ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบลีลาวดีจากเอทานอล

ANTIMICROBIAL ACTIVITIES AND ANTIOXIDANT OF *Plumeria acuminata* ETHANOLIC CRUDE EXTRACT

ทิพย์วัลย์ บานไม่รู้โรย
ธนศิริ ทองแจ้น
เบญจวรรณ หงวนตัด

โครงงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบลีลาวดีจากเอทานอล

ANTIMICROBIAL ACTIVITIES AND ANTIOXIDANT OF *Plumeria acuminata* ETHANOLIC CRUDE EXTRACT

ทิพย์วัลย์ บานไม่รู้โรย

ธนศิริ ทองแจ้น

เบญจวรรณ หงวนตัด

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....149050
วัน,เดือน,ปี.....27 S.A. 2560

b.12879915
i.....

โครงงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIMICROBIAL ACTIVITIES AND ANTIOXIDANT OF *Plumeria acuminata* ETHANOLIC CRUDE EXTRACT

THIPAWAN BANMAIROOROY
THANASIRI THONGJAEN
BENJAWAN NGUANTAD

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 LACBRABANG
C YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบลีลาวดีจากเอทานอล Antimicrobial activities and antioxidant of *Plumeria acuminata* ethanolic crude extract	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวทิพย์วัลย์ บานไม่รู้โรย	รหัสนักศึกษา 55051286
	นางสาวธนศิริ ทองแจ้น	รหัสนักศึกษา 55051291
	นางสาวเบญจวรรณ หงวนตัด	รหัสนักศึกษา 55051323
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)	
ภาควิชา	ชีววิทยา	
ปีการศึกษา	2558	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล	

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	**ลายมือชื่อ**
รศ.ดวงใจ โอชัยกุล ประธานกรรมการ	
ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ กรรมการ	
ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบลีลาวดีจากเอทานอล	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวทิพย์วัลย์ บานไม่รู้โรย	รหัสนักศึกษา 55051286
	นางสาวธนศิริ ทองแจ้น	รหัสนักศึกษา 55051291
	นางสาวเบญจวรรณ หงวนตัด	รหัสนักศึกษา 55051323
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)	
ภาควิชา	ชีววิทยา	
คณะ	วิทยาศาสตร์	
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)	
ปีการศึกษา	2558	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล	

บทคัดย่อ

จากการวิจัยฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากต้นลีลาวดี (*Plumaria acuminata*) โดยการนำส่วนเปลือกต้น ดอก และใบที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 โดยนำสารสกัดทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยใช้วิธี agar well diffusion พบว่า สารสกัดส่วนเปลือกต้น ดอก และใบที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด คือ *Escherichia coli* TISTR 780 , *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Bacillus cereus* TISTR 687, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเพียง 1 ชนิด คือ *B. cereus* เมื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ความเข้มข้น 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 ชนิด คือ *Alternaria alternata* TISTR 5282, *Fusarium moniliforme* TISTR 3175 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging พบว่าสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้น ดอก และใบของลีลาวดีมีความเข้มข้นสารสกัดที่ทำให้ปริมาณของอนุมูลอิสระลดลงครึ่งหนึ่ง (IC_{50}) มีค่าเท่ากับ 22.75, 9.41 และ 13.99 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระ (%DPPH) ของสารสกัดส่วนเปลือก ดอก และใบที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าเท่ากับ 33.69, 48.66 และ 26.82 ตามลำดับ การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลลิกทั้งหมดของสารสกัดส่วนเปลือกต้น ดอก และใบ มีค่าเทียบเท่า 0.025, 0.141 และ 0.048 มิลลิกรัมของแกลลิคต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ

คำสำคัญ: ลีลาวดี ฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antimicrobial activities and antioxidant of *Plumeria acuminata* ethanolic crude extract	
Student	Miss Thipawan Banmairooroy	Student ID 55051286
	Miss Thanasiri Thongjaen	Student ID 55051291
	Miss Benjawan Nguantad	Student ID 55051323
Degree	Bachelor of Science (Microbiology)	
Department	Biology	
Faculty	Science	
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)	
Acdemic Year	2015	
Advisor	Dr. Suttijit Sriwacharakul	

Abstract

Screening for bioactivities of *Plumeria acuminata* sample crude extract. The bark, flower, and leaf were extract with 95 % ethanol and then tested bioactivities of these crude. The results of the studied with the investigation of microbial growth inhibition. The bacterial were *Escherichia coli* TISTR 780 , *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Bacillus cereus* TISTR 687, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 and fungi were *Alternaria alternata* TISTR 5282, *Fusarium moniliforme* TISTR 3175 inhibitory effect of *P. acuminata* were carried by agar well diffusion method indicated at a concentration of 50 mg/ml, the crude extract of 3 parts are bark, flower. It was found all these crudes gave no inhibition zone. Then increased the concentration to 100 mg/ml, the crude extract of 3 parts only inhibited against *B. cereus*. In this experiment, the fungi inhibitory effect of *P. acuminata* at concentration of 50 and 100 mg/ml didn't antifungi activity. The result of antioxidant tested by 2,2 – Diphenyl – 1 -picrylhydrazyl (DPPH) radical scaverging method found that the bark, flower, and leaf crude extract gave IC_{50} 22.75, 9.41, and 13.99 mg/ml respectively. %DPPH scavenging at concentration 10 mg/ml were 33.69, 48.66, and 26.82 for bark, flower, and leaf crude extract respectively. Total phenolic analysis of bark, flower, and leaf showed of 0.025, 0.141 and 0.048 mg of gallic acid equivalent per gram of crude extract respectively.

Keyword : *Plumeria acuminata*, Antioxidant, Antimicrobial

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความอนุเคราะห์จากท่าอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ขอขอบพระคุณ ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่กรุณาให้คำแนะนำชี้แนะ ปรับปรุงและแก้ไขด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่งตลอดมา

ขอขอบพระคุณ รศ. ดวงใจ โอชัยกุลและ ผศ. มงคล เพ็ญสายใจ ประธานและกรรมการสอบโครงงานพิเศษนี้ รวมทั้งตรวจสอบ ชี้แนะ ให้คำปรึกษาที่เป็นประโยชน์และแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความเรียบร้อยและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณบิดา มารดาและครอบครัวที่ให้การสนับสนุนในด้านการอำนวยความสะดวกและความเอาใจใส่ รวมทั้งเพื่อนๆที่เป็นกำลังใจสำคัญและช่วยเหลือมาโดยตลอด ขอบพระคุณสาขาวิชาชีววิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่สนับสนุนงบประมาณและอุปกรณ์สำหรับใช้ในการทำโครงงานพิเศษในครั้งนี้

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจหรือผู้ที่ศึกษาค้นคว้างานวิจัยทางด้านนี้ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป

นางสาวทิพย์วัลย์ บานไม่รู้โรย
นางสาวธนศิริ ทองแจ้น
นางสาวเบญจวรรณ หงวนตัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูปภาพ	ฌ
คำย่อ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	1
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและความสำคัญ	3
2.1 ลีลาวดี	3
2.2 สารสำคัญที่พบในพืช	3
2.3 ตัวทำละลายที่สำคัญ	7
2.3.1 การเลือกตัวทำละลายหรือน้ำยาสกัด	7
2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants)	8
2.5 โรคระบบทางเดินอาหาร	12
2.6 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา	12
2.7 ยาต้านจุลชีพ	13
2.7.1 จำแนกตามสูตรโครงสร้างทางเคมี	13
2.7.2 จำแนกตามขอบเขตการออกฤทธิ์	14
2.7.3 จำแนกตามฤทธิ์ต่อจุลชีพ	14
2.7.4 จำแนกตามกลไกการออกฤทธิ์	14
2.8 DPPH activity	15
2.9 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.10 เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary Evapporator)	16
2.11 การศึกษาการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยวิธี Agar well diffusion	17
2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	17
2.12.1 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย	17
2.12.2 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา	17
2.12.3 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ	17
บทที่ 3 วิธีดาเนินงาน	18
3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ	18
3.2 เชื้อจุลินทรีย์	18
3.2.1 เชื้อรา (Fungi)	18
3.2.2 แบคทีเรีย (Bacteria)	18
3.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ	18
3.3.1 สารเคมี	18
3.3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ	19
3.4 เครื่องมือและอุปกรณ์	19
3.4.1 เครื่องมือ	19
3.4.2 อุปกรณ์	20
3.5 วิธีการทดลอง	21
3.5.1 การเตรียมตัวอย่างพืช	21
3.5.2 การสกัดสารสกัดหยาบ	21
3.5.3 ศึกษาสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ	21
3.5.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	21
3.5.3.2 การทดสอบ DPPH	21
3.5.4 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน	22
3.5.4.1 เตรียมเชื้อแบคทีเรีย (Bacteria)	22
3.5.4.2 เตรียมเชื้อรา (Fungi)	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.5.5 การทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ (Antimicrobial)..... 22

3.5.5.1. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Antibacterial)..... 22

3.5.5.2. การทดสอบฤทธิ์ต้านรา (Antifungal)..... 23

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปราย..... 24

4.1 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากลีลาวดี..... 24

4.1.1 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบลีลาวดี..... 24

4.1.2 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดหยาบลีลาวดี..... 25

4.1.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด..... 28

4.1.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในสารสกัด..... 28

4.1.3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบลีลาวดี..... 28

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 31

เอกสารอ้างอิง..... 33

ภาคผนวก ก จุลินทรีย์ในการทดสอบ..... 36

ภาคผนวก ข ข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการทดสอบ..... 45

ภาคผนวก ค ผลการคำนวณจากโปรแกรม SPSS..... 55

ภาคผนวก ง สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ..... 66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณที่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากลีลาวดีจากเอทานอลร้อยละ 95 ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml)	25
4.2	แสดงบริเวณที่เกิดการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดหยาบลีลาวดีโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml)	26
4.3	แสดงค่าปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ดอกและใบของลีลาวดี (มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมของน้ำหนักสารสกัด)	28
4.4	แสดงร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเปลือกต้น ดอกและใบของลีลาวดี	29
4.5	แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นลีลาวดี	30
ข.1	แสดงข้อมูลดิบการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะ (ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 50 mg/ml)	45
ข.2	แสดงข้อมูลดิบการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของลีลาวดีที่ความเข้มข้น 50 mg/ml	46
ข.3	แสดงข้อมูลดิบการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากดอกของลีลาวดีที่ความเข้มข้น 50 mg/ml	47
ข.4	แสดงข้อมูลดิบการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากดอกของลีลาวดีที่ความเข้มข้น 50 mg/ml	48
ข.5	แสดงข้อมูลดิบการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะ (ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 100 mg/ml)	49
ข.6	แสดงข้อมูลดิบการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของลีลาวดีที่ความเข้มข้น 100 mg/ml	50
ข.7	แสดงข้อมูลดิบการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากดอกของลีลาวดีที่ความเข้มข้น 100 mg/ml	51
ข.8	แสดงข้อมูลดิบการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบของลีลาวดีที่ความเข้มข้น 100 mg/ml	52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

		หน้า
ข.9	แสดงค่าการดูดกลืนแสงและร้อยละการดักจับสารอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนเปลือกต้นของลีลาวดี	53
ข.10	แสดงค่าการดูดกลืนแสงและร้อยละการดักจับสารอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนดอกของลีลาวดี	53
ข.11	แสดงค่าการดูดกลืนแสงและร้อยละการดักจับสารอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนใบของลีลาวดี	53
ข.12	แสดงข้อมูลค่า standard วิตามินอี (Vit.E) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมล	54
ข.13	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ดอกและใบของลีลาวดี	54
ข.14	แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัด เปลือกต้น ดอก และใบของลีลาวดี	54
ค.1	แสดงผล SPSS ของการทดสอบสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นลีลาวดีที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร	55
ค.2	แสดงผล SPSS ของการทดสอบสารสกัดหยาบจากดอกลีลาวดีที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร	57
ค.3	แสดงผล SPSS ของการทดสอบสารสกัดหยาบจากใบลีลาวดีที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร	60
ค.4	แสดงผล SPSS ของการทดสอบ DPPH จากเปลือกต้น ดอก และใบของลีลาวดี	62
ค.5	แสดงผล SPSS ของค่าปริมาณสารฟีนอลลิกทั้งหมดที่มีในสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ดอกและใบของลีลาวดี (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

ตารางที่		หน้า
2.1	ดอกลีลาวดี	3
2.2	สารประกอบต่างๆของลีลาวดี	4
2.3	สามเหลี่ยมโรคพืช	12
2.4	แสดงส่วนประกอบต่างๆของเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน	16
4.1	แสดงบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบ เปลือกต้น ดอกจากลีลาวดี *P. acuminata* ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ซ้าย) และความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ขวา)	25
4.2	แสดงบริเวณยับยั้งเชื้อราของสารสกัดใบ เปลือกต้น ดอกจากต้นลีลาวดี *P. acuminata* ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ซ้าย) และความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ขวา)	26
4.3	กราฟแสดงร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้น (เส้นกราฟสีดำ) ดอก(เส้นกราฟสีแดง) และใบ(เส้นกราฟสีเขียว) ของลีลาวดี	29
ก.1	ลักษณะย้อมแกรมของ *Bacillus cereus*	36
ก.2	ลักษณะย้อมแกรมของ *Pseudomonas aeruginosa*	37
ก.3	แสดงลักษณะของ *Staphylococcus aureus*	38
ก.4	แสดงลักษณะของ *Escherichia coli*	40
ก.5	ลักษณะสปอร์ของ *Alternaria alternata*	41
ก.6	ลักษณะโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria alternata*	41
ก.7	แสดงลักษณะของเชื้อรา *Fusarium moniliforme*	43
ก.8	แสดงลักษณะโรคฝักเน่าของข้าวโพดเกิดจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme*	43
ก.9	แสดงกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค	44
ก.10	กราฟแสดงร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้น (เส้นกราฟสีดำ)ดอก(เส้นกราฟสีแดง) และใบ(เส้นกราฟสีเขียว) ของลีลาวดี	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ

คำย่อ	ความหมาย
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
IC_{50}	50% Inhibition concentration
MHA	Mueller hinton agar
NA	Nutrient agar
PDA	Potato dextrose agar
SDA	Sabouraud's dextrose agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ปัจจุบันได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการสกัดสารจากพืชหลายชนิดเพื่อการรักษาโรค บรรเทาอาการของโรค ในการศึกษาครั้งนี้ให้ความสนใจศึกษาสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยส่วนใหญ่จะใช้พืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยามาใช้ในการทดสอบ แต่ในโครงงานพิเศษครั้งนี้เลือกใช้พืชดอกคือ ลีลาวดี มาใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคต่อระบบทางเดินอาหารและก่อโรคพืช เนื่องจากลีลาวดีมีปลูกกันอย่างแพร่หลาย ออกดอกตลอดปี มีปริมาณมากและมีสรรพคุณทางยาอยู่ไม่น้อยแต่ยังไม่ค่อยเป็นที่สนใจนำมาใช้ประโยชน์อื่นนอกเหนือจากใช้เป็นไม้ดอกไม้ประดับ จึงทำให้เกิดความสนใจนำลีลาวดีมาใช้ในงานวิจัยนี้ โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

ปัจจุบันในการรักษาโรคส่วนใหญ่ใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีซึ่งมีราคาแพง ถึงแม้ว่ายาปฏิชีวนะและสารเคมีสามารถใช้ในการรักษาโรคได้ดี แต่หลายคนยังให้ความสนใจในการนำความรู้ทางชีวภาพมาใช้ในการศึกษาค้นคว้าหาสารทางชีวภาพที่สามารถรักษาหรือบรรเทาอาการของโรคได้ใกล้เคียงกับยาปฏิชีวนะ เนื่องจากสารสกัดทางชีวภาพนั้นไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพ โดยหลายงานวิจัยที่ผ่านมาได้ศึกษาพืชชนิดต่างๆ มาทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อรา ความเป็นพิษต่อเซลล์

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. เพื่อทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากลีลาวดี
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ *Escherichia coli TISTR 780* , *Pseudomonas aeruginosa TISTR 781, Bacillus cereus TISTR 687, Staphylococcus aureus TISTR 1466* และเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคในพืช ได้แก่ *Alternaria alternata* TISTR 3282, *Fusarium moniliforme* TISTR 3175

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ศึกษาสารสกัดจาก เปลือก ดอก และใบของลีลาวดีสายพันธุ์ขาวพวง (*Plumeria acuminata*) โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย เพื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์และพืช ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ทดสอบด้วยวิธี DPPH scavenging activity รวมทั้งวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนต่างๆของต้นลีลาวดี
2. ทราบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากส่วนต่างๆของต้นลีลาวดี
3. สามารถนำสารสกัดของลีลาวดีที่ได้มาใช้ประโยชน์ในการต้านจุลินทรีย์และสามารถต้านอนุมูลอิสระ
4. สามารถนำข้อมูลเบื้องต้นที่ได้จากการศึกษาสารสกัดลีลาวดีไปพัฒนาให้เกิดประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจศึกษาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ลีลาวดี

ลีลาวดีพันธุ์ขาวพวง (*Plumeria acuminata*) ชื่อสามัญ Pagota tree , Frangipani อยู่ใน Family Apocynaceae เป็นพันธุ์ลีลาวดีโบราณดั้งเดิมที่มีในประเทศไทย ลีลาวดีเป็นไม้ดอกยืนต้น พบมากในบริเวณภาคเหนือของประเทศไทย มีขนาดต้นพุ่มเตี้ยแคระสูงประมาณ 0.9 - 1.2 เมตร จนถึงสูงมาก ลักษณะช่อดอกใหญ่มี 10 – 15 ดอก กลิ่นหอมเย็น โดยเปลือกต้นเป็นยาถ่าย ขับระดู แก้ไข้หวัด แก้โรคหนองใน ขับปัสสาวะ ส่วนดอกแก้ไข้มาลาเรีย ส่วนใบใบแห้งแช่น้ำร้อนดื่มรักษาโรคหอบหืด ใบสดประคบร้อน แก้ปวดบวม ยางจากต้นเป็นยาถ่าย รักษาโรคไขข้ออักเสบ (พินิจ, 2553)

รูปที่ 2.1 ดอกลีลาวดี

(ที่มา : http://saspublisher.com/wp-content/uploads/2014/03/SAJP32-217-227.pdf, 9 มิถุนายน 2559)

2.2 สารสำคัญที่พบในลีลาวดี

แต่ละส่วนของลีลาวดีมักประกอบด้วยสาระสำคัญหลายชนิดรวมกันอยู่

2.2.1 ส่วนของราก ประกอบด้วย plumericine, β-dihydroplumericin, isoplumericin, β-dihydroplumericinic acid, fulvoplumerin และ plumeride สารประกอบที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ ได้แก่ tritripenoid ร่วมด้วย teraxasteryl acetate, lupeol, stigmasterol, oleanolic acid จากส่วนเปลือกต้น

2.2.2 ส่วนดอกของ *P. rubra* ประกอบด้วย 1-diethoxyethane, benzaldehyde, geraniol, citral, methylbenzoate, nerolidols, naphathalene, linalool, banzylbenzoate, methyl salicylate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

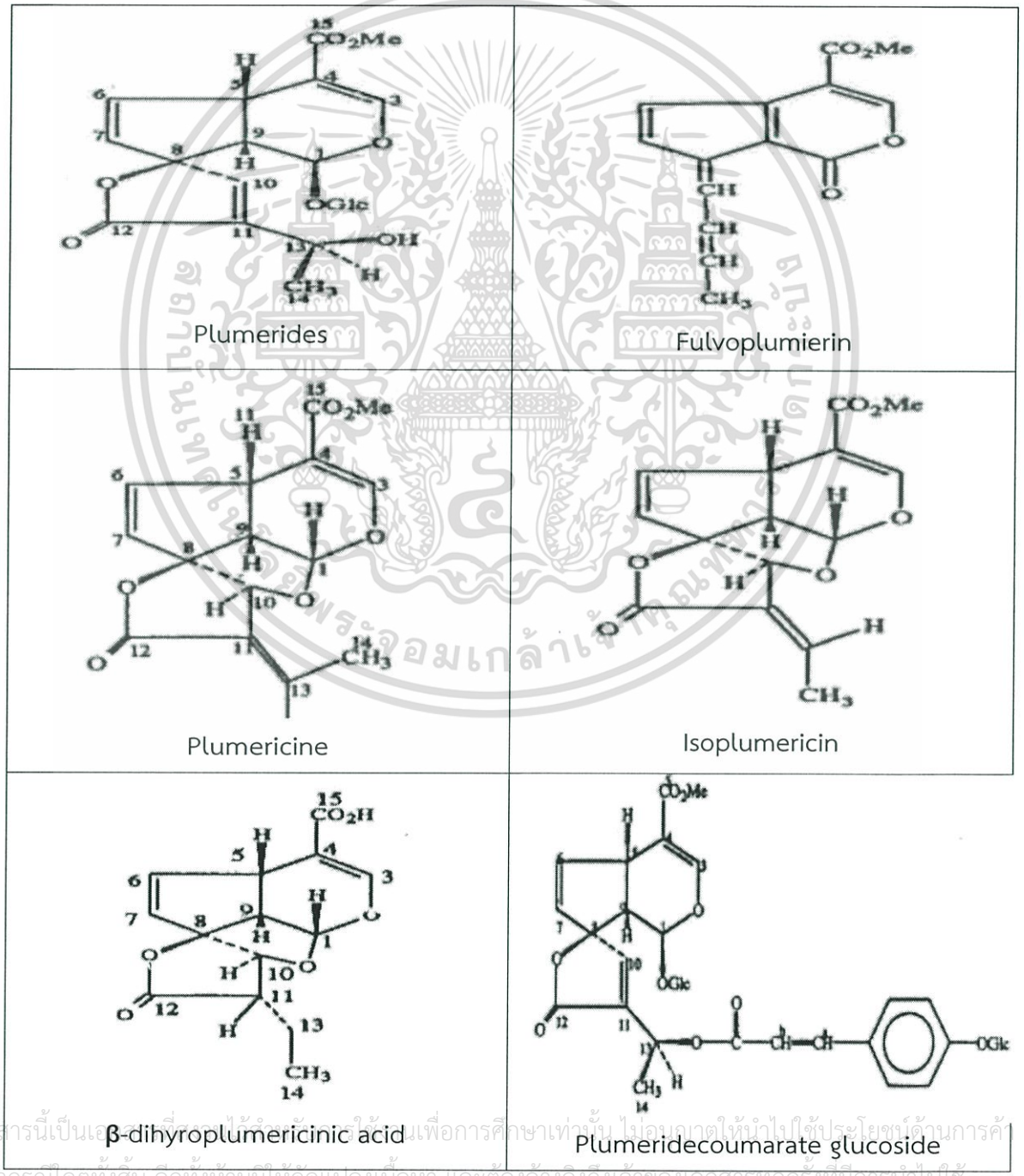
2.2.3 ส่วนเปลือกต้นของ *Plumeria alba* ประกอบด้วย alkaloids, carbohydrates, flavonoids, phenolic compounds และ tannins

2.2.4 น้ำมันดอก ประกอบด้วย primary alcohol, geraniol, citronellol, farnesol และ phenyl ethyl alcohol และ linalool ส่วนดอก ประกอบด้วย quercetin และ kaempferol

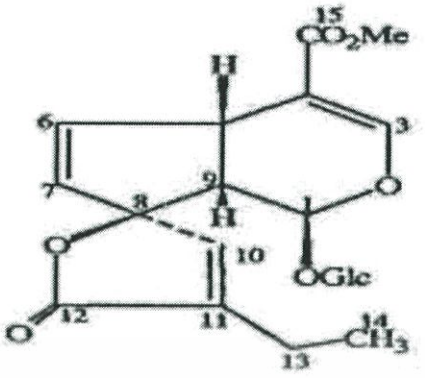
2.2.5 ส่วนใบของ *Plumeria obtusa* พบ iridoids ใหม่มีลักษณะคล้าย 6''-O-acetylplumieride p-E-coumarate และ 6"-0-acetylplumieride -p-Z-coumarate,

2.2.6 น้ำมันของ *P. obtuse* พบ benzyl salicylate (45.4%) มาก *และ* benzyl benzoate (17.2%)

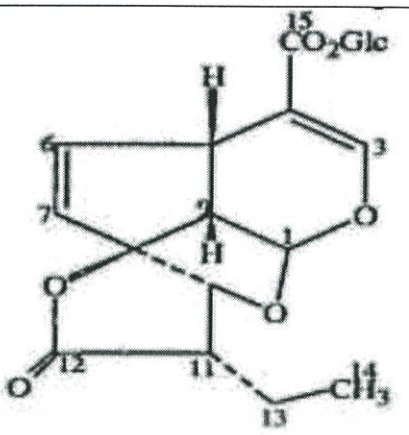
จากการศึกษาลีลาวดีมี amyrin acetate เป็นส่วนประกอบของยาปฏิชีวนะ



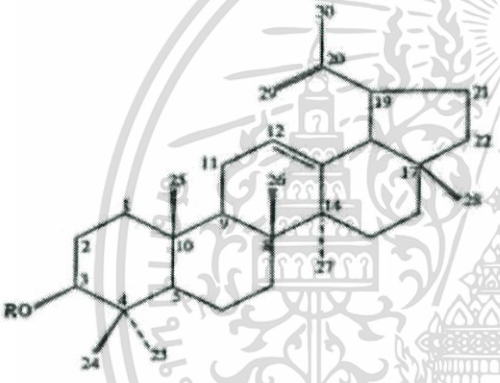
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



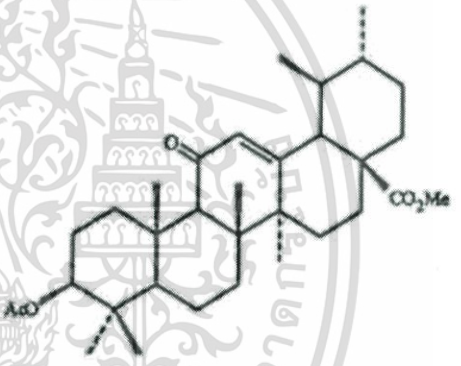
13-deoxyplumieride



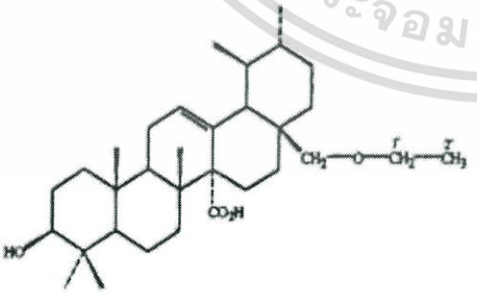
Plumenoside(β-dihyroplumericinic acid glucosylester)



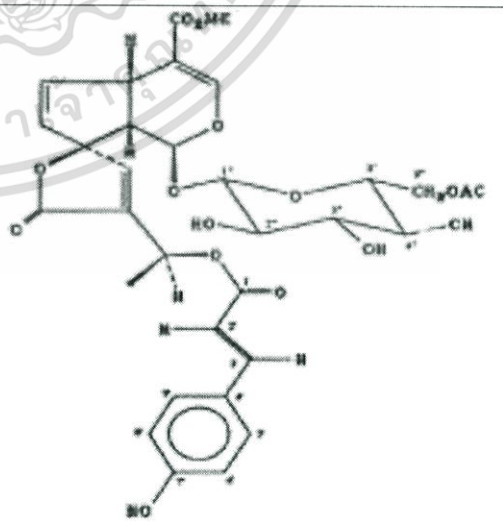
Lupeol fatty ester



Acetylmethyl obtusilin

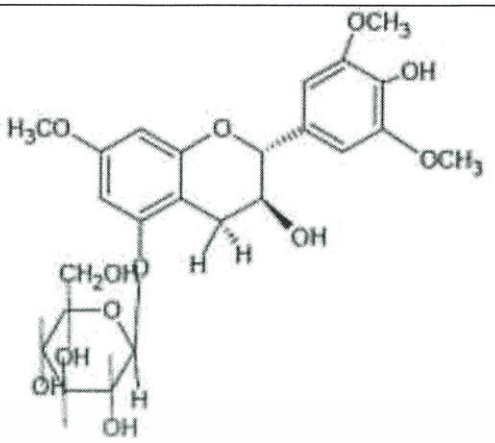


Obtusilinic acid

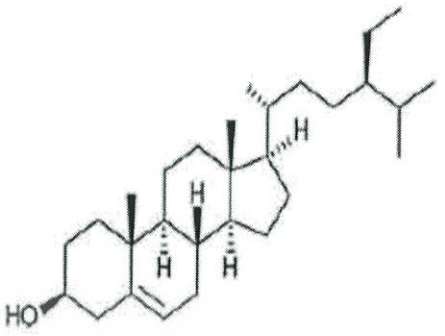


6”-O Acetyl plumieride p-E-coumarate

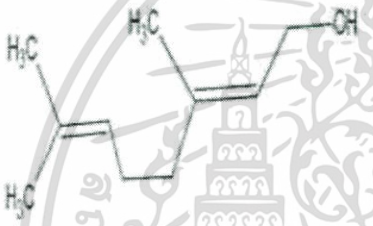
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



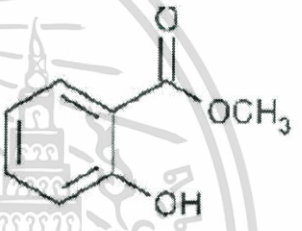
(2R, 3s)-3,4’ dihydroxy-7, 3’,5’-trimethoxyflavan-5-O-β-D glucopyranoside



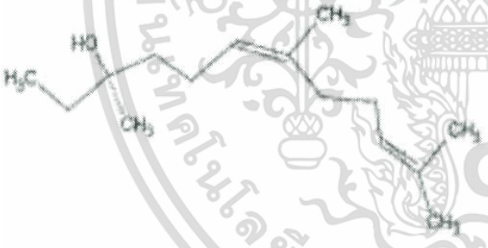
β-sitosterol



Geranial

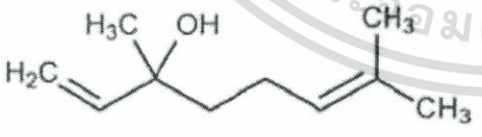


Methyl benzoate

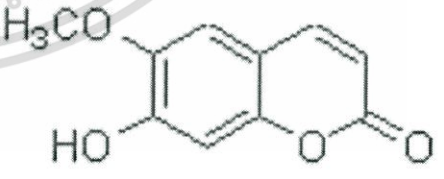


Nerolidols

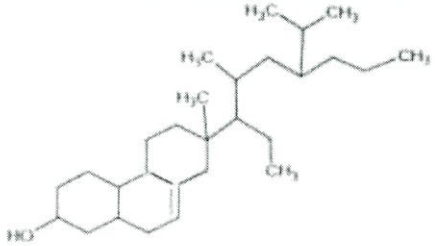
Naphthalene



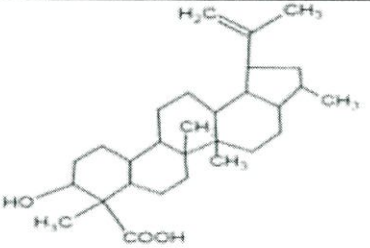
Linalool



Scopoletin



Stigmast-7-enol



Lupeol carboxylic acid

รูปที่ 2.2 สารประกอบต่างๆของลีลาวดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ตัวทำละลายที่สำคัญ

เอทานอล (Ethanol) หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethylalcohol) มีสูตรเคมี C_2H_5OH เป็นแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งเป็นของเหลว ไม่มีสี จุดไฟติด ระเหยง่าย สามารถลอยได้ในน้ำและสารละลายอินทรีย์อื่นๆ มีความไวไฟและค่าออกเทนสูง (เอทานอลบริสุทธิ์ร้อยละ 99.8 มีค่าออกเทนสูงถึง 113) สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากมาย อาทิ ใช้ผลิตอาหาร และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ใช้เป็นตัวทำละลายในอุตสาหกรรม ใช้เป็นเชื้อเพลิง ฯลฯ

สถานะ : ของเหลวใส ไม่มีสี ระเหยง่าย และมีกลิ่นเฉพาะตัว

น้ำหนักโมเลกุล : 46.07 กรัม/โมล

จุดเยือกแข็ง : -114.1 องศาเซลเซียส

จุดเดือด : 78.32 องศาเซลเซียส

จุดวาบไฟ : 14 องศาเซลเซียส

อุณหภูมิวิกฤต : 243.1 องศาเซลเซียส

ความดันวิกฤต : 6383.48 kpa

ความหนาแน่น : 0.7893 กรัม/มิลลิลิตร

การละลายน้ำ : ละลายได้ดีมาก

2.3.1 การเลือกตัวทำละลายหรือน้ำยาสกัด

การสกัดด้วยตัวทำละลายการสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง ใช้แยกของผสมเนื้อเดียวที่เป็นทั้งของแข็ง - ของแข็ง หรือของเหลว - ของเหลว ออกจากกันได้ ทั้งนี้อาศัยสมบัติของการละลายของสารแต่ละชนิด เนื่องจากการสกัดด้วยตัวทำละลายอาศัยการละลายของสารเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นหลักการสำคัญจึงขึ้นอยู่กับการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม เพื่อให้สามารถสกัดสารที่ต้องการได้มากๆ ทั้งนี้เพราะสารแต่ละชนิดมักจะละลายในตัวทำละลายต่างชนิดได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน การเลือกตัวทำละลายที่นำมาใช้ในการสกัดมีหลักทั่วไป ดังนี้

2.3.1.1 ต้องละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี

2.3.1.2 ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด

2.3.1.3 ถ้าต้องการแยกสี ตัวทำละลายจะต้องไม่มีสี ถ้าต้องการแยกกลิ่น ตัวทำละลายต้องไม่มีกลิ่น

2.3.1.4 ไม่มีพิษ มีจุดเดือดต่ำ แยกตัวออกจากสารที่ต้องการสกัดได้ง่าย

2.3.1.5 ไม่ละลายปนเป็นเนื้อเดียวกับสารที่นำมาสกัด

2.3.1.6 ควรจะแยกออกจากสารละลายได้ง่าย สามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ง่ายเพื่อจะได้นำกลับไปใช้ใหม่ได้อีก

2.3.1.7 มีราคาถูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือสารปริมาณน้อยที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของอนุมูลอิสระได้ สารเหล่านี้มีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ เช่น ดักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับ (chelate) กับโลหะเพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารประกอบที่ทนต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในเซลล์ โดยทั่วไป สารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในธรรมชาติจากสารหลาย ชนิด เช่น สารประกอบฟีนอลลิค (phenolic compounds) สารประกอบไนโตรเจน (nitrogen compounds) และแคโรทีนอยด์ (catotinoid) บทบาทสาคัญของสารต้านอนุมูลอิสระคือ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆของมนุษย์ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันที่เป็นสาเหตุหลักของการเสื่อมคุณภาพในอาหาร ปัจจุบันองค์กรที่เกี่ยวข้องในอุตสาหกรรมอาหาร และยาได้พยายามพัฒนาสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติ เช่น สาหร่ายทะเล แบคทีเรีย เชื้อรา และพืชชั้นสูง อย่างไรก็ตาม ในภาวะปกติ ร่างกายของคนเราจะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระอยู่แล้วซึ่งแบ่งออกเป็นสองส่วน คือ ส่วนแรกเกิดจากร่างกายสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุล และส่วนที่สองคือ กลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากวิตามินเอ ซี อี หรือ เบต้าแคโรทีน (β- carotinoid) รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งเป็นพฤษเคมีที่สามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้เพื่อเข้าไปช่วยเสริมสร้างระบบการต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นในร่างกายให้มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดียิ่งขึ้น ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกาย เช่น เอนไซม์คะตะเลส (catalase), กลูตาไธโอนเพอรอกซิเดส (glutathione peroxidase) และซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) หรือสารประกอบ/โปรตีนบางอย่าง เช่น อัลบูมิน (albumin), บิลิรูบิน (bilirubin), เซอรูโลพลาสมิน (ceruloplasmin), กลูตาไธโอน(glutathione), ทรานสเฟอริน(transferrin), ยูบิควินอล (ubiquinol) และยูเรต (urate) เป็นต้น สารเหล่านี้มีหน้าที่คอยควบคุมอนุมูลอิสระต่าง ๆ ให้อยู่ในระดับพอเหมาะ แต่ถ้าเมื่อใดที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในปริมาณมากเกินกว่าที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมด จะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า “oxidative stress” ขึ้นภายใต้สภาวะดังกล่าวอนุมูลอิสระจะทำอันตรายต่ออวัยวะและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกาย ซึ่งถ้าสะสม มาก ๆ อาจนำไปสู่ความผิดปกติ

2.4.1 แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ

ปัจจุบันสารต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ได้มาจากพืชผัก เครื่องเทศ องุ่น และสมุนไพร ได้รับความสนใจ และศึกษากันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากกระแสเรื่องความปลอดภัยของสารสกัดจากธรรมชาติ สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งตามแหล่งที่มาได้ 2 ชนิดได้แก่

2.4.1.1 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์(Synthetic antioxidants)

สารประกอบฟีนอลิค สังเคราะห์ 5 ชนิดได้แก่ propyl gallate, 2- butylated hydroxyanisole, 3-butylate hydroxyanisole, BHT (butylated hydroxytoluene) และtertiary butylhydroquinone เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมันอันเป็นสาเหตุให้อาหารมีกลิ่น สี และ รสชาติที่เปลี่ยนไป สารสังเคราะห์เหล่านี้มีประสิทธิภาพและความคงตัวสูงกว่าสารสกัดจากธรรมชาติ แต่มีข้อจำกัดของการใช้เนื่องจากปัญหาด้านความปลอดภัยในการบริโภค (Yang *et al*., 2000; Pokorny *et al*., 2001)

2.4.1.2 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants) สารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจและมีการค้นคว้าอย่างมากในปัจจุบันเนื่องจาก ความเชื่อมั่นว่ามีความปลอดภัยในการบริโภคมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้ พบได้ทั้งในจุลชีพ สัตว์และพืช ซึ่ง มีทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และสารที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (non-nutrient) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิค โดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) เช่น แซนโธน (xanthone) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่ง ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลที่เกาะบนวงเบนซีน (aromatic hydroxyl) ตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป หมู่ฟังก์ชั่น (functional group) เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการดัก จับอนุมูลอิสระไม่ให้ไปกระตุ้น หรือก่อให้เกิดปฏิกิริยา ออกซิเดชั่นได้ โดยการให้อนุมูล H• แก่อนุมูลอิสระ เหล่านั้น นอกจากนี้สารประกอบโพลีฟีนอล ที่มีโครงสร้างของ ortho-dihydroxyl phenol อยู่ใน โมเลกุลยังสามารถยับยั้งการเกิดอนุมูล OH• ในปฏิกิริยาที่มีอนุมูลโลหะทรานซิชั่น คือ Fe2+ และ Cu2+ เป็นตัวเหนี่ยวนำได้โดยการเข้าจับกับโลหะดังกล่าวเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (complex) สารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอล ซึ่งพบในพืชพรรณธรรมชาตินานาชนิด สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีทั้งในห้องปฏิบัติการ (in vitro) และในสิ่งมีชีวิต (in vivo)

กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ จากรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระพบว่ามีหลายกลไกดังนี้ **ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging)** เป็นที่ทราบดีว่า สารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้โดยการทำให้โมเลกุลของอนุมูลอิสระมีความเสถียรขึ้นซึ่งกลไกของปฏิกิริยาเกิดโดยการให้ ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ดังสมการ

$$R^{\circ} + AH \longrightarrow RH + A^{\circ}$$

$$RO^{\circ} + AH \longrightarrow ROH + A^{\circ}$$

$$R^{\circ} + A^{\circ} \longrightarrow RA$$

$$RO^{\circ} + A^{\circ} \longrightarrow ROA$$

ยับยั้งการทำงานของ ซิงเกล็ทออกซิเจน (Singlet oxygen quenching, $^1O_2$*) สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) สามารถยับยั้งการทำงานของซิงเกล็ทออกซิเจน โดยการเปลี่ยน ($^1O_2$*) ให้อยู่ใน รูปทริปเปร็ท (triplet oxygen ($^3O_2$)) และปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปความร้อน โดยที่แคโรทีนอยด์ (Car) จำนวน 1 โมเลกุล สามารถทาปฏิกิริยากับซิงเกล็ทออกซิเจน ได้ถึง 1,000 โมเลกุล

$$^1O_2{}^{\circ} + {}^1Car \longrightarrow {}^3O_2 + {}^3Car^{\circ}$$

$$^3Car^{\circ} \longrightarrow {}^1Car + \text{thermal energy}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จับกับโลหะที่สามารถเร่งสารกลุ่มนี้ได้แก่ ปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (metal chelation) โลหะที่มีผลต่อการเกิดอนุมูลอิสระคือ Fe2+ และ Cu2+ ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ฟอสฟอริกแอซิด (phosphoric acid) และ ซิตริกแอซิด (citric acid) เป็นต้น

หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) วิตามินอี (α-tocopherol; Toc-OH) สามารถป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ให้ถูกทำลาย จากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน (lipid autooxidation) โดยทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็คตรอน (electron-acceptor antioxidants) จากอนุมูล peroxyl (ROO•)

เสริมฤทธิ์ (synergism) สารชนิดนี้จะช่วยสนับสนุนให้สารต้านอุนมูลอิสระทำงานได้ดีขึ้น เช่น การทำงานร่วมกันระหว่าง วิตามินอี (α-tocopherol) กับ วิตามินซี (ascorbic acid) โดยที่วิตามินซีไม่สามารถทำงานในในสภาวะไม่มีขั้ว (hydrophobic condition) ได้เหมือนกับวิตามินอี แต่จะให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลแอลฟา-โทโคฟีรอลเปอร์ออกซิล (α-tocopherol peroxyl) ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง แอลฟา-โทโคฟีรอลกับอนุมูลเปอร์ออกซิล (ROO•) เพื่อเปลี่ยนรูปกลับไปเป็น แอลฟา-โทโคฟีรอล ที่สามารถทำงานได้ (Frankel, 1998)

ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (enzyme inhibition) สารประกอบฟีนอลิก บางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก (phenolic acid) และแกลเลต (gallates) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ลิโพออกซีจีเนส (lipoxygenase) โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) ส่งผลให้เอ็นไซม์ดังกล่าวไม่สามารถทำงานได้ (Puerta, 1999)

สารต้านอนุมูลอิสระกับการป้องกันโรค

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารต้านอนุมูลอิสระได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากอนุมูลอิสระส่งผลเสียต่อร่างกายและเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหลายชนิดในมนุษย์ เช่น โรคมะเร็ง ความดันโลหิตสูง เบาหวาน รูมาตอยด์ การศึกษาข้อมูลทางเภสัชวิทยาของสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่ามีสารออกฤทธิ์หลายชนิดที่มีส่วนส่งเสริมสุขภาพและป้องกันการเกิดโรคในมนุษย์

การสกัดและการตรวจสอบฤทธิ์ของสารในอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่เป็นสารประกอบฟีนอลิค สารกลุ่มนี้มีหลากหลายชนิด ตัวอย่างเช่น tocopherol, tocotrienol, γ- oryzanol, oryzanols (Lai *et al*., 2007), caffeic acid, syring acid, rutin, (-)-epicatechin, (+)-catechin, gallic acid, vanilic acid, *p*-coumaric acid, feruric acid และ quercetin รวมทั้งสารจาพวกฟลาโวนอยด์ โดยทั่วไปการสกัดสารประกอบฟีนอลิคมักใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งมีความแตกต่างกันตามแต่ลักษณะและองค์ประกอบของสาร ตัวทำละลายอินทรีย์ที่นิยมใช้สำหรับสกัดสารประกอบฟีนอลิคได้แก่ น้ำ เมธานอล เอธานอล เอธิลอะซิเตค (Ramamoorthy and Bono, 200; Lai *et al*., 2009) และตัวทาละลายที่มีขั้วต่ำเช่น เฮกเซน (C_6H_{14}),อะซีโตน (C_3H_6O), คลอโรฟอร์ม (CHC_{l3}), ปิโตรเลียมอีเทอร์ หรือ คาร์บอนเตตระคลอไรด์ (CC_{l4}) ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารต้านอนุมูลอิสระมักประกอบด้วยสารหลายชนิดที่ทำงานเสริมกัน จึงจะมีประสิทธิภาพสูงในการทำงาน ปัจจุบันพบว่า พืชผักและผลไม้

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่มีสี เช่น สีแดง ดา หรือ ม่วง จะมีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง วิธีการที่นิยมนามาใช้ในการตรวจสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระมีหลายวิธี แต่ละวิธีมีความจำเพาะต่อสารแตกต่างกัน โดยปกติแล้วการตรวจสอบมักจะสรุปผลจากหลายวิธีร่วมกัน เพื่อทำให้ผลการทดสอบมีความถูกต้องยิ่งขึ้น วิธีที่ใช้ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่นิยมได้แก่ 2,2-Diphenyl-1-picryhydrazyl (DPPH), Ferric reducing /antioxidant power (FRAP) (Alia *et al.*, 2009; Ramamoorthy and Bono, 2007), Trolox equivalents antioxidant capacity (TEAC), lipid peroxidation reducing power และ metal chelating ability ส่วนเครื่องมือที่นิยมใช้ในการตรวจหาชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้รับความนิยม คือ High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

อนุมูลอิสระเกิดจากปัจจัยทั้งภายในและภายนอกร่างกาย เป็นสารที่ไม่เสถียรและมีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยา จึงสามารถจับกับโมเลกุลภายในร่างกายและส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อองค์ประกอบของเซลล์แล้วนาไปสู่การเสื่อมประสิทธิภาพ และเป็นสาเหตุของโรคหลายชนิด โดยเฉพาะโรคมะเร็ง อนุมูลอิสระถูกทำลายด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งทำหน้าที่ให้ความเสถียรกับโมเลกุลของอนุมูลอิสระ ปกติร่างกายมนุษย์จะมีสารต้านอนุมูลอิสระคอยดักจับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น หากมีปริมาณมากเกินไปร่างกายจำเป็นต้องได้รับจากภายนอก สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งชนิดสังเคราะห์และมาจากธรรมชาติโดยเฉพาะผักผลไม้ ผลการศึกษาชี้ชัดว่าสารต้านอนุมูลอิสระมีฤทธิ์ในการยับยั้งอันตรายของอนุมูลอิสระ ในปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับอนุมูลอิสระอย่างกว้างขวางทั้งในส่วนของการค้นหาชนิดและศึกษาฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระรวมทั้งความเกี่ยวโยงของโรคที่เกิดจากอนุมูลอิสระ และกลไกการป้องกันจากสารต้านอนุมูลอิสระ (เจนจิรา และประสงค์, 2554)

2.5 โรคระบบทางเดินอาหาร

โรคระบบทางเดินอาหารคือความผิดปกติต่างๆที่เกิดขึ้นกับเนื้อเยื่อหรืออวัยวะในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเริ่มต้นตั้งแต่ ช่องปาก ลำคอ หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ ไปจนถึงทวารหนัก สาเหตุการติดเชื้อที่พบบ่อยที่สุดคือการติดเชื้อจากแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร

แบคทีเรียกอโรคในอาหาร หมายถึง กลุมของเชื้อแบคทีเรียที่กอโรคในคนซึ่งติดตอมาสูคนผ่านทางอาหารเป็นหลักทำให้เกิดโรคในกลุมที่เรียกวา โรคจากอาหาร (Foodborne diseases) โดยอาการสวนใหญ่ คือ ทองเสีย คลื่นไส อาเจียน มีไข โรคหรือความผิดปกติของคน จะเกิดขึ้นได้ 2 ลักษณะใหญ่ๆ คือ

1. โรคอาหารเปนพิษ (Foodborne intoxication) เกิดจากการที่เชื้อแบคทีเรียในอาหารสร้างและ ปลดปลอยสารพิษออกมาสะสมอยูในอาหาร ทำให้เกิดอาการผิดปกติได้อย่างรวดเร็วหลังจากบริโภค โดยทั่วไประยะฟกตัว (incubation period) ของโรคอาหารเป็นพิษนอยกวา 7 ชั่วโมง เนื่องจากแบคทีเรียไม จำเปนตองเพิ่มจำนวนในทางเดินอาหารของ ผูบริโภคกอนที่จะทำให้เกิดอาการผิดปกติ ตัวอยางของแบคทีเรียที่สามารถสรางสารพิษในอาหาร ไดแก *Staphylococcus aureus, Clostridium botulinum* เป็นต้น

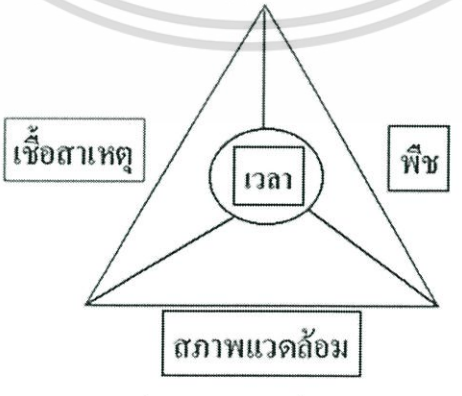
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. โรคติดเชื้อจากอาหาร (Foodborne infection) เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในอาหารเขาไปเพิ่มจำนวนในทางเดินอาหาร แล้วทำให้เกิดความผิดปกติขึ้น ซึ่งอาจรวมถึงการสร้างสารพิษด้วย แตแตกตางจากโรคอาหารเป็นพิษตรงที่แบคทีเรียเหลานี้ต้องใชเวลาการเพิ่มจำนวนและสารพิษถูกสรางขึ้นเมื่อแบคทีเรียเขาสูรางกายผู้บริโภคแลว นอกจากสร้างสารพิษแลว เชื้อแบคทีเรียในกลุมนี้อาจทำให้เกิดความผิดปกติของการทำงานของระบบทางเดินอาหาร บางชนิดที่มีความรุนแรงสามารถแทรกซึมผานผนังลำไสเขาสูกระแสเลือด ทำให้เกิดการติดเชื้อในกระแสเลือด (septicemia) ซึ่งอาจเปนอันตรายถึงชีวิตได

2.6 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา

เชื้อราเป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำกลุ่มใหญ่มีลักษณะรูปร่างเป็นเส้นยาว แตกกิ่งก้านสาขา เป็นเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์ (unicellular or multicellular filamentous branched chains) มีการขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ (asexually) โดยการสร้างสปอร์ แบ่งเซลล์แบบ mitosis และขยายพันธุ์แบบใช้เพศ (sexually) โดยมีการแบ่งเซลล์แบบ meiosis ราสามารถปรับตัวให้มีชีวิตอยู่ได้ในอากาศ ดิน และน้ำ ราที่เป็นสาเหตุแก่โรคพืช (phytopathogenic fungi) มีมากกว่า 8000 ชนิด บางชนิดสามารถทำให้พืชเป็นโรคได้เฉพาะบางส่วนหรือเฉพาะเจาะจงกับพืชชนิดนั้น แต่เชื้อบางชนิดจะสามารถทำให้พืชเป็นโรคได้ โดยไม่จำกัดว่าจะเป็นที่ส่วนไหน หรือแก่พืชชนิดใด เชื้อราสาเหตุของโรคส่วนมากเป็นปรสิตแบบ saprophyte สามารถเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือเนื้อเยื่อพืชที่ตายแล้ว

สำหรับปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรค (สืบศักดิ์, 2540) กล่าวว่าปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดโรคนั้นมีด้วยกัน 4 ประการที่สำคัญคือ เชื้อสาเหตุของโรค พืชอาศัย สภาพแวดล้อม และเวลา ปัจจัยทั้งสี่มีความสัมพันธ์ต่อกันอย่างยิ่งยวด จะขาดสิ่งหนึ่งสิ่งใดไม่ได้เลย หากนำมาเขียนเป็นรูปจะได้รูปสามเหลี่ยมด้านเท่า ซึ่งเรียกว่า “สามเหลี่ยมโรคพืช” ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 สามเหลี่ยมโรคพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 ยาต้านจุลชีพ

ยาต้านจุลชีพหรือยาปฏิชีวนะเป็นยาที่แยกได้จากเชื้อจุลชีพหรือกึ่งสังเคราะห์ (สารที่แยกได้จากเชื้อจุลชีพ)และที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมีโดยตรง โดยมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโต หรือทำลายเชื้อจุลชีพ ที่ทาให้เกิดการติดเชื้อ ได้แก่ แบคทีเรีย เชื้อรา เชื้อโปรโตซัว และสามารถจำแนกประเภทของยาต้านจุลชีพได้ ดังนี้

2.7.1 จำแนกตามสูตรโครงสร้างทางเคมี

2.7.1.1 เบต้า-แลคแทม แอนตี้ไบโอติค

- เพนิซิลลิน
- เซฟาโลสปอริน

2.7.1.2 แมคโครลีด เช่น อีริโทรมัยซิน

2.7.1.3 ลินโคซาไมด์ เช่น ลินโคมัยซิน

2.7.1.4 อะมิโนกลัยโคไซด์ เช่น เจนตามิซิน

2.7.1.5 เตตร้าซัยคลิน เช่น เตตร้าซัยคลิน

2.7.1.6 โพลี่เปปไทด์ เช่น แวนโคมัยซิรน

2.7.1.7 ซัลโฟนาไมด์ เช่น ซัลฟาไดอะซีน

2.7.1.8 ฟลูออโรควิโนโลน เช่น เอ็นโรฟลอกซาซิน

2.7.1.9 กลุ่มอื่น ๆ เช่น คลอแรมเฟนิคอล ไนโตรฟูแรนโตอิน

2.7.2 จำแนกตามขอบเขตการออกฤทธิ์

2.7.2.1 Broad Spectrum ยาต้านจุลชีพ ที่ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรีย ทั้งแกรมบวกและ แกรมลบ เช่น แอมพิซิลลิน หรือออกฤทธิ์ทั้งต่อแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจน ได้แก่ คลอแรมเฟนิคอล นอกจากนี้ยังอาจครอบคลุมโปรโตซัว และริกเกตเซีย ได้แก่ เตตร้าซัยคลิน คลอแรมเฟนิคอล เมโทรนิดาโซล

2.7.2.2 Medium Spectrum ยาต้านจุลชีพ ที่ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบบางชนิดเท่านั้น ได้แก่ ซัลโฟนาไมด์

2.7.2.3 Narrow Spectrum ยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียบางชนิด ส่วนใหญ่มีฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ คล็อกซาซิลลินหรือมีฤทธิ์ส่วนใหญ่ต่อแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ อะมิโนกลัยโคไซด์

2.7.3 จำแนกตามฤทธิ์ต่อจุลชีพ

2.7.3.1 Bactericidal หมายถึง ยาต้านจุลชีพ ที่มีฤทธิ์ฆ่าหรือทา ลาย เชื้อจุลชีพโดยทั่วไปมักมี กลไกการออกฤทธิ์ต่อผนังเซลล์ และต่อเซลล์เมมเบรนของแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.3.2 Bacteriostatic หมายถึง ยาต้านจุลชีพ ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพ มักมีกลไกการออกฤทธิ์ โดยยับยั้งการสร้างโปรตีน ดังนั้น จึงต้องการระบบภูมิคุ้มกัน ระบบเซลล์ เม็ดเลือดขาวเพื่อเก็บกินเชื้อจุลชีพ ถ้าเพิ่มขนาดยามากขึ้น ยาต้านจุลชีพเหล่านี้อาจออกฤทธิ์ฆ่าหรือทำลายเชื้อจุลชีพ

2.7.4 **จำแนกตามกลไกการออกฤทธิ์**

2.7.4.1 ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ เช่น เพนิซิลลิน เซฟาโลสปอริน แวนโคมัยซิน

2.7.4.2 ออกฤทธิ์ต่อเซลล์เมมเบรน เช่น โพลี่มิกซิน-บี คีโตโคนาโซล แอมโพเทอริซิน-บี

2.7.4.3 ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีน เช่น คลอแรมเฟนิคอล เตตร้าซัยคลิน อีริโทรมัยซิน อะมิโนกลัยโคไซด์

2.7.4.4 ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างกรดนิวคลิอิค เช่น ไรแฟมปิซิน ควิโนโลน เมโทรนิดาโซล

2.7.4.5 รบกวนการสังเคราะห์เมตาบอไลต์ที่จำเป็นในการดำรงชีพของเชื้อจุลชีพ เช่น ซัลโฟนาไมด์ไอโซไนอะซิด

ยาต้านจุลชีพที่ดี ควรออกฤทธิ์ต่อเชื้อจุลชีพเท่านั้น ไม่ควรมีผลต่อเซลล์ของร่างกายผู้ป่วย ยาต้านจุลชีพที่มีการออกฤทธิ์ต่อเฉพาะเชื้อ ได้แก่ กลุ่มที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ เช่น ยาปฏิชีวนะกลุ่ม เบต้า-แลคแทม ยากลุ่มนี้จึงใช้ได้ค่อนข้างปลอดภัย ส่วนยาต้านจุลชีพที่มีฤทธิ์ยับยั้งการสร้างโปรตีน โดยจับกับโรโบโซมเป้าหมายที่มีทั้งในเซลล์ของแบคทีเรีย และเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่พบว่า ไรโบโซมแตกต่างกัน กล่าวคือไรโบโซมของแบคทีเรีย เป็น 70s ส่วนโรโบโซมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเป็น 80s ยกเว้นในไมโตคอนเดรีย ในเซลล์ไขกระดูกเป็น 70s ดังนั้นยาต้านจุลชีพที่ออกฤทธิ์ โดยจับกับโรโบโซม จึงพบว่าค่อนข้างปลอดภัย แต่บางชนิดอาจเกิดอาการข้างเคียงถึงขั้นเป็นพิษได้ (วิรัลพัชร์, 2554)

2.8 DPPH activity

DPPH assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ซึ่งใช้ reagent คือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์ ให้ความถูกต้องและแม่นยำสูง โดยมีหลักการคือ DPPH เป็น stable radical ในตัวทำละลายเมทานอล (methanol) สารละลายนี้มีสีม่วง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 515-517 นาโนเมตร (nm) โดย DPPH● จะเกิดปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือ radical species (R●)

DPPH● + AH ---------- DPPH-H + A●

DPPH● + R● ---------- DPPH-R

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ DPPH● ทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สีของสารละลายสีม่วงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง โดยเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้เป็นมาตรฐานคือ BHTถ้าตัวอย่างมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูง ความเข้มของสารละลายสีม่วงจะลดลง การศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ในสารตัวอย่างนิยมรายงานเป็นค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ซึ่งหมายถึงปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH● ลดลง 50% โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับค่าการดูดกลืนแสง แล้วหาค่า EC_{50} จากกราฟแสดงค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ แล้วใช้ค่า EC_{50} ในการเปรียบเทียบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระระหว่างตัวอย่างที่ทดสอบกับสารมาตรฐาน BHT คำนวณ % Radical Scavenging (เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ) %Radical Scavenging = [(AB - AA) / AB] x100 เมื่อ AA = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารตัวอย่างผสมกับ DPPH และAB = ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH (พรรณี, 2550)

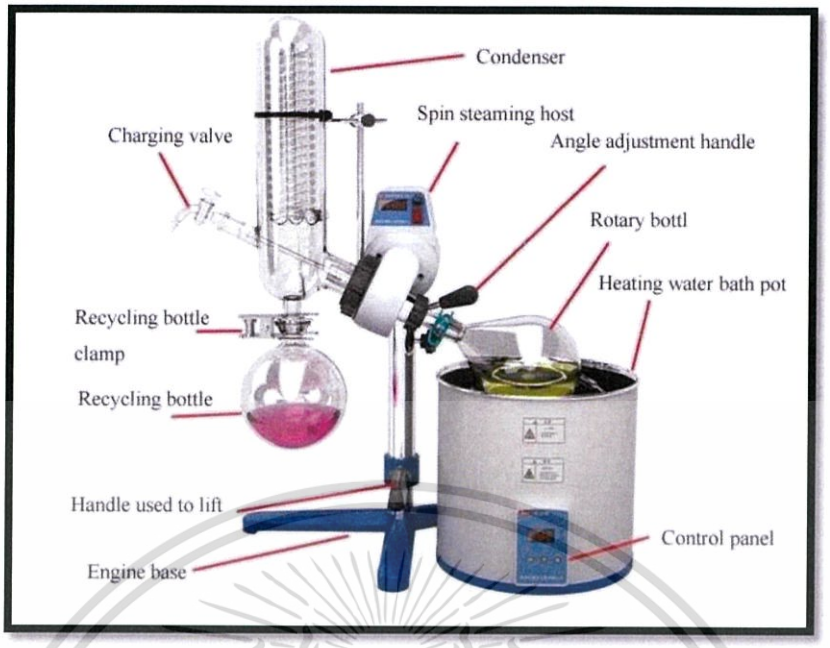
2.9 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

ปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งหมดวิเคราะห์โดยใช้ Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรโดยใช้ Folin-Ciocalteu จากนั้นเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกโดยใช้สมการบนกราฟมาตรฐาน $y = 0.147x$, $R_2 = 0.974$ โดยที่ x เป็นกรดแกลลิคเทียบเท่า (มิลลิกรัม / 100 กรัม) และ y คือค่าการดูดกลืนแสง สำหรับปริมาณแทนนินทั้งหมดวิเคราะห์โดยใช้สาร Folin-Danis เป็นรีเอเจนต์ และเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิค โดยใช้สมการบนกราฟมาตรฐาน $y = 0.045x$, $R_2 = 0.961$ โดยที่ x เป็นกรดแทนนิคเทียบเท่า (มิลลิกรัม / 100 กรัม) และ y คือค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ใช้วิธี Spectrophotometer โดยใช้โปรโตคอลมาตรฐานที่มีการปรับเปลี่ยนเล็กน้อย ใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณของกรดแอสคอรบิก, คลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ในตัวอย่างใบ สำหรับวิธี pH differential method ถูกนำมาใช้ในการสิเคราะห์ปริมาณ anthocyanin และแสดงในรูปของ cynidin-3-glucoside (พรรณี, 2550)

2.10 เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary Evapporator)

เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน เป็นเครื่องกลั่น ระเหยแห้ง ใช้ในการระเหยสารตัวอย่างที่เป็นของเหลวโดยการกลั่นเพื่อแยกตัวทำละลายที่ผสมอยู่ออกจากสาร ทำให้เข้มข้นขึ้น โดยตัวทำละลายจะถูกทำให้กลายเป็นไอ ด้วยระบบสุญญากาศจากปั๊ม และให้ความร้อน เพื่อทำให้การกลายเป็นไอง่ายขึ้น จากนั้นไอสารละลายจะผ่าน condenser ที่มีระบบหล่อเย็น ทำให้ไอสารควบแน่นกลายเป็นของเหลว ไหลลงสู่ receiving flask

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 แสดงส่วนประกอบต่างๆของเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน
(ที่มา : https://www.alibaba.com/product-detail/industrial-lab-mini-vacuum-rotary-evaporator_60274309440.html, 16 พฤษภาคม 2559)

ระบบ Evaporator ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 3 ส่วนคือ

1. ส่วนให้ความร้อนและกลั่นแยกสาร เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการระเหยสาร โดยกลั่นเพื่อแยกตัวทำละลายที่ผสมอยู่สามารถควบคุมความเร็วในการหมุนได้ มีอ่างให้ความร้อนที่สามารถใช้กับของเหลวที่เป็นน้ำหรือน้ำมัน ในกรณีน้ำช่วงที่เหมาะสมตั้งแต่ 20 องศาเซลเซียส ถึง 85 องศาเซลเซียส และใช้ได้ถึง 250 องศาเซลเซียส ในกรณีน้ำมัน

2. ส่วนทำสุญญากาศภายในระบบ เป็นส่วนทำสุญญากาศภายในระบบส่วนใหญ่เป็นแบบปั๊มสุญญากาศสามารถควบคุมความดันได้ตั้งแต่ ความดันบรรยากาศ ถึง 0 mbar

3. ส่วนควบคุมอุณหภูมิภายในระบบ เป็นอ่างน้ำหมุนเวียนที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ต่ำกว่าอุณหภูมิห้องช่วงปรับอุณหภูมิที่เหมาะ ควรอยู่ในช่วงน้ำไม่เป็นน้ำแข็ง (มากกว่า 0 องศาเซลเซียส ถึงไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส)

เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน วิธีสร้างแบ่งได้ 3 แบบ

1. แบบท่อเปลือย (Bare – tube) ทำด้วยท่อเหล็กหรือท่อทองแดง หากเป็นท่อเหล็กมักใช้กับงานขนาดใหญ่หรืองานที่ใช้แอมโมเนีย (R-717) เป็นสารความเย็น

2. แบบแผ่นท่อ (Plate – surface) นิยมใช้สำหรับเครื่องใช้ภายในบ้าน เช่น ตู้เย็น หรือตู้แช่ขนาดเล็กประจำบ้าน เพราะสร้างง่าย ราคาถูก ทำความสะอาดง่าย

3. แบบท่อครีบ (Finned evaporator)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.11 การศึกษาการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยวิธี Agar well diffusion

Agar well diffusion เป็นวิธีที่ใช้กันหลายแพร่หลาย เพื่อหาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดพืชหรือจุลินทรีย์ที่ถูกสกัด ขั้นตอนคล้ายกับวิธี disc diffusion บริเวณผิวหน้าวุ้นอาหารเลี้ยงจะถูกกระจายปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์เต็มบริเวณผิวหน้าของวุ้น จากนั้นใช้ cork borer ที่ปลอดเชื้อเจาะหลุมที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางที่ 6-8 มิลลิเมตร และหยดสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ หรือ สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ต้องการหยดลงหลุม (20-100 มิลลิลิตร) เมื่อระยะทางที่สารแพร่ออกไปเพิ่มขึ้นความเข้มข้นของสารนั้นจะลดลงทำให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้นของสาร ณ จุดต่างๆ กัน รอบหลุมใรขณะเดียวกันจุลินทรีย์บนผิวของอาหารเลี้ยงที่ไม่ถูกยับยั้งเชื้อได้จะไม่มีการเจริญเติบโตให้เห็น จึงเกิดเป็นโซนใส (inhibition zone) (Mounyr et al., 2015) จากนั้นบ่มอุณหภูมิที่เหมาะสม ขึ้นอยู่กับแบคทีเรียแต่ละชนิด อัตราการแพร่กระจายของสารออกฤทธิ์ผ่านไปในอาหารเลี้ยงเชื้อมีอิทธิพลต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส ซึ่งบอกถึงความสามารถของสารที่นำมาทดสอบ สามารถยับยั้งได้มากน้อยเพียงใด ผลการยับยั้งจุลินทรีย์วัดได้จากขนาดโซนใส (คณิศร และคณะ, 2553)

2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.12.1 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดใบลีลาวดี (*Plumeria acuminata*) จากเมทานอล โดยวิธี Agar disc diffusion พบว่า สารสกัดใบยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* และ *Micrococcus luteus*) และแบคทีเรียแกรมลบ (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhimurium*) พบว่าแบคทีเรียแกรมบวกมีความไวต่อสารสกัดมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (Shinde et al., 2014)

2.12.2 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

น้ำมันหอมระเหยจากพืชที่ระดับความเข้มข้น 100, 150, 200, 250 และ 300 ppm และพบว่าน้ำมันหอมระเหยกานพลูสามารถควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ในทุกความเข้มข้น สำหรับน้ำมันหอมระเหยโหระพา พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 ppm มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุดคือ 74 เปอร์เซ็นต์ โดยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus* ซึ่งจากการทดลองของ Soliman and Badeaa (2002) พบว่าน้ำมันหอมระเหยโหระพาความเข้มข้น 3000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. ochraceaus* และ *F. moniliforme* จากข้าวสาลีได้อย่างสมบูรณ์ (รุ่งอรุณ, 2554)

2.12.3 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบลีลาวดี (*Plumeria acuminata*) จากเมทานอล โดยเพิ่มปริมาณของสารสกัดเป็น 50, 100, 200, 300, 400 และ 500 ไมโครกรัม พบว่ามีประสิทธิ์ภาพเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดและสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด (Shinde et al., 2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

149050

บทที่ 3

วัสดุและวิธีการทดลอง

3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ

ลีลาวดีสายพันธุ์ขาวพวง (*Plumeria acuminata*) ชื่อสามัญ Pagota tree เก็บเมื่อเดือนสิงหาคม พ.ศ.2558 โดยใช้ส่วนเปลือกต้น ดอก และใบ ในเขตพื้นที่ภาคกลาง จังหวัดกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

3.2.1 เชื้อรา (Fungi) จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

- *Alternaria alternata* TISTR 5282
- *Fusarium moniliforme* TISTR 3175

3.2.2 แบคทีเรีย (Bacteria) จากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

- *Escherichia coli* TISTR 780
- *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781
- *Bacillus cereus* TISTR 687
- *Staphylococcus aureus* TISTR 1466

3.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.3.1 สารเคมี

- เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ (Ethanol) และ Absolute Ethanol
- ฟอลิน ซิโอแคลตูรีเอเจนต์ (Folin – ciocalteu's reagent)
- โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 7.5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กาลิค แอซิด (Gallic acid)

- อัลฟ่าโคฟีรอล หรือ α-tocopherol (vitamin E)

- 2,2-ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล หรือ2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

- ยาปฏิชีวนะ : Ciprofloxacin , Itraconazole

3.3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- Nutrient agar (NA)

- Nutrient broth (NB)

- Potato dextrose agar (PDA)

- Potato dextrose broth (PDB)

- Mueller Hinton Agar (MHA)

- Sabouraud dextrose agar (SDA)

3.4 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.4.1 เครื่องมือ

- ตู้อบแห้งพืช

- เครื่องบดไม้

- เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง

- ชุดกรองสุญญากาศ

- เครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ (Rotary evaporator)

- เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์ (Microplate reader)

- ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar flow)

- ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (Auto clave)

3.4.2 อุปกรณ์

- ขวดสีชา ขนาด 2,000 มิลลิลิตร
- ขวดสีชา ขนาด 42 มิลลิลิตร (ขวดแบรนด์)
- ฟรอยด์
- ผ้ากรอง
- กระบอกตวง ขนาด 100, 500, 1,000 มิลลิลิตร
- บีกเกอร์ ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- กระดาษกรอง Whatman No.1
- ทิป (Tip)
- ไมโครเซนติฟิว (Microcentifuge)
- จานเพาะเชื้อจุลินทรีย์ (Plate)
- ออโต้ ปิเปต (Auto pipette)
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- ไฟแช็ค
- ไม้พันสำลี swap
- ลูป (loop)
- นีดเดิล (needle)
- หลอดทดลอง
- ช้อนตักสาร
- Cork borer ขนาด 6 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

นำส่วนเปลือกต้น ดอก และใบของลีลาวดีพันธุ์ขาวพวง 2 กิโลกรัม หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นนำไปล้างน้ำทำความสะอาดและตากไว้ในที่ร่มให้แห้ง แล้วจึงนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาน 3 วัน จึงนำไปบดด้วยเครื่องบดไม้ให้เป็นผงชั่งให้ได้น้ำหนักแห้ง 200 กรัม

3.5.2 การสกัดสารสกัดหยาบ

ชั่งผงตัวอย่างของลีลาวดี 200 กรัม นำมาแช่ในเอทานอล (Ethanol 95 เปอร์เซ็นต์) ปริมาตร 1,800 มิลลิลิตร โดยแช่ในขวดสีชาขนาด 2,000 มิลลิลิตร เป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดนำสารสกัดจากแต่ละส่วนของลีลาวดีที่ได้มากรองเอาเฉพาะส่วนใสด้วยชุดกรองสุญญากาศ เก็บสารสกัดส่วนใสที่ได้จากการกรองไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ ที่ความดัน 175 ปาสคาล อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เกิดการระเหยของตัวทำละลาย และควบแน่นแยกออกจากสารกัดหยาบ จะได้สารสกัดหยาบที่ต้องการอยู่ใน pair shape โดยทำในลักษณะเดียวกันนี้ทั้ง 3 ส่วนของตัวอย่างลีลาวดีได้แก่ ส่วนใบ ดอกและเปลือกต้น แยกเก็บตัวอย่างสารสกัดแต่ละส่วนไว้ในขวดสีชาเพื่อนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3.5.3 ศึกษาสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ของสารสกัดหยาบ

3.5.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic)

เติมสารสกัดตัวอย่างแต่ละส่วนได้แก่ ใบ ดอก เปลือกต้น 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณ 20 ไมโครลิตร สารฟอลิน ซิโอแคลตูรีเอเจนต์ (Folin – ciocalteu's reagent) ปริมาณ 100 ไมโครลิตร เตรียมสารโซเดียม คาบอเนต 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 80 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุม micro well plate ปริมาตรรวม 200 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม บ่มทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นนำไปอ่านค่าด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์ (Microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร ซึ่งทำส่วนละ 5 ซ้ำ โดยเปรียบเทียบกับค่ากราฟมาตราฐานที่ใช้สารแกลลิค แอซิด 20 ไมโครลิตร แทนตัวอย่างสารสกัดหยาบและ Blank ที่ใช้เอทานอล 20 ไมโครลิตร แทนตัวอย่างสารสกัดหยาบ นำไปวิเคราะห์ต่อไป

3.5.3.2 การทดสอบ DPPH

เติมตัวอย่างสารสกัดหยาบแต่ละส่วนของลีลาวดีได้แก่ ใบ ดอก เปลือกต้น โดยเจือจางด้วย absolute EtOH ให้ได้ตัวอย่างสารสกัดหยาบ 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาณ 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครลิตร เติมสาร DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) 190 ไมโครลิตร ลงในหลุม micro well plate ปริมาตรรวม 200 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม บ่มทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นนำไปอ่านค่าด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์ (Microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร(nm) ซึ่งทำส่วนละ 5 ซ้ำ โดยเปรียบเทียบกับค่ามาตราฐานที่ใช้อัลฟา โคฟีรอล หรือ(vitamin E) 0.5 mM และ blank ซึ่งเตรียมโดยใช้ absolute EtOH 10 ไมโครลิตรจากนั้นเติม DPPH 190 ไมโครลิตรผสมเข้าด้วยกัน นำไปวิเคราะห์ผลต่อไป

การวิเคราะห์ค่าในการกำจัดอนุมูลอิสระ (คำนวณจากสูตร)

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

A : ค่าการดูดกลืนแสงของ Blank B : ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด

3.5.4 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน

3.5.4.1 เตรียมเชื้อแบคทีเรีย (Bacteria)

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียมาตรฐานโดย streak แบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์ลงในอาหาร Nutrient agar (NA) และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเขี่ยเชื้อ 3-5 โคโลนีเดี่ยว (Single colony) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (NB) หลังจากนั้นนำมาปรับความขุ่นให้ได้ McFarland standard No. 0.5=10^8 CFU/ml

3.5.4.2 เตรียมเชื้อรา (Fungi)

เลี้ยงเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์ในอาหาร Sabouraud dextrose agar (SDA) บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 วัน (จนได้ขนาดโคโลนีประมาณ 2 เซนติเมตร)

3.5.5 การทดสอบฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์(Antimicrobial)

3.5.5.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Antibacterial)

ปิเปตเชื้อแบคทีเรียมาตรฐานที่เตรียมไว้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในอาหาร MHA ที่ใช้สำหรับทดสอบเชื้อแบคทีเรีย ใช้ไม้พันสำลี swap ให้ทั่วจานเพาะเชื้อ จากนั้นเจาะหลุมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร แล้วหยดสารสกัดปริมาณ 50 ไมโครลิตร ในส่วนของสารสกัดจากใบ ดอก เปลือกต้นลงในแต่ละหลุม รวมทั้ง Negative control คือเอทานอล และ Positive control ที่ใช้ได้แก่ ยาปฏิชีวนะซิโพรฟลอกซาซินความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่มีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยับยั้งเชื้อ (clear zone) ทำการทดสอบสารสกัดต่างๆที่ความเข้มข้น 50 mg/ml และ 100 mg/ml ความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ

3.5.5.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านรา (Antifungal)

ใช้ cork borer ขนาด 6 มิลลิเมตร เจาะหลุมบนอาหาร SDA ห่างจากปลายเส้นใย (บริเวณขอบโคโลนี) 0.5 เซนติเมตร หยดสารสกัดเปลือก ดอก และใบความเข้มข้น 50 mg/ml และ 100 mg/ml หลุมละ 50 ไมโครลิตร โดยมียาปฏิชีวนะไอทราโคนาโซล ความเข้มข้น 100 mg/ml เป็นชุดควบคุมเชิงบวกและเอทานอลร้อยละ 95 เป็นชุดควบคุมเชิงลบ บ่มที่อุณหภูมิ 25 องซาเซลเซียล เป็นเวลา 3 วัน ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

การอ่านผล

สังเกตการณ์ยับยั้งเชื้อ โดยเชื้อจะไม่สามารถเจริญเติบโตชิดขอบหลุม เปรียบเทียบกับชุดควบคุม บันทึกผลดังนี้

- ไม่มีการยับยั้ง

\+ มีการยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

4.1 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากลีลาวดี

4.1.1 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากลีลาวดี

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียโดยนำสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ดอก และใบของลีลาวดีมาทดสอบกับแบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *Bacillus cereus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี Agar well diffusion จากนั้นวัดขนาดของบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเหล่านี้เริ่มต้นที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ยาปฏิชีวนะซิโพรฟลอกซาซินความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นตัวควบคุมเชิงบวกและใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวควบคุมเชิงลบ

ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียโดยนำสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ดอก และใบของลีลาวดีมาทดสอบกับแบคทีเรีย *B. cereus, E. coli, P. aeruginosa, S. aureus* พบว่าที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ดอก และใบของต้นลีลาวดีไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิดนี้ จึงเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเป็น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิดนี้อีกครั้ง พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ดอก และใบ ของลีลาวดีเกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* แต่ไม่พบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E.coli, P. aeruginosa, S. aureus* ผลการทดสอบดังตารางที่ 4.1

สารสกัดหยาบจากใบมีบริเวณการยับยั้งมากที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 8.31 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากดอกมีบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 8.06 มิลลิเมตร และสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นมีบริเวณการยับยั้งน้อยที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 6.37 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวกแสดงให้เห็นว่าสารสกัดมีฤทธิ์ทางชีวภาพน้อยกว่าตัวควบคุมเชิงบวก ดังรูปที่ 4.2 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shinde และคณะ ที่พบว่าการทดสอบแบคทีเรียแกรมบวกมีความไวต่อสารสกัดมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบเนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีเยื่อหุ้มชั้นนอก (outer membrane) และ periplasmic space ซึ่งไม่พบในแบคทีเรียแกรมบวก สาร lipopolysaccharide ที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อชั้นนอกจะเป็นตัวกั้นการซึมผ่านของสารได้ดี ในขณะที่แบคทีเรียแกรมบวกไม่มีโครงสร้างเหล่านี้ สารสกัดหยาบของลีลาวดีทั้ง 3 ส่วนที่นำมาทดสอบจึงสามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (สุคนธ์และคณะ, 2012) ทำให้เกิดการยับยั้ง และที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบมีความเข้มข้นสูงกว่าจึงสามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ได้ดีกว่าที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าเฉลี่ยบริเวณที่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากลีลาวดีจากเอทานอลร้อยละ 95 ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml)

ประเภทของสารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (มิลลิเมตร)			
		B. cereus (+)	*E. coli* ( )	*P. aeruginosa*( )	*S. aureus* (+)
สารสกัดยาบเปลือกต้น	50	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00
	100	6.37^{b} ± 0.22	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00
สารสกัดหยาบดอก	50	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00
	100	8.06^{b} ± 0.73	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00
สารสกัดหยาบใบ	50	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00
	100	8.31^{b} ± 1.71	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00
เอทานอล	ร้อยละ 95	6.00^{c}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{b}±0.00
ซิโพรฟลอกซาซิน	10	19.51^{a}±2.68	23.50^{a}±1.35	20.95^{a}±1.78	15.00^{a}±1.40

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.1.2 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดหยาบจากลีลาวดี

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราโดยนำสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ดอก และใบของลีลาวดีมาทดสอบกับเชื้อรา 2 ชนิด คือ *Alternaria alternata* และ *Fusarium moniliforme* ด้วยวิธี Agar well diffusion จากนั้นสังเกตบริเวณที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเหล่านี้ เริ่มต้นที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ยาปฏิชีวนะยาไอทราโคนาโซล (Itraconazole) ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นตัวควบคุมเชิงบวกและใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวควบคุมเชิงลบ

ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา โดยนำสารสกัดหยาบจากส่วนเปลือกต้น ดอก และใบ ของลีลาวดีมาทดสอบกับเชื้อรา *A. alternata* และ *F. moniliforme* พบว่าที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดสอบไม่เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเป็น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ดอก และใบของลีลาวดียังคงไม่เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดนี้เช่นกัน ผลดังตารางที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงบริเวณที่เกิดการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดหยาบลีลาวดีโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml)

ประเภทของสารสกัด	บริเวณที่เกิดการยับยั้งเชื้อรา ความเข้มข้นที่ 50 (mg/ml)		บริเวณที่เกิดการยับยั้งเชื้อรา ความเข้มข้นที่ 100 (mg/ml)	
	A. alternate	*F. moniliforme*	*A. alternate*	*F. moniliforme*
สารสกัดหยาบเปลือกต้น	-	-	-	-
สารสกัดหยาบดอก	-	-	-	-
สารสกัดหยาบใบ	-	-	-	-
เอทานอล	-	-	-	-
ไอทราโคนาโซล (10 mg/ml)	+	+	+	+

หมายเหตุ : เครื่องหมาย (+) หมายถึงบริเวณที่เกิดการยับยั้ง, (-) หมายถึงบริเวณที่ไม่เกิดการยับยั้ง

รูปที่ 4.2 แสดงบริเวณยับยั้งเชื้อราของสารสกัดใบ เปลือกต้น ดอกจากต้นลีลาวดี *P. acuminata* ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ซ้าย) และความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ขวา)

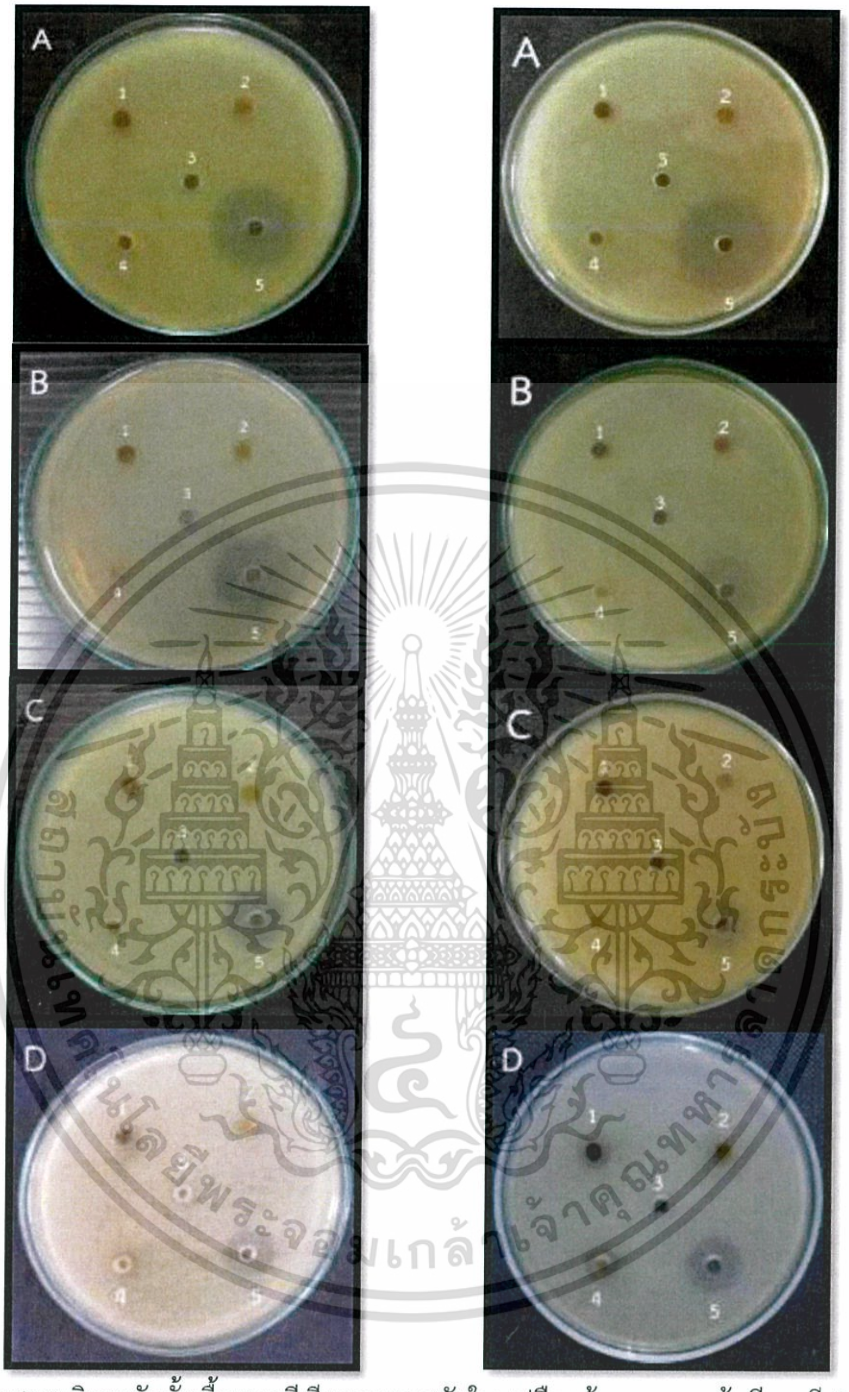
หมายเหตุ A : *A. alternata* B : *F. moniliforme*

1 : สารสกัดใบของลีลาวดี 4 : เอทานอลร้อยละ 95

2 : สารสกัดเปลือกต้นของลีลาวดี 5 : ยาปฏิชีวนะไอทราโคนาโซล

3 : สารสกัดดอกของลีลาวดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 แสดงบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดใบ เปลือกต้น ดอกจากต้นลีลาวดี *P. acuminata* ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ซ้าย) และความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ขวา)

หมายเหตุ A) *E. coli* B) *P. aeruginosa* C) *S. aureus* D) *B. cereus*

1 : สารสกัดใบของลีลาวดี
2 : สารสกัดเปลือกต้นของลีลาวดี
3 : สารสกัดดอกของลีลาวดี
4 : เอทานอลร้อยละ 95
5 : ยาปฏิชีวนะซิโพรฟลอกซาซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด

4.1.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณฟินอลิกทั้งหมดที่มีในสารสกัดหยาบ

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ดอกและใบของลีลาวดี (มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมของน้ำหนักสารสกัด)

ประเภทของสารกัดหยาบ	ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมของน้ำหนักสารสกัด) ค่าเฉลี่ย (GAE/g)
เปลือกต้น	$0.026^{b} \pm 0.032$
ดอก	$0.141^{a} \pm 0.464$
ใบ	$0.049^{ab} \pm 0.071$

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การวิเคราะห์หาสารฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ใบ และดอกของลีลาวดีที่สกัดจากเอทานอลร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ใบ และดอกของลีลาวดีกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค ดังรูปที่ 4.5 แสดงกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค ในภาคผนวก

พบว่าสารสกัดหยาบจากดอกมีสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดเทียบเท่ากับ 0.141 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากใบมีค่าเทียบเท่ากับ 0.049 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุดเท่ากับ 0.0258 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

4.1.3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากลีลาวดี(DPPH activity)

สารสกัดหยาบแต่ละส่วนของลีลาวดีได้แก่เปลือกต้น ดอก ใบ นำมาทดสอบความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระโดยวิธีการดักจับอนุมูลอิสระของ DPPH (DPPH radical scavenging method) โดยเจือจางด้วย absolute EtOH ร้อยละ 99 ให้ได้ความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อ่านค่าด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครไตเตอร์เพลทรีดเดอร์ที่ความยาคลื่น 492 นาโนเมตร(nm) โดยใช้อัลฟา โคฟีรอล (vitamin E) เป็นตัวควบคุมเชิงบวกและใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวควบคุมเชิงลบ สารสกัดทุกชนิดมีฤทธิ์ในการดักจับอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้น พบว่าสารสกัดจากดอกลีลาวดีมีร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระสูงที่สุดในทุกความเข้มข้น

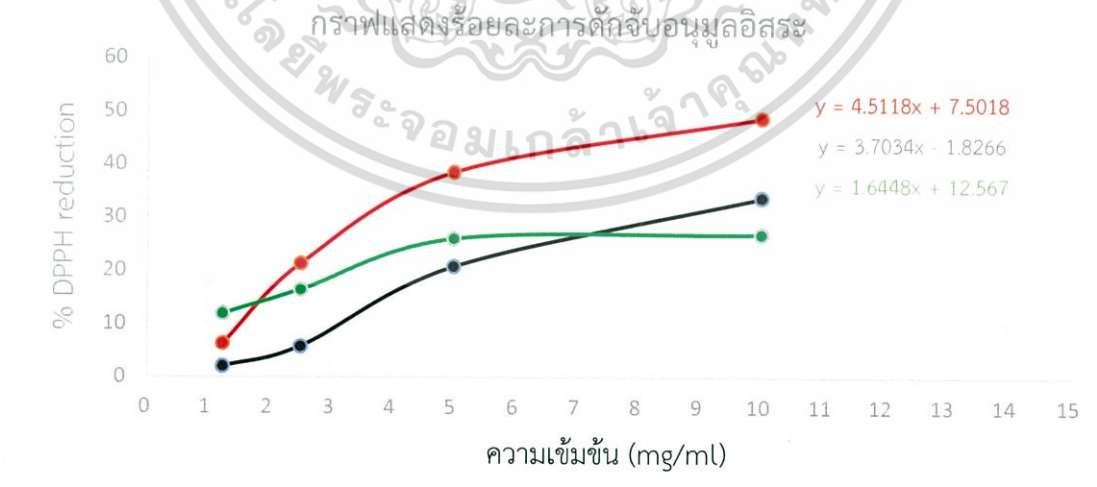
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้แก่ ความเข้มข้นที่ 1.25 2.5 5 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่าเท่ากับ 6.23 21.08 38.47 48.66 ตามลำดับและพบว่าส่วนของสารสกัดหยาบทั้ง เปลือกต้น ใบและดอกที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 33.69 48.67 และ 26.82 ตามลำดับ ดังตารางแสดงผลที่ 4.4 โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hafizur Rahman จากการศึกษาสนับสนุนมุมมองที่ว่าต้นลีลาวดีมีแนวโน้มเป็นแหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติ โดยพบว่าดอกลีลาวดีเป็นแหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 4.4 แสดงร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเปลือกต้น ดอกและใบของลีลาวดี

สารสกัดหยาบ / ความเข้มข้นสารสกัด(mg/ml)	% Scavenging		
	สารสกัดเปลือกต้น	สารสกัดดอก	สารสกัดใบ
1.25	1.94^{d} ±1.28	6.30^{d} ±1.73	5.95^{c} ±1.61
2.5	5.70^{c} ±0.63	21.08^{c} ±0.62	16.38^{b} ±1.47
5	20.79^{b} ±0.49	38.47^{b} ±0.63	26.01^{a} ±1.82
10	33.69^{a} ±2.22	48.66^{a} ±1.79	26.82^{a} ±1.06

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้น(เส้นกราฟสีดำ) ดอก(เส้นกราฟสีแดง) และใบ(เส้นกราฟสีเขียว) ของลีลาวดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของลีลาวดีที่ได้จากตัวทำละลายเอทานอลในแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟจะสามารถหาค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบแต่ละส่วนจากกราฟได้โดยสารสกัดหยาบจากส่วนของเปลือกต้นมีค่า IC_{50} เท่ากับ 22.7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากส่วนของดอกมีค่า IC_{50} เท่ากับ 9.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบจากส่วนของใบมีค่า IC_{50} เท่ากับ 13.99 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 แสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นลีลาวดี

ชนิดของสารสกัดหยาบ	IC_{50} (mg/ml)
เปลือกต้น	22.76
ดอก	9.42
ใบ	13.99

หมายเหตุ วิตามินอี (Vit.E) ที่ความเข้มข้น 0.5 mM เท่ากับ 73 เปอร์เซ็นต์

IC_{50} ของสารสกัดส่วนดอกให้ฤทธิ์มากที่สุด เนื่องจากใช้ความเข้มข้นสารสกัดดอก 9.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ครึ่งหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองการสกัดหยาบส่วนของเปลือกต้น ดอก และใบของลีลาวดี ด้วยเอทานอลร้อยละ 95 แล้วทดสอบสารสกัดหยาบกับเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา โดยทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus, E. coli, P. aeruginosa, S. aureus* ที่ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าไม่เกิดบริเวณการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4ชนิด เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเป็น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าเกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* ชัดเจนที่สุด โดยส่วนของใบสามารถยับยั้งได้มากที่สุด รองลงมาเป็นส่วนของดอก และเปลือกต้นน้อยที่สุดมีค่าเท่ากับ 8.3050 8.0600 และ 6.3650 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ในทางตรงกันข้ามการทดสอบสารสกัดหยาบทั้ง 3 ส่วนของลีลาวดีกับเชื้อรา *A. alternata, F. moniliforme* พบว่าที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งเชื้อราทั้ง 2 ชนิดนี้ได้ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเป็น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อราทั้ง 2 ชนิด

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบเหล่านี้ โดยเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid พบว่าสารสกัดหยาบจากดอกมีสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นและใบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุด เมื่อนำสารสกัดหยาบจาก 3 ส่วนของลีลาวดีมาทดสอบด้วยวิธี DPPH scavenging assay จากทั้ง 4 ความเข้มข้นได้แก่ 1.25 2.5 5 และ 10 มิลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในความความเข้มข้นที่ 1.25 2.5 5 และ10 มิลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบส่วนของดอกสามารถต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุดมีค่าเท่ากับ 6.23 21.08 38.47 และ 48.66 ตามลำดับความเข้มข้น โดยที่ความเข้มข้น 10 มิลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุด ซึ่งเมื่อนำสารสกัดมาทดสอบคำนวณค่า IC_{50} พบว่าสารสกัดหยาบจากดอกใช้ปริมาณสารสกัดเพียง 9.42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ครึ่งหนึ่ง ซึ่งให้ผลไปในทางเดียวกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่ตรวจพบในสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ลีลาวดีเพียง 1 สายพันธุ์เท่านั้น และทดสอบสารสกัดหยาบเหล่านี้เพียง 2 ความเข้มข้นคือ 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จึงได้ผลในการยับยั้งที่ไม่แตกต่างกัน ไม่สามารถสังเกตผลได้อย่างชัดเจน ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปอาจใช้ลีลาวดีในหลายๆสายพันธุ์ทดสอบเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งได้อย่างชัดเจน และทดสอบสารสกัดในหลายๆความเข้มข้นเพื่อให้ผลการยับยั้งที่ชัดเจนมากยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กชวรรณ สร้อยสน และกนกพร จิตตรัตน์เสนีย์. 2556. ฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเห็ดแครง. วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

คณิกร คำสวัสดิ์, พรฑิตา จ้อยชู และอิจฉราภรณ์ สิงห์หาญ. 2553. การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพจากสารสกัดสาบเสือ. โครงการคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จิราภรณ์ ธนากุลปกรณ์, อภิรดี ปิลันธนภาคย์. 2555. ฤทธิ์ยับยั้ง *Alternaria brassicicola* ของราเอนโดไฟท์ TH121 ที่แยกได้จากใบโพทะเล. Thai journai of science and technology 1(1): มกราคม-เมษายน.

เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม. 2554. Oxidants and antioxidants: Sources and mechanism. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์, 1(1) : พฤษภาคม-สิงหาคม

นภชลัช ยอดพรหม, ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม และอดิศร เสวตวิวัฒน์. 2548. สมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกมะม่วงต่อแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียแลคติค. โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2545. แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. พิมพ์ครั้งที่ 2.

บดินทร บุตรอินทร. 2555. อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดใหม่ coconut bile salt medium เพื่อตรวจหาเชื้อราสายพันธุ์ที่สรางอะฟลาท็อกซิน. พิมพ์ครั้งที่ 45. ภาควิชาเทคนิคการแพทย คณะเทคนิคการแพทย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 21(3), 275-286.

พรรณี เด่นรุ่งเรือง. 2550. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเปลือกต้นวงศ์อบเชย (Lauraceae). สำนักวิจัยการจัดการป่าไม้และผลิตผลป่าไม้. รายงานประจำปีกรมป่าไม้, 19-26.

พินิจ กล่ำคลองตัน. 2553. กระแพร่กระจายเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ในสถานพยาบาล กรณีศึกษา โรงพยาบาลนภาลัย จังหวัดสมุทรสงคราม. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

มาลาตี ประดับญาติ, นงลักษณ์ เภรินทวงศ์, ถนิมนันต์ เจนอักษร. 2553. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma spp.* ในการสร้างสารแบบไม่ระเหยเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. และ *Curvularia* sp. สาเหตุรคใบจุดของผักสลัดในระบบไฮโดรโพนิกส์. การประชุมวิชาการงานเกษตรนเรศวร ครั้งที่ 12.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รุ่งอรุณ กันธะปา, เกวลิน คุณาศักดากุล, สุชาดา เวียรศิลป์ และสงวนศักดิ์ ธนาพรพูนพงษ์. 2554. ผลการยับยั้งของน้ำมันหอมระเหยกานพลู โหระพา และสะระแหน่ต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* และ *Rhizopus* sp. ในสภาพห้องปฏิบัติการ. ว. วิทย. กษ. 42 : 1 (พิเศษ) : 421-424.

วราภรณ์ สุทธิสา และนิวัฒ เสนาะเมือง. 2553. ความสามารถก่อโรคของเชื้อรา *Fusarium species* ที่เกี่ยวข้องกับโรครากเน่าของหม่อน. แก่นเกษตร, 38 (3), 301-308.

วิรัลพัชร์ สุภอนนพงศ์. 2554. การปรับเปลี่ยนพฤติกรรมการบริโภคยาปฏิชีวนะชนิดเม็ดแบบไม่ครบเทอม โดยใช้กระบวนการสืบหาอนาคต : กรณีของชุมชนแม่ย่อยใต้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่. ศึกษาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการส่งเสริมสุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ศุภชัย เนื้อนวลสุวรรณ. 2549. ความปลอดภัยของอาหาร. ภาควิชาสัตวแพทย์สาธารณะสุข คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 84-87.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2540. การจัดการโรคพืช. วี. บี. บุ๊คเซนเตอร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 141 หน้า.

สุรีย์ นานาสมบัติ. 2553. จุลชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแปรรูปอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1, โครงการตำรา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เสาวลักษณ์ พงษ์ไพจิตร และวัชรินทร์ รุกขไชยศิริกุล. 2545. การจำแนกราแมลง *Hypocrella scutata* ที่ป่าพรุสิรินธรโดยวิธีทางอณูวิทยาและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่ราสร้าง. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Hafizur Rahman, Vijaya Badra Reddy, Soumya Ghosh, Sandeep Kumar Mistry. 2014. Antioxidant, cytotoxic and hypolipidemic activities of *Plumeria alba* L. and *Plumeria rubra* L. American Journal of Life Sciences, 2(6-1): 11-15.

Halliwell, B. 2009. The wanderings of a free radical. Free Radical Biology and Medicine 46, 531-542.

Jackson Kung'u. 2016. *Alternaria*: A Well Recognized Allergy Causing Fungus.

M. Gupta, U.K. Mazumder, P. Gomathi. 2007. Evaluation of Antioxidant and Free Radial Scavenging Activities of *Plumeria acuminate* Leaves. Journal of Biological Sciences 7 (8): 1361-1367.

Mounyr Balouiri, Moulay Sadiki, Saad Koraichi Ibnsouda. 2015. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : A review. Journal of Pharmaceutical Analysis 6 (2016), 71–79.

Nelson PE. 1992. Taxonomy and biology of *Fusarium moniliforme*. Mycopathologia, Feb;117(1-2), 29-36.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Philip Molyneux. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activitiy. Songklanakarin J. Sci. Tecnol., 26(2): 211-219.

Shinde P. R., Patil P. S., Bairagi V. A.. 2014. Phytopharmacological Review of *Plumeria species*. Scholars Academic Journal of Pharmacy (SAJP); 3(2): 217-227.

Shrawan Singh, D.R. Singh, V. Shajeeda Banu, Avinash N. 2014. Functional constituents (micronutrients and phytochemicals) and antioxidant activity of Centella asiatica (L.) Urban leaves. Industrial Crops and Products 61, 115-119.

Velioglu, Y.S., Mazza, G. Gao, L. and Oomah, B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46, 4113-4117

(Online) Available : http://www.suwattana.net/separation/page8.html (สืบค้นวันที่ 2/1/59)

(Online) Available : http://pongsripan2503.blogspot.com/p/2.html (สืบค้นวันที่ 2/1/59)

(Online) Available : http://www.thaiethanol.com/en/ethanol/what-is-ethanol.html (สืบค้นวันที่ 2/1/59)

(Online) Available : http://www.vcharkarn.com/varticle/40659 (สืบค้นวันที่ 2/1/59)

(Online) Available : http://haamor.com/th/โรคทางเดินอาหาร/ (สืบค้นวันที่ 4/1/59)

(Online) Available : https://th.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus (สืบค้นวันที่ 5/05/59)

(Online) Available : https://th.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli (สืบค้นวันที่ 5/05/59)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

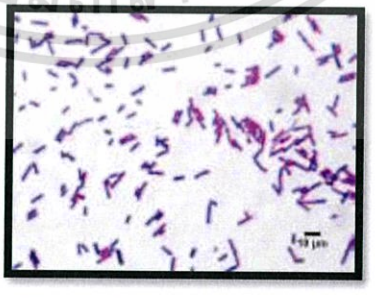
ภาคผนวก ก
จุลินทรีย์ในการทดสอบ

1. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus*

Bacillus cereus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อน ขนาดใหญ่ ปกติมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.0-1.2 ไมโครเมตร ยาว 3.0-5.0 ไมโครเมตร เคลื่อนที่ได้ด้วยเพอริติคัสแฟลกเจลลา (peritrichous flagella) ที่อยู่รอบเซลล์ ต้องการอากาศในการเจริญและสร้างสปอร์ อุณหภูมิต่ำสุดสำหรับการเจริญประมาณ 4-5 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุดสำหรับการเจริญประมาณ 48-50 องศาเซลเซียส เจริญได้ในช่วง pH 4.9-9.3 สร้างสปอร์ที่ทนความร้อน ผลิตสารพิษ (Extracellular toxin) และเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ เลซิทิเนส (Lecithinase) โปรติเอส (Proteases) เบต้า-เลคทาเนส (β-Lactanase) สฟริงโกไมอิลิเนส (Sphingomyelinase) ซีลิโอไลซิน (Cereolysin) ซึ่งเป็นสารพิษที่ทำให้หนูตาย โดยทั่วไปพบในดิน ฝุ่น และน้ำ B. cereus ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งทำให้ผู้ป่วยเกิดอาการท้องร่วง ปวดท้องหลังกินอาหาร 8-16 ชั่วโมง มีอาการคลื่นไส้ปานกลาง (สุรีย์, 2553)

อนุกรมวิธาน

อาณาจักร	Bacteria
ดิวิชั่น	Firmicutes
คลาส	Bacilli
อันดับ	Bacillales
วงศ์	Bacillaceae
สกุล	*Bacillus*
สปีชีส์	*Bacillus cereus*



รูปภาคผนวก ก ที่ 1 ลักษณะย้อมแกรมของ *Bacillus cereus*
(ที่มา : http://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/xbc/xbc01s.jpg, 16 พฤษภาคม 2559)

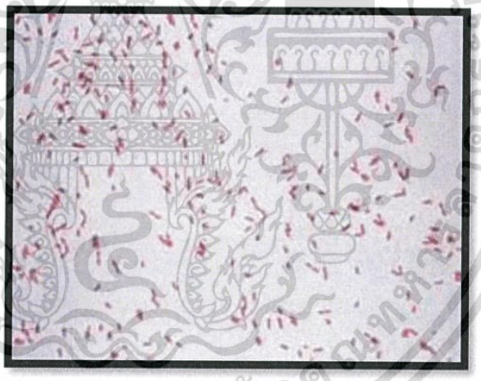
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างท่อน สามารถเคลื่อนที่ได้โดยแฟลกเจลลา ปกติจะพบกระจายในดิน น้ำ ขยะหรือในพืชและในลำไส้คน *P. aeruginosa* สามารถทำให้เกิดโรคในคนได้ รวมทั้งสัตว์ แมลงและต้นไม้ได้บ้าง *P. aeruginosa* เป็นเชื้อโรคฉวยโอกาสจะมีการติดเชื้อกับผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำหรือป่วยมากๆ หรือผู้ที่พักรักษาตัวในโรงพยาบาล บางทีจึงเรียกโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *P. aeruginosa* ว่าโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลและเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ในการก่อให้เกิดโรคปวดบวมในห้อง ICU (กชวรรณ และกนกพร, 2556)

อนุกรมวิธาน

อาณาจักร	Bacteria
ดิวิชั่น	Proteobacteria
คลาส	Gamma Proteobacteria
วงศ์	Pseudomonadaceae
สกุล	*Pseudomonas*
สปีชีส์	*Pseudomonas aeruginosa*



รูปภาคผนวก ก ที่ 2 ลักษณะย้อมแกรมของ *Pseudomonas aeruginosa*
(ที่มา : http://textbookofbacteriology.net/P.aeruginosa.jpeg, 16 พฤษภาคม 2559)

3. เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*

เป็นจุลินทรีย์ในตระกูลไมโครค็อกซี (Micrococcaceae) มีคุณสมบัติติดสีแกรมบวก เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะกลม (0.5 – 1.0 ไมครอน) เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น แต่อาจพบเป็นเซลล์เดี่ยว หรือเป็นสายสั้นๆ (โดยมากไม่เกิน 4 เซลล์) ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ ลักษณะโคโลนีกลม ขอบเรียบ นูน มีสีครีม เหลือง ส้ม โดย *S. aureus* สามารถเจริยได้ดีที่อุณหภูมิ 6 – 46 องศาเซลเซียส โดยมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30 – 37 องศาเซลเซียส ทนความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที สามารถสร้างสารพิษที่อุณหภูมิมากกว่า 10 องศาเซลเซียส ค่า pH ที่สามารถเจริญได้อยู่ในช่วง 4.0 – 10.0 โดยมีค่า pH ที่เหมาะสมคือ 7.0 – 7.5 สามารถทนเกลือที่ความเข้มข้นร้อยละ 18 – 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

S. aureus จัดอยู่ในกลุ่ม Facultative anaerobe คือ สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนมากกว่าในสภาพไม่มีออกวิเจน และสามารถสร้างสารพิษ enterotoxin แบ่งออกเป็น 8 ชนิด ได้แก่ A B C1 C2 C3 D E และ H ชนิดที่พบบ่อยซึ่งเป็นสาเหตุของอาหารเป็นพิษคือ A กับ D สารพิษนี้มีคุณสมบัติพิเศษ ทนความร้อน ไม่ถูกทำลายแม้ต้มเดือดครึ่งชั่วโมงและทนความร้อนที่ 121 องศาเซลซียส นาน 15นาที *S. aureus* เป็นเชื้อที่สามารถพบได้ที่ผิวหนังและโพรงจมูก เยื่อบุทางเดินหายใจ ทางเดินอาหาร และบาดแผลที่เป็นฝีหนอง

เชื้อ *S.aureus* ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งเกิดจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนสารพิษ แม้จะปริมารน้อยกว่า1 ไมโครกรัม ก็สามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ ทำให้เกิดโรคฝี หนอง แผลติดเชื้อได้ หลังจากรับประทานอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไปประมาณ 1 – 6 ชั่วโมง จะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วงอย่างรุนแรง อ่อนเพลียมาก ปวดท้องและเป็นตะคริว

การป้องกันเชื้อโรคเข้าสู่ร่างกายคือ รับประทานอาหารที่ปรุงสุกใหม่ อุ่นอาหารให้ร้อนก่อนรับประทานอาหาร ไม่ควรให้บุคคลที่มีอาการติดเชื้อมาทำอาหาร

อนุกรมวิธาน

โดเมน	Bacteria
อาณาจักร	Eubacteria
ไฟลัม	Firmicutes
คลาส	Bacilli
อันดับ	Bacillales
วงศ์	Staphylococcaceae
สกุล	*Staphylococcus*
สปีชีส์	*Staphylococcus aureus*

รูปภาคผนวก ก ที่ 3 แสดงลักษณะของ *Staphylococcus aureus*

(ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus, 5 พฤษภาคม 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. เชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli*

เชื้อ *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง ไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae และเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม(coliform) ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น จึงใช้เป็นดัชนีชี้สุขลักษณะของอาหารและน้ำ

โดยเชื้อ *E. coli* ส่วนใหญ่ไม่ใช่จุลินทรีย์ก่อโรค แต่มีบางชนิดที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งมี 4 ประเภท คือ Enteroxigenic *E. coli* (ETEC), Enteropathogenic *E. coli* (EPEC), Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), Enteroinvasive *E. coli* เป็น *E.coli* ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ อาการทั่วไปคือ ท่องร่วง ปวดท้อง คลื่นไส้ แหล่งที่พบคือ น้ำที่ปนเปื้อนแล้วไปปนเปื่อนต่อในอาหาร หรือจากคนป่วยที่สัมผัสหรือปรุงอาหาร ถ้ารับเชื้อเข้าไปมากจะมีอาการภายใน 24 ชั่วโมง ทั้งนี้การระบาดมีไม่มากนัก หากมีการปฏิบัติทางสุขลักษณะที่ดี ปัจจุบันการวิเคราะห์เชื้อตัวนี้ในอาหารทำได้โดยใช้ gene probe ซึ่งใช้เวลา 3 วัน หรือใช้วิธีทดสอบพิษ โดยทั่วไปใช้เวลาอย่างน้อยที่สุด 7 วัน

1. Enteroxigenic *E. coli* (ETEC)

เป็นเชื้อโรคที่ระบาดโดยมีความรุนแรงที่ไม่ได้เกี่ยวข้องกับการขับสารพิษทั่วไปของ EEC ชนิดอื่น EPEC แพร่ไปในคนและสัตว์หลายชนิด เช่น วัว ควาย หมู มักเป็นโรคที่เป็นกับเด็ก ทำให้อุจจาระร่วงเป็นน้ำหรือเป็นเลือด คล้ายกับอาการที่เกิดจากเชื้อ Shigella ซึ่งเรียกว่า ชิกะทอกซิน (shigatoxin) อาหารที่พบเชื้อตัวนี้คือ เนื้อวัวและเนื้อไก่ดิบ และจากน้ำที่ปนเปื้อนที่นำมาชงนมของเด็ก

2. Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)

พิษที่สร้างโดย EPEC มีความรุนแรงคือ ทำให้เกิดลำไส้อักเสบจนตกเลือด อาการคือ ปวดท้องรุนแรง อุจจาระร่วงเป็นตอนแรก แต่ต่อมากลายเป็นมูกเลือด อาจมีอาเจียนบ้าง และมีไข้ต่ำหรือไม่มี อาหารที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ เนื้อบดหรือแฮมเบอร์เกอร์ดิบหรือไม่ค่อยสุก นอกจากนี้อาจยังพบในอัลฟัลฟา น้ำผลไม้ ที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ ไส้กรอกหมูปนเนื้อวัว ผักกาดหอม

3. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC)

ทำให้เกิดอาการคล้ายกับโรคบิดหรือบิดมีตัว ทำให้ท้องร่วงโดยมีเลือดหรือมูกในอุจจาระของผู้ที่ติดเชื้อ ปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดอาการประมาณ 10 เซลล์ อาหารที่เกี่ยวข้องยังไม่ชัดเจน แต่มีรายงานว่า เกี่ยวกับเนื้อแฮมเบอร์เกอร์และนมที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ เวลาฟักตัวประมาณ 12 ถึง 72 ชั่วโมง

4. Enteroinvasive *E. coli*

เป็น *E.coli* ที่มีพยาธิสภาพการก่อโรคคล้ายกับเชื้อ*Shigella* คือทำให้เกิดโรคบิดและท้องเสียแบบมีเลือดปน เชื้อทั้งสองเหมือนกันตรงที่ไม่มี flegella ที่จะช่วยให้เชื้อเคลื่อนที่การติด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อเกิดจากการสัมผัสส่งเชื้อจากเซลล์หนึ่งไปยังอีกเซลล์หนึ่ง ทำให้เชื้อสามารถทำลายเซลล์ในชั้นที่ลึกกว่าเยื่อบุลำไส้ได้

อนุกรมวิธาน

โดเมน	แบคทีเรีย (Bacteria)
อาณาจักร	ยูแบคทีเรีย (Eubacteria)
ไฟลัม	Proteobacteria
คราส	Gamma Proteobacteria
อันดับ	Enterobacteriales
วงศ์	Enterobacteriaceae
สกุล	*Escherichia*
สปีชีส์	*Escherichia coli*

รูปภาคผนวก ก ที่ 4 แสดงลักษณะของ *Escherichia coli*
(ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli, 5 พฤษภาคม 2559)

5. เชื้อรา *Alternaria alternata*

ก่อให้เกิดโรคภูมิแพ้เชื้อรา พบสปอร์ของ *Alternaria* ได้ในฤดูใบไม้ผลิ ฤดูใบไม้ร่วง ปัจจุบัน *Alternaria* ประกอบด้วยประมาณ 40-50 สายพันธุ์ แยกมาจากพืชทั่วไป, ดิน, อาหาร, และอากาศภายในอาคาร จะพบว่าในสภาพแวดล้อมภายนอกในช่วงฤดูร้อนมีจำนวนสปอร์ของ *Alternaria alternata* สูงมาก *A.alternata* เป็นตัวก่อภูมิแพ้ที่สำคัญ โดยสปอร์ในอากาศและส่วนของเส้นใยก่อให้เกิดอาการแพ้ในบุคคลที่มีโรคจมูกอักเสบหรือโรคหอบหืด นอกจากนี้ยังสามารถนำไปสู่การเป็นโรคหอบหืดอย่างรุนแรงขึ้นได้ (Jackson, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุกรมวิธาน

อาณาจักร	Fungi
คลาส	Dothideomycetes
ซับคราส	Pleosporomycetidae
อันดับ	Pleosporales
สกุล	Pleosporaceae
วงศ์	*Alternaria*
สปีชีส์	*A. alternata*

รูปภาคผนวก ก ที่ 5 ลักษณะสปอร์ของ *Alternaria alternata*
(ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Alternaria_alternata, 16 พฤษภาคม 2559)

รูปภาคผนวก ก ที่ 6 ลักษณะโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria alternata*
(ที่มา : http://www.thaikasetsart.com. ไทยเกษตรศาสตร์, 16 พฤษภาคม 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alternaria sp. จัดเป็นเชื้อราที่ระบาดแพร่หลายมากที่สุดชนิดหนึ่ง ก่อให้เกิดโรคกับพืชต่างๆ มากมายหลายชนิดโดยเฉพาะผักต่างๆ เชื้อนี้สามารถเข้าทำลายก่อให้เกิดโรคได้เกือบทุกชนิดไม่ว่าจะเป็นกะหล่ำปลี กะหล่ำดอก กะหล่ำปม กะหล่ำดาว บร็อคโคลีผักคะน้า ผักกาดขาว ผักกาดเขียว ผักกวางตุ้ง ผักกาดหัว รวมไปถึงพวกแรดิช เทอร์นิบ และรูทาบาก้า จะเกิดแผลจุดขึ้นบนใบ โดยเริ่มจากจุดเซลล์ตายเล็กๆ สีเหลืองขึ้นก่อน ต่อมาจะค่อยขยายโตขึ้นเป็นสีน้ำตาล เมื่อแผลแห้งจะเกิดจุดเล็กๆ สีน้ำตาลเข้มหรือดำ ขึ้นเป็นวงค่อนข้างกลมเรียงซ้อนกันเป็นชั้นๆ (concentric circle) จุดสีดำดังกล่าว คือกลุ่มของสปอร์หรือโคนิเดียของเชื้อราที่สร้างขึ้นเพื่อใช้ในการแพร่กระจายหรือขยายพันธุ์ (ไทยเกษตรศาสตร์. February 7, 2013) จุดแผลบนใบสีน้ำตาลอมแดง ค่อนข้างเหลี่ยมไปตามขอบของเส้นใบ เมื่อรอยแผลมีอายุมากขึ้นเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม แผลแห้งยุบตัวและสร้างสปอร์ของเชื้อรา ระบาดได้ทางลม (สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร)

6. เชื้อรา *Fusarium moniliforme*

เป็นหนึ่งในเชื้อราที่แพร่หลายมากที่สุดที่เกี่ยวข้องกับมนุษย์และสัตว์ ตัวอย่างเช่น ข้าวโพด แต่เดิมสงสัยว่าเชื้อรานี้มีส่วนเกี่ยวข้องกับโรคในมนุษย์และสัตว์ การกลายพันธุ์ของ *F.moniliforme* มักจะเกิดขึ้นเมื่อ เจริญเติบโตในอาหารที่อุดมไปด้วยคาร์โบไฮเดรต การกลายพันธุ์อาจเป็นได้ทั้งชนิดของเส้นใยหรือชนิดของ pionnotal และมักจะสูญเสียความรุนแรงและความสามารถในการผลิตสารพิษ สารพิษที่ผลิตโดย *F.moniliforme* เป็นกรด fusaric, fusarins, เรลลิ, moniliformin และ fumonisins การผลิตส่วนใหญ่มักจะผลิต fumonisins ได้มากที่สุด เมื่อ *F. moniliforme* เจริญเติบโตในข้าวโพด เชื้อรา *Fusarium moniliforme* ทำให้เกิดการเน่าที่รวงและก้านของข้าวโพด และทำให้ติดเชื้อที่เมล็ดข้าวโพดจากไปอย่างแพร่หลาย(Nelson PE. February, 1992) *F. moniliforme* เป็นเชื้อสาเหตุ โรคที่สำคัญมากของข้าวโพดทำให้เกิดอาการลำต้นและฝักเน่า (Mazzani, 2001)

อนุกรมวิธาน

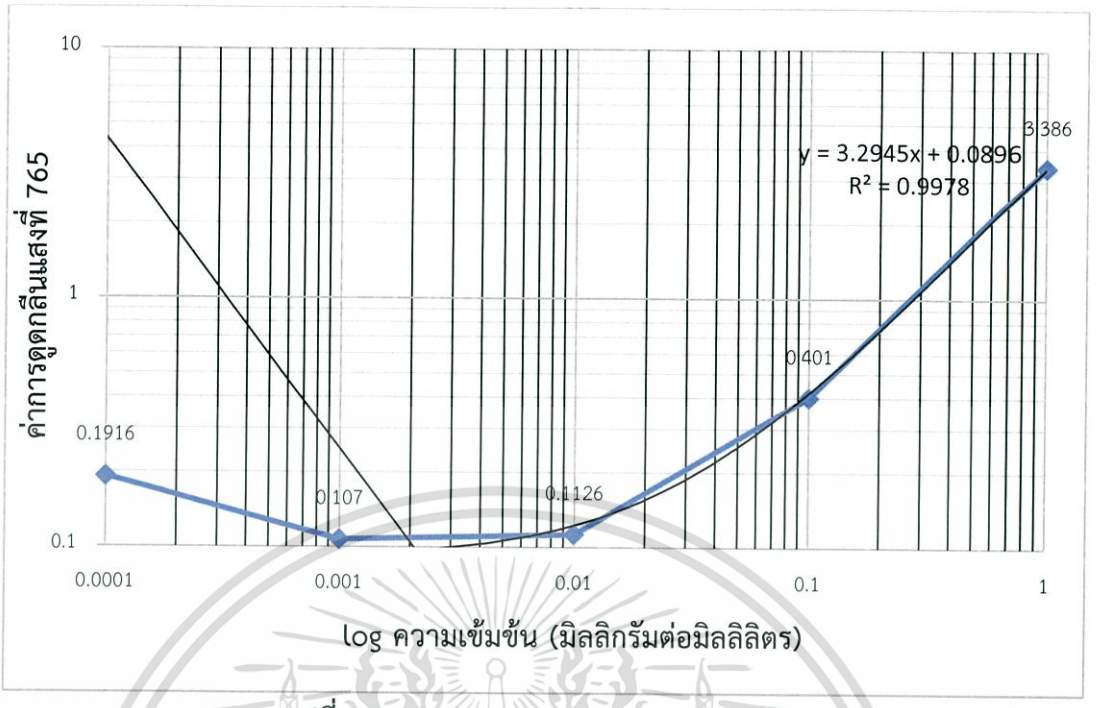
อาณาจักร	Fungi
ไฟลัม	Ascomycota
คลาส	Sordariomycetes
ซับคราส	Hypocreomycetidae
อันดับ	Hypocreales
สกุล	Nectriaceae
วงส์	*Fusarium*
สปีชีส์	*F. moniliforme*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

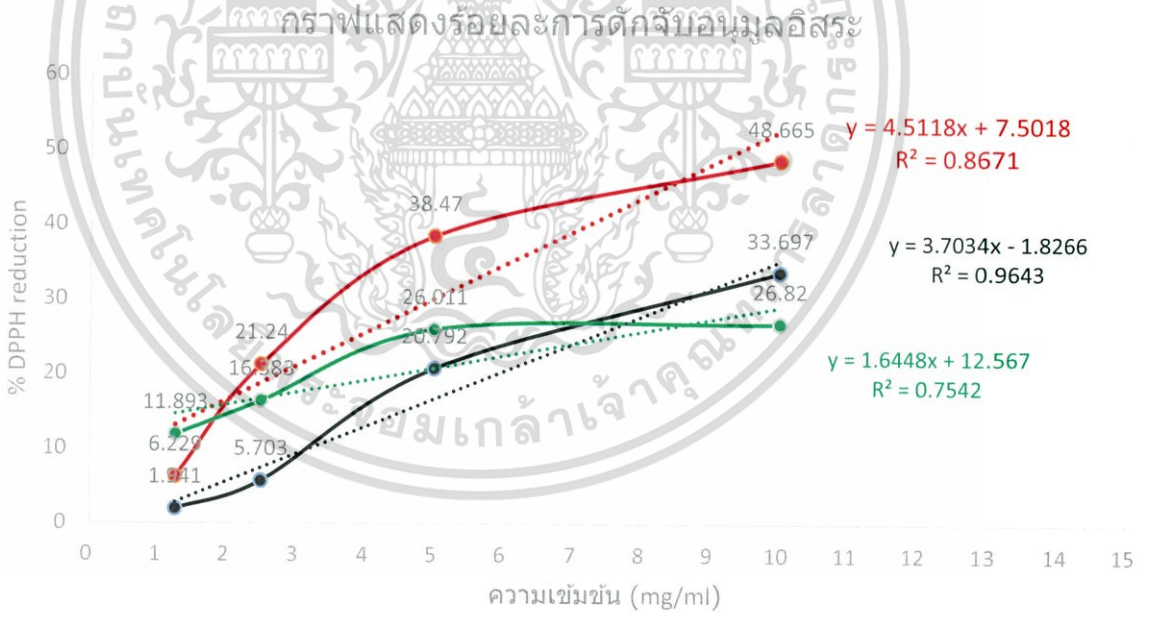
รูปภาคผนวก ก ที่ 7 แสดงลักษณะของเชื้อรา *Fusarium moniliforme*
(ที่มา : http://plantdisease.bettergreat.com/doku.php?id=photo:corn4. Witcha Chaleeprom, 16 พฤษภาคม 2559)

รูปภาคผนวก ก ที่ 8 แสดงลักษณะโรคฝักเน่าของข้าวโพดเกิดจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme*
(ที่มาhttp://plantdisease.bettergreat.com/doku.php?id=photo:corn4. Witcha Chaleeprom, 16 พฤษภาคม 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 แสดงกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค



รูปที่ 4.4 กราฟแสดงร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบส่วนเปลือกต้น (เส้นกราฟสีดำ) ดอก(เส้นกราฟสีแดง) และใบ(เส้นกราฟสีเขียว) ของลีลาวดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
ข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการทดสอบ

ตารางภาคผนวก ข ที่ 1 แสดงข้อมูลดิบการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะ (ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 50 mg/ml)

เชื้อแบคทีเรีย	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาซิโพรฟลอกซาซิน (มิลลิเมตร)			
Bacillus cereus	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	20.00	21.500	20.250	33.000
ซ้ำที่ 2	20.000	16.500	19.000	24.000
ซ้ำที่ 3	19.000	16.500	15.500	16.500
ซ้ำที่ 4	18.500	17.500	17.500	17.500
ซ้ำที่ 5	20.000	17.500	24.00	20.000
Escherichia coli	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	22.000	23.000	21.000	23.000
ซ้ำที่ 2	23.000	23.000	22.000	23.000
ซ้ำที่ 3	25.000	27.000	25.000	25.000
ซ้ำที่ 4	24.000	25.000	23.000	25.000
ซ้ำที่ 5	23.000	23.000	22.000	23.000
Pseudomonas aeruginosa	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	21.000	20.000	20.000	20.000
ซ้ำที่ 2	22.000	22.000	23.000	23.000
ซ้ำที่ 3	23.000	22.000	23.000	22.000
ซ้ำที่ 4	21.000	22.000	21.000	21.000
ซ้ำที่ 5	19.000	18.000	19.000	17.000
Staphylococcus aureus	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	15.000	13.000	14.000	15.000
ซ้ำที่ 2	16.000	16.000	15.000	15.000
ซ้ำที่ 3	18.000	16.000	17.000	17.000
ซ้ำที่ 4	14.000	13.000	13.000	13.000
ซ้ำที่ 5	14.000	16.000	15.000	15.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 2 แสดงข้อมูลดิบการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของลีลาวดีที่ความเข้มข้น 50 mg/ml

เชื้อแบคทีเรีย	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (มิลลิเมตร)			
Bacillus cereus	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000
Escherichia coli	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000
Pseudomonas aeruginosa	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000
Staphylococcus aureus	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 3 แสดงข้อมูลดิบการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากดอกของลีลาวดีที่ความเข้มข้น 50 mg/ml

เชื้อแบคทีเรีย	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (มิลลิเมตร)			
Bacillus cereus	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000
Escherichia coli	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000
Pseudomonas aeruginosa	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000
Staphylococcus aureus	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 4 แสดงข้อมูลดิบการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบของลีลาวดีที่ความเข้มข้น 50 mg/ml

เชื้อแบคทีเรีย	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (มิลลิเมตร)			
Bacillus cereus	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000
Escherichia coli	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000
Pseudomonas aeruginosa	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000
Staphylococcus aureus	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 5 แสดงข้อมูลดิบการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะ (ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 100 mg/ml)

เชื้อแบคทีเรีย	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะซิโพรฟลอกซาซิน (มิลลิเมตร)			
Bacillus cereus	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	14.700	12.100	13.500	13.200
ซ้ำที่ 2	16.600	17.100	16.700	15.500
ซ้ำที่ 3	12.700	13.700	13.800	11.600
ซ้ำที่ 4	13.900	12.200	12.400	12.300
ซ้ำที่ 5	16.000	14.100	15.000	14.700
Escherichia coli	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	33.800	31.500	32.500	33.250
ซ้ำที่ 2	32.750	31.500	33.500	32.500
ซ้ำที่ 3	34.000	31.500	34.500	34.250
ซ้ำที่ 4	32.250	31.500	33.250	31.500
ซ้ำที่ 5	31.250	29.500	31.250	31.500
Pseudomonas aeruginosa	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	20.250	19.500	19.250	18.250
ซ้ำที่ 2	14.500	16.500	15.250	15.100
ซ้ำที่ 3	12.500	12.100	14.100	13.500
ซ้ำที่ 4	20.500	21.500	22.250	21.250
ซ้ำที่ 5	20.500	18.500	18.500	18.500
Staphylococcus aureus	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	17.250	17.250	17.500	17.500
ซ้ำที่ 2	18.250	19.250	18.250	17.250
ซ้ำที่ 3	17.250	18.250	17.250	18.250
ซ้ำที่ 4	15.250	15.250	15.250	15.250
ซ้ำที่ 5	13.500	12.500	14.500	14.500

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 6 แสดงข้อมูลดิบการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นของลีลาวดีที่ความเข้มข้น 100 mg/ml

เชื้อแบคทีเรีย	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (มิลลิเมตร)			
Bacillus cereus	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.500	6.700	6.500	6.500
ซ้ำที่ 3	6.500	6.300	6.800	6.300
ซ้ำที่ 4	6.600	6.900	6.300	6.100
ซ้ำที่ 5	6.200	6.300	6.500	6.300
Escherichia coli	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000
Pseudomonas aeruginosa	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000
Staphylococcus aureus	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 7 แสดงข้อมูลดิบการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากดอกของลีลาวดีที่ความเข้มข้น 100 mg/ml

เชื้อแบคทีเรีย	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (มิลลิเมตร)			
Bacillus cereus	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	8.500	8.900	8.400	7.000
ซ้ำที่ 2	8.800	8.300	9.000	8.400
ซ้ำที่ 3	8.700	8.000	9.100	6.200
ซ้ำที่ 4	7.700	6.400	6.700	6.600
ซ้ำที่ 5	8.800	8.500	8.900	8.300
Escherichia coli	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000
Pseudomonas aeruginosa	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000
Staphylococcus aureus	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 8 แสดงข้อมูลดิบการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากใบของลีลาวดีที่ความเข้มข้น 100 mg/ml

เชื้อแบคทีเรีย	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (มิลลิเมตร)			
Bacillus cereus	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	7.800	6.300	6.100	7.000
ซ้ำที่ 2	11.500	11.100	11.100	10.300
ซ้ำที่ 3	7.600	6.700	6.500	6.600
ซ้ำที่ 4	8.900	8.700	8.300	7.500
ซ้ำที่ 5	8.300	8.200	8.800	8.800
Escherichia coli	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000
Pseudomonas aeruginosa	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000
Staphylococcus aureus	ด้าน 1	ด้าน 2	ด้าน 3	ด้าน 4
ซ้ำที่ 1	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 2	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 3	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 4	6.000	6.000	6.000	6.000
ซ้ำที่ 5	6.000	6.000	6.000	6.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 9 แสดงค่าการดูดกลืนแสงและร้อยละการดักจับสารอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนเปลือกต้นของลีลาวดี

ระดับความเข้มข้น (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสง			% DPPH reduction			
	1	2	3	1	2	3	เฉลี่ย
1.25	0.797	0.809	1.25	3.276	1.820	0.728	1.941
2.5	0.780	0.771	2.5	5.339	6.432	5.339	5.703
5	0.655	0.655	5	20.509	20.509	21.359	20.792
10	0.540	0.532	10	34.466	35.436	31.189	33.697

ตารางภาคผนวก ข ที่ 10 แสดงค่าการดูดกลืนแสงและร้อยละ DPPH reduction ของสารสกัดหยาบจากส่วนดอกของลีลาวดี

ระดับความเข้มข้น (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสง			% DPPH reduction			
	1	2	3	1	2	3	เฉลี่ย
1.25	0.776	0.757	0.785	5.825	8.131	4.733	6.229
2.5	0.649	0.656	0.646	21.237	20.388	21.601	21.240
5	0.513	0.504	0.504	37.742	38.834	38.834	38.470
10	0.406	0.430	0.433	50.728	47.815	47.451	48.665

ตารางภาคผนวก ข ที่ 11 แสดงค่าการดูดกลืนแสงและร้อยละ DPPH reduction ของสารสกัดหยาบจากส่วนใบของลีลาวดี

ระดับความเข้มข้น (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสง			% DPPH reduction			
	1	2	3	1	2	3	เฉลี่ย
1.25	0.765	0.770	0.790	7.160	6.553	4.126	11.893
2.5	0.675	0.696	0.696	18.082	15.533	15.533	16.383
5	0.625	0.609	0.595	24.150	26.092	27.791	26.011
10	0.593	0.607	0.609	28.033	26.334	26.092	26.820

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข ที่ 12 แสดงข้อมูลค่า standard วิตามินอี (Vit.E) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมล

ความเข้มข้น (mM)	0.5	0.5	0.5	เฉลี่ย	เปอร์เซ็นต์
วิตมินอี (Vit. E)	0.2670	0.2020	0.2560	0.2416	73.187

ตารางภาคผนวก ข ที่ 13 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ดอกและใบของลีลาวดี

ประเภทของสารกัดหยาบ	ค่าการดูดกลืนแสง					ค่าเฉลี่ย
เปลือกต้น	0.062	0.102	0.295	0.079	0.128	0.0810
ดอก	0.308	0.396	0.566	0.701	0.169	0.4233
ใบ	0.088	0.178	0.060	0.510	0.083	0.0770
blank	0.083	0.051	0.057	0.054	0.094	0.0540

ตารางภาคผนวก ข ที่ 14 แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัด เปลือกต้น ดอก และใบของลีลาวดี

ประเภทของสารกัดหยาบ	ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง)			ค่าเฉลี่ย
เปลือกต้น	0.004	0.062	0.012	$0.026^{b} \pm 0.032$
ดอก	0.093	0.145	0.186	$0.141^{a} \pm 0.464$
ใบ	0.027	<0.001	0.128	$0.049^{ab} \pm 0.071$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ผลการคำนวณจากโปรแกรม SPSS

ตารางภาคผนวก ค ที่ 1 แสดงผล SPSS ของการทดสอบสารสกัดหยาบจากเปลือกต้นลีลาวดีที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Bacillus	10.00	5	19.512500	2.6759928	1.1967404	16.189816	22.835184	16.8750	23.6875
	50.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	95.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	100.00	5	6.365000	.2198010	.0982980	6.092081	6.637919	6.0000	6.5500
	Total	20	9.469375	6.0771797	1.3588987	6.625167	12.313583	6.0000	23.6875
E.coli	10.00	5	23.500000	1.3462912	.6020797	21.828359	25.171641	22.2500	25.5000
	50.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	95.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	100.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	Total	20	10.375000	7.7990806	1.7439274	6.724918	14.025082	6.0000	25.5000
Pseudo	10.00	5	20.950000	1.7800983	.7960842	18.739716	23.160284	18.2500	22.5000
	50.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	95.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	100.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	Total	20	9.737500	6.6917442	1.4963195	6.605667	12.869333	6.0000	22.5000
Staphyl	10.00	5	15.000000	1.4031215	.6274950	13.257795	16.742205	13.2500	17.0000
	50.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	95.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	100.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	Total	20	8.250000	4.0498538	.9055748	6.354610	10.145390	6.0000	17.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Bacillus	Between Groups	672.873	3	224.291	124.446	.000
	Within Groups	28.837	16	1.802		
	Total	701.710	19			
E.coli	Between Groups	1148.438	3	382.813	844.828	.000
	Within Groups	7.250	16	.453		
	Total	1155.688	19			
Pseudo	Between Groups	838.134	3	279.378	352.667	.000
	Within Groups	12.675	16	.792		
	Total	850.809	19			
Staphylo	Between Groups	303.750	3	101.250	205.714	.000
	Within Groups	7.875	16	.492		
	Total	311.625	19			

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

Clear zone *Bacillus cereus*

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
Concentration	N	1	2
50.00	5	6.000000	
95.00	5	6.000000	
100.00	5	6.365000	
10.00	5		19.512500
Sig.		.690	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Clear zone *E.coli*

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
Concentration	N	1	2
50.00	5	6.000000	
95.00	5	6.000000	
100.00	5	6.000000	
10.00	5		23.500000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Clear zone *Pseudomonas aeruginosa*

Duncan[a]

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50.00	5	6.000000	
95.00	5	6.000000	
100.00	5	6.000000	
10.00	5		20.950000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Clear zone *Staphylococcus aureus*

Duncan[a]

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50.00	5	6.000000	
95.00	5	6.000000	
100.00	5	6.000000	
10.00	5		15.000000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ตารางภาคผนวก ค ที่ 2 แสดงผล SPSS ของการทดสอบสารสกัดหยาบจากดอกลีลาวดีที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

Oneway

Notes

Output Created		10-JUN-2016 11:23:35
Comments		
Input	Data	C:\Users\Marinan\Desktop\SD ผลเจต.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	20
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on cases with no missing data for any variable in the analysis.
Syntax		ONEWAY Bacillus E.coli Pseudo Staphylo BY concentation /STATISTICS DESCRIPTIVES /MISSING ANALYSIS /POSTHOC=DUNCAN ALPHA(0.05).
Resources	Processor Time	00:00:00.08
	Elapsed Time	00:00:00.25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Bacillus	10.00	5	19.512500	2.6759928	1.1967404	16.189816	22.835184	16.8750	23.6875
	50.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	95.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	100.00	5	8.060000	.7289976	.3260176	7.154830	8.965170	6.8500	8.6250
	Total	20	9.893125	5.9018166	1.3196863	7.130990	12.655260	6.0000	23.6875
E.coli	10.00	5	23.500000	1.3462912	.6020797	21.828359	25.171641	22.2500	25.5000
	50.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	95.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	100.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	Total	20	10.375000	7.7990806	1.7439274	6.724918	14.025082	6.0000	25.5000
Pseudo	10.00	5	20.950000	1.7800983	.7960842	18.739716	23.160284	18.2500	22.5000
	50.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	95.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	100.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	Total	20	9.737500	6.6917442	1.4963195	6.605667	12.869333	6.0000	22.5000
Staphylo	10.00	5	15.000000	1.4031215	.6274950	13.257795	16.742205	13.2500	17.0000
	50.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	95.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	100.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	Total	20	8.250000	4.0498538	.9055748	6.354610	10.145390	6.0000	17.0000

ANOVA

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Bacillus	Between Groups	631.028	3	210.343	109.377	.000
	Within Groups	30.770	16	1.923		
	Total	661.797	19			
E.coli	Between Groups	1148.438	3	382.813	844.828	.000
	Within Groups	7.250	16	.453		
	Total	1155.688	19			
Pseudo	Between Groups	838.134	3	279.378	352.667	.000
	Within Groups	12.675	16	.792		
	Total	850.809	19			
Staphylo	Between Groups	303.750	3	101.250	205.714	.000
	Within Groups	7.875	16	.492		
	Total	311.625	19			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

Clear zone *Bacillus cereus*

Duncan[a]

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
50.00	5	6.000000		
95.00	5	6.000000		
100.00	5		8.060000	
10.00	5			19.512500
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Clear zone *E.coli*

Duncan[a]

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50.00	5	6.000000	
95.00	5	6.000000	
100.00	5	6.000000	
10.00	5		23.500000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Clear zone *Pseudomonas aeruginosa*

Duncan[a]

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50.00	5	6.000000	
95.00	5	6.000000	
100.00	5	6.000000	
10.00	5		20.950000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Clear zone *Staphylococcus aureus*

Duncan[a]

Concentration	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
50.00	5	6.000000	
95.00	5	6.000000	
100.00	5	6.000000	
10.00	5		15.000000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 3 แสดงผล SPSS ของการทดสอบสารสกัดหยาบจากใบลีลาวดีที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

Oneway

Output Created		10-JUN-2016 11:31:29
Comments		
Input	Data	C:\Users\Marinan\Desktop\SD ผลเจต.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	20
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on cases with no missing data for any variable in the analysis.
Syntax		ONEWAY Bacillus E.coli Pseudo Staphylo BY concentration /STATISTICS DESCRIPTIVES /MISSING ANALYSIS /POSTHOC=DUNCAN ALPHA(0.05).
Resources	Processor Time	00:00:00.09
	Elapsed Time	00:00:00.16

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Bacillus	10.00	5	19.512500	2.6759928	1.1967404	16.189816	22.835184	16.8750	23.6875
	50.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	95.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	100.00	5	8.305000	1.7099342	.7647058	6.181836	10.428164	6.8000	11.0000
	Total	20	9.954375	5.9254181	1.3249638	7.181194	12.727556	6.0000	23.6875
E.coli	10.00	5	23.500000	1.3462912	.6020797	21.828359	25.171641	22.2500	25.5000
	50.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	95.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	100.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	Total	20	10.375000	7.7990806	1.7439274	6.724918	14.025082	6.0000	25.5000
Pseudo	10.00	5	20.950000	1.7800983	.7960842	18.739716	23.160284	18.2500	22.5000
	50.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	95.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	100.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	Total	20	9.737500	6.6917442	1.4963195	6.605667	12.869333	6.0000	22.5000
Staphylo	10.00	5	15.000000	1.4031215	.6274950	13.257795	16.742205	13.2500	17.0000
	50.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	95.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	100.00	5	6.000000	.0000000	.0000000	6.000000	6.000000	6.0000	6.0000
	Total	20	8.250000	4.0498538	.9055748	6.354610	10.145390	6.0000	17.0000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Bacillus	Between Groups	626.762	3	208.921	82.865	.000
	Within Groups	40.339	16	2.521		
	Total	667.101	19			
E.coli	Between Groups	1148.438	3	382.813	844.828	.000
	Within Groups	7.250	16	.453		
	Total	1155.688	19			
Pseudo	Between Groups	838.134	3	279.378	352.667	.000
	Within Groups	12.675	16	.792		
	Total	850.809	19			
Staphylo	Between Groups	303.750	3	101.250	205.714	.000
	Within Groups	7.875	16	.492		
	Total	311.625	19			

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

Clear zone *Bacillus cereus*

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
Concentration	N	1	2	3
50.00	5	6.000000		
95.00	5	6.000000		
100.00	5		8.305000	
10.00	5			19.512500
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Clear zone *E.coli*

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
Concentration	N	1	2
50.00	5	6.000000	
95.00	5	6.000000	
100.00	5	6.000000	
10.00	5		23.500000
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ค ที่ 4 แสดงผล SPSS ของการทดสอบ DPPH จากเปลือกต้น ดอก และใบของลีลาวดี

Oneway

Notes

Output Created		11-JUN-2016 21:46:19
Comments		
Input	Data	C:\Users\Marinan\Desktop\SD ผลเจก.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	12
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on cases with no missing data for any variable in the analysis.
Syntax		ONEWAY เปลือกต้น ดอก ใบ BY concentration /STATISTICS DESCRIPTIVES /MISSING ANALYSIS /POSTHOC=DUNCAN ALPHA(0.05).
Resources	Processor Time	00:00:00.05
	Elapsed Time	00:00:00.05

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
เปลือกต้น	1.25	3	1.941333	1.2783260	.7380419	-1.234204	5.116871	.7280	3.2760
	2.50	3	5.703333	.6310438	.3643333	4.135734	7.270933	5.3390	6.4320
	5.00	3	20.792333	.4907477	.2833333	19.573248	22.011418	20.5090	21.3590
	10.00	3	33.697000	2.2254826	1.2848830	28.168595	39.225405	31.1890	35.4360
	Total	12	15.533500	13.2503639	3.8250506	7.114620	23.952380	.7280	35.4360
ดอก	1.25	3	6.229667	1.7347672	1.0015683	1.920266	10.539067	4.7330	8.1310
	2.50	3	21.075333	.6224503	.3593718	19.529081	22.621586	20.3880	21.6010
	5.00	3	38.470000	.6304665	.3640000	36.903834	40.036166	37.7420	38.8340
	10.00	3	48.664667	1.7961437	1.0370041	44.202798	53.126535	47.4510	50.7280
	Total	12	28.609917	17.0166237	4.9122761	17.798070	39.421764	4.7330	50.7280
ใบ	1.25	3	5.946333	1.6054041	.9268805	1.958288	9.934378	4.1260	7.1600
	2.50	3	16.382667	1.4716658	.8496667	12.726846	20.038487	15.5330	18.0820
	5.00	3	26.011000	1.8218510	1.0518462	21.485271	30.536729	24.1500	27.7910
	10.00	3	26.819667	1.0577213	.6106757	24.192141	29.447192	26.0920	28.0330
	Total	12	18.789917	8.9467227	2.5826964	13.105440	24.474393	4.1260	28.0330

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
เปลือกต้น	Between Groups	1916.842	3	638.947	353.696	.000
	Within Groups	14.452	8	1.806		
	Total	1931.294	11			
ดอก	Between Groups	3171.179	3	1057.060	602.272	.000
	Within Groups	14.041	8	1.755		
	Total	3185.220	11			
ใบ	Between Groups	862.120	3	287.373	125.203	.000
	Within Groups	18.362	8	2.295		
	Total	880.482	11			

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

เปลือกต้น

Duncan[a]

concentation	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1.25	3	1.941333			
2.50	3		5.703333		
5.00	3			20.792333	
10.00	3				33.697000
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.

ดอก

Duncan[a]

concentation	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1.25	3	6.229667			
2.50	3		21.075333		
5.00	3			38.470000	
10.00	3				48.664667
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

ใบ

Duncan[a]

concentation	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1.25	3	5.946333		
2.50	3		16.382667	
5.00	3			26.011000
10.00	3			26.819667
Sig.		1.000	1.000	.532

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางภาคผนวก ค ที่5 แสดงผล SPSS ของค่าปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในสารสกัดหยาบจากเปลือกต้น ดอกและใบของลีลาวดี (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

Oneway

Notes

Output Created		12-JUN-2016 18:21:57
Comments		
Input	Data	C:\Users\Marinan\Desktop\SD ผลเจค.sav
	Active Dataset	DataSet1
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	9
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics for each analysis are based on cases with no missing data for any variable in the analysis.
Syntax		ONEWAY totlephenolic BY sample /STATISTICS DESCRIPTIVES /MISSING ANALYSIS /POSTHOC=DUNCAN ALPHA(0.05).
Resources	Processor Time	00:00:00.02
	Elapsed Time	00:00:00.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
เปลือก	3	.025867	.0317985	.0183589	-.053125	.104858	.0037	.0623
ดอก	3	.141033	.0463530	.0267619	.025886	.256181	.0930	.1855
ใบ	3	.048500	.0707900	.0408706	.127352	.224352	.0089	.1276
Total	9	.071800	.0695342	.0231781	.018351	.125249	-.0089	.1855

ANOVA

Total phenolic

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.022	2	.011	4.101	.075
Within Groups	.016	6	.003		
Total	.039	8			

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

Totlephenolic

Duncan[a]

Sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
เปลือก	3	.025867	
ใบ	3	.048500	.048500
ดอก	3		.141033
Sig.		.614	.073

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหารที่ใช้ในการแยกเชื้อและเลี้ยงเชื้อ

1. Saboroud dextrose agar (SDA) (ตามอัตราส่วนในปริมาณ 1ลิตร.)

caseine – peptone	15	กรัม
Dextose	10	กรัม
Distilled water (น้ำกลั่น)	1	ลิตร
วุ้น	15	กรัม

ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับ pH เป็น 7.0 ± 0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอร์น/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. Potato dextrose agar (PDA) (ตามอัตราส่วนในปริมาณ 1ลิตร.)

มันฝรั่ง	250	กรัม
กลูโคส	20	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับ pH เป็น 7.0 ± 0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอร์น/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. Nutrient agar (NA) หรือ Beef peptone agar (ตามอัตราส่วนในปริมาณ 1ลิตร.)

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
วุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับ pH เป็น 7.0 ± 0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอร์น/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. Mueller Hinton Agar (MHA) (ตามอัตราส่วนในปริมาณ 1ลิตร.)

Infusion from meat	2	กรัม
Casein hydrolysate	17.5	กรัม
แป้ง	1.5	กรัม
วุ้น	13	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ผสมสารทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับ pH เป็น 7.0 ± 0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอร์น/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้