055 ไมโครกรัม

สารสกัด 1 มก. จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ $\frac{2.5055\ \mu g \times 1\ mg}{0.002\ mg}$

เท่ากับ 1252.7473 µg

สารสกัด 1000 มก. จะมีปริมาณเนื้อสารกรดแกลลิก เท่ากับ 1252.7473 × 1000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ 1252747.3 µg

หรือเท่ากับ 1252747.3/1000 เท่ากับ 1252.7473 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากใบไมยราบยักษ์มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1252.7473 มิลลิกรัมของแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

สารสกัดหยาบจากรากไมยราบยักษ์ มีค่า $O.D_{690}$ เท่ากับ 0.219

จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (x) เท่ากับ (0.219-0.022) / 0.1365 = 1.4432 ไมโครกรัม

สารสกัด 1 มก. จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ $\frac{1.4432\ \mu g \times 1\ mg}{0.002\ mg}$

เท่ากับ 721.6117 µg

สารสกัด 1000 มก. จะมีปริมาณเนื้อสารกรดแกลลิก เท่ากับ 721.6117× 1000

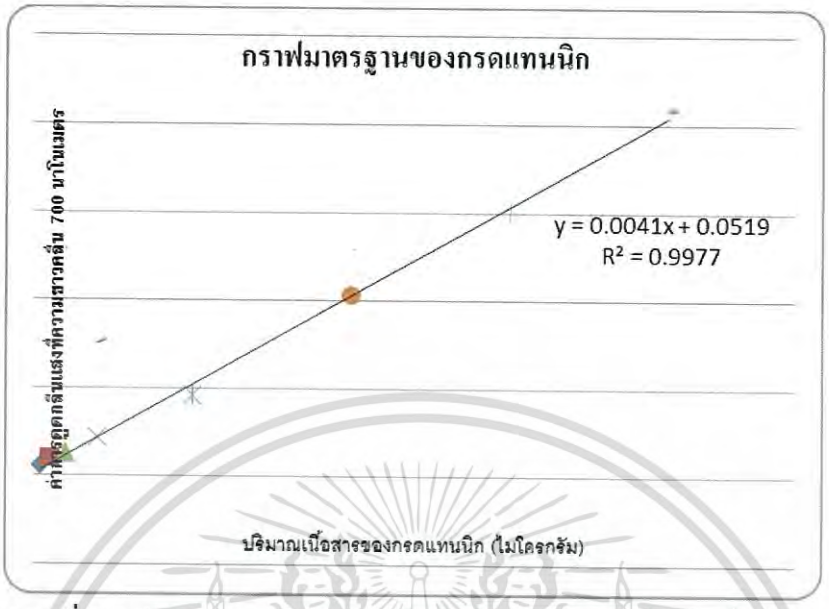
เท่ากับ 721611.7 µg

หรือเท่ากับ 721611.7/1000 เท่ากับ 721.6117 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากรากไมยราบยักษ์มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 721.6117 มิลลิกรัมของแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด



รูปภาคผนวก ค ที่ 3 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิกในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด

ตารางภาคผนวก ค ที่ 1.2 ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบกิ่งต้น ใบ และรากของไมยราบยักษ์ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

สารสกัดหยาบ	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
กิ่งต้น	0.052	0.054	0.053	0.053
ใบ	0.067	0.065	0.068	0.067
ราก	0.080	0.085	0.083	0.083

<u>การคำนวณ</u>หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากกิ่งต้น ใบ และรากของไมยราบยักษ์ คิดโดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากกิ่งต้น ใบ และรากของไมยราบยักษ์แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก ดังนี้

สารสกัดหยาบจากกิ่งต้นไมยราบยักษ์ มีค่า $O.D_{700}$ เท่ากับ 0.053

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก

$$y = 0.0041x + 0.0519$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

แทนค่า 0.053 = 0.0041x + 0.0519

X = (0.053– 0.0519) / 0.0041

= 0.268 ไมโครกรัมของกรดแทนนิก

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบจากไมยราบยักษ์ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ปริมาตร0.05 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.05 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบ 0.05 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิกเท่ากับ 0.268 ไมโครกรัม

สารสกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ $\frac{0.268\ \mu g \times 1\ mg}{0.05\ mg}$

เท่ากับ 5.36 µg

สารสกัด 1000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ 5.36 × 1,000

เท่ากับ 5,360 µg

หรือ เท่ากับ 5,360 /1000

เท่ากับ 5.36 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากกิ่งต้นไมยราบยักษ์มีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 5.36 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด

สารสกัดหยาบจากใบไมยราบยักษ์ มีค่า $O.D_{700}$ เท่ากับ 0.067

จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก(x) เท่ากับ(0.067– 0.0519) / 0.0041 = 3.68 ไมโครกรัมของกรดแทนนิก

สกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ $\frac{3.68\ \mu g \times 1\ mg}{0.05\ mg}$

เท่ากับ 73.6 µg

สารสกัด 1000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ 73.6 × 1,000

เท่ากับ 73,600

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือ เท่ากับ 73,600/1,000 เท่ากับ 73.6 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากใบไมยราบยักษ์มีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 73.6 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด

สารสกัดหยาบจากรากไมยราบยักษ์ มีค่า $O.D_{700}$ เท่ากับ 0.083

จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก(x) เท่ากับ (0.083– 0.0519) / 0.0041 = 7.59 ไมโครกรัมของกรดแทนนิก

สกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ $\frac{7.59\ \mu g \times 1\ mg}{0.05\ mg}$

เท่ากับ 151.80 µg

สารสกัด 1000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ 151.80 × 1,000

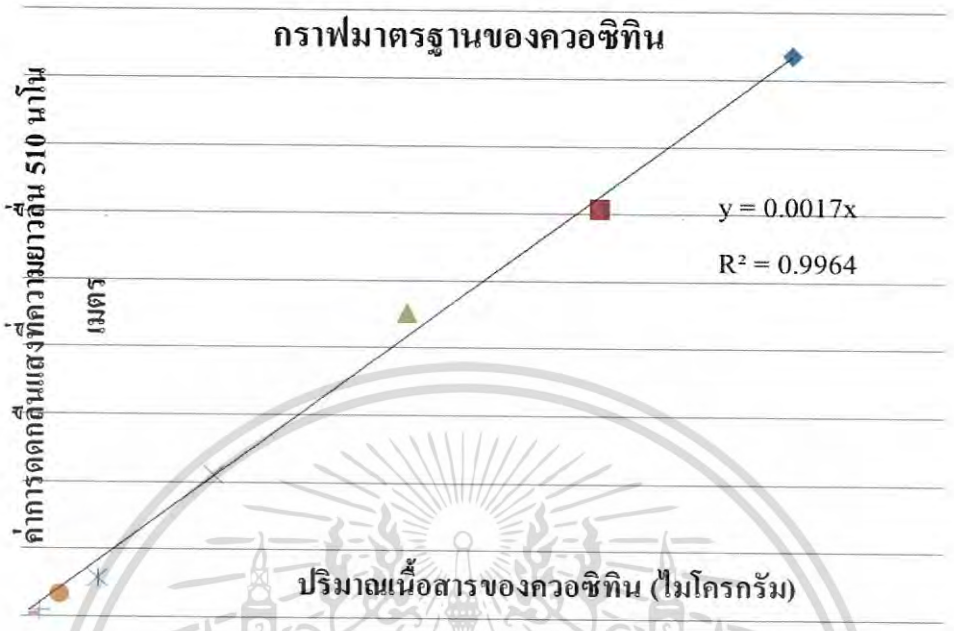
เท่ากับ 151,800

หรือ เท่ากับ 151,800/1,000 เท่ากับ 151.80 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากรากไมยราบยักษ์มีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 151.80 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อการการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด



รูปภาคผนวก ค ที่ 4 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของควอซิทินในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ตารางภาคผนวก ค ที่ 1.3 ค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบกิ่งต้น ใบ และรากของไมยราบยักษ์ที่ความยาวคลื่น 510นาโนเมตร

สารสกัดหยาบ	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
กิ่งต้น	0.168	0.170	0.169	0.169
ใบ	0.221	0.224	0.224	0.223
ราก	0.187	0.188	0.189	0.188

<u>การคำนวณ</u>หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจาก กิ่งต้น ใบ และราก ของไมยราบยักษ์ คิดโดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากกิ่งต้น ใบ และรากของไมยราบยักษ์แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานควอซิทิน ดังนี้

สารสกัดหยาบจากต้นไมยราบยักษ์ มีค่า $O.D_{510}$ เท่ากับ 0.169

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานควอซิทิน

$$y = 0.0017x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

แทนค่า $0.169 = 0.0017x$

$X = 0.169/ 0.0017$

$= 99.41$ ไมโครกรัมของควอซิทิน

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบจากไมยราบยักษ์ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบ 0.5 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของควอซิทินเท่ากับ 99.41 โมโครกรัม

สารสกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน เท่ากับ $\frac{99.41\ \mu g \times 1\ mg}{0.5\ mg}$

เท่ากับ 198.82 µg

สารสกัด 1000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน เท่ากับ 198.82 × 1000

เท่ากับ 198,820 µg

หรือเท่ากับ 198,820/1000 เท่ากับ 198.82 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากกิ่งต้นไมยราบยักษ์มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 198.82 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด

สารสกัดหยาบจากใบไมยราบยักษ์ มีค่า $O.D_{510}$ เท่ากับ 0.223

จะมีปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน(x) เท่ากับ0.223/ 0.0017 = 131.18 ไมโครกรัมของควอซิทิน

สกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน เท่ากับ $\frac{131.18\ \mu g \times 1\ mg}{0.5\ mg}$

เท่ากับ 262.36 µg

สารสกัด 1000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน เท่ากับ 262.36 × 1000

เท่ากับ 262,360 µg

หรือเท่ากับ 262,360/1,000 เท่ากับ 262.36 mg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากใบไมยราบยักษ์มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 262.36 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด

สารสกัดหยาบจากรากไมยราบยักษ์ มีค่า $O.D_{510}$ เท่ากับ 0.188

จะมีปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน(x) เท่ากับ0.188/ 0.0017 = 110.59 ไมโครกรัมของควอซิทิน

สกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน เท่ากับ $\frac{110.59\ \mu g \times 1\ mg}{0.5\ mg}$

เท่ากับ 221.18 µg

สารสกัด 1000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน เท่ากับ 221.18 × 1,000

เท่ากับ 221,180 µg

หรือเท่ากับ 221,180 /1,000 เท่ากับ 221.18 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากรากไมยราบยักษ์มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 221.18 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด

4. ข้อมูลผลการทดลองเพื่อการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH (DPPH reduction scavenging assay)

ตารางภาคผนวก ค ที่ 1.4 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของสารสกัดใบไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (มก/มล)	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
12	0.112	0.114	0.113	0.113
6	0.119	0.115	0.115	0.116
3	0.121	0.122	0.120	0.121
1.5	0.134	0.133	0.132	0.133
0.75	0.180	0.181	0.181	0.181

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 1.5 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของสารสกัดกิ่งต้นไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (มก/มล)	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
12	0.106	0.104	0.101	0.104
6	0.109	0.105	0.105	0.106
3	0.129	0.134	0.138	0.134
1.5	0.247	0.249	0.248	0.248
0.75	0.340	0.344	0.344	0.343

ตารางที่ ภาคผนวก ค 1.6 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของสารสกัดรากไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (มก/มล)	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
12	0.095	0.099	0.099	0.098
6	0.100	0.105	0.099	0.101
3	0.111	0.115	0.113	0.113
1.5	0.135	0.134	0.133	0.134
0.75	0.247	0.242	0.245	0.245

ตารางภาคผนวก ค ที่ 1.7 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของชุดควบคุม

ตัวอย่าง	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
เอทานอล 99.99%	0.418	0.418	0.422	0.419

การคำนวณร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระ (Free Radical Scavenging)

ร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระคำนวณได้ดังสมการ

$$\% \text{ DPPH reduction} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

โดยที่ A คือ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของแบลงก์(Blank)

B คือ ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของตัวอย่าง

สารสกัดใบไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้น12 มก./มล. มีค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เฉลี่ย 0.113

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะได้ว่า % การต้านอนุมูลอิสระ = $\frac{0.419-0.113}{0.419} \times 100$ = 73 %

ดังนั้นร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้นต่างๆดังนี้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 1.8 แสดงร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดใบ กิ่งต้น และรากของต้นไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

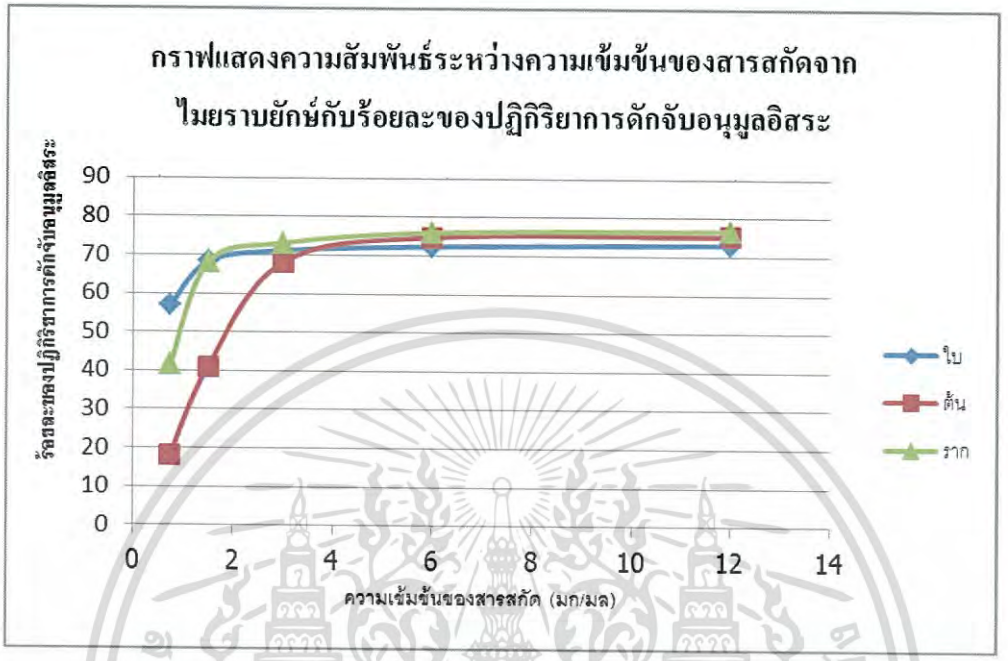
ตัวอย่าง	ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้นต่างๆ (มก./มล.)				
	12	6	3	1.5	0.75
ใบ	73.03	72.31	71.12	68.25	56.80
กิ่งต้น	75.18	74.70	68.01	40.81	18.13
ราก	76.61	75.90	73.03	68.02	41.53

ตารางภาคผนวก ค ที่ 1.9 แสดงค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรและร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระของวิตามินอีและวิตามินซีที่ความเข้มข้น10mM

ตัวอย่าง	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น517นาโนเมตร					ร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระ
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ครั้งที่4	เฉลี่ย	
วิตามินอี	0.107	0.112	0.113	0.111	0.111	73. 44
วิตามินซี	0.076	0.077	0.075	0.076	0.076	81.82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดในการดักจับอนุมูลอิสระ (IC_{50}) โดยการพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละชนิดกับร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระ และคำนวณหาค่า IC_{50} โดยโปรแกรม Graphpad (V. 5.0) จะได้ดังต่อไปนี้



รูปภาคผนวก ค ที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละชนิดกับร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระ

ตารางภาคผนวก ค ที่ 1.10 แสดงความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละชนิดในที่สามารถดักจับอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ที่คำนวณจากโปรแกรม Graphpad (V.5.0)

ร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระ	ความเข้มข้นของสารสกัด (มก/มล)		
	ใบ	กิ่งต้น	ราก
ร้อยละ 50	0.621	1.861	0.939

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

1. สมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) โดยวิธี MTT

จากการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) จากสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยการตรวจวัดจากค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ ซึ่งมี 1%DMSOเป็นชุดควบคุมเชิงลบ จะได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

ตารางภาคผนวก ง ที่ 1.11 แสดงค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยที่ของสารสกัดหยาบใบไมยราบยักษ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

ระดับความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร				หักด้วยค่าแบลงค์ (0.087)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
1,000	0.171	0.173	0.171	0.172	0.085
100	0.261	0.255	0.258	0.258	0.171
10	0.295	0.293	0.297	0.295	0.208
1	0.325	0.324	0.315	0.321	0.234
0.1	0.320	0.324	0.322	0.322	0.235
0.01	0.329	0.322	0.322	0.324	0.237

ตารางภาคผนวก ง ที่ 1.12 แสดงค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยที่ของสารสกัดหยาบกิ่งต้นไมยราบยักษ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

ระดับความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร				หักด้วยค่าแบลงค์ (0.087)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
1,000	0.210	0.211	0.213	0.211	0.124
100	0.275	0.277	0.275	0.276	0.189
10	0.298	0.302	0.305	0.302	0.215
1	0.321	0.322	0.319	0.321	0.234
0.1	0.323	0.319	0.320	0.321	0.234
0.01	0.322	0.325	0.318	0.322	0.235

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ง ที่ 1.13 แสดงค่าดูดกลืนแสงเฉลี่ยที่ของสารสกัดหยาบรากไมยราบยักษ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

ระดับความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร				หักด้วยค่าแบลงค์ (0.087)
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	
1,000	0.114	0.117	0.119	0.117	0.030
100	0.239	0.240	0.261	0.247	0.160
10	0.297	0.290	0.295	0.294	0.207
1	0.321	0.320	0.325	0.322	0.235
0.1	0.326	0.320	0.321	0.322	0.235
0.01	0.320	0.323	0.325	0.323	0.236

การคำนวณ ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ Hela ของสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากไมยราบยักษ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ สามารถคำนวณได้ดังนี้

จากสมการ % cytotoxicity = ((A-B)/A) × 100

โดย A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม (ค่าที่หักค่าแบลงก์)

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่มีเซลล์ในสารสกัดแต่ละความเข้มข้น (ค่าที่หักค่าแบลงก์)

จะได้ว่าสารสกัดหยาบใบไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรจะมีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เท่ากับ

% cytotoxicity = ((A-B)/A) × 100

= (0.233- 0.085) /0.233) x 100

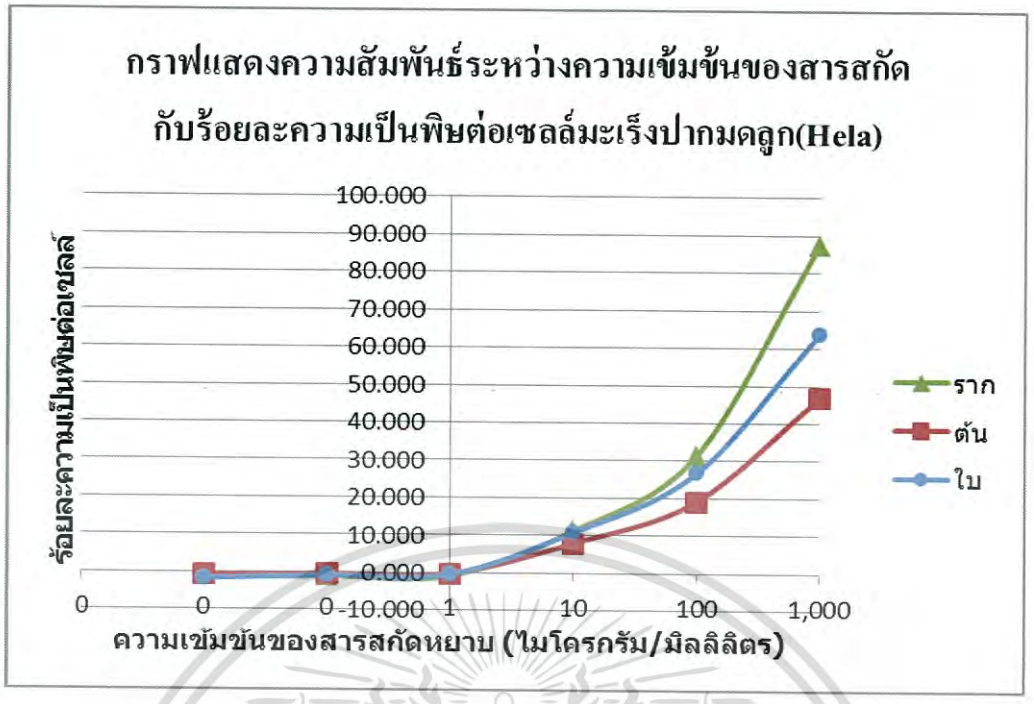
= 63.662

ดังนั้นสารสกัดหยาบใบไมยราบยักษ์ที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรจะมีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เท่ากับ ร้อยละ 63.662

ตารางภาคผนวก ง ที่ 1.14 แสดงร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากไมยราบยักษ์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ตัวอย่าง	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ					
	1,000	100	10	1	0.1	0.01
ใบ	63.66	26.61	10.73	-0.57	-0.86	-1.86
กิ่งต้น	46.64	19.03	7.87	-0.29	-0.29	-0.72
ราก	87.27	31.47	11.16	-0.86	1.00	-1.14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

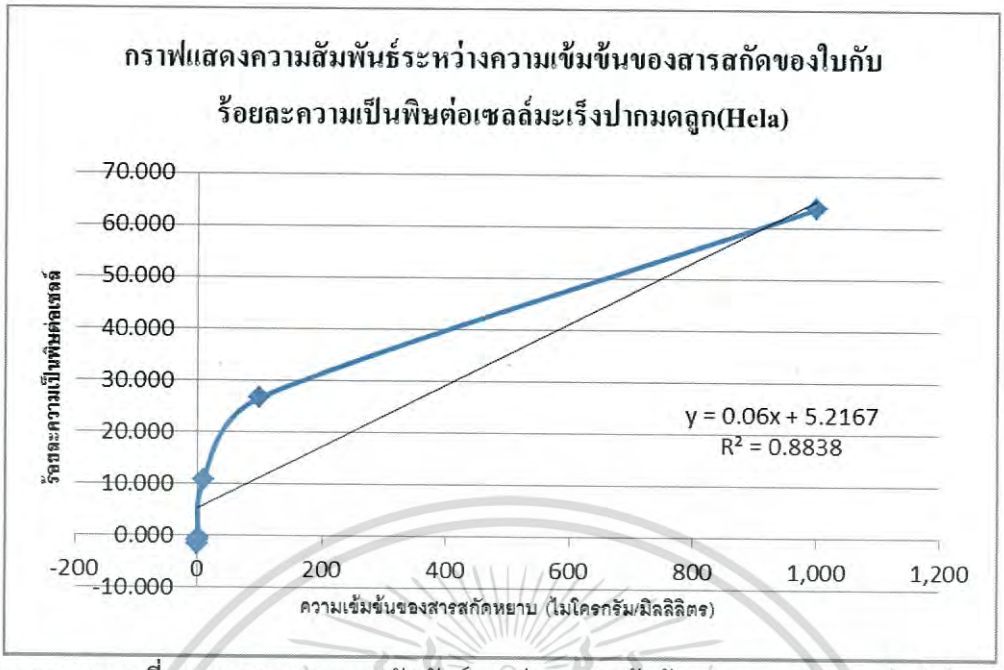


รูปภาคผนวก ง ที่ 6 แสดงกิจกรรมความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ของสารสกัดหยาบจากไมยราบยักษ์

<u>การคำนวณ CC_{50}</u> ในการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) โดยวิธี MTT

จากการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ของสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์ เมื่อเรานำค่าที่ได้จากการคำนวณหาร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แล้วนั้นมาพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบแต่ละส่วนของไมยราบยักษ์กับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เพื่อคำนวณหา CC_{50} ต่อไปดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก ง ที่ 7 แสดงความความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในใบไมยราบยักษ์กับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela)

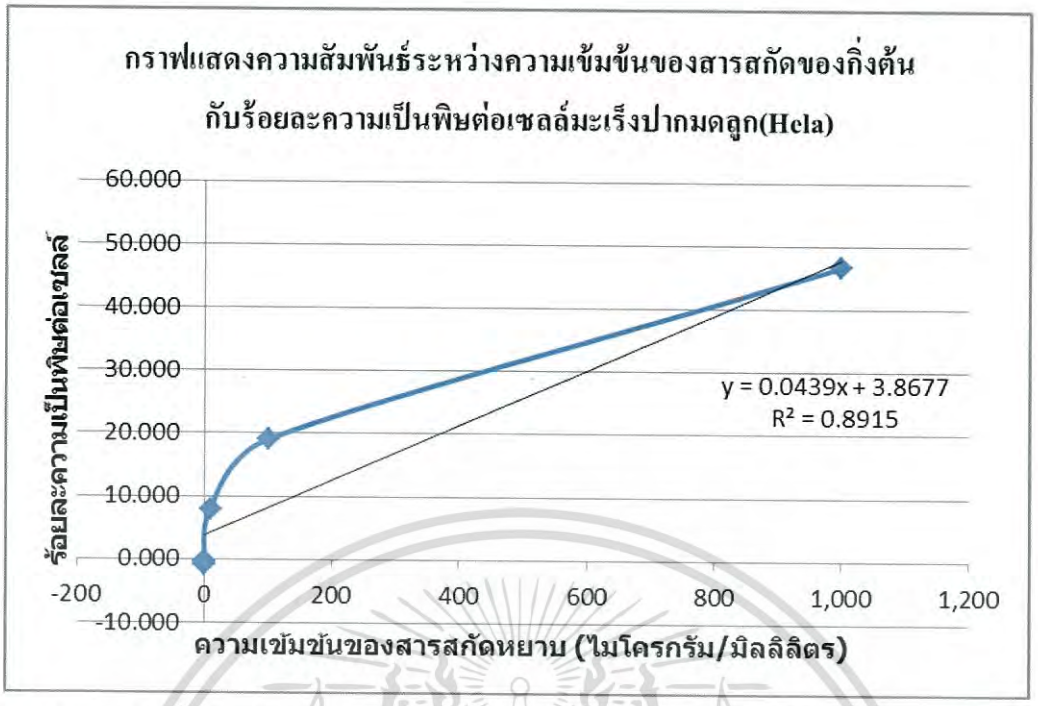
จากกราฟจะได้สมการแสดงความสัมพันธ์ คือ $y = 0.06x + 5.2167$

จะได้ว่า ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในใบที่ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ร้อยละ 50 จะมีค่าเท่ากับ

$$y = 0.06x + 5.2167$$
$$50 = 0.06x + 5.2167$$
$$X = 746.39$$

ดังนั้นที่ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ร้อยละ50 จะมีระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในใบไมยราบยักษ์เท่ากับ 746.39 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



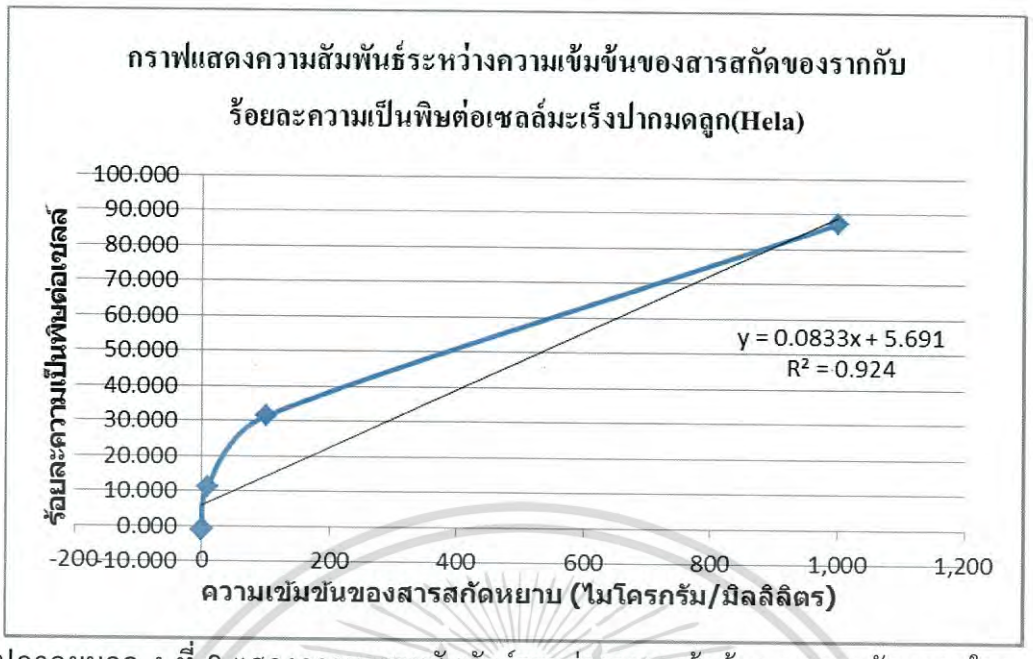
รูปภาคผนวก ง ที่ 8 แสดงความความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในกิ่งต้นไมยราบยักษ์กับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela)

จากกราฟจะได้สมการแสดงความสัมพันธ์ คือ y = 0.0439x + 3.8677
จะได้ว่า ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในกิ่งต้นที่ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ร้อยละ 50
จะมีค่าเท่ากับ

$$y = 0.0439x + 3.8677$$
$$50 = 0.0439x + 3.8677$$
$$X = 1050.85$$

ดังนั้นที่ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ร้อยละ50 จะมีระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในกิ่งต้นไมยราบยักษ์เท่ากับ 1,050.85 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวก ง ที่ 9 แสดงความความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในรากไมยราบยักษ์กับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela)

จากกราฟจะได้สมการแสดงความสัมพันธ์ คือ $y = 0.0833x + 5.691$

จะได้ว่า ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในรากที่ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ร้อยละ 50 จะมีค่าเท่ากับ

$y = 0.0833x + 5.691$

$50 = 0.0833x + 5.691$

$X = 531.92$

ดังนั้นที่ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ร้อยละ50 จะมีระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในรากไมยราบยักษ์เท่ากับ 531.92 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ทำการคำนวณค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 22.0 One-Way ANOVA ตามวิธีของ Duncan

1. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* TTISTR 687 จากสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

Descriptives

block

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
กิ่งต้น	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
ใบ	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
ราก	3	7.17000	.435086	.251197	6.08919	8.25081	6.730	7.600
Gentamicin	3	28.82000	.010000	.005774	28.79516	28.84484	28.810	28.830
Ethanol	3	.00000	.000000	.000000	.00000	.00000	.000	.000
Total	15	9.59800	10.283686	2.655236	3.90308	15.29292	.000	28.830

ANOVA

block

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1480.180	4	370.045	9768.874	.000
Within Groups	.379	10	.038		
Total	1480.559	14			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

block

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Ethanol	3	.00000			
กิ่งต้น	3		6.00000		
ใบ	3		6.00000		
ราก	3			7.17000	
Gentamicin	3				28.82000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

2. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TTISTR 1466 จากสารสกัดหยาบใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

Descriptives

block

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
กิ่งต้น	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
ใบ	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
ราก	3	7.17000	.435086	.251197	6.08919	8.25081	6.730	7.600
ciprofloxacin	3	31.31667	.005774	.003333	31.30232	31.33101	31.310	31.320
ethanol	3	6.00000	.000000	.000000	6.00000	6.00000	6.000	6.000
Total	15	11.29733	10.372905	2.678272	5.55301	17.04166	6.000	31.320

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

block

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1505.981	4	376.495	9942.659	.000
Within Groups	.379	10	.038		
Total	1506.360	14			

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

block

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
กิ่งต้น	3	6.00000		
ใบ	3	6.00000		
Ethanol	3	6.00000		
ราก	3		7.17000	
Ciprofloxacin	3			31.31667
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

3. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	treatment	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
block	กิ่งต้น	.385	3	.	.750	3	.000
	ใบ	.204	3	.	.993	3	.843
	ราก	.241	3	.	.974	3	.688

a. Lilliefors Significance Correction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptives

block

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
กิ่งต้น	3	423.68740	2.114834	1.221000	418.43386	428.94094	421.245	424.908
ใบ	3	1251.52627	12.864085	7.427083	1219.57011	1283.48243	1238.095	1263.736
ราก	3	722.83273	51.975076	30.007824	593.71949	851.94598	666.667	769.231
Total	9	799.34880	364.016604	121.338868	519.54087	1079.15673	421.245	1263.736

ANOVA

block

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1054321.972	2	527160.986	550.777	.000
Within Groups	5742.731	6	957.122		
Total	1060064.703	8			

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

block

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
กิ่งต้น	3	423.68740		
ราก	3		722.83273	
ใบ	3			1251.52627
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

Tests of Normality

block

	treatment	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	กิ่งต้น	.175	3	.	1.000	3	1.000
	ใบ	.385	3	.	.750	3	.000
	ราก	.219	3	.	.987	3	.780

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

block

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
กิ่งต้น	3	5.36573	4.878250	2.816459	-6.75251	17.48398	.487	10.244
ใบ	3	70.40647	5.632687	3.252033	56.41410	84.39884	63.902	73.659
ราก	3	150.08130	12.276130	7.087627	119.58570	180.57690	137.073	161.463
Total	9	75.28450	63.179731	21.059910	26.72026	123.84874	.487	161.463

ANOVA

block

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	31520.971	2	15760.486	229.268	.000
Within Groups	412.456	6	68.743		
Total	31933.427	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

block

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
กิ่งต้น	3	6.00000		
ใบ	3	6.00000		
Ethanol	3	6.00000		
ราก	3		7.17000	
Ciprofloxacin	3			10.43667
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

5. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากส่วน ใบ กิ่งต้น และรากของไมยราบยักษ์

Tests of Normality

	treatment	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
block	กิ่งต้น	.175	3	.	1.000	3	1.000
	ใบ	.385	3	.	.750	3	.000
	ราก	.175	3	.	1.000	3	1.000

a Lilliefors Significance Correction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptives

block

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
กิ่งต้น	3	198.82353	1.176450	.679224	195.90107	201.74600	197.647	200.000
ใบ	3	262.35293	2.037700	1.176467	257.29101	267.41486	260.000	263.529
ราก	3	221.17647	1.176450	.679224	218.25400	224.09893	220.000	222.353
Total	9	227.45098	27.939623	9.313208	205.97468	248.92727	197.647	263.529

ANOVA

block

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6231.140	2	3115.570	1350.624	.000
Within Groups	13.841	6	2.307		
Total	6244.980	8			

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

block

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
กิ่งต้น	3	198.82353		
ราก	3		221.17647	
ใบ	3			262.35293
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPHของ ใบกิ่งต้น และรากไมยราบยักษ์ (DPPH reduction scavenging assay)

6.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH ของใบไมยราบยักษ์(DPPH reduction scavenging assay)

Tests of Normality

block

	Treatment	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	12	.349	3	.	.832	3	.194
	6	.385	3	.	.750	3	.000
	3	.269	3	.	.949	3	.567
	1.5	.175	3	.	1.000	3	1.000
	0.75	.385	3	.	.750	3	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

block

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
12	3	72.23543	1.177307	.679718	69.31084	75.16003	70.883	73.031
6	3	72.23540	.551139	.318200	70.86630	73.60450	71.599	72.554
3	3	71.15347	.244930	.141410	70.54503	71.76191	70.883	71.360
1.5	3	68.25770	.238700	.137814	67.66474	68.85066	68.019	68.496
0.75	3	56.88143	.137756	.079533	56.53923	57.22364	56.802	57.041
Total	15	68.15269	6.046452	1.561187	64.80427	71.50110	56.802	73.031

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

block

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	508.183	4	127.046	347.927	.000
Within Groups	3.652	10	.365		
Total	511.834	14			

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

block

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
0.75	3	56.88143		
1.5	3		68.25770	
3	3			71.15347
6	3			72.23540
12	3			72.23543
Sig.		1.000	1.000	.062

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH ของกิ่งต้นไมยราบยักษ์(DPPH reduction scavenging assay)

Tests of Normality

	Treatment	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
block	12	.219	3	.	.987	3	.780
	6	.385	3	.	.750	3	.000
	3	.196	3	.	.996	3	.878
	1.5	.175	3	.	1.000	3	1.000
	0.75	.385	3	.	.750	3	.000

a. Lilliefors Significance Correction

ANOVA

block

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7561.303	4	1890.326	4328.501	.000
Within Groups	4.367	10	.437		
Total	7565.670	14			

Descriptives

block

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
12	3	75.25847	.600616	.346766	73.76645	76.75048	74.702	75.895
6	3	74.62207	.551196	.318233	73.25282	75.99131	73.986	74.940
3	3	68.09860	1.076210	.621350	65.42515	70.77205	67.064	69.212
1.5	3	40.81140	.238700	.137814	40.21844	41.40436	40.573	41.050
0.75	3	18.21793	.551196	.318233	16.84869	19.58718	17.900	18.854
Total	15	55.40169	23.246613	6.002250	42.52815	68.27524	17.900	75.895

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

block

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0.75	3	18.21793			
1.5	3		40.81140		
3	3			68.09860	
6	3				74.62207
12	3				75.25847
Sig.		1.000	1.000	1.000	.266

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

6.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH ของรากไมยราบยักษ์ (DPPH reduction scavenging assay)

Tests of Normality

	treatment	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
block	12	.385	3	.	.750	3	.000
	6	.328	3	.	.871	3	.298
	3	.175	3	.	1.000	3	1.000
	1.5	.175	3	.	1.000	3	1.000
	0.75	.219	3	.	.987	3	.780

a. Lilliefors Significance Correction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptives

block

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
12	3	76.69050	.551139	.318200	75.32140	78.05960	76.372	77.327
6	3	75.81540	.767199	.442943	73.90957	77.72123	74.940	76.372
3	3	73.03097	.477350	.275598	71.84516	74.21677	72.554	73.508
1.5	3	68.01903	.238650	.137785	67.42619	68.61187	67.780	68.258
0.75	3	41.60698	.600613	.346764	40.11497	43.09899	41.050	42.243
Total	15	67.03258	13.534507	3.494595	59.53742	74.52774	41.050	77.327

ANOVA

block

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2561.485	4	640.371	2081.965	.000
Within Groups	3.076	10	.308		
Total	2564.560	14			

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

block

Duncan[a]

treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0.75	3	41.60698			
1.5	3		68.01903		
3	3			73.03097	
6	3				75.81540
12	3				76.69050
Sig.		1.000	1.000	1.000	.082

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

7. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูก (Hela) ของ ใบกิ่งต้น และรากไมยราบยักษ์ โดยวิธี MTT

7.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกของใบไมยราบยักษ์ (Hela) โดยวิธี MTT

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	treatment	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Rate	1000	.219	3	.	.987	3	.780
	100	.371	3	.	.784	3	.077
	10	.276	3	.	.942	3	.537
	1	.328	3	.	.871	3	.298
	0.1	.337	3	.	.855	3	.253
	0.01	.232	3	.	.980	3	.726

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

rate

\	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1000	3	63.66230	.495540	.286100	62.43131	64.89329	63.090	63.948
100	3	26.60937	1.287550	.743367	23.41092	29.80782	25.322	27.897
10	3	10.72890	.858351	.495569	8.59664	12.86116	9.871	11.588
1	3	-.57223	2.363734	1.364703	-6.44407	5.29961	-2.146	2.146
0.1	3	-.85833	.858350	.495569	-2.99059	1.27393	-1.717	.000
0.01	3	-1.85973	1.734533	1.001433	-6.16855	2.44909	-3.863	-.858
Total	18	16.28504	24.122279	5.685676	4.28932	28.28077	-3.863	63.948

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

rate

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9868.089	5	1973.618	989.057	.000
Within Groups	23.945	12	1.995		
Total	9892.034	17			

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

rate

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0.01	3	-1.85973			
0.1	3	-.85833			
1	3	-.57223			
10	3		10.72890		
100	3			26.60937	
1000	3				63.66230
Sig.		.309	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกของกิ่งต้นไมยราบยักษ์ (Hela) โดยวิธี MTT

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	treatment	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Rate	1000	.253	3	.	.964	3	.637
	100	.385	3	.	.750	3	.000
	10	.204	3	.	.993	3	.843
	1	.253	3	.	.964	3	.637
	0.1	.292	3	.	.923	3	.463
	0.01	.204	3	.	.993	3	.843

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

rate

	N	Mean	Std. Deviation	Std. or	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1000	3	46.63803	.655614	.378519	45.00940	48.26667	45.923	47.210
100	3	19.02717	.495597	.286133	17.79603	20.25830	18.455	19.313
10	3	7.86833	1.507249	.870210	4.12412	11.61255	6.438	9.442
1	3	-.28610	.655505	.378456	-1.91446	1.34226	-.858	.429
0.1	3	-.28615	.893383	.515795	-2.50544	1.93314	-1.288	.429
0.01	3	-.71530	1.507196	.870180	-4.45938	3.02878	-2.146	.858
Total	18	12.04100	17.493408	4.123236	3.34173	20.74026	-2.146	47.210

ANOVA

rate

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5189.435	5	1037.887	965.970	.000
Within Groups	12.893	12	1.074		
Total	5202.328	17			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Test

Homogeneous Subset

rate

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0.01	3	-.71530			
0.1	3	-.28615			
1	3	-.28610			
10	3		7.86833		
100	3			19.02717	
1000	3				46.63803
Sig.		.638	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

7.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกของราก ไมยราบยักษ์ (Hela) โดยวิธี MTT

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	treatment	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
rate	1000	.219	3	.	.987	3	.780
	100	.371	3	.	.784	3	.077
	10	.276	3	.	.942	3	.537
	1	.314	3	.	.893	3	.363
	0.1	.328	3	.	.871	3	.298
	0.01	.219	3	.	.987	3	.780

a. Lilliefors Significance Correction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptives

rate

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1000	3	87.26747	1.080130	.623613	84.58428	89.95066	86.266	88.412
100	3	31.47347	5.331820	3.078328	18.22849	44.71844	25.322	34.764
10	3	11.15877	1.547447	.893419	7.31469	15.00284	9.871	12.876
1	3	-.85833	1.135519	.655592	-3.67912	1.96245	-2.146	.000
0.1	3	-1.00140	1.379649	.796541	-4.42864	2.42584	-2.575	.000
0.01	3	-1.14448	1.080080	.623584	-3.82755	1.53858	-2.146	.000
Total	18	21.14925	32.740277	7.716957	4.86789	37.43060	-2.575	88.412

ANOVA

rate

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18150.040	5	3630.008	599.193	.000
Within Groups	72.698	12	6.058		
Total	18222.738	17			

Post Hoc Test

Homogeneous Subset

rate

Duncan[a]

Treatment	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0.01	3	-1.14448			
0.1	3	-1.00140			
1	3	-.85833			
10	3		11.15877		
100	3			31.47347	
1000	3				87.26747
Sig.		.895	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้