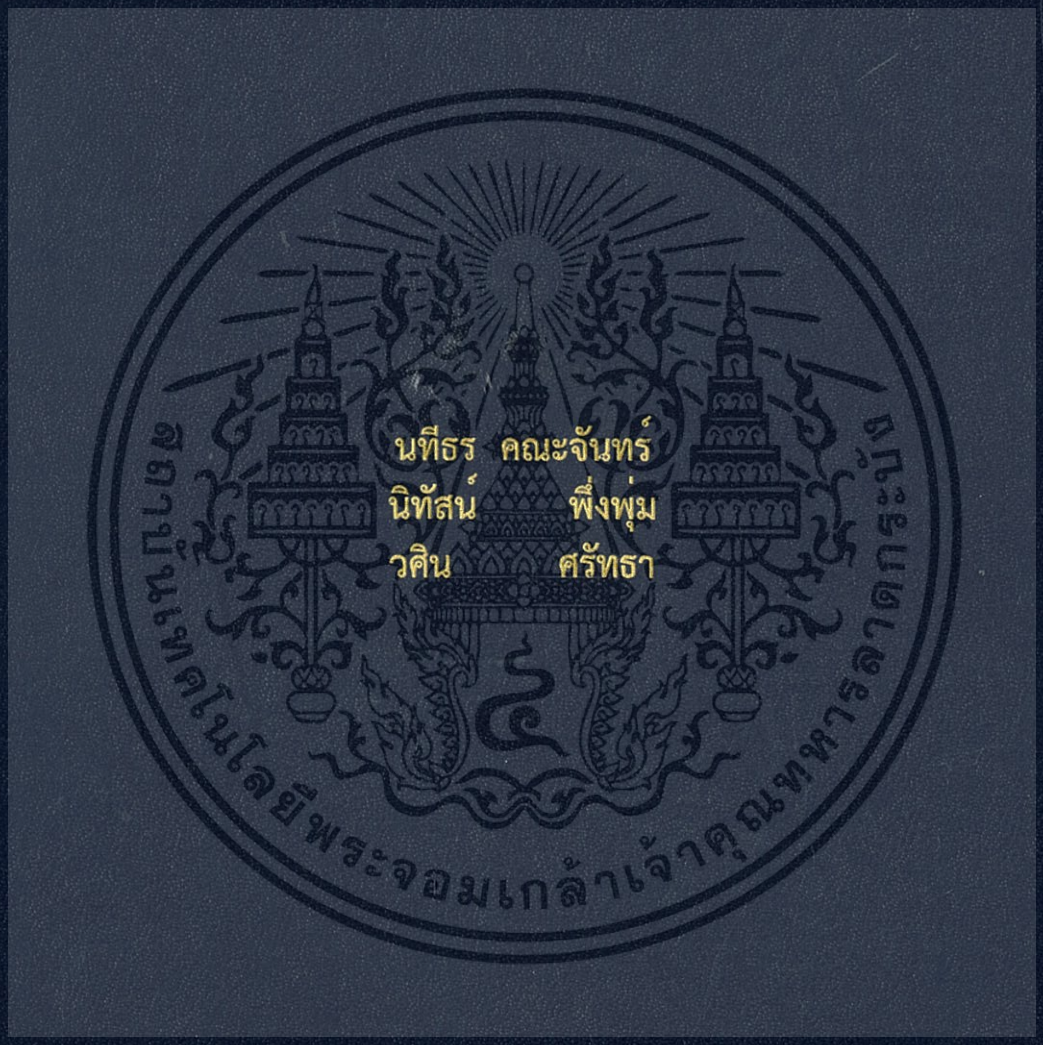
สารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดหยาบเอทานอลของกระถินณรงค์

ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF *ACACIA AURICULIFORMIS* ETHANOLIC CRUDE EXTRACTS



นทีธร คณะจันทร์
นิทัสน์ พึ่งพุ่ม
วศิน ศรัทธา

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

สารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดหยาบเอทานอลของกระถินณรงค์

ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF *ACACIA AURICULIFORMIS* ETHANOLIC CRUDE EXTRACTS

นทีธร คณะจันทร์
นิทัสน์ พึ่งพุ่ม
วศิน ศรัทธา

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF *ACACIA AURICULIFORMIS* ETHANOLIC CRUDE EXTRACTS

Nateetron Kanajan
Nithat Phuengphum
Wasin Sattha

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	สารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดหยาบเอทานอลของกระถินณรงค์ Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Acacia Auriculiformis* Ethanolic Crude Extracts
ชื่อนักศึกษา	นายนทีธร คณะจันทร์ รหัสนักศึกษา 55051300 นายนิทัสน์ พึ่งพุ่ม รหัสนักศึกษา 55051317 นายวศิน ศรัทธา รหัสนักศึกษา 55051391
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.วรกฤต วรนันทกิจ ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา กรรมการ	
ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	สารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดหยาบเอทานอลของกระถินณรงค์
ชื่อนักศึกษา	นายนทีธร คณะจันทร์ รหัสนักศึกษา 55051300
	นายนิทัสน์ พึ่งพุ่ม รหัสนักศึกษา 55051317
.	นายวศิน ศรัทธา รหัสนักศึกษา 55051391
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

บทคัดย่อ

จากการวิจัยฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากต้นกระถินณรงค์ (*Acacia auriculiformis*) จากภายในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยการนำส่วนใบ ช่อดอก และเนื้อไม้มาสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ จะได้สารสกัดหยาบจากพืช 3 ส่วน จากนั้นนำสารสกัดหยาบมาวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระโดยวิธี DDPH พบว่าสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้นั้นมีค่าการดักจับอนุมูลอิสระ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) ดีที่สุด คือ 1.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารสกัดหยาบจากเนื้อไม้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดเท่ากับ 1546.95 มิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง จากผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียโดยวิธี Agar Well diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากใบมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ความเข้มข้นดีที่สุด คือ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* TISTR 2065 ขณะที่สารสกัดหยาบจากเนื้อไม้ฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ความเข้มข้นดีที่สุด 3 ชนิด คือ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Micrococcus luteus* TISTR 2374 และ *Bacillus cereus* TISTR 687 และสารสกัดหยาบจากช่อดอกฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่ความเข้มข้นดีที่สุด 4 ชนิด คือ *S. aureus, M. luteus*, *B. cereus* และ *X. campestris* pv *campestris*

คำสำคัญ : ต้นกระถินณรงค์ เอทานอล ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Acacia Auriculiformis* Ethanolic Crude Extracts	
Student	Mr. Nateetron Kanajan	Student ID 55051300
	Mr. Nithat Phuengphum	Student ID 55051317
	Mr. Wasin Sattha	Student ID 55051391
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)	
Department	Biology	
Faculty	Science	
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang	
Academic Year	2015	
Advisor	Dr.Suttijit Sriwatcharakul	

Abstract

The study was screened for bioactivities of *Acacia auriculiformis* (Leaf, Bouquet and cork) ethanolic crude extracts collected around in King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang. The crude extracts were evaluated of antioxidant activities by DPPH scavenging method, wood extract of *Acacia auriculiformis* gave the best Inhibition Concentration at 50 percent (IC_{50}) at 1.12 mg/ml. To find out total phenolic contents, wood extract of *Acacia auriculiformis* had the highest total phenolic contents at 1546.95 GAE/100g dry weight. The result of antimicrobial activity using Agar Well Diffusion method was found that leaf crude extract could inhibit the growth of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* TISTR 2065. While wood crude extract could inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Micrococcus luteus* TISTR 2374 and *Bacillus cereus* TISTR 687. And bouquet crude extract could inhibit the growth of *S. aureus, M. luteus*, *B. cereus* and *X. campestris* pv *campestris*.

Key words: *Acacia auriculiformis*, Ethanol, Antioxidant, Antibacterial

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจากท่านอาจารย์ซึ่งผู้จัดทำปัญหาพิเศษขอกราบขอบพระคุณ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่กรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือชี้แนะละปรับปรุงแก้ไขด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่งตลอดมา

ผู้ทำโครงงานพิเศษขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรกฤต วรนันทกิจ กรรมการสอบโครงงานที่ให้ทั้งคำแนะนำ ตรวจสอบชี้แนะในการแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความเรียบร้อยและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณคณาจารย์ภาควิชาชีววิทยา ที่ช่วยเหลือและให้คำปรึกษาในการทำโครงงานพิเศษอีกทั้งยังเสนอแนะและให้คำแนะนำในการทำการทดลอง จนโครงงานพิเศษสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ประจำภาควิชาชีววิทยาทุกคน ที่คอยให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะในการทำการทดลอง และช่วยในการวางแผนในการทำการทดลอง รวมทั้งยังช่วยในการเบิกและคืนอุปกรณ์ในการทำการทดลองเสมอมา

ขอขอบคุณ ครอบครัว คณะจันทร์ ครอบครัว พึ่งพุ่ม และครอบครัว ศรัทธา ที่ค่อยให้กำลังใจและทุนทรัพย์ที่ดีเสมอมา อีกทั้งยังทำงานหนักเพื่อหาเงินส่งจนสำเร็จการศึกษาในระดับปริญญาตรี

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้จะมีประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจหรือผู้ที่ต้องการค้นคว้าและศึกษางานวิจัยทางด้านนี้ไม่มากก็น้อย

นทีธร คณะจันทร์

นิทัสน์ พึ่งพุ่ม

วศิน ศรัทธา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข

กิตติกรรมประกาศ ..... ค

สารบัญ ..... ง

สารบัญตาราง ..... ช

สารบัญรูป ..... ฌ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ที่มาและความสำคัญ 1

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ 2

1.3 ขอบเขตของงาน 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 ต้นกระถินณรงค์ 3

2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืช 4

2.2.1 วิธีการสกัดพืชสมุนไพร 4

2.2.2 การทำสารสกัดให้เข้มข้น 5

2.3 สารเคมีที่แยกได้จากพืชสมุนไพร 5

2.3.1 Primary metabolite 5

2.3.2 Secondary metabolite 5

2.4 การศึกษาฤทธิ์ของผลการยับยั้งของเชื้อจุลินทรีย์ 8

2.4.1 วิธีการในการศึกษาผลการยับยั้งของเชื้อจุลินทรีย์ 8

2.5 สารอนุมูลอิสระ 9

2.5.1 นิยามและความหมายของสารอนุมูลอิสระ 9

2.5.2 ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ 10

2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ 12

2.6.1 นิยามและความหมายของสารต้านอนุมูลอิสระ 12

2.6.2 ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระ 13

2.6.3 วิธีวัดความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ 14

2.6.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ตานอนุมูลอิสระดวยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช 15

2.7 วิตามินอี α-tocopherol 16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.7.1 คุณสมบัติทางกายภาพของวิตามินอี 16
2.7.2 ประโยชน์ของวิตามินอีต่อร่างกาย 16
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 17
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานโครงงานพิเศษ 19
3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ 19
3.2 เชื้อจุลินทรีย์ 19
3.3 สารเคมี 19
3.4 อุปกรณ์ 19
3.5 วิธีการทดลอง 20
3.5.1 กระบวนการสกัดสารจากต้นกระถินณรงค์ 20
3.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่สารสกัดหยาบจากพืช. 21
3.5.3 การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH 21
3.5.4 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ 21
3.5.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ 22
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 23
4.1 สารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้ในการทดลอง 23
4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากพืช... 23
4.3 การตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากพืชโดยวิธี DPPH 24
4.4 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบจากพืช 27
4.4.1 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 จากสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ 30
4.4.2ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 จากสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ 32
4.4.3 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687 จากสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ 34
4.4.4 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* TISTR 2065 จากสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ 37
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 40
5.1 สรุปผลการทดลอง 40
5.2 ข้อเสนอแนะ 41
เอกสารอ้างอิง 42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก.....48
ภาคผนวก ก เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง..... 48
ภาคผนวก ข อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์..... ... 55
ภาคผนวก ค การเตรียมสารละลาย.....56
ภาคผนวก ง การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์..... 58
ภาคผนวก จ การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ..... 59
ภาคผนวก ฉ ข้อมูลผลการทดลอง.....79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 แสดงน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดโดยเครื่องระเหยสุญญากาศ..... 23

4.2 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ของต้นกระถินณรงค์..... 24

4.3 เปอร์เซ็นต์ DPPH Reduction ของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ของต้นกระถินณรงค์..... 25

4.4 ค่า IC_{50}ของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ของต้นกระถินณรงค์..... 26

4.5 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญสำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466..... 31

4.6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญสำหรับเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374..... 33

4.7 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญสำหรับเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687..... 35

4.8 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญสำหรับเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* TISTR 2065..... 38

จ.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์..... 59

จ.2 ค่าวิเคราะห์ทางสถิติของ DPPH Radical Scavenging จากสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์..... 60

จ.3.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ที่ทดสอบกับเชื้อ *Bacillus cereus*..... 63

จ.3.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ที่ทดสอบกับเชื้อ *Micrococcus luteus*..... 67

จ.3.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ที่ทดสอบกับเชื้อ *Staphylococcus aureus*..... 71

จ.3.4 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ที่ทดสอบกับเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 75

ฉ.1.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากใบจากต้นกระถินณรงค์..... 79

ฉ.1.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากช่อดอกจากต้นกระถินณรงค์..... 79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ฉ.1.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์..... 79
ฉ.1.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตรของวิตามินอี..... 80
ฉ.2.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากใบช่อดอกและเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์.....80
ฉ.2.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร ของกรดแกลลิค..... 80
ฉ.3.1 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus*..... 81
ฉ.3.2 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ในการยับยั้งการเจริญของ *Micrococcus luteus*..... 82
ฉ.3.3 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ในการยับยั้งการเจริญของ *Bacillus cereus*..... 84
ฉ.3.4 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ในการยับยั้งการเจริญของ *Xanthomonas campesstris* pv. *campestris*.... 85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 ต้นกระถินณรงค์ 3

2.2 ลักษณะการทดสอบ ในการทำ Agar Well diffusion 9

2.3 โครงสร้างพันธะทางเคมีของวิตามินอี 16

4.1 กราฟแสดงกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ 25

4.2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากส่วนของ ใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* TISTR 780 , *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 และเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus cereus* TISTR 687 27

4.3 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากส่วนของ ใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ในการยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 และเชื้อจุลินทรีย์ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* TISTR 2065 28

4.4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Micrococcus luteus* TISTR 2374, *Bacillus cereus* TISTR 687 และ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* TISTR 2065ในความเข้มข้นตั้งแต่ 25 ถึง 1.5625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในรูป ก. และที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.5625 ถึง 0.0976 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในรูป ข 29

4.5 ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 30

4.6 ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 32

4.7 ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus cereus* TISTR 687 34

4.8 ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* TISTR 2065 37

ก.1 *Escherichia coli* TISTR 780 48

ก.2 *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 49

ก.3 *Bacillus cereus* TISTR 687 51

ก.4 *Micrococcus luteus* TISTR 2374 52

ก.5 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* TISTR 2065 53

ค.1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค 56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

นับเป็นเวลานานหลายร้อยปีที่มนุษย์ได้พึ่งพาพืชในการดำรงชีวิต เพื่อสนองความต้องการทั้งด้าน เครื่องนุ่งห่ม อาหาร วัสดุสิ่งก่อสร้าง เครื่องสำอาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการนำมาใช้ในการรักษาโรค โดยมีสารสกัดจากพืชหลายชนิดที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางยาในยุคแรกๆ เช่น ควินิน มอร์ฟีน แอสไพริน ไรฟาบูตินอาร์บูติน เป็นต้น (Newman และคณะ, 2007) สืบเนื่องจากการค้นพบและการนำมาใช้ประโยชน์ทางยา ผนวกกับการเกิดขึ้นของโรคร้ายสายพันธุ์ใหม่บางชนิดที่ยากต่อการรักษา อันมีสาเหตุมาจากการติดเชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส เชื้อรา หรือโรคอื่นๆ เช่น โรคเอดส์โรคไข้หวัดนก โรคระบบทางเดินหายใจล้มเหลวเฉียบพลัน และโรคมะเร็ง เป็นต้น ทำให้งานวิจัยทางด้านสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติหรือสารพฤกษเคมีเริ่มมีบทบาทอย่างมากต่อการค้นหาสารต้นแบบชนิดใหม่ที่อาจนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์เพื่อบรรเทา บำบัดหรือรักษาโรคร้ายแรงชนิดใหม่ที่อาจเกิดขึ้นพร้อมๆกับการพัฒนาทางด้านเทคโนโลยีในยุคปัจจุบัน (Colegate และคณะ, 2008) นอกจากนักวิทยาศาสตร์ได้เล็งเห็นถึงคุณค่าและความปลอดภัยจากการใช้สารจากธรรมชาติแล้ว อาจจะค้นพบว่า พืชสามารถสร้างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิได้มากมาย จากทั้งโครงสร้างของพันธะเคมี และการแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ ดังนั้นไม่ว่าจะเกิดโรคร้ายชนิดใหม่ได้มากพียงใด ความหลากหลายของสารประกอบพฤกษเคมีของพืชยังเป็นแหล่งสำคัญในการผลิตยาชนิดใหม่ ที่มีประสิทธิภาพสูงในการรักษาเช่นกัน

พืชวงศ์ *Acacia* เป็นสกุลของพืชตระกูลถั่ว (Fabaceae) ชื่อของวงศ์เป็นภาษาละตินมาจากสมัยกรีกโบราณโดยมีความหมายว่า ต้นไม้มีหนามหรือหนามแหลม (Gledhill, 2006) โดยในสมัยโบราณชาวยุโรปในภูมิภาคเมดิเตอร์เรเนียนคุ้นเคยกับพืชสายพันธุ์นี้เนื่องจากเป็นยาที่มีชื่อเสียงในสมัยกรีก-โรมัน (Austinและคณะ, 2004) สายพันธุ์ *Acacia* นั้นมีความหลากหลายมากในเขตร้อน เนื่องจากต้องปรับตัวเข้ากับสภาพภูมิอากาศตามสิ่งแวดล้อมยิ่งยวด บางสายพันธุ์ในแอฟริกาต้องปรับขนาดให้โตและสูงขึ้นหรือเพิ่มขนาดของหนามและปริมาณเนื่องจากสัตว์ประเภทพวกกินพืช (Chidumayo, 2010) ในสายพันธุ์ *Acacia* มีสปีชีส์ที่พบทั้งหมด 163 สปีชีส์ โดย 52 สปีชีส์มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกา 83 สปีชีส์ อยู่ในทวีปแอฟริกาและเกาะมาดากัสการ์ 32 สปีชีส์ พบในทวีปเอเชียและอีก 9 สปีชีส์ที่ พบในทวีปออสเตรเลียและหมู่เกาะแปซิฟิก (Thieleและคณะ, 2011) โดยในประเทศไทยส่วนใหญ่จะพบมากอยู่ 2 สปีชีส์ คือ กระถินณรงค์ (*Acacia auriculiformis*) และกระถินเทพา (*Acacia mangium*) ซึ่งทั้งสองสปีชีส์นี้เป็นสายพันธุ์นำเข้ามาจากทวีปออสเตรียเลีย โดยในปี พ.ศ. 2478 ขุนณรงค์ชวนกิจนำสายพันธุ์กระถินณรงค์เข้ามาในประเทศไทย (การปฏิบัติวิชาชีพภูมิสถาปัตยกรรม 2538) โดยปกตินั้นกระถินณรงค์จะมีความสำคัญในการทดแทนทางด้านพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชีวมวล นำมาใช้ผลิตเป็นกระดาษ (พรศักดิ์, 2535) และทางด้านเภสัชวิทยาเปลือกกระถินณรงค์มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ต้านทานแบคทีเรีย ต้านทานมาเลเรีย ต้านทานพยาธิโรคเท้าช้าง ทำลายพยาธิตัวตืด มีฤทธิ์ยับยั้งการกลายพันธุ์และเป็นสารต้านมะเร็ง การใช้เป็นยาฆ่าอสุจิ รักษาอาการตับอักเสบและป้องกันโรคเบาหวาน (Singh, 2014) จึงเป็นที่มาอันน่าสนใจสำหรับการทดสอบในส่วนประกอบทางกายภาพบริเวณอื่นของกระถินณรงค์ว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพได้มากน้อยเพียงใด

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ในการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค คือ *Escherichia coli* TISTR 780 , *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 , *Micrococcus luteus* TISTR 2374, *Bacillus cereus* TISTR 687 และ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* TISTR 2065 พร้อมทั้งหาปริมาณของสารสกัดจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ที่น้อยที่สุดในการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์

2. ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ในการต้านสารอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ของบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังในการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้ก่อโรคและประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระ รวมทั้งศึกษาถึงปริมาณของสารสกัดที่น้อยที่สุดในการควบคุมจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) โดยใช้สารสกัดจากช่อดอก เนื้อไม้ และใบกระถินณรงค์มาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย คือ *Escherichia coli* TISTR 780, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Micrococcus luteus* TISTR 2374, *Bacillus cereus* TISTR 687 และ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* TISTR 2065

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์

2. สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพและการรักษาโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ต้นกระถินณรงค์ *Acacia auriculiformis*

รูปที่ 2.1 ต้นกระถินณรงค์
ที่มา : ผู้จัดทำ (18/8/2558)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Acacia auriculiformis*.

วงศ์ : LEGUMINOSAE – MIMOSOIDEAE

ชื่อภาษาอังกฤษ : Auri, Earleaf acacia, Earpod wattle, Northern black wattle

ถิ่นกำเนิด : ในทุ่งหญ้าของประเทศปาปัวนิวกินี ไปจนถึงพื้นที่ทางตอนเหนือของประเทศออสเตรเลีย

เป็นพืชตระกูลถั่ว เป็นไม้ที่มีขนาดเล็กถึงขนาดกลางมีความสูง 8 เมตร ไปจนถึง 20 เมตร ไม่ผลัดใบ เรือนยอดทรงกลมทึบ กิ่งห้อยย้อย เปลือกสีน้ำตาลถึงสีน้ำตาลเข้ม แตกเป็นร่องตามยาว ไม่เป็นระเบียบ ใบประกอบแบบขนนกสองชั้น เมื่อยังเป็นกล้าอยู่และร่วงไปเมื่อโตขึ้นเหลือเพียงก้านใบแล้วเปลี่ยนรูปเป็นคล้ายแผ่นใบ เรียงสลับถี่และห่างเป็นระยะ ใบรูปขอบขนาน กว้าง 1-6 ซม. ยาว 8-20 ซม. ปลายและโคนใบเรียวแหลม โค้งเป็นรูปเคียว แผ่นใบหนา สีเขียว ดอกสีเหลือง มีกลิ่นหอม ออกเป็นช่อแบบช่อแยกแขนงเป็นคู่ๆที่ซอกใบและปลายกิ่งยาว 4-10 ซม. มีดอกย่อยขนาดเล็กจำนวนมาก โคนกลีบเลี้ยงติดกันปลายแยกเป็น 5 แฉก โคนกลีบดอกติดกันปลายแยกเป็น 5 แฉก โค้งกลับลง เกสรเพศผู้สีเหลืองจำนวนมาก ผลแห้งแตก เป็นฝักแบน สีเขียว ม้วนบิดเป็นวง 1-3 วง เมื่อแก่มีสีน้ำตาลและแตกออกทั้งสองด้าน เมล็ดสีน้ำตาลดำเป็นมัน 5-12 เมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถิ่นกำเนิด : ในทุ่งหญ้าของประเทศปาปัวนิวกินี ไปจนถึงพื้นที่ทางตอนเหนือของประเทศออสเตรเลีย ออกดอกตลอดปีแต่จะออกมากในช่วงสิงหาคมถึงกันยายน

ประโยชน์ : กระถินณรงค์เป็นไม้โตเร็ว นิยมปลูกเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง นอกจากการใช้เป็นพืชเบิกนำในการปลูกป่าในพื้นดินเสื่อมโทรมได้ดีแล้ว ยังใช้ตัดฟันเป็นไม้ฟืนเชื้อเพลิง ซึ่งมีการวิจัยโรงไฟฟ้าชีวมวล เพื่อใช้ไม้กระถินเป็นเชื้อเพลิง และประโยชน์อื่นๆ เช่นเผาถ่านทำเฟอร์นิเจอร์ และเป็นวัตถุดิบสำหรับอุตสาหกรรมเยื่อกระดาษได้ด้วย (พรศักดิ์, 2535)

2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืช

2.2.1 วิธีการสกัดพืชสมุนไพร

สารสกัดที่พบในพืชสมุนไพรแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกัน โดยขึ้นอยู่กับวงศ์ของพืชพืชอยู่ในวงศ์เดียวกันอาจ มีสารสำคัญชนิดเดียวกัน แต่มีปริมาณที่แตกต่างกันสารสำคัญของสมุนไพรจะนำไปใช้เป็นยานั้นจะต้องมีปริมาณมากและเราไม่สามารถที่จะรับประทานสมุนไพรสดๆ จำนวนมากๆ เพื่อให้ได้สารสำคัญอย่างเพียงพอ ดังนั้นการสกัดจึงเป็นวิธีการอย่างหนึ่งที่ให้สารสำคัญจากพืชสมุนไพรซึ่งอาจทำได้หลายวิธีขึ้นกับชนิดหรือประเภทสาร คุณสมบัติของสารความคงตัวของสารต่อความร้อน และชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ด้วย วิธีหลักที่ใช้ในการสกัดพืชสมุนไพร ได้แก่

2.2.1.1 การหมัก (Maceration) คือ กระบวนการสกัดองค์ประกอบสำคัญจากพืชสมุนไพรโดยการแช่ผงสมุนไพรในน้ำยาสกัด จนกระทั่งน้ำยาสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในผงสมุนไพรออกมาได้ วิธีการทำ Maceration คือการแช่ผงสมุนไพรในน้ำยาสกัดที่เหมาะสม 14 เป็นเวลา 2-4 วัน หรือตามกำหนดในเภสัชตำรับหรือจนกระทั่งองค์ประกอบที่ต้องการออกมาหมดหลังจากนั้นจึงกรองแยกกากสมุนไพรออกจากน้ำยาสกัดและปรับปริมาตรสารสกัดตามต้องการ

2.2.1.2 การแช่ (Percolation) คือ กระบวนการสกัดองค์ประกอบสำคัญจากพืชสมุนไพรโดยปล่อยให้สารละลายไหลผ่านผงสมุนไพรอย่างช้าๆ พร้อมกับละลายองค์ประกอบจากผงสมุนไพรออกมา วิธีการ Percolation คือ บรรจุผงสมุนไพรที่ทำให้ชื้นด้วยน้ำยาสกัดใน Percolation ซึ่งมีลักษณะเป็นคอลัมน์ทรงกระบอกปลายเปิดทั้งสองด้านโดยที่ปลายบนจะกว้างกว่าปลายล่างเพื่อสะดวกในการบรรจุผงสมุนไพร ส่วนปลายล่างมักจะต่อกับท่อสายยาง ปิด-เปิดได้ เพื่อที่ได้ เป็นระยะเวลาพอสมควร แล้วจึงปล่อยให้น้ำยาสกัดไหลผ่านผงสมุนไพรในอัตราเร็วพอเหมาะ พร้อมกับเติมน้ำยาสกัดใหม่ผ่านผงสมุนไพรในอัตราเร็วพอเหมาะ พร้อมกับเติมน้ำยาสกัดใหม่ลงเรื่อยจนองค์ประกอบที่ต้องการในผงสมุนไพรละลายออกมาจนหมดโดยการตรวจสอบจากสารสกัดสุดท้าย

2.2.1.3 การสกัดแบบต่อเนื่อง (Continuous extraction) คือ กระบวนการสกัดองค์ประกอบจากสมุนไพร ในทำนองเดียวกันกับ Percolation แตกต่างกันที่ว่าขบวนการนี้จะต้องใช้ความร้อนเข้าช่วยและใช้เครื่องมือที่เป็นระบบปิดเรียกว่า Soxhlet extractor โดยที่เมื่อน้ำยาสกัดไหลผ่านผงสมุนไพรที่บรรจุอยู่ใน เครื่อง ใช้ extraction แล้วมารวมกันในขวดแก้วที่ได้รับความร้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จนสารละลายระเหยขึ้นไป และควบแน่นตกลงมาผ่านผงสมุนไพรซ้ำแล้วซ้ำอีกจนกระทั่งองค์ประกอบในสมุนไพรถูกสกัดออกมาหมด (ประเสริฐ, 2528)

2.2.2 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้มักจะมีปริมาณมากและเจือจาง จึงทำให้ไม่สามารถนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพราะเจือจางมากเกินไปจึงจำเป็นต้องนำสารสกัดที่ได้ มาทำให้เข้มข้นขึ้นเสียก่อนโดยมีวิธีทำให้สารสกัดเข้มข้นขึ้นคือ

การระเหยแบบแห้งโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator)เป็นวิธีการระเหยแห้งโดยการกลั่นตัวทำละลายออกที่อุณหภูมิต่ำ และลดความดันลงเกือบเป็นสุญญากาศ โดยใช้ vacuum pump เครื่องมือนี้เรียกว่า rotary evaporator ประกอบด้วย 3 ส่วน distillation flask , condenser และ receiving flask โดย distillation flask จะหมุนอยู่ตลอดเวลาที่ทำงาน และแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำเพื่อให้การกระจายของความร้อนสม่ำเสมอ การทำสารสกัดให้เข้มข้น

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying)วิธีนี้เหมาะสำหรับตัวทำละลายที่เป็นน้ำและ สารสำคัญอาจจะสูญเสียไปด้วยความร้อน หลักการคือ การทำให้น้ำกลายเป็นของแข็งแล้วทำให้กลายเป็นไอภายใต้เกือบสุญญากาศ จะเหลือแต่สารสกัดแห้ง

เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dryer) คือ เครื่องทำแห้ง (drier) ที่ใช้ทำแห้ง (dehydration) สำหรับ สารสกัดน้ำโดยใช้ เครื่องพ่นละออง (atomizer) ทำให้สารละลายกลายเป็นละอองสัมผัสกับกระแสลมร้อนภายในห้องอบแห้ง (drying chamber) ทำให้น้ำในสารสกัดระเหยออกไปอย่างรวดเร็ว สารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นผงแห้งตกสู่ภาชนะรองรับ นิยมใช้ในการผลิตสารสกัดสมุนไพรให้มีลักษณะเป็นผง เช่น กาแฟผง (อ้อมบุญ, 2536)

2.3 สารเคมีที่แยกได้จากพืชสมุนไพร

สารเคมีที่แยกได้จากพืชนั้น นักวิทยาศาสตร์ได้จำแนกออกเป็น 2 พวกใหญ่

2.3.1 Primary metabolite เป็นสารที่พบได้ในพืชทุกชนิด เป็นผลิตผลที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง (Photosynthesis) เช่น คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน และไขมัน

2.3.2 Secondary metabolite จะมีส่วนเริ่มต้นเป็นกรดอะมิโน อะซิเตรต เมวาโลเนท ฯลฯโดยมีเอนไซม์เข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งพืชต่างชนิดกันจะมีเอนไซม์ที่ไม่เหมือนกันทำให้วิถีทางในกระบวนการชีวสังเคราะห์ (Biosynthesis) ต่างกันไป และได้สารประเภท secondary metabolite ต่างกันไปในต้นไม้ต่างชนิดกันหรือต่างฤดู สาเหตุที่แท้จริงในการสร้าง secondary metabolite ในพืชยังไม่แน่นอน แต่พบว่าอาจเกิดจากการพยายามปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงจากการศึกษา primary metabolite และ secondary metabolite ของพืช ทำให้สามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคได้ ซึ่งอาจจัดจำแนกออกเป็น 9 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) คือ สารที่ประกอบด้วย C, H และ O ซึ่งอัตราส่วนของ H:O มักเป็น 2:1 และอยู่ในรูปของ polyhydroxy aldehyde หรือ ketone ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจุบันกลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่ใช้ในทางยา มักใช้ในรูปของ dextrose, fructose, glucose, dextran, pectin, cotton, agar, pectin และ tragacanth เป็นต้น

2. แอลคาลอยด์ (alkaloid) ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ (organic nitrogen compound) พบในพืชชั้นสูงเป็นส่วนมาก แต่บางครั้งก็พบได้ในพวกสัตว์และจุลินทรีย์คุณสมบัติของแอลคาลอยด์ส่วนใหญ่มีรสขมไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) ชนิดต่างๆ ที่มีฤทธิ์เป็นด่าง และมักมีฤทธิ์ต่อระบบต่างๆของร่างกาย หน้าที่ของแอลคาลอยด์ในพืชยังไม่มีคำตอบที่แน่นอน แต่นักวิทยาศาสตร์ก็ได้ให้ข้อสังเกตที่น่าเชื่อถือได้ว่าอาจมีหน้าที่ดังนี้

2.1 เป็นสารที่มีพิษ ป้องกันมิให้แมลงหรือสัตว์มารบกวนหรือทำลาย

2.2 เป็นผลที่ได้จากกระบวนการทำลายพิษ (detoxification) ของสารที่เป็นอันตรายต่อพืช

2.3 เป็นตัวที่ช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

2.4 เป็นตัวเก็บสะสมแร่ธาตุสามารถจะสลายตัวในธาตุไนโตรเจนและธาตุอื่นๆที่จำเป็นต่อการดำรงชีพของพืช

2.5 เป็น nitrogen excretory product เช่นเดียวกับยูเรียหรือกรดยูริก

2.6 ช่วยรักษาดุลของไอออน (maintain ionic balance)

แอลคาลอยด์อาจพบในส่วนต่างๆของพืช เช่น ในเมล็ด (หมาก) ในผล (พริกไทย) ในใบ (ลำโพง) ในเปลือก (ชิงโคนา) ในเหง้า (ดอกดึง) ในราก (ระย่อม) และยังพบได้ในราที่ขึ้นบนพืช (ergot) เป็นต้น

3. ไกลโคไซด์ (glycoside) เป็นสารอินทรีย์ที่ประกอบด้วยส่วนที่เป็น aglycone (genin) กับส่วนที่เป็นน้ำตาล ดังนั้นเมื่อถูกไฮโดรไลต์ด้วยกรด หรือน้ำย่อย จะได้ผลิตผล 2 อย่างนี้ ส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาล มีสูตรโครงสร้างแตกต่างกันไปเป็นหลายประเภท ดังนั้นฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารประกอบในกลุ่มนี้จึงมีได้กว้างขวางแตกต่างกันออกไป ส่วนที่เป็นน้ำตาลจะไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา แต่เป็นส่วนช่วยทำให้การละลายและดูดซึมเข้าสู่ร่างกายดีขึ้นหน้าที่ของไกลโคไซด์ในพืชจะทำให้การดำรงชีวิตของพืชปกติ (regulator and sanitary function)และหน้าที่ป้องกันอันตรายให้แก่พืชด้วย

ไกลโคไซด์อาจจำแนกคร่าวๆตามสูตรโครงสร้างของ aglycone (เนื่องจากเป็นส่วนที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา) ได้ดังนี้

3.1 cardiac glycoside จะมีฤทธิ์ต่อระบบกล้ามเนื้อหัวใจและระบบไหลเวียนของโลหิต

3.2 anthraquinonoid glycoside ใช้เป็นยาระบาย (laxative) ยาฆ่าเชื้อ (antibiotic) และสีย้อม (dye stuff)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 saponins glycoside เมื่อเขย่ากับน้ำจะได้ฟองคล้ายสบู่ มักใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตยาประเภทสเตอรอยด์

3.4 cyanogenic glycoside เป็นไกลโคไซด์ซึ่งเมื่อถูกย่อยด้วยเอนไซม์ กรดหรือด่างจะให้ hydrocyanic acid (HCN) ซึ่งเป็นสารไซยาไนด์ที่มีพิษต่อมนุษย์หรือสัตว์

3.5 isothiocyanate glycoside เป็นไกลโคไซด์ซึ่งเมื่อถูกน้ำย่อยจะได้น้ำมันมัสตาร์ต น้ำมันนี้จะเป็นตัวให้กลิ่นและมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อโรคด้วย

3.6 flavonoid glycoside เป็นสีที่พบในดอก ผลของพืช นำมาทำเป็นสีย้อมและแต่ง สีอาหารบางชนิดก็ใช้เป็นตัวยา

3.7 phenolic glycoside พบมากในธรรมชาติ โดยพบในรูปอนุพันธุ์ของฟีนอล เช่นพวก tannin ในทางยาจะมีฤทธิ์ฝาดสมาน (astringent) ฆ่าเชื้อโรค ในทางอุตสาหกรรมใช้ฟอกหนังและทำหมึกพิมพ์

4. น้ำมันหอมระเหย (volatile oil or essential oil) เป็นน้ำมันที่ได้จากพืช โดยการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) หรือการบีบ (expression) มีกลิ่น รส เฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายในอุณหภูมิธรรมดา เบากว่าน้ำ นักวิทยาศาสตร์บางท่านกล่าวว่าน้ำมันหอมระเหยเป็น waste product ไม่มีประโยชน์ในกระบวนการทางชีวเคมีบางท่านกล่าวว่ามันเกิดขึ้นเพื่อดึงดูดแมลง แต่เป็นไปได้ว่า น้ำมันหอมระเหยเกิดจากผลิตผลที่ผิดปกติของกระบวนการชีวเคมีของมันและอาจเป็นสารที่เกิดจากการทำลายพิษประโยชน์ทางด้านยา นอกจากใช้เป็นตัวแต่งกลิ่นแล้วส่วนใหญ่จะใช้ไปในทางขับลม (carminative) ฆ่าเชื้อ (antibacterial antifungal) ทาถูนวด ยาทาภายนอก

5. ไขมัน (lipid) คือสารที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) เมื่อต้มกับด่างจะได้สบู่ ถ้าเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้องเรียกว่าไขมัน ถ้าเป็นของเหลวเรียกว่าน้ำมันมักอยู่ในรูป elaioplast ของอาหารสะสมพืชประโยชน์ของไขมันในทางยาจะใช้เตรียมขี้ผึ้ง อิมัลชัน หรือใช้เป็นยาระบาย เช่น น้ำ มันละหุ่ง ส่วนรักษาโรคผิวหนัง เช่น น้ำมันกระเบา

6. เรซิน (resin) คือ สารอินทรีย์หรือสารผสมประเภทโพลิเมอร์ มีรูปร่างไม่แน่นอน มีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่สลับซับซ้อน ไม่ละลายน้ำ ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์เมื่อต้มกับด่างจะได้สบู่ เมื่อเผาจะได้ควัน เรซินอาจเกิดจาก normal physiological product คือ พืชได้สร้างอยู่เป็นปกติ หรือเกิดการสร้างเมื่อเป็นโรค (pathological product) หรือเมื่อต้นมีบาดแผลเกิดขึ้น ในธรรมชาติพบเรซินร่วมกับน้ำมันหอมระเหย หรือ gum ตัวอย่างเช่น ยางสน มหาหิงคุ์ กำยาน

7. วิตามิน (vitamin) หมายถึง สารประกอบอินทรีย์ที่มีอยู่เล็กน้อยในอาหาร ตามธรรมชาติสามารถเข้าสู่ร่างกายจากอาหารหรือแหล่งอื่น เพื่อให้มีหน้าที่เฉพาะทางกายภาพหรือการเติบโตเข้าสู่สภาพปกติวิตามินสามารถแบ่งออกได้ 2 ชนิดคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7.1 วิตามินชนิดที่ละลายได้ในไขมัน จะมีการสะสมในร่างกายได้โดยจะละลายอยู่ในไขมัน เช่น วิตามิน A, D, E และ K

7.2 วิตามินชนิดที่ละลายน้ำ จะสามารถกำจัดออกโดยทางปัสสาวะ ไม่เก็บไว้ในร่างกายดังนั้น เมื่อขาดวิตามินเหล่านี้อาการ ผิดปกติของร่างกาย จะปรากฏออกมาในเวลาไม่นาน เช่นวิตามิน B และ C

8. ยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ยาปฏิชีวนะเป็นผลผลิตทางเคมีที่ได้จากสิ่งมีชีวิต ส่วนใหญ่จะได้จากแบคทีเรียและรา สำหรับพืชชั้นสูงก็มีสารที่มีฤทธิ์เป็นยาปฏิชีวนะแต่ยาปฏิชีวนะที่ได้จากพืชสมุนไพรที่ใช้อยู่ในตลาดยายังมีจำนวนน้อยมาก

9. สเตียรอยด์ (steroid) คือ สารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างเป็น tetracyclic terpenoid ซึ่งสร้างขึ้นมาโดยเฉพาะพืชและสัตว์ แต่เดิมการสกัดพวก cortisone จาก bile acid ของสัตว์นั้นยุ่งยากและทำให้มีราคาแพงปัจจุบันก็สามารถผลิตสเตียรอยด์จากพืชและจุลชีพ ทำให้ราคาของสเตอรอยด์ถูกลง (นิจศิริ และคณะ, 2534)

2.4 การศึกษาฤทธิ์ของผลการยับยั้งของเชื้อจุลินทรีย์

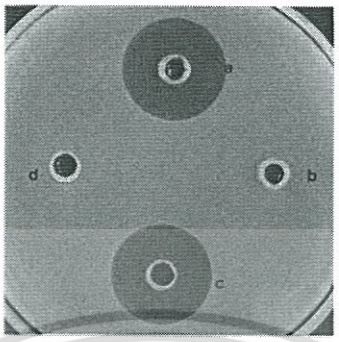
2.4.1 วิธีการในการศึกษาผลการยับยั้งของเชื้อจุลินทรีย์

Broth dilution methodเป็นการทดสอบหาความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ โดยวิธีนี้เป็นวิธีที่ละเอียดวิธีหนึ่ง การทดสอบนี้จะทำให้ทราบทั้ง MIC (Minimum Inhibitory Concentration) และ MBC (Minimum Bactericidal Concentration) ของยาปฏิชีวนะนั้น ๆ กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบ หลักการโดยทั่วไปของวิธีนี้คือ เลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวซึ่งมียาปฏิชีวนะในปริมาณต่าง ๆ กันผสมอยู่ และสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อในอาหารที่เลี้ยงเชื้อซึ่งมียาปฏิชีวนะในปริมาณต่าง ๆ กัน ค่าความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่เชื้อไม่เจริญถือว่าเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ MIC (Minimum Inhibitory Concentration) การหาค่า MBC ทำได้โดยนำ broth จากหลอดที่ดูแล้วว่าไม่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง ตรวจผลดูการเจริญเติบโตของเชื้อ ค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของยาปฏิชีวนะซึ่งสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ให้ลดลงไม่น้อยกว่า 99.9% ถือว่าเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (MBC)

AgarWell diffusion method เป็นวิธีที่ใช้แพร่หลายมากที่สุดเนื่องจากสะดวก ประหยัดและใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่น ๆ วิธีนี้เป็นการทดสอบในเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลได้ว่าเชื้อมีความไวต่อการทดสอบหรือไม่ ไม่เหมาะในการทดสอบเชื้อที่เจริญช้าและเชื้อแอนแอโรบ (anaerobe) โดยจะไม่ทราบค่า MIC หรือ MBC ได้ หลักการทั่วไปคือ การเจาะอาหารและเติมยาปฏิชีวนะทำให้ยาปฏิชีวนะในหลุมซึมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้กระจายเชื้อในจำนวนที่เหมาะสมไว้แล้วนำไปเพาะเลี้ยงให้เชื้อเจริญเติบโต อ่านผลการทดสอบโดยการวัดขนาดของ zone of inhibition ซึ่งจะเห็นเป็นวงใสรอบหลุมขนาดของ zone of inhibition นอกจากจะขึ้นอยู่กับความไวของเชื้อต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารแล้วยังขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ขนาดโมเลกุลของยาปฏิชีวนะ ปริมาณอัตราการเจริญของเชื้อ ภาวะความเป็นกรดด่าง และส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ ตลอดจนระยะเวลาในการเพาะเชื้อ



รูปที่ 2.2 ลักษณะการทดสอบ ในการทำ Agar Well diffusion
ที่มา : https://aem.asm.org/content/57/12/3450.full.pdf (9/05/2559)

E test ใช้หลักการของ Agar well diffusion test ร่วมกับการวัด หรือประมาณค่า MIC value บนเพลทอาหารโดยใช้แผ่นพลาสติกชุบยาต้านจุลชีพในความเข้มข้นต่างๆ จาก 0.016 - 0.256 µg/ml หรือ0.002 - 32 µg/ml.โดยจะสามารถทดสอบยาหลายชนิดพร้อมกันในเพลทอาหารได้ วิธีนี้สามารถประเมินค่า MIC ได้อย่างคร่าวๆ เท่านั้น (คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหิดล, 2558)

2.5 สารอนุมูลอิสระ

2.5.1 นิยามและความหมายของสารอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (free radical) คือ อะตอม โมเลกุลหรือไอออนซึ่งมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวอนุมูลอิสระอาจมีประจุเป็นบวก ลบหรือเป็นศูนย์ก็ได้ อิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวเหล่านี้ทำให้อนุมูลอิสระว่องไวต่อปฏิกิริยาสูง อนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในการสันดาป เคมีพลาสมาชีวเคมี และกระบวนการทางเคมีอีกหลายอย่างในสิ่งมีชีวิต ซูเปอร์ออกไซด์ ไนตริกออกไซด์และผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาของมันควบคุมหลายกระบวนการ เช่น ควบคุมการบีบตัวของหลอดเลือดซึ่งควบคุมความดันโลหิตอีกต่อหนึ่ง นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังมีบทบาทสำคัญในเมแทบอลิซึมตัวกลางของสารประกอบทางชีวภาพหลายชนิด

อนุมูลอิสระเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาในร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อมีธาตุเหล็ก ทองแดงแมงกานีสโคบอลต์ โครเมียม นิเกิลมักจะเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยร่างกายจะมีระบบกำจัดอนุมูลอิสระ แต่หากร่างกายได้รับสารอนุมูลอิสระจากภายนอก เช่น ได้รับจากอาหารบางชนิด จากขบวนการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีไขมันประกอบสูง หรือจากสิ่งแวดล้อม เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสงอาทิตย์ซึ่งมีรังสีอัลตราไวโอเลต การแผ่รังสี หรือจากมลพิษมากเกินไป หรือในภาวะที่ร่างกายสามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ลดลง ก็จะทำให้มีอนุมูลอิสระมากเกินไปเป็นสาเหตุของโรคภัยได้

เมื่อมีสารอนุมูลอิสระที่มากเกินไปจะเป็นอันตรายต่อไขมันโปรตีน หน่วยพันธุกรรม และคาร์โบไฮเดรต ทำให้เพิ่มอัตราเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลายชนิดทั้ง โรคหลอดเลือดตีบและแข็งตัว โรคมะเร็ง โรคอัลไซเมอร์ โรคไขข้ออักเสบ เป็นต้น

2.5.2 ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระจะเกิดปฏิกิริยาที่เป็นแบบปฏิกิริยาลูกโซ่ แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นแรกเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกสร้างหรือผลิตขึ้น เรียกขั้นตอนนี้ว่าขั้นตอนอินนิทิเอชัน (initiation step) ขั้นที่สองเป็นขั้นที่อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนไปเป็นนอนุมูลอิสระตัวอื่นต่อๆกันไป เรียกว่าขั้นพรอพาเกชัน (propagation step) และขั้นสุดท้ายเรียกว่า ขั้นเทอรมิเนชัน (termination step) เป็นขั้นหยุดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ เป็นขั้นตอนที่มีการรวมกันของอนุมูลอิสระ 2 อนุมูล ไดเป็นสารที่มีความเสถียร โดยทั่วไปการที่โมเลกุลหรืออะตอมของสารที่มีอิเล็กตรอนเข้าคู่กันครบเสียอิเล็กตรอนไปกลายเป็นอนุมูลอิสระไดนั้น ต้องอยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูง แต่ก็มีโมเลกุลอีกหลายชนิดที่กลายเป็นอนุมูลอิสระได เมื่ออยู่ในสภาวะปกติ ซึ่งรวมถึงสารชีวโมเลกุลต่างๆที่พบในสิ่งมีชีวิตด้วย ซึ่งปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ ที่มักพบในสภาวะปกติของสิ่งมีชีวิตมีดังนี้

2.5.2.1 ขั้นอินนิทิเอชัน (chain initiation)

อนุมูลอิสระเกิดมาจากกลไกต่างๆกันไดหลายวิธี คือ การแตกพันธะของโมเลกุลที่เรียกว่า Homolysis หรือการแตกพันธะเนื่องจากแสง (photolysis) หรือผลของรังสี (radiolysis) หรือมาจาก ปฏิกิริยารีดอกซ์ (redox) ซึ่งปฏิกิริยาทั้ง 4 จัดเป็นกลไกพื้นฐานในการสรงอนุมูลอิสระจากสารอินทรีย์

1. Bond homolysisโมเลกุลของสารอินทรีย์ที่มีอิเล็กตรอนวงนอกสุด (valence electron) เป็นจำจวนคู่แล้วในทางทฤษฎีสามารถแยกออกจากกันให้ผลลัพธ์เปนอนุมูลอิสระได โดยในสภาวะที่อุณหภูมิปกติ การที่อิเล็กตรอนคู่ในพันธะโควาเลนท์สามารถแยกจากกันไปให้อะตอมแตละตัวไดนั้น ต้องเป็นโมเลกุลที่มี พลังงานระหว่างพันธะที่อ่อนมาก เช่นdisulfide และการเกิดปฏิกิริยาจะมีอัตราที่ช้ามาก จึงคาดว่าไม่น่าจะเกิดในระบบของสิ่งมีชีวิตได ตัวอย่างBond hemolysis แสดงไดดังสมการต่อไปนี้

$$ROOR \longrightarrow 2RO^{x}$$

2. Photolysis เป็นการแตกพันธะของโมเลกุลจากการดูดพลังงานแสง เช่น แสงอัลตร้าไวโอเลต ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น ที่พบมากคือการแตกพันธะของ hydrogen peroxide (H_2O_2) กลายเป็นอนุมูล hydroxyl (HO*) โดยในสิ่งมีชีวิตพลังงานแสงจะถูกดูดโดยโมเลกุลที่มีความไวต่อแสงเช่นรงค์วัตถุและสารอะโรมาติกคาร์บอนบางชนิด หลังดูดพลังงานแสงแลวจะทำให้โมเลกุลอยู่ในสถานะที่ตื่นตัว (excited state) จึงต้องมีการปลดปล่อยพลังงานออกมาเพื่อให้โมเลกุลกลับเข้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สู่สถานะพื้น (ground state) ดังเดิม และวิธีหนึ่งของการคายพลังงาน คือ การแตกพันธะของโมเลกุลเกิดเป็นอนุมูลอิสระ 2 ตัว ดังนี้

$$ROCl \longrightarrow RO^* + Cl^*$$

$$(RCOO)_2 \longrightarrow 2RCOO^*$$

3. Radiolysisพลังงานจากรังสีชนิดต่างๆเช่น รังสีแกมมา รังสีเอ็กซ์ และอิเล็กตรอนที่มีพลังงานสูงสามารถทำให้เกิดการแตกพันธะโควาเลนท์ของโมเลกุลสารไดโดยเฉพาะโมเลกุลน้ำจะให้อนุมูลประจุบวก

(H_2O^{+*}) และอนุมูล hydroxyl (HO*) ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นตัวที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารอินทรีย์สูง ทำให้เกิดอนุมูลอิสระออกมามากมาย นอกจากนี้รังสียังทำให้เกิดอนุมูลอิสระไดโดยตรงจากสารองค์ประกอบเคมีของเซลล์อีกด้วย โดยเฉพาะสามารถก่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันไมอิ่มตัวในร่างกายสิ่งมีชีวิต ซึ่งปฏิกิริยานี้นับเป็นจุดเริ่มต้นที่สำคัญของปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ

4.ปฏิกิริยารีดอกซ์ปฏิกิริยารีดอกซ์หรือเรียกอีกอย่างว่า ปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นทั่วไปในระบบทางชีววิทยา ปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันบางชนิดมีประโยชน แต่มีปฏิกิริยาออกซิเดชันบางชนิดก่อให้เกิดความเสียหาย โดยสามารถก่อให้เกิดสารอนุมูลอิสระไดที่สำคัญคือโมเลกุลของอนุมูล superoxide (O_2^{-*}) ซึ่งสารตัวกลาง (intermediate) ในกระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนในไมโตคอนเดรียและเยื่อหุ้มนิวเคลียส นอกจากนี้ปฏิกิริยารีดอกซ์ของไอออนโลหะในร่างกาย ก็จัดเป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการเกิดอนุมูลอิสระเช่นกัน โดยเฉพาะเหล็ก (Fe^{2+}) และทองแดง (Cu^{2+}) โดยไอออนโลหะ เปรียบเสมือนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยารีดอกซ์

2.5.2.2 ขั้นพรอพาเกชัน (chain propagation)

เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระมีการทำปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระของสารอื่นซึ่งปฏิกิริยาจะดำเนินต่อๆกันไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ ไดอนุมูลอิสระชนิดใหม่ออกมาตลอดเวลา จัดเป็นการเปลี่ยนตำแหน่งของอิเล็กตรอนที่ไม่เข้าคู่ (unpaired electron) ซึ่งสามารถแบ่งกลไกของปฏิกิริยาในขั้นพรอพาเกชันได 3 ชนิด ที่มีความเกี่ยวข้องกับระบบทางชีววิทยาที่เกี่ยวกับสิ่งมีชีวิต คือ

1. การถ่ายทอดอะตอมหรือกลุ่มของอะตอม (atom or group transfer) จัดเป็นกลไกที่เกิดมากที่สุดในลำดับของพรอพาเกชัน โดยปฏิกิริยาจะเกี่ยวข้องกับการดึง ไฮโดรเจนดังสมการ

$$Cl^* + RH \longrightarrow HCl + R^*$$

$$R^*_1 + R_2Cl \longrightarrow R_1Cl + R^*_2$$

2. การถ่ายทอดอิเล็กตรอน (electron transfer) เป็นการถ่ายอิเล็กตรอนจากอนุมูลอิสระที่เป็นกลางหรือมีประจุลบไปให้โมเลกุลที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ (non-radical molecule) ซึ่งเป็นกลไกที่สำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชันไขมันในสิ่งมีชีวิต (Lipid peroxidation)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การเติมอนุมูลอสิระ (addition of radicals) เป็นการเติมกลุ่มอนุมูลอิสระเข้าไปในโมเลกุลต่างๆดังสมการ

$$R^* + O_2 \longrightarrow ROO^*$$

2.5.2.3 ขั้นเทอรมิเนชัน (chain termination)

เป็นขั้นหยุดปฏิกิริยาลูกโซของอนุมูลอิสระประกอบดวยกลไกหลัก 3 ชนิด

1.การรวมตัวกันของอนุมูลอิสระ (Homolinking and cross-linking of radicals) เป็นการรวมตัวกันของอนุมูลอิสระ 2 โมเลกุล โดยการนำอิเล็กตรอนที่ไมมีคูของแต่ละโมเลกุล อนุมูลอิสระมาสร้างพันธะกัน ไดเป็นสารโมเลกุลใหม่ที่มีพันธะรวมกัน หากเป็นการรวมตัวกันระหว่างอนุมูลอิสระ 2 โมเลกุลที่เป็นชนิดเดียวกันเรียกโมเลกุลสารใหม่ที่ไดวา homodimer แตถาเปนการรวมตัวของอนุมูลอิสระต่างชนิดกันเรียก heterodimer ซึ่งกลไกนี้เป็นปฏิกิริยาที่สำคัญในการสร้างสาร

ชีวโมเลกุลที่มีความเสถียรขึ้นมาใหม่ภายในเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิก และไขมัน เป็น ตน การรวมตัวกันของอนุมูลอิสระแสดงไดดังนี้

$$ROO^* + R^* \longrightarrow ROOR$$

$$2ROO^* \longrightarrow ROO\text{-}OOR$$

$$2R^* \longrightarrow R\text{-}R$$

2.การกำจัดอนุมูลอิสระ (Radical scavenging) คำว่าScavenge หมายถึงการกำจัดเอาขยะและส่งที่ไมตองการออกไป ซึ่งในกรณีนี้เปรียบอนุมูลอิสระไดกับสิ่งที่ไมตองการ ซึ่งการกำจัดออกจะกระทำโดยสารกลุ่มหนึ่งที่เรียกว่าscavenger หรือสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) เช่น สารประกอบฟีนอลิกซึ่งจัดเป็นradical scavenger ที่มีประสิทธิภาพรวมทั้งวิตามินซี วิตามินอี วิตามินเอ เป็นต้น

3. การถ่ายทอดอิเล็กตรอน (Electron transfer) เป็นการถ่ายทอดอิเล็กตรอนที่ไมไดจับคูของอนุมูลอิสระออกจากโมเลกุล หรือเป็นการรับเอาอิเล็กตรอน 1 ตัวจากภายนอกมาเข้าคู่กับอิเล็กตรอนเดิมที่ยังมีที่ว่างอยู่ในโมเลกุล ทำให้สภาวะการเป็นอนุมูลอิสระหมดไป เช่น อนุมูล superoxide (O_2^{-*}) เกิดการถ่ายทอดอิเล็กตรอนกลายเป็นโมเลกุลออกซิเจนปกติ (O_2) เป็นต้น (Herzberg, 1971)

2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ

2.6.1 นิยามและความหมายของสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ คือโมเลกุลของสารที่สามารถจับกับตัวรับและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลสารอื่นๆได้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวเนื่องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ ปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถให้ผลิตภัณฑ์เป็นสารอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งสารอนุมูลอิสระเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และทำลายเซลล์ของร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้ายุติปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ด้วยการเข้าจับกับสารอนุมูลอิสระและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยถูกออกซิไดซ์ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงถือเป็นตัวรีดิวซ์ อาทิ ไธออล กรดแอสคอร์บิก และโพลีฟีนอล

แม้ว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นสิ่งสำคัญต่อสิ่งมีชีวิต หากแต่ก็ยังเกิดโทษเช่นกัน ดังนั้นพืชและสัตว์จึงรักษาสมดุลด้วยระบบอันซับซ้อนของปฏิกิริยาโดยสารต้านอนุมูลอิสระดังเช่น กลูต้าไธโอน วิตามินซี และวิตามินอี เช่นเดียวกับเอนไซม์อย่างตัวเร่งปฏิกิริยาและเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ รวมถึงเพอรอกซิเดสต่างๆ ระดับสารต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำหรือเอนไซม์ที่ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มากเกินไป จะยังผลให้เกิดภาวะออกซิเดชันที่มากเกินไป (oxidative stress) นำมาซึ่งการทำลายหรือสร้างความเสียหายแก่เซลล์ได้ (Baillie, 2009)

2.6.2 ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระ

1. สารสกัดจากเมล็ดองุ่น มีคุณสมบัติเด่นในด้านการกำจัดอนุมูลอิสระที่สูงกว่าสารแอนตี้ออกซิเดนท์อื่น ๆ โดยสูงกว่าวิตามินซี 20 เท่า และวิตามินอี 50 เท่า ทั้งยังคงอยู่ในกระแสเลือดได้นานถึง 72 ชม. สามารถป้องกันและลดการทำลายล้างจากสารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายตลอดเวลาทั้งจากปัจจัยภายนอกและปัจจัยภายใน อันเป็นสาเหตุของความเสื่อมและอ่อนแอของร่างกายโดยรวม โดยเฉพาะระบบหลอดเลือด หัวใจ ผิวหนัง และตา เมื่อรับประทานสารสกัดจากเมล็ดองุ่นเป็นประจำจะทำให้ได้รับสาร OPCs เข้าไปยับยั้งการเสื่อมสลายของคอลลาเจนใต้ผิวหนัง (Schuurman, 1998)

2. ชาเขียว ในชาเขียวประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระประเภทฟลาโวนอยด์ ที่ทรงพลังหลายชนิด โดยเฉพาะสาร EGCG ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์แรง โดยมีฤทธิ์มากกว่าวิตามินอีถึง 20 เท่า ลดอัตราการเป็นมะเร็งของอวัยวะต่าง ๆ ได้ดี โดยเฉพาะมะเร็งปอดมะเร็งลำไส้ มะเร็งกระเพาะอาหาร และมะเร็งตับ นอกจากนี้ยังช่วยลดความเป็นพิษจากการสูบบุหรี่ เช่น นิโคติน และน้ำมันทาร์ เป็นต้น (Ruch, 1989)

3. แนทเชอรัลเบต้าคาโรทีน เป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ นอกจากประโยชน์ในการบำรุงสายตาและผิวพรรณแล้ว เบต้าแคโรทีนยังช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งที่ปอดจากการสูบบุหรี่จัด ลดการก่อเซลล์มะเร็งที่ผิวหนัง และทำให้ผิวหนังสามารถต้านทานต่อแสงแดดได้นานยิ่งขึ้น เบต้าแคโรทีนจากธรรมชาติที่สกัดได้จากสาหร่าย *D. Salina* จะเป็นแหล่งของเบต้าแคโรทีนที่เข้มข้น และปลอดภัยกว่าชนิดทั่วไปที่เป็นเคมีสังเคราะห์ ปริมาณการใช้ (Kritchevsky, 1999)

4. สารสกัดจากใบแปะก๊วย ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบแปะก๊วยเป็นผลมาจากสารในกลุ่ม ฟลาโวนไกลโคไซด์ ที่มีอยู่กว่า 20 ชนิดในใบแปะก๊วย ซึ่งช่วยต้านอนุมูลอิสระในร่างกายได้ ทั้งนี้นอกจากคุณสมบัติอันโดดเด่นในการป้องกันความเสื่อมของเซลล์สมองและช่วยบำรุงสุขภาพสมองอย่างมีประสิทธิภาพจนเป็นที่ยอมรับทั่วโลกแล้วนั้น คุณสมบัติในการเพิ่มการไหลเวียนของโลหิตทั่วร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่สมองยังช่วยป้องกันโรคหลอดเลือดอุดตันได้อย่างตรงจุดเช่นกัน (Caygill, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. วิตามินซี นอกจากประโยชน์ในการเสริมภูมิคุ้มกันร่างกาย ช่วยป้องกันโรคหวัด และบรรเทาอาการภูมิแพ้แล้ว วิตามินซียังช่วยสร้างเนื้อเยื่อคอลลาเจน เพิ่มความยืดหยุ่นให้กับผิวพรรณ คลายความเครียด ความอ่อนเพลีย แก้สภาวะการเป็นหมันในผู้ชาย โดยช่วยเพิ่มความแข็งแรง และปริมาณของตัวอสุจิอีกด้วย (Miller, 1997)

6. วิตามินอี ช่วยในเรื่องการบำรุงผิวพรรณ ป้องกันโรคหัวใจและการอุดตันของเส้นเลือดในหัวใจ ทั้งยังช่วยป้องกันการกลายพันธุ์ของเซลล์อันเป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็งต่าง ๆ และสามารถป้องกันการเกิดกระบวนการเพอรอกซิเดชันของไขมันนำไปสู่การพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่ป้องกันโดยลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน อาทิการกำจัดรีแอกทีฟออกซิเจนก่อนที่จะสามารถทำลายเซลล์ได้ (Wolf, 2005)

2.6.3 วิธีวัดความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ

1. วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพเป็นการทดสอบเพื่อหาชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยอาศัยหลักการต่าง ๆ เช่น การทำให้เกิดสี การทำให้เกิดตะกอนความสามารถของการละลายในตัวทำละลาย และการถูกดูดซับโดยตัวดูดซับ วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่นิยม ได้แก่ การตรวจวัดสารโพลีฟีนอลชนิดต่าง ๆ (เช่น Shinoda test และ Pew test) โครมาโตกราฟีแบบชั้นบาง (thin layer chromatography,TLC) และการตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระชนิดต่าง ๆ โดยใช้เครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC)

2. วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านนอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณเป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่าง ๆ วิธีที่นิยมไดแกการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) วิธีการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS) และการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซเฟอรริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) ซึ่งวิธีการดังกล่าวข้างต้นมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนและวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจ โดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือจากค่าการดูดกลืนแสง สารอนุมูลอิสระที่นิยมใช้เช่นABTS และ DPPH การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระหาไดจากอัตราส่วนของการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน (trolox, vitamin C และ ferrous sulfate) หน่วยของการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณแสดงได2แบบ คือ แบบปริมาณความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในตัวอย่างซึ่งค่าตัวเลขสูงก็แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และแบบปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลง 50 % (IC50, 50 % of inhibitory concentration) โดยค่าตัวเลขต่ำแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ทั้งสองแบบสามารถแสดงหน่วยไดหลากหลายไดแก่ μM/mg, mM/mg, μM/mL, mM/mL เป็นต้น (บุหรัน, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ตานอนุมูลอิสระดวยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช Diphenylpicryhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay

เปนการทดสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเปนอนุมูลอิสระในที่นี้ก็คือ อนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH, diphenyl-picryhydrazyl radical)ซึ่งเปนสารสังเคราะหที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได สูงสุดโดยใช้เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอล (สารที่ให้อิเล็กตรอน) จะทำให้สีม่วงจางลง ๆ จนเป็นสีเหลือง (ดังสมการ) ซึ่งกอนนำมาวัดคาการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไวที่มืดเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ทำให้สามารถหาการเป็นสารตานอนุมูลอิสระของสารตัวอยางไดจากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูตรคำนวณไดจากการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงจากการใสตัวอยางเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น (กอนใสสารตัวอยาง) ดังนี้

(สมการ) $DPPH + AH \longrightarrow DPPH\text{-}H + A$

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

โดย A_0 = คาการดูดกลืนแสงตั้งต้น และ A_s = คาการดูดกลืนแสงหลังจากเติมสารตัวอยาง

สารมาตรฐานที่ใช้ในการเทียบฤทธิ์ตานอนุมูลอิสระ คือ โทรล็อกซ (trolox, 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchlorman-2-carboxylic acid) แสดงคาเป็น TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) มีหนวยเป็น mM/mg หรือμM/mg ขอดีของวิธีนี้คืองายสะดวกและรวดเร็วสวนข้อเสียคือDPPH ค่อนข้างเสถียรไมไวตอปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาไดชา ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ตานอนุมูลอิสระที่วัดไดน้อยกว่าความเป็นจริง และตองวัดในปฏิกิริยาที่เปนแอลกอฮอลซึ่งจะทำให้โปรตีนตกตะกอนจึงไมสามารถวิเคราะห์ในตัวอยางที่เป็นเลือดได อีกทั้งสารปนเปอนและโลหะจะรบกวน(interfere) ซึ่งสามารถเป็นตัวรีดิวซแลวทำให้สีของอนุมูลอิสระ DPPH จางลงไดเช่นกัน ไดมีการนำวิธีการนี้ไปใช้ ตัวอยาง เช่น การศึกษาฤทธิ์ตานอนุมูลอิสระในกระถิน ติ้ว และกระโดนบก พบว่าสารสกัดทั้งสามให้ สารสกัดที่มีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระไดดี ขณะที่สารสกัดเมทานอลจากใบของชุมเห็ดเทศมีฤทธิ์ตานออกซิเดชันที่แรงกว่าดอกและฝัก เช่นเดียวกับใบของมะตูมมีฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ (IC_{50}) มากกว่าผลและราก (บุหรัน, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 วิตามินอี α-tocopherol (Earl Mindell's, 2011)

2.7.1 คุณสมบัติทางกายภาพของวิตามินอี

วิตามินอี หรือ โทโคฟีรอล (Tocopherol) เป็นวิตามินที่ละลายได้ดีในไขมัน เป็นแอลกอฮอล์ไม่อิ่มตัว มีสถานะเป็นของเหลว (น้ำมันสีเหลือง) ทนต่อสภาพความร้อน และกรดได้ดี แต่เสื่อมสภาพได้ง่ายเมื่อถูกด่าง แสงแดด รังสีอัลตร้าไวโอเลต และเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อสัมผัสกับอากาศ ซึ่งจะทำให้เกิดการเหม็นหืน พบมากในพืช และสัตว์ทุกชนิด

จัดเป็นหนึ่งในวิตามินที่สำคัญที่ร่างกายจำเป็นต้องได้รับ โดยวิตามินอีจะช่วยป้องกันการแตกของเม็ดเลือดแดง ป้องกันการเกิดลิ่มเลือดและการอุดตันของเส้นเลือด ลดการเกิดกระบวนการอักเสบในร่างกายที่อาจนำไปสู่การเกิดโรคต่างๆ และยังมีฤทธิ์อื่นๆ อีกมากมาย มีหน้าที่เบื้องต้นเสมือนฟองน้ำที่คอยดูดซับอนุมูลอิสระซึ่งเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เซลล์หรือเนื้อเยื่อถูกทำลาย หรือที่รู้จักกันในชื่อของ “สารต้านอนุมูลอิสระ”

2.7.2 ประโยชน์ของวิตามินอีต่อร่างกาย

1. เป็นตัวแอนติออกซิเดนท์ คือทำให้เกิดการเผาผลาญโดยมีออกซิเจนเป็นตัวการสำคัญทำให้ร่างกายเผาผลาญได้ดี

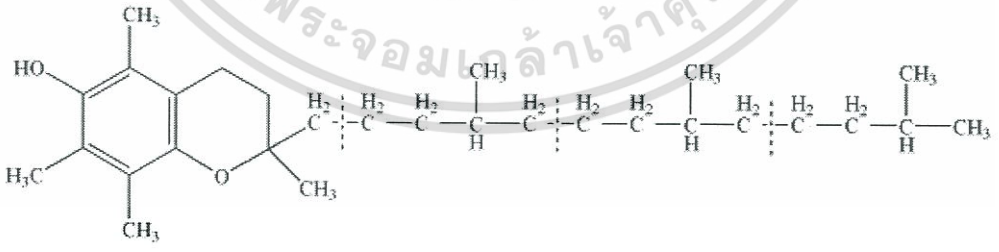
2. เป็นตัวช่วยไขกระดูกในการสร้างเลือด ช่วยขยายเส้นเลือด ต้านการแข็งตัวของเลือด ลดความสามารถในการจับตัวเป็นลิ่มเลือด และลดอัตราเสี่ยงของโรคที่เกี่ยวกับหลอดเลือดสมองและหัวใจ

3. บำรุงตับซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวกับเลือดมาก

4. ช่วยในระบบสืบพันธุ์ เซลล์ประสาท และกล้ามเนื้อให้ทำงานได้ตามปกติ

5. ช่วยให้ผิวพรรณสดใส และช่วยสมานแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวกให้หายเร็วขึ้น

6. ช่วยให้ปอดทำงานดีขึ้นและไม่อ่อนเพลียง่าย (Earl Mindell's, 2011)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างพันธะทางเคมีของวิตามินอี (α – Tocopherol)

ที่มา : http://www.siamchemi.com/วิตามินอี (09/05/2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การประเมินฤทธิ์การรักษาบาดแผลของสารสกัดจากเปลือกลำต้นกระถินณรงค์

การสมานแผล ของครีมที่มีสารสกัดจากเปลือกต้นกระถินณรงค์ โดยใช้สารตัวทำละลายคือเอทานอลและน้ำ สารพฤกษเคมี เช่น คาร์โบไฮเดรต ฟีนอล ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และซาโปนิน ในการรักษาแผลของสารสกัดจากเปลือกลำต้นโดยใช้ เอทานอลและน้ำ พบว่าทั้งสองสูตรมีกิจกรรมการรักษาบาดแผลอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งเห็นได้จากระยะเวลาของการสร้างเยื่อบุผิวที่ลดระยะเวลาลง เพิ่มอัตราการหดตัวของแผล เนื้อเยื่อแข็งแรงขึ้น มีการสร้างเนื้อเยื่อซ่อมแซมแทนเนื้อเยื่อที่ตาย และการสร้างเส้นใยคอลลาเจนในสัตว์ได้รับการรักษาทั้งหมด กิจกรรมที่เกิดขึ้นอาจจะเกิดจากฟีนอล แทนนิน และฟลาโวนอยด์ ซึ่งสารสกัดเอทานอลจากเปลือกของลำต้นกระถินณรงค์มีฤทธิ์ในการรักษาได้ดีกว่าสารสกัดน้ำจากเปลือกของลำต้นกระถินณรงค์

สารสกัดทั้งสองสูตรจากลำต้นกระถินณรงค์พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ในการรักษาบาดแผล โดยการเพิ่มการหดตัวของแผล การสร้างเยื่อบุผิวมีระยะเวลาที่ลดลง และเพิ่มแรงต้านทานในการเกิดบาดแผลเปิด ในขั้นตอนการผ่าตัดรักษาแสดงให้เห็นว่ามีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในอัตราการหดตัวของแผล กลุ่มของสัตว์ที่ได้รับการรักษาจากครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดด้วยเอทานอล มีอัตราการรักษาสูงกว่าครีมที่มีส่วนผสมของสารสกัดด้วยน้ำ โดยอัตราที่เพิ่มขึ้นนี้อาจเกิดจากการสังเคราะห์คอลลาเจนซึ่งเห็นได้จากปริมาณโปรตีนที่ดูได้จากปริมาณของไฮดรอกซิโพรลีนในเนื้อเยื่อซ่อมแซม

จากการศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา ฤทธิ์การรักษาบาดแผลจากสารสกัดอาจเป็นเพราะการพบส่วนประกอบจากพืช เช่น สารประกอบพวกฟีนอล ฟลาโวนอยด์ แทนนิน เป็นต้น โดยสารเหล่านี้ส่งเสริมการรักษาบาดแผลหลายกลไก มีการจับอนุมูลอิสระและสารประกอบที่มีออกซิเจนในโมเลกุล (reactive oxygen species) ส่งเสริมการหดตัวของบาดแผล เพิ่มการก่อตัวของเส้นเลือดฝอย และเพิ่มเซลล์ผิวที่คอยผลิตคอลลาเจนและอิลาสติน (fibroblasts)

ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของ Diffusate พืชกับเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri*

Diffusates จากต้นไม้ป่าส่วนใหญ่,สมุนไพรและไม้พุ่ม แสดงให้เห็นว่าผลการยับยั้งของเชื้อแบคทีเรียกับสายพันธุ์ XC-100 Diffusates จากส่วนต่างๆของต้นมะขามป้อม,ต้นหนาม,ต้นมะคำดีควายและต้นสมอไทยซึ่งมีบริเวณที่ยับยั้ง 4.83 - 6.00 มิลลิเมตรความเข้มข้นที่ 50 g/l ซึ่งมีประสิทธิภาพมากที่สุด Diffusates เหล่านี้แสดงผลยับยั้งแม้ความเข้มข้นที่ 1.25 g/l Diffusates เหล่านี้ที่ระดับความเข้มข้น50, 20และ10 g/lมีประสิทธิภาพมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในการลดจำนวนของรอยบนใบและผล ดังนั้นการเสนอการป้องกันและการดำเนินการรักษา Diffusates จากพืชที่สูงขึ้นจึงดูเหมือนจะเป็นยาต้านจุลชีพที่มีศักยภาพที่สามารถนำมาใช้ในการบริหารจัดการของโรคแคงเกอร์ในพืชตระกูลส้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อมูลเกี่ยวกับผลกระทบของการ Diffusates ต่างๆใน *X. campestris* pv *citri* สายพันธุ์ XC-100 ในหมู่จำนวน Diffusates ขนาดใหญ่ที่มาจากต้นไม้ป่า,สมุนไพร,ไม้พุ่ม,พืชผลไม้, เครื่องเทศ,ผัก,ถั่ว,อาหารสัตว์,เมล็ดน้ำมัน,ธัญพืช,เส้นใย,พืชผลและไม้ดอกไม้ประดับที่รวมอยู่ในการทดสอบมีผลยับยั้งแบคทีเรีย Diffusates ของไม้ป่าของต้นมะขามป้อม,ต้นหนาม,ต้นมะคำดีควายและต้นสมอไทยพบว่ามีประสิทธิภาพมากที่สุด เจือจางที่ 50g/l Diffusates เหล่านี้ทำให้เกิดบริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรียขนาด 4.83-6.00 มิลลิเมตร นอกจากจะมีประสิทธิภาพที่ความเข้มข้นนี้ Diffusates เหล่านี้ยังมีประสิทธิภาพที่สูงขึ้นเมื่อเจือจางความเข้มข้นลง ตามที่เกิดบริเวณที่ยับยั้งแบคทีเรียขนาด 0.5-1 มิลลิเมตรแม้จะเจือจางที่ 1.25 g/l Diffusates จากส่วนของผลไม้แสดงผลยับยั้งในระดับต่ำกว่าการตรวจคัดกรองทางชีวภาพของสารสกัดจากพืชส่วนใหญ่มักต้านเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *citri* ท่ามกลาง Diffusates จากพืชที่แตกต่างกันการทดสอบโดยที่ผู้ทำการทดลองในกลุ่ม Diffusates จากพืชผ่านทดสอบโดยผู้ทดลองจากผลของต้นหนามและต้นสมอไทยแสดงให้เห็นถึงผลการยับยั้งที่มีประสิทธิภาพกับเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* และจากผลการทดลองสารสกัดของต้น *Acacia saligna* โดยใช้ส่วนเนื้อไม้ผลการยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* ได้ 0 มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดจากต้น *Acacia nilotica* โดยใช้ส่วนของเนื้อไม้ผลการยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *citri* ได้ 3.0 มิลลิเมตร โดยทั้งหมดใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานโครงงานพิเศษ

3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ

เก็บใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์จากบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เก็บรวบรวมในเดือนสิงหาคมและกันยายน ปี พ.ศ. 2558

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

Escherichia coli	TISTR 780
Staphylococcus aureus	TISTR 1466
Micrococcus luteus	TISTR 2374
Bacillus cereus	TISTR 687
Xanthomonas campestris pv. *campestris*	TISTR 2065

3.3 สารเคมี

เอทานอลความเข้มข้น 70 95 และ 99.5 เปอร์เซ็นต์

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

ไดเมทิลซัลฟอกไซค์ (dimetylsulfoxide; DMSO)

โซเดียมคลอไรด์ (Sodium chloride; NaCl)

โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate; $NaCO_3$)

วิตามินอี (α – tocopherol)

สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate Buffer; PBS)

Folin – Ciocalteu's reagent

อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Nutrient agar; NA

อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Mueller Hinton Agar; MHA

น้ำกลั่น

3.4 อุปกรณ์

ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส

ตู้ปลอดเชื้อชนิดลมเป่า

หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ

เครื่องอบลมร้อน

ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เครื่องปั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง
ชุดกรองสุญญากาศ
เครื่องระเหยระบบสุญญากาศ
กระดาษกรอง Whatman No. 1
ปากคีบ
ห่วงเขี่ยเชื้อ
ไม้พันสำลี
ทิป
ไมโครปิเปต ขนาด 2-20, 20-200 และ100-1000 ไมโครลิตร
ตะเกียงแอลกอฮอล์
จานเพาะเลี้ยงเชื้อ
จานเพาะเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม
ไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์
ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 500 และ 1000 มิลลิลิตร
ปิเปตต์แก้วขนาด 1 5 และ 10 มิลลิลิตร
ที่เจาะจุกคอร์ก (Cock borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร
ขวด vial
ขวด Duran ขนาด 1000 ml 1 ขวด 500 ml 2 ขวด
ฟอยด์
พาสเจอร์ปิเปตต์
ถาด
ลูกยาง
เครื่องเขย่าสาร

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 กระบวนการสกัดสารจากต้นกระถินณรงค์

นำใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ที่เก็บจากบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง นำมาทำความสะอาดและจัดวางในถาดเพื่อแยกประเภทแล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนเพื่อลดความชื้นและหยุดกิจกรรมของเอมไซม์ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นจนละเอียดแล้วทำการชั่งน้ำหนัก นำผงใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์อย่างละ 200 กรัม มาห่อด้วยผ้าขาวบางและนำไปบรรจุลงในภาชนะที่เป็นแก้วที่ปิดได้สนิท เนื่องจากต้องการความเสถียรและป้องกันการระเหย แล้วเติมเอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1800 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิทแล้วแช่ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นระยะเวลา 7 วันจึงนำไปกรอง จากนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำสารสกัดส่วนที่ผ่านการกรองแล้วไปทำให้เข้มข้น โดยนำไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ จะได้สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ ที่มีลักษณะข้นหนืดจากนั้นเก็บไว้ในที่มืดอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำมาใช้

3.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกที่มีอยู่สารสกัดหยาบจากพืช

เตรียมสารสกัดหยาบจากช่อดอก เนื้อไม้ และใบกระถินณรงค์ให้มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอล 99.5 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงไปในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ 96 หลุม (96-well plate) หลังจากนั้นใส่สารละลาย Folin – Ciocalteu's reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (เข้มข้น 75 กรัมต่อลิตร โดยละลายในน้ำกลั่น) ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ทำการคำนวณหาปริมาณสารฟีนอลลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ โดยเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid)

3.5.3 การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH (DPPH reduction scavenging assay)

เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 ไมโครโมล จากนั้นนำสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ โดยชั่งสารสกัดหยาบจากพืชทั้งสามส่วนมา 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายในเอทานอล 99.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทำการเจือจางด้วยเอทานอล 99.5 เปอร์เซ็นต์ ให้เป็นความเข้มข้นเท่ากับ 5, 2.5, 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในส่วนของวิตามินอี (α – tocopherol) มีความเข้มข้นสูงสุด 50 ไมโครโมล แล้วนำสารตัวอย่างปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงไปในหลุมของจานเพาะเลี้ยงเซลล์ 96 หลุม (96-well plate) หลังจากนั้นหยดสารละลาย DPPH ปริมาตร 190 ไมโครลิตร ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ นำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร โดยใช้วิตามินอีเป็นตัวควบคุมเชิงบวกและเอทานอล 99.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวควบคุมเชิงลบ นำผลที่ได้เป็นค่าดูดกลืนแสงนำไปคำนวณหาร้อยละของปฏิกิริยาดักจับอนุมูลอิสระจากสูตร

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

โดย A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น และ A_s = ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากเติมสารตัวอย่าง

3.5.4 การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (MIC ; Minimum inhibition concentration)

การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ทำโดยใช้วิธี Agar well Diffusion ในการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นจากสารสกัดหยาบจาก ช่อดอก เนื้อไม้ และใบของกระถินณรงค์ โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบได้แก่ *E. coli* TISTR 780 , *S. aureus* TISTR 1466 , *M. luteus* TISTR

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2374, *B. cereus* TISTR 687 และเชื้อจุลินทรีย์ *X. campestris* pv. *campestris* TISTR 2065 โดยมีวิธีการทดสอบคือ เตรียมเชื้อที่ใช้ทดสอบมาผสมกับน้ำเกลือที่ปราศจากเชื้อ (normal salt saline 0.85%) ปรับให้มีความขุ่นเท่ากับมาตรฐาน McFarland 0.5 ซึ่งมีจำนวนเซลล์ประมาณ 1×10^8 CFU/mL โดยใช้ไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จุ่มลงไปในสารแขวนลอยที่เจือจางไว้แล้วทา (swap) ลงบนผิวหน้าของอาหารแข็ง Mueller Hinton Agar (MHA) ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นนำที่เจาะจุกคอร์ก (Cock borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตร เจาะลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำสารละลายจากสารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หยดลงไปเป็นปริมาตร 50 ไมโครลิตร และทิ้งไว้ให้แห้ง ใช้หลุมทดสอบควบคุม (Well control) โดยใช้เอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวควบคุมเชิงลบ และใช้ยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมเชิงบวกจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศา-เซลเซียส เป็นเวลา 24 ถึง48 ชั่วโมง แล้วทำการตรวจผลโดยดูจากเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณเชื้อที่ไม่เจริญ เปรียบเทียบกับหลุมทดสอบชุดควบคุมทั้งเชิงบวกและเชิงลบ ซึ่งแสดงความสามารถของสารสกัดหยาบจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบแต่ละชนิด โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณการยับยั้ง (clear zone) หลังจากทดสอบเบื้องต้นแล้ว จะคัดเลือกเชื้อที่ถูกยับยั้งการเจริญ โดยสารสกัดหยาบจากพืชทั้งสามส่วนที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบกับระดับความเข้มข้นต่างๆคือ 50 25 12.5 6.25 3.125 1.5625 0.7812 0.3906 1.1953 และ 0.0976 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรดังวิธีข้างต้น

3.5.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 สารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้ในการทดลอง

สารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้ในการทดลองได้จากใบ ช่อดอกและเนื้อไม้ของต้นกระถินณรงค์จากภายในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังในเดือนสิงหาคม-กันยายน พ.ศ.2558 มาผ่านกระบวนการการอบแห้งแล้วนำมาบดให้เป็นผง จากนั้นนำมาสกัดโดยใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ จนได้สารสกัดหยาบ นำสารสกัดหยาบที่ได้มาทำให้เข้มข้นโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ จะได้สารสกัดหยาบเข้มข้นของพืชแต่ละส่วน ซึ่งปริมาณสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอกต่อ 400 กรัมน้ำหนักแห้ง และเนื้อไม้ต่อ 200 กรัมน้ำหนักแห้ง ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดโดยเครื่องระเหยสุญญากาศ

ชนิดสารสกัดหยาบ	น้ำหนักสารสกัดหยาบทั้งหมด (กรัม)	น้ำหนักสารสกัดหยาบต่อ100 กรัมน้ำหนักแห้ง (กรัม)
ใบ	42.73	10.68
ช่อดอก	55.83	13.95
เนื้อไม้	22.02	11.01

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากพืช

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ของต้นกระถินณรงค์ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการทดสอบด้วยสารละลาย FolinCiocalteu's reagent และทำการเปรียบเทียบปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ของต้นกระถินณรงค์กับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

จากค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ของต้นกระถินณรงค์ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทำการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก พบว่าสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้ของต้นกระถินณรงค์ที่มีสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดเท่ากับ 1546.95 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งรองลงมาคือสารสกัดหยาบจากใบของต้นกระถินณรงค์มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1207.76 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง และสารสกัดหยาบจากช่อดอกของต้นกระถินณรงค์มีสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุดเท่ากับ 1167.60 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ดังตารางที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ของต้นกระถินณรงค์

สารสกัดหยาบต้นกระถินณรงค์	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	
	mgGAE/100g น้ำหนักแห้ง	mgGAE/g สารสกัด
ใบ	1207.76[b]±0.45	11.31
ช่อดอก	1167.60[c]±1.42	8.37
เนื้อไม้	1546.95[a]±0.28	14.05

หมายเหตุ ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลจากการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ของต้นกระถินณรงค์ที่ พบว่าผลที่ได้มีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Arumugam และคณะในปี 2012 ได้วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้ของต้นกระถินณรงค์ที่สกัดด้วยอะซิโตน 70 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้เท่ากับ 574.51±16.11 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ100กรัมน้ำหนักแห้งส่วนสารสกัดหยาบจากช่อดอกและใบของต้นกระถินณรงค์ยังไม่มีผลการศึกษาในส่วนนี้

4.3 การตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากพืชโดยวิธี DPPH Radical Scavenging

เมื่อนำสารสกัดหยาบที่สกัดจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มาทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธีดักจับอนุมูลอิสระของ DPPH (DPPH Radical Scavenging method) ที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร โดยทำการเจือจางสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 10, 5, 2.5 และ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบจากใบของต้นกระถินณรงค์มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ 26.29, 19.82, 16.97 และ12.8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สารสกัดจากช่อดอกของต้นกระถินณรงค์มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ 28.92, 27.88, 26.26 และ 26.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สารสกัดจากเนื้อไม้ของต้นกระถินณรงค์มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ 33.76, 29.78, 22.63 และ 19.49 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับวิตามินอีที่เป็นตัวควบคุมเชิงบวกนั้นมีค่าเท่ากับ 73.18 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นได้ว่าค่าของตัวควบคุมเชิงบวกมีค่ามากกว่าสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

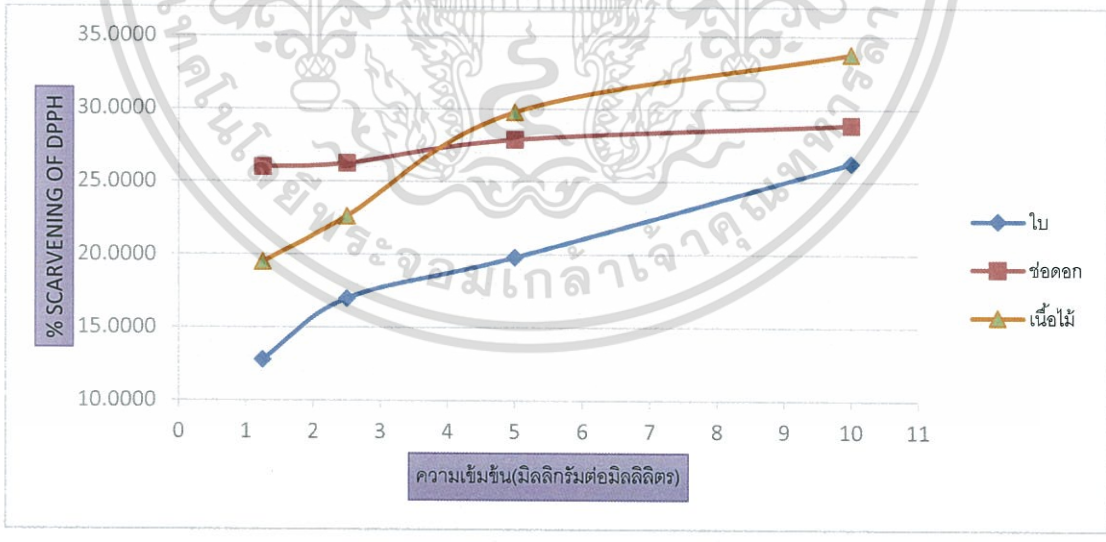
S. shyamala gowri และคณะในปี 2010 ที่ได้ศึกษาใบจากต้น *Acacia nilotica* โดยใช้ 50% ethanol เป็นตัวสกัดและมีผล DPPH Scavenging เท่ากับ 19.30-41.73 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 0.23-0.54 มิลลิกรัม

ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์ DPPH Reduction ของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ของต้นกระถินณรงค์

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	เปอร์เซ็นต์การลดลงของDPPH		
	ใบ	ช่อดอก	เนื้อไม้
1.25	12.80^{d}±0.29	26.00^{a}±9.61	19.49^{b}±2.92
2.5	16.98^{c}±1.41	26.26^{a}±0.64	22.63^{b}±2.11
5	19.82^{b}±2.27	27.89^{a}±1.06	29.77^{a}±0.40
10	26.29^{a}±1.29	28.92^{a}±3.43	33.77^{a}±2.34

หมายเหตุ : ค่าการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินอี (α-Tocopherol) เท่ากับ 73.19 เปอร์เซ็นต์

: ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.1 กราฟแสดงกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของต้นกระถินณรงค์แสดงในรูปของค่า IC_{50} (Inhibition concentration 50%) หรือค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัดที่ใช้ในการลดความเข้มข้นของ DPPH เริ่มต้นลดลงร้อยละ 50 พบว่า สารสกัดทุกชนิดจะมีค่า % การดักจับสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.4 ค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ของต้นกระถินณรงค์

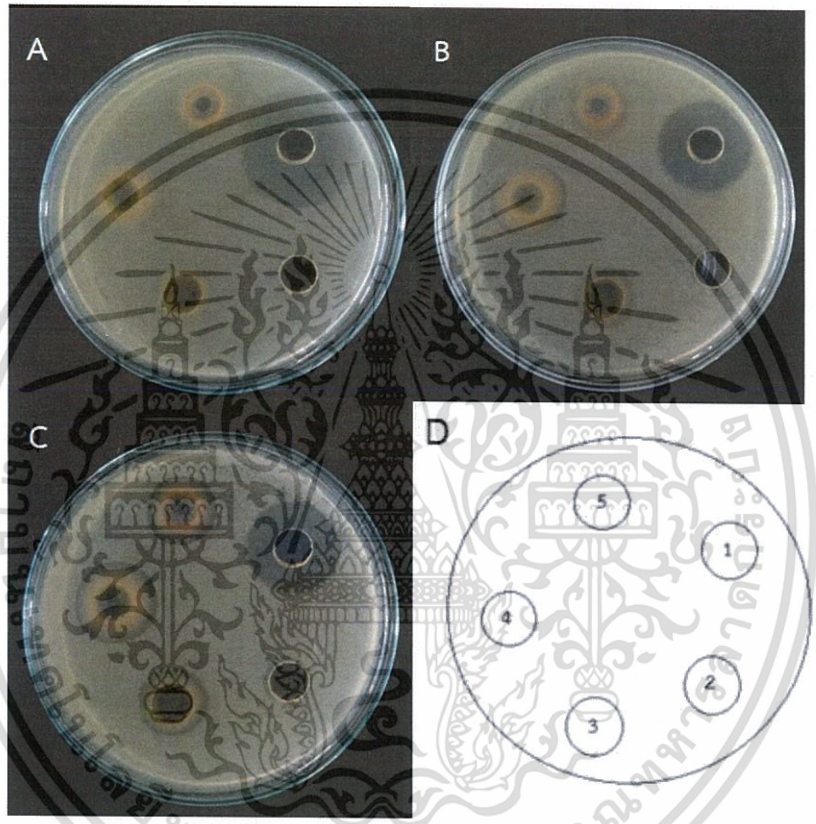
สารสกัดหยาบ	ค่า IC_{50}
ใบ	1.45
ช่อดอก	2.45
เนื้อไม้	1.12

เมื่อพิจารณาค่า IC_{50} พบว่าเนื้อไม้ให้ฤทธิ์ในการยับยั้งได้ดีที่สุดคือมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความไม่สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Tansaringkam ในปี 2008 ที่มีค่า IC_{50} ของสายพันธุ์ *Acacia catechu* ในส่วนของเปลือกมีค่า 10.45 µg/mL ซึ่งมีค่าที่ดีกว่าสารสกัดหยาบของใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ เนื่องจากพืชที่นำมาทดลองเป็นคนละสปีชีส์กัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบจากพืช

โดยนำสารสกัดจากพืชมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 5 ชนิด ได้แก่เชื้อจุลินทรีย์ คือ *E. coli* TISTR 780 , *S. aureus* TISTR 1466 , *M. luteus* TISTR 2374, *B. cereus* TISTR 687 และ *X. campestris* pv. *campestris* TISTR 2065 ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยวิธี Agar well Diffusion และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่เชื้อไม่เจริญรอบๆ หลุมทดสอบสารสกัดหยาบ ดังแสดงในรูป



รูปที่ 4.2 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากส่วนของ ใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli*, *S. aureus* และ *B. cereus*

หมายเหตุ

A: *Escherichia coli*

B: *Staphylococcus aureus*

C: *Bacillus cereus*

D: รูปแบบการจัดหลุม

1: ยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin (ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

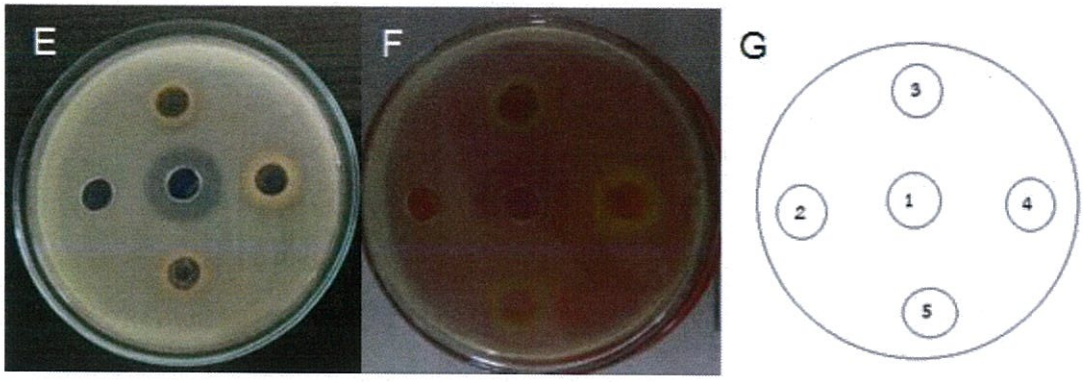
2: เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

3: สารสกัดหยาบจากใบ ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4: สารสกัดหยาบจากช่อดอก ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5: สารสกัดหยาบจากเนื้อไม้ ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากส่วนของ ใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ ในการยับยั้งเชื้อ *M. luteus* และ *X. campestris* pv. *campestris*

หมายเหตุ E: *Micrococcus luteus* G: รูปแบบการจัดหลุม

F: *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

1: ยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin (ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

2: เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

3: สารสกัดหยาบจากใบ ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4: สารสกัดหยาบจากช่อดอก ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

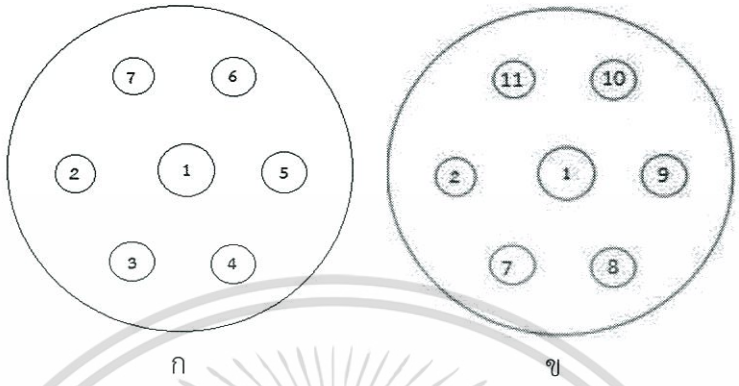
5: สารสกัดหยาบจากเนื้อไม้ ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อพิจารณาจากการทดลองพบว่าสารสกัดทั้งสามชนิดนั้น ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลการทดลองของ Arias ในปี 2004 ซึ่งมีค่าต่ำที่สุดของการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ที่246 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของใบ และ 214 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของดอก เนื่องจากใช้สปีชีส์ของสายพันธุ์พืชที่แตกต่างกัน โดยผลการทดลองของ Arias ใช้สายพันธุ์ *Acacia aroma*

ซึ่งแตกต่างจากสายพันธุ์ที่นำมาใช้ในการทดลองครั้งนี้คือสายพันธุ์ *Acacia auriculiformis* แต่สารสกัดใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ นั้นมีความสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus*, *M. luteus*, *B. cereus* และ *X. campestris* pv. *campestris* ได้จึงนำเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสี่ชนิดไปทดสอบหาค่าต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) เพื่อหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุด โดยนำสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ มาเจือจางด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.5625, 0.7812, 0.3906, 0.1953 และ 0.0976 ตามลำดับ และหยดลงไปในหลุม (well) ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 มิลลิเมตรปริมาตร 50 ไมโครลิตร แล้วมาทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus*, *M. luteus*, *B. cereus* และ *X. campestris* pv. *campestris* โดยใช้เอ

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทานอล 95 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวควบคุมเชิงลบ (Negative control) และยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นตัวควบคุมเชิงบวก (Positive control) โดยมีลักษณะการวางหลุมทดสอบ (well) ดังนี้



รูปที่ 4.4 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus*, *M. luteus*, *B. cereus* และ *X. campestris* pv. *campestris* ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 25 ถึง 1.5625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในรูป ก. และที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.5625 ถึง 0.0976 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในรูป ข.

หมายเหตุ 1: ยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2: เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

3: สารสกัดหยาบจากใบ/ช่อดอก/เนื้อไม้ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4: สารสกัดหยาบจากใบ/ช่อดอก/เนื้อไม้ที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5: สารสกัดหยาบจากใบ/ช่อดอก/เนื้อไม้ที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

6: สารสกัดหยาบจากใบ/ช่อดอก/เนื้อไม้ที่ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

7: สารสกัดหยาบจากใบ/ช่อดอก/เนื้อไม้ที่ความเข้มข้น 1.562 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

8: สารสกัดหยาบจากใบ/ช่อดอก/เนื้อไม้ที่ความเข้มข้น 0.7812 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

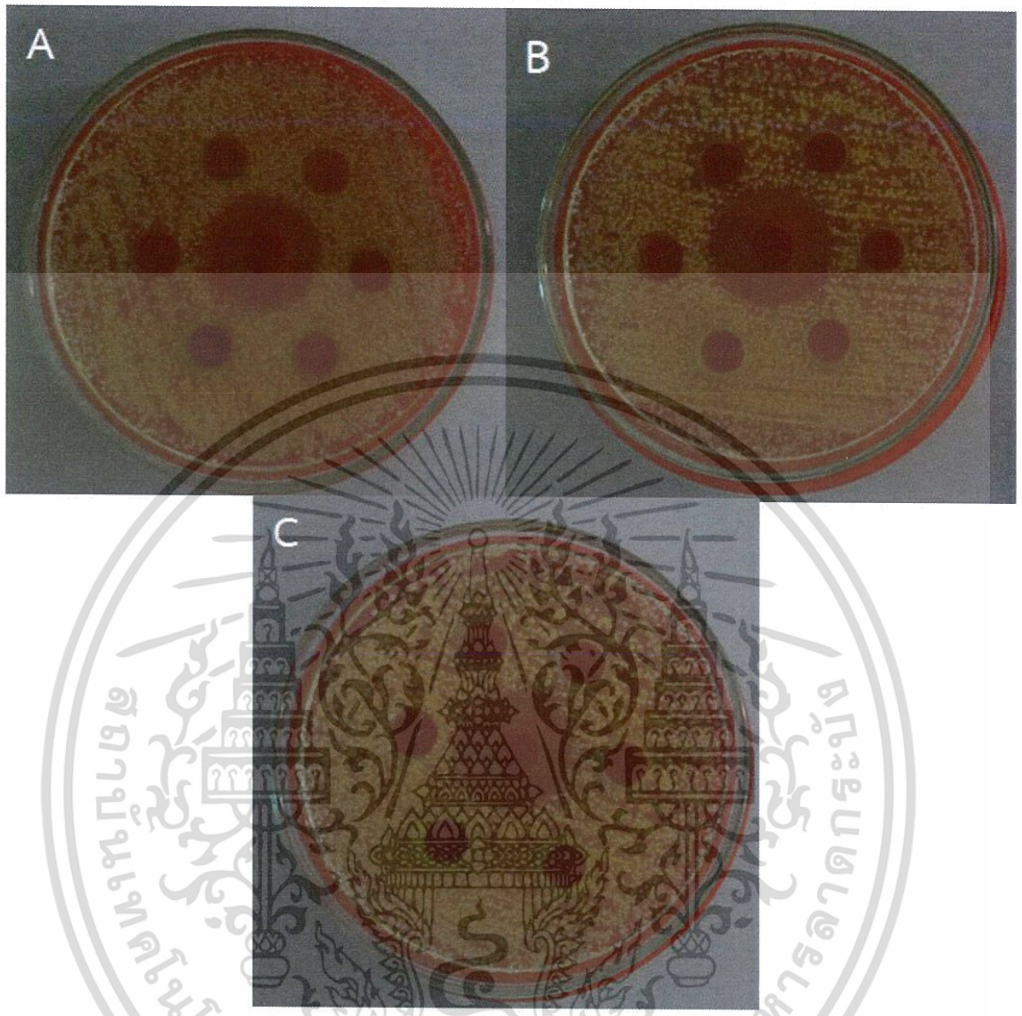
9: สารสกัดหยาบจากใบ/ช่อดอก/เนื้อไม้ที่ความเข้มข้น 0.3906 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

10: สารสกัดหยาบจากใบ/ช่อดอก/เนื้อไม้ที่ความเข้มข้น 0.1953 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

11: สารสกัดหยาบจากใบ/ช่อดอก/เนื้อไม้ที่ความเข้มข้น 0.0976 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 จากสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์



รูปที่ 4.5 ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ที่ความเข้มข้น 1.5625-25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466

หมายเหตุ A: ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากใบ

B: ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากช่อดอก

C: ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากเนื้อไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญสำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 1466

สารสกัดหยาบจากกระถินณรงค์	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญ (มิลลิเมตร)
ใบ	50	14.45^{b}± 0.39
	25	11.56^{c}± 0.56
	12.5	10.00^{f} ± 0.00
ช่อดอก	50	20.16^{b}± 0.28
	25	11.81^{c}± 0.34
	12.5	11.76^{c}± 0.38
	6.25	11.72^{c}± 0.11
	3.125	11.67^{c} ± 0.08
	1.5625	11.51^{c} ± 0.34
	0.7812	10.00^{f} ±0.00
เนื้อไม้	50	15.31^{b} ± 0.42
	25	14.46^{c}± 0.07
	12.5	13.57^{d}± 0.51
	6.25	12.73^{e}± 0.26
	3.125	12.58^{e} ± 0.24
	1.5625	12.48^{e} ± 0.21
	0.7812	10.00^{f} ± 0.00
ชุดควบคุม		**เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สามารถยับยั้งการเจริญ (มิลลิเมตร)**
ยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin (10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		24.41^{a}± 0.58
เอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์		10.00^{f} ± 0.00

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่มีความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

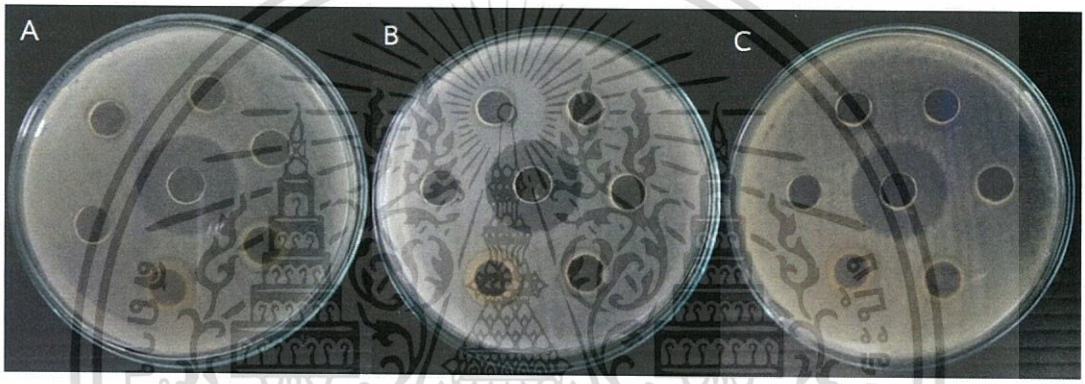
: เส้นผ่านศูนย์กลางของหลุมทดสอบ (well) มีขนาด 10 มิลลิเมตร

: สารสกัดจากใบมีฤทธิ์ยับยั้งต่ำสุดที่ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากจากตารางที่ 4.5 เมื่อพิจารณาจากค่าการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* นั้นมีผลการทดลองที่มีนัยสำคัญดีกว่าการศึกษาของ Voravuthikunchai ในปี 2005 ที่มีค่าการยับยั้งที่น้อยที่สุดของเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* กับพืชสกุล *Acacia catechu* มีค่าเท่ากับ 1.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งมากกว่าผลการทดลองในสกุล *Acacia auriculiformis* ที่มีค่าปริมาณการยับยั้งความเข้มข้นที่น้อยที่สุดในการเจริญของเชื้อ (MIC) *S. aureus* เป็น 0.7812 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสำหรับช่อดอกและเนื้อไม้ตามลำดับ

4.4.2 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374 จากสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์



รูปที่ 4.6 ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ที่ความเข้มข้น 1.5625-25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Micrococcus luteus* TISTR 2374

หมายเหตุ A: ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากใบ
B: ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากช่อดอก
C: ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากเนื้อไม้

จากตารางที่ 4.6 เมื่อนำมาพิจารณาโดยหาค่าปริมาณการยับยั้งที่น้อยที่สุดในการเจริญของเชื้อ *M. luteus* TISTR 2374 พบว่ามีผลที่สอดคล้องกับผลการทดลองของ Chew ในปี 2011 โดยเมื่อดูจากค่า MID หรือค่าปริมาณการให้ยาที่มีค่าต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้สารสกัดจากดอกและใบของกระถินณรงค์ของ Chew นั้น มีค่าต่ำกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจึงสอดคล้องกับการทดลองนี้ ซึ่งได้ค่าฤทธิ์การยับยั้งความเข้มข้นที่น้อยที่สุดในการเจริญของเชื้อ *M. luteus* TISTR 2374 (MIC) ของใบ ช่อดอก และเนื้อไม้เท่ากับ 0.3906, 0.1953 และ 0.1953 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญสำหรับเชื้อ *Micrococcus luteus* TISTR 2374

สารสกัดหยาบจากกระถินณรงค์	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญ (มิลลิเมตร)
ใบ	50	$15.33^{b} \pm 0.50$
	25	$15.04^{b} \pm 0.87$
	12.5	$14.13^{c} \pm 0.37$
	6.25	$13.59^{cd} \pm 0.24$
	3.125	$13.49^{cd} \pm 0.33$
	1.5625	$13.46^{d} \pm 0.36$
	0.7812	$11.70^{e} \pm 0.13$
	0.3906	$10.00^{h} \pm 0.00$
ช่อดอก	50	$17.13^{b} \pm 0.21$
	25	$15.97^{c} \pm 0.28$
	12.5	$14.28^{d} \pm 0.16$
	6.25	$13.52^{e} \pm 0.06$
	3.125	$13.12^{e} \pm 0.27$
	1.5625	$12.41^{f} \pm 0.25$
	0.7812	$11.85^{f} \pm 0.47$
	0.3906	$10.90^{g} \pm 0.86$
	0.1953	$10.00^{h} \pm 0.00$
เนื้อไม้	50	$14.86^{b} \pm 0.24$
	25	$14.85^{b} \pm 0.18$
	12.5	$13.35^{c} \pm 0.53$
	6.25	$13.17^{cd} \pm 0.29$
	3.125	$12.47^{ef} \pm 0.74$
	1.5625	$11.91^{f} \pm 0.34$
	0.7812	$11.84^{f} \pm 0.05$
	0.3906	$11.78^{f} \pm 0.94$
	0.1953	$10.00^{h} \pm 0.00$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

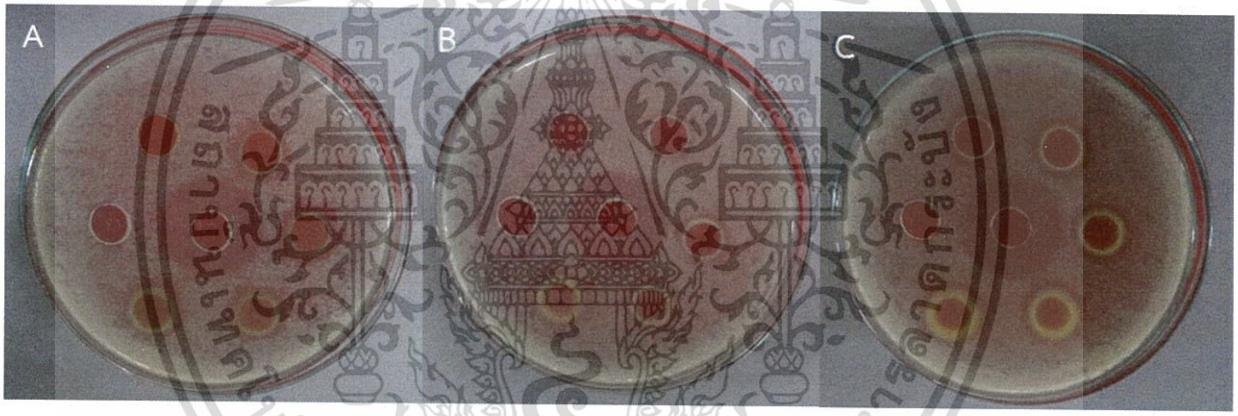
ชุดควบคุม	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สามารถยับยั้งการเจริญ (มิลลิเมตร)
ยาปฏิชีวนะCiprofloxacin(10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	21.55[a] ±0.30
เอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์	10.00[h] ± 0.00

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่มีความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

: เส้นผ่านศูนย์กลางของหลุมทดสอบ (well) มีขนาด 10 มิลลิเมตร

: สารสกัดจากใบมีฤทธิ์ยับยั้งต่ำสุดที่ความเข้มข้น 0.3906 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4.4.3 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687 จากสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์



รูปที่ 4.7 ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ที่ความเข้มข้น 1.5625-25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus cereus* TISTR 687

หมายเหตุ A: ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากใบ

B: ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากช่อดอก

C: ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากเนื้อไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญสำหรับเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687

สารสกัดหยาบจากกระถินณรงค์	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญ (มิลลิเมตร)
ใบ	50	$17.80^{b} \pm 0.25$
	25	$16.34^{c} \pm 0.009$
	12.5	$15.43^{d} \pm 0.08$
	6.25	$15.28^{de} \pm 0.21$
	3.125	$14.92^{e} \pm 0.29$
	1.5625	$10.00^{h} \pm 0.00$
ช่อดอก	50	$22.16^{a} \pm 0.28$
	25	$15.13^{b} \pm 0.02$
	12.5	$12.78^{c} \pm 0.10$
	6.25	$12.03^{d} \pm 0.76$
	3.125	$11.83^{de} \pm 0.28$
	1.5625	$11.81^{de} \pm 0.07$
	0.7812	$11.32^{e} \pm 0.64$
	0.3906	$10.56^{h} \pm 0.26$
	0.1953	$10.00^{h} \pm 0.00$
เนื้อไม้	50	$18.53^{b} \pm 0.02$
	25	$16.28^{c} \pm 0.87$
	12.5	$15.14^{d} \pm 0.07$
	6.25	$13.95^{e} \pm 0.31$
	3.125	$13.71^{e} \pm 0.30$
	1.5625	$12.22^{f} \pm 0.10$
	0.7812	$11.43^{g} \pm 0.33$
	0.3906	$10.57^{h} \pm 0.12$
	0.1953	$10.00^{h} \pm 0.00$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชุดควบคุม	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สามารถยับยั้งการเจริญ (มิลลิเมตร)
ยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin (10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	22.03[a] ±0.76
เอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์	10.00[h] ± 0.00

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่มีความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

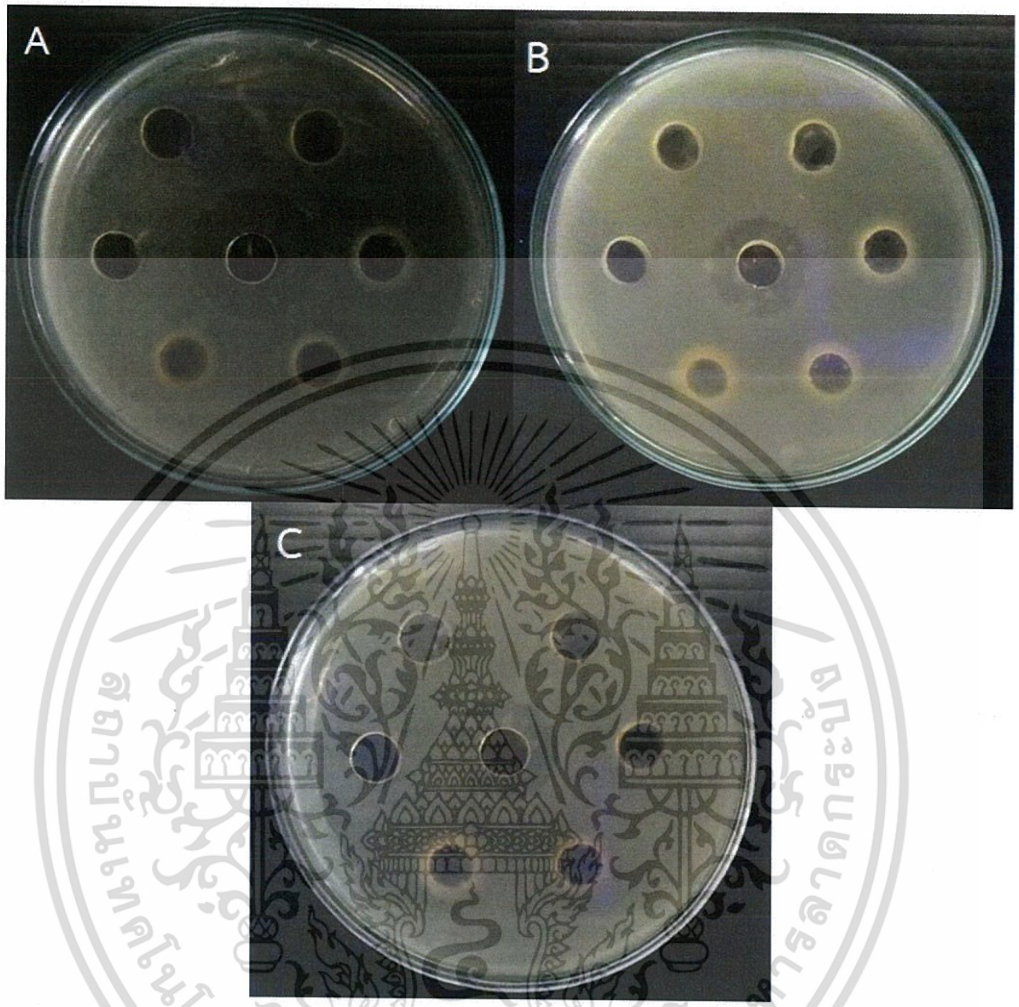
: เส้นผ่านศูนย์กลางของหลุมทดสอบ (well) มีขนาด 10 มิลลิเมตร

: สารสกัดใบมีฤทธิ์ยับยั้งที่ความเข้มข้น 1.5625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อพิจารณาจากจากตารางที่ 4.7 ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของช่อดอกที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin จึงบ่งบอกได้ว่าสารสกัดจากช่อดอกที่ 50 mg/ml สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ *B. cereus* TISTR 687 ได้ดีเท่ากับยาปฏิชีวนะ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Chew ในปี 2011 ที่นอกจากจะศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งของเชื้อ *M. luteus* แล้ว ยังศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ในการยับยั้งของเชื้อ *B. cereus* อีกด้วย ซึ่งผลการทดลองของ Chew นั้นระบุว่า สารสกัดหยาบจากดอกและใบของกระถินณรงค์มีความสามารถในการหาปริมาณการให้ยาที่มีค่าต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (MID) ว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ในความเข้มข้นที่ต่ำกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับในตารางที่ 4.7 ที่ระบุผลการทดลองในการหาปริมาณความเข้มข้นน้อยที่สุดในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* TISTR 687 (MIC) จากส่วนประกอบของ ช่อดอก และเนื้อไม้ได้ 0.1953 และ 0.1953 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.4 ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas campestris pv. campestris* TISTR 2065 จากสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์



รูปที่ 4.8 ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์ที่ความเข้มข้น 1.5625-25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* TISTR 2065

หมายเหตุ A: ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากใบ

B: ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากช่อดอก

C: ตัวอย่างแสดงเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้สารสกัดหยาบจากเนื้อไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญสำหรับเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* TISTR 2065

สารสกัดหยาบจากกระถินณรงค์	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญ (มิลลิเมตร)
ใบ	50	$15.07^{b} \pm 0.50$
	25	$13.27^{c} \pm 0.50$
	12.5	$12.39^{d} \pm 0.43$
	6.25	$12.24^{d} \pm 1.07$
	3.125	$11.34^{e} \pm 0.89$
	1.5625	$10.38^{f} \pm 0.44$
	0.7812	$10.00^{f} \pm 0.00$
ช่อดอก	50	$17.10^{b} \pm 0.25$
	25	$15.52^{c} \pm 1.13$
	12.5	$13.58^{d} \pm 0.73$
	6.25	$12.82^{d} \pm 1.06$
	3.125	$10.88^{f} \pm 0.52$
	1.5625	$10.16^{f} \pm 0.18$
	0.7812	$10.00^{f} \pm 0.00$
เนื้อไม้	50	$15.79^{b} \pm 0.25$
	25	$12.47^{c} \pm 0.27$
	12.5	$10.37^{d} \pm 0.40$
	6.25	$10.00^{f} \pm 0.00$
ชุดควบคุม		**เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่สามารถยับยั้งการเจริญ (มิลลิเมตร)**
ยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin (10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		$20.08^{a} \pm 0.14$
เอทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์		$10.00^{f} \pm 0.00$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่มีความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

: เส้นผ่านศูนย์กลางของหลุมทดสอบ (well) มีขนาด 10 มิลลิเมตร

: สารสกัดเนื้อไม้มีฤทธิ์ยับยั้งที่ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.8 เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ในการหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการยับยั้งเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* TISTR 2065 (MIC) นั้นได้ข้อมูลออกมาว่า ค่าที่ได้จากสารสกัดหยาบของใบ ช่อดอก และเนื้อไม้กระถินณรงค์นั้นมีค่าอยู่ที่ 0.7812, 0.7812 และ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับผลการรายงานของ Satish ในปี 1999 ที่รายงานค่า MIC ของเชื้อ *X. campestris* pv. *campestris* ได้ที่ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งได้ค่าที่น้อยกว่าเนื่องจากใช้สปีชีส์ของสกุล *Acacia* ที่แตกต่างกันโดยผลการทดลองของ Satish นั้นได้ใช้สายพันธุ์ *Acacia arabicae* และสายพันธุ์ *Acacia catechu* ในส่วนของเปลือกไม้แตกต่างจากการทดลองในครั้งนี้ที่ใช้ต้นกระถินณรงค์ (*Acacia auriculiformis*) ในส่วนของใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ที่นำมาทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Total Phenolic Assay ที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้ ช่อดอกและใบของต้นกระถินณรงค์ที่มาจากภายในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดจากเนื้อไม้มีสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดเท่ากับ 1546.95 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากใบซึ่งมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1207.76 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งและสารสกัดหยาบจากช่อดอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 1,167.60 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้ ช่อดอกและใบของต้นกระถินณรงค์มาทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีดักจับอนุมูลอิสระของ DPPH (DPPH Radical Scavenging method)โดยเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินอี (α-Tocopherol) ซึ่งมีค่าเท่ากับร้อยละ 73.19 และเมื่อนำมาวิเคราะห์ในความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบที่ใช้ ในการลดความเข้มข้นของ DPPH เริ่มต้นลดลงร้อยละ 50 (IC_{50}) พบว่าในส่วนของเนื้อไม้มีค่าในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดโดยมีค่า IC_{50} อยู่ที่ 1.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ซึ่งผลของการทดสอบในการหาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีดักจับอนุมูลอิสระของDPPHนั้นสอดคล้องกับการหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้ ช่อดอกและใบของต้นกระถินณรงค์ภายในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เมื่อนำผลที่ได้จากสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอกและเนื้อไม้ ของต้นกระถินณรงค์มาทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) จากเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 5 ชนิดคือได้แก่ เชื้อจุลินทรีย์ คือ *Escherichia coli* TISTR 780, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Micrococcus luteus* TISTR 2374, *Bacillus cereus* TISTR 687 และ *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* TISTR 2065 พบว่าสารสกัดหยาบทั้งสามชนิดนั้นมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ 4 ชนิด ได้แก่ *S. aureus*, *M. luteus*, *B. cereus* และ *X. campestris* pv. *campestris* โดยในส่วนของเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนของช่อดอกและเนื้อไม้มีค่า MIC ที่ต่ำที่สุดคือในช่วงความเข้มข้นที่ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในส่วนของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์ *M. luteus* พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนของช่อดอกและเนื้อไม้มีค่า MIC ที่ต่ำที่สุดคือในช่วงความเข้มข้นที่ 0.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในส่วนของเชื้อจุลินทรีย์ *B. cereus* พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนของช่อดอกและเนื้อไม้มีค่า MIC ที่ต่ำที่สุดคือในช่วงความเข้มข้นที่ 0.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อีกทั้งยังพบว่าในความเข้มข้นที่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสารสกัดหยาบในส่วนของช่อดอกมีค่าการยับยั้งได้แบบไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และในส่วนของเชื้อจุลินทรีย์ *X. campestris* pv. *campestris* พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนของใบและช่อดอกมีค่า MIC ที่ดีที่สุดคือในช่วงความเข้มข้นที่ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดจากเนื้อไม้มีความน่าสนใจที่สุด เนื่องจากมีฤทธิ์ทั้งการต้านอนุมูลอิสระและมี MIC ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus, M. luteus* และ *B. cereus* ได้ต่ำที่สุด

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการสกัดควรใช้ตัวทำละลายที่มีความเหมาะสมต่อการสกัดสารพฤกษเคมีที่มีอยู่ในพืช โดยต้องคำนึงถึงดัชนีความมีขั้ว ความสามารถในการทำละลาย การระเหย พิษวิทยา ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีความรู้เกี่ยวกับคุณลักษณะและคุณสมบัติของสารสำคัญของพืชที่จะนำมาสกัด เพื่อจะเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม อีกทั้งสภาวะแวดล้อมต่างๆ ที่พืชเจริญเติบโตนั้นส่งผลต่อสารสำคัญที่จะพบอยู่ในพืชด้วย ซึ่งบางครั้งพืชสายพันธุ์เดียวกันอาจจะมีปริมาณและชนิดของสารพฤกษเคมีของพืชแตกต่างกันออกไป และเมื่อตั้งขอบเขตของการศึกษาในอนาคต ควรต้องแยกส่วนประกอบของสารพฤกษเคมีของพืชต่างๆออกมา เพื่อศึกษาฤทธิ์ที่เกี่ยวข้อง และการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากต้นกระถินณรงค์นี้เป็นหัวข้อที่น่าสนใจอีกหัวข้อหนึ่ง เพื่อใช้ในการศึกษาและรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเพื่อสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับนวัตกรรมสิ่งใหม่ๆ ในงานวิจัยนี้เราใช้สารสกัดจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้ของต้นกระถินณรงค์มาทดสอบเนื่องจากมีงานเกี่ยวกับฤทธิ์ในพืชตระกูลนี้ว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ แต่ยังไม่มีงานวิจัยใดที่นำใบ ช่อดอก และเนื้อไม้มาสกัดศึกษาถึงฤทธิ์ทางชีวภาพจึงเป็นการที่ดีในการศึกษาเพราะเห็นว่าต้นกระถินณรงค์นั้นพบได้ง่ายและมีจำนวนมากในประเทศไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกรัตน์ ศิริพานิชกร. (2548). **คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยา.** กรุงเทพฯ: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสาธารณสุขศาสตร์ กรุงเทพฯ ; มหาวิทยาลัยมหิดล

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. (2010). มาทำความรู้จักกับเชื้ออีโคไล (ออนไลน์). แหล่งที่สืบค้น : http://www.pharmacy.cmu.ac.th/web2553/n31.php (16 มิถุนายน 2559)

คลินิกเทคนิคการแพทย์ โรจนะแล็ป. (2010). ลักษณะทั่วไปของเชื้อ E. *coli* (ออนไลน์). แหล่งที่สืบค้น : http://www.bloggang.com/viewblog.php?id=kron&group=8 (16 มิถุนายน 2559)

นิจศิริ เรืองรังสี และพะยอม ตันติวัฒน์. (2534). **พืชสมุนไพร.** กรุงเทพฯ: โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮาส์

บุณยรัตนแสงสกุล. (2552). **การศึกษาการป้องกันการเกิดแผลเป็น (HYPERTROPHIC SCAR) ของแผลผ่าตัดต่อมธัยรอยด์ด้วยการทาครีม 5% Imiquimod.** คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี กรุงเทพฯ:มหาวิทยาลัยมหิดล

ประเสริฐ ศรีไพโรจน์. (2528). **เทคนิคทางการแพทย์.** ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒมหาสารคาม

ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.นิธิยา รัตนาปนนท์. (2013). "*Micrococcus* / ไมโครคอกคัส." (ออนไลน์). แหล่งที่สืบค้น : http://www.foodnetwork solution.com/wiki/word/1982/micrococcus (17 มิถุนายน 2559)

พรศักดิ์ มีแก้วและคณะ. (2533). **การทดสอบชนิดและแหล่งไม้สกุลอเอเชีย.** กรุงเทพฯ:ดอกหญ้า

รศ. ดร. จันทร์เพ็ญ วิวัฒน์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. (2011). โรคอุจจาระร่วงจากเชื้ออีโคไล (E. *coli*) (ออนไลน์). แหล่งที่สืบค้น : http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/ /knowledge/article/52/โรคอุจจาระร่วง จากเชื้ออีโคไล (Ecoli)/ (16 มิถุนายน 2559)

สุดสายชล หอมทอง นพวัฒน์ ภูคำ วาทินี พิทักษ์พงศ์ ฐิติพรรณ บางบำรุง และ ณัฐาพร เกตุรัตนมาลี. (2011). การแพร่กระจายของ *Staphylococcus aureus* ในผลไม้พร้อมบริโภคบริเวณอำเภอเมืองชลบุรี จังหวัดชลบุรี

เดชา บุญค้ำ. (2538). **การปฏิบัติวิชาชีพภูมิสถาปัตยกรรม**พิมพ์และปรับปรุงครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เสรี ทรัพยสาร. (2535). **การจัดสวนในบ้าน** ปทุมธานี:วัฒนาพานิช

Arias, M. E., Gomez J.D., Cudmani N.M., Vattuone M.A. and Isla M.I. (2004). "Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Acacia aroma* Gill. ex Hook et Arn." Life sciences 75.2 : 191-202.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Austin, Daniel F. (2004). Florida ethnobotany Fairchild Tropical Garden, Coral Gables, Florida, Arizona-Sonora Desert Museum, Tucson, Arizona: with more than 500 species illustrated by Penelope N. Honychurch [et al.] Boca Raton, FL: CRC Press.pp. 58–59

Baillie, J. K., Thompson A.A.R., Irving J.B., Bates M.G.D., Sutherland A.I., MacNee W., Maxwell S.R.J., Webb D.J. (2009). "Oral antioxidant supplementation does not prevent acute mountain sickness:double blind, randomized placebo-controlled trial." Qjm102.5 : 341-348.

Bacillus anthracis, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis*." Volume 72. : p. 6355–6363.

Baum CL., Klein J., Nachshon BY., Koltunov S., Cano V., (2004). "*Micrococcus luteus* – Survival in Amber". Microbial Ecology 48 : 120–127.

Bhakdi S., Tranum-Jensen J. (1991). "Alpha-toxin of *Staphylococcus aureus*." Microbiol Rev. : 55-733

Caygill, Christine PJ, Andre Charlett, and Michael J. Hill. (1998). "Relationship between the intake of high-fiber foods and energy and the risk of cancer of the lame bowel and breast." European Journal of Cancer Prevention 7.2 : S11-18.

Charles W. (2007). "Black Rot of Cabbage and Related Crops"

Chidumayo, Emmanuel N.; Gumbo, Davison J. (2010). The Dry Forests and Woodlands of Africa: Managing for Products and Services. Routledge. p. 25.

Chinsukjaiprasert, Thamrong. (1989). "มวลชีวภาพและผลผลิตไม้ฟืนของไม้กระถินยักษ์ กระถินณรงค์ และแอปเปิ้ลป่า อายุ 5 ปีที่หน่วยพัฒนาต้นน้ำที่ 32 (ดอยมูเซอร์)"จังหวัดตาก.

Colegate, S. M., and R. J. Molyneux. (2008). "Bioactive Natural Products: Detection." Isolation, and Structural De

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

DelVecchio V., Connolly J., Alefantis T., Walz A., Quan M., Patra G., Ashton J., Whittington J., Chafin R., Liang X., Grewal P., Khan A. and Mujer C. (2006). "Proteomic Profiling and Identification of Immunodominant Spore Antigens of

Earl Mindell's. **New Vitamin Bible.** (2010). กรุงเทพฯ:อมรินทร์สุขภาพ

Easmon CSF., Adlam C. (1983). "*Staphylococci* and *staphylococcal* infections." Vols 1 and 2. Academic Press, London.

Edgar R. Miller., Lawrence J. Appel., Orville A. Levander., David M. Levine. (1997). "The effect of antioxidant vitamin supplementation on traditional cardiovascular risk factors." Journal of cardiovascular risk 4.1 : 19-24.

Foster TJ. (1991) . "Potential for vaccination against infections caused by *Staphylococcus aureus*." Vaccine. : 9-221

Gledhill, David (2006). **The names of plants** (4th ed.). Cambridge: Cambridge University Press.p. 33.

Haddoudi M., Mellouk H., Bejjany B., Dani A., Digua K. (2014). "Valorisation du marc du café: extraction de l'huileet evaluation de son activité antioxydante." *Technologies de Laboratoire* 8.36

Herzberg, Gerhard. (1971). **The spectra and structures of simple free radicals: an introduction to molecular spectroscopy.** Courier Corporation

Hoffmaster A., Hill K., Gee J., Marston C., De B., Popovic T., Sue D., Wilkins P., Avashia S., Drumgoole R., Helma C., Ticknor L., Okinaka R. and Jackson J. (2006). "Characterization of *Bacillus cereus* Isolates Associated with Fatal *Pneumonias* : Strains Are Closely Related to *Bacillus anthracis* and Harbor B. *anthracis* Virulence." Volume 44. : p. 3352-3360.

Kluytmans J., van Belkum A., Verbrugh H. (1997). "Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks" Clin. Microbiol. Rev. 10 : 505–20.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Kocur M., Klosss W. E., & Schliefer K. (2006). "The Genus *Micrococcus*. Prokaryotes." p : 961-971.

Kritchevsky, Stephen B. (1999). "β-Carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease." The Journal of nutrition 129.1: 5-8.

Kuntz L., (2007). "X is for Xanthan Gum". Food Product Design.

Madigan M., Martinko J. (2005). "Brock Biology of Microorganisms." p : 841–860.

Newman, David J., and Gordon M. Cragg. (2007). "Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years." Journal of natural products 70.3 : 461-477.

Ritchie David F., Averre Charles W. (2007). "Bacterial Spot of Pepper and Tomato". North Carolina State University College of Agriculture and Life Sciences.

Ruch, Randall J., Shu-jun Cheng, and James E. Klaunig. (1989). "Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea." Carcinogenesis 10.6 : 1003-1008.

Ryan KJ., Ray CG., (2004). "Sherris Medical Microbiology"

Sathya, Arumugam, and PerumalSiddhuraju. (2012). "Role of phenolic as antioxidants, biomolecule protectors and as anti–diabetic factors–Evaluation on bark and empty pods of *Acacia auriculiformis*." *Asian Pacific journal of tropical medicine* 5.10 : 757-765.

Satish, S., K. A. Raveesha, and G. R. Janardhana. (1999). "Antibacterial activity of plant extracts on phytopathogenic *Xanthomonas campestris*pathovars." Letters in Applied Microbiology 28.2 : 145-147.

Schuurman, A G., Goldbohm R A., Dorant E., Brandt den van PA., (1998) "Vegetable and fruit consumption and prostate cancer risk: a cohort study in The Netherlands." Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention 7.8 : 673-680

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Singh, Sumitra, and Nidhi Sharma. (2014). "Evaluation of wound healing activity of *acacia auriculiformis* a. Cunn. Stem bark." Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research 7.2

Singleton P. (1999). Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine. Wiley. pp. 444–454.

Tansaringkarn, Salfarina Ramli1 Supawan Bunrathep2 Tanasorn, and Nijsiri Ruangrungsi. (2008). "Screening for free radical scavenging activity from ethanolic extract of mimosaceous plants endemic to Thailand." J Health Res 22.2 : 55-59.

Thiele, Kevin R., Funk., Vicki A., Iwatsuki., Kunio., Morat., Philippe., (2011). "The controversy over the retypification of Acacia Mill. with an Australian type: a pragmatic view." Taxon 60.1 : 194-198.

United States Food and Drug Administration. (2007). "Bacillus cereus."

Vicente JG., Holub EB. (2012). "*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (cause of black rot of crucifers) in the genomic era is still a worldwide threat to brassica crops." (ออนไลน์). แหล่งที่สืบค้น : http://www.ncbi.nlm. nih.gov/pubmed/23051837 (17 มิถุนายน 2559)

Vilain S., Luo Y., Hildreth M. and Brozel V. (2006). "Analysis of the Life Cycle of the Soil Saprophyte *Bacillus cereus* in Liquid Soil Extract and in Soil" Volume 72. : p. 4970–4977.

Vogt RL, Dippold L. (2005). "*Escherichia coli* O157:H7 outbreak associated with consumption of ground beef, June-July 2002" Public Health Reports 120 : 174–8.

Voravuthikunchai, S. P., and L. Kitpipit. (2005). "**Activity of medicinal plant extracts against hospital isolates of methicillin-resistant Staphylococcus aureus.**" Clinical microbiology and infection 11.6 : 510-512.

Vorhölter FJ., Thias T., Meyer F., Bekel T., Kaiser O., Pühler A., Niehaus K. (2003). "Comparison of two *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* genomes revealed differences in their gene composition" Volume 106. p : 193-202.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Weber E., Ojanen-Reuhs T., Huguet E., Hause G., Romantschuk M., Korhonen TK., Bonas U., Koebnik R. (2005). "The type III-dependent Hrp pilus is required for productive interaction of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* with pepper host plants". Volume 187 p : 2458-69.

Wolf, George. (2005). "The discovery of the antioxidant function of vitamin E: the contribution of Henry A. Mattill." The Journal of nutrition 135.3 : 363-366.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

1. *Escherichia coli*

Escherichia เป็นแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์ม เป็นตัวชี้การปนเปื้อนของอุจจาระในน้ำ มีอยู่ตามธรรมชาติในลำไส้ใหญ่ของสัตว์และมนุษย์ แบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดอาการท้องเสียบ่อยที่สุด ทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ ทำให้ถ่ายอุจจาระเหลว หรือเป็นน้ำ แต่อาการมักไม่รุนแรง เพราะทั้งเด็ก และผู้ใหญ่มักมีภูมิต้านทานอยู่บ้างแล้ว เนื่องจาก ได้รับเชื้อนี้เข้าไปทีละน้อยอยู่เรื่อยๆ เชื้อนี้มักปนเปื้อนมากับอาหาร น้ำ หรือ มือของผู้ประกอบอาหาร ปกติเชื้อเหล่านี้อาจพบในอุจจาระได้อยู่แล้วแม้จะไม่มีอาการอะไร มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น พม่า ไทย ลาว กัมพูชา อินโดนีเซีย เป็นต้น (จันทร์เพ็ญ, 2011)

รูปภาพภาคผนวก ก ที่ 1 *Escherichia coli* TISTR 780

ที่มา : ผู้จัดทำ (14/11/2015)

คุณสมบัติที่ทำให้เกิดโรค

E. *coli* ในทางเดินอาหารอาจแบ่งออกเป็นชนิดต่างๆ ตามคุณสมบัติทางวิทยาภูมิคุ้มกันและคุณสมบัติในการทำให้เกิดโรค การแบ่งชนิดตามคุณสมบัติที่ทำให้เกิดโรคอาจแบ่งได้ดังนี้

1. *Enterotoxigenic* E. *coli* (ETEC) ที่สร้างสารซึ่งเป็นพิษต่อระบบทางเดินอาหาร ทำให้ท้องเสีย

2. *Enteropathogenic* E. *coli* (EPEC)

3. *Enteroinvasive* E. *coli* (EIEC) ซึ่งรุกรานเซลล์เยื่อบุลำไส้ คล้ายโรคบิดจากเชื้อชิเกลลา ทำให้มีไข้สูง ท้องเสียรุนแรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. *Enterohemorrhagic* E. *coli* (EHEC) ทำให้มีถ่ายเป็นเลือด เชื้อในกลุ่มนี้ที่เป็นที่รู้จักมากที่สุดคือเชื้อชนิด O157:H7 นอกจากนี้ยังสามารถทำให้เกิด Hemolytic-uremic syndrome และไตวายเฉียบพลันได้

5. *Enteroaggregative* E. *coli* (EAEC) (คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2010)

- เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมลบ (gram-negative bacteria)

- รูปร่างเป็นแท่ง (bacillus) มีขนาดประมาณ 2.0 ไมโครเมตร การแบ่งเซลล์แบบ binary fission ของแบคทีเรียวงศ์นี้ จะเกิดการแบ่งตัวมากกว่าหนึ่ง ทำให้เซลล์เกาะกันเป็นกลุ่ม

- มีลักษณะโคโลนีกลมๆโค้งนูน ขอบเรียบและมีขอบชัดเจน ไม่สร้างสปอร์ ไม่มีแคปซูล

- เป็น Lactose fermenter จึงให้ โคโลนี สีชมพูหรือสีแดง เป็นมันเงา

- เยื่อหุ้มเซลล์ที่ล้อมรอบผนังเซลล์ไว้มีหน้าที่ในการป้องกันยาปฏิชีวนะ ทำให้ *Escherichia coli* ไม่ค่อยได้รับการทำลายจากยาปฏิชีวนะ (คลินิกเทคนิคการแพทย์ โรจนะแล็ป, 2010)

- มี flagella ช่วยในการเคลื่อนไหว โดยที่จะมี flagella ยื่นออกมารอบๆตัวเซลล์ (peritrichous flagella)

- ไม่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต (facultatively anaerobic) การเจริญเติบโตที่เหมาะสมคือ อยู่ในอุณหภูมิ 37°c แต่บางสายพันธุ์อาจจะทนอุณหภูมิได้ถึง 49°c (Vogt และคณะ, 2005)

2. *Staphylococcus aureus*

รูปภาพภาคผนวก ก ที่ 2 *Staphylococcus aureus* TISTR 1466

ที่มา : ผู้จัดทำ (14/11/2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นแบคทีเรียก่อโรคชนิดหนึ่ง เมื่อ S. *aureus* ปนเปื้อนลงไปในอาหาร จะสร้างสารพิษที่เรียกว่าเอนเทอโรทอกซินขึ้น ซึ่งแบ่งออกเป็น 8 ชนิด ได้แก่ ชนิด A, B, C1, C2, C3, D, E และ H สารพิษนี้ทนต่อความร้อนได้ดีมาก ทำให้ผู้บริโภคเกิดอาหารเป็นพิษ หลังจากรับประทานอาหารที่มีแบคทีเรียปนเปื้อนเข้าไปประมาณ 1-6 ชั่วโมง อาการของโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจาก S. *aureus* คือ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง ปวดท้องจากสารพิษ อาการมักเกิดขึ้นอย่างเฉียบพลัน ส่วนมากไม่มีไข้ ในรายรุนแรงอาจช็อคได้

อาหารที่มักพบเชื้อ S. *aureus* ปนเปื้อนได้แก่ เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ เนื้อสัตว์ปีกและผลิตภัณฑ์จากไข่ อาหารประเภทสลัดเช่น ไข่ ทูน่า เนื้อไก่ มันฝรั่ง และมักกะโรนี ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ครีมพาย เอแคลร์ ช็อกโกแลต แซนวิช และผลิตภัณฑ์นม ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม และเก็บไว้เป็นเวลานานก่อนรับประทาน (สุดสายชล หอมทองและคณะ, 2011)

- เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมบวก (gram-positive bacteria)

- รูปร่างเป็นพวงองุ่น (staphylococci) มีขนาดประมาณ 0.5-1.0 ไมโครเมตร การแบ่งเซลล์แบบ binary fission ของแบคทีเรียวงศ์นี้ จะเกิดการแบ่งตัวมากกว่าหนึ่ง ทำให้เซลล์เกาะกันเป็นกลุ่มหรือบางครั้งก็เป็นโซ่สั้นๆ

- มีลักษณะโคโลนีที่ขนาดใหญ่ มักจะมีภาวะเม็ดเลือดแดงแตกเมื่อเติบโตขึ้นบนจานอาหาร blood agar (Kluytmans และคณะ, 1997)

- ไม่สร้างสปอร์ ไม่มีแคปซูล สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

- ลักษณะโคโลนีกลม ขอบเรียบ นูน มีสีครีม เหลือง ส้ม (ขึ้นอยู่กับชนิดของคาโรตินอยด์ในเซลล์เมมเบรน รวมถึงอุณหภูมิ อาหารเลี้ยงเชื้อ และสภาวะแวดล้อมที่ทำให้เชื้อเจริญ)

- S. *aureus* สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 6 – 46°C โดยมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30 – 37°C ทนความร้อนที่ 60°C นาน 30 นาที สามารถสร้างสารพิษที่อุณหภูมิมากกว่า 10°C ค่า pH ที่สามารถเจริญได้อยู่ในช่วง pH ที่ 4.0 – 10.0 โดยมีช่วง pH ที่เหมาะสมคือ 7.0 – 7.5

- เชื้อ S. *aureus* เป็น catalase -positive (สามารถผลิตเอนไซม์ catalase ได้) และสามารถเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นน้ำและออกซิเจน (Bhakdi และคณะ, 1991)

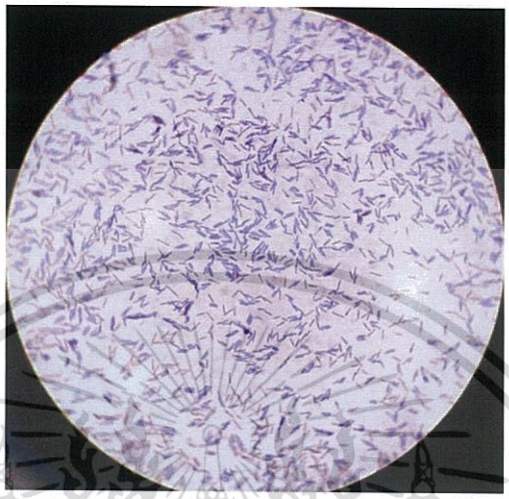
- ไม่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต (facultatively anaerobic)

ติดเชื้อที่ผิวหนังเป็นรูปแบบที่พบมากที่สุดของการติดเชื้อ S. *aureus* ยกตัวอย่างเช่น การอักเสบที่รากผม,โรคอิมเพตติโก(ผิวหนังผุผอง), การติดเชื้อของผิวหนังและเนื้อเยื่ออย่างเฉียบพลัน เป็นต้น การปรากฏตัวของเชื้อ S. *aureus* ในผู้ที่มีโรคผิวหนังภูมิแพ้ไม่ได้เป็นข้อบ่งชี้ในการรักษาด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยาปฏิชีวนะในช่องปากและความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อ S. *aureus* และโรคผิวหนังภูมิแพ้ก็ไม่มีความชัดเจน (Easmon และคณะ, 1983)

3. *Bacillus cereus*



รูปภาพภาคผนวก ก ที่ 3 *Bacillus cereus* TISTR 687

ที่มา : ผู้จัดทำ (14/11/2015)

- เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมบวก (gram-positive bacteria)
- รูปร่างเป็นแท่ง (bacillus)
- ไม่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต (facultatively anaerobic) (Vilain และคณะ, 2006)

เชื้อ *Bacillus cereus* มีลักษณะเป็นรูปท่อนตรง ขนาด 0.3-2.2 x 1.2-7.0ไมโครเมตร ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ สร้างสปอร์ และสร้างสารพิษ ซึ่งจะขับสารพิษออกมาขณะปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ช่วงอุณหภูมิในการเติบโตอยู่ระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์สามารถเติบโตได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 55 องศาเซลเซียส และบางสายพันธุ์เติบโตได้ที่อุณหภูมิ4-5 องศาเซลเซียส สำหรับค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อชนิดนี้อยู่ระหว่าง 6-7และสามารถเติบโตได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนและจะสร้างสารพิษเมื่ออยู่ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนน้อย (DelVecchio และคณะ, 2006)

เชื้อ *Bacillus cereus* พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ในดิน ฝุ่นละออง ผลิตภัณฑ์จากพืชเช่น ข้าว ธัญพืช แป้ง ผลิตภัณฑ์จากแป้งเครื่องเทศ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ และเครื่องปรุงแต่งรสต่างๆ นอกจากนี้ยังพบในอุจจาระของคนที่มีสุขภาพปกติได้ประมาณ 15% เป็นแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเป็นพิษ และสามารถถ่ายทอดเข้าสู่ร่างกายได้ โดยการรับประทานอาหารที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อนอาหารทีพบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ *Bacillus cereus* จนทำให้เกิดอาการอาเจียนได้แก่ อาหารประเภทข้าว และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แป้ง อาทิ มักกะโรนี และข้าวผัด เนยแข็ง ผลิตภัณฑ์จากวานิลลาที่ทำในลักษณะยัดไส้ครีม ส่วนอาหารที่พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจนทำให้เกิดอาการท้องร่วง ได้แก่ ผัก ต่างๆ สลัด อาหารที่มีเนื้อสัตว์เป็นส่วนประกอบ ซอส ซุป และอาหารที่มีแป้งและครีมเป็นส่วนประกอบ (United States Food and Drug Administration, 2007)

เชื้อ *Bacillus cereus* เป็นแบคทีเรียที่สร้างสารพิษ การเกิดพิษมี 2 ลักษณะอาการคือ ทำให้อาเจียน (Emetic illness) และทำให้ท้องเสีย(Diarrhea illness)อาการอาเจียนมักเกิดจากการได้รับสารพิษชนิดที่มีความคงทน ที่สามารถมีชีวิตรอดได้ในอุณหภูมิสูงและค่าความเป็นกรด-ด่างสูง โดยผู้ป่วยจะเกิดอาการคลื่นไส้และอาเจียน ภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไป 11-15 ชั่วโมง โดยทั่วไปมักปรากฏอาการภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไป 30 นาทีถึง 6 ชั่วโมง ส่วนอาการท้องเสียมักเกิดจากสารพิษชนิดที่ไม่ทนความร้อนและกรด ตามปกติใช้เวลาฟักตัวประมาณ 6-12 ชั่วโมง หลังจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนสารพิษของเชื้อ อาการประกอบด้วยการปวดท้องและถ่ายอุจจาระเหลวเนื่องจากมีน้ำมาก โดยทั่วไปอาการจะทรงอยู่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง แล้วจะทุเลาลง (Ryan และคณะ, 2004)

4. *Micrococcus luteus*

รูปภาพภาคผนวก ก ที่ 4 *Micrococcus luteus* TISTR 2374

ที่มา : ผู้จัดทำ (14/11/2015)

- เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมบวก (gram-positive bacteria)

- รูปร่างกลม (coccus) การแบ่งเซลล์แบบ binary fission ของแบคทีเรียวงศ์นี้จะเกิดการแบ่งมากกว่าหนึ่ง ทำให้เซลล์เกาะกันเป็นกลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ไม่สร้างสปอร์

- สร้างเม็ดสี (pigment) ได้ ทำให้มีสีต่างๆ เช่น สีชมพู สีแดง สีส้ม

- มีกระบวนการเมแทบอลิซึมแบบ respiratory คืออาศัยปฏิกิริยาออกซิเดทีฟในการเปลี่ยนสารประกอบคาร์บอนเป็นน้ำและพลังงาน สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรดแต่ไม่ผลิตก๊าซ

- ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต (aerobic bacteria) มีปฏิกิริยา catalase-positive เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophillic bacteria) แต่บางสายพันธุ์เจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (psychrophilic bacteria) (Kocur และคณะ, 2006)

- แหล่งที่พบ พบในดิน ฝุ่น น้ำ และบนผิวหนังของคนและสัตว์ ซากสัตว์

ความสำคัญของ *Micrococcus* กับอาหาร

Micrococcus เป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรค แต่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (microbial spoilage) ของอาหารหลายประเภท เช่น การเน่าเสียของนม การเน่าเสียของไข่ การเน่าเสียของเนื้อสัตว์ เนื้อสัตว์ปีก อาหารกึ่งแห้งจำพวกอาหารทะเล ปลา หอย รวมทั้งผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เช่น ไส้กรอก แฮม ลูกชิ้น (ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์และคณะ, 2013)

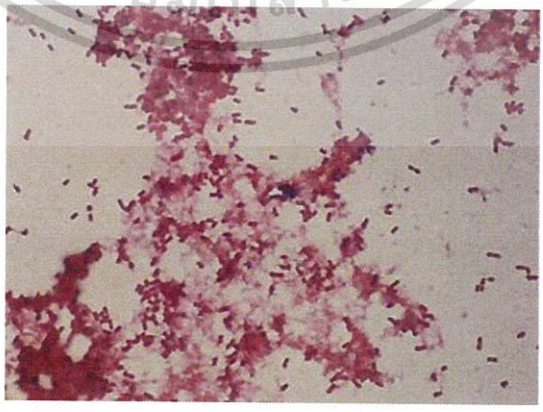
สายพันธุ์ของ *Micrococcus* ที่สำคัญกับอาหาร

Micrococcus luteus

Micrococcus sroseus

Micrococcus radiodurans เป็นเซลล์แบคทีเรียที่ทนต่อการฉายรังสีได้สูงสุด (Baum และคณะ, 2004)

5. *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*



รูปภาพภาคผนวก ก ที่ 5 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* TISTR 2065

ที่มา : https://microbewiki.kenyon.edu/images/d/d9/X.medited.jpg (17/06/2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมลบ (gram-negative bacteria)

- รูปร่างเป็นแท่ง (bacillus) มีลักษณะโดดเด่นคือมีสองผนังเซลล์

- โคโลนีมีสีเหลือง

- เป็นสาเหตุสำคัญของโรคเน่าดำในพืชตระกูลครูซิเฟอร์ (Vicente และคณะ, 2012)

- ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต (aerobic bacteria) มีปฏิกิริยา catalase-positive เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophillic bacteria) โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ที่ 25-30 องศาเซลเซียส และไม่ทำงานที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส

- *Xanthomonas campestris* มีการตอบสนองที่ไวและสามารถก่อโรคได้ (Hrp)

- แหล่งที่พบส่วนมากคือในดิน และสามารถแพร่กระจายผ่านการเคลื่อนไหวของน้ำ ได้แก่ ฝน น้ำ และน้ำผิวดิน (Charles, 2007)

- การฉีดพ่นพืชที่มีสารฆ่าเชื้อราทองแดงอาจลดการแพร่กระจายของเชื้อ *Xanthomonas campestris* ที่อยู่ในแปลงปลูกได้ อย่างไรก็ตามเมื่อพืชได้รับเชื้อ *Xanthomonas campestris* จะแพร่กระจายไปยังก้านเมล็ดและไปยับยั้งการเจริญเติบโตของผลหรือเมล็ดของพืชผักได้

- *X. campestris* สามารถผลิตเป็น polysaccharide สารที่เรียกว่าหมากฝรั่ง xanthan ที่ผลิตในเชิงพาณิชย์ และยังเป็นตัวที่รักษาเสถียรภาพของผลิตภัณฑ์ในชีวิตประจำวันจำนวนมาก เช่น น้ำสลัดและยาสีฟัน เป็นต้น

- โครงสร้างจีโนมของ *X. campestris* มีการเปลี่ยนแปลงขึ้นอยู่กับคุณสมบัติการก่อโรค อย่างไรก็ตามสายพันธุ์ที่แตกต่างกันของ *X. campestris* มีลักษณะคล้ายกัน เช่น โครโมโซมเป็นวงกลม, องค์ประกอบทางพันธุกรรมเคลื่อนที่และลำดับของโปรตีน (Weber และคณะ, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

สูตรอาหาร

1. Mueller Hinton Agar (MHA)

เป็นอาหารสำเร็จรูป ปริมาณที่ใช้ 38 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

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

2. Nutrient Agar (NA)

เป็นอาหารสำเร็จรูป ปริมาตรที่ใช้ 13 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

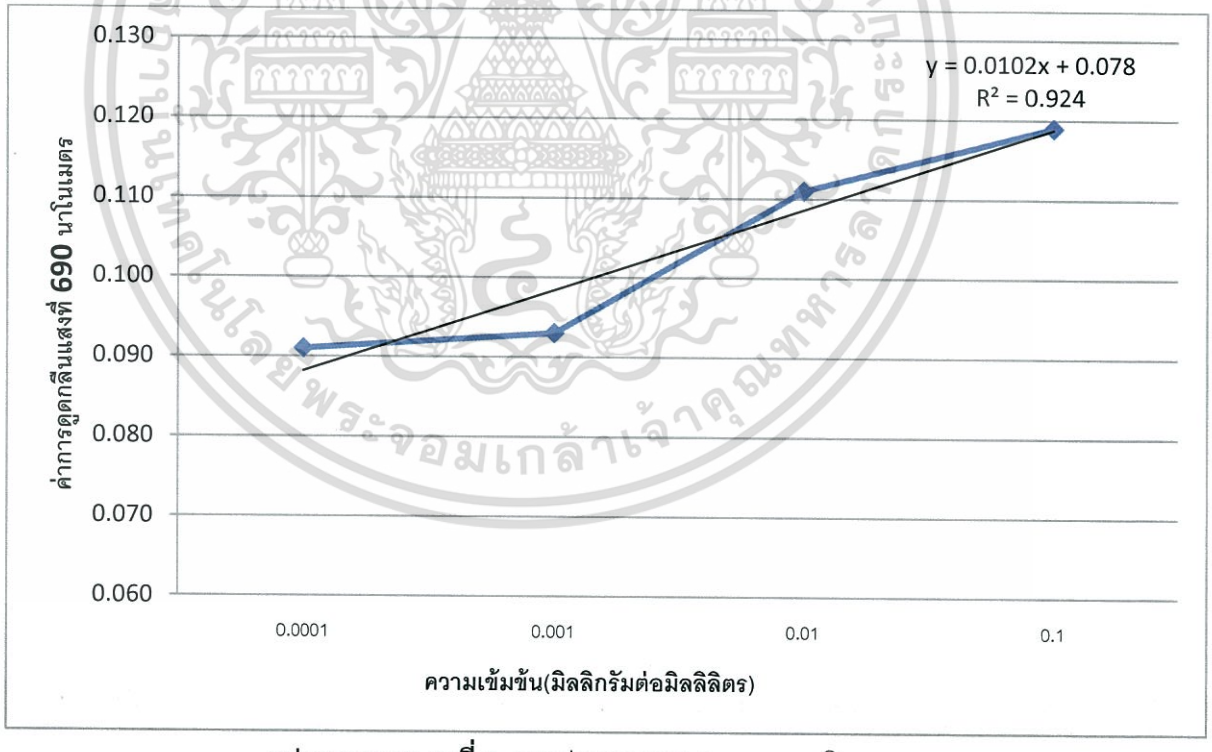
Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
แล้วจึงเติม Agar	15	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค การเตรียมสารละลาย

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
2. ทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ1 , 0.1 , 0.01 , 0.001 และ 0.0001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานแกลลิกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ลงใน well plate ปริมาตร 20 ไมโครลิตร
4. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงใน well plate ผสมให้เข้ากัน
5. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 80 ไมโครลิตรลงในแต่ละ well plate ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
6. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 690 นาโนเมตร
7. เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูกลืนแสงกับปริมาณแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม



รูปภาคผนวก ค ที่ 1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ DPPH Radical Scavenging Assay

การเตรียมสารละลายตัวอย่างในชั้นของเอทานอล 3 ชนิด ได้แก่ ใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ ทำการเตรียม 95% Ethanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด Micro tube 1 หลอด และปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด ต่อสารสกัด 1 ชนิด แล้วทำการระบุความเข้มข้นของสารสกัดไว้ที่หลอดคือ 10, 5, 2.5 และ 1.25 โดยหลอด Micro tube ที่มี 95% Ethanol 1 มิลลิลิตร จะระบุความเข้มข้นที่ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และชั่งสารสกัดหยาบ 10 มิลลิกรัม ใส่ในหลอด Micro tube ผสมให้เข้ากัน จากนั้นทำการเจือจางโดยลดความเข้มข้นลงทีละครึ่ง โดยใช้ไมโครปิเปตดูดมาปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด Micro tube ที่ระบุความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มี 95% Ethanol ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จะได้ปริมาตรสุทธิ 1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางต่อจะได้ความเข้มข้น 2.5 และ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

2.1 การเตรียมสารละลาย DPPH ใน Absolute Ethanol

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

หมายเหตุ 1. ควรเตรียมก่อใช้

2. คำนวณความเข้มข้นของ DPPH (น้ำหนักโมเลกุลของ DPPH= 394.33)

น้ำหนักสาร (g) = $1x10^{-4}$ mole/L x 394.33 g/mole

= 0.039 g/L

ถ้าต้องการเตรียม DPPH ให้มีความเข้มข้น $1x10^{-4}$ mole จำนวน 100 มิลลิลิตร

จะต้องชั่ง DPPH = (0.039 g x 100 mL)/1000 mL

= 0.0039 g

2.2 การเตรียมสารละลายวิตามินอี (α-Tocopherol)

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

1. Agar Well Diffusion Method

การวิเคราะห์ผลผลิตทางชีววิทยาโดยวิธี Agar Well Diffusion เป็นวิธีการวิเคราะห์ปริมาณผลผลิตของสารชีวภาพโดยอาศัยหลักการแพร่ ซึ่งโดยทั่วไปนิยมใช้อาหารวุ้นผสมตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็ง ทำการเจาะวุ้นแล้วหยอดสารที่ต้องการวิเคราะห์ลงในหลุมโดยสารที่ต้องการวิเคราะห์จะแพร่กระจายเข้าสู่อาหารแข็งและเกิดบริเวณใสรอบๆ หลุม

วิธีการทำ Agar Well Diffusion Method

1. เขี่ยเชื้อที่จะทดสอบใส่น้ำเกลือที่ปราศจากเชื้อความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ให้มีความขุ่นเทียบเท่ากับ McFarland 0.5 ซึ่งเหมาะสมต่อการทดสอบ
2. ใช้ไม้สำลี sterile swab เชื้อลงบนอาหารแข็งให้ทั่วผิวหน้า
3. ทำการเจาะอาหารด้วยที่เจาะแล้วเขี่ยวุ้นออกให้เป็นหลุม
4. หยดสารที่ต้องการทดสอบ 50 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม
5. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้ววัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส

การเตรียมMcFarland NO. 0.5

1. เตรียมสารละลายแบเรียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.048 โมลต่อลิตร
2. เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.18 โมลต่อลิตร
3. นำสารละลายแบเรียมคลอไรด์ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายกรดไฮโดร-คลอริกปริมาตร 99.5 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ทำการคำนวณค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS V. 23.0 แบบ One-Way ANOVA ตามวิธีของ Duncan

1. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์

Descriptives

Totalphenalic

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	3	11.307190	.4528237	.2614379	10.182313	12.432066	10.7843	11.5686
ช่อดอก	3	8.366013	1.4184663	.8189519	4.842347	11.889679	7.4510	10.0000
เนื้อไม้	3	14.052288	.2830148	.1633987	13.349240	14.755335	13.7255	14.2157
Total	9	11.241830	2.5766787	.8588929	9.261219	13.222441	7.4510	14.2157

ANOVA

Totalphenalic

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	48.520	2	24.260	31.682	.001
Within Groups	4.594	6	.766		
Total	53.114	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Totalphenalic

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ช่อดอก	3	8.366013		
ใบ	3		11.307190	
เนื้อไม้	3			14.052288
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

2. ค่าวิเคราะห์ทางสถิติของ DPPH Radical Scavenging จากสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	1.25	3	12.79586	.293540	.169476	12.06666	13.52505	12.574	13.129
	2.50	3	16.97485	1.413572	.816126	13.46334	20.48635	15.348	17.899
	5.00	3	19.82249	2.274628	1.313257	14.17200	25.47298	18.454	22.448
	10.00	3	26.29439	1.285893	.742411	23.10005	29.48872	25.444	27.774
	Total	12	18.97189	5.285019	1.525654	15.61395	22.32984	12.574	27.774
ช่อดอก	1.25	3	25.99853	9.608869	5.547683	2.12878	49.86829	16.124	35.318
	2.50	3	26.25740	.640512	.369800	24.66628	27.84852	25.888	26.997
	5.00	3	27.88463	1.058369	.611050	25.25550	30.51377	26.886	28.994
	10.00	3	28.92010	3.430989	1.980882	20.39705	37.44315	26.775	32.877
	Total	12	27.26517	4.557635	1.315676	24.36938	30.16095	16.124	35.318
เนื้อไม้	1.25	3	19.48963	2.915074	1.683019	12.24819	26.73108	17.234	22.781
	2.50	3	22.63317	2.111889	1.219300	17.38694	27.87939	20.451	24.667
	5.00	3	29.77073	.400008	.230945	28.77706	30.76441	29.438	30.215
	10.00	3	33.76480	2.337762	1.349707	27.95748	39.57212	31.546	36.206
	Total	12	26.41458	6.177644	1.783332	22.48950	30.33967	17.234	36.206

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	289.422	3	96.474	43.302	.000
	Within Groups	17.824	8	2.228		
	Total	307.246	11			
ช่อดอก	Between Groups	17.227	3	5.742	.217	.882
	Within Groups	211.265	8	26.408		
	Total	228.492	11			
เนื้อไม้	Between Groups	382.630	3	127.543	27.454	.000
	Within Groups	37.166	8	4.646		
	Total	419.796	11			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ใบ

Duncan[a]

concentration	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1.25	3	12.79586			
2.50	3		16.97485		
5.00	3			19.82249	
10.00	3				26.29439
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ช่อดอก

Duncan[a]

concentration	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1.25	3	25.99853
2.50	3	26.25740
5.00	3	27.88463
10.00	3	28.92010
Sig.		.529

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เนื้อไม้

Duncan[a]

concentration	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
1.25	3	19.48963	
2.50	3	22.63317	
5.00	3		29.77073
10.00	3		33.76480
Sig.		.112	.053

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ที่ทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์

3.1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ที่ทดสอบกับเชื้อ *Bacillus cereus*

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	.0976	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.1953	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.3906	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.7812	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	1.5625	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	3.1250	3	14.922233	.2983169	.1722333	14.181173	15.663294	14.7500	15.2667
	6.2500	3	15.433300	.0866025	.0500000	15.218167	15.648433	15.3333	15.4833
	10.0000	3	22.030000	.7699753	.4445454	20.117275	23.942725	21.3333	22.8567
	12.5000	3	15.289100	.2114834	.1221000	14.763746	15.814454	15.1670	15.5333
	25.0000	3	16.344433	.0096417	.0055667	16.320482	16.368385	16.3333	16.3500
	50.0000	3	17.800000	.2598076	.1500000	17.154602	18.445398	17.5000	17.9500
	95.0000	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	Total	36	13.484922	3.9533136	.6588856	12.147313	14.822531	10.0000	22.8567
ช่อดอก	.0976	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.1953	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.3906	3	10.561133	.2694494	.1555667	9.891784	11.230483	10.2500	10.7167
	.7812	3	11.327767	.6447270	.3722333	9.726176	12.929357	10.5833	11.7000
	1.5625	3	11.811133	.0769608	.0444333	11.619952	12.002315	11.7667	11.9000
	3.1250	3	11.833333	.2886751	.1666667	11.116225	12.550442	11.5000	12.0000
	6.2500	3	12.033333	.1154701	.0666667	11.746490	12.320177	11.9000	12.1000
	10.0000	3	22.030000	.7699753	.4445454	20.117275	23.942725	21.3333	22.8567
	12.5000	3	12.788900	.1058283	.0611000	12.526008	13.051792	12.6667	12.8500
	25.0000	3	15.133367	.0288675	.0166667	15.061656	15.205078	15.1167	15.1667
	50.0000	3	22.166667	.2886751	.1666667	21.449558	22.883775	22.0000	22.5000
	95.0000	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	Total	36	13.307136	4.2359545	.7059924	11.873895	14.740377	10.0000	22.8567

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อไม้	.0976	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.1953	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.3906	3	10.577767	.1251118	.0722333	10.266972	10.888562	10.4333	10.6500
	.7812	3	11.438867	.3367684	.1944333	10.602288	12.275446	11.0500	11.6333
	1.5625	3	12.227800	.1058283	.0611000	11.964908	12.490692	12.1667	12.3500
	3.1250	3	13.711100	.3079586	.1778000	12.946088	14.476112	13.5333	14.0667
	6.2500	3	13.950033	.3175426	.1833333	13.161214	14.738853	13.7667	14.3167
	10.0000	3	22.030000	.7699753	.4445454	20.117275	23.942725	21.3333	22.8567
	12.5000	3	15.144433	.0769608	.0444333	14.953252	15.335615	15.1000	15.2333
	25.0000	3	16.288867	.8756672	.5055667	14.113589	18.464144	15.7833	17.3000
	50.0000	3	18.533333	.0288675	.0166667	18.461622	18.605044	18.5000	18.5500
	95.0000	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	Total	36	13.658517	3.7126882	.6187814	12.402324	14.914710	10.0000	22.8567

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	545.401	11	49.582	742.176	.000
	Within Groups	1.603	24	.067		
	Total	547.004	35			
ช่อดอก	Between Groups	625.458	11	56.860	533.438	.000
	Within Groups	2.558	24	.107		
	Total	628.016	35			
เนื้อไม้	Between Groups	479.037	11	43.549	306.979	.000
	Within Groups	3.405	24	.142		
	Total	482.442	35			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ใบ

Duncan[a]

concentation	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
.0976	3	10.000000					
.1953	3	10.000000					
.3906	3	10.000000					
.7812	3	10.000000					
1.5625	3	10.000000					
95.0000	3	10.000000					
3.1250	3		14.922233				
12.5000	3		15.289100	15.289100			
6.2500	3			15.433300			
25.0000	3				16.344433		
50.0000	3					17.800000	
10.0000	3						22.030000
Sig.		1.000	.095	.501	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ช่อดอก

Duncan[a]

concentation	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
.0976	3	10.000000					
.1953	3	10.000000					
95.0000	3	10.000000					
.3906	3	10.561133					
.7812	3		11.327767				
1.5625	3		11.811133	11.811133			
3.1250	3		11.833333	11.833333			
6.2500	3			12.033333			
12.5000	3				12.788900		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25.0000	3					15.133367	
10.0000	3						22.030000
50.0000	3						22.166667
Sig.		.064	.084	.440	1.000	1.000	.613

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เนื้อไม้

Duncan[a]

concentation	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
.0976	3	10.000000							
.1953	3	10.000000							
95.0000	3	10.000000							
.3906	3	10.577767							
.7812	3		11.438867						
1.5625	3			12.227800					
3.1250	3				13.711100				
6.2500	3				13.950033				
12.5000	3					15.144433			
25.0000	3						16.288867		
50.0000	3							18.533333	
10.0000	3								22.030000
Sig.		.097	1.000	1.000	.445	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ที่ทดสอบกับเชื้อ *Micrococcus luteus*

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	.0976	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.1953	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.3906	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.7812	3	11.700000	.1333000	.0769608	11.368864	12.031136	11.5667	11.8333
	1.5625	3	13.461100	.3637149	.2099909	12.557582	14.364618	13.0667	13.7833
	3.1250	3	13.494433	.3309258	.1910601	12.672368	14.316498	13.1167	13.7333
	6.2500	3	13.599967	.2466441	.1424001	12.987269	14.212665	13.4333	13.8833
	10.0000	3	21.555567	.3097305	.1788230	20.786154	22.324980	21.2000	21.7667
	12.5000	3	14.133333	.3711633	.2142913	13.211312	15.055354	13.8000	14.5333
	25.0000	3	15.044467	.8783353	.5071071	12.862561	17.226373	14.0667	15.7667
	50.0000	3	15.338900	.5014963	.2895390	14.093114	16.584686	15.0167	15.9167
	95.0000	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	Total	36	13.193981	3.2501341	.5416890	12.094293	14.293668	10.0000	21.7667
ช่อดอก	.0976	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.1953	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.3906	3	10.900000	.8685729	.5014708	8.742345	13.057655	10.0000	11.7333
	.7812	3	11.855567	.4765206	.2751193	10.671824	13.039309	11.3333	12.2667
	1.5625	3	12.411100	.2507481	.1447695	11.788207	13.033993	12.2500	12.7000
	3.1250	3	13.122200	.2760519	.1593786	12.436449	13.807951	12.8333	13.3833
	6.2500	3	13.522233	.0693755	.0400540	13.349895	13.694572	13.4667	13.6000
	10.0000	3	21.555567	.3097305	.1788230	20.786154	22.324980	21.2000	21.7667
	12.5000	3	14.288900	.1669270	.0963754	13.874230	14.703570	14.1167	14.4500
	25.0000	3	15.977800	.2849818	.1645343	15.269866	16.685734	15.6500	16.1667
	50.0000	3	17.133333	.2166500	.1250829	16.595145	17.671522	16.9167	17.3500
	95.0000	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	Total	36	13.397225	3.3787954	.5631326	12.254005	14.540445	10.0000	21.7667

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อไม้	.0976	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.1953	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.3906	3	11.788900	.9406692	.5430956	9.452148	14.125652	11.1333	12.8667
	.7812	3	11.844433	.0509211	.0293993	11.717938	11.970928	11.8000	11.9000
	1.5625	3	11.916667	.3444230	.1988527	11.061072	12.772261	11.5333	12.2000
	3.1250	3	12.477767	.7411018	.4278753	10.636768	14.318766	12.0333	13.3333
	6.2500	3	13.177767	.2987840	.1725030	12.435546	13.919987	12.8333	13.3667
	10.0000	3	21.555567	.3097305	.1788230	20.786154	22.324980	21.2000	21.7667
	12.5000	3	13.355567	.5303035	.3061709	12.038220	14.672914	13.0167	13.9667
	25.0000	3	14.855567	.1836079	.1060061	14.399459	15.311674	14.7333	15.0667
	50.0000	3	14.866667	.2466441	.1424001	14.253969	15.479365	14.7000	15.1500
	95.0000	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	Total	36	12.986575	3.1113679	.5185613	11.933840	14.039310	10.0000	21.7667

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	366.564	11	33.324	253.564	.000
	Within Groups	3.154	24	.131		
	Total	369.718	35			
ช่อดอก	Between Groups	396.814	11	36.074	314.295	.000
	Within Groups	2.755	24	.115		
	Total	399.569	35			
เนื้อไม้	Between Groups	334.589	11	30.417	172.475	.000
	Within Groups	4.233	24	.176		
	Total	338.821	35			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ใบ

Duncan[a]

concentation	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
.0976	3	10.000000					
.1953	3	10.000000					
.3906	3	10.000000					
95.0000	3	10.000000					
.7812	3		11.700000				
1.5625	3			13.461100			
3.1250	3			13.494433	13.494433		
6.2500	3			13.599967	13.599967		
12.5000	3				14.133333		
25.0000	3					15.044467	
50.0000	3					15.338900	
10.0000	3						21.555567
Sig.		1.000	1.000	.663	.051	.330	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซ่อดอก

Duncan[a]

concentation	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
.0976	3	10.000000							
.1953	3	10.000000							
95.0000	3	10.000000							
.3906	3		10.900000						
.7812	3			11.855567					
1.5625	3			12.411100					
3.1250	3				13.122200				
6.2500	3				13.522233				
12.5000	3					14.288900			
25.0000	3						15.977800		
50.0000	3							17.133333	
10.0000	3								21.555567
Sig.		1.000	1.000	.056	.161	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เนื้อไม้

Duncan[a]

concentation	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
.0976	3	10.000000					
.1953	3	10.000000					
95.0000	3	10.000000					
.3906	3		11.788900				
.7812	3		11.844433				
1.5625	3		11.916667				
3.1250	3		12.477767	12.477767			
6.2500	3			13.177767	13.177767		
12.5000	3				13.355567		
25.0000	3					14.855567	
50.0000	3					14.866667	
10.0000	3						21.555567
Sig.		1.000	.077	.052	.609	.974	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถิน ณรงค์ที่ทดสอบกับเชื้อ *Staphylococcus aureus*

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	.0976	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.1953	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.3906	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.7812	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	1.5625	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	3.1250	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	6.2500	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	10.0000	3	24.411133	.5853315	.3379413	22.957089	25.865177	23.8000	24.9667
	12.5000	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	25.0000	3	11.566667	.5644486	.3258846	10.164499	12.968835	11.1167	12.2000
	50.0000	3	14.450000	.3968627	.2291288	13.464138	15.435862	14.0000	14.7500
	95.0000	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	Total	36	11.702317	4.0957358	.6826226	10.316519	13.088114	10.0000	24.9667
ช่อดอก	.0976	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.1953	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.3906	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.7812	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	1.5625	3	11.516633	.3403430	.1964971	10.671175	12.362092	11.1333	11.7833
	3.1250	3	11.677900	.0838828	.0484298	11.469523	11.886277	11.6000	11.7667
	6.2500	3	11.727667	.1108888	.0640217	11.452204	12.003130	11.6000	11.8000
	10.0000	3	24.411133	.5853315	.3379413	22.957089	25.865177	23.8000	24.9667
	12.5000	3	11.766667	.3844115	.2219401	10.811735	12.721598	11.4667	12.2000
	25.0000	3	11.811233	.3403963	.1965279	10.965642	12.656825	11.5667	12.2000
	50.0000	3	20.166667	.2886751	.1666667	19.449558	20.883775	20.0000	20.5000
	95.0000	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	Total	36	12.756492	4.4872657	.7478776	11.238219	14.274764	10.0000	24.9667

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อไม้	.0976	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.1953	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.3906	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.7812	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	1.5625	3	12.488900	.2116566	.1222000	11.963116	13.014684	12.3667	12.7333
	3.1250	3	12.588900	.2457227	.1418680	11.978491	13.199309	12.4000	12.8667
	6.2500	3	12.733333	.2666500	.1539505	12.070938	13.395729	12.4667	13.0000
	10.0000	3	24.411133	.5853315	.3379413	22.957089	25.865177	23.8000	24.9667
	12.5000	3	13.577800	.5110769	.2950704	12.308215	14.847385	13.0167	14.0167
	25.0000	3	14.461100	.0673768	.0389000	14.293727	14.628473	14.3833	14.5000
	50.0000	3	15.316667	.4193249	.2420973	14.275006	16.358327	15.0500	15.8000
	95.0000	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	Total	36	12.964819	3.9732287	.6622048	11.620472	14.309167	10.0000	24.9667

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	585.489	11	53.226	780.144	.000
	Within Groups	1.637	24	.068		
	Total	587.127	35			
ช่อดอก	Between Groups	703.095	11	63.918	929.989	.000
	Within Groups	1.650	24	.069		
	Total	704.744	35			
เนื้อไม้	Between Groups	550.608	11	50.055	625.388	.000
	Within Groups	1.921	24	.080		
	Total	552.529	35			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ใบ

Duncan[a]

concentation	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
.0976	3	10.000000			
.1953	3	10.000000			
.3906	3	10.000000			
.7812	3	10.000000			
1.5625	3	10.000000			
3.1250	3	10.000000			
6.2500	3	10.000000			
12.5000	3	10.000000			
95.0000	3	10.000000			
25.0000	3		11.566667		
50.0000	3			14.450000	
10.0000	3				24.411133
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ช่อดอก

Duncan[a]

concentation	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
.0976	3	10.000000			
.1953	3	10.000000			
.3906	3	10.000000			
.7812	3	10.000000			
95.0000	3	10.000000			
1.5625	3		11.516633		
3.1250	3		11.677900		
6.2500	3		11.727667		
12.5000	3		11.766667		
25.0000	3		11.811233		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

50.0000	3			20.166667	
10.0000	3				24.411133
Sig.		1.000	.230	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เนื้อไม้

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05					
concentation	N	1	2	3	4	5	6
.0976	3	10.000000					
.1953	3	10.000000					
.3906	3	10.000000					
.7812	3	10.000000					
95.0000	3	10.000000					
1.5625	3		12.488900				
3.1250	3		12.588900				
6.2500	3		12.733333				
12.5000	3			13.577800			
25.0000	3				14.461100		
50.0000	3					15.316667	
10.0000	3						24.411133
Sig.		1.000	.328	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถิน ณรงค์ที่ทดสอบกับเชื้อ *Xanthomonascampestris* pv. *campestris*

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ใบ	.0976	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.1953	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.3906	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.7812	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	1.5625	3	10.388900	.4401359	.2541126	9.295542	11.482258	10.0000	10.8667
	3.1250	3	11.344433	.8987780	.5189097	9.111745	13.577122	10.3167	11.9833
	6.2500	3	12.244433	1.0797699	.6234054	9.562136	14.926730	11.0000	12.9333
	10.0000	3	20.088867	.1417673	.0818494	19.736697	20.441036	19.9833	20.2500
	12.5000	3	12.394433	.4334073	.2502278	11.317790	13.471077	11.9667	12.8333
	25.0000	3	13.272233	.5083226	.2934802	12.009490	14.534977	12.7667	13.7833
	50.0000	3	15.072233	.5072750	.2928754	13.812092	16.332374	14.5000	15.4667
	95.0000	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	Total	36	12.067128	2.9510436	.4918406	11.068638	13.065617	10.0000	20.2500
ช่อดอก	.0976	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.1953	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.3906	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.7812	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	1.5625	3	10.166333	.1857039	.1072162	9.705019	10.627647	10.0000	10.3667
	3.1250	3	10.888900	.5294900	.3057012	9.573574	12.204226	10.5667	11.5000
	6.2500	3	12.826667	1.0698375	.6176710	10.169043	15.484290	11.8667	13.9800
	10.0000	3	20.088867	.1417673	.0818494	19.736697	20.441036	19.9833	20.2500
	12.5000	3	13.583333	.7320064	.4226241	11.764929	15.401738	12.8000	14.2500
	25.0000	3	15.527767	1.1336145	.6544926	12.711712	18.343821	14.4833	16.7333
	50.0000	3	17.100000	.2500000	.1443376	16.478966	17.721034	16.8500	17.3500
	95.0000	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	Total	36	12.515156	3.3474436	.5579073	11.382544	13.647768	10.0000	20.2500

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อไม้	.0976	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.1953	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.3906	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	.7812	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	1.5625	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	3.1250	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	6.2500	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	10.0000	3	20.088867	.1417673	.0818494	19.736697	20.441036	19.9833	20.2500
	12.5000	3	10.377767	.4018494	.2320079	9.379517	11.376016	10.0000	10.8000
	25.0000	3	12.477767	.2795585	.1614032	11.783305	13.172229	12.3000	12.8000
	50.0000	3	15.794433	.2589051	.1494789	15.151277	16.437589	15.5833	16.0833
	95.0000	3	10.000000	.0000000	.0000000	10.000000	10.000000	10.0000	10.0000
	Total	36	11.561569	3.1066552	.5177759	10.510429	12.612710	10.0000	20.2500

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ใบ	Between Groups	299.021	11	27.184	112.831	.000
	Within Groups	5.782	24	.241		
	Total	304.803	35			
ช่อดอก	Between Groups	385.462	11	35.042	125.042	.000
	Within Groups	6.726	24	.280		
	Total	392.188	35			
เนื้อไม้	Between Groups	337.142	11	30.649	1125.551	.000
	Within Groups	.654	24	.027		
	Total	337.796	35			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ใบ

Duncan[a]

concentation	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
.0976	3	10.000000					
.1953	3	10.000000					
.3906	3	10.000000					
.7812	3	10.000000					
95.0000	3	10.000000					
1.5625	3	10.388900					
3.1250	3		11.344433				
6.2500	3			12.244433			
12.5000	3			12.394433			
25.0000	3				13.272233		
50.0000	3					15.072233	
10.0000	3						20.088867
Sig.		.401	1.000	.711	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ข่อดอก

Duncan[a]

concentation	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
.0976	3	10.000000				
.1953	3	10.000000				
.3906	3	10.000000				
.7812	3	10.000000				
95.0000	3	10.000000				
1.5625	3	10.166333				
3.1250	3	10.888900				
6.2500	3		12.826667			
12.5000	3		13.583333			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25.0000	3			15.527767		
50.0000	3				17.100000	
10.0000	3					20.088867
Sig.		.084	.093	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เนื้อไม้

Duncan[a]

concentation	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
.0976	3	10.000000				
.1953	3	10.000000				
.3906	3	10.000000				
.7812	3	10.000000				
1.5625	3	10.000000				
3.1250	3	10.000000				
6.2500	3	10.000000				
95.0000	3	10.000000				
12.5000	3		10.377767			
25.0000	3			12.477767		
50.0000	3				15.794433	
10.0000	3					20.088867
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ ข้อมูลผลการทดลอง

1. **ข้อมูลผลการทดลองเพื่อหาร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์**

ตารางภาคผนวก ฉ ที่ 1.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากใบจากต้นกระถินณรงค์

ความเข้มข้น (มก/มล)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร				% DPPH Reduction
	1	2	3	เฉลี่ย	
1.25	0.788	0.787	0.783	0.786	12.80
2.5	0.763	0.74	0.742	0.748	16.97
5	0.735	0.699	0.734	0.723	19.82
10	0.651	0.672	0.67	0.664	26.29

ตารางภาคผนวก ฉ ที่ 1.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากช่อดอกจากต้นกระถินณรงค์

ความเข้มข้น (มก/มล)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร				% DPPH Reduction
	1	2	3	เฉลี่ย	
1.25	0.756	0.662	0.583	0.667	26.00
2.5	0.668	0.658	0.668	0.665	26.26
5	0.659	0.651	0.64	0.650	27.88
10	0.66	0.657	0.605	0.641	28.92

ตารางภาคผนวก ฉ ที่ 1.3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์

ความเข้มข้น (มก/มล)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร				% DPPH Reduction
	1	2	3	เฉลี่ย	
1.25	0.696	0.735	0.746	0.726	19.49
2.5	0.679	0.696	0.717	0.697	22.63
5	0.629	0.634	0.636	0.633	29.77
10	0.575	0.599	0.617	0.597	33.76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ฉ ที่ 1.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตรของวิตามินอี

ความเข้มข้น (มก/มล)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร	% DPPH Reduction
0.5	0.242	73.19

2. **ข้อมูลผลการทดลองเพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้**

ตารางภาคผนวก ฉ ที่ 2.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์

สารสกัดหยาบ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร			เฉลี่ย
	1	2	3	
ใบ	0.196	0.188	0.196	0.1933
ช่อดอก	0.156	0.18	0.154	0.1633
เนื้อไม้	0.223	0.218	0.223	0.2213

ตารางภาคผนวก ฉ ที่ 2.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร ของกรดแกลลิก

ความเข้มข้น (มก/มล)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร
0.0001	0.091
0.001	0.093
0.01	0.111
0.1	0.119

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ข้อมูลที่ได้จากการทดลองเพื่อทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

ตารางภาคผนวก ฉ ที่ 3.1 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ ในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus*

เชื้อจุลินทรีย์		ความเข้มข้น (มก/มล)	บริเวณที่สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญ (มิลลิลิตร)		
			ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3
Staphylococcus aureus	ใบ	50	14.75	14.6	14
		25	11.1167	11.3833	12.2
		12.5	10	10	10
		6.25	10	10	10
		3.125	10	10	10
		1.5625	10	10	10
		0.7812	10	10	10
		0.3906	10	10	10
		0.1953	10	10	10
		0.0976	10	10	10
Staphylococcus aureus	ช่อดอก	50	20	20.5	20
		25	12.2	11.5667	11.667
		12.5	11.4667	11.6333	12.2
		6.25	11.8	11.783	11.6
		3.125	11.667	11.6	11.7667
		1.5625	11.6333	11.7833	11.1333
		0.7812	10	10	10
		0.3906	10	10	10
		0.1953	10	10	10
		0.0976	10	10	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์		ความเข้มข้น (มก/มล)	บริเวณที่สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญ (มิลลิลิตร)		
			ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3
Staphylococcus aureus	เนื้อไม้	50	15.8	15.1	15.05
		25	14.3833	14.5	14.5
		12.5	13.7	13.0167	14.0167
		6.25	12.4667	13	12.7333
		3.125	12.5	12.4	12.8667
		1.5625	12.3667	12.7333	12.3667
		0.7812	10	10	10
		0.3906	10	10	10
		0.1953	10	10	10
		0.0976	10	10	10

ตารางภาคผนวก ฉ ที่ 3.2 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ ในการยับยั้งการเจริญของ *Micrococcus luteus*

เชื้อจุลินทรีย์		ความเข้มข้น (มก/มล)	บริเวณที่สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญ (มิลลิลิตร)		
			ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3
Micrococcus luteus	ใบ	50	15.9167	15.0167	15.0833
		25	15.3	15.7667	14.0667
		12.5	13.8	14.5333	14.0667
		6.25	13.4333	13.8833	13.4833
		3.125	13.6333	13.1167	13.7333
		1.5625	13.7833	13.0667	13.5333
		0.7812	11.8333	11.7	11.5667
		0.3906	10	10	10
		0.1953	10	10	10
		0.0976	10	10	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์		ความเข้มข้น (มก/มล)	บริเวณที่สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญ (มิลลิลิตร)		
			ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3
Micrococcus luteus	ช่อดอก	50	17.35	16.9167	17.1333
		25	15.65	16.1167	16.1667
		12.5	14.3	14.45	14.1167
		6.25	13.4667	13.5	13.6
		3.125	12.8333	13.3833	13.15
		1.5625	12.25	12.7	12.2833
		0.7812	11.9667	11.3333	12.2667
		0.3906	10.9667	11.7333	10
		0.1953	10	10	10
		0.0976	10	10	10
Micrococcus luteus	เนื้อไม้	50	15.15	14.75	14.7
		25	14.7333	15.0667	14.7667
		12.5	13.0167	13.9667	13.0833
		6.25	13.3667	13.3333	12.8333
		3.125	12.0667	12.0333	13.3333
		1.5625	11.5333	12.0167	12.2
		0.7812	11.8	11.9	11.8333
		0.3906	11.3667	12.8667	11.1333
		0.1953	10	10	10
		0.0976	10	10	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ฉ ที่ 3.3 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ ในการยับยั้งการเจริญของ *Bacillus cereus*

เชื้อจุลินทรีย์		ความเข้มข้น (มก/มล)	บริเวณที่สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญ (มิลลิลิตร)		
			ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3
Bacillus cereus	ใบ	50	17.5	17.95	18.3
		25	16.3333	16.35	15.8333
		12.5	15.5333	15.167	15.4
		6.25	15.3333	15.4833	14.9333
		3.125	15.2667	14.75	15.3167
		1.5625	10	10	10
		0.7812	10	10	10
		0.3906	10	10	10
		0.1953	10	10	10
		0.0976	10	10	10
Bacillus cereus	ช่อดอก	50	22.5	22	22
		25	15.1667	15.1167	17.0667
		12.5	12.6667	12.85	13.5
		6.25	11.9	12.1	12.4667
		3.125	11.5	12	12.9667
		1.5625	11.9	11.7667	11.8333
		0.7812	10.5833	11.7	10.9
		0.3906	10.25	10.7167	10.3
		0.1953	10	10	10
		0.0976	10	10	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์		ความเข้มข้น (มก/มล)	บริเวณที่สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญ (มิลลิลิตร)		
			ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3
Bacillus cereus	เนื้อไม้	50	18.5	18.55	18.8
		25	17.3	15.7833	16.2833
		12.5	15.2333	15.1	15.8167
		6.25	14.3167	13.7667	13.4667
		3.125	14.0667	13.5333	12.7833
		1.5625	12.35	12.1667	12.3333
		0.7812	11.05	11.6333	11.5833
		0.3906	10.4333	10.65	10.3667
		0.1953	10	10	10
		0.0976	10	10	10

ตารางภาคผนวก ฉ ที่ 3.4 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของสารสกัดหยาบจากใบ ช่อดอก และเนื้อไม้จากต้นกระถินณรงค์ ในการยับยั้งการเจริญของ *Xanthomonas campesstris* pv. *campestris*

เชื้อจุลินทรีย์		ความเข้มข้น (มก/มล)	บริเวณที่สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญ (มิลลิลิตร)		
			ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3
Xanthomonas campesstris pv. *campestris*	ใบ	50	15.25	14.5	15.4667
		25	13.7833	13.2667	12.7667
		12.5	12.3833	11.9667	12.8333
		6.25	12.8	12.9333	11
		3.125	10.3167	11.7333	11.9833
		1.5625	10.8667	10.3	10
		0.7812	10	10	10
		0.3906	10	10	10
		0.1953	10	10	10
		0.0976	10	10	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์		ความเข้มข้น (มก/มล)	บริเวณที่สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญ (มิลลิลิตร)		
			ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3
Xanthomonas campesstris pv. *campestris*	ช่อดอก	50	17.35	16.85	17.1
		25	14.4833	16.7333	15.3667
		12.5	14.25	12.8	13.7
		6.25	13.98	12.6333	11.8667
		3.125	10.5667	10.6	11.5
		1.5625	10.3667	10.1323	10
		0.7812	10	10	10
		0.3906	10	10	10
		0.1953	10	10	10
		0.0976	10	10	10
Xanthomonas campesstris pv. *campestris*	เนื้อไม้	50	16.0833	15.7167	15.5833
		25	12.8	12.3	12.3333
		12.5	10.8	10.3333	10
		6.25	10	10	10
		3.125	10	10	10
		1.5625	10	10	10
		0.7812	10	10	10
		0.3906	10	10	10
		0.1953	10	10	10
		0.0976	10	10	10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้