รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผีที่มีต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบางชนิดและคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

EFFECT OF PARTS OF *CLEOME VISCOSA* CRUDE EXTRACTS ON ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST

นางสาวสุทธิจิต ศรีวัชรกุล
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย
จากทุนสนับสนุนงานวิจัยเงินรายได้คณะ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2558
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผีที่มีต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบางชนิดและคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

EFFECT OF PARTS OF *CLEOME VISCOSA* CRUDE EXTRACTS ON ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST

นางสาวสุทธิจิต ศรีวัชรกุล
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

b 00266657
i
สืบหมู่ 147256
เลขทะเบียน
รับเดือน.ปี 13 ก.ค. 2560

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัย
จากทุนสนับสนุนงานวิจัยเงินรายได้คณะ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2558
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผีที่มีต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบางชนิดและคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ
แหล่งเงิน ทุนสนับสนุนงานวิจัยเงินรายได้คณะ
ประจำปีงบประมาณ 2558 จำนวนเงินทุนที่ได้รับการสนับสนุน 50,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2557 ถึง กันยายน 2558
ชื่อ-สกุล นางสาวสุทธิจิต ศรีวัชรกุล
หน่วยงานต้นสังกัด ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

บทคัดย่อ

ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสกัดสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนใบ ลำต้น ฝัก และรากของผักเสี้ยนผี *Cleome viscosa* Linn. ทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้สารสกัด 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นความเข้มข้นเริ่มต้นที่ใช้ในการทดสอบกับจุลินทรีย์ 6 ชนิด ได้แก่ *Streptococcus epidermidis* ATCC 1228, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* DMST 4212 และ *Salmonella typhimurium* TISTR 5562 โดยวิธี agar well diffusion พบว่าสารสกัดจากทุกส่วนสามารถยับยั้งการเจริญได้เฉพาะ *S. epidermidis*, *S. aureus* และ *B. subtilis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้น เมื่อศึกษาความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ พบว่าสารสกัดใบให้ผลในการยับยั้งดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากส่วนอื่นๆ โดยความเข้มข้นต่ำที่สุดในการยับยั้ง *B. subtilis* คือ 0.39 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร *S. epidermidis* 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ *S. aureus* 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทำการหาปริมาณสารประกอบฟินอลิคทั้งหมดที่มีในสารสกัด พบปริมาณฟินอลิคทั้งหมดสูงที่สุดในสารสกัดใบ เทียบเท่ากับ 10.41 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และเมื่อนำสารสกัดมาวิเคราะห์ความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ พบว่าที่ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากส่วนใบมีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระสูงที่สุด และมีค่า IC_{50} ของสารสกัดจากส่วนใบ ลำต้น ฝัก และรากของผักเสี้ยนผี 8.32 12.26 21.62 และ 35.99 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

คำสำคัญ : ผักเสี้ยนผี การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟินอลิคทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title : Effect of parts of *Cleome viscosa* crude extracts on antibacterial and antioxidant activity test
Researcher : Miss Suttijit Sriwatcharakul
Faculty : Science Department : Biology

ABSTRACT

The bioactivity studies from the weed ethanolic crude extracts from leaf, stem, pod and root of wild spider flower; *Cleoma viscosa* Linn. were analyzed for the inhibition of the growth of microorganism with initial concentration crude extract 50 mg/ml using 6 bacterial species; *Streptococcus epidermidis* ATCC 1228, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* DMST 4212 and *Salmonella typhimurium* TISTR 5562. The agar well diffusion results were found that the extracts inhibit only gram positive bacteria species; *S. aureus*, *S. epidermidis* and *B. subtilis*. The minimum inhibition concentration study revealed that the lowest concentration of leaf crude extract at 0.39 mg/ml give the best result to inhibit the growth microorganisms with *B. subtilis*, 0.78 mg/ml with *S. epidermidis*, and 1.56 mg/ml with *S. aureus*, compare with other plant parts crude extract. The determination of total phenolic compounds in the crude extracts exhibited the highest phenolic content was 10.41 mg GAE/g dry weight in leaf crude extract. Analyzed the efficacy of free radical scavenging by using DPPH radical scavenging assay showed value of IC50 of leaf, stem, pod and root crude extracts were 8.32, 12.26, 21.62 and 35.99 mg/ml, respectively and the highest antioxidant activity found in leaf crude extract at concentration 12 mg/ml.

Keywords : *Cleoma viscosa* Linn., antimicrobial, antioxidant activity, total phenolic compound

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานวิจัยนี้ ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากแหล่งทุนเงินรายได้คณะ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 ซึ่งสำเร็จลุล่วงด้วยดี ต้องขอขอบพระคุณ คณาจารย์ นักวิทยาศาสตร์ และเจ้าหน้าที่ในภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความกรุณาในการดูแลความเรียบร้อยและอำนวยความสะดวกในการเบิกเครื่องมือ อุปกรณ์และการใช้ห้องปฏิบัติการ นักศึกษาโครงงานพิเศษ นางสาวชุดาภา กลมอ่อน นางสาวมณีนารถ ฤกษ์ดี และนางสาวศจี มุสิราช ที่มีส่วนร่วมในการทำงานวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ผู้ทำงานวิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดาและมารดา ที่ได้อบรมเลี้ยงดู ให้ความช่วยเหลือสนับสนุน เป็นกำลังใจและให้คำปรึกษาที่ดียิ่งเสมอมา

ผู้จัดทำรายงานวิจัย

นางสาวสุทธิจิต ศรีวัชรกุล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ซ
สารบัญภาพ	ญ
คำย่อและสัญลักษณ์	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ผักเสี้ยนผี (*Cleoma viscosa* linn.)	3
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	4
2.1.2 การกระจายพันธุ์	4
2.1.3 สรรพคุณทางยา	4
2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร	5
2.2.1 ตัวทำละลาย	5
2.2.1.1 น้ำ (Water)	6
2.2.1.2 แอลกอฮอล์ (Alcohol)	6
2.2.1.3 น้ำยาผสมแอลกอฮอล์ (Hydroalcohollic mixture)	6
2.2.2 การเลือกน้ำยาสกัด	6
2.2.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้น	7
2.2.3.1 การระเหย (Free evaporation)	7
2.2.3.2 กลั่นในสภาวะสุญญากาศ (Distillation in vacuum)	7
2.2.3.3 การทำให้แห้ง	7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

2.2.3.4 อัลตราฟิวเตรชัน 7

2.3 อนุมูลอิสระ 8

2.3.1 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ (Sources of free radical) 9

2.3.2 อนุมูลอิสระกับการเกิดโรค 10

2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ 10

2.4.1 สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ 11

2.4.1.1 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) 11

2.4.1.2 สารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) 14

2.4.1.3 สารเคอร์ซีทิน (quercetin) 14

2.4.2 สารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดผักเสี้ยนผี 15

2.4.2.1 ฟลาโวนอยด์ (Bioflavonoids) 15

2.4.2.2 แทนนิน (Tannin) 16

2.4.2.3 อัลคาลอยด์ (Alkaloids) 17

2.4.3 กลไกการทำงานของสารต้านออกซิเดชัน 17

2.5 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 18
2,2-diphenyl-1-picrylhydrazylradical scavenging capacity assay (DPPH)

2.6 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง 19

2.6.1 เชื้อ *Streptococcus epidermidis* 19

2.6.2 เชื้อ *Staphylococcus aureus* 20

2.6.3 เชื้อ *Bacillus subtilis* 23

2.6.4 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* 24

2.6.5 เชื้อ *Escherichia coli* 25

2.6.6 เชื้อ *Salmonella typhimurium* 26

2.7 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ 27

2.7.1 Dilution test 27

2.7.1.1 Broth dilution method 27

2.7.1.2 Agar dilution method 27

2.7.2 Diffusion test 28

2.8 ยาต้านจุลชีพ 28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

2.8.1 การจำแนกประเภทของยาต้านจุลชีพ 28
2.8.1.1 จำแนกตามสูตรโครงสร้างทางเคมี 29
2.8.1.2 จำแนกตามขอบเขตการออกฤทธิ์ 29
2.8.1.3 จำแนกตามฤทธิ์ต่อจุลชีพ 29
2.8.1.4 จำแนกตามกลไกการออกฤทธิ์ 29
2.8.2 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารต้านจุลชีพ 30
2.8.2.1 การออกฤทธิ์ที่ระดับผนังเซลล์ 30
2.8.2.2 การออกฤทธิ์ที่ระดับเยื่อหุ้มเซลล์ 32
2.8.2.3 การออกฤทธิ์ที่ระดับการสังเคราะห์ไซโตพลาสซึม 32
2.8.2.4 การออกฤทธิ์ที่ระดับกระบวนการเมทาบอลิซึม 32
2.8.3 การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลินทรีย์ 32
2.8.4 เตตราซัยคลิน (Tetracycline) 33
2.8.5 เจนตามิซิน (Gentamicin) 34
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 33
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 37
3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ 37
3.2 เชื้อแบคทีเรีย 37
3.3 วิธีการทดลอง 37
3.3.1 การสกัดผักเสี้ยนผี 37
3.3.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรีย 37
3.3.2.1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเบื้องต้นด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหาร (Agar well difussion) 37
3.3.2.2 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดผักเสี้ยนผีที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (minimal inhibitory concentration, MIC) ด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหาร (Agar well diffusion) 38
3.3.3 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 38
3.3.3.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) 38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้า

3.3.3.2 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity) 39

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 40

4.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผี 40

4.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผักเสี้ยนผี 41

4.2.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหารเบื้องต้น (Agar well diffusion) 41

4.2.2 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดผักเสี้ยนผีที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (minimal inhibitory concentration, MIC) 44

4.3 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักเสี้ยนผี 50

4.3.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) 50

4.3.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity) 51

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 53

5.1 สรุปผลการวิจัย 53

5.2 ข้อเสนอแนะ 54

เอกสารอ้างอิง 55

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก 59

ภาคผนวก ข 61

ภาคผนวก ค 64

ภาคผนวก ง 76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ลักษณะและปริมาณของสารสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผี	40
4.2 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผี ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	42
4.3 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผี ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	44
4.4 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Streptococcus epidermidis* ATCC 1228, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 และ*Bacillus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผีที่ความเข้มข้น0.3906, 0.7813, 1.5625, 3.125, 6.25, 12.5 และ25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	46
4.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของผักเสี้ยนผี	50
4.6 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ลำต้น ฝัก และราก	51
4.7 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด (IC_{50}) ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ลำต้น ฝัก และรากของผักเสี้ยนผี	52
ค-1 เส้นผ่านศูนย์กลางของของบริเวณยับยั้งในการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบผักเสี้ยนผีเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	64
ค-2 เส้นผ่านศูนย์กลางของของบริเวณยับยั้งในการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบผักเสี้ยนผีเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	66
ค-3 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งในการทดสอบเพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผี	67
ค-4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร	70
ค-5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผีในแต่ละความเข้มข้น	70
ค-6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของสารสกัดผักเสี้ยนผีส่วนใบ ลำต้น ฝัก และรากที่ความเข้มข้นต่างๆ	71
ค-7 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของหลุมควบคุม 1	71
ค-8 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของหลุมควบคุม 2	71
ค-9 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของวิตามินอี	72
ค-10 ค่าร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของวิตามินอี	72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ **หน้า**

ค-11 ค่าร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดส่วนใบ ลำต้น ฝัก และรากของผักเสี้ยนผีที่ความเข้มข้นต่างๆ 72

ค-12 ค่าเฉลี่ยร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดส่วนใบ ลำต้น ฝัก และรากของผักเสี้ยนผีที่ความเข้มข้นต่างๆ 73

ง-1 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนใบที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 76

ง-2 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนลำต้นที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 79

ง-3 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนฝักที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 82

ง-4 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนรากที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 85

ง-5 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าการต้านอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดหยาบผักเสี้ยนผี 88

ง-6 การวิเคราะห์ทางสถิติค่าการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนใบ ลำต้น ฝักและรากของผักเสี้ยนผีที่ความเข้มข้นต่างๆ 92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ต้นผักเสี้ยนผี	3
2.2	เครื่องระเหยสุญญากาศ	8
2.3	โครงสร้างของสารประกอบฟีนอล	12
2.4	โครงสร้างวงแหวนของสารประกอบต่างๆ ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก	13
2.5	โครงสร้างวงแหวนของสารแอนโทไซยานิน	14
2.6	โครงสร้างอนุพันธ์ของเคอร์ซีทิน	15
2.7	โครงสร้างของโมเลกุลแทนนิน	16
2.8	ลักษณะของเซลล์ *Streptococcus epidermidis*	19
2.9	ลักษณะของเซลล์ *Staphylococcus aureus*	20
2.10	ลักษณะของเซลล์ *Bacillus subtilis*	23
2.11	ลักษณะของเซลล์ *Pseudomonas aeruginosa*	24
2.12	ลักษณะของเซลล์ *Escherichia coli*	25
2.13	ลักษณะของเซลล์ *Salmonella typhimurium*	26
3.1	การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหาร (diffusion)	38
4.1	ลักษณะของสารสกัดหยาบจากลำต้น ฝัก ใบ และราก ของผักเสี้ยนผี	40
4.2	ฤทธิ์ของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผีที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย	43
4.3	ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบของผักเสี้ยนผีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย	45
4.4	ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากลำต้นของผักเสี้ยนผีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย	48
4.5	ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากฝักของผักเสี้ยนผีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย	48
4.6	ฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากรากของผักเสี้ยนผีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย	49
4.7	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ จากผักเสี้ยนผี	52
ข-1	กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก	62
ค-1	กราฟแสดงกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักเสี้ยนผีส่วนใบ	73
ค-2	กราฟแสดงกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักเสี้ยนผีส่วนลำต้น	74
ค-3	กราฟแสดงกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักเสี้ยนผีส่วนฝัก	74
ค-4	กราฟแสดงกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักเสี้ยนผีส่วนราก	75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อและสัญลักษณ์

คำย่อ	ความหมาย
DPPH	2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
CFU	colony forming unit
mm^3	ลูกบาศก์มิลลิเมตร
cm^3	ลูกบาศก์เซนติเมตร
µg/ml	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
mg/ml	มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
mg GAE/g สารสกัด	เทียบเท่ามิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด
mg GAE/g dry weight	เทียบเท่ามิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง
IC_{50}	Inhibition Concentration 50%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa* Linn.) เป็นวัชพืชที่สร้างความเสียหายให้แก่เกษตรกรทั้งในด้านผลผลิตที่ลดลง และค่าใช้จ่ายในการกำจัด วัชพืชชนิดนี้ เป็นพืชล้มลุก พบได้ทั่วไปในประเทศไทย ตามที่แปลงปลูกพืช ที่รกร้าง หรือตามข้างถนน มีแหล่งกำเนิดมาจากทวีปเอเชีย อาฟริกาและออสเตรเลีย แต่ในบางพื้นที่ได้มีการใช้เป็นพืชสมุนไพรโดยนำส่วนต่างๆ ของต้นมารักษาโรค เช่น มีการนำรากมารักษาวัณโรค หรือนำต้นมาใช้ในการแก้ไข้ ขับพยาธิ เป็นต้น (Saradha และ Subba, 2010) จากการศึกษาเกี่ยวกับสารสำคัญที่พบในผักเสี้ยนผีพบว่า มีสารพฤกษเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญและมีประโยชน์ต่อสุขภาพอยู่หลายชนิด ซึ่งกำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก ได้แก่ สารประกอบฟีนอลลิกและสารฟลาโวนอยด์ สารประกอบเหล่านี้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ (Prakash และ Nisha, 2011) นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดได้อีกด้วย

มนุษย์ให้ความสนใจและความเอาใจใส่ในเรื่องสุขภาพตั้งแต่อดีตที่มีการใช้สมุนไพรพื้นบ้านเป็นยารักษาโรคและบำรุงร่างกาย อาศัยภูมิปัญญาท้องถิ่นที่สืบทอดจากรุ่นสู่รุ่น ทางการค้าสมุนไพรมักถูกดัดแปลงในรูปแบบต่างๆ เพื่อให้สะดวกในการรับประทาน ปัจจุบันมนุษย์มีปัญหาทางด้านสุขภาพซึ่งมีสาเหตุที่สำคัญมาจากการรับประทานอาหาร โดยเฉพาะการรับประทานอาหารจำพวกเนื้อสัตว์เป็นประจำจะก่อให้เกิดความเสี่ยงในการเกิดโรค เช่น โรคหัวใจ หลอดเลือดแข็งตัวและมะเร็ง ได้สูงกว่าการรับประทานอาหารจำพวกผักและผลไม้ ซึ่งนอกจากจะมีวิตามินและเกลือแร่แล้วยังมีสารต้านอนุมูลอิสระ ในขณะที่เนื้อสัตว์มีของเสียที่เกิดจากการเผาผลาญอาหารที่เรียกว่า อนุมูลอิสระ (free redical)

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันจะทำให้อาหารมีกลิ่นเหม็นหืนและมีรสชาติเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ส่วนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในมนุษย์เป็นสาเหตุที่สำคัญของการเกิดโรค ภาวะที่มีอนุมูลอิสระมากเกินไปจะก่อให้เกิดอันตรายและโรคหลายชนิด เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน เป็นสาเหตุร่วมในการเกิดโรคมะเร็ง ทำให้ผิวหนังเกิดรอยเหี่ยวย่นและเกิดเป็นจุดสี เป็นต้น (Mark, 1996) โดยสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) จะทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระก่อตัวขึ้น โดยจะไปยับยั้งอนุมูลอิสระและหยุดการก่อตัวใหม่ของอนุมูลอิสระ ช่วยซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระที่ไปทำลายเซลล์ต่างๆในร่างกาย รวมทั้งช่วยในการกำจัดและแทนที่โมเลกุลที่ถูกทำลาย (Maria และคณะ, 2010) ทำให้ปัจจุบันบทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระที่พบได้จากพืชชนิดต่างๆมีความสำคัญเพิ่มมากขึ้น (รัตนา, 2545)

ยาที่ใช้สำหรับรักษาโรคในปัจจุบันเป็นยาที่ผลิตและมีขบวนการผลิตเกี่ยวข้องกับสารเคมีเป็นส่วนใหญ่ เมื่อใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคอาจส่งผลข้างเคียงต่อร่างกายในทางลบได้ ซึ่งมีรายงานว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การนำสมุนไพรมาใช้ในการรักษาโรคจะส่งผลข้างเคียงต่อร่างกายน้อยกว่ายาที่ผลิตและมีขบวนการเกี่ยวข้องกับสารเคมีที่สังเคราะห์ขึ้น ในปัจจุบันมีการพัฒนาทางด้านเทคโนโลยีและวิทยาศาสตร์มากขึ้น ทำให้นักวิทยาศาสตร์เริ่มหันมาศึกษาคุณสมบัติของสมุนไพรชนิดต่างๆ เพื่อตอบสนองต่อความต้องการของมนุษย์ที่ให้ความสนใจกับการดูแลสุขภาพกันมากขึ้น โดยเฉพาะการหันกลับมาใช้สมุนไพรเป็นทางเลือกเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้ยาที่มีกระบวนการผลิตเกี่ยวข้องกับสารเคมีสังเคราะห์ ดังนั้นจึงได้นำผักเสี้ยนผีซึ่งเป็นวัชพืชล้มลุกที่มีขนาดเล็กสามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็ว พบมากในประเทศไทย และเป็นวัชพืชที่ไม่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ และสร้างความเสียหายให้แก่พืชเศรษฐกิจโดยการแย่งอาหารและทำให้วิสัยทัศน์ไม่ดี จึงต้องหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดวัชพืชชนิดนี้โดยให้เกิดประโยชน์สูงสุด ซึ่งเป็นที่น่าสนใจในการนำมาศึกษาเนื่องจากหาได้ง่าย ใช้ต้นทุนไม่สูงมาก นอกจากนี้ผักเสี้ยนผียังมีสรรพคุณและประโยชน์ที่น่าสนใจหลายประการ ดังนั้นจึงมีความสนใจที่จะศึกษาคุณสมบัติของผักเสี้ยนผีเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 ศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ของสารสกัดส่วนต่างๆผักเสี้ยนผี โดยการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) และวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity)

1.2.2 ศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial) ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆผักเสี้ยนผีพร้อมทั้งหาปริมาณของสารสกัดจากผักเสี้ยนผีที่น้อยที่สุดในการควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ทำการสกัดสารสกัดหยาบจากใบ ลำต้น ฝัก และรากของผักเสี้ยนผี ด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ จากนั้นนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial) เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผี

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทำให้ทราบถึงผลของการใช้สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผีที่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านการแพทย์ หรือพัฒนาเพื่อใช้ร่วมกับยารักษาโรคและหลีกเลี่ยงอันตรายจากสารเคมีช่วยเพิ่มความปลอดภัยแก่ผู้บริโภค เป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าของผักเสี้ยนผีที่เป็นวัชพืชให้เกิดประโยชน์สูงสุด และเป็นข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ของผักเสี้ยนผีสำหรับผู้ที่สนใจใช้ในการศึกษา วิจัย และค้นคว้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ผักเสี้ยนผี (*Cleome viscosa* Linn.)

ภาพที่ 2.1 ต้นผักเสี้ยนผี

ที่มา : http://www.flickr.com/photos/eddingrid/8177667647/ (สืบค้นวันที่ 8/4/2556)

ชื่อสามัญ : Wild Spider flower, Phak sian phee.

ชื่อท้องถิ่น : ผักเสี้ยนผี ผักส้มเสี้ยนผี ผักเสี้ยนตัวเมีย หรือไปนิพพานไม่กลับ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Cleome viscosa* Linn.

Kingdom *Plantae*
Division *Magnoliophyta*
Class *Magnoliopsida*
Subclass *Dilleniidae*
Order *Capparales*
Family *Capparaceae*
Genus *Cleome* L.
Species *Cleome viscosa* L.

ที่มา : http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=Clvi9 (สืบค้นวันที่ 8/4/2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นพรรณไม้ล้มลุก มีอายุปีเดียว ขนาดเล็ก สูงประมาณ 50-90 เซนติเมตร ตามลำต้นมีขนละเอียดปกคลุมจับแล้วเหนียวมือมักถูกจัดอยู่ในกลุ่มวัชพืชหรือพวกหญ้าดังรูป 2.1

ลำต้น : ทั้งลำต้นและกิ่งก้านมีสีเขียว ยกเว้นบริเวณโคนกิ่งเป็นสีม่วงมีขนสั้นๆ ปกคลุม เมื่อสัมผัสจะรู้สึกเหนียวและสาก ทุกส่วนของพืชมีกลิ่น

ราก : มีระบบรากแก้ว มีรากแขนงมากมายและส่วนใหญ่จะแข็งเนื่องจากมีเนื้อไม้

ใบ : เป็นใบประกอบที่มีลักษณะคล้ายฝ่ามือ (palmately compound leaf) มีใบย่อย 5 ใบ ใบย่อยมีรูปร่างคล้ายรูปไข่หัวกลับ ขนาดกว้างประมาณ 1 เซนติเมตร ยาว 2-2.5 เซนติเมตร ขอบใบเป็นคลื่นเล็กน้อย ฐานใบสองข้างเส้นกลางใบกว้างไม่เท่ากัน ปลายใบแหลม (mucronate) เนื้อใบบางเหี่ยวง่าย ผิวใบมีขนทั้งใต้ท้องใบและหลังใบ เส้นใบสานเป็นร่างแห เห็นนูนชัดทางด้านท้องใบ การจัดระเบียบของใบบนลำต้นเป็นแบบสลับ (alternate) ไม่มีหูใบ ก้านใบรวมกลม ยาวประมาณ 3-4.5 เซนติเมตร ส่วนก้านใบย่อยสั้นมาก

ดอก : เป็นดอกช่อ ออกที่ปลายกิ่ง ดอกย่อยมีริ้วประดับรองรับ ก้านดอกยาว 1 เซนติเมตร มีขนสั้นๆปกคลุม เมื่อดอกบานเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.2 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงมี 4 กลีบ สีเหลืองขนาดไม่เท่ากัน

ผล : เป็นผลเดี่ยวแห้งแตกได้แบบ silique โดยจะแตกจากปลายผลมายังโคนผล

เมล็ด : เมล็ดลักษณะค่อนข้างกลม และแบนลงเล็กน้อย เปลือกหุ้มแข็ง สีดำและเป็นร่อง จำนวนเมล็ดต่อผลมีมาก (สมหมาย และคณะ, 2524)

2.1.2 การกระจายพันธุ์

พบได้ทั่วไปตามที่รกร้าง ทั่วทุกภาคของประเทศไทย สามารถกระจายพันธุ์ได้เอง โดยฝักแก่จะแตกออกตรงแนวตะเข็บ เมล็ดจะตกกระจายลงในดิน ถ้าดินมีความชื้นเหมาะสม เมล็ดก็จะงอกเป็นต้นใหม่ สามารถขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด โดยนำเมล็ดที่แก่เต็มที่มาหว่านลงในแปลงปลูกที่เตรียมไว้ ถ้าเป็นดินร่วนจะดีมาก รดน้ำใช้ซุ่มทุกวัน เมล็ดจะงอกได้ภายใน 1 – 2 สัปดาห์ (สมหมาย และคณะ, 2524)

2.1.3 สรรพคุณทางยา

ผักเสี้ยนผีเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า wild mustard หรือ dog mustard จัดอยู่ในกลุ่มของวัชพืชและจัดเป็นพืชล้มลุกที่พบได้ตลอดทั้งปี พบได้มากบริเวณที่ราบของประเทศอินเดียและบริเวณเขตร้อนทั่วโลก ผักเสี้ยนผีเป็นพืชสมุนไพรที่ถูกนำมาใช้เป็นยาแผนโบราณ เนื่องจากมีสรรพคุณยามากมาย ดังนี้ (Ravindra, 2010)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบ : มีรสขมร้อน แก้ปัสสาวะผิดปกติ ใช้ถูนวดให้เลือดเดินสะดวก

ใบและเมล็ด : มีรสขมร้อนขับน้ำเหลือง

ผล : มีรสขมร้อน ใช้ฆ่าเชื้อโรค ฆ่าพยาธิ

ลำต้น : ใช้ปรุงเป็นยาแก้ฝีในปอด แก้ขับหนองในร่างกาย หรือให้หนองแห้ง แก้ฝีในลำไส้ ในตับ ขับพยาธิในลำไส้ได้ โรคข้ออักเสบ ทาภายนอกแก้โรคผิวหนัง

ราก : แก้โรคผอมแห้งในสตรีเนื่องจากคลอดบุตร แก้วัณโรค รากและเมล็ดมีรสขมร้อน ช่วยกระตุ้นหัวใจ แก้โรคเลือดออกตามไรฟัน

ทั้งต้น : มีรสขมร้อน ขับหนองในร่างกายให้แห้ง ใช้ภายในเป็นยาแก้ฝีในปอด ลำไส้ ตับ แก้โรคไขข้ออักเสบ ขับพยาธิในลำไส้ ใช้ภายนอก แก้หูอักเสบ ชงน้ำดื่มแก้โรคผิวหนัง บรรเทาอาการจุกเสียด โรคบิดล้างแผลเรื้อรัง (บังอรและศศิลักษณ์, 2549)

2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร (นงค์ลักษณ์, 2553)

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ คือ สารจากสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตทั้งคน สัตว์และพืช สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีต้องเป็นสารที่มีผลจำเพาะเจาะจง เช่น มีความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งเต้านม มีฤทธิ์ไวต่อเชื้อแบคทีเรีย เป็นต้น สารเหล่านั้นจะต้องไม่มีผลลบข้างเคียงต่อร่างกาย หรือมีผลเพียงน้อยมาก เพราะเมื่อสารนั้นถูกนำมาแปรรูปให้เป็นส่วนประกอบยาย่อมไม่ต้องการให้ยามีผลกับส่วนที่ดีของร่างกาย ยกเว้น เชื้อโรคที่เราต้องการขจัดเท่านั้น สารใดก็ตามหากมีผลข้างเคียงที่ไม่ต้องการ สารเหล่านั้นจะถูกจัดเป็นสารพิษ

การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร ทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปการสกัดสารสกัดเบื้องต้นไม่ว่าจะสกัดด้วยวิธีใดหรือใช้ตัวทำละลายใด จะได้องค์ประกอบเป็นของผสมหรือสารสกัดหยาบ ซึ่งเป็นสิ่งที่สกัดได้จากพืชสมุนไพรโดยใช้ตัวทำละลาย สารสกัดหยาบนี้เป็นของผสมขององค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพร ซึ่งมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เรียกว่า สารสำคัญ (active constituents) สำหรับองค์ประกอบที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา จะเรียกว่า สารเฉื่อย (inert substances) ชนิดและองค์ประกอบในสารสกัดจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพของพืชสมุนไพรและวิธีที่ใช้ในการสกัด วัตถุประสงค์ของการสกัดพืชสมุนไพร คือ เพื่อสกัดแยกสารสมุนไพรออกจากสมุนไพร เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นของสารสำคัญ เพื่อลดขนาดของการใช้สมุนไพรลงให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม

2.2.1 ตัวทำละลาย

ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการเตรียมสารสกัด ได้แก่ น้ำ แอลกอฮอล์ หรือสารละลายผสมของทั้งสองอย่างนี้ นอกจากนี้ยังอาจใช้กรด ด่าง เติมลงในน้ำยาสกัดเพื่อปรับความเป็นกรด-ด่างของน้ำยาสกัดให้เหมาะสมยิ่งขึ้น ส่วนสารละลายชนิดอื่น เช่น อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม อาจมีนำมาใช้บ้างในบางกรณี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.1 น้ำ (Water)

จัดว่าเป็นตัวทำละลายที่ดี หาง่ายและราคาถูก แต่การใช้น้ำอย่างเดียวเป็นตัวทำละลายในการสกัดสมุนไพรนั้นมีข้อเสียหลายประการ คือ สามารถละลายองค์ประกอบที่ไม่ต้องการออกมาได้มากเช่นเดียวกับสารสำคัญที่ต้องการ สารเฉื่อยที่ออกมากับน้ำ เช่น น้ำตาลและแป้ง สารเหล่านี้เป็นอาหารที่ดีแก่จุลินทรีย์จึงทำให้เกิดการบูดเสียของสารสกัดเนื่องจากจุลินทรีย์ได้สารอาหาร นอกจากนี้น้ำยังระเหยได้ที่อุณหภูมิสูง หากต้องการทำให้สารสกัดในน้ำเข้มข้นจะต้องใช้อุณหภูมิที่สูงในการระเหยไล่น้ำออกไป ซึ่งอาจจะทำให้สารสำคัญเกิดความเสียหาย ดังนั้นจึงไม่ค่อยนิยมใช้น้ำเดี่ยวๆ เป็นน้ำยาสกัด แต่ใช้ร่วมกับตัวทำละลายอื่นๆ

2.2.1.2 แอลกอฮอล์ (Alcohol)

เป็นตัวทำละลายที่ดีมากเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำ เนื่องจากแอลกอฮอล์นั้นมีความจำเพาะในการละลายมากกว่าน้ำ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ หากต้องการทำให้สารสกัดเข้มข้นก็สามารถที่จะทำการระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิต่ำกว่าน้ำ

2.2.1.3 น้ำยาผสมแอลกอฮอล์ (Hydroalcohollic mixture)

เป็นน้ำยาที่ใช้กันอย่างขว้างกวางเนื่องจากสามารถละลายสารสำคัญในพืชสมุนไพรได้ใกล้เคียงกับแอลกอฮอล์ แต่ราคาถูกกว่าและสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้อีกด้วย นอกจากนี้การใช้น้ำยาผสมแอลกอฮอล์ยังช่วยป้องกันการแยกตัวของสารต่างๆในสารสกัดเมื่อตั้งทิ้งไว้ซึ่งมักเกิดขึ้นในกรณีที่ใช้น้ำอย่างเดียวในการสกัด

นอกจากน้ำยาต่างๆ ที่ได้กล่าวไว้ข้างต้นแล้ว ตัวทำละลายอินทรีย์ยังสามารถใช้ในการสกัดสารจากพืชสมุนไพรได้ เช่น เฮกเซน และปิโตรเลียมอีเทอร์ ใช้สกัดพืชสมุนไพรในขั้นต้นพวกขจัดสารพวกไขมันออกไปก่อนที่จะทำการสกัดขั้นต่อไป ตัวทำละลายเหล่านี้นิยมใช้สกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้ว ได้แก่ ไขมัน สเตียรอยด์ และเทอร์พีนอยด์ เป็นต้น

คลอโรฟอร์มและอีเทอร์ จัดเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลาง มักใช้ในการสกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้วไปจนถึงขั้วปานกลาง

เมทานอล เป็นตัวทำละลายที่มีขั้วใช้สกัดสารเช่นเดียวกับแอลกอฮอล์ แต่นิยมใช้แอลกอฮอล์มากกว่าเพราะมีราคาถูกและมีความเป็นพิษน้อยกว่า

2.2.2 การเลือกน้ำยาสกัด

ควรเลือกใช้นำยาสกัดให้มีความเหมาะสมกับชนิดของสารที่ต้องการ โดยน้ำยาสกัดดังกล่าวควรมีคุณสมบัติดังนี้ จะต้องมีความสามารถในการละลายสารสำคัญได้มากที่สุดและไม่ละลายองค์ประกอบอื่นๆหรือละลายองค์ประกอบอื่นๆได้น้อย หลักในการเลือกน้ำยาสกัดโดยทั่วไปคือสิ่งที่เหมือนกันย่อยละลายกันและกันได้ เช่น คุณสมบัติของสารละลายสำคัญที่มีขั้วก็ควรเลือกตัวทำละลายที่มีขั้วเช่นเดียวกันในการสกัด ราคาถูก มีความคงตัวดีและหาง่าย ไม่เป็นพิษต่อร่างกาย ระเหยได้ยาก สภาพของสมุนไพรที่ทำการสกัด เช่น ลำต้น เมล็ด เป็นส่วนที่มีไขมันอยู่มากควรขจัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไขมันพวกนี้ออกก่อน โดยการสกัดด้วยสารละลายอินทรีย์ประเภทไม่มีขั้วแล้วจึงนำกากพืชที่เหลือไปสกัดต่อด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม

2.2.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

สารสกัดที่ได้จะมีปริมาณมากและเจือจาง ทำให้ไม่สามารถนำไปแยกองค์ประกอบได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงควรที่จะนำมาทำให้เข้มข้นก่อน ซึ่งวิธีการทำให้เข้มข้นมีดังนี้

2.2.3.1 การระเหย (Free evaporation)

เป็นการนำตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ หรือแผ่นความร้อน ซึ่งวิธีนี้อาจจะทำให้องค์ประกอบในการสกัดสลายตัวได้เนื่องจากอุณหภูมิสูงเกินไป และหากใช้สารละลายอินทรีย์ในการสกัด การระเหยโดยให้ความร้อนโดยตรงบนแผ่นความร้อนอาจเกิดอันตรายได้ง่าย

2.2.3.2 กลั่นในสภาวะสุญญากาศ (Distillation in vacumm)

ซึ่งจัดเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัด โดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำพร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ปั๊มสุญญากาศ เครื่องมือนี้เรียกว่า rotary evaporator ซึ่งมีส่วนประกอบสำคัญ 3 ส่วน คือ ภาชนะบรรจุสารสกัดหยาบ คอนเดนเซอร์หรือตัวควบแน่นไอสารละลาย และภาชนะรองรับสารละลายหลังการกลั่น หลักการทำงาน คือ สารสกัดหยาบซึ่งบรรจุอยู่ในภาชะนะจะแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิได้และจะหมุนตลอดเวลาที่ทำงาน เพื่อให้มีการกระจายความร้อนอย่างทั่วถึง ภาชนะบรรจุสารสกัดหยาบนี้จะต่อเข้ากับส่วนควบแน่น ซึ่งมีระบบที่ทำความเย็นอยู่ตลอดเวลา ปลายของส่วนควบแน่นจะมีภาชนะรองรับ โดยทั้งระบบจะต่อเข้ากับระบบสุญญากาศ สารละลายที่ระเหยออกจากภาชนะบรรจุจะควบแน่นที่บริเวณคอนเดนเซอร์และหยดลงมาในภาชนะรองรับสารละลายหลังกลั่นซึ่งสารละลายดังกล่าวสามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์และนำกลับมาใช้ใหม่ได้ ดังภาพที่ 2.2

2.2.3.3 การทำให้แห้ง

เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดจนแห้ง ได้สารสกัดออกมาในสภาพของแข็งหรือกึ่งของแข็ง มีวิธีหลายวิธี อาทิเช่น การใช้ความเย็น และการใช้ความร้อน

2.2.3.4 อัลตราฟิวเตรชัน

เป็นการทำให้สารสกัดที่อยู่ในรูปของของเหลวเข้มข้นขึ้น โดยใช้การกรองผ่านเมมเบรนที่มีรูขนาดเล็กมากๆ ซึ่งใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 5000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2.2 เครื่องระเหยสุญญากาศ

ที่มา: http://www.cjp-scientific.com/index.php?mo=30&cid=172991

(สืบค้นวันที่ 8/4/2556)

2.3 อนุมูลอิสระ (เจนจิรา และคณะ, 2554)

อนุมูลอิสระ (free radical) คือ อะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่เป็นคู่อยู่ในออร์บิทอลวงนอกสุด (outer orbital) เนื่องจากการมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยว (unpaired electron) อยู่ในวงโคจรของโมเลกุลทำให้ไม่มีความเสถียรและมีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก โดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียรโดยโมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดมาใหม่นี้จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไป เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ต่อกันไปเรื่อยๆ โดยที่อนุมูลอิสระก็มีสมบัติเหมือนสารทั่วๆไป คือ มีความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่น สามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิความเป็นกรดด่าง (pH) และความชื้น เป็นต้น ส่งผลทำให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่างๆของเซลล์ภายในร่างกายเช่น การทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ (DNA) การเปลี่ยนสภาพโปรตีนและไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ หรือการสร้างพันธะโควาเลนท์ (covalent bond) กับโปรตีนหรือเอนไซม์บางชนิดทำให้การทำงานผิดปกติ โดยกลไกการเกิดอนุมูลอิสระ (รัชนี, 2548) มีดังนี้

1. ขั้นเริ่มต้น (initiation) ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระของกรดไขมันไม่อิ่มตัวจากการทำปฏิกิริยาระหว่างกรดไขมันไม่อิ่มตัวกับออกซิเจนโดยมีตัวเร่งปฏิกิริยา คือ ความร้อน แสงรังสี อิออนของโลหะหรือฮีม (haem)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$RH + initiator \xrightarrow[T]{light} R^{\cdot} + H^{\cdot}$$

2. ขั้นต่อเนื่อง (propagation) ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนการเกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระของกรดไขมันที่ได้จากขั้นเริ่มต้นกับออกซิเจน ได้เป็นอนุมูลเปอร์รอกซี (peroxy radical) ซึ่งจะทำปฏิกิริยาต่อกับกรดไขมันไม่อิ่มตัว เกิดเป็นสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และอนุมูลอิสระของกรดไขมันที่สามารถเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อเนื่องได้อีก

$$R^{\cdot} + O_2 \longrightarrow ROO^{\cdot}$$

3. ขั้นสุดท้าย (termination) ขั้นตอนนี้เป็นขั้นการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่จากการทำปฏิกิริยากันเองระหว่างอนุมูลอิสระทำให้เกิดสารที่มีความคงตัวจึงไม่เกิดปฏิกิริยาต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้น

$$ROO^{\cdot} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\cdot}$$

2.3.1 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ (Sources of free radical)

อนุมูลอิสระในร่างกายของมนุษย์ออกเป็น 2 แบบง่ายๆ คือ

1. อนุมูลอิสระที่เกิดในร่างกายของเราเองเป็นผลจากในร่างกายของเรามีกระบวนการเผาผลาญอาหารหรือที่เรียกเป็นทางการว่ากระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) เกิดขึ้นตลอดเวลา ซึ่งเป็นผลจากปฏิกิริยาเคมีและกิจกรรมของเซลล์ในร่างกายที่ต้องดำเนินการตามปกติ ตัวอย่างเช่นในกระบวนการหายใจจะเกิดออกซิเจนที่มีประจุลบซึ่งก็คืออนุมูลอิสระ สารตัวนี้สามารถรวมตัวกับไขมัน LDL (Low Density Lipoproteins) ได้ดี และยังสามารถรวมตัวกับสารบางชนิดในร่างกายก่อให้เกิดสารพิษที่ทำลายเนื้อเยื่อ หรืออาจไปเปลี่ยนแปลงข้อมูลทางพันธุกรรมในดีเอ็นเอทำให้เซลล์ปกติเปลี่ยนสภาพไปเป็นเซลล์มะเร็งเป็นต้น

2. อนุมูลอิสระที่มาจากนอกร่างกาย ซึ่งเกิดได้หลายปัจจัยด้วยกันคือ จากการได้รับเชื้อโรค เช่น การติดเชื้อไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรีย โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (Autoimmune Diseases) เช่น ข้ออักเสบ รูมาตอยด์ จากรังสี เช่น รังสีอัลตราไวโอเลต รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา จากมลภาวะ เช่น ควันบุหรี่ แก๊สจากท่อไอเสียรถยนต์ เช่น ไนตรัสออกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ เขม่าจากเครื่องยนต์ ฝุ่น จากกระบวนการประกอบอาหารเช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่มีอุณหภูมิสูงๆกลับมาใช้อีก ทำให้เกิดอาหารประเภทเกรียม ไหม้ หรือเกิดจากการปิ้ง ย่าง จากยาบางชนิด เช่น โดโซรูบิซิน (Doxorubicin) เพนนิซิลามิน (Penicillamine)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พาราเซทามอล (Paracetamol) เป็นต้น (อนันต์, 2551) สามารถแบ่งชนิดของอนุมูลอิสระที่มีบทบาทสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตเป็น 4 กลุ่มดังนี้

1. Reactive oxygen species (ROS) หมายถึง สารก่อปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยอะตอมออกซิเจนที่เป็นสารอนุมูลอิสระ เช่น superoxide anion radical (O2•–), hydroxyl radical (HO•) และที่ไม่ใช่อนุมูลแต่มีคุณสมบัติในการออกซิไดซ์หรือถูกเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระได้ง่าย เช่น hydrogenperoxide (H_2O_2), hypochlorous acid (HOCl) และ ozone (O_3) เป็นต้น

2. Reactive nitrogen species (RNS) หมายถึง สารก่อปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยอะตอมไนโตรเจน เช่น nitric oxide radical (NO•) และ nitrogen dioxide radical (NO2•) เป็นต้น

3. Reactive chlorine species (RCS) หมายถึง สารก่อปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยอะตอมคลอรีน เช่น hypochlorous acid (HOCl) และ nitryl chloride (NO_2Cl) เป็นต้น

4. Reactive bromine species (RBS) หมายถึง สารก่อปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยอะตอมโบรมีน เช่น hypobromous (HOBr) และ bromine gas (Br_2) เป็นต้น (กัมปนาท, 2553)

2.3.2 อนุมูลอิสระกับการเกิดโรค

ความไม่สมดุลกันของการเกิดอนุมูลอิสระทำให้มีอนุมูลมากเกินสมดุล และเกิดสภาวะที่เซลล์และร่างกายถูกออกซิไดซ์ ภาวะดังกล่าวมีบทบาทในการทำให้เกิดโรคต่างๆมากกว่า 100 โรค เช่น ภาวะผนังเส้นเลือดแดงหนาและมีความยืดหยุ่นน้อยลงเนื่องจากการสะสมของไขมันที่ทำให้ผนังหลอดเลือดตีบตันและเกิดภาวะขาดเลือดชั่วคราวที่สมอง และหัวใจ โรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมของประสาทส่วนกลาง โรคภูมิแพ้ และโรคมะเร็ง นอกจากนี้การมีปริมาณอนุมูลอิสระที่ไม่สมดุลยังสัมพันธ์กับลักษณะของโรคหรืออาการผิดปกติอื่นๆดังนี้ โรคอัลไซเมอร์ โรคพาร์กินสัน อาการสมองและไขสันหลังอักเสบเนื่องจากโรคภูมิแพ้ โรคเนื้องอกเรื้อรัง ดาวน์ ซินโดรม โรคตับอักเสบ โรคข้ออักเสบ การติดเชื้อเอชไอวี โรคแทรกซ้อนอันเนื่องมาจากเป็นโรคเบาหวาน โรคต้อกระจก แผลเปื่อย ซึ่งอนุมูลอิสระนี้เป็นสาเหตุในการเกิดโรคที่เกี่ยวกับปอดหลายโรค เช่นโรคปอดที่เกิดจาการสูดใยหิน ไนโตรเจนไดออกไซด์ โอโซน ยากำจัดวัชพืช คาร์บอนเตตระ คลอไรด์ หรือยารักษาโรคมะเร็ง นอกจากนี้ยังรวมถึงการมีออกซิเจนมากเกินไปในระบบร่างกาย เซลล์ที่มีหน้าที่คุ้มกันและกำจัดเชื้อโรคและสิ่งแปลกปลอมมีความเกี่ยวข้องในการเกิดอนุมูลอิสระ เช่น ในกระบวนการอักเสบ และภาวะที่ร่างกายถูกออกซิไดซ์หรือมีอนุมูลอิสระมากเกินไปไม่สมดุลจะทำให้โอกาสเกิดโรคสูงขึ้น เช่น โรคที่เกิดจากจากปอดติดเชื้อไวรัสและไข้หวัดใหญ่ (พัชราภรณ์ และ วีระชัย, 2553)

2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ (Brand และ Cuvelier, 1995)

สารแอนติออกซิเดนท์ (antioxidant) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าสารต้านอนุมูลอิสระ คือสารที่ทำหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ หรือเรียกว่า free radical scavenger ในที่นี้รวมถึงสารที่สามารถยับยั้งและควบคุมอนุมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิสระไม่ให้ไปกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ และจะไปหยุดยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ ทำให้มีความเสถียรและคงตัวจึงเกิดการหยุดการก่อตัวใหม่ นอกจากนี้ยังซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดจากตัวอนุมูลอิสระที่ไปทำลายเซลล์ต่างๆ ในร่างกาย ทั้งกำจัดและแทนที่โมเลกุลที่ถูกทำลายเพราะสารเหล่านี้อาจเป็นพิษต่อร่างกายได้ สารแอนติออกซิแดนท์มีทั้งที่เป็นสารจากธรรมชาติ (natural antioxidant) มักพบในอาหารจำพวกผักและผลไม้ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เปปไทด์ (peptides) กรดอะมิโน (amino acid) กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เมลานอยดิน (melanoidin) กรดอินทรีย์อื่นๆ ได้แก่ แทนนิน (tannins) เคอร์ซิทิน (quercetin) และโทโคฟีรอล (tocopherols) เป็นต้น และสารสังเคราะห์ (synthetic antioxidant) ได้แก่ butyhydroquinone (TBHQ), butyl-4-hydroxyanisol (BHA) และ butyl-4-hydroxytoluene (BHT) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์หลักในระบบต้านอนุมูลอิสระประกอบด้วย superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT) และ glutathione peroxidase (อนันต์,2551)

สารแอนติออกซิแดนท์มีอยู่มากมายหลายชนิดแต่ที่มีความสำคัญและพบมากในผักและผลไม้มีอยู่ 3 ชนิดคือสารประกอบฟีนอล สารแอนโทไซยานิน และสารเคอร์ซีทิน ซึ่งแต่ละชนิดมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

2.4.1 สารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ

สารต้านอนุมูลอิสระที่มีในธรรมชาติได้มาจากการบริโภคผักและผลไม้ ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารประเภทวิตามินซี เบต้า-แคโรทีน (β-carotene) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) รวมถึงสารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอลิก (polyphenolics) เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) เป็นต้น โดยปัจจุบัน พบว่าสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ (กนิษฐา และคณะ, 2551)

2.4.1.1 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound)

เป็นสารที่พบได้ในผักและผลไม้ทั่วไปมีคุณสมบัติเป็นสารอินทรีย์ที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) มีจำนวน hydroxyl group อย่างน้อยหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งหมู่ในโมเลกุลสามารถละลายในน้ำได้ส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลมักพบอยู่รวมกับน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีหลายกลุ่มและมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีแตกต่างกันกลุ่มใหญ่ที่พบจะเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid) นอกจากนี้ยังมีสารประกอบต่างๆ เช่น ฟีนิล พรอพานอย(phenyl propanoid), ฟีนอลิก ควิโนน (phenolic quinine) และ โพลีฟีนอลิก (polyphenolic) ซึ่งได้แก่ พวกลิกนิน (lignin), เมลานิน (melanin) และแทนนิน (tannin) เป็นต้นรวมทั้งยังพบว่ามีสารประกอบที่มีกลุ่มฟีนอล (phenolic unit) ดังภาพที่ 2.4 รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนอัลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

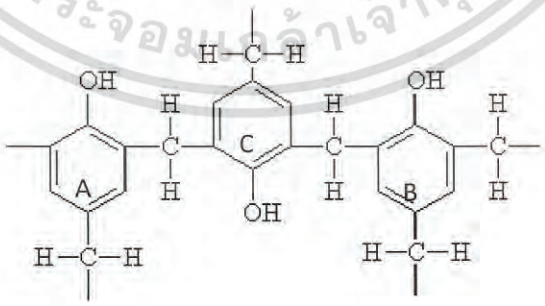
นอยด์ (terpenoid) เป็นต้น หน้าที่ของสารประกอบฟีนอลเหล่านี้บางชนิดก็ทราบแน่ชัดเช่น ลิกนิน ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างให้ความแข็งแรงแก่ผนังเซลล์ของพืช สารในกลุ่มแอนโทไซยานินเป็นสารที่ให้สีในดอกไม้ ผัก และผลไม้ สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์มีความสำคัญในการควบคุมการเจริญของพืชจำพวกถั่ว เป็นต้น สารประกอบฟีนอลหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ ซึ่งจะเป็นตัวกำจัดอนุมูลอิสระโดยมีกลไกคือ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีความเข้มข้นต่ำเมื่อเทียบกับสารออกซิไดซ์สารประกอบฟีนอลจะหน่วงเหนี่ยวหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาจะถูกทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร ดังนั้นจึงสามารถป้องกันการเกิดขั้นตอน propagation ได้ สารประกอบฟีนอลยังทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวซ์ซึ่งจะให้ไฮโดรเจนและกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟ ประโยชน์ของสารประกอบฟีนอลในการรักษาโรค เช่น ช่วยยับยั้งการแข็งตัวของเกล็ดเลือด ต่อต้านอาการอักเสบและบวม รักษาแผลในกระเพาะอาหาร ต่อต้านการแพ้จากการหลั่งของฮีสตามีน และยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ศักยภาพของสารประกอบฟีนอลในการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์นั้นขึ้นกับค่า redox potential ของ hydroxyl group ในโมเลกุลและโครงสร้างทางเคมีซึ่งแตกต่างกันไป

โดยประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลจะมีมากขึ้นถ้าในโครงสร้างโมเลกุลมีตำแหน่งดังต่อไปนี้

1) 3-hydroxyl group ของวงแหวน C เมื่อเปรียบเทียบโครงสร้างระหว่าง quercetinและ luteolin พบว่า luteolin มีแอคติวิตีของสารแอนติออกซิแดนท์น้อยกว่า quercetin เนื่องจากluteolin ไม่มีตำแหน่ง 3-hydroxyl group ที่วงแหวน C

2) 2, 3-double bond และ 4-oxo group ของวงแหวน C เมื่อเปรียบเทียบโครงสร้างระหว่าง quercetin และ taxifolin พบว่า taxifolin มีแอคติวิตีของสารแอนติออกซิแดนท์น้อยกว่า quercetin เนื่องจาก taxifolin ไม่มีพันธะคู่ที่ตำแหน่งดังกล่าว

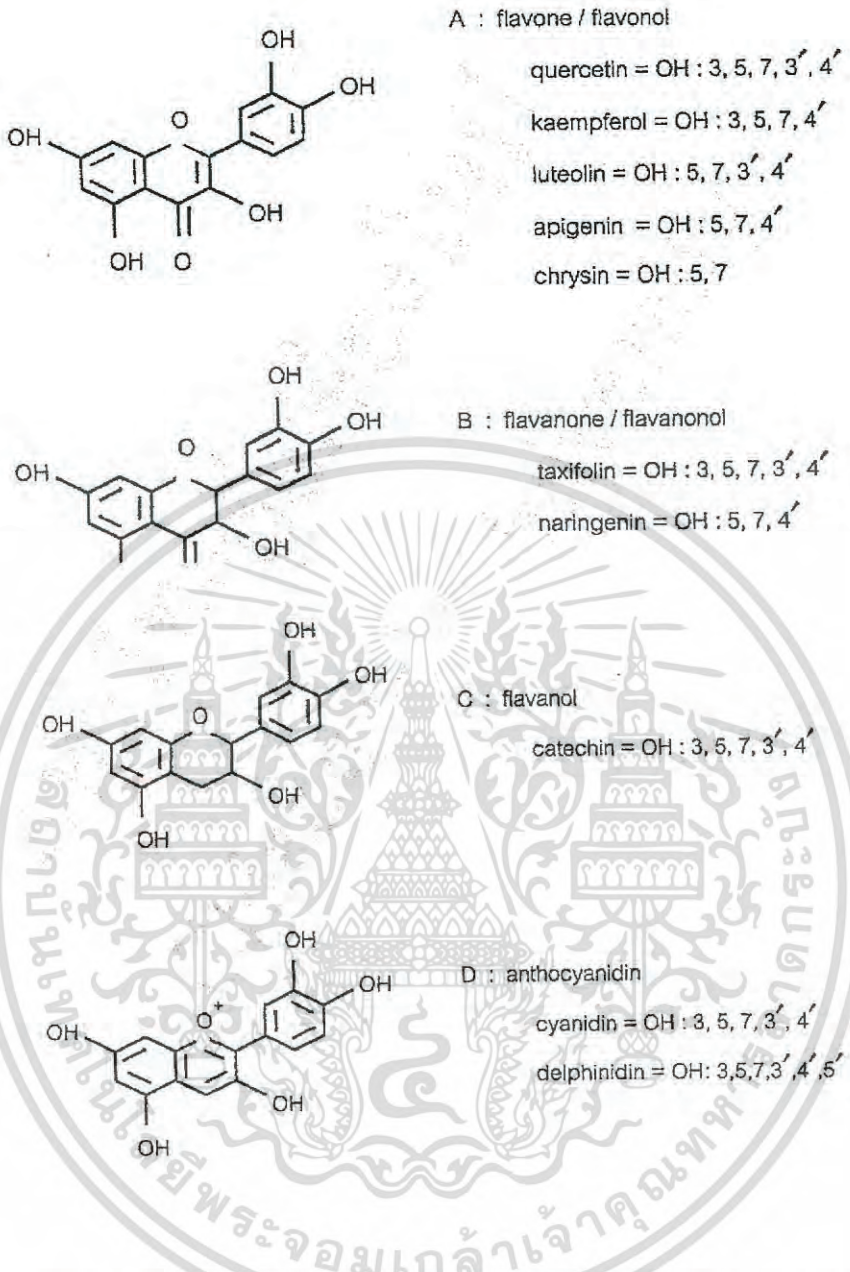
3) 3′, 4′-hydroxyl group ของวงแหวน B เมื่อเปรียบเทียบโครงสร้างระหว่าง quercetin และ kaempferol พบว่า kaempferol มีแอคติวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่า quercetin เนื่องจาก kaempferol ไม่มี hydroxyl group ที่ตำแหน่ง 3′ของวงแหวน B ดังภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอล

ที่มา : http://dwb4.unl.edu /Page5.html (สืบค้นวันที่8/4/2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



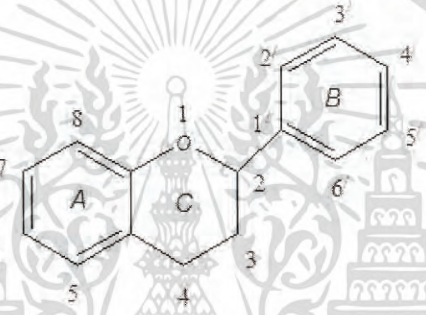
ภาพที่ 2.4 โครงสร้างวงแหวนของสารประกอบต่างๆ ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก

ที่มา: สงกรานต์, (2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.2 สารแอนโทไซยานิน (anthocyanin)

เป็นรงควัตถุที่จัดอยู่ในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งเป็นสารประกอบจำพวกไกลโคไซด์ สามารถละลายน้ำได้ดีให้สีแดงสีชมพูสีน้ำเงินและสีม่วง สารแอนโทไซยานินพบอยู่ในออร์แกเนลล์ ที่เรียกว่า แวคิวโอลในเซลล์ที่อยู่ในชั้น sub-eqidermal tissue ของใบ ดอก และผล ของพืช สารแอนโทไซยานินละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น น้ำ และแอลกอฮอล์ โดยการละลายจะเพิ่มขึ้นถ้าตัวทำละลายมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้น สารแอนโทไซยานินจะมี flavan nucleus เป็นโครงสร้างพื้นฐานที่สำคัญจะประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) คือวงแหวน A B และวงแหวน C โดยวงแหวน A และ B เป็นวงสำคัญที่เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นโดยเฉพาะที่วงแหวน B จะมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) และ/หรือหมู่เมทอกซิล (-OCH_3) มาเกาะซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนโครงสร้างเป็นสารอนุพันธ์ตัวอื่นๆ เกิดเป็นสารแอนโทไซยานินที่หลากหลาย และมีวงแหวน C เป็นตัวเชื่อมระหว่างวงแหวน A และ B ดังภาพที่ 2.5 (สงกรานต์, 2552)



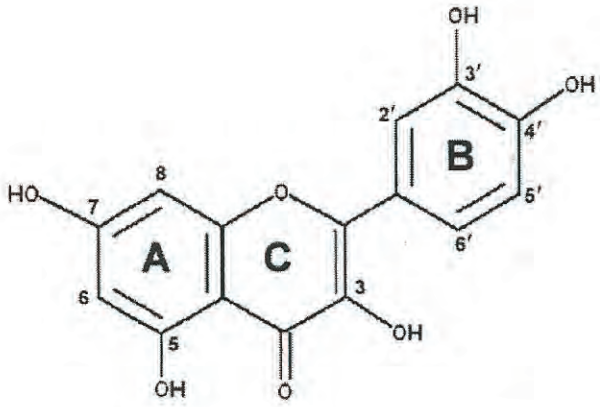
ภาพที่ 2.5 โครงสร้างวงแหวนของสารแอนโทไซยานิน

ที่มา: http://www.teainstitutemfu.com/article/chemistry.html (สืบค้นวันที่8/4/2556)

2.4.1.3 สารเคอร์ซีทิน (quercetin)

เป็นสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์มีคุณสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ที่พบในแอปเปิ้ล ผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ และหัวหอม สารเคอร์ซีทินทำหน้าที่เป็น chelating agent ซึ่งจะดักจับไอออนของโลหะเข้าไปไว้ในโมเลกุลโดยโครงสร้างของสารเคอร์ซีทินมีตำแหน่ง (binding site) ที่สามารถดักจับไอออนของโลหะเช่นทองแดงได้ 3 บริเวณคือบริเวณ 3′, 4′ dihydroxy ของวงแหวน B บริเวณ 3-hydroxy, 4-keto ของวงแหวน C และบริเวณระหว่างตำแหน่ง 5-hydroxy ของวงแหวน A ดังภาพที่ 2.6 (สงกรานต์, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างอนุพันธ์ของเคอร์ซีทิน
ที่มา : http://www.39kf.com/cooperate/qk/American-Society-for-Nutrition/048001/2008-12-28-551377.shtml (สืบค้นวันที่8/4/2556)

2.4.2 สารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดผักเสี้ยนผี

2.4.2.1. ฟลาโวนอยด์ (Bioflavonoids)

ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากชนิดหนึ่ง จะพบมากในพืชผักและผลไม้ มีหน้าที่สองอย่างคือเป็นรงควัตถุทำหน้าที่กรองแสงที่มีความยาวคลื่นที่จำเพาะเจาะจง และทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยไปกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในเซลล์พืชออกไป ความสามารถของการต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับโครงสร้างของฟลาโวนอยด์ และคุณสมบัติของ ฟลาโวนอยด์ยังสามารถช่วยลดการอักเสบ ช่วยให้หลอดเลือดแข็งตัว ทำให้การไหลเวียนเลือดดีขึ้นต่อต้านแบคทีเรียและไวรัส ลดโคเลสเตอรอลและช่วยเสริมการทำงานของวิตามินซี พบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ส้ม พริกไทย และพวกเบอร์รี่ต่างๆ เป็นต้น ฟลาโวนอยด์แบ่งได้เป็น 5 ประเภทใหญ่ๆ คือ

1. แอนโธไซยานิดิน (anthocyanidin), แอนโธคลอร์ส (anthochlors) และออโรนัส (auronus), แอนโธไซยานิดินเป็นรงควัตถุในพืชให้สีน้ำเงินแดง (red-blue) คือให้สีช่วงสีแดงถึงสีน้ำเงิน ขึ้นกับชนิดของพืช พบในบลูเบอร์รี่ เชอรี่ องุ่นแดง หัวหอม กะหล่ำปลี เป็นต้นแอนโธคลอร์สเป็นรงควัตถุที่ให้สีเหลืองพบมากในดอกไม้

2. ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อย (minor flavonoid) ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อยในธรรมชาติ ได้แก่ ฟลาโวโนน (flavonones), ฟลาวาน-3-ออล (flava-3-ols), ไดไฮโดรฟลาโวน (dihydroflavone) และไดไฮโดรชาล์โคน (dihydrochalcones) กลุ่มนี้พบในพืชตระกูลส้ม (citrus) ได้แก่ ส้ม องุ่น แต่จะพบในส่วนที่เป็นน้ำ

3. ฟลาโวน (flavone) และฟลาโวนอล (flavonols) เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดของฟลาโวนอยด์พบในบลูเบอร์รี่ เชอร์รี่หวาน บลอคโคลี่ หัวหอม ชาดำ ชาเขียว ไวน์แดง มันฝรั่ง มะเขือเทศ แครอท ผักขม ส้ม ลูกแพร แอปเปิ้ล องุ่น เป็นต้น

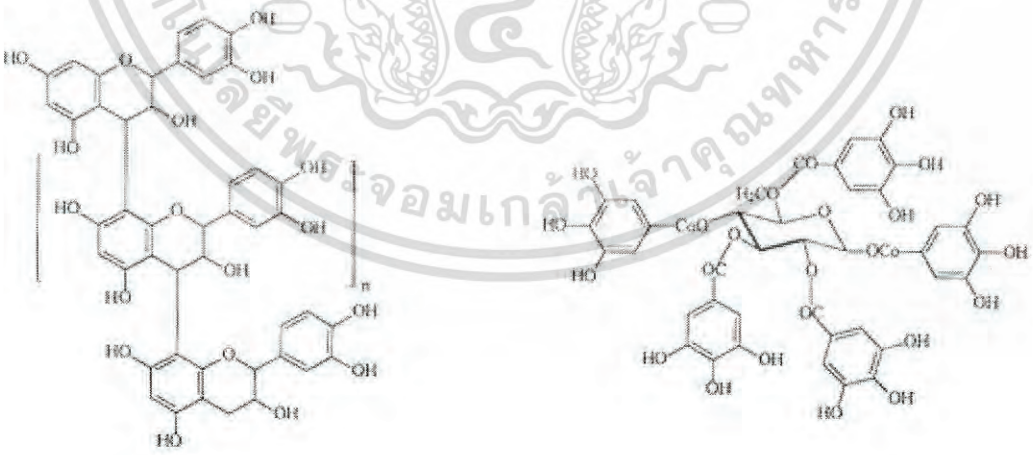
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ไอโซฟลาโวนอยด์ (isoflavonoid) พบมากในพืชตระกูลถั่ว (*Leguminosae*; Legume) พวกนี้สามารถเปลี่ยนเป็นไอโซฟลาโวน (isoflavone), เทอโรคาร์แปนส์ (terocarpans), ไอโซฟลาวาน (isoflavans) และ โรทีนอยด์ (rotenoid) ได้โดยทั่วไปจะรวมถึง เจนีสทีน (genistein), ไบโอชานินเอ (biochanin a) และ ไดด์ซีน (daidzein)

2.4.2.2. แทนนิน (Tannin)

แทนนิน (Tannins) เป็นสารจำพวกโพลิฟีนอล ที่พบได้ในพืชหลายชนิด มีโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน ดังภาพที่ 2.7 อยู่แพร่หลายในอาณาจักรพืชเกือบจะทุกวงศ์ของพืชมีแทนนินป้องกันพืชให้พ้นจากการทำลายโดยแมลงและรา เพราะแทนนินมีฤทธิ์เป็นสารยับยั้งเชื้อ และเมื่อพืชผ่านระยะหนึ่งไปแล้ว แทนนินจะถูกทำลายไป หรือถูกนำไปสะสมในเนื้อเยื่อที่ตายแล้ว ดังนั้นจึงมีความคิดว่าแทนนินเป็นของเสียที่ได้จากการดำรงชีวิตของพืช จึงถูกนำไปสะสมในใบ ผล เปลือก หรือลำต้น มีสถานะเป็นกรดอ่อน รสฝาด แทนนินใช้เป็นยาฝาดสมาน ยาแก้ท้องเสีย ช่วยรักษาแผล ไฟไหม้ และใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม ฟอกหนัง กรณีที่รับประทานแทนนินเป็นประจำอาจทำให้เกิดมะเร็งได้ สมุนไพรที่มีแทนนิน คือ เปลือกทับทิม เปลือกอบเชย ใบฝรั่ง ใบ เปลือกสีเสียด ใบชา เป็นต้น

นอกจากนี้แทนนินยังเป็นสารที่สามารถรวมกับโปรตีนหรือพอลิเมอร์อื่น เช่น พอลิแซคคาไรด์ได้ จะทำให้แทนนินมีโครงสร้างของสาร 2 ชนิด ที่ต่างกันคือ ชนิดแรกเป็น ลูโคแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ส่วนชนิดที่สองเป็นโมเลกุลของกลูโคสต่อกับสารฟีนอล ดังภาพที่ 2.6 แทนนินพบในใบชา เปลือกไม้โอ๊ค สารในกลุ่มนี้อาจจะมีการเปลี่ยนแปลงสีในระหว่างการแปรรูป เช่น การเกิดสีชมพูที่เกิดจาก ของไอออนของโลหะกับลูโคแอนโธไซยานิน เช่น สีชมพูในท้อหรือลิ้นจี่บรรจุกระป๋อง เนื่องจากการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของสารลูโคแอนโทไซยานินและไอออนของโลหะภายใต้ความร้อนและกรด



ภาพที่ 2.7 โครงสร้างของโมเลกุลแทนนิน

ที่มา : http://coursewares.mju.ac.th:81/e-learning50/FT320/064.htm (สืบค้นวันที่ 8/4/2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.4.2.3. อัลคาลอยด์ (alkaloids)

อัลคาลอยด์เป็นกลุ่มสารอินทรีย์ที่มีธาตุไนโตรเจน (nitrogen; N) อยู่ภายในโมเลกุล โดยอาจมีไนโตรเจนอยู่หนึ่งอะตอมหรือมากกว่าหนึ่งก็ได้ ในรูปของเอมีน (amine) เอมีนออกไซด์ (amine oxide) หรืออาจพบอยู่ในรูปของเอไมด์ (amide) และอิไมด์ (imide) อีกด้วย ไนโตรเจนในอัลคาลอยด์ได้มาจากกรดอะมิโน ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในชีวสังเคราะห์ของอัลคาลอยด์ชนิดต่างๆ โดยทั่วไปอัลคาลอยด์จะมีคุณสมบัติเป็นเบสเนื่องจากมีไนโตรเจน แต่ทั้งนี้จะมีความเป็นเบสมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับจำนวนของไนโตรเจนภายในโมเลกุล อัลคาลอยด์มักมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาอย่างเด่นชัด ในธรรมชาติจะพบอัลคาลอยด์มากในพืชชั้นสูง พบน้อยในพืชชั้นต่ำ สัตว์ และจุลินทรีย์ ในพืชชั้นสูงนั้นสามารถพบอัลคาลอยด์ได้ในส่วนต่างๆ ของพืชเช่น ใบ ดอก ผล เมล็ด รากและเปลือก เป็นต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพืชแต่ละชนิด

การแบ่งกลุ่มของอัลคาลอยด์ทำได้หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมคือแบ่งตามโครงสร้างทางเคมี ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ อัลคาลอยด์ที่มีไนโตรเจนอยู่นอกวง (nonheterocyclicalkaloids) และ อัลคาลอยด์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนของวง (heterocyclic alkaloids) ซึ่งแบ่งเป็นกลุ่มย่อยๆ ตามโครงสร้างหลักได้เป็นกลุ่มไพโรล (pyrrole) ไพโรลิดีน (pyrrolidine) ไพริดีน (pyridine) พิเพอริดีน (piperidine) ไพโรโลซิดีน (pyrrolozidine) โทรเพน (tropane) ควิโนลีน (quinoline) ไอโซควิโนลีน (isoquinoline) อะพรอฟีน (aporphine) นอร์ลูพิเนน (nor-lupinane) อินโดล (indole) อิมิดาโซล (imidazole) พิวรีน (purine) และสเตอรอยด์ (steroid)

หน้าที่ของอัลคาลอยด์ในพืชยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่มีการสันนิษฐานว่าอัลคาลอยด์อาจทำหน้าที่เป็นแหล่งสะสมไนโตรเจนเพื่อสร้างโปรตีน ช่วยควบคุมการเจริญเติบโตหรือการงอกของเมล็ดพืชบางชนิด ช่วยป้องกันพืชจากแมลงต่างๆ ทั้งนี้เนื่องจากอัลคาลอยด์ส่วนใหญ่มักมีรสขมและมีพิษ ซึ่งอาจเป็นสารที่ได้จากการทำลายพิษที่เกิดขึ้นในกระบวนการเมตาโบลิซึมของพืช อย่างไรก็ตามมีรายงานว่ามีพืชจำนวนมากกว่า 80% ที่ไม่สร้างและไม่สะสม อัลคาลอยด์ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารอัลคาลอยด์อาจเป็นสารที่ไม่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของพืชโดยทั่วไป (ประไพรัตน์, 2555)

2.4.3 กลไกการทำงานของสารต้านออกซิเดชัน

เมื่อเติมสารต้านออกซิเดชัน (AH_2) ลงไปในอาหารที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย สารต้านออกซิเดชันจะไปทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ เช่น $ROO^{\cdot}$ และตัวมันเองเป็นอนุมูลอิสระแทน ($AH^{\cdot}$) ทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ไม่สามารถเข้าสู่ปฏิกิริยาแบบลูกโซ่หยุดชะงักไปด้วยดังสมการ เช่น

$$ROO^{\cdot} + AH_2 \longrightarrow ROOH + AH^{\cdot}$$ หรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

147256

$$RO^{\cdot} + AH_2 \longrightarrow ROH + AH^{\cdot}$$ หรือ

$$RO^{\cdot} + AH_2 \longrightarrow RH + AH^{\cdot}$$

เมื่ออนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันทำปฏิกิริยากับสารต้านออกซิเดชัน ($AH^{\cdot}$) ที่เติมลงไปจะเหลืออนุมูลอิสระของสารต้านออกซิเดชัน($A^{\cdot}$) ซึ่งเกิดปฏิกิริยาได้ช้ากว่าอนุมูลอิสระพวกกรดไขมันมากและเปลี่ยนเป็นสารประกอบที่คงตัวดังสมการ

$$A^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow A_2$$ หรือ

$$ROO^{\cdot} + A^{\cdot} \longrightarrow ROOA$$

จากปฏิกริยาที่เกิดขึ้นตามที่กล่าวข้างต้นจึงทำให้สารต้านออกซิเดชันสามารถทำปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในน้ำมันหรือไขมัน หรืออาหารที่มีน้ำมัน และไขมันเป็นองค์ประกอบได้

เนื่องจากสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ เช่น BHA, BHT มีความเป็นพิษ และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคมะเร็ง ดังนั้นงานวิจัยในปัจจุบันจึงมีศึกษาสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติเพิ่มขึ้น เพื่อใช้ทดแทนสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ เนื่องจากสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติมีความปลอดภัยมากกว่าและไม่มีการกำหนดปริมาณในการใช้ เช่น สารฟีนอลิก สารแซนโทน สารแอลฟาแมกโนสติน ที่มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน (ศนิดา, 2549)

2.5 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazylradical scavenging capacity assay (DPPH)

เป็นการทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยให้สารตัวอย่างทำปฏิกิริยากับ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรมีสีม่วงเมื่อ DPPH ได้รับอิเล็กตรอนหรืออนุมูลอิสระไฮโดรเจน จะเปลี่ยนเป็น DPPH:H ซึ่งมีสีเหลือง สามารถติดตามผลการทดลองโดยวัดการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ซึ่งเป็นค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH โดย $DPPH^{\cdot}$ จะทำปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือกับ radical species ($R^{\cdot}$)ได้ดังสมการที่ 1 และ 2

$$DPPH^{\cdot} + AH \longrightarrow DPPH\text{-}H + A^{\cdot} \quad \text{----------(1)}$$

$$DPPH^{\cdot} + R^{\cdot} \longrightarrow DPPH\text{-}R \text{----------(2)}$$

ถ้าตัวอย่างมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูง ความเข้มข้นของสารละลายสีม่วงก็จะลดลง (ปรียนันท์, 2549)

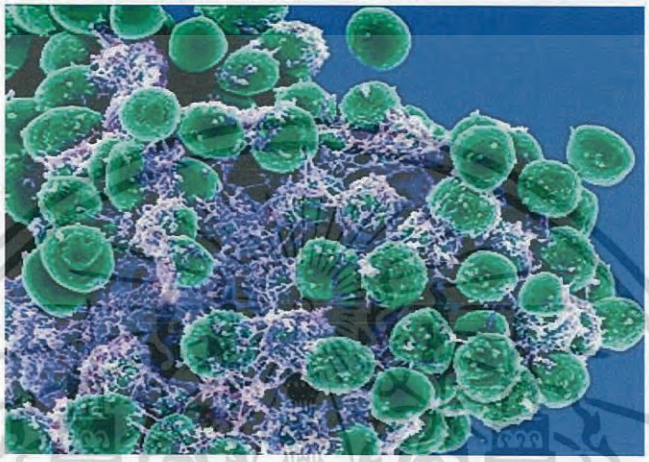
ข้อดีของวิธีนี้ คือ ง่ายต่อการใช้เครื่องมือที่มีทั่วไป จึงนิยมเป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของธรรมชาติ ยกเว้นกลุ่มสารแคโรทีนอยด์ที่มีการดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสียของวิธีนี้ คือ อนุมูล DPPH· มีความคงตัว ไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถใช้จัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้ นอกจากนี้สารรีดิวซ์สามารถทำให้สี DPPH·จางลงอีกด้วย (กนิษฐา และคณะ, 2551)

2.6 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

2.6.1 เชื้อ *Streptococcus epidermidis*



ภาพที่ 2.8 ลักษณะของเซลล์ *Streptococcus epidermidis*

ที่มา : http://www.niaid.nih.gov/labsandresources/labs/aboutlabs/lhbp/ (สืบค้นวันที่ 8/4/2556)

Streptococcus epidermidis จัดเป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นที่พบได้ทั่วไปตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย เช่น ผิวหนัง เยื่อบุต่างๆ เป็นแบคทีเรียทรงกลม แกรมบวก เคลื่อนที่ไม่ได้ (Nonmotile),ไม่สร้างสปอร์ (Nonspore forming), Catalase-negative พบอยู่กันเป็นคู่หรือเป็นสายยาว ดังภาพที่ 2.11 ส่วนใหญ่เป็น facultative anaerobes กล่าวคือเจริญได้ทั้งในภาวะมีออกซิเจนและไม่มี และบางกลุ่มเป็น Obligate (strict) anaerobes คือเจริญในภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเท่านั้น ส่วนใหญ่ต้องการอาหารประเภท Enriched media เช่น blood agar พวก Group A streptococci มีแคปซูลชนิด Hyaluronic acid.

การแยกประเภทและชนิดแอนติเจน (Classification and Antigenic Types)

Streptococci ถูกจำแนกแยกประเภทอาศัยพื้นฐานทางสัณฐานของโคโลนี (Colony morphology), การย่อยเซลล์เม็ดเลือดแดง (Hemolysis), ปฏิกิริยาทางชีวเคมี (Biochemical reactions), และความจำเพาะทางซีโรโลยีเป็นอันดับหนึ่งอาศัยสมบัติ Hemolysis ชนิดต่างๆ สามารถแบ่งเป็น 3 กลุ่มด้วยกันคือ b-hemolytic ซึ่งย่อยเซลล์เลือดแดงอย่างสมบูรณ์จนเป็นโซนที่เคลียร์, a-hemolytic ซึ่งย่อยได้บางส่วนไม่สมบูรณ์ เห็นเป็นโซนสีเขียว และ g-hemolytic ซึ่งหมายถึงไม่เกิด Hemolysis

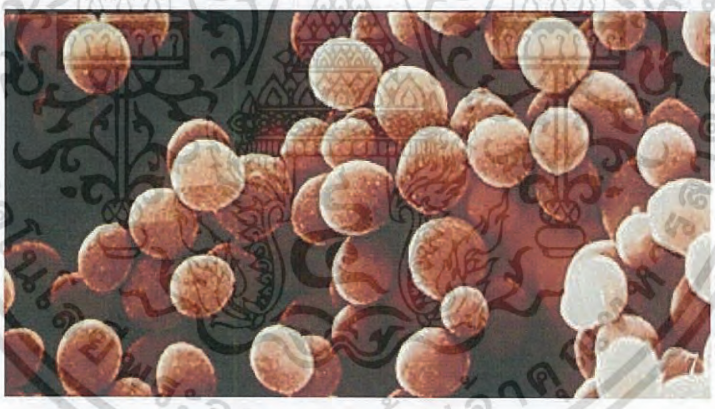
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การจัดกลุ่มทางซีโรโลยี (Serologic grouping) อาศัยพื้นฐานความแตกต่างทาง Antigenic ที่พบในส่วนคาร์โบไฮเดรตในผนังเซลล์ (Cell wall carbohydrates) เป็นกลุ่มหรือ Groups ตั้งแต่ A ถึง V อาศัยโปรตีนที่เกี่ยวเนื่องกับพิไลในผนังเซลล์ (Cell wall pili-associated protein), และอาศัยพอลีแซ็คคาไรด์ในแคปซูล (Polysaccharide capsule) ในกลุ่มหรือ Group B streptococci.

ระบาดวิทยา (Epidemiology)

พวก Group A b-hemolytic streptococci แพร่ระบาดผ่านทางสารขับหลั่งจากทางเดินหายใจ และอุปกรณ์เครื่องใช้ของผู้เป็นโรค การติดเชื้อทั้งที่ระบบทางเดินหายใจและผิวหนังเกิดในเด็กสูงกว่า นอกจากนี้ พาหะซึ่งไม่แสดงอาการการติดเชื้อออกมาก็สามารถแพร่เชื้อได้ในส่วนของไข้รูมาติกชนิดเฉียบพลัน (Acute rheumatic fever) ซึ่งก่อนหน้านี้เกิดในผู้ป่วยที่ยากจนสูงนั้น ความอ่อนไหวต่อเชื้อส่วนหนึ่งอาจมาจากลักษณะทางพันธุกรรม พวก Group B streptococci เป็นเชื้อประจำถิ่นปกติในอวัยวะสืบพันธุ์เพศหญิง (Normal vaginal) และบางครั้งเป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่อันตรายสูงในทารกแรกเกิดด้วย (Invasive neonatal infection)

2.6.2 เชื้อ *Staphylococcus aureus*



ภาพที่ 2.9 ลักษณะของเซลล์ *Staphylococcus aureus*

ที่มา : http://textbookofbacteriology.net/staph.html (สืบค้นวันที่8/4/2556)

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 0.5-1.5 ไมโครเมตรเรียงตัวกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น การเรียงตัวติดกันเป็นกลุ่มเนื่องมาจากเซลล์มีการแบ่งตัวในหลายระนาบ และเซลล์ลูกยังไม่หลุดจากกัน จะเห็นการเรียงตัวของเซลล์เป็น 3 มิติไม่สามารถเคลื่อนที่ได้และไม่สร้างสปอร์ ดังภาพที่ 2.10 ซึ่ง *Staphylococcus aureus* บางสายพันธุ์สามารถสร้างแคปซูลได้ ซึ่งเป็นผลทำให้เกิดความรุนแรงในการก่อโรค ลักษณะของเซลล์จะมีการเรียงตัวเป็นสายสั้นๆ *Staphylococcus* มาจากภาษากรีก โดยคำว่า “Staphylo” หมายถึงพวงองุ่น ส่วน“coccus” หมายถึงเม็ดเล็กๆ (ปาริฉัตร, 2547) และพบว่าเป็นเชื้อที่ก่อโรคที่พบก่อโรคในคน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บ่อยที่สุด โดยทั่วไปพบอาศัยอยู่บนผิวหนังและอาจลุกลามลงสู่ชั้นเนื้อเยื่อเข้าสู่ร่างกายได้ หากมีบาดแผลหรือถูกวัตถุแปลกปลอมแทงทะลุผ่านชั้นผิวหนัง ผู้ป่วยยังอาจได้รับเชื้อจากการสัมผัสกับบุคคลรอบข้างหรือบุคลากรทางการแพทย์ที่ติดเชื้อหรือเป็นพาหะของเชื้อ ในผู้ป่วยที่เป็นพาหะของเชื้อมักพบอาศัยอยู่ในโพรงจมูกส่วนหน้า ซึ่งทำให้เกิดการแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว ลักษณะสำคัญของโรคที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* คือเกิดอาการอักเสบเป็นหนองในตำแหน่งติดเชื้อที่เรียกว่า suppurative (หรือ pyogenic) infection หรือมักทำให้เกิดฝีหนอง (abscess) โดยเฉพาะในบริเวณผิวหนังและชั้นเนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง เอนไซม์ coagulase กระตุ้นการจับกลุ่มของเส้นใย fibrin ทำให้เกิดการสร้างผนังขึ้นล้อมรอบรอยโรคเกิดเป็นก้อนฝี ภายในประกอบด้วยเนื้อที่เน่าเป็นหนอง เชื้อจากรอยโรคอาจแพร่กระจายเข้าสู่เส้นเลือดไปยังส่วนต่างของร่างกายได้ ทำให้เกิดโรคติดเชื้อตามระบบได้ โรคติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่สำคัญคือ

1. โรคติดเชื้อผิวหนัง ได้แก่ Impetigo, Folliculitis, Furuncle (boil), Carbuncle, Wound infection, Staphylococcal scalded skin syndrome (SSS), Bullous impetigo

2. โรคติดเชื้อในระบบไหลเวียนโลหิต ส่วนใหญ่เกิดจากการลุกลามของเชื้อในบริเวณผิวหนังสู่กระแสเลือด และจากการติดเชื้อในโรงพยาบาลจากบาดแผลผ่าตัดหรือการใส่สายให้สารน้ำทางกระแสเลือด เชื้อที่อยู่ในเลือดอาจทำให้เกิดการติดเชื้อในอวัยวะอื่น โดยเฉพาะหัวใจอักเสบเฉียบพลัน (acute infective endocarditis)

3. โรคติดเชื้อของระบบหายใจ โรคติดเชื้อที่มีความสำคัญได้แก่ ปอดปวม (pneumonia) รับเชื้อได้จาก 2 ทางคือ ทางเลือด (hematogenous pneumonia) และทางการสำลักสารคัดหลั่งในปาก (aspiration pneumonia) ซึ่งการสำลักเชื้อลงสู่ปอดมักเกิดขึ้นกับเด็กและผู้ป่วยวัยชราผู้ที่ติดเชื้อไวรัสในทางเดินหายใจนำมาก่อนและผู้ป่วยเรื้อรังของทางเดินหายใจ เช่น chronic obstructive pulmonary disease (COPD) ในบางรายอาจก่อให้เกิดฝีในปอด (lung abscess) ผู้ป่วยบางส่วนอาจเกิดการติดเชื้อเป็นหนองภายในช่องเยื่อหุ้มปอด (empyema)

4. โรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร ที่พบได้บ่อยได้แก่อาหารเป็นพิษ (food poisoning) ซึ่งเป็นผลจากการได้รับสารพิษ enterotoxin ที่เชื้อสร้างขึ้นในอาหารมากกว่าได้รับเชื้อเข้าสู่ทางเดินอาหารโดยตรง

5. โรคติดเชื้อในกระดูกและข้อ การติดเชื้อของกระดูกและกล้ามเนื้อ (osteomyelitis) ส่วนใหญ่ได้รับเชื้อผ่านทางกระแสเลือดในบางรายอาจได้รับเชื้อผ่านทางบาดแผล

6. Toxic shock syndrome (TSS) เกิดจากการติดเชื้อสายพันธุ์ที่สามารถสร้างสารพิษได้ toxic shock syndrome toxin-1 (TSS-1) ผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่สัมพันธ์กับประจำเดือน (menstruating TSS) และกลุ่มไม่สัมพันธ์กับประจำเดือน (non-menstruating TSS)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งที่พบเชื้อ *Staphylococcus aureus*

เป็นเชื้อที่สามารถพบได้ที่ผิวหนังโพรงจมูก เยื่อบุทางเดินหายใจ ทางเดินอาหารและบาดแผลที่เป็นฝีหนองรวมถึงในดิน ฝุ่นละออง อาหารที่มักพบเชื้อ *Staphylococcus aureus* ปนเปื้อน ได้แก่ เนื้อ และผลิตภัณฑ์เนื้อ เนื้อสัตว์ปีก และผลิตภัณฑ์จากไข่ อาหารประเภทสลัด เช่น ไข่ ทูน่า เนื้อไก่ มันฝรั่ง และมักกะโรนี ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ครีม พาย เอแคลร์ ช็อกโกแลตแซนวิช และผลิตภัณฑ์นมที่เก็บไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม และเก็บไว้เป็นเวลานานก่อนรับประทาน

การทำให้เกิดโรค

เชื้อ *Staphylococcus aureus* ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษซึ่งเกิดจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนสารพิษแม้ในปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัมก็สามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ สารพิษชนิดนี้จะมีปริมาณสูงมากเมื่อมีเชื้อ *Staphylococcus aureus* ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร 100,000 เซลล์ต่อกรัมอาหาร ทำให้เกิดโรค Acute infection (ฝีหนองแผลติดเชื้อ septicemia) และ Acute toxaemias (heat stable enterotoxin)

อาการ

หลังจากรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไปประมาณ 1 – 6 ชั่วโมงจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วงอย่างรุนแรงจนอ่อนเพลียมาก ปวดท้องและเป็นตะคริวส่วนมากไม่มีไข้ในรายที่มีอาการรุนแรงอาจช็อคได้ อาจมีอาการอื่นแทรกซ้อนในผู้สูงอายุ เด็กแรกเกิด และผู้ป่วยโรคเบาหวานแต่ส่วนใหญ่อาการจะดีขึ้นใน 8 – 24 ชั่วโมงขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานของร่างกายและปริมาณของสารพิษที่ได้รับเข้าไปในร่างกาย

การป้องกัน

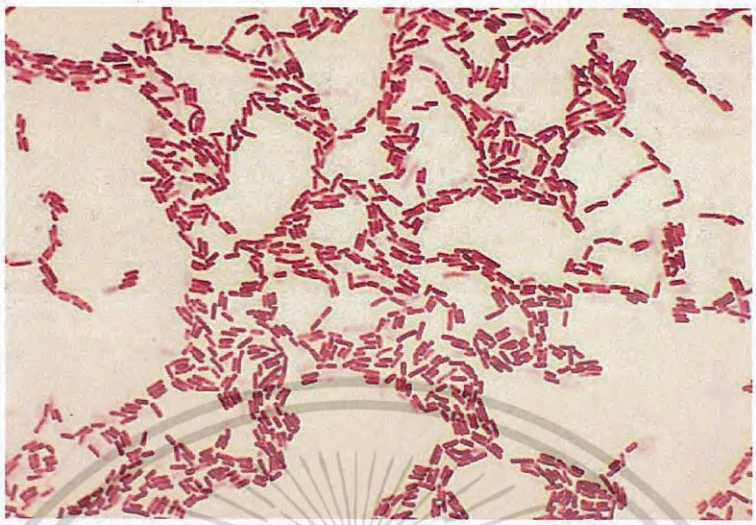
1. รับประทานอาหารที่ปรุงสุกใหม่ๆ
2. หากยังไม่รับประทานในทันทีให้นำอาหารที่ปรุงสำเร็จแล้วไปเก็บที่อุณหภูมิต่ำอย่างรวดเร็วเพราะที่อุณหภูมิต่ำๆเชื้อจะหยุดแบ่งตัวและไม่สร้างสารพิษ
3. อุ่นอาหารให้ร้อนก่อนรับประทานทุกครั้ง
4. ไม่ควรให้ผู้ที่ติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* บริเวณมือหรือแขนทำหน้าที่เกี่ยวกับอาหาร

การควบคุม

1. ป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดยมีการจัดการด้านสุขลักษณะและการควบคุมกระบวนการผลิตที่ดี
2. ป้องกันการเจริญและการสร้างสารพิษ enterotoxin โดยควบคุมอุณหภูมิและระยะเวลาในการประกอบอาหาร
3. ทำลายเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ปนเปื้อนในอาหารโดยการใช้ความร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.3 เชื้อ *Bacillus subtilis*



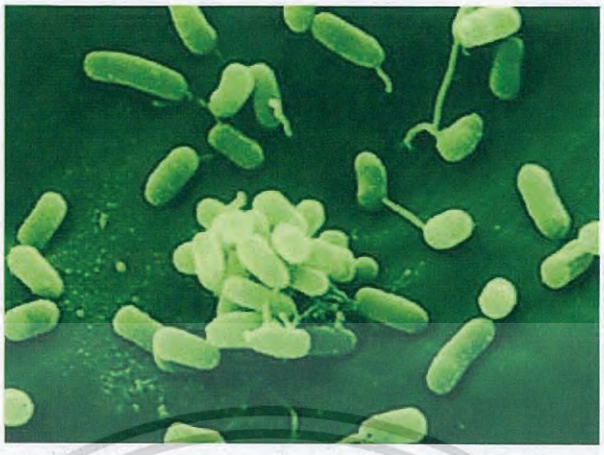
ภาพที่ 2.10 ลักษณะของเซลล์ *Bacillus subtilis*

ที่มา : http://mol-biol4masters.masters.grkraj.org/html/Gene_Expression_I5G-Regulation_of_Gene_Expression_During_Sporulation.htm (สืบค้นวันที่10/4/2556)

Bacillus subtilis เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ผลทดสอบ catalase เป็นบวก มีแฟลเจลล่าแบบรอบตัว สามารถสร้างแคปซูลได้ จัดอยู่ในกลุ่ม obligate aerobe ดังภาพที่ 2.13 แหล่งที่อยู่อาศัยพบได้ทั่วไปในดิน สืบพันธุ์โดยการแบ่งเซลล์จากหนึ่งเป็นสอง โดยการแบ่งเป็นแบบไม่สมมาตร นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อมีสภาวะในการเจริญที่ไม่เหมาะสม เช่น ขาดน้ำ ขาดอาหาร แบคทีเรียชนิดนี้จะสามารถสร้าง endospore ซึ่งเป็นโครงสร้างพิเศษที่มีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญนั้นได้ เป็นระยะเวลานาน และจะงอกออกมาเป็นเซลล์ที่สมบูรณ์ได้เมื่อมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญอีกครั้ง ในบางครั้งอาจไม่ถือว่า endospore เป็นโครงสร้างการสืบพันธุ์เนื่องจากไม่มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ มีการนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายประการ กล่าวคือ สามารถนำมาใช้ในการทดลองเรื่องสงครามชีวภาพเป็นประการแรก และยังสามารถใช้เป็นโมเดลในการศึกษาในห้องทดลอง นอกจากนี้ยังนำมาใช้ในด้านอาหาร (จารุวรรณ , 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.4 เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa*



ภาพที่ 2.11 ลักษณะของเซลล์ *Pseudomonas aeruginosa*
ที่มา : http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=8555 (สืบค้นวันที่8/4/2556)

Pseudomonas aeruginosa เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อน มีแฟลกเจลล่าเป็นแบบรอบเซลล์ (polytrichous) ดังภาพที่ 2.9 เป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ทั้งในดิน น้ำ พืช และสัตว์ นอกจากนี้ยังพบในอาหารและของใช้ต่างๆ สปีชีส์นี้ก่อให้เกิดโรคในคนได้บ่อยที่สุด เพราะเป็นเชื้อที่มีความสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่หลากหลายได้ สามารถพบเชื้อนี้อาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมในโรงพยาบาล เช่น ที่ล้างมือ น้ำยาฆ่าเชื้อ สารน้ำต่างๆ ยาฉีดและเครื่องมือแพทย์ ดังนั้นจึงจัดเป็นเชื้อก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่สำคัญ โดยเฉพาะการก่อโรคติดเชื้อฉวยโอกาสที่พบในผู้ป่วยที่ระบบภูมิคุ้มกันบกพร่องหรือมีโรคเรื้อรังที่ต้องรักษาตัวอยู่ในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน เชื้อนี้เป็นเชื้อประจำถิ่นและไม่พบการเป็นพาหะของเชื้อในคนที่มีสุขภาพแข็งแรง

เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* สามารถสร้างปัจจัยก่อโรคได้สามชนิด ทำให้สามารถก่อโรคได้หลากหลายระบบ โดยแบ่งการก่อโรคออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ส่วนประกอบหรือโครงสร้างเซลล์ เอนไซม์ และสารพิษ เชื้อนี้เป็นเชื้อที่ดื้อต่อยาต้านเชื้อแบคทีเรียในอัตราสูงและเป็นปัญหาที่สำคัญในการรักษาการติดเชื้อในชั้นผิวหนังหรือเยื่อเมือกบุผิว มักสัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อมที่ปนเปื้อนเชื้อ เช่น การเกิดการอักเสบของรูขุมขน (folliculitis) รวมถึงการอักเสบของหูชั้นนอกซึ่งมักพบได้ในนักว่ายน้ำหรือนักกีฬาทางน้ำที่เรียกว่าโรค swimmer's ear ในผู้ป่วยบางราย เช่น โรคเบาหวานหรือผู้สูงอายุอาจทำให้เกิดการติดเชื้อของหูชั้นนอกที่รุนแรงได้ (malignant otitis exterma) และเชื้อลุกลามสู่เนื้อเยื่อชั้นลึกและกระดูกได้ ในการติดเชื้อทางระบบหายใจส่วนล่างมักพบในผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยเฉพาะภูมิคุ้มกันเฉพาะที่ในทางเดินหายใจ พบได้บ่อยในผู้ป่วยโรคปอดเรื้อรัง รวมถึงการติดเชื้อในโรงพยาบาลทำให้เกิดปอดบวมชนิดรุนแรง(necrotizing pneumonia)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.5 เชื้อ *Escherichia coli*

ภาพที่ 2.12 ลักษณะของเซลล์ *Escherichia coli*

ที่มา : http://vcharkarn.com/varticle/44027 (สืบค้นวันที่10/4/2556)

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นท่อน ดังภาพที่ 2.12 ที่มีความสำคัญทางการแพทย์มากที่สุด โดยพบอาศัยเป็นเชื้อประจำถิ่นในทางเดินอาหาร โดยเฉพาะในลำไส้ใหญ่ *Escherichia coli* พบก่อโรคในคนปกติ และคนที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง เป็นหนึ่งในเชื้อก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบได้บ่อยที่สุด เนื่องจาก *Escherichia coli* เป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้คนและพบได้ในอุจจาระตลอดเวลา การตรวจพบเชื้อในอาหารหรือน้ำจึงบ่งชี้ว่ามีอุจจาระปนเปื้อน และไม่เหมาะสมกับการนำมาบริโภคโรคติดเชื้อ *Escherichia coli* ที่สำคัญได้แก่

1. โรคติดเชื้อในทางเดินอาหารหรือโรคทางเดินอาหารอักเสบ (gastroenteritis) เกิดจาการกินอาหารหรือดื่มน้ำที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ

2.โรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ (urinary tract infaction) มักพบในผู้หญิง ปัสสาวะปวดและแสบขัด อาจพบเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวปน

3. โรคติดเชื้อเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningitis)

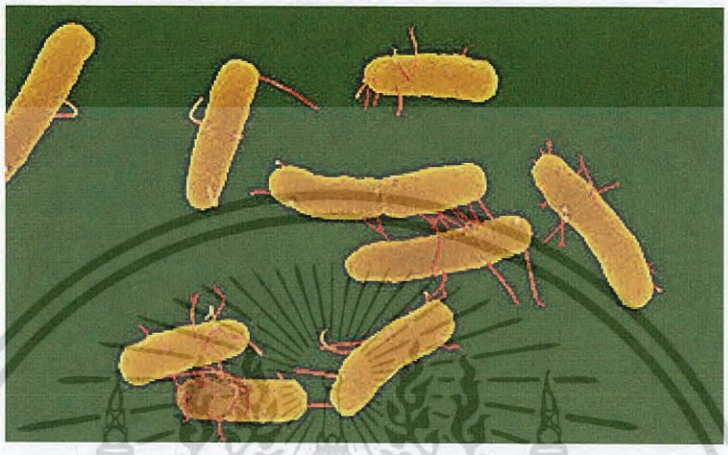
4. โรคติดเชื้อในทางเดินหายใจ ที่พบบ่อยคือโรคปอดบวมการติดเชื้อมักเป็นการติดเชื้อฉวยโอกาสในผู้ที่มีความผิดปกติทางร่างกายอยู่เดิมเช่น ผู้ป่วยโรคเบาหวาน ผู้ติดสุราเรื้อรังและผู้ที่มีโรคเรื้อรังทางเดินหายใจ

5. โรคติดเชื้อในกระแสเลือด ส่วนใหญ่มักเกิดการบุกรุกเข้าสู่กระแสเลือดในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อเฉพาะที่อยู่แล้ว เช่นผู้ป่วยโรคติดเชื้อทางเดินปัสสาวะและทางเดินอาหาร รวมถึงผู้ป่วยที่มีการทะลุของลำไส้ ทำให้เชื้อประจำถิ่นรวมถึงเชื้อ *Escherichia coli* เข้าสู่ช่องท้องและบุกเข้าสู่กระแสเลือดต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *Escherichia coli* มีความไวต่อยาหลายกลุ่มเช่นกลุ่ม β-lactams, fluoroquinolones, tetracyclines, aminoglycosides และ sulfonamides แต่ในปัจจุบันพบว่าเชื้อมีการดื้อยาสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว

2.6.6 เชื้อ *Salmonella typhimurium*



ภาพที่ 2.13 ลักษณะของเซลล์ *Salmonella typhimurium*
ที่มา : http://salmonellatyphi.org/ (สืบค้นวันที่8/4/2556)

Salmonella typhimurium เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นแท่งสั้น ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบตัว ดังภาพที่ 2.8 เชื้อนี้ไม่มีแคปซูลและสปอร์ เจริญได้ดีในที่มีหรือไม่มีออกซิเจน สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลกลูโคสและแมนโนสได้กรด บางครั้งได้ก๊าซด้วย แต่ไม่สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลแล็กโทสและซูโครสได้ ให้ไฮโดรเจนซัลไฟต์หรือก๊าซจากการเฟอร์เมนต์ เจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา เชื้อส่วนใหญ่ไม่ต้องการวิตามินหรือกรดอะมิโน ยกเว้นเชื้อไทฟอยด์บางชนิดต้องการทริปโทเฟน นอกจากนี้ยังทนต่อสารเคมีบางอย่าง เช่น บริลเลียนกรีน (Brilliant green), โซเดียมเตตราไทโอเนต (Sodium tetrathaionate),โซเดียมดีออกซีโคเลต (Sodium deoxycholate) ซึ่งยับยั้งการเจริญของเชื้อพวกโคลิฟอร์ม จึงใช้เป็นหลักในการแยกเชื้อจากอุจจาระ การทดสอบทางชีวเคมีเพื่อแยกเชื้อ *Salmonella typhimurium* จากแอนเทอโรแบคทีเรีย

อาการไข้ไทฟอยด์ (Enteric fever)

มีสาเหตุการเกิดเนื่องมาจากเชื้อ *Salmonella typhimurium* เป็นโรคติดเชื้อซัลโมเนลลาที่สำคัญที่สุด มีระยะฟักตัวของโรค 10-14 วัน ผู้ป่วยมีอาการไม่สบายปวดศีรษะ ไข้ขึ้นสูงมากและทรงอยู่หลายวัน ปวดท้องและปวดเมื่อยตามร่างกาย อ่อนเพลีย ถ่ายอุจจาระมีลักษณะเหลวคล้ายน้ำถั่ว (pea-like) หรือเหลวเป็นน้ำ นอกจากนี้ยังมีอาการคลื่นไส้อาเจียน ไอ มีเหงื่อออกตามตัว หนาวสั่น และเบื่ออาหาร มีจุดแดงตามลำตัวแผ่นหลังและหน้าอก หัวใจเต้นช้าและอ่อน ท้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บวมน้ำ ม้ามโต บางครั้งมีเลือดออกจากช่องท้องหรือจมูกด้วย ผู้ป่วยอาจหมดความรู้สึกอาการทุเลาช้า (ประมาณ 1-8สัปดาห์) และบางครั้งผู้ป่วยอาจเป็นพาหะของโรคไปอีกหลายเดือนหรือเป็นปีก็ได้ ในกรณีนี้มักพบเชื้อ *Salmonella typhimurium* ในถุงน้ำดี (นงลักษณ์, 2543)

2.7 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ (จารุวรรณ, 2553)

การทดสอบความไวของเชื้อต่อผลิตภัณฑ์ต้านจุลชีพสามารถทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปนิยม 2 วิธีหลักๆ คือ Dilution test และ Diffusion test ซึ่งในการทดสอบจำเป็นต้องคำนึงถึงผลกระทบจากสิ่งต่างๆ เช่น ปริมาณเชื้อเริ่มต้น การเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง อุณหภูมิ ตลอดจนเชื้อที่ใช้ในการทดสอบเป็นต้น

2.7.1 Dilution test

เป็นการทดสอบหาปริมาณ เพราะสามารถทราบค่าความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่ทำลายเชื้อได้ นิยมใช้กับเชื้อที่เจริญได้ช้า ใช้ทดสอบยืนยันผลวิธี Diffusion test ที่ให้ผลความไวปานกลางหรือดื้อยา เพื่อที่จะสามารถใช้ยานั้นในจำนวนสูงๆได้ และใช้ทดสอบความไวของเชื้อ anaerobe การทดสอบนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น

2.7.1.1 Broth dilution method

ทำได้โดยการเจือจางผลิตภัณฑ์ในอาหารเหลวให้ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ลดลงที่ละครึ่งตามลำดับ จนมีความเข้มข้นสุดท้ายตามที่ต้องการ แล้วเติมเชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปเท่ากันทุกหลอด นำไปเพาะเลี้ยงในตู้บ่ม 35-37 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง แล้วนำมาหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Mimimum Inhibitory Concentration : MIC) โดยดูจากหลอดที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่เชื้อไม่เจริญเมื่อดูด้วยตาเปล่า และนำไปหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อได้ (Minimum Bactericidal Concentration : MBC)โดยนำหลอดที่เชื้อไม่เจริญทุกหลอดไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ ปริมาณผลิตภัณฑ์ในหลอดที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่มีเชื้อเจริญคือ MBC

การทดสอบด้วยวิธีนี้จะค่อนข้างสิ้นเปลืองและใช้เวลามากแต่สามารถอ่านค่าได้ละเอียด ผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อจะมีค่า MIC และ MBC ใกล้เคียงกันส่วนผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อมักมีค่า MIC และ MBC แตกต่างกัน

2.7.1.2 Agar dilution method

ทำได้โดยเจือจางผลิตภัณฑ์ให้มีความเข้มข้นต่างๆกัน แล้วผสมกับอาหารวุ้นขณะที่หลอมเหลวที่อุณหภูมิ 45-55 องซาเซลเซียส แล้วเทลงจานแก้ว ให้ผลิตภัณฑ์และวุ้นผสมเข้าด้วยกัน จะสามารถผสมผลิตภัณฑ์กับอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มข้นตามที่ต้องการ เมื่อวุ้นแข็งแล้วนำเชื้อที่ต้องการทดสอบมาแตะเป็นจุดๆให้ห่างกันพอสมควรโดยใช้ loop หรือ multiple inoculators ให้เริ่มเพาะเชื้อจานที่มีความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ต่ำก่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อดีของวิธีนี้ คือ สามารถที่จะทำการทดสอบเชื้อหลายชนิดบนจานอาหารเดียวกันได้และถ้ามีเชื้ออื่นๆปนเปื้อนก็สามารถมองเห็นได้ แต่ข้อเสียคือ ไม่สามารถหาค่า MBC ได้

2.7.2 Diffusion test

อีกวิธีที่นิยมแพร่หลายคือ Agar well diffusion หากแต่เป็นเพียงการทดสอบในเชิงคุณภาพเท่านั้น คือ สามารถบอกได้เพียงว่าเชื้อมีความไวต่อผลิตภัณฑ์ มีความไวปานกลาง หรือไม่ตอบสนองต่อผลิตภัณฑ์

หลักการทั่วไปคือการเจาะหลุมด้วย Cork borer และเติมสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพจากที่หนึ่งซึมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้กระจายเชื้อแบคทีเรียจำนวนที่พอเหมาะไว้ แล้วเพาะเลี้ยงให้เชื้อเจริญเติบโตตรวจวัดผลโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์ยับยั้ง (Inhibition zone) ด้วยเวอร์เนียคาร์ลิปเปอร์ (Vernier Caliper)

2.8 ยาต้านจุลชีพ (มาลิน, 2549)

ในยุคที่ต้องพึ่งพายาเมื่อเกิดการเจ็บป่วย จะเห็นว่ายาต้านจุลชีพ เป็นยากลุ่มหนึ่งที่มีความสำคัญมากในการรักษาโรคติดเชื้อ ซึ่งจัดเป็นปัญหาด้านสาธารณสุขสำหรับประเทศไทยโดยเฉพาะโรคติดเชื้อที่รู้จักกันดี เช่น โรคติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ โรคติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์ เป็นต้น กรณีที่ประชาชนทั่วไปมีความรู้เกี่ยวกับสาธารณสุขขั้นมูลฐาน จะเป็นปัจจัยสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อที่ดีและถูกต้อง เพราะการป้องกันย่อมดีกว่าการแก้ไข แต่ถ้าเกิดการติดเชื้อแล้ว การที่จะรักษาให้ได้ผลดี ควรศึกษาเพื่อให้รู้จักโรคให้ดี และที่สำคัญคงต้องรู้จักเลือกและใช้ยาต้านจุลชีพได้อย่างถูกต้อง เพราะการเลือกและใช้ยาต้านจุลชีพได้อย่างถูกต้องนอกจากจะทำให้หายจากโรคติดเชื้อแล้วยังทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายในการรักษาอีกด้วย ก่อนที่จะมาทำความรู้จักกับความหมายของยาต้านจุลชีพนั้น ควรรู้จักความหมายของ “ยาปฏิชีวนะ” กันก่อนซึ่งยาปฏิชีวนะ (antibiotics) หมายถึง สารที่สร้างขึ้นและแยกได้จากเชื้อจุลชีพชนิดหนึ่ง และออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายเชื้อจุลชีพอีกกลุ่มหนึ่ง ส่วนยาต้านจุลชีพ (antimicrobial agents) หมายถึง กลุ่มของสารหรือยาที่แยกได้จากเชื้อจุลชีพหรือกึ่งสังเคราะห์เหมือนสารที่แยกได้จากเชื้อจุลชีพและที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีโดยตรงมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือทำลายเชื้อจุลชีพ ดังนั้น ยาต้านจุลชีพจึงมีความหมายรวมถึงยาปฏิชีวนะด้วย อาจกล่าวได้ว่า ยาต้านจุลชีพ เป็นที่ใช้สำหรับ ทำลาย หรือ ยับยั้งการเจริญการเติบโตของเชื้อจุลชีพที่ทำให้เกิดการติดเชื้อหรืออักเสบในร่างกายคนเรา ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา เชื้อโปรโตซัว เช่น มาลาเรีย บิดอะมีบา และเชื้อริกเกตเซีย แต่จะไม่ได้ผลต่อเชื้อไวรัส เช่น ไข้หวัด ไข้หวัดใหญ่ หัด อีสุกอีใส คางทูม

2.8.1 การจำแนกประเภทของยาต้านจุลชีพ

ยาต้านจุลชีพ จำแนกเป็นประเภทต่าง ๆ ได้หลายแบบ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ หลักเกณฑ์ในการจำแนก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.1.1. จำแนกตามสูตรโครงสร้างทางเคมี

1.เบต้า-แลคแทม แอนตี้ไบโอติค (lactam antibiotics)

- เพนิซิลลิน (penicillins)
- เซฟาโลสปอริน (cephalosporins)

2. แมคโครลีด (macrolides) เช่น อีริโทรมัยซิน

3. ลินโคซาไมด์ (lincosamides) เช่น ลินโคมัยซิน

4. อะมิโนกลัยโคไซด์ (aminoglycosides) เช่น เจนตามิซิน

5. เตตร้าซัยคลิน (tetracyclines) เช่น เตตร้าซัยคลิน

6. โพลี่เปปไทด์ (polypeptides) เช่น แวนโคมัยซิน

7. ซัลโฟนาไมด์ (sulfonamides) เช่น ซัลฟาไดอะซีน

8. ฟลูออโรควิโนโลน (fluoroquinolones) เช่น เอ็นโรฟลอกซาซิน

9. กลุ่มอื่น ๆ เช่น คลอแรมเฟนิคอล ไนโตรฟูแรนโตอิน

2.8.1.2. จำแนกตามขอบเขตการออกฤทธิ์

1. Broad spectrum ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เช่น แอมพิซิลลิน (ampicilins) หรือออกฤทธิ์ทั้งต่อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนด้วย ได้แก่ คลอแรมเฟนิคอล(chloramphenicol) นอกจากนี้ยังอาจครอบคลุมทั้งโปรโตซัว และริกเกตเซีย ได้แก่ เตตร้าซัยคลิน (tetracyclines), คลอแรมเฟนิคอล (chloramphenicol), เมโทรนิดาโซล (methronidazole)

2. Medium spectrum ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบบางชนิดเท่านั้น ได้แก่ ซัลโฟนาไมด์ (sulfonamides)

3. Narrow spectrum ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียบางชนิด มีฤทธิ์ส่วนใหญ่ต่อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ คล็อกซาซิลลิน (cloxacillin) หรือมีฤทธิ์ส่วนใหญ่ต่อแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ อะมิโนไกลโคไซด์ (aminoglycosides)

2.8.1.3. จำแนกตามฤทธิ์ต่อจุลชีพ

1. Bactericidal หมายถึง ยาต้านจุลชีพที่มีฤทธิ์ฆ่าหรือทำลายเชื้อจุลชีพโดยทั่วไปมักมีกลไกการออกฤทธิ์ต่อผนังเซลล์และต่อเซลล์เมมเบรนของแบคทีเรีย

2. Bacteriostatic หมายถึง ยาต้านจุลชีพมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ มักมีกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีน ดังนั้น จึงต้องการระบบภูมิคุ้มกันเซลล์เม็ดเลือดขาวเพื่อเก็บกินเชื้อจุลชีพ ถ้าเพิ่มขนาดยามากขึ้นยาต้านจุลชีพเหล่านี้อาจออกฤทธิ์ฆ่าหรือทำลายเชื้อจุลชีพ

2.8.1.4. จำแนกตามกลไกการออกฤทธิ์

1. ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ เช่น เพนิซิลลิน เซฟาโลสปอริน แวนโคมัยซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ออกฤทธิ์ต่อเซลล์เมมเบรน เช่น โพลี่มิกซิน-บี แอมโพเทอริซิน-บี คีโต-โคนาโซล

3. ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีน เช่น คลอแรมเฟนิคอล เตตร้าซัยคลิน อีริโทรมัยซิน อะมิโนไกลโคไซด์

4. ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างกรดนิวคลิอิค เช่น ไรแฟมปิซิน เมโทรนิดาโซล ควิโนโลน

5. รบกวนการสังเคราะห์เมทาบอไลท์ที่จำเป็นในการดำรงชีพของเชื้อจุลชีพ เช่น ซัลโฟนาไมด์ และ ไอโซไนอะซิด

ยาต้านจุลชีพที่ดีควรออกฤทธิ์ต่อเชื้อจุลชีพเท่านั้น ไม่ควรมีผลต่อเซลล์ของร่างกายผู้ป่วย ยาต้านจุลชีพที่มีการออกฤทธิ์อย่างจำเพาะเจาะจง (selective) ต่อเฉพาะเชื้อ ได้แก่ กลุ่มที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ เช่น ยาปฏิชีวนะกลุ่ม เบต้า-แลคแทม ยากลุ่มนี้จึงใช้ได้ค่อนข้างปลอดภัย ส่วนยาต้านจุลชีพที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีน โดยจับกับไรโบโซมซึ่งเป้าหมายที่มีทั้งในเซลล์ของแบคทีเรียและเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่พบว่า ไรโบโซมแตกต่างกัน กล่าวคือ ไรโบโซมของแบคทีเรียเป็น 70s ส่วนไรโบโซมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเป็น 80s ยกเว้นในไมโตคอนเดรีย ในเซลล์ไขกระดูกเป็น 70s ดังนั้นยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ โดยจับกับไรโบโซม จึงพบว่าค่อนข้างปลอดภัย แต่บางชนิดอาจเกิดอาการข้างเคียงถึงขั้นเป็นพิษได้ เช่น คลอแรมเฟนิคอล จึงต้องใช้อย่างระมัดระวัง

2.8.2 กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารต้านจุลชีพ (มาลิน, 2540)

สารต้านจุลินทรีย์ทั้งหลายมีผลต่อเชื้อในลักษณะต่างกันไป บางชนิดออกฤทธิ์เฉพาะยับยั้งการเจริญของเชื้อ (microbiostatic) ขณะที่บางชนิดออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อ (microbicidal) บางชนิดมีขอบข่ายการออกฤทธิ์กว้าง บางชนิดจำกัด ซึ่งกลไกออกฤทธิ์ในการยับยั้งหรือทำลายแบคทีเรีย โดยการขัดขวางการสร้างส่วนต่างๆ ของเซลล์ คือ ออกออกฤทธิ์ที่ระดับผนังเซลล์ ระดับเยื่อหุ้มเซลล์ ระดับการสังเคราะห์ไซโตพลาสซึมและออกฤทธิ์ที่ระดับกระบวนการเมตาบอลิซึม

2.8.2.1. การออกฤทธิ์ที่ระดับผนังเซลล์

โดยไปยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ ทั้งนี้แบคทีเรียและรามีผนังเซลล์ซึ่งเป็นส่วนที่อยู่นอกสุดของเซลล์ เป็นชั้นที่แข็งแรงคงทนเพื่อทำหน้าที่ป้องกันสิ่งที่อยู่ภายในเซลล์ แต่ลักษณะโครงสร้างผนังเซลล์ของกลุ่มเชื้อทั้งสองแตกต่างกันกรณีของเชื้อแบคทีเรียซึ่งมีผนังเซลล์เป็นโครงสร้างสำคัญที่ใช้ในการจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียตามลักษณะการติดสีแกรม (gram-stain) และการติดสีแบบ acid-fast ซึ่งการย้อมแบคทีเรียด้วยวิธีแบบแรก ทำให้สามารถแบ่งชนิดของแบคทีเรียเป็นสองพวก คือ พวกแกรมบวกและแกรมลบ แบคทีเรียทั้งสองพวกนี้มีโครงสร้างพื้นฐานของผนังเซลล์เป็น peptidoglycan แบคทีเรียแกรมบวกมีส่วนนี้หนามากกว่าพวกแกรมลบ แต่พวกแกรมลบมีส่วนของ lipopolysaccharide หุ้มอีกชั้นหนึ่ง โดยยาต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดที่มีกลไกการออกฤทธิ์ยั้งการสร้างผนังเซลล์ ส่วนใหญ่เป็นพวกที่ยับยั้งการสังเคราะห์ peptidoglycanของพวกแกรมบวกนั่นเอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรณีของแบคทีเรียแกรมลบโครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์ นอกจากสายของ peptidoglycan ที่เรียงตัวซ้อนกันเป็นชั้นบางๆแล้ว องค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ ไม่พบ teichoic acid เป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้โครงสร้างโดยภาพรวมและองค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์จะมีความแตกต่างจากแบคทีเรียแกรมบวก กล่าวคือ พบส่วนที่ปกคลุมชั้นของ peptidoglycan อยู่ด้านบน ส่วนนี้เรียกว่า outer membrane องค์ประกอบของ outer membrane ส่วนใหญ่เป็นลิพอพอลิแซ็กคาไรด์ (lipopolysaccharide) ที่เกิดจากการเชื่อมยึดกันของ lipid A และ O polysaccharide หรือเรียกอีกชื่อว่า O side chain ฟอสฟอลิพิด (phospholipid), ลิพอโปรตีน (lipoprotein) นอกจากนี้พบโปรตีนอีกหลายชนิด ที่สำคัญคือ Porin ที่มีบทบาทในการควบคุมการผ่านเข้าและออกของสารต่างๆที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย รายละเอียดของโครงสร้างและองค์ประกอบของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ

บทบาทหน้าที่ของ outer membrane คือ ช่วยป้องกันเซลล์แบคทีเรียโดยเฉพาะแบคทีเรียก่อ โรคจากกระบวนการฟาโกไซโทซิสของเซลล์ให้อาศัย รวมถึงมีส่วนช่วยให้เซลล์ทนต่อการทำลายโดยสารปฏิชีวนะ (antibiotics) สารซักฟอก (detergents), โลหะหนัก (heavy metals), สี (dyes) และ digestive enzymes นอกจากนี้พบว่า O polysaccharide และ lipid A ของแบคทีเรียก่อโรคมีคุณสมบัติเป็นแอนติเจน และ endotoxin ตามลำดับ คุณสมบัติของการเป็นแอนติเจนมีประโยชน์มากในการช่วยระบุชนิดหรือสายพันธุ์ของแบคทีเรียก่อโรค ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการระบุชื่อของแบคทีเรีย ทำให้การรักษาอาการของโรคเป็นไปอย่างถูกต้องและรวดเร็ว ส่วน endotoxin นั้นมีผลต่อระบบการไหลเวียนโลหิตของมนุษย์และสัตว์ที่ติดเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว ทำให้เกิดอาการไข้สูงและหมดสติ หากรักษาไม่ทันท่วงทีมนุษย์และสัตว์ดังกล่าวอาจได้รับอันตรายถึงแก่ชีวิต นอกจาก outer membrame แล้ว พบว่าในโครงสร้างของผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบมีช่องว่างระหว่าง outer membrane และเยื่อหุ้มเซลล์ที่เรียกว่า periplasmic space หรือ periplasmซึ่งเป็นบริเวณที่พบเอนไซม์หลายชนิดที่มีบทบาทในการย่อยสลายสารชีวโมเลกุล (biomolecules) ขนาดใหญ่หลายชนิดที่จำเป็นต่อการเจริญของเซลล์ ก่อนที่เซลล์จะขนส่งเข้าสู่ภายในเซลล์โดยการทำงานของโปรตีนอีกกลุ่มที่ชื่อว่า transport proteins

โครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของแบคทีเรียแกรมบวกพบว่า ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกจะประกอบด้วยส่วนของ peptidoglycan ที่มีความหนา สาเหตุเนื่องมาจากการเรียงซ้อนกันของสาย peptidoglycan หลายๆสายเข้าด้วยกัน บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกพบกรดอินทรีย์ชนิดหนึ่งที่ชื่อว่า teichoic acids ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ของ ribitol phosphate หรือ glycerol phosphate กรดอินทรีย์ชนิดนี้แบ่งออกเป็น 2 ชนิดย่อย คือ lipoteichoic acid ที่พบฝังตัวอยู่ตลอดชั้นของผนังเซลล์เรื่อยไปถึงส่วนผิวของเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) และ wall teichoic acid ที่พบบริเวณของผนังเซลล์เท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.2.2. การออกฤทธิ์ที่ระดับเยื่อหุ้มเซลล์

เยื่อหุ้มเซลล์เป็นส่วนที่ถัดจากผนังเซลล์เข้ามา ส่วนประกอบเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียและราคล้ายคลึงกันซึ่งก็คล้ายกับเยื่อหุ้มของเซลล์สัตว์ คือเป็น lipoprotein ยกเว้นของแบคทีเรียที่ไม่มี sterol แต่เป็นพวก phospholipid หน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์โดยทั่วไปคือเป็น osmotic barrier ที่ช่วยป้องกันไม่ให้สารต่างๆ เข้าหรือออกจากเซลล์ง่ายเกินไป อีกทั้งยังมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการขนส่งเพื่อเลือกการนำส่งสารเข้าหรือออกจากเซลล์ สารต้านแบคทีเรียบางชนิดจะไปรบกวนหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ โดยทำให้การควบคุมสารผ่านเข้าออกเซลล์ผิดปกติไป

2.8.2.3. การออกฤทธิ์ที่ระดับการสังเคราะห์ไซโตพลาสซึม

การออกฤทธิ์ที่ระดับการสังเคราะห์ไซโตพลาซึมเกิดขึ้นโดยสารต้านจุลินทรีย์ไปยับยั้งการนำไทมีน (thymine) เข้าจับกับนิวคลีโอไทด์ตัวอื่นๆ ทำให้การสร้าง DNA ไม่สมบรูณ์ และไปยับยั้งการสร้างโปรตีนโดยไปทำให้กรดอะมิโนไม่สามารถต่อกันเป็นโพลีเปปไทด์ จึงไม่สามารถสังเคราะห์โปรตีนชนิดต่างๆได้

2.8.2.4. การออกฤทธิ์ที่ระดับกระบวนการเมทาบอลิซึม

ยาต้านจุลินทรีย์ที่ออกฤทธิ์เช่นนี้ ส่วนใหญ่มีโครงสร้างสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมทาบอลิซึม จึงไปแย่งจับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องได้และการยับยั้งลักษณะนี้พบว่าสามารถฟื้นฟูกลับสู่สภาพเดิมเมื่อปริมาณของยาลดลงหรือหมดฤทธิ์ทางยาหรือเมื่อมี substrate ที่เอนไซม์ไปแย่งกันจับนั้นเพิ่มนั้นเพิ่มกว่าปกติ

2.8.3 การทดสอบความไวของเชื้อต่อสารต้านจุลินทรีย์ (กนิษฐา และคณะ, 2551)

วิธีการทดสอบความไวของเชื้อจุลินทรีย์ต่อสารต้านจุลินทรีย์ วิธีที่นิยมใช้ในการทดสอบคือ การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหาร (agar diffusion method) การแปรผลเบื้องต้นดูจากบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดขึ้น ถ้าเกิดบริเวณใสแสดงว่าสารตัวอย่างที่ทดสอบมีฤทธิ์ต้านเชื้อ และถ้าไม่เกิดบริเวณใสแสดงว่าสารตัวอย่างไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อเบื้องต้นของสารที่สงสัยใช้วิธีดิสก์ ดิฟฟิวชัน (disc diffusion method) เพราะไม่ต้องคำนึงถึงตัวทำละลายที่จะใช้ในการละลายสารว่ามีผลกระทบต่อผลการทดสอบหรือไม่ ในการละลายควรละลายให้ได้ความเข้มข้นสูงสุดเท่าที่ทำได้ บางที่อาจแนะนำให้เตรียมร้อยละ20 จากนั้นหยดสารละลายนี้บนแผ่นกระดาษซับกลม (paper disc) ขนาด 6 มิลลิเมตร แล้วตั้งทิ้งไว้หรือเป่าให้ตัวทำละลายระเหยออกก่อนนำไปวางบนอาหารวุ้นที่เพาะเลี้ยงเชื้อทดสอบไว้ ภายหลังการบ่มเพาะตรวจสอบว่ามีบริเวณใสเกิดขึ้นหรือไม่ ถ้ามีให้เจือจางสารและดำเนินการทดสอบต่อโดยวิธีเดิมหรือใช้วิธีเจือจางในอาหารเหลว เพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดต่อการยับยั้งการการยับยั้งการเจริญของยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (minimal inhibitory concentration, MIC) หรือความเข้มข้นต่ำสุดที่ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (minimal concentration, MBC) ถ้าไม่มีบริเวณใสเกิดขึ้นก็อาจหยุดการทดสอบเพียงเท่านั้น แต่ถ้ายังสงสัยว่าสารที่ก่อให้เกิดบริเวณใสนี้น่าจะมีฤทธิ์ก็เปลี่ยนใช้วิธีเจือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จางในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวแทน เพราะสารออกฤทธิ์บางชนิดอาจไม่สามารถแพร่ในอาหารวุ้นได้ การทดสอบทุกครั้งต้องมีตัวทำละลาย (solvent control) และตัวยาที่รู้ประสิทธิผล (positive control) ทำควบคู่เสมอ

การทดสอบสารสกัดจากพืชซึ่งมักมีสีเข้มถ้าใช้วิธีการให้สารสกัดแพร่ในอาหารวุ้นจะไม่ค่อยมีปัญหาเรื่องของตัวทำละลายที่อาจมีฤทธิ์ต้านเชื้อและการอ่านผล แต่ถ้าใช้วิธีการเจือจางในอาหารแข็งและในอาหารเหลวอาจเกิดปัญหาทั้งสองอย่างได้โดยสีของสารสกัดอาจมีผลต่อการอ่านผลและตัวทำละลายอาจมีฤทธิ์ต้านเชื้อ เนื่องจากไม่สามารถระเหยตัวทำละลายออกไปได้อย่างเช่นการใช้วิธีการให้สารสกัดแพร่ในอาหารวุ้นโดยผ่านกระดาษซับซับกลม การแก้ปัญหาของตัวทำละลายที่อาจมีฤทธิ์ต้านเชื้อ คือหลังการเจือจางด้วยตัวทำละลายนี้แล้วให้เจือจางต่อด้วยน้ำ ซึ่งตัวทำละลายที่ต้องควบคู่ก็ให้เจือจางในลักษณะเดียวกัน ส่วนการอ่านผลอาจต้องใช้วิธีหาค่า MBC แทน MIC เพราะสารสกัดที่มีสีเข้มหรือสีขุ่นจะทำให้การอ่านผลยากแม้ใช้เครื่องมือช่วยก็อาจผิดได้ แต่ถ้ายังต้องการหาค่า MIC ให้เลือกวิธีเจือจางในอาหารแข็ง ซึ่งการใช้วิธีนี้ปริมาณสารสกัดต้องมากพอเพราะอัตราการเจือจางจะสูงกว่าวิธีการเจือจางในอาหารเหลว

2.8.4 เตตราซัยคลีน (Tetracycline) (สุรเกียรติ, 2523)

เป็นยาที่ออกฤทธิ์แบบกดการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย และมีขอบเขตในการออกฤทธิ์กว้าง ยาจะถูกดูดซึมได้ดีจากทางเดินอาหารโดยเฉพาะเวลาท้องว่างแต่เนื่องจากยามีผลระคายเคืองต่อกระเพาะอาหาร ทำให้เกิดการคลื่นไส้ อาเจียน ดังนั้นจึงแนะนำให้ผู้ป่วยกินยาหลังอาหารมากกว่าที่จะให้ก่อนอาหาร ไม่ควรกินยานี้ร่วมกับนมหรือยาลดกรด เพราะจะทำให้ลดการดูดซึมของยาไปได้มาก เมื่อจะใช้ยาตัวนี้ควรจะตรวจสอบเป็นระยะๆว่ายายังหมดอายุหรือยัง ซึ่งทำได้ง่ายๆโดยดูสีของยาในหลอด ถ้าเปลี่ยนจากสีเหลืองนวลเป็นสีน้ำตาล หรือสีน้ำตาลเข้มห้ามใช้อย่างเด็ดขาดเพราะจะมีพิษต่อไตมาก ยาประเภทเตตราซัยคลีนห้ามใช้ในเด็กที่อายุต่ำกว่า 5 ปี เพราะยาจะไปรบกวนการก่อตัวของกระดูกและฟัน ซึ่งมีผลให้กระดูกและฟันไม่เจริญและแข็งแรงเท่าที่ควร นอกจากนี้ยังทำให้ฟันเป็นคราบสีเหลืองถึงดำไปตลอดชีวิตไปตลอดชีวิต ในคนท้องโดยเฉพาะในระยะ 3 เดือนก่อนที่จะคลอดไม่ควรใช้ยานี้เพราะยาสามารถถ่ายทอดไปสู่เด็ก ทำให้เกิดความเจริญทางสมองลดลงและไปยับยั้งการเจริญเติบโตของกระดูกและฟันด้วย

รูปของยา

แคปซูล 250 มิลลิกรัม

ยาน้ำ 125 มิลลิกรัมต่อช้อนชา

ชนิดป้ายตา เช่น ขี้ผึ้งป้ายตาเทอร์รามัยซิน

ขนาดและวิธีใช้

เด็ก (ห้ามใช้ในเด็กอายุต่ำกว่า 5 ปี) 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน แบ่งให้ 4 ครั้งหลังอาหารและก่อนนอน

ผู้ใหญ่ 1-2 กรัมต่อวัน แบ่งให้เช่นเดียวกับเด็ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประโยชน์ที่ใช้

ยาจะได้ผลดีกับโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *Mycoplasma pneumonia* สาเหตุปอดบวมในผู้ใหญ่ เชื้อ *Vibrio Cholera* เชื้อ *Streptococcus* เชื้อ *Staphylococcus* บางชนิดที่ก่อให้เกิดฝีและบาดแผลตามผิวหนัง ตลอดจนหนองใน และเชื้ออื่นๆ

ฤทธิ์และอาการที่ไม่พึงประสงค์

1.รบกวนการสร้างกระดูกและฟัน ไม่ควรใช้กับเด็กอายุต่ำกว่า 5 ปี

2. ระคายเคืองต่อกระเพาะอาหารทำให้คลื่นไส้อาเจียน

3. ยาที่หมดอายุเป็นพิษต่อไตมาก อาจทำให้พิการโดยถาวรได้และเกิดอาการผอมทั้งตัวจากโรคที่เรียกว่า แฟนโคนี ซินโดรม ในผู้ป่วยประเภทนี้ไตไม่สามารถทำให้ปัสสาวะเป็นด่าง

4. อาจมีอาการแพ้ยาในรูปของผื่นคันได้ ทำให้เกิดอาการทางผิวหนังได้ง่ายเวลาที่ถูกแสงแดด

5. อาจเป็นพิษต่อตับจึงห้ามใช้ในผู้ป่วย

6. เนื่องจากมีขอบเขตในการออกฤทธิ์กว้างเป็นผลให้เกิดการติดเชื้อประเภท *Candida* ในบริเวณช่องปากและทางเดินอาหาร ซึ่งเมื่อหยุดยาก็จะหายได้เอง

2.8.5 เจนตามิซิน (Gentamicin) (สุรเกียรติ, 2523)

จัดเป็นยาในกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ (Aminoglycoside) โดยทั่วไปใช้ได้ดีกับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง และได้ผลดีในการรักษาเชื้อวัณโรค ยากลุ่มนี้ดูดซึมได้น้อยมากจากทางเดินอาหารและไม่สามารถซึมผ่านเข้าน้ำไขสันหลังได้ ยาจะถูกขับถ่ายออกทางปัสสาวะในสภาพที่ยังมีฤทธิ์ ดังนั้นจึงจำเป็นจะต้องหลีกเลี่ยงการใช้ยานี้ในผู้ป่วยโรคไต หากจำเป็นต้องใช้ควรลดขนาดลง คุณสมบัติที่ไม่ค่อยดูดซึมจากทางเดินอาหารทำให้ยานี้ไม่ได้ประโยชน์ในการรักษาโรคติดเชื้อที่กระจายตามเนื้อเยื่อต่างๆ ถ้าให้ในรูปการกิน แต่ในทางตรงกันข้ามการเลือกใช้ยาตัวนี้ให้จะสามารถทำลายเชื้อ สามารถสร้างเอนไซม์เพนิซิลลิเนส ไม่ควรนำมาใช้รักษาเชื้อ *Staphylococcus* เพราะมีราคาค่อนข้างแพงควรเลือกใช้ตัวยาอื่นที่มีราคาถูกกว่า

รูปของยา

เจนตามิซินหรือที่รู้จักกันดีในชื่อการค้าคือ การามัยซิน (Garamycin) และไมรามัยซิน (Miramycin) ชนิดฉีดมีขนาด 20, 40, 60 และ 80 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร

ขนาดและวิธีใช้

ในผู้ใหญ่ให้ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ 80 มิลลิกรัมทุก 8 ชั่วโมง ในเด็กแรกเกิดถึง 7 วันแรก 5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน แบ่งให้ทุก 12 ชั่วโมง อายุเจ็ดวันขึ้นไปให้ 7.5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน แบ่งให้ทุก 8 ชั่วโมงหรือ 2.5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อครั้ง ทุก 8 ชั่วโมง

ฤทธิ์และอาการที่ไม่พึงประสงค์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาจทำให้หูหนวกซึ่งโดยมากเป็นแล้วไม่หาย มีพิษต่อไตได้บ่อยกว่าและอาจทำให้กล้ามเนื้อหัวใจหยุดทำงานได้

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Jane และ Patil (2012) สารสกัดของใบผักเสี้ยนผีที่สกัดด้วยอะซิโตน คลอโรฟอร์มและเมทานอล นำมาทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคหูชั้นกลางอักเสบ โดยใช้วิธีในการทดสอบคือ disc diffusion และ broth dilution นำสารสกัดมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH radical และphytochemical ซึ่งจากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์พบว่าเชื้อ *S. pneumonia* และ *E. coli* มีความไวต่อสารสกัดที่สกัดด้วยอะซิโตนมากที่สุดตามลำดับ รองลงมาคือ *S. aureus, K. pneumoniae* และ*P. aeruginosa* การทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากอะซิโตนนี้ทำให้เกิดบริเวณยับยั้งการเจริญ 20-35 มิลลิเมตรและมีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) 4-33 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารอื่นขึ้นอยู่กับไอโซเลท และพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่าเท่ากับ 33% ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและ 21% ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การพิจารณาสารเคมีในพืชพบว่ามี ฟลาโวนอยด์, เทนนิน, ซาโปนิน และอัลคาลอยด์ ซึ่งจากการศึกษาพบว่าผักเสี้ยนผีมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคหูชั้นกลางอักเสบ

Prakash และคณะ (2011) ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบและลำต้นของผักเสี้ยนผี ด้วยวิธี beta carotene bleaching assay ซึ่งเป็นวิธีการแย่งจับกับอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และhydroxyl radical scavenging activity การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสามารถหาได้จากวิธี Folin–Ciocalteu colorimetricและการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสามารถหาได้จากวิธี aluminium chloride colourimetric ผลจากศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด,ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของผักเสี้ยนผี ในส่วนของใบพบว่ามีปริมาณ 66.38±0.82 มิลลิกรัมต่อกรัม,0.54±0.04 มิลลิกรัมต่อกรัม และ77.30% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าใบของผักเสี้ยนผีมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงมาก ซึ่งสามารถแสดงผลได้ 2 วิธีคือ วิธี DPPHซึ่งมีค่า IC50 ที่ต่ำอยู่ที่ 373.18 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และวิธี hydroxyl radical เท่ากับ 573.55 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรใบของผักเสี้ยนผีมีปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่สูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับลำต้นของผักเสี้ยนผี

Utpal และคณะ (2011) นำสารสกัดเมทานอลจากใบแห้งของผักเสี้ยนผีตรวจสอบฤทธิ์การระงับปวด การทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ และการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในสัตว์ทดลอง สารสกัดมีผลยับยั้งการผลิตกรดอะซิติกที่เกิดขึ้นระหว่างการบิดตัวของหนูอย่างมีนัยสำคัญ ในหนูที่รับประทานยาปริมาณ 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวโดยเปรียบเทียบกับยามาตรฐานไดโคลฟิแนคโซเดียม ที่ปริมาณ 25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัวสารสกัดหยาบมีความโดดเด่นในการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์โดยใช้ไรสีน้ำตาล (LC50 28.18 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร และ LC90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

112.20 ไมโครกรัม / มิลลิลิตร) สารสกัดใบผักเสี้ยนผีสามารถยับยั้งกิจกรรมของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus saprophyticus*, *Shigella sonnie*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholera*, *Streptococcus epidermidis*, *Shigella flexneri*และ *Staphylococcus aureus*โดยการเกิดบริเวณยับยั้งมีขนาดจาก 10.76 ถึง 16.34 มิลลิเมตร ผลการทดลองที่ได้สนับสนุนให้มีการนิยมใช้พืชสมุนไพรและสามารถใช้ในการตรวจสอบต่อไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ

เก็บต้นผักเสี้ยนผี ในเดือนเมษายน พ.ศ.2556 จากบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เขตลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร

3.2 เชื้อแบคทีเรีย

จากกรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ได้แก่ *Streptococcus epidermidis* ATCC 1228 จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* DMST 4212 และ *Salmonella typhimurium* TISTR 5562

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การสกัดผักเสี้ยนผี

นำผักเสี้ยนผีที่เก็บมาล้างทำความสะอาด แยกเป็นส่วนใบ ลำต้น ราก และฝัก หั่นเป็นชิ้นเล็กๆก่อนนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วนำไปบดให้ละเอียด นำส่วนต่างๆของต้นผักเสี้ยนผีที่ได้มาสกัดด้วยเอทานอล 95% ด้วยอัตราส่วน 1:10 เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นระเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ จนได้สารสกัดหยาบที่เข้มข้นของใบ ลำต้น ราก และฝักของผักเสี้ยนผี เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.3.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรีย

3.3.2.1 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเบื้องต้นด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหาร (agar well diffusion)

ปิเปตเชื้อแขวนลอยของแบคทีเรียที่มีความเข้มข้น 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton Agar (MHA) จากนั้น swab เชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหาร รอให้แห้งแล้วเจาะหลุมด้วย cork borer เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จำนวน 6 หลุมต่อเพลท เตรียมสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของผักเสี้ยนผีให้ได้ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารสกัดจากแต่ละส่วนปริมาตร 20 ไมโครลิตรลงในหลุม ส่วนละ 1 หลุมต่อเพลทของเชื้อแต่ละชนิด ปิเปตยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (Gentamicin) ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และปิเปต95% เอทานอล ลงในหลุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เพื่อใช้เป็นการควบคุมเชิงบวก positive control(+) และการควบคุมเชิงลบ negative control(-) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงโดยจะทำการทดสอบสารสกัดกับเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดทั้งหมด 3 ซ้ำ ตรวจผลการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (Inhibition zone) ในหน่วยมิลลิเมตร ด้วยเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์

3.3.2.2 การศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดผักเสี้ยนผีที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (minimal inhibitory concentration, MIC) ด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหาร (agar well diffusion)

เมื่อทดสอบเบื้องต้นว่าสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของผักเสี้ยนผีชนิดใดมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย จึงนำสารสกัดนั้นไปทดสอบหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ ซึ่งจะใช้วิธีเดียวกับการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเบื้องต้น โดยเจือจางสารสกัดให้ความเข้มข้นลดลงสองเท่า ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับใช้ในการทดสอบ ถ้าหากเกิดเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้ง จะทำการทดสอบต่อ โดยลดความเข้มข้นลงเป็น 12.5 6.25 3.125 1.5625 0.7813 0.3906 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ค่า MIC มีค่าเท่ากับความเข้มข้นของสารสกัดที่น้อยที่สุดที่ทำให้เกิดบริเวณยับยั้ง

หมายเหตุ

(1) : สารสกัดใบของผักเสี้ยนผี
(2) : สารสกัดลำต้นของผักเสี้ยนผี
(3) : สารสกัดฝักของผักเสี้ยนผี
(4) : สารสกัดรากของผักเสี้ยนผี
(5) : ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน
(6) : เอทานอล 95%

ภาพที่ 3.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหาร (Agar Well diffusion)

3.3.3 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

3.3.3.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu ตามวิธีของ Singletonและคณะ (1999) โดยปิเปตสารสกัดความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลทขนาด 96 หลุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารละลายเข้ากัน ทิ้งไว้ 5 นาทีจึงเติมโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (96-well microplate reader) โดยแบลงค์จะใช้เอทานอลแทนสารสกัดจากผักเสี้ยนผี ทำการทดลอง 5 ซ้ำ บันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้และวิเคราะห์หาปริมาณฟินอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากส่วนต่างๆของผักเสี้ยนผี ในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง (mg GAE/g dry weight) โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานจากสารละลายกรดแกลลิก ที่มีความเข้มข้น 1 0.1 0.01 0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.3.3.2 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity)

ละลายสารสกัดใบผักเสี้ยนผีด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ 99.9 เปอร์เซ็นต์ แล้วปรับความเข้มข้นของสารสกัดผักเสี้ยนผีโดยเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 12, 6, 3 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักเสี้ยนผีโดยใช้ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ตามวิธีการของ Brand-Williams และคณะ(1995) โดยปิเปตสารสกัดแต่ละความเข้มข้นปริมาณ 10 ไมโครลิตร และเติม DPPH ปริมาณ 190 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลทขนาด 96 หลุม จากนั้นนำไปเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จึงนำมาวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยแบลงค์ (Blank) ที่ใช้คือเอทานอล 95% แทนสารสกัด สารมาตรฐานที่ใช้ในการทดลองคือ α- Tocopheral (Vitamin E) ความเข้มข้น 500 มิลลิโมลาร์ นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังสมการ

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

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบ

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

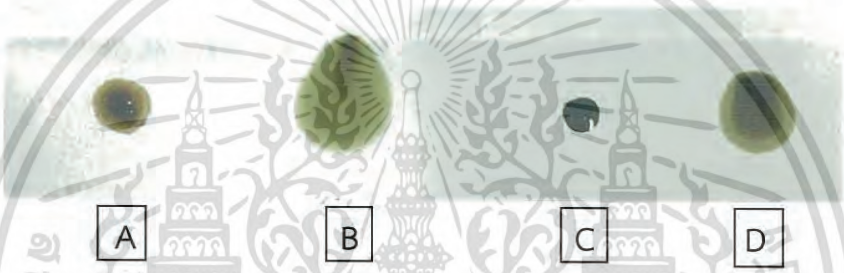
จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(% scavenging) กับความเข้มข้นของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผี

หลังจากนำต้นผักเสี้ยนที่ใช้ในการทดลองมาแยกเป็นส่วนต่างๆ คือ ใบ ลำต้น ฝัก และราก นำมาตากให้แห้งในที่ร่มและบดให้เป็นผงละเอียด แล้วจึงนำมาสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำสารสกัดที่ได้จากการกรองไประเหยแยกเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผี ซึ่งมีลักษณะ ดังภาพที่ 4.1 และปริมาณของสารสกัดหยาบที่แสดงดังตารางที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 ลักษณะของสารสกัดหยาบที่ได้จาก (A) ลำต้น (B) ฝัก (C) ใบ และ(D) ราก ของผักเสี้ยนผี

ตารางที่ 4.1 ลักษณะและปริมาณของสารสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผี

ส่วนของสารสกัดหยาบ	ลักษณะของสารสกัดหยาบ	น้ำหนัก (กรัมต่อน้ำหนักแห้ง 200 กรัม)	ร้อยละผลได้
ใบ	สีเขียวเข้มเหนียวหนืด	2.2579	0.0112
ลำต้น	สีน้ำตาลข้นหนืดมีน้ำมันเล็กน้อย	1.2200	0.0061
ฝัก	น้ำมันสีเขียวเข้ม	1.8525	0.0093
ราก	น้ำมันสีเขียวอ่อนเหนียวเล็กน้อย	0.9766	0.0048

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผักเสี้ยนผี

4.2.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหาร (Agar well difussion)

จากการทดลองศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผี 4 ส่วน ได้แก่ ใบ ลำต้น ฝัก และราก ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรโดยทำการทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 6 ชนิด ซึ่งอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียสองกลุ่ม โดยแบคทีเรียกลุ่มแรก คือ แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Streptococcus epidermidis* ATCC 1228, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 และ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 กลุ่มที่สองคือแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* DMST 4212 และ *Salmonella typhimurium* TISTR 5562 โดยการทดสอบจะนำมาเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) คือยาปฏิชีวนะเจนตามิซิน (Gentamicin) เข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยกเว้นเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ใช้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และตัวควบคุมเชิงลบ คือ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ โดยจากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนใบและฝักของผักเสี้ยนผี มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ดีที่สุด โดยมีฤทธิ์กับเชื้อ *S. aureus* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้งเท่ากับ 13.21 และ12.85 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดหยาบจากใบของผักเสี้ยนผีมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* โดยมีโซนยับยั้ง เท่ากับ 15.05 มิลลิเมตร และสารสกัดหยาบจากฝักมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *B. subtilis* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้งเท่ากับ 18.69 มิลลิเมตร ดังภาพที่ 4.2 ซึ่งแตกต่างจากฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผีส่วนอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังตารางที่ 4.2 และเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดของผักสี้ยนผีพบว่าสารสกัดหยาบจากใบ ลำต้น ฝัก และราก สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* ได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้งเท่ากับ 16.04, 13.26, 18.69 และ 14.31 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยมีค่าแตกต่างกับฤทธิ์ต้านเชื้อชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังตาราง จ-1 ดังนั้นจากผลการทดสอบเบื้องต้นของสารสกัดหยาบที่มีต่อเชื้อจุลินทรีย์ จึงนำสารสกัดไปทำการทดลองหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดผักเสี้ยนผีที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ในขั้นตอนถัดไป สำหรับการทดสอบสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผีกับเชื้อจุลินทรีย์ *P. aeruginosa*, *E. coli* และ *S. typhimurium* พบว่าไม่เกิดโซนยับยั้งทั้งหมด จึงทำการทดสอบต่อโดยเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผีเป็น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.3 ซึ่งผลการทดสอบปรากฏว่าไม่เกิดโซนยับยั้ง ดังนั้นสารสกัดผักเสี้ยนผีไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อจุลินทรีย์ 3 ชนิดข้างต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเบื้องต้นการเจริญของสารสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผีต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

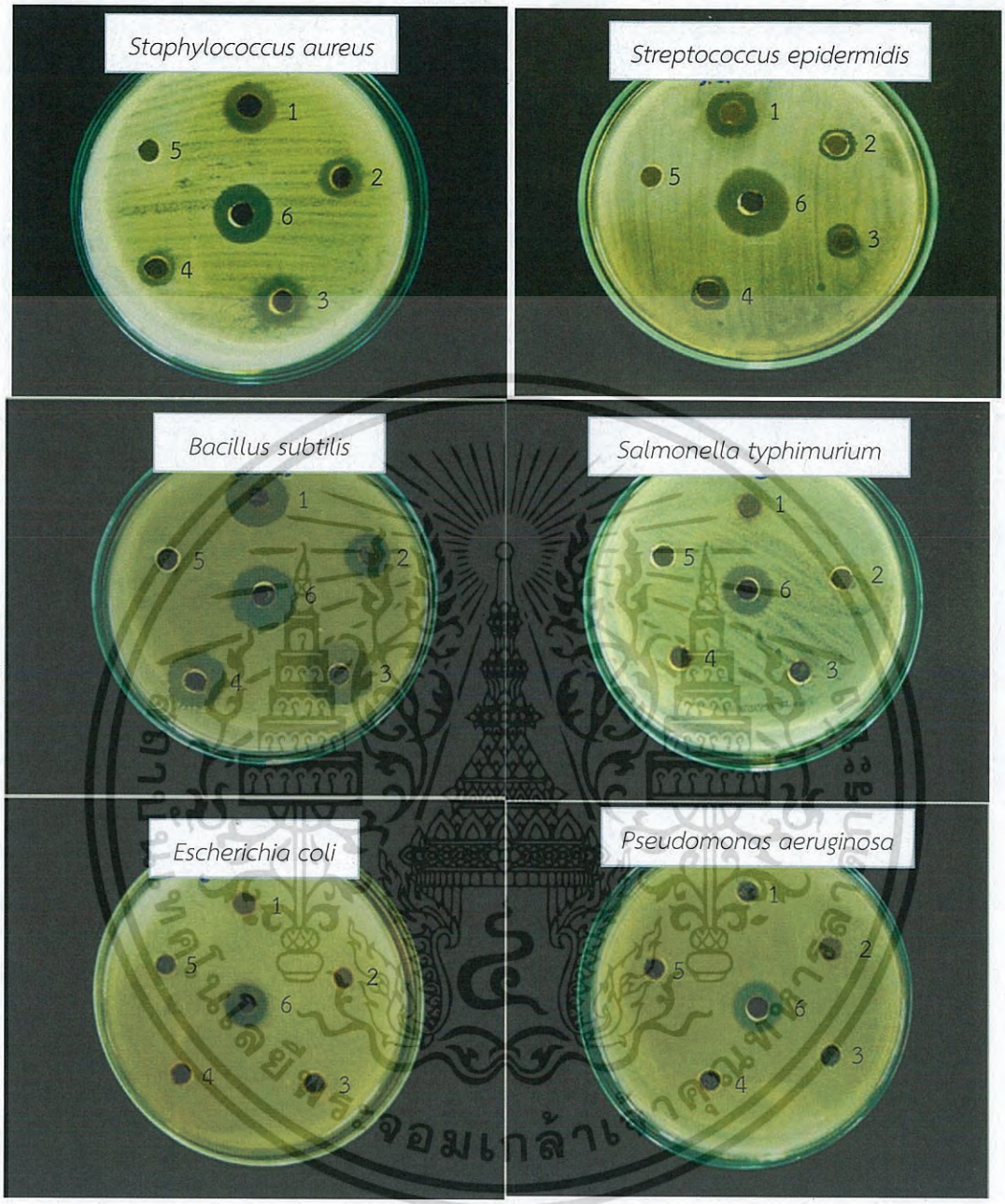
สารสกัดหยาบผักเสี้ยนผี	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง (inhibition zone, มิลลิเมตร)					
	S. aureus	*S. epidermidis*	*B. subtilis*	*S. typhimurium*	*E. coli*	*P. aeruginosa*
ใบ	13.21^{a}±0.22	15.05^{a}±0.38	16.04^{b}±0.50	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00
ลำต้น	9.11^{b}±0.85	9.68^{b}±0.16	13.26^{c}±0.70	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00
ฝัก	12.85^{a}±1.33	8.19^{c}±0.17	18.69^{a}±0.47	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00
ราก	9.51^{b}±0.25	8.22^{c}±0.26	14.31^{c}±0.87	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{a}±0.00
ชุดควบคุม						
ยาปฏิชีวนะเจนตามิซิน	16.23	19.72	18.78	15.49	13.38	14.71
EtOH 95%	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Utpal และคณะในปี 2010 ได้ทำการศึกษากิจกรรมการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดหยาบจากใบของผักเสี้ยนผีที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้งเท่ากับ 10.80 มิลลิเมตร และเชื้อ *Streptococcus epidermidis* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้งเท่ากับ 12.45 มิลลิเมตร โดยพบว่ามีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนยับยั้งน้อยกว่าผลการทดลองที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ ผลการทดลองที่แตกต่างกันเนื่องมาจากใช้ตัวทำละลายและวิธีที่ใช้แตกต่างกัน

และจากการศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของ Saradha และ Subba ในปี 2010 โดยสกัดสารสกัดหยาบจากต้นผักเสี้ยนผีทั้งต้นด้วยเมทานอล นำมาทดสอบฤทธิ์ด้วยวิธีการ Agar well diffusion ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 500 ไมโครกรัมพบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้งเท่ากับ 12.00, 25.00, 18.00 และ 12.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนยับยั้งดีกว่าผลการทดลองที่ทำการศึกษาครั้งนี้ เนื่องจากตัวทำละลายและความเข้มข้นที่ใช้แตกต่างกัน รวมถึงส่วนของต้นผักเสี้ยนผีที่นำมาทำการศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 ฤทธิ์ของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผีที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

หมายเหตุ 1 : สารสกัดหยาบจากใบของผักเสี้ยนผี
2 : สารสกัดหยาบจากลำต้นของผักเสี้ยนผี
3 : สารสกัดหยาบจากฝักของผักเสี้ยนผี
4 : สารสกัดหยาบจากรากของผักเสี้ยนผี
5 : เอทานอล 95%
6 : ยาปฏิชีวนะเจนตามิซิน (ความเข้มข้น 20 mg/ml ยกเว้นเชื้อ *S. epidermidis* 10 mg/ml)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผีที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

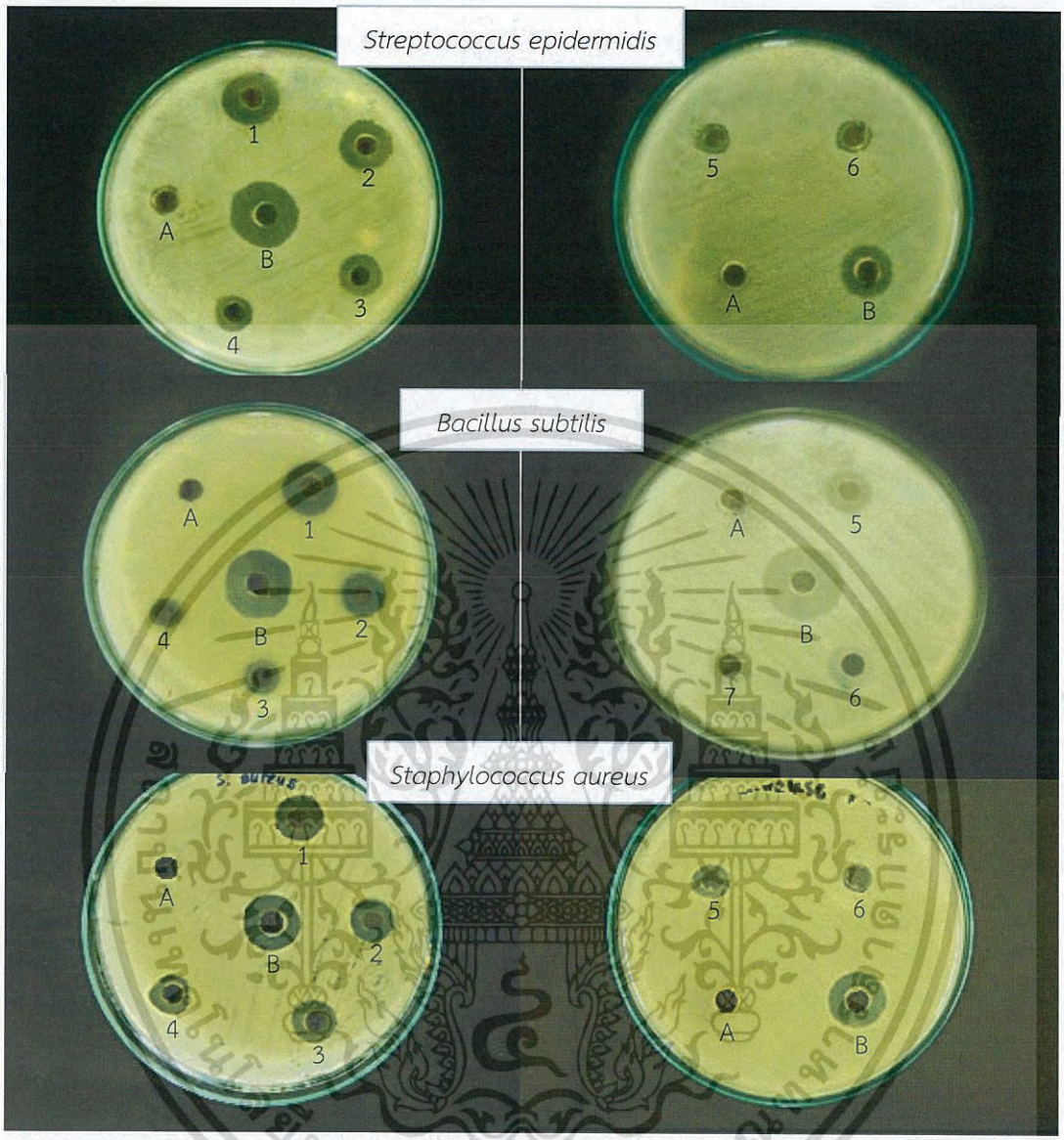
สารสกัดหยาบผักเสี้ยนผี	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง (inhibition zone, มิลลิเมตร)		
	S. typhimurium	*E. coli*	*P. aeruginosa*
ใบ	6.00[a] ±0.00	6.00[a] ±0.00	6.00[a] ±0.00
ลำต้น	6.00[a] ±0.00	6.00[a] ±0.00	6.00[a] ±0.00
ฝัก	6.00[a] ±0.00	6.00[a] ±0.00	6.00[a] ±0.00
ราก	6.00[a] ±0.00	6.00[a] ±0.00	6.00[a] ±0.00
ชุดควบคุม			
ยาปฏิชีวนะเจนตามิซิน	14.89	13.87	14.16
EtOH 95%	6.00	6.00	6.00

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.2.2 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดผักเสี้ยนผีที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (minimal inhibitory concentration, MIC)

จากการทดลองศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผี 4 ส่วน ได้แก่ ใบ ลำต้น ฝัก และราก ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *S. epidermidis* ATCC 1228, *S. aureus* TISTR 1466 และ *B. subtilis* ATCC 6633 จึงทำการทดลองหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบผักเสี้ยนผีที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบลง ด้วยวิธีการลดความเข้มข้นลงครั้งละสองเท่า (two-fold dilution) จากความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, 0.7813 และ 0.3906 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์เป็นชุดควบคุมเชิงลบ (negative control) และยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) สำหรับการทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* และ *B. subtilis* และยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการทดสอบกับเชื้อ *S. epidermidis* เมื่อทดสอบสารสกัดหยาบของใบผักเสี้ยนผี พบว่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* คือ 0.7813 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนยับยั้งเท่ากับ 7.26 มิลลิเมตร และความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* คือ 1.5625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนยับยั้งเท่ากับ 7.61 มิลลิเมตร สำหรับการทดสอบกับเชื้อ *B. subtilis* พบว่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อคือ 0.7813 และ 0.3906 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนยับยั้งเท่ากับ 7.13 และ 6.47 มิลลิเมตร ตามลำดับซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังภาพที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 แสดงฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบของผักเสี้ยนผีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

หมายเหตุ

1 : ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
2 : ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
3 : ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
4 : ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
5 : ความเข้มข้น 1.5625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
6 : ความเข้มข้น 0.78125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
7 : ความเข้มข้น 0.3906 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
A : เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์
B : ยาปฏิชีวนะเจนตามิซินความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทำการทดสอบสารสกัดหยาบจากลำต้นของผักเสี้ยนผีกับ *S. epidermidis* และ *S. aureus* พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญได้คือ 12.5 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยให้ผลการทดสอบไม่แตกต่างกันคือเมื่อทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ *S. epidermidis* เกิดโซนยับยั้งเท่ากับ 6.80 และ 6.00 มิลลิเมตร เชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนยับยั้งเท่ากับ 6.87 และ 6.00 มิลลิเมตร เมื่อทำการทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้คือ 1.5625, 3.125 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง เท่ากับ 7.16, 7.92 และ 8.86 มิลลิเมตร ตามลำดับที่ความเข้มข้น 6.25 และ 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้งเท่ากับ 8.86 และ 7.92 มิลลิเมตร ตามลำดับ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และที่ความเข้มข้น 3.125 และ 1.5625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง เท่ากับ 7.92 และ 7.16 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกัน ดังตารางและภาพที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Streptococcus epidermidis* ATCC 1228, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 และ*Bacillus subtilis* ATCC 6633ของสารสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผีที่ความเข้มข้น 0.3906, 0.7813, 1.5625, 3.125, 6.25, 12.5 และ25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบผักเสี้ยนผี	ความเข้มข้น (mg/ml)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง (inhibition zone, มิลลิเมตร)		
		S. epidermidis	*S. aureus*	*B. subtilis*
ใบ	25	14.00^{a} ±0.26	12.06^{a} ±0.56	15.10^{a} ±0.39
	12.5	12.81^{b} ±0.30	11.02^{a} ±0.71	13.09^{b} ±0.35
	6.25	11.91^{c} ±0.36	9.93^{b} ±0.65	11.44^{c} ±0.06
	3.125	10.49^{d} ±0.20	9.07^{b} ±0.64	9.50^{d} ±0.44
	1.5625	8.84^{e} ±0.30	7.61^{c} ±0.58	9.98^{d} ±1.33
	0.7813	7.26^{f} ±0.27	6.00^{d} ±0.00	7.13^{e} ±0.13
	0.3906	-	-	6.47^{e} ±0.45
ลำต้น	25	8.22^{a} ±0.55	8.17^{a} ±0.22	11.81^{a} ±0.91
	12.5	6.80^{b} ±0.70	6.87^{b} ±0.76	10.21^{b} ±0.66
	6.25	6.00^{b} ±0.00	6.00^{b} ±0.00	8.86^{c} ±0.24
	3.125	-	-	7.92^{cd} ±0.74
	1.5625	-	-	7.16^{d} ±0.25
	0.7813	-	-	6.00^{e} ±0.00
	0.3906	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

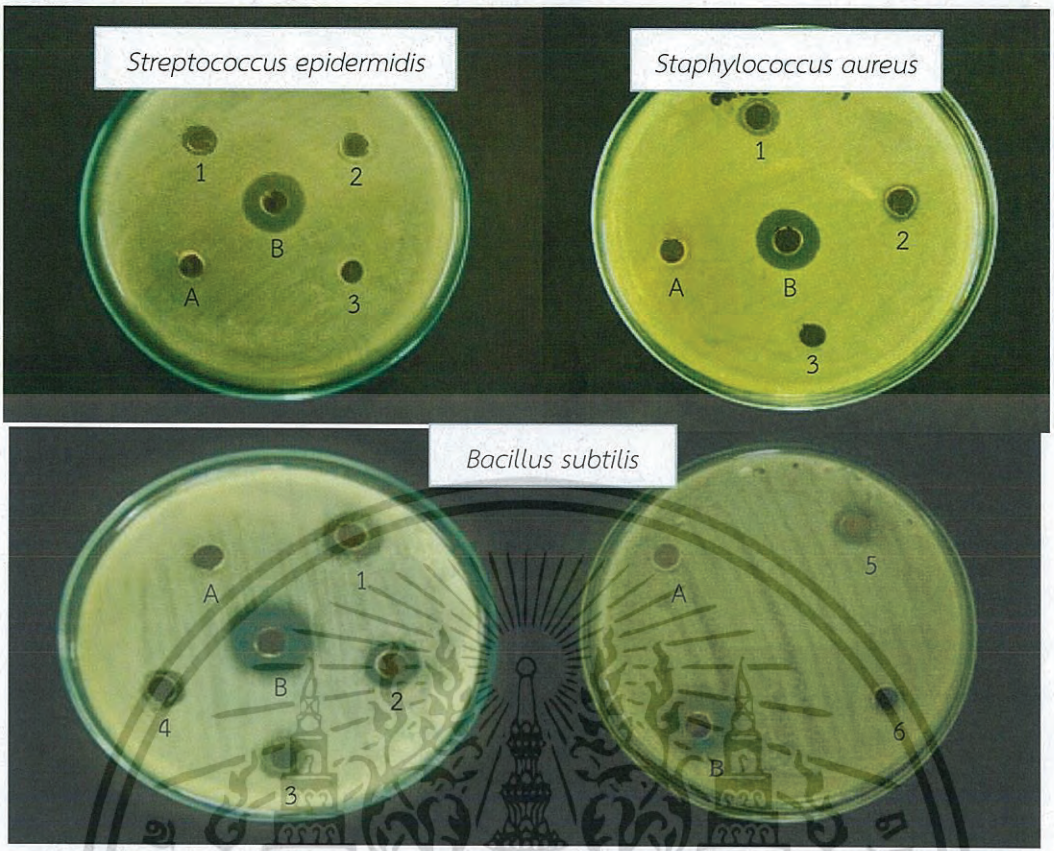
ตารางที่ 4.4 (ต่อ) ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Streptococcus epidermidis* ATCC 1228, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 และ *Bacillus subtilis* ATCC 6633ของสารสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผีที่ความเข้มข้น 0.3906, 0.7813, 1.5625, 3.125, 6.25, 12.5 และ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบผักเสี้ยนผี	ความเข้มข้น (mg/ml)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง (inhibition zone, มิลลิเมตร)		
		S. epidermidis	*S. aureus*	*B. subtilis*
ฝัก	25	7.82^{a} ±0.39	12.06^{a} ±0.50	17.50^{a} ±0.09
	12.5	6.65^{b} ±0.57	10.29^{b} ±0.60	16.45^{a} ±0.68
	6.25	6.00^{b} ±0.00	7.75^{c} ±0.22	14.12^{b} ±0.92
	3.125	-	6.00^{d} ±0.00	11.32^{c} ±0.59
	1.5625	-	-	9.31^{d} ±0.33
	0.78125	-	-	6.85^{e} ±0.75
	0.3906	-	-	-
ราก	25	6.00^{a} ±0.00	8.76^{a} ±0.40	11.81^{a} ±0.59
	12.5	6.00^{a} ±0.00	7.15^{b} ±0.12	9.5 7^{b} ±0.32
	6.25	-	6.00^{c} ±0.00	8.08^{c} ±0.23
	3.125	-	-	7.45^{d} ±0.31
	1.5625	-	-	6.00^{e} ±0.00
	0.78125	-	-	6.00^{e} ±0.00
	0.3906	-	-	-
ชุดควบคุม				
ยาปฏิชีวนะเจนตามิซิน		18.69	17.10	17.95
EtOH 95%		6.00	6.00	6.00

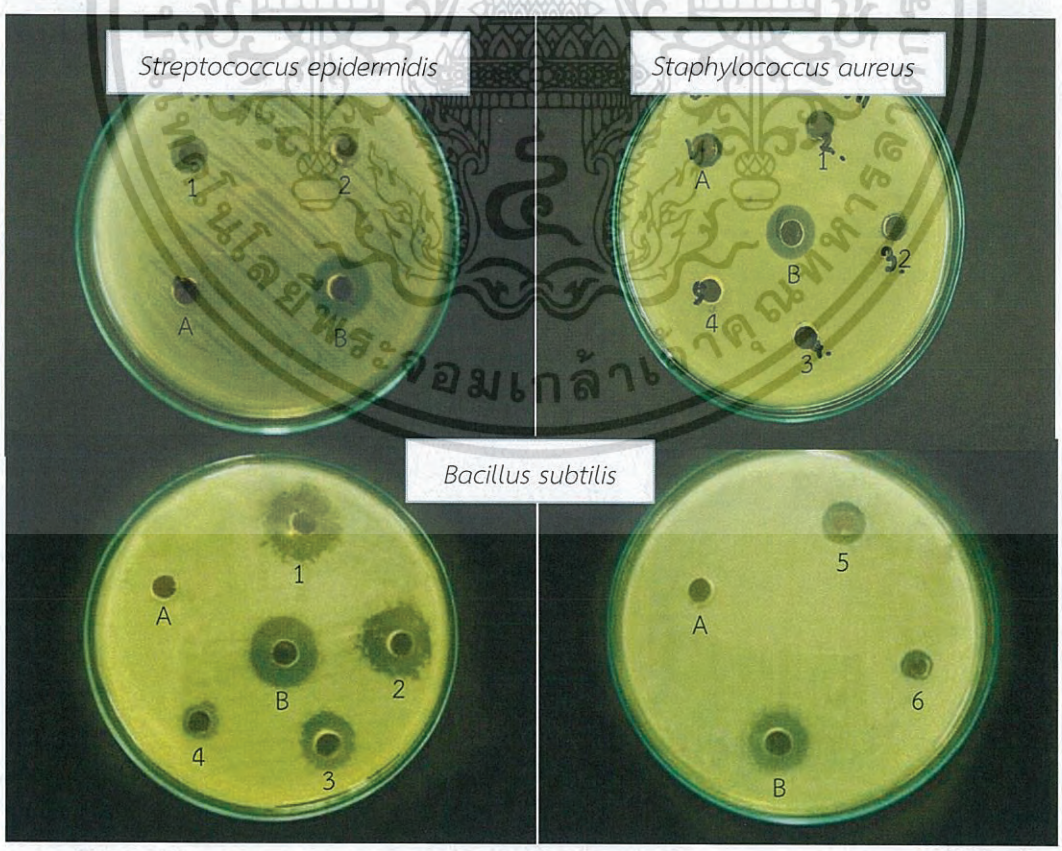
หมายเหตุ (–) คือ ไม่ได้ทำการทดสอบความเข้มข้นดังกล่าว

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

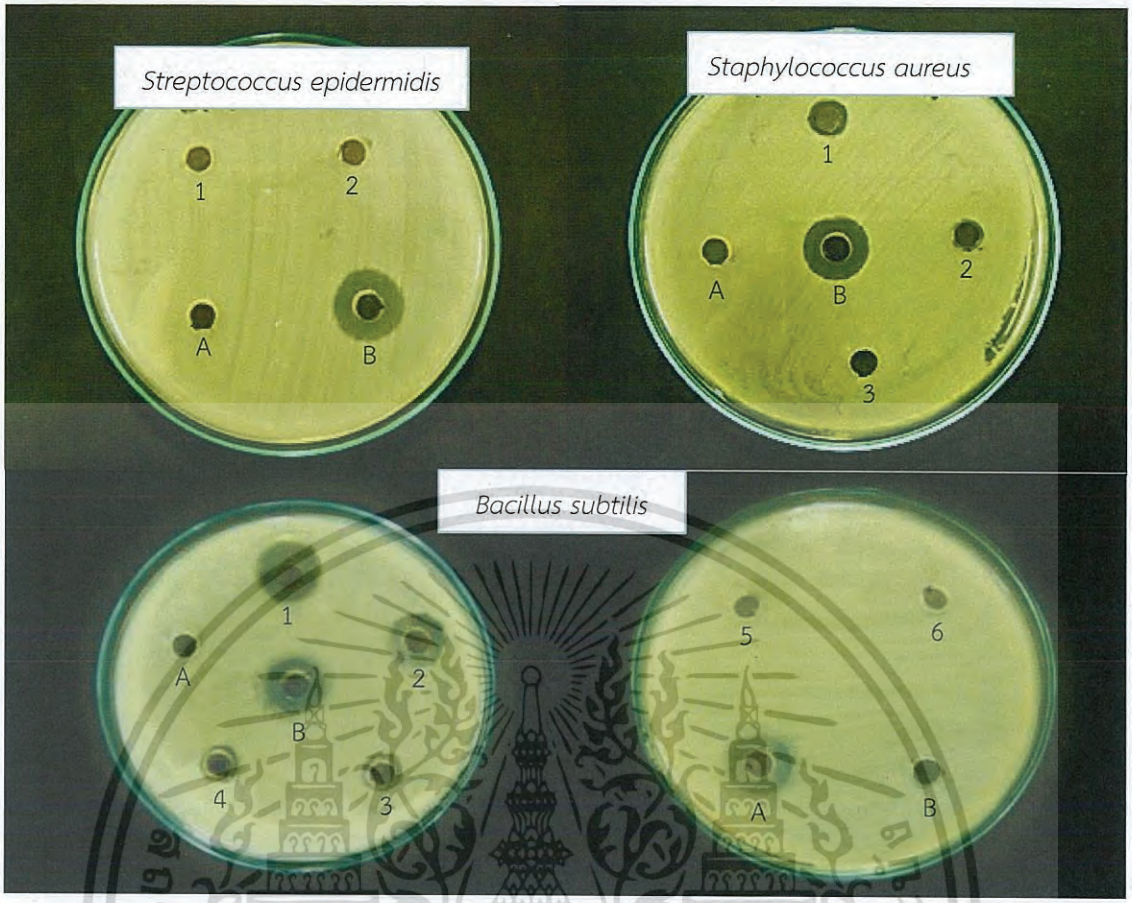


ภาพที่ 4.4 แสดงฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากลำต้นของผักเสี้ยนผีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย



ภาพที่ 4.5 แสดงฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากฝักของผักเสี้ยนผีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 แสดงฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากรากของผักเสี้ยนผีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

หมายเหตุ

1 : ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
2 : ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
3 : ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
4 : ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
5 : ความเข้มข้น 1.5625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
6 : ความเข้มข้น 0.78125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
A : เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์
B : ยาปฏิชีวนะเจนต้ามิซินความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อทดสอบสารสกัดหยาบของฝักผักเสี้ยนผี พบว่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* คือ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนยับยั้งเท่ากับ 6.65 มิลลิเมตร เมื่อทดสอบสารสกัดหยาบของฝักผักเสี้ยนผี พบว่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* คือ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนยับยั้งเท่ากับ 7.75 มิลลิเมตร และเมื่อทดสอบสารสกัดหยาบของฝักผักเสี้ยนผี พบว่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* คือ 0.78125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนยับยั้งเท่ากับ 6.85 มิลลิเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันกับความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังภาพที่ 4.5 และเมื่อทดสอบสารสกัดหยาบของรากผักเสี้ยนผีพบว่าเมื่อลดความเข้มข้นแล้วไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* เมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* พบว่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* คือ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนยับยั้งเท่ากับ 7.15 มิลลิเมตร และทดสอบกับสารสกัดหยาบของรากผักเสี้ยนผี พบว่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* คือ 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนยับยั้งเท่ากับ 7.45 มิลลิเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันกับความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังตารางที่ 4.6

4.3 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักเสี้ยนผี

4.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผี ได้แก่ ใบ ลำต้น ฝัก และราก ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยในการวิเคราะห์ใช้สารมาตรฐานคือกรดแกลลิก และแบลงค์คือเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ วัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก พบว่าสารสกัดหยาบจากใบของผักเสี้ยนผีมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากส่วนอื่น คือ 10.40 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากฝัก ลำต้นและราก โดยมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด คือ 8.54, 5.62 และ 4.50 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งแสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของผักเสี้ยนผี

สารสกัดหยาบผักเสี้ยนผี	Total phenolic content	
	mgGAE/g dry weight	mgGAE/g สารสกัด
ใบ	10.40	0.0922
ลำต้น	5.62	0.0876
ฝัก	8.54	0.0895
ราก	4.50	0.0873

ในปี 2011 Prakash และคณะ ได้ทำการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากใบและลำต้นของผักเสี้ยนผีในเมทานอล พบว่าใบของผักเสี้ยนผีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าในสารสกัดหยาบจากลำต้นคือมีปริมาณ 66.38 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง และ 58.46 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ซึ่งให้ผลการทดลองไปในทางเดียวกันกับการทดลองนี้ แต่ปริมาณที่ได้แตกต่างกันมากเนื่องจากการทดลองของ Prakash และคณะ ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity)

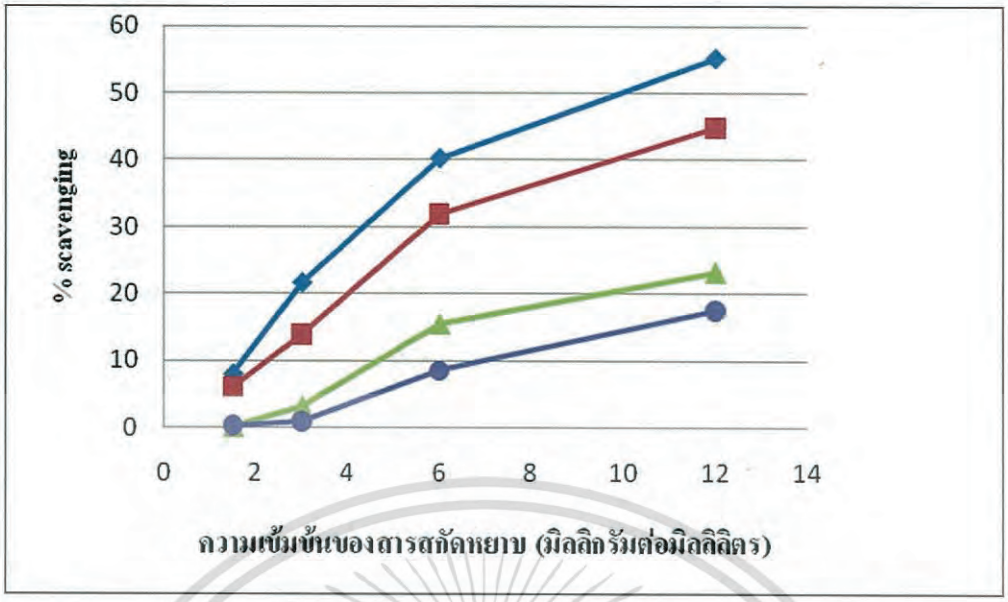
เมื่อนำสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผี ทั้ง 4 ส่วนได้แก่ ใบ ลำต้น ฝัก และราก ที่ทำการสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มาศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging method) ในการวิเคราะห์ สารต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชเป็นสารที่มีความเสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้ ซึ่งสารสกัดหยาบที่ใช้สำหรับทดสอบจะกำจัดสารอนุมูลอิสระดังกล่าวโดยการให้ไฮโดรเจน แล้วจึงนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จากการวัดการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายจากสีม่วงเป็นสีเหลือง จากตารางที่ 4.6 พบว่าสารสกัดทุกส่วนของผักเสี้ยนผีที่ความเข้มข้นสูงสุด คือ 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจะลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัดที่ลดลง โดยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับตาราง ค-1 เมื่อพิจารณาแต่ละความเข้มข้นพบว่า ในทุกความเข้มข้นสารกัดหยาบจากใบของผักเสี้ยนผีมีร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบจาก ลำต้น ฝัก และรากของผักเสี้ยนผี ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ยกเว้นที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากรากจะมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดหยาบจากฝัก สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นตัวควบคุมเชิงบวกคืออัลฟ่าโทโคฟีรอล (วิตามินอี) ความเข้มข้น 500 มิลลิโมลาร์ มีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 91.13 โดยสารสกัดหยาบจากทุกส่วนของผักเสี้ยนผี มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าตัวควบคุมเชิงบวก เมื่อพิจารณาจากค่า IC_{50} ซึ่งคือความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด ดังนั้นหากสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมาก ค่า IC_{50} จะมีค่าน้อย โดยจากการศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากใบของผักเสี้ยนผีมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ซึ่งค่า IC_{50} คือ 8.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ ลำต้น ฝัก และราก มีค่า IC_{50} คือ 12.26, 21.62 และ 35.99 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังตาราง และภาพที่ 4.7

ตารางที่ 4.6 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ลำต้น ฝัก และราก

ร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ				
ความเข้มข้น(mg/ml)	ใบ	ลำต้น	ฝัก	ราก
12	55.14^{a} ±1.06	44.82^{a} ±0.68	23.16^{a} ±2.36	17.56^{a} ±0.31
6	40.21^{b} ±0.84	31.86^{b} ±0.13	15.42^{b} ±0.59	8.58^{b} ±0.14
3	21.63^{c} ±0.34	13.95^{c} ±0.32	3.15^{c} ±2.51	1.01^{c} ±0.72
1.5	7.96^{d} ±1.40	6.11^{d} ±0.38	0.08^{d} ±0.05	0.29^{d} ±0.24
α– Tocopheral	91.13			

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.7 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆจากผักเสี้ยนผี

หมายเหตุ : สารสกัดจากใบของผักเสี้ยนผี : สารสกัดจากฝักของผักเสี้ยนผี
: สารสกัดจากลำต้นของผักเสี้ยนผี : สารสกัดจากรากของผักเสี้ยนผี

ตารางที่ 4.7 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด (IC_{50}) ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ลำต้น ฝัก และรากของผักเสี้ยนผี

สารสกัดหยาบผักเสี้ยนผี	IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ใบ	8.32
ลำต้น	12.26
ฝัก	21.62
ราก	35.99

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Prakash และคณะในปี 2011 ด้วยสารสกัดหยาบจากใบและลำต้นของผักเสี้ยนผีที่สกัดด้วยเมทานอล พบว่าสารรสกัดหยาบจากส่วนใบมีค่า IC_{50} เท่ากับ 373.18 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และส่วนลำต้นมีค่า 511.10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งค่าที่ได้มีฤทธิ์ต่ำกว่าการทดลองในครั้งนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ลำต้น ฝัก และราก ของผักเสี้ยนผีที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำสารสกัดหยาบมาทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยทำการทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นซึ่งใช้สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรกับเชื้อจุลินทรีย์ 6 ชนิด ได้แก่ *Streptococcus epidermidis* ATCC 1228, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* DMST 4212 และ *Salmonella typhimurium* TISTR 5562 พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ 3 ชนิด ได้แก่ *S. epidermidis*, *S. aureus* และ *B. subtilis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก จึงนำมาทำการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำที่สุด (MIC ; Minimal Inhibitory Concentration) ที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว พบว่าสารสกัดหยาบจากใบของผักเสี้ยนผีสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ *S. epidermidis* และ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่ำสุด คือ 0.3906, 0.78125 และ 1.5625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการทดสอบสารสกัดหยาบกับเชื้อจุลินทรีย์ *P. aeruginosa*, *E.coli* และ *S. typhimurium* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ พบว่าเมื่อปรับความเข้มข้นสูงสุดเป็น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญ เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีองค์ประกอบของผนังเซลล์ด้านนอกที่เรียกว่า outer membrane และมีโปรตีน Porin ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ที่ไม่พบในแบคทีเรียแกรมบวก ทำให้แบคทีเรียแกรมลบมีบทบาทในการควบคุมการผ่านเข้าและออกของสารต่างๆ เซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบจึงสามารถทนต่อการทำลายจากยาปฏิชีวนะและสารต่างๆ ได้

จากการศึกษาและวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยใช้สารละลาย Folin-Ciocalte's reagent ของสารสกัดหยาบทั้งสี่ส่วน ได้แก่ ใบ ลำต้น ฝัก และราก จากผักเสี้ยนผี ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยในการวิเคราะห์ใช้สารมาตรฐานคือกรดแกลลิก สามารถสรุปได้ว่าสารสกัดหยาบจากใบของผักเสี้ยนผีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบที่ได้จากส่วนอื่น เท่ากับ 10.40 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ 0.0922 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity) พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนใบของผักเสี้ยนผี มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ 8.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยค่า IC_{50} (Inhibitory Concentration) คือความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด ดังนั้นถ้าหากสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมาก ค่า IC_{50} จะมีค่าน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ทดลองโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในการสกัดส่วนต่างๆ ของพืช โดยที่ตัวทำละลายแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการสกัดชนิดของสารพฤกษเคมีในพืชได้ต่างกัน

2. ควรทดสอบชนิดของสารพฤกษเคมีที่มีในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของพืชเพิ่มเติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนิษฐา ขันฮะ, จิราพร พันธ์อิ่ม และ จุฑาทิพย์ จิตรเอียด, 2551. กิจกรรมการต้านอนุมูลและการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านไทย. สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

กัมปนาท สุขนิตย์, 2553. กิจกรรมต้านออกซิเดชันและปริมาณสารต้านออกซิเดชันบางชนิดในเมล็ดถั่วเหลือง (*Glycine max* L.) ที่กำลังงอก. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เจนจิรา จิรัมย์ และ ประสงค์ สีหานาม, 2554. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์, 1(1), 59-67.

ณภัค ว่องชิงชัย, เมธิน ใจเกื้อ และศิริพร มอญแก้ว, 2552. ความเป็นพิษของสารกัดหยาบว่านหางจรเข้ที่มีต่อเซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ และเซลล์ไลน์ของไตลิงแอฟริกัน. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สาขาเทตโนโลยีชีวภาพ

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ รศ.ปรีชา สุวรรณพินิจ, 2543. จุลชีววิทยาทั่วไป. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ

บังอร วงศรักษ์ , ศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ , 2549 . ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน. โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล พ.ศ. 2549

ประไพรัตน์ สีพลไกร, 2555. สารอินโดลอัลคาลอยด์และฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นพญาสัตบรรณ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 14(1), 54-64.

พัชราภรณ์ จันทะโสม และ วีระชัย สุขเมฆ, 2553. ฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์และฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระจากเห็ดบางชนิด.สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

พจนานุกรม ฉบับราชบัณฑิตยสถาน พ.ศ. 2525 กรุงเทพ : นานมีบุ๊คพับบลิเคชันส์. หน้า 209

มาลิน จุลศิริ, 2540. ยาต้านจุลชีพ. กรุงเทพมหานคร: สถาบันพัฒนาการสาธารณสุขอาเซียน.

รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547, การทดสอบและการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร, สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ

รัชนี ไสยประจง, 2548. ความสามารถในการต้านจุลินทรีย์และต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร และการจัดการธุรกิจอาหาร

ศนิดา คูนพานิช. 2549, ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันและคุณภาพของสารสกัดจากเปลือกของผลมังคุด *Garcinia mangostana*.2549 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สงกรานต์ เรือนคำ, 2552. ผลของกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนต่อสารแอนติออกวิแดนต์ ของผลหม่อนเชื่อมในขวดบรรจุ. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สมหมาย กระจ่างลิขิต และคณะ. รายงานการวิจัยเรื่อง พืชสมุนไพรบำบัดพิษสัตว์. โครงการวิจัยสวนสมุนไพรภาคใต้ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ วิทยาเขตภาคใต้

สุธินี แต้โสตถิกุล. 2555. อีโคไล (*E. coli*) แบคทีเรียร้ายที่มาพร้อมอาหาร. (online) Available : http://www.vcharkarn.com/varticle/44027 (สืบค้นวันที่10/4/2556)

สุรเกียรติ อาชานานุภาพ, 1994. ปวดหู หูชั้นกลาง อักเสบเฉียบหลัน นิตยสารหมอชาวบ้าน เล่มที่: 178. กุมภาพันธ์ 1994

อนันต์ สกุลกิม, 2551. อนุมูลอิสระสารอันตรายต่อสุขภาพและร่างกาย. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์, 8(1): 28-33.

Aqwartney. 2012. Phage therapy can combat Pseudomonas infections in CF patients. (online) Available : http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=8555 (สืบค้นวันที่8/4/2556)

Brand-W, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel Wissenschaftund Technologie Vol. 28: 25–30.

Jane, R. and Patil, S., 2012. *Cleome viscosa* : An effective medicinal herb for otiis media, Department of Microbiology, Shrishivaji Science College, Amaravati 444603, M.S., INDIA I.J.S.N., Vol. 3(1) : 153-158

Kenneth Todar. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Disease. (online) Available : http://www.textbookofbacteriology.net/staph.html (สืบค้นวันที่8/4/2556)

Mark P., 1996. Antioxidants, clinical nutrition insignhts. Advanced Nutrition Publications, Inc., Vol. 1 : 96-98

Maria K et al., 2010 Evaluation of antioxidant activity of medicinal plants constaining polyphenol compound. Comperison of two extraction

Natural Resource Conservation Service (NRCS) ; USDA. *Cleome viscosa* L. Asian spiderflower. (online) Available : http://www.plants.usda.gov/java/profile?symbol=Clvi9 (สืบค้นวันที่8/4/2556)

Prakash C. G, Nisha S , Ch.V. R , 2011. Comparison of the antioxidant activity and total phenolic, flavonoid content of aerial part of Cleome viscose L. International Journal of \Phytomedicine Vol. 3 : 386-391

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rauha J, Remes S, Heinonen M, Hopia A, Kahaonen M, Kujala T, 2000. Antimicrobial effects of finished plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. International Journal of Food microbial Vol. 1 : 3-12

Ravindra G., 2010. *Cleome viscosa* (wild mustard): A review on ethnobotany, phytochemistry, and pharmacology., Vol. 48 : 105-112.

Saradha J. and Subba R., 2010. In vitro antimicrobial activity of Cleome viscose LINN. Department of Botany, Andhra University, Visakhapatnam . India. Vol. 1 : 89-95

Singleton, V.L., Ingleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M. (1999) : Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods Enzymol. Vol. 3 : 152-178.

Uptal B, Vaskor B, Tarak N, Karhikeyan G, Ahmed A R., 2011. Antinociceptive, cytotoxic and antibacterial activities of Cleome viscose leaves . Vol. 21

(online) Available : http://www.cjp-scientific.com/index.php?mo=30&cid=172991 (สืบค้นวันที่ 8/4/2556)

(online) Available: http://www.dwb4.unl.edu /Page5.html (สืบค้นวันที่8/4/2556)

(online) Available : http://www.flickr.com/photos/eddingrid/8177667647/ (สืบค้นวันที่ 8/4/2556)

(online) Available: http://www.mol-biol4masters.masters.grkraj.org/html/Gene_Expression_I5G- (สืบค้นวันที่8/4/2556)

(online) Available : http://www.niaid.nih.gov/labsandresources/labs/aboutlabs/lhbp (สืบค้นวันที่ 8/4/2556)

(online) Available : http://www.Regulation_of_Gene_Expression_During_Sporulation.htm (สืบค้นวันที่ 10/4/2556)

(online) Available : http://www.salmonellatyphi.org/ (สืบค้นวันที่8/4/2556)

(online) Available : http://www.siamhealth.net/public_html/Disease/cancer/breast/breast.html#.UmLeE3DKd_4 (สืบค้นวันที่14/4/2556)

(online) Available : http://www.stainedcells.tripod.com/cells/index.album/mcf7-cells?i=0&s=1 (สืบค้นวันที่ 14/4/2556)

(online) Available : http://www.teainstitutemfu.com/article/chemistry.html (สืบค้นวันที่ 8/4/2556)

(online) Available : http://www.39kf.com/cooperate/qk/American-Society-for-Nutrition/048001/2008-12-28-551377.shtml (สืบค้นวันที่8/4/2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
ข้อมูลการเตรียมสาร

สูตรอาหาร Nutrient agar, NA

Beef extract	3.00	กรัม
Peptone	5.00	กรัม
NaCl	15.00	กรัม
Agar	15.00	กรัม
Distilled Water	1000.00	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. ชั่งสารตามปริมาตรอาหารที่ต้องการ
2. ละลายส่วนประกอบต่างๆ ในน้ำกลั่น 300 มล. โดยให้ละลายวุ้นก่อนแล้วจึงใส่ส่วนประกอบอื่นๆคนให้ละลาย แล้วต้มจนกระทั่งส่วนประกอบต่างๆ ละลายเป็นเนื้อ เดียวกัน
3. เมื่อเตรียมอาหารเสร็จแล้ว ให้นำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในหม้อ autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15นาที

สูตรอาหาร Mueller Hitton Agar (MHA)

Mueller Hitton Agar (MHA) เป็นอาหารสำเร็จรูป ปริมาตรที่ใช้คือ 38 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ประกอบด้วย

Beef , infusion form	300	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Casein acid hydrolysate	17.5	กรัม
Agar	17	กรัม
Distilled Water	1	กรัม

ปรับ pH 7.3 ± 0.2

เตรียมโดยทำการชั่งอาหาร 38 กรัม ละลายในน้ำกลั่นโดยปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายมาตรฐาน McFarland No.5 (CLSI, 2006)

0.048 M $BaCl_2$	0.5	มิลลิลิตร
0.18 M H_2SO_4	99.5	มิลลิลิตร

สารละลายมาตรฐาน McFarland No.5 สามารถเตรียมได้โดยใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 9.5 มิลลิลิตร ผสมกับแบเรียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. กรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1เตรียมโดยการเติมน้ำใส่ขวดปรับปริมาตร เ ล็ ก น้ อ ย ประมาณ 20-30 มิลลิลิตรปิเปตกรดซัลฟิวริกเข้มข้นลงไปปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2. แบเรียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 เตรียมโดยชั่งแบเรียมคลอไรด์ 1.00 กรัม ละลาย ในน้ำปริมาตร 20-30 มิลลิลิตร เทลงในขวดปรับปริมาตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3. จากนั้นค่อยนำสารทั้งสองที่เตรียมมาผสมกันโดยแมคฟาแลนนั้นจะต้องเตรียม ใ ส่ หลอดแก้ว ฝาเกลียว

หมายเหตุ : เตรียมเสร็จแล้วให้พันหลอดฝาเกลียวด้วยพาราฟิล์ม เก็บให้พ้นแสงหากเก็บไว้นาน แบเรียมคลอไรด์จะตกตะกอน ให้นำมาวอเท็กซ์ก่อน เมื่อนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร จะได้เท่ากับ 0.08-0.13 สามารถเก็บไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
ข้อมูลการเตรียมสารและกราฟมาตรฐาน

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic)

การวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารประกอบ ฟีนอลิกมาตรฐาน โดยมีหลักการ คือ สารประกอบฟีนอลิกจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถติดตามโดยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

1. สารเคมี

1.1Folin-Ciocalteu reagent

1.2โซเดียมคาร์บอเนต (NaCO3) ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซนต์

1.3สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น

2. การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้นเริ่มต้น 10 ไมโครกรัมต่อ มิลลิลิตร

2.2 นำมาเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1 0.1 0.01 และ 0.001 มิลลิกรัม ต่ อ มิลลิลิตร ตามลำดับ

2.3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆใส่ลงใน well plateปริมาตร 20 ไมโครลิตร

2.4 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

2.5 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

2.6 นำมาตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

2.7 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณแกลลิกใน ห น่ ว ย ไมโครกรัม

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

3.1 เตรียมสารสกัดหยาบให้ได้ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2 ปิเปตสารสกัดปริมาตร 20 ไมโครกรัมใส่ลงในหลุม well plate

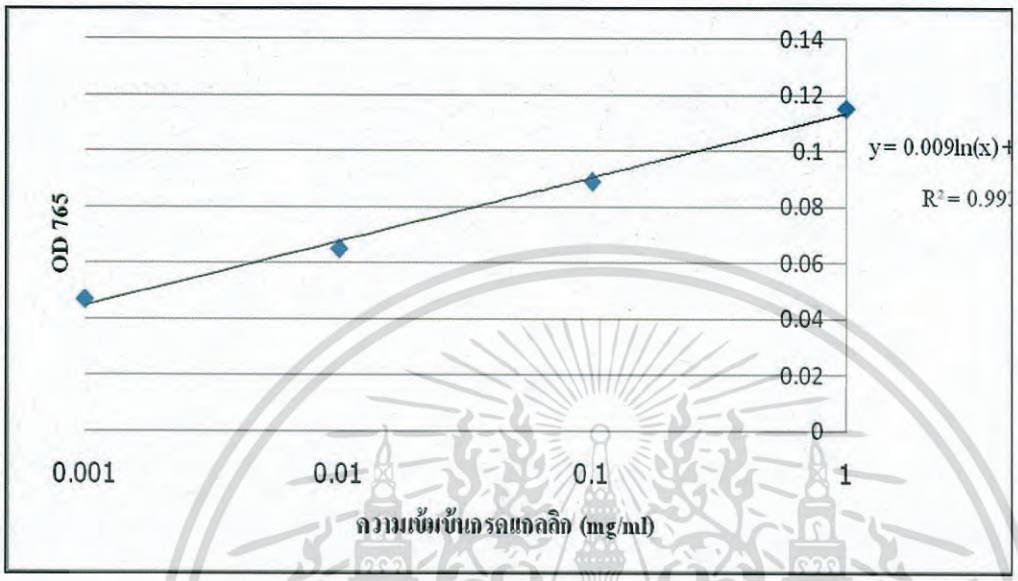
3.3 ปิเปตสารละลายกรดแกลลิก ที่ความเข้มข้น 10 2 2.5 1.25 0.625 และ 0.3125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.4 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ความเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ ลงในแต่ละหลุม well plate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 เติม Folin-Ciocalteu'sresgent ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุม well plate

3.6 บ่มเป็นเวลา 30 นาที และนำมาตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร



ภาพที่ ข-1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

การวิเคราะห์ DPPH Radical Scavenging Assay

1. **การเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ DPPH Radical Scavenging Assay**

1.1 เตรียมสารละลายตัวอย่างในเอทานอล 4 ชนิด ได้แก่ ใบ ลำต้น ฝัก และรากของผักเสี้ยนผี

1.2 เตรียมหลอด eppendrof ขนาด 1.5 มิลลิลิตรจำนวน 10 หลอด โดยเตรียมเอทานอลปริมาตร 1 มิลลิลิตร จำนวน 1 หลอด และปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรในหลอดที่เหลือทั้ง 9 หลอด

1.3 ทำการระบุความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดหยาบผักเสี้ยนผี และนำมาเจือจางโดยลดความเข้มข้นลงทีละครึ่งหรือวิธี two-fold dilutionจนได้เป็น 3 condition ดังต่อไปนี้

ชุดที่ 1 - สารละลายเข้มข้น 12, 6, 3 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ชุดที่ 2 - สารละลายเข้มข้น 10, 5 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ชุดที่ 3 - สารละลายเข้มข้น 8, 4 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การเตรียมสารละลาย DPPH ใน Absolute Ethanol

โดยการชั่ง DPPH 0.039 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายความเข้มข้น DPPH 1000 ไมโครโมล นำมาเจือจางเพื่อลดความเข้มข้นลงครึ่งหนึ่ง โดยใช้ปิเปตดู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมลงในAbsolute Ethanol ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 500 ไมโครโมล

หมายเหตุ : 1. ควรเตรียมสารละลาย DPPH ทันทีก่อนนำไปใช้

2. การคำนวณความเข้มข้นของ DPPH (น้ำหนักโมเลกุลของ DPPH = 394.33)

น้ำหนักสาร (กรัม) = $1x10^{-4}$ โมลต่อลิตร x 394.33 กรัมต่อโมล

= 0.039 กรัมต่อลิตร

3. การเตรียมสารละลายวิตามินอี (Alpha-tocopherol)

เตรียมสารละลายวิตามินอี หรือ Alpha-tocopherolความเข้มข้น 500 ไมโครโมล โดยทำการชั่งวิตามินอี 0.0043 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ผลการทดลอง

1.การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการต้านเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี Agar well diffusion

ตารางที่ ค-1 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งในการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบผักเสี้ยนผีเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
S.aureus	ใบ	13.45	13.03	13.15	13.21
	ลำต้น	10.05	8.38	8.92	9.11
	ฝัก	13.28	13.92	11.36	12.85
	ราก	9.24	9.73	9.57	9.51
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนต้ามิซิน	16.39	15.82	16.49	16.23
E.coli	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ลำต้น	6.00	6.00	6.00	6.00
	ฝัก	6.00	6.00	6.00	6.00
	ราก	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนต้ามิซิน	13.63	13.24	13.27	13.38
S.epidermidis	ใบ	15.32	14.61	15.21	15.05
	ลำต้น	9.52	9.69	9.84	9.68
	ฝัก	8.38	8.15	8.05	8.19
	ราก	8.52	8.10	8.05	8.22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-1 (ต่อ) เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งในการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบผักเสี้ยนผีเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
S.epidermidis	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะเจนต้ามิซิน	19.15	20.18	19.83	19.72
S.typhimurium	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ลำต้น	6.00	6.00	6.00	6.00
	ฝัก	6.00	6.00	6.00	6.00
	ราก	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะเจนต้ามิซิน	15.27	15.18	16.03	15.49
B.subtilis	ใบ	15.46	16.27	16.38	16.04
	ลำต้น	13.53	13.78	12.47	13.26
	ฝัก	18.25	18.63	19.18	18.69
	ราก	13.62	14.01	15.29	14.31
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะเจนต้ามิซิน	19.72	18.25	18.36	18.78
P.aeruginosa	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ลำต้น	6.00	6.00	6.00	6.00
	ฝัก	6.00	6.00	6.00	6.00
	ราก	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะเจนต้ามิซิน	15.29	14.81	14.03	14.71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-2 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งในการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบผักเสี้ยนผีเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
E.coli	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ลำต้น	6.00	6.00	6.00	6.00
	ฝัก	6.00	6.00	6.00	6.00
	ราก	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะเจนต้ามิซิน	14.20	13.92	13.40	13.84
S.typhimurium	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ลำต้น	6.00	6.00	6.00	6.00
	ฝัก	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะเจนต้ามิซิน	14.40	15.24	15.02	13.84
P.aeruginosa	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ลำต้น	6.00	6.00	6.00	6.00
	ฝัก	6.00	6.00	6.00	6.00
	ราก	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะเจนต้ามิซิน	14.00	15.22	13.27	14.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-3 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งในการทดสอบเพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผี

4.1 *S .epidermidis*

ส่วน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	โซนยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
ใบ	25	14.25	14.00	13.74	14.00
	12.5	13.09	12.50	12.84	12.81
	6.25	12.28	11.88	11.56	11.91
	3.125	10.55	10.28	10.67	10.49
	1.5625	9.10	8.92	8.51	8.84
	0.7812	7.54	7.25	7.00	7.26
ลำต้น	25	7.59	8.45	8.61	8.22
	12.5	6.00	7.30	7.09	6.80
	6.25	6.00	6.00	6.00	6.00
ฝัก	25	7.45	8.22	7.79	7.82
	12.5	7.05	6.89	6.00	6.65
ราก	25	6.00	6.00	6.00	6.00
	12.5	6.00	6.00	6.00	6.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 *B. subtilis*

ส่วน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	โซนยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
ใบ	25	14.65	15.37	15.29	15.10
	12.5	12.90	12.88	13.50	13.10
	6.25	11.38	11.45	11.50	11.44
	3.125	9.36	9.15	10.00	9.50
	1.5625	11.51	9.09	9.34	9.98
	0.78125	7.06	7.28	7.05	7.13
	0.3906	6.51	6.00	6.90	6.47
ลำต้น	25	10.76	12.34	12.34	11.85
	12.5	9.45	10.59	10.59	10.42
	6.25	8.58	9.00	9.00	9.26
	3.125	7.07	8.35	8.35	7.82
	1.5625	6.87	7.30	7.30	7.20
	0.78125	6.00	6.00	6.00	6.00
ฝัก	25	17.39	17.55	17.55	17.50
	12.5	16.28	15.88	17.20	16.44
	6.25	13.29	13.97	15.11	14.12
	3.125	11.94	11.27	10.76	11.32
	1.5625	9.03	9.23	9.68	9.31
	0.78125	7.44	6.00	7.10	6.85
ราก	25	11.84	11.20	12.38	11.81
	12.5	9.73	9.77	9.20	9.56
	6.25	8.33	8.00	7.90	8.08
	3.125	7.80	7.32	7.22	7.45
	1.5625	6.00	6.00	6.00	6.00
	0.78125	6.00	6.00	6.00	6.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 *S. aureus*

ส่วน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	โซนยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
ใบ	25	11.42	12.14	12.53	12.03
	12.5	10.32	11.02	11.73	11.02
	6.25	9.35	10.63	9.82	9.93
	3.125	8.45	9.03	9.73	9.07
	1.5625	8.28	7.19	7.37	7.61
	0.78125	6.00	6.00	6.00	6.00
ลำต้น	25	7.93	8.22	8.37	8.17
	12.5	7.43	7.18	6.00	6.87
	6.25	6.00	6.00	6.00	6.00
ฝัก	25	11.83	12.63	11.72	12.06
	12.5	10.54	10.72	9.61	10.29
	6.25	7.83	7.93	7.51	7.75
	3.125	6.00	6.00	6.00	6.00
ราก	25	8.72	9.18	8.38	8.76
	12.5	7.02	7.26	7.18	7.15
	6.25	6.00	6.00	6.00	6.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผี

ตารางที่ ค-4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

ความเข้มข้นกรดแกลลิก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร			ค่าดูดกลืนแสง
10	5.810	5.752	5.652	5.738
1	0.121	0.109	0.115	0.115
0.1	0.092	0.095	0.080	0.089
0.01	0.071	0.063	0.061	0.065
0.001	0.045	0.049	0.049	0.047

ตารางที่ ค-5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบจากผักเสี้ยนผีในแต่ละความเข้มข้น

สารสกัดหยาบ	ค่าดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร				ค่าดูดกลืนแสง เฉลี่ย	ปริมาณฟีนอลลิก
ใบ	0.115	0.124	0.118	0.119	0.120	0.0922
ลำต้น	0.071	0.077	0.088	0.069	0.075	0.0876
ฝัก	0.090	0.091	0.094	0.095	0.091	0.0895
ราก	0.075	0.073	0.072	0.076	0.073	0.0873

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของผักเสี้ยนผี

ตารางที่ ค-6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของสารสกัดผักเสี้ยนผีส่วนใบ ลำต้น ฝัก และราก ที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัดหยาบ	ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร									
	12	6	3	1.5	10	5	2.5	8	4	2
ใบ	0.534	0.712	0.928	1.102	0.586	0.782	0.968	0.667	0.887	1.024
	0.521	0.721	0.936	1.107	0.574	0.764	0.939	0.634	0.866	1.029
	0.546	0.701	0.933	1.076	0.569	0.766	0.968	0.621	0.848	1.030
ลำต้น	0.665	0.811	1.021	1.121	0.761	0.896	1.065	0.801	0.922	1.112
	0.649	0.812	1.022	1.112	0.774	0.902	1.065	0.811	0.925	1.181
	0.664	0.809	1.028	1.118	0.767	0.889	1.052	0.782	0.908	1.121
ราก	0.868	0.936	1.102	1.105	0.877	0.971	1.098	0.901	0.989	1.102
	0.862	0.942	1.064	1.106	0.896	0.964	1.064	0.909	0.991	1.096
	0.820	0.929	1.048	1.105	0.857	0.966	1.077	0.896	1.103	1.102
ฝัก	0.914	1.011	1.101	1.104	0.956	1.106	1.101	0.988	1.103	1.102
	0.908	1.010	1.098	1.101	0.961	1.038	1.104	0.992	1.096	1.101
	0.914	1.013	1.086	1.012	0.959	1.049	1.096	0.994	1.080	1.106

ตารางที่ ค-7 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของหลุมควบคุม 1

ค่าดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม 1			
1.181	1.194	1.183	1.200
1.181	1.193	1.201	1.181
1.200	1.175	1.194	1.194

ค่าเฉลี่ยหลุมควบคุม 1= 1.1898

ตารางที่ ค-8 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของหลุมควบคุม 2

ค่าดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม 2			
1.171	1.096	1.093	1.079
1.154	1.108	1.053	1.070
1.047	1.096	1.171	1.138

ค่าเฉลี่ยหลุมควบคุม 2 = 1.1063

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-9 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของวิตามินอี

วิตามินอี	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4
วิตามินอี เพลท 1	0.106	0.035	0.112	0.103
วิตามินอี เพลท 2	0.118	0.111	0.112	0.113

ตารางที่ ค-10 ค่าร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของวิตามินอี

วิตามินอี	ร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ				
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	เฉลี่ย
วิตามินอี 1	91.09	97.05	90.58	91.34	92.51
วิตามิน 2	89.33	89.96	89.87	89.78	89.73

% scavenging = [(A control – A sample) / A control] X 100

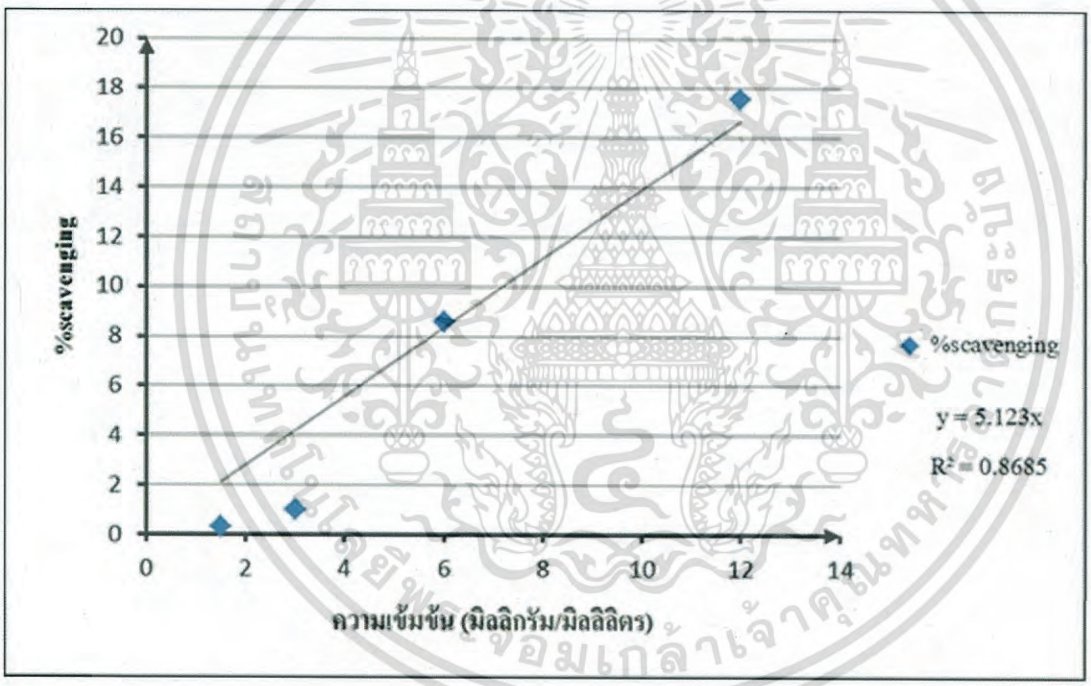
ตารางที่ ค-11 ค่าร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดส่วนใบ ลำต้น ฝักและรากของผักเสี้ยนผีที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัดหยาบ	ร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ									
	12	6	3	1.5	10	5	2.5	8	4	2
ใบ	55.11	40.15	22.00	7.37	50.74	34.27	18.64	43.94	25.44	13.59
	56.21	39.40	21.33	6.95	51.75	35.78	21.07	46.71	27.21	13.51
	54.10	41.08	21.58	9.56	52.17	35.61	18.64	47.80	28.72	13.43
ลำต้น	44.10	31.83	14.18	5.78	36.03	24.69	10.48	32.67	22.50	6.53
	45.45	31.75	14.10	6.53	34.94	24.18	10.48	31.83	22.17	6.62
	44.91	32.00	13.59	6.03	35.53	25.28	11.58	34.27	23.68	5.78
ฝัก	21.54	15.39	0.38	0.11	20.72	12.23	0.75	18.55	10.60	0.38
	22.08	14.85	3.82	0.02	27.14	12.86	3.82	17.83	11.77	0.29
	25.87	16.02	5.26	0.11	22.53	12.68	2.64	19.00	10.42	0.93
ราก	17.38	8.61	0.47	0.02	13.58	4.18	0.47	10.69	0.28	0.38
	17.92	8.70	0.75	0.47	13.13	6.17	0.20	10.33	0.93	0.47
	17.38	8.43	1.83	0.38	13.31	5.17	0.93	10.15	2.37	0.27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

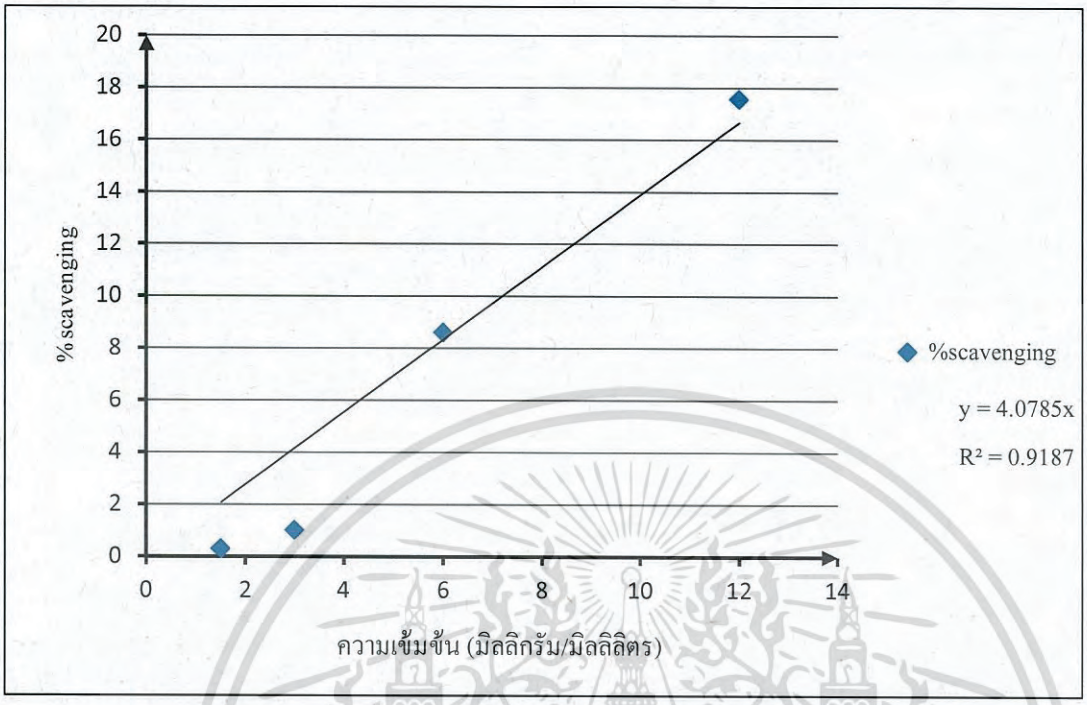
ตารางที่ ค-12 ค่าเฉลี่ยร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดส่วนใบ ลำต้น ฝักและรากของผักเสี้ยนผีที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัดหยาบ	ร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ									
	12	6	3	1.5	10	5	2.5	8	4	2
ใบ	55.14	40.21	21.63	7.96	51.55	35.22	19.45	46.15	27.12	13.51
ลำต้น	44.82	31.86	13.95	6.11	35.5	24.71	10.51	32.92	22.78	6.31
ฝัก	23.16	15.42	3.15	0.08	23.46	12.59	2.40	18.46	10.93	0.53
ราก	17.56	8.58	1.01	0.29	13.34	5.17	0.53	10.39	1.19	0.37

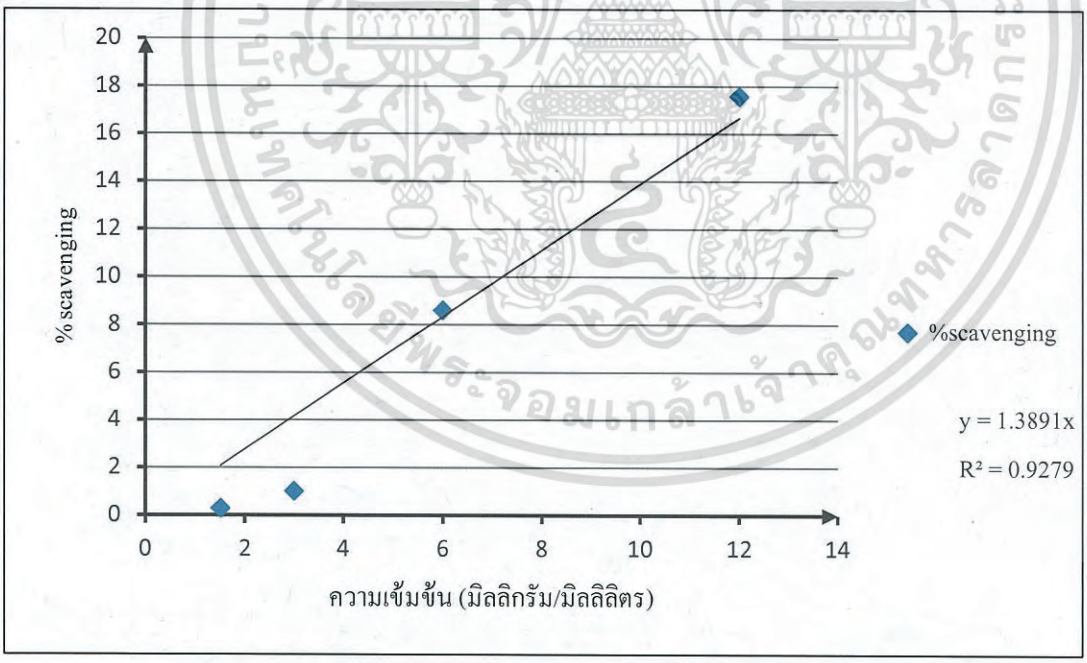


ภาพที่ ค-1 กราฟแสดงกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักเสี้ยนผีส่วนใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

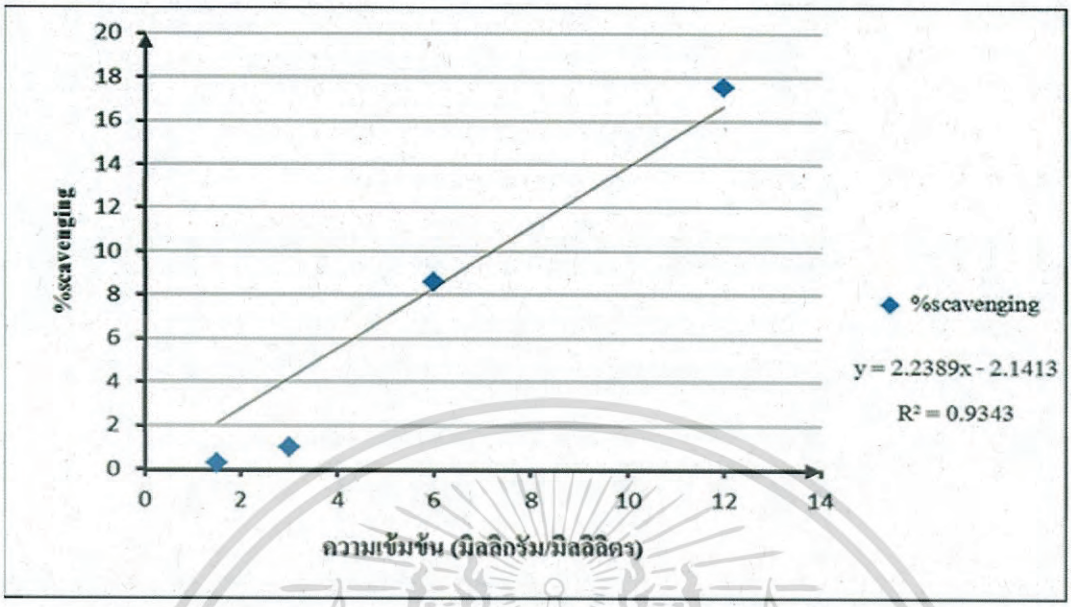


ภาพที่ ค-2 กราฟแสดงกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักเสี้ยนผีส่วนลำต้น



ภาพที่ ค-3 กราฟแสดงกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักเสี้ยนผีส่วนฝัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค-4 กราฟแสดงกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักเสี้ยนผีส่วนราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ตารางที่ ง-1 การวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนใบที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

1.1 เชื้อ *Streptococcus epidermidis*

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
25	3	13.9967	.25502	.14723
12.5	3	12.8100	.29614	.17098
6.25	3	11.9067	.36074	.20827
3.125	3	10.5000	.19975	.11533
1.5625	3	8.8433	.30238	.17458
0.78125	3	7.2633	.27025	.15603
รวม	18	10.8867	2.38339	.56177

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	95.595	5	19.119	235.439	.000
Within Groups	.974	12	.081		
Total	96.569	17			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0.78125	3	7.2633					
1.5625	3		8.8433				
3.125	3			10.5000			
6.25	3				11.9067		
12.5	3					12.8100	
25	3						13.9967
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 เชื้อ *Staphylococcus aureus*

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
25	3	12.0300	.56312	.32512
12.5	3	11.0233	.70501	.40704
6.25	3	9.9333	.64748	.37382
3.125	3	9.0700	.64094	.37005
1.5625	3	7.6133	.58432	.33736
0.78125	3	6.000	.00000	.00000
รวม	18	9.2783	2.13924	.50422

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	73.825	5	14.765	44.617	.000
Within Groups	3.971	12	.331		
Total	77.798	17			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0.78125	3	6.000			
1.5625	3		7.6133		
3.125	3			9.0700	
6.25	3			9.9333	
12.5	3				11.0233
25	3				12.0300
Sig.		1.000	1.000	0.091	0.053

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 เชื้อ *Bacillus subtilis*

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
25	3	15.1033	.39463	.22784
12.5	3	13.0933	.35233	.20342
6.25	3	11.4433	.06028	.03480
3.125	3	9.5033	.44276	.25563
1.5625	3	9.9800	1.33090	.76840
0.78125	3	7.1300	.13000	.07506
0.3906	3	6.4700	.45133	.26058
รวม	21	10.3890	2.98066	.65043

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	172.744	6	28.791	81.546	.000
Within Groups	4.943	14	.353		
Total	177.687	20			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0.3906	3	6.4700				
0.78125	3	7.1300				
1.5625	3		9.5033			
3.125	3		9.9800			
6.25	3			11.4433		
12.5	3				13.0933	
25	3					15.1033
Sig.		.195	.343	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-2 การวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนลำต้นที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

2.1 เชื้อ *Streptococcus epidermidis*

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
25	3	8.2167	.54857	.31672
12.5	3	6.7967	.69788	.40292
6.25	3	6.0000	.00000	.00000
รวม	9	7.0044	1.06891	.35630

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.565	2	3.782	14.400	.005
Within Groups	1.576	6	.263		
Total	9.141	8			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
6.25	3	6.0000	
12.5	3	6.7967	
25	3		8.2167
Sig.		.106	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 เชื้อ *Staphylococcus aureus*

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
25	3	8.1733	.22368	.12914
12.5	3	6.8700	.76374	.44095
6.25	3	6.0000	.00000	.00000
รวม	9	7.0144	1.02747	.34249

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.179	2	3.589	17.003	.003
Within Groups	1.267	6	.211		
Total	8.446	8			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
6.25	3	6.0000	
12.5	3	6.8700	
25	3		8.1733
Sig.		.060	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 เชื้อ *Bacillus subtilis*

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
25	3	11.8133	.91221	.52667
12.5	3	10.2100	.65818	.38000
6.25	3	8.8600	.24249	.14000
3.125	3	7.9233	.73901	.42667
1.5625	3	7.1567	.24826	.14333
0.78125	3	6.0000	.00000	.00000
รวม	18	8.6606	2.03869	.48052

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	66.793	5	13.359	41.488	.000
Within Groups	3.864	12	.322		
Total	70.657	17			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0.78125	3	6.0000				
1.5625	3		7.1567			
3.125	3		7.9233			
6.25	3			8.8600		
12.5	3				10.2100	
25	3					11.8133
Sig.		1.000	.124	.066	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-3 การวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนฝักที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3.1 เชื้อ *Streptococcus epidermidis*

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
25	3	7.8200	.38588	.22279
12.5	3	6.6467	.56571	.32662
6.25	3	6.0000	.00000	.00000
รวม	9	6.2820	.77498	.31638

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.068	1	2.065	8.808	.041
Within Groups	.938	4	.224		
Total	3.003	5			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
6.25	3	6.0000	
12.5	3	6.6467	
25	3		7.8200
Sig.		.060	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 เชื้อ *Staphylococcus aureus*

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
25	3	12.0600	.49669	.28676
12.5	3	10.2900	.59573	.34395
6.25	3	7.7567	.21939	.12667
3.125	3	6.0000	.00000	.00000
รวม	12	9.0267	2.44971	.70717

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	64.712	3	21.571	132.797	.000
Within Groups	1.299	8	.162		
Total	66.012	11			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
3.125	3	6.0000			
6.25	3		7.7567		
12.5	3			10.2900	
25	3				12.0600
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 เชื้อ *Bacillus subtilis*

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
25	3	17.4967	.09238	.0533
12.5	3	16.4533	.67686	.39078
6.25	3	14.1233	.91964	.53095
3.125	3	11.3233	.59181	.34168
1.5625	3	9.3133	.33292	.19221
0.78125	3	6.8467	.75268	.43456
รวม	18	12.5928	3.94608	.93010

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	260.036	5	52.007	133.352	.000
Within Groups	4.680	12	.390		
Total	264.716	17			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0.78125	3	6.8467				
1.5625	3		9.3133			
3.125	3			11.3233		
6.25	3				14.1233	
12.5	3					16.4533
25	3					17.4967
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	.063

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-4 การวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนรากที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.1 เชื้อ *Staphylococcus aureus*

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
25	3	8.7600	.40150	.23180
12.5	3	7.1533	.12220	.07055
6.25	3	6.000	.00000	.00000
รวม	9	7.33044	1.21868	.40623

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11.539	2	5.765	98.185	.000
Within Groups	.352	6	.059		
Total	11.881	8			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
6.25	3	6.000		
12.5	3		7.1533	
25	3			8.7600
Sig.		1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 เชื้อ *Bacillus subtilis*

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
25	3	11.8067	.59071	.34104
12.5	3	9.5667	.31817	.18370
6.25	3	8.0767	.22502	.12991
3.125	3	7.4467	.31005	.17901
1.5625	3	6.0000	.00000	.00000
0.78125	3	6.0000	.00000	.00000
รวม	18	8.1494	2.12220	.50021

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	75.370	5	15.074	151.514	.000
Within Groups	1.194	12	.099		
Total	76.563	17			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0.78125	3	6.0000				
1.5625	3	6.0000				
3.125	3		7.4467			
6.25	3			8.0767		
12.5	3				9.5667	
25	3					11.8067
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 เชื้อ *Streptococcus epidermidis*

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
25	3	6.0000	.00000	.00000
12.5	3	6.0000	.00000	.00000
รวม	6	6.0000	.00000	.00000

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	1	.000	.	.
Within Groups	.000	4	.000		
Total	.000	5			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-5 การวิเคราะห์ค่าการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนใบ ลำต้น ฝัก และรากของผักเสี้ยนผี ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังต่อไปนี้

5.1 ความเข้มข้น 12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

สารสกัด	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
ใบ	3	55.1400	1.05532	.60929
ลำต้น	3	44.8200	.67949	.39230
ฝัก	3	23.1633	2.35954	1.36228
ราก	3	17.5600	.31177	.18000
รวม	12	35.1708	16.10496	4.64910

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2838.587	3	946.196	522.758	.000
Within Groups	14.480	8	1.810		
Total	2853.067	11			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

สารสกัด	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ราก	3	17.5600			
ฝัก	3		23.1633		
ลำต้น	3			44.8200	
ใบ	3				55.1400
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

สารสกัด	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
ใบ	3	40.2100	.84161	.48590
ลำต้น	3	31.8600	.12767	.07371
ฝัก	3	15.4200	.58558	.33808
ราก	3	8.5800	.13748	.07937
รวม	12	24.0175	13.17704	3.80388

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1907.806	3	635.935	2341.441	.000
Within Groups	2.173	8	.272		
Total	1909.979	11			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

สารสกัด	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
ราก	3	8.5800			
ฝัก	3		15.4200		
ลำต้น	3			31.8600	
ใบ	3				40.2100
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3 ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

สารสกัด	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
ใบ	3	21.6367	.33858	.19548
ลำต้น	3	13.9567	.32005	.18478
ฝัก	3	3.1533	2.50738	1.44763
ราก	3	1.0167	.71815	.41462
รวม	12	9.9408	8.79013	2.53749

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	865.891	3	278.630	158.770	.000
Within Groups	14.039	8	1.755		
Total	849.930	11			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

สารสกัด	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ราก	3	1.0167		
ฝัก	3	3.1533		
ลำต้น	3		13.9567	
ใบ	3			21.6367
Sig.		.084	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.4 ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

สารสกัด	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
ใบ	3	7.9600	1.40146	.80914
ลำต้น	3	6.1133	.38188	.22048
ฝัก	3	.0800	.05196	.03000
ราก	3	.2900	.23812	.13748
รวม	12	3.6108	3.69713	1.06727

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	146.017	3	48.672	89.746	.000
Within Groups	4.339	8	.542		
Total	150.356	11			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

สารสกัด	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ฝัก	3	.0800		
ราก	3	.2900		
ลำต้น	3		6.1133	
ใบ	3			7.9600
Sig.		.736	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง-6 การวิเคราะห์ค่าการต้านอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้นต่างๆของสารสกัดหยาบผักเสี้ยนผี

6.1 สารสกัดหยาบส่วนใบ

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
12	3	55.1400	1.05532	.60929
6	3	40.2100	.84161	.48590
3	3	21.6367	.33858	.19548
1.5	3	7.9600	1.40146	.80914
รวม	12	31.2367	18.74557	5.41138

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3857.560	3	1285.853	1318.576	.000
Within Groups	7.801	8	.975		
Total	3865.361	11			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1.5	3	7.9600			
3	3		21.6367		
6	3			40.2100	
12	3				55.1400
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.2 สารสกัดหยาบส่วนลำต้น

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
12	3	44.8200	.67949	.39230
6	3	31.8600	.12767	.07371
3	3	13.9567	.32005	.18478
1.5	3	6.1133	.38188	.22048
รวม	12	24.1875	15.80906	4.56368

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2747.768	3	915.913	5044.498	.000
Within Groups	1.453	8	.182		
Total	2479.191	11			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1.5	3	6.1133			
3	3		13.9567		
6	3			31.8600	
12	3				44.8200
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.3 สารสกัดหยาบส่วนฝัก

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
12	3	23.1633	2.35954	1.36228
6	3	15.4200	.58558	.33808
3	3	3.1533	2.50733	1.44763
1.5	3	.0800	.05196	.03000
รวม	12	10.4542	9.84297	2.84142

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1041.324	3	347.108	113.806	.000
Within Groups	24.400	8	3.050		
Total	1065.724	11			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1.5	3	.0800		
3	3	3.1533		
6	3		15.4200	
12	3			23.1633
Sig.		.063	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.4 สารสกัดหยาบส่วนราก

ตารางค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ความเข้มข้น	N	ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
12	3	17.5600	.31177	.18000
6	3	8.5800	.13748	.07937
3	3	1.0167	.71815	.41462
1.5	3	.2900	.23812	.13748
รวม	12	6.8617	7.29664	2.10636

ตาราง ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	584.247	3	194.758	1131.436	.000
Within Groups	1.377	8	.172		
Total	585.651	11			

ตารางแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของชุดข้อมูล

Duncan

ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1.5	3	.2900		
3	3	1.0167		
6	3		8.5800	
12	3			17.5600
Sig.		.064	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้