การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเมทานอลจากวัชพืช

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF METHANOLIC EXTRACT FROM WEEDS

กรกช ศุภเสรีสกุล

คาซึมิ ซูซูกิ

นริศรา รักถนอม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเมทานอลจากวัชพืช

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF METHANOLIC EXTRACT FROM WEEDS

กรกช ศุภเสรีสกุล
คาซึมิ ซูซูกิ
นริศรา รักถนอม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF METHANOLIC EXTRACT FROM WEEDS

KORAKOT SUPASEREESAKUL
KAZUMI SUZUKI
NARISSARA RAKTANORM

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเมทานอลจากวัชพืช Antibacterial Activity of Methanolic Extract from Weeds
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกรกช ศุภเสรีสกุล รหัสนักศึกษา 55051225 นางสาวคาซึมิ ซูซูกิ รหัสนักศึกษา 55051243 นางสาวนริศรา รักถนอม รหัสนักศึกษา 55051305
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร.อรรณพ คล้ำชื่น

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

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดวงใจ โอชัยกุล ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา กรรมการ	
ดร.อรรณพ คล้ำชื่น กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	
ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเมทานอลจากวัชพืช
ชื่อนักศึกษา นางสาวกรกช ศุภเสรีสกุล รหัสนักศึกษา 55051225
นางสาวคาซึมิ ซูซูกิ รหัสนักศึกษา 55051243
นางสาวนริศรา รักถนอม รหัสนักศึกษา 55051305
ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา ชีววิทยา
คณะ วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา 2558
อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร.อรรณพ คล้ำชื่น

บทคัดย่อ

นำวัชพืชจำนวน 10 ชนิดมาสกัดสารโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำมาศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus cereus* TISTR 687, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Enterococcus faecalis* TBRC 1546, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538Pb โดยทดสอบเชิงคุณภาพด้วยวิธี Disk diffusion เป็นการคัดกรองสารสกัดเบื้องต้นที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งได้ดี พบว่าสารสกัดหยาบของลูกใต้ใบแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้ง 17.80 มิลลิเมตร จากนั้นคัดเลือกสารสกัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพในการยังยั้งเชื้อแบคทีเรียจำนวน 3 ชนิด บ่มร่วมกับเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 สายพันธุ์ แล้วนำมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าสารสกัดวัชพืชทำให้ลักษณะสัณฐานวิทยาบริเวณผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมอย่างเห็นได้ชัด เมื่อนำสารสกัดทั้งหมดมาทำการทดสอบด้านปริมาณโดย วิธี broth microdilution โดยการหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Minimum inhibitory concentration (MIC) และหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ Minimum bactericidal concentration (MBC) พบว่าค่าความเข้มข้นที่ใช้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 สายพันธุ์ได้อย่างครอบคลุมของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศที่ความเข้มข้น 7.80-400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากลูกใต้ใบที่ความเข้มข้น 7.80-350 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากหญ้าแห้วหมูที่ความเข้มข้น 3.90-250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

คำสำคัญ : การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย เมทานอล สารสกัดจากวัชพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antibacterial Activity of Methanolic Extract from Weeds
Students	Miss KORAKOT SUPASEREESAKUL Student ID 55051225
	Miss KAZUMI SUZUKI Student ID 55051243
	Miss NARISSARA RAKTANORM Student ID 55051305
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2015
Advisor	Dr.Suttijit Sriwatcharakul
Co-advisor	Dr.Annop Klamcheun

Abstract

Methanolic extract of 10 weeds, were screened for their antibacterial activity against 5 species of bacteria (*Bacillus cereus* TISTR 687, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Enterococcus faecalis* TBRC 1546, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P) to test the quality by the disk diffusion method, with a preliminary screening of extracts to inhibit the growth of bacterial species found that *Phyllanthus amarus* extract showing the highest inhibited against *S. aureus* by an average diameter of inhibition 17.80 mm. Selected three effective weed extracts that can restrain bacteria then incubated with five species of bacteria and examined with a scanning electron microscope reveal that extract of weeds effected the cell wall of bacteria which is obviously changed from the normal cells. The quantity test by the broth microdilution method, finding the minimum Inhibitory concentration (MIC); The lowest concentration to inhibit bacterial and the minimum bactericidal concentration (MBC); The minimum concentration that destroy bacteria. The result exhibited that extract of *Cassia alata* concentration at 7.80-350 mg/ml, *Phyllanthus amarus* concentration at 7.80-350 mg/ml and *Cyperus rotundus* concentration at 3.90-250 mg/ml; the concentration of 3 weed extracts are used inhibit bacteria 5 species inclusively.

Keywords: antibacterial activity, methanol, weeds extract

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยความกรุณาจากท่านอาจารย์ ซึ่งผู้จัดทำโครงงานพิเศษขอกราบขอบพระคุณ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่กรุณาให้คำปรึกษาตลอดจนปรับปรุงแก้ไขชี้ข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่ง

ขอขอบพระคุณ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล และ ผศ.ดร.โชคชัย กิตติวงศ์วัฒนา กรรมการสอบโครงงานพิเศษ ที่ให้ทั้งคำแนะนำ ตรวจสอบ รวมถึงชี้แนะการแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความเรียบร้อยและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ดร.อรรณพ คล้ำชื่น กรรมการสอบและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วมโครงงานพิเศษจากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ที่ไว้วางใจและมอบโอกาสให้คณะผู้จัดทำได้เข้าร่วมใช้สถานที่ในการทำโครงงานพิเศษ รวมทั้งให้คำแนะนำ ตรวจสอบ รวมถึงชี้แนะการแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความเรียบร้อยและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คุณชูชาติ วารินทร์ ผู้ให้คำปรึกษา แนะนำแนวทางในการวางแผนปฏิบัติงานแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นตลอดระยะเวลาในการทำโครงงานพิเศษและประสานงานด้านการขอใช้สถานที่ (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ) ในการทำโครงงานพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา เพื่อนๆ สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม รวมไปถึงเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่คอยเป็นกำลังใจและสนับสนุนช่วยเหลือมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ที่ให้การอนุเคราะห์สถานที่เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำการทดลอง

ขอขอบพระคุณ สำหรับการอนุเคราะห์เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำโครงงานพิเศษจากภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ขอขอบพระคุณ จินดาฟาร์มที่อนุเคราะห์สถานที่ในการเก็บเกี่ยววัชพืช เพื่อนำมาใช้เป็นตัวอย่างสำคัญในการทำการทดลองครั้งนี้

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้สนใจหรือผู้ที่ต้องการค้นคว้าและศึกษางานวิจัยทางด้านนี้ไม่มากก็น้อย

กรกช ศุภเสรีสกุล
คาซึมิ ซูซูกิ
นริศรา รักถนอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาไทย ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ซ
สารบัญรูปภาพ ..... ฌ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ 3
2.1 วัชพืช 3
2.1.1 ชุมเห็ดเทศ 3
2.1.2 ชุมเห็ดชุมเห็ดไท 4
2.1.3 ผักตบชวา 5
2.1.4 ผักบุ้งนา 6
2.1.5 ผักเบี้ยหิน 7
2.1.6 ผักแว่น 8
2.1.7 ไมยราบยักษ์ 9
2.1.8 ลูกใต้ใบ 10
2.1.9 ส้มกบ 11
2.1.10 หญ้าแห้วหมู 12
2.2 เชื้อแบคทีเรีย 13
2.2.1 *Staphylococcus aureus* 13
2.2.2 *Escherichia coli* 14
2.2.3 *Pseudomonas aeruginosa* 15
2.2.4 *Bacillus cereus* 16
2.2.5 *Enterococcus faecalis* 17
2.3 การสกัดสารจากพืชสมุนไพร 18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.3.1 น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย 18
2.3.2 การเลือกตัวทำละลาย 18
2.3.3 วิธีสกัดสารจากพืชสมุนไพร 18
2.3.4 วิธีการทำให้สารสกัดเข้มข้น 19
2.4 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากวัชพืช 20
2.4.1 Agar diffusion Test 20
2.4.2 Minimum inhibition concentration (MIC) 21
2.4.3 Minimum bactericidal concentration (MBC) 21
2.5 ยาที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ 22
2.5.1 ยาแวนโคมัยซิน (Vancomycin) 22
2.5.2 เจนตามัยซิน (Gentamicin) 23
2.6 Scaning eletron microscopy (SEM) 24
2.7 กลไกการทำลายเชื้อแบคทีเรีย 26
2.7.1 การทำลายเซลล์จุลินทรีย์ที่ผนังเซลล์หรือการยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ 26
2.7.2 เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ที่ยอมให้สารผ่าน 26
2.7.3 เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ที่ยอมให้สารผ่านเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพของโปรตีนหรือมีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน 26
2.7.4 การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ 27
2.7.5 ป้องกันการสร้างเมแทบอไลต์ (antimetabolites) 27
2.7.6 การยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก 27
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 27
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย 31
3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ 31
3.2 เชื้อจุลินทรีย์ 31
3.3 สารเคมี 31
3.4 อุปกรณ์ 32
3.5 วิธีการทดลอง 33
3.5.1 กระบวนการสกัดสารจากวัชพืช 10 ชนิด 33
3.5.2 การจัดเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและการเลี้ยงเชื้อ 34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.5.3 การจัดเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและการเลี้ยงเชื้อวิธีทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะ (Disc diffusion method) 34
3.5.4 การศึกษารูปร่างที่เปลี่ยนแปลงไปทั้งก่อนและหลังการได้รับสารสกัดจากวัชพืชของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) 36
3.5.5 วิธีการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum inhibition concentration; MIC) 38
3.5.6 วิธีการหาความเข้มข้นต่ำสุดจากหลอดทดลองที่เมื่อนำเชื้อมาเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้(Minimum bactericidal Concentration; MBC) 40
3.5.7 วิธีการหาความเข้มข้นต่ำสุดจากหลอดทดลอง เมื่อนำเชื้อมาเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้ (Minimum bactericidal concentration; MBC) ในขนาดที่ใหญ่ขึ้น (MBC Big scale) 42
3.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ 42
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล 43
4.1 สารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้ในการทดลอง 43
4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจากสารสกัดของวัชพืชจำนวน 10 ชนิดด้วยวิธี Disc diffusion 43
4.3 ผลการศึกษารูปร่างที่เปลี่ยนแปลงไปทั้งก่อนและหลังการได้รับสารสกัดจากวัชพืชของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) 46
4.4 ผลการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum inhibition concentration; MIC).. 57
4.5 ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นต่ำสุดจากหลอดทดลอง ที่เมื่อนาเชื้อมาเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้ (Minimum bactericidal concentration; MBC) 62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.6 ผลการหาความเข้มข้นต่ำสุดจากหลอดทดลองที่เมื่อนาเชื้อมาเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้ (Minimum bactericidal concentration; MBC) ในขนาดที่ใหญ่ขึ้น (MBC Big scale) 67

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 70

5.1 สรุปผลการวิจัย 70

5.2 ข้อเสนอแนะ 71

เอกสารอ้างอิง 72

ภาคผนวก 75

ภาคผนวก ก. 76

ภาคผนวก ข. 118

ภาคผนวก ค. 124

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ตารางแสดงปริมาณสารสกัดหยาบเข้มข้นของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด จากการใช้น้ำหนักแห้งจากส่วนต่างๆของวัชพืชที่ 600 กรัม 43

4.2 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบเมทานอลของวัชพืชจานวน 10 ชนิดที่ความเข้มข้นสูงสุด (ร้อยละ 100) กับเชื้อแบคทีเรียจานวน 5 สายพันธุ์ ด้วยวิธี Disc diffusion โดยการใช้โปรแกรม Minitab เวอร์ชั่น 16.1 44

4.3 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P 57

4.4 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 58

4.5 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546 59

4.6 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 60

4.7 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 61

4.8 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่มีความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P 62

4.9 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่มีความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 63

4.10 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่มีความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546 64

4.11 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่มีความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 65

4.12 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่มีความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 66

4.13 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชจำนวน 3 ชนิดที่มีความสามารถในการทาลายเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ 67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
2.1	ต้นชุมเห็ดเทศ	3
2.2	ชุมเห็ดไท	4
2.3	ผักตบชวา	5
2.4	ผักบุ้งนา	6
2.5	ผักเบี้ยหิน	7
2.6	ผักแว่น	8
2.7	ไมยราบยักษ์	9
2.8	ลูกใต้ใบ	10
2.9	ส้มกบ	11
2.10	หญ้าแห้วหมู	12
2.11	ลักษณะของแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*	13
2.12	ลักษณะของแบคทีเรีย *Escherichia coli*	14
2.13	ลักษณะของแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa*	15
2.14	ลักษณะของแบคทีเรีย *Bacillus cereus*	16
2.15	ลักษณะของแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis*	17
2.16	เครื่องระเหยสุญญากาศชนิดหมุน (Rotary evaporator)	19
2.17	วิธีการทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion method	20
2.18	รูปแท่นโลหะสาหรับวางชิ้นงาน (stub)	25
2.19	หลักการทางานเครื่อง Scanning electron microscope	25
3.1	รูปแสดงลักษณะการวางแผ่นดิสก์ของสารสกัดลงบนอาหารวุ้นในจานอาหารเพาะเชื้อแบคทีเรีย	35
3.2	รูปภาพแสดงลักษณะการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum inhibition concentration; MIC)	39
3.3	รูปภาพแสดงลักษณะ 96 well plate ที่ใช้ในการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum inhibition concentration; MIC)	40
3.4	รูปภาพแสดงตัวอย่างที่ 1 เป็นการคัดเลือกความเข้มข้นของสารตัวอย่างจากการทดสอบหาค่า MIC ไปทาการทดลองหาค่า MBC	41
3.5	รูปภาพแสดงตัวอย่างที่ 1 เป็นการทดลองหาความเข้มข้นต่ำสุดจากหลอดทดลองที่เมื่อนาเชื้อมาเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้ (Minimum bactericidal Concentration; MBC)	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.1	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ซึ่งเป็นตัวปกติที่ไม่ได้รับสารสกัด (control)....	47
4.2	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ที่ได้รับสารสกัดของชุมเห็ดเทศที่ความเข้มข้นร้อยละ 100.....	47
4.3	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ที่ได้รับสารสกัดของลูกใต้ใบที่ความเข้มข้นร้อยละ 100	48
4.4	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ที่ได้รับสารสกัดของหญ้าแห้วหมูที่ความเข้มข้นร้อยละ 100.....	48
4.5	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 ซึ่งเป็นตัวปกติที่ไม่ได้รับสารสกัด (control).....	49
4.6	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อ *Bacillus cereus* TISTR 687 ที่ได้รับสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ความเข้มข้นร้อยละ 100.....	49
4.7	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 ที่ได้รับสารสกัดลูกใต้ใบที่ความเข้มข้นร้อยละ 100	50
4.8	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 ที่ได้รับสารสกัดหญ้าแห้วหมูที่ความเข้มข้นร้อยละ 100	50
4.9	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546 ซึ่งเป็นตัวปกติที่ไม่ได้รับสารสกัด (control).....	51
4.10	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546 ที่ได้รับสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ความเข้มข้นร้อยละ 100	51
4.11	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546 ที่ได้รับสารสกัดลูกใต้ใบที่ความเข้มข้นร้อยละ 100	52
4.12	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546 ที่ได้รับสารสกัดหญ้าแห้วหมูที่ความเข้มข้นร้อยละ 100	52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.13	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 ซึ่งเป็นตัวปกติที่ไม่ได้รับสารสกัด (control)	53
4.14	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 ที่ได้รับสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ความเข้มข้นร้อยละ 100	53
4.15	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 ที่ได้รับสารสกัดลูกใต้ใบที่ความเข้มข้นร้อยละ 100	54
4.16	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 กับสารสกัดหญ้าแห้วหมูที่ความเข้มข้นร้อยละ 100	54
4.17	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ซึ่งเป็นตัวปกติที่ไม่ได้รับสารสกัด (control)	55
4.18	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 กับสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ความเข้มข้นร้อยละ 100	55
4.19	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 กับสารสกัดลูกใต้ใบที่ความเข้มข้นร้อยละ 100	56
4.20	แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 กับสารสกัดหญ้าแห้วหมูที่ความเข้มข้นร้อยละ 100	56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พืชสมุนไพรและวัชพืชจัดว่าเป็นพืชที่อยู่คู่กับประเทศไทยมานานนับพันปี ซึ่งคุณค่าและสรรพคุณต่างๆ ของพืชเหล่านี้พบว่ามีความสามารถในการนำใช้รักษาโรคบางชนิดได้ แต่เมื่อมีวิทยาการแพทย์แผนปัจจุบันเกิดขึ้น จึงทำให้ภูมิปัญญาท้องถิ่นหรือยาสมุนไพรถูกบดบังจนเกือบเลือนหายไป สำหรับการรักษาแบบแพทย์แผนปัจจุบันมักใช้ยาที่ผลิตจากสารเคมีเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งก่อให้เกิดอาการผลข้างเคียงเมื่อใช้ยาเคมีเป็นระยะเวลานานกับร่างกาย จึงทำให้มีผู้คิดค้นว่าควรนำเอายาตำหรับแผนโบราณมาใช้ร่วมกันกับยาแผนปัจจุบัน อาจช่วยลดความแรงของยาเคมีที่ทำให้เกิดผลข้างเคียงในร่างกายลงได้ ในปัจจุบันนี้พบว่ามีโรคชนิดใหม่ๆ เกิดขึ้นมากมาย ซึ่งหนึ่งในนั้นเป็นสาเหตุมาจากเชื้อจุลินทรีย์ และจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่สำคัญในการก่อให้เกิดโรคได้ คือ แบคทีเรีย เนื่องจากแบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดเล็ก มองไม่เห็นได้ด้วยตาเปล่า พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม มีความสามารถในการแบ่งตัวได้เร็ว สามารถเจริญได้ง่ายเมื่อเทียบกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ จึงเป็นเหตุที่มาของการก่อโรคในคนและสัตว์ นอกจากนี้ยังพบว่ามีแบคทีเรียที่สามารถอาศัยอยู่ได้ตามร่างกายมนุษย์ในสภาวะปกติและไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อคนโดยมักจะเรียกแบคทีเรียจำพวกนี้ว่า แบคทีเรียเจ้าถิ่น (normal flora) เช่น *Staphylococcus aureus* แต่อย่างไรก็ตามหากร่างกายอยู่ในสภาวะอ่อนแอ เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้อาจกลายเป็นเชื้อฉวยโอกาสที่ก่อโรคในคนทางผิวหนังได้อย่างไม่คาดคิด และการรักษาสามารถรักษาได้ด้วยการใช้ยาที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ในปัจจุบันพืชจัดเป็นตัวเลือกหนึ่งที่น่าสนใจที่จะนำมาใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อจากแบคทีเรีย เพราะพืชที่พบส่วนใหญ่มักจะมีสารชีวภาพที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและสำหรับการคัดเลือกชนิดของพืชในการศึกษาครั้งนี้ จะมุ่งเน้นไปที่พืชของกลุ่มวัชพืช ซึ่งจัดได้ว่าเป็นพืชชนิดไร้มูลค่าทางการเกษตร มีปริมาณมาก เจริญเติบโตได้เองตามธรรมชาติ ไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการเพาะปลูก โดยในการศึกษาครั้งนี้จะทำการคัดเลือกวัชพืชมาทั้งหมด 10 ชนิด ได้แก่ ชุมเห็ดเทศ ชุมเห็ดไท ผักตบชวา ผักบุ้งนา ผักเบี้ยหิน ผักแว่น ไมยราบยักษ์ ลูกใต้ใบ ส้มกบและหญ้าแห้วหมู จากแหล่งเก็บตัวอย่างบริเวณเดียวกัน จากนั้นนำมาสกัดสารสำคัญหรือสารชีวภาพที่มีอยู่ในวัชพืชดังกล่าวด้วยเมทานอล เพื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากวัชพืชเหล่านี้ที่มีผลในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้

ทางด้านผู้ทำการทดลองมีความคาดหวังไว้ว่าหากวัชพืชที่นำมาทำการศึกษานี้มีสารออกฤทธิ์หรือสารชีวภาพที่สามารถออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เพียงชนิดใดชนิดหนึ่งจะเป็นประโยชน์ทางด้านการรักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อจากแบคทีเรีย และสามารถนำประโยชน์ที่เกิดขึ้นไปพัฒนาต่อยอดในเชิงการแพทย์ได้ เพื่อลดปัญหาการใช้ยาที่สังเคราะห์ทางเคมีหรืออาจนำไปใช้ร่วมกับยาแผนปัจจุบันเพื่อช่วยลดความแรงและอาการข้างเคียงที่เกิดขึ้นในร่างกายของคนในปัจจุบัน เนื่องจากคนไทยในปัจจุบันมีอัตราการใช้ยาปฏิชีวนะที่สูงขึ้นจนอาจทำให้เกิดอันตรายแก่ร่างกายในอนาคตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาความสามารถของสารสกัดจากวัชพืชในการยับยั้งและทำลายการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจำนวน 5 สายพันธุ์
2) ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum inhibitory concentration หรือ MIC)
3) ศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชที่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum bactericidal concentration หรือ MBC) และทำการทดลองในขนาดที่ใหญ่ขึ้น (MBC Big scale) เพื่อทราบความเข้มข้นที่แน่นอน
4) ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรียที่เปลี่ยนแปลงไปจากการได้รับสารสกัดจากวัชพืชด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM)

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ทำการศึกษาสารสกัดจากวัชพืช 10 ชนิด ได้แก่ ชุมเห็ดเทศ ชุมเห็ดไท ผักตบชวา ผักบุ้งนา ผักเบี้ยหิน ผักแว่น ไมยราบยักษ์ ลูกใต้ใบ ส้มกบและหญ้าแห้วหมู โดยการใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายและทำการสกัดตัวทำละลายออกโดยการใช้เครื่องระเหยสุญญากาศชนิดหมุน จากนั้นนำสารสกัดที่มีความเข้มข้นมาทดสอบหาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค โดยทำการทดสอบหาความสามารถในเชิงคุณภาพด้วยวิธี Disc diffusion และการศึกษาดูพื้นผิวภายนอกของเชื้อแบคทีเรียต่อการถูกทำลายด้วยสารสกัดเมทานอลจากวัชพืชด้วยการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM) ทำการทดสอบความสามารถในเชิงปริมาณด้วยวิธีการวิเคราะห์ปริมาณต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) และวิธีการวิเคราะห์ความเข้มข้นต่ำสุดเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียไปเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญขึ้นได้ (MBC)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) สามารถนำวัชพืชที่ไร้มูลค่าทางการเกษตรมาก่อให้เกิดประโยชน์ทางการแพทย์
2) สามารถค้นพบแหล่งของสารต้านจุลินทรีย์ชนิดใหม่
3) ทราบฤทธิ์จากสารสกัดวัชพืชในการต้านเชื้อแบคทีเรียเพื่อเป็นข้อมูลในการพัฒนาต่อไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและหลักการ

2.1 วัชพืช

2.1.1 ชุมเห็ดเทศ

ชุมเห็ดเทศเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cassia alata* L. จัดอยู่ในวงศ์ FABACEAE เป็นพรรณไม้พุ่มที่มีขนาดปานกลาง ลำต้นมีความสูง 2-3 เมตร ก้านใบยาว ในก้านหนึ่งจะมีใบแตกออกเป็น 2 ทางใบจะประกอบกันคล้ายขนนก โคนและปลายใบมีลักษณะมนแต่บริเวณปลายจะมีความเว้าเล็กน้อย รูปใบเป็นวงรี ขอบใบเรียบ ลักษณะดอกเป็นช่อออกที่ซอกใบตอนปลายกิ่ง กลีบดอกมีสีเหลืองทอง ส่วนก้านดอกนั้นจะสั้นและมีลายเส้นเห็นได้ชัด ในใบชุมเห็ดเทศนั้นมีสารสำคัญพวกแอนทราควีโนนส์ (anthraquinones) ซึ่งประโยชน์ของชุมเห็ดเทศนั้นมีมากมาย โดยพบว่าใบสดของชุมเห็ดเทศสามารถนำมาใช้เป็นยาภายนอก ใช้รักษากลาก เกลื้อนและโรคผิวหนังบางชนิด เช่น ฝี แผลพุพองที่เป็นหนองรวมถึงผิวหนังที่ติดเชื้อจากเชื้อจุลินทรีย์อีกด้วย (พจนีย์, 2537)

โดยพบว่าสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศด้วยน้ำ สารสกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราที่ผิวหนังได้ เช่น เชื้อรา *Epidermophyton floccosum*, *Microsporium gypseum* และ *M. canis* เมื่อเทียบกับยาโทนาฟ (tolnaftat) สารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลจากเปลือกต้นชุมเห็ดเทศสามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ *Candida albicans* ได้ แต่สารสกัดจากใบด้วยน้ำและเอทานอลไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อยีสต์ได้และนอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันจากใบชุมเห็ดเทศและสารสกัดเมทานอลจากเปลือกลำต้นมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ได้อีกด้วย

สรรพคุณทางยาของต้นชุมเห็ดเทศมีมากมายหลายชนิด รากชุมเห็ดเทศใช้ผสมยาบำรุงธาตุ ช่วยทำให้เจริญอาหาร ช่วยรักษาโรคตาเหลือง รากใช้ต้มกินเป็นยารักษาตกมูกเลือด ใบและรากใช้เป็นยาฆ่าพยาธิตามผิวหนัง ใบชุมเห็ดเทศช่วยรักษาฝี แผลพุพอง ใช้เป็นยารักษาโรคผิวหนังต่าง ๆ รักษากลากเกลื้อน ผดผื่นคัน ผิวหนังอักเสบเป็นผื่นคันหรือมีอาการคันบริเวณหนังศีรษะ ช่วยสมานธาตุ รักษากระเพาะปัสสาวะอักเสบ ช่วยแก้เส้นประสาทอักเสบ ชุมเห็ดเทศทั้งต้นมีสรรพคุณเป็นยาแก้ฝีและเป็นยาขับเสมหะ (ภานุทรรศน์, 2544)

รูปที่ 2.1 ต้นชุมเห็ดเทศ

(ที่มา : http://www.kasetporpeang.com/forums/index.php?topic=117211.0)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 ชุมเห็ดไท

ชุมเห็ดไทยมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Senna tora* จัดอยู่ในวงศ์ FABACEAE พบขึ้นเองตามริมทางหรือริมคลองทั่วไป ซึ่งมักจะเป็นแหล่งรกร้าง มีลักษณะเป็นพืชล้มลุกมีอายุเพียงปีเดียว มีความสูงอยู่ระหว่าง 30-120 เซนติเมตร หากนำมาขยี้จะได้กลิ่นเหม็นเขียว ในส่วนของลำต้นจะแตกกิ่งก้านและมีขนอ่อนปกคลุม ลักษณะใบเป็นใบย่อยประกอบออกสลับกัน มีใบย่อย 3 คู่ ลักษณะคล้ายกับไข่ปลาย มีความป้าน ปลายใบกลมมน ส่วนสุดปลายจะแหลมสั้น ท้องใบปกคลุมด้วยขนอ่อนนุ่ม ดอกออกเป็นคู่จากง่ามใบ ดอกมีสีเหลือง มี 5 กลีบ ปกคลุมด้วยขนสั้นๆ ฝักมีลักษณะโค้งเล็กน้อย มีขนปกคลุมอยู่ด้วยภายในมีเมล็ดอยู่เป็นจำนวนมาก มีสีเขียวออกน้ำตาลอมผิวเมล็ดเรียบ

สรรพคุณทางยาสามารถใช้ได้ทั้งต้นหรือเฉพาะใบ ใช้เป็นยาระบายมีฤทธิ์กล่อมตับ ช่วยให้ตาสว่าง รักษาบรรเทาอาการหวัด เมล็ดนำมาคั่วมีสรรพคุณกล่อมตับ ช่วยขับปัสสาวะ ลดความดันโลหิต ตับอักเสบ ใช้เป็นยาบำรุง ใช้เป็นยาระบายในผู้ที่ท้องผูกเป็นประจำ ใบนำมาเคี่ยวกับน้ำมันละหุ่งใช้เป็นยาทาแก้แผลเรื้อรัง ใบช่วยขับน้ำเหลืองเสีย แก้ไข้มาลาเรีย ขับพยาธิ

สามารถใช้เป็นยาทาภายนอกพอกรักษาแผลผีให้หัวออกเร็วขึ้น ใช้เป็นยาพอกแก้โรคเก๊าท์ อาการปวดข้อ ปวดขา ปวดสะโพก ผลหรือฝักมีสรรพคุณช่วยแก้อาการฟกช้ำบวม เมล็ดใช้รักษาโรคผิวหนัง หรือนำมาบดผสมกับน้ำมันพืชใช้ทาแก้หิดและกลากเกลื้อน ช่วยแก้อาการท้องผูก ท้องผูกเรื้อรัง ด้วยการใช้เมล็ดแก่แห้งที่คั่วจนเหลืองแล้วประมาณ 10-13 กรัม นำมาต้มกับน้ำดื่ม หรือนำมาคั่วให้เกรียมบดเป็นผง ใช้ชงกับน้ำรับประทานต่างน้ำชา เมล็ดใช้คั่วชงกับน้ำกินเป็นยาแก้ตับอักเสบ ตับแข็ง ใช้เป็นยาขับความร้อนในตับ ขับลมในตับ นอกจากนี้ในประเทศอินเดียจะใช้เมล็ดและใบเป็นยาฆ่าหิดเหาและเชื้อรา (ธารธรรมแก้ว, 2544)

รูปที่ 2.2 ชุมเห็ดไท

(ที่มา : http://luirig.altervista.org/cpm/albums/bot-hawaii28/13814-Senna-surattensis.jpg)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 ผักตบชวา

ผักตบชวามีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Eichhornia crassipes* จัดอยู่ในวงศ์ PONTEDERIACEAE จัดเป็นพรรณพืชไม้น้ำที่มีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมอยู่ในทวีปอเมริกาใต้ จากนั้นมีการนำเข้ามาปลูกครั้งแรกไว้ที่วังสระปทุมในกรุงเทพมหานครเมื่อปี พ.ศ. 2444 แต่จากการขยายพันธุ์อย่างรวดเร็วและเกิดน้ำท่วม จึงทำให้ผักตบชวาหลุดรอดออกมา และเกิดการแพร่กระจายไปทั่ว จนกลายเป็นวัชพืชน้ำที่รุนแรง

ลักษณะที่สำคัญของผักตบชวาคือ ลำต้นจะมีลักษณะอวบน้ำ ผิวลำต้นเรียบเป็นสีเขียวอ่อนและเข้ม ลำต้นจะมีขนาดสั้นหรือยาวจะขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของแม่น้ำและสารอาหารที่ได้รับ ก้านใบจะพองออกตรงช่องกลาง ภายในมีลักษณะเป็นรูพรุน จึงทำให้พืชสามารถลอยอยู่บนผิวน้ำได้ ใบจะกระจายออกรอบลำต้น มีลักษณะเป็นรูปไข่เกือบกลม ปลายใบมนมีทั้งขนาดใหญ่และเล็ก ลำต้นสั้นมีความสูงได้ประมาณ 3-90 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อ เป็นดอกย่อยๆ มีสีม่วง ผลมีเมล็ดมาก รากจะแตกออจากลำต้นบริเวณข้อ รากมักมีสีม่วงดำ ซึ่งลำต้นลอยอยู่บนผิวน้ำบางต้นอาจจะขึ้นอยู่ตามโคลนในที่น้ำตื้น สามารถขึ้นบนบกก็ได้ มีความทนทานต่อความแห้งแล้งได้ดี ไม่ชอบอากาศเย็นและไม่ทนต่อน้ำเค็ม ผักตบชวาเป็นพืชที่ขยายพันธุ์ได้รวดเร็ว โดยการแยกกอหรือใช้ไหล พบได้ทั่วไปตามริมน้ำ

โดยสรรพคุณทางยาใช้ในการบำบัดรักษาพิษจากภายในร่างกาย มีฤทธิ์ขับลม หากใช้เป็นยาภายนอกใช้พอกจะช่วยบรรเทาอาการอักเสบของแผล ต้นมีรสจืดใช้รับประทานเพื่อช่วยระบายความร้อนภายในร่างกาย (ณรงค์, 2553)

รูปที่ 2.3 ผักตบชวา
(ที่มา : http://www.samunpri.com/ผักตบชวา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 ผักบุ้งนา

ผักบุ้งนามีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Ipomoe aaquatica Foisk* จัดอยู่ในวงศ์ CONVOLVULACEAE มีลักษณะเป็นพืชไม้เลื้อยทอดนอนไปตามผิวดิน หรือผิวน้ำ พบได้บริเวณแม่น้ำลำคลอง เพราะเจริญเติบโตในน้ำได้ดีกว่าบนดิน มักสานตัวเป็นกลุ่มและลอยตัวบนผิวน้ำ ชูส่วนยอดหรือบริเวณสีเขียวเพื่อสังเคราะห์แสง

ผักบุ้งนา มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อน ผักบุ้งนาเป็นไม้ล้มลุกที่อาศัยอยู่ในน้ำหรือในดินที่มีความชื้นแฉะมากๆ ลำต้นกลวงสีเขียวเพราะต้องใช้ในการสังเคราะห์แสงร่วมกับใบ และมีข้อปล้องชัดเจนและมีรากงอกออกมาตามข้อปล้องต่างๆ เมล็ดพันธุ์มีสีดำลักษณะกลม มีใบเดี่ยวสีเขียวคล้ายกับหัวลูกศรเรียวยาวและฐานใบเว้าเป็นรูปหัวใจยาว 3-15 เซนติเมตร กว้าง 3-9 เซนติเมตร ขอบใบเรียบ ดอกมีลักษณะเป็นช่อดอกลักษณะทรงระฆังต่างจากผักบุ้งจีน กลีบดอกสีขาวบริเวณตอนล่างของลำต้นที่เป็นทรงกรวยโดยออกตามซอกใบ จะมีรากงอกออกมา การขยายพันธุ์สามารถนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกหรือแยกกิ่งแก่ไปปักชำได้เช่นเดียวกัน แหล่งที่พบ สามารถพบได้ตามโคลนเลน ลอยตามแหล่งน้ำจืดต่างๆ ส่วนที่นิยมใช้เป็นยาคือ ลำต้นและดอกที่มีลักษณะตูม

สรรพคุณทางยา ได้แก่ น้ำต้มจากลำต้นมีสรรพคุณเป็นยาระบายอ่อนๆ ช่วยให้อาเจียน แก้โรคประสาท การเสื่อมสมรรถภาพ แก้ริดสีดวงทวารโดยการพอก ดอกตูมใช้รักษากลากเกลื้อนเป็นยาใช้ภายนอก ผักบุ้งนามีสารต่อต้านอนุมูลอิสระ ช่วยในการชะลอวัยความแก่ชรา และชะลอการเกิดริ้วรอยแห่งวัย มีส่วนช่วยป้องกันการเกิดหรือลดอัตราการเกิดของโรคมะเร็งได้ ช่วยบำรุงสายตา รักษาอาการตาต้อ ตาฝ้าฟาง ตาแดง สายตาสั้น อาการคันนัยน์ตาบ่อย ๆ ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด ป้องกันการเกิดโรคเบาหวาน ต้นสดของผักบุ้งนาช่วยลดการอักเสบ อาการปวดบวม ช่วยต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย แก้แผลมีหนองช้ำ ด้วยการใช้ต้นสดต้มน้ำให้เดือดนาน ๆ ทิ้งไว้พออุ่นแล้วเอาน้ำล้างแผลวันละครั้ง (ณรงค์, 2553)

รูปที่ 2.4 ผักบุ้งนา

(ที่มา : http://www.virboga.de/Ipomoea_aquatica.htm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5 ผักเบี้ยหิน

ผักเบี้ยหินมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Trianthema portulacastrum* L. จัดอยู่ในวงศ์ AIZOACEAE มีลักษณะเป็นพืชล้มลุก แผ่แบนไปตามพื้น การเจริญของลำต้นจะออกจากโคนต้น บริเวณผิวมีขนประปรายหรือเรียงเป็นแถบตามยาวลักษณะใบเป็นใบเดี่ยวออกกิ่งตรงข้ามมีรูปกลม หรือรูปไข่ ปลายใบแหลมหรือกลม ฐานใบสอบ ขอบใบเรียบมีสีแดง เนื้อใบอวบเล็กน้อยสีเขียว ผิวใบด้านบนเรียบ ผิวใบด้านล่างมีขนสั้นเฉพาะบริเวณเส้นกลางใบ ก้านใบสั้นหรือไม่มี คล้ายมีกาบหุ้ม ดอกเดี่ยวออกที่ซอกใบ ไม่มีด้านดอก กลีบดอกสีชมพู กลีบดอกเชื่อมกันที่ฐาน ปลายแยกเป็น 5 แฉก แต่ละแฉกเป็นรูปลิ้น ผิวด้านนอกเป็นสันยาวส่วนปลายเป็นติ่งแหลมสีแดงหรือสีชมพูเข้ม ผิวด้านนอกมีขน เกสรเพศผู้ ก้านชูเกสรรูปแท่งสีขาวติดที่ฐานของแฉกกลีบดอก อับเรณูรูปรี ยาวสีชมพู เกสรเพศเมียมีรังไข่ใต้วงกลีบรูปถ้วยสีเขียว ก้านชูรูปแท่งสีขาว ผิวมีขนต่อมฝั่งเดียว ยอดเกสรแหลม ผลรูปถ้วย เมื่ออ่อนมีสีเขียวและตอนแก่มีสีแดง

สรรพคุณทางสมุนไพร ใช้เป็นตำรายาไทยจะใช้ทั้งต้นเป็นยาบำรุงโลหิต ยาแก้ฟกบวม ขับลม ในประเทศอินเดีย ใช้ปรุงเป็นยาขับปัสสาวะ โรคท้องมาร เยื่อบุช่องท้องอักเสบ เจริญไฟธาตุ ขับเสมหะ ทำให้ประจำเดือนมาปกติและเป็นยาถ่าย สำหรับใบสดนั้นใช้เป็นยาทาภายนอกแก้แผล อักเสบ ช่วยแก้อาการเจ็บ แก้เหือกบวม ช่วยขับระดูขาวของสตรี ในส่วนของรากนั้นมีสรรพคุณเป็น ยาถ่ายยาขับเสมหะ แก้ลมอัณฑพฤกษ์และสามารถนำมาใช้เป็นยาช่วยทำให้ประจำเดือนของสตรีมา เป็นปกติ แต่ถ้าใช้มากเกินไปจะทำให้แท้งบุตรได้และยังใช้รักษาโรคริดสีดวงทวารได้ด้วย (ผักเบี้ยหิน, ฐานข้อมูลพรรณไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์)

รูปที่ 2.5 ผักเบี้ยหิน
(ที่มา : http://frynn.com/ผักเบี้ยหิน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.6 ผักแว่น

ผักแว่นเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Marsilea crenata* Presl. จัดอยู่ในวงศ์ MARSILIACEAE มีลักษณะเป็นพืชไม้ล้มลุก จำพวกเฟิร์นน้ำ ขึ้นในบริเวณที่ดินชื้นและในน้ำ รากของผักแว่นสามารถเกาะติดเจริญอยู่บนพื้นดินหรือเจริญอยู่ในน้ำก็ได้ ลำต้นเป็นไหลเรียวยาวแตกกิ่งก้านเลื้อยออกไปอย่างไร้ระเบียบทิศทาง ลำต้นมีสีเขียวเมื่อแก่จะเป็นสีน้ำตาล มีขนอ่อนบริเวณลำต้น ลำต้นค่อนข้างกลม เมื่อเลื้อยอยู่บนดินมีสีน้ำตาลอ่อนๆ ใบเป็นใบประกอบแบบพัด มีใบย่อย 4 ใบ ลักษณะใบย่อยคล้ายรูปสามเหลี่ยมหรือเป็นรูปลิ่มออกจากตรงกลางตำแหน่งเดียวแต่ละใบ ใบทั้งหมดจะรวมกันเป็นลักษณะกลม ขอบใบเรียบหรือหยักเล็กน้อย แผ่นใบมีความเรียบไม่มีขนอ่อนขนาดใบกว้างยาว 0.5-2 เซนติเมตร ใบอยู่บนก้านสั้นๆ ที่ชูขึ้น จะมีอับสปอร์เกาะอยู่ ผักแว่นมักจะขึ้นในท้องนาที่ชื้นๆหรือพื้นดินที่มีความชื้นสูง

ผักแว่นมีสรรพคุณทางยาหลายชนิด โดยการนำส่วนต่างๆมาทำให้เกิดประโยชน์สามารถนำมาใช้เป็นยาแผนโบราณเพื่อรักษาโรคต่างๆได้ ยกตัวอย่างเช่นลำต้นของผักแว่นนั้นมีธาตุเหล็กสูง ช่วยในการเสริมสร้างเม็ดเลือดแดง ลำต้นมีรสจืดและมีฤทธิ์เย็นจึงช่วยดับพิษร้อน บรรเทาความร้อนในร่างกาย แก้ร้อนใน ถอนพิษไข้ บรรเทาอาการปวดศีรษะ ช่วยบำรุงสายตาและโรคตาอักเสบ เนื่องจากลำต้นของผักแว่นนั้นมีเส้นใยเป็นจำนวนมากจึงช่วยป้องกันและระงับอาการท้องผูกที่เกิดขึ้นได้และการนำใบผักแว่นสดมาต้มด้วยน้ำสามารถบรรเทาอาการไข้ โรคปากเปื่อย ลดกลิ่นปาก ช่วยขับปัสสาวะ บรรเทาอาการท้องเสียนอกจากนี้ยังช่วยแก้เจ็บคอและอาการเสียงแหบ ใบสดสามารถนำมาใช้เป็นยาภายนอก ช่วยรักษาแผลเปื่อย แผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก ช่วยสมานแผลและช่วยระงับการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุในการก่อให้เกิดหนอง นอกจากระงับการเจริญเติบโตเชื้อแบคทีเรียแล้วนั้นยังพบว่ามีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อรา อันเป็นสาเหตุของโรคกลากอีกด้วย (โชติอนันต์, 2550)

รูปที่ 2.6 ผักแว่น
(ที่มา : http://www.kasettrakonthai.com)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.7 ไมยราบยักษ์

ไมยราบยักษ์มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Mimosa pigra L.* จัดอยู่ในวงศ์ FABACEAE ไมยราบยักษ์ที่นำมาปลูกในประเทศไทยนั้นสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศได้เป็นอย่างดี ทำให้เกิดการแพร่กระจายพันธุ์ไปอย่างรวดเร็วจนเกิดการแพร่ระบาดของต้นไมยราบยักษ์ไปเกือบทุกจังหวัดในประเทศไทย จึงจัดให้ไมยราบยักษ์เป็นวัชพืชร้ายแรงในเขตที่ลุ่ม เพราะขยายพันธุ์โดยเมล็ดได้ดี จึงทำให้วัชพืชชนิดนี้แพร่กระจายไปได้ในหลาย ๆ พื้นที่ เมื่อเข้ายึดครองพื้นที่แล้วก็ยากที่พรรณไม้อื่นจะขึ้นผสมผสานกันได้ เพราะไมยราบยักษ์จะขึ้นปกคลุมอย่างหนาแน่น ทำให้พรรณพืชดั้งเดิมขาดแสงตายลงและค่อย ๆ สูญหายไปจากพื้นที่ ไมยราบยักษ์มีลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดกลาง มีความสูงของต้นประมาณ 1-3 เมตร ตามต้นมีหนามแหลมงองุ้มลงด้านล่างตลอดลำต้นและกิ่ง ปลายกิ่งย้อยเนื้อแข็งและเหนียว มักพบขึ้นเองในเขตร้อนชื้น ตามที่กว้าง ตามทุ่งหญ้า ริมถนนหนทาง และที่รกร้างทั่วไป ใบเป็นใบประกอบ 3 ชั้น ก้านใบยาวประมาณ 10-30 เซนติเมตร มีใบประกอบย่อยประมาณ 6-14 คู่ แต่ละใบประกอบมีใบประกอบย่อย 15-40 คู่ ลักษณะเป็นรูปขอบขนาน ปลายใบมน มีขนปกคลุมที่หลังใบ ออกดอกเป็นช่อ โดยจะออกตามยอดและตามซอกใบ มีสีชมพูหรือสีม่วงอ่อน ดอกย่อยมีจำนวนมาก และมีกลีบเลี้ยงหลอมรวมกันเป็นเส้น ปลายกลีบเลี้ยงแตกเป็นฝอย กลีบดอกรวมเป็นหลอด ปลายแยกเป็นกลีบ 4 กลีบ มีก้านเกสรเพศผู้ยาวพ้นกลีบดอกออกมาจำนวน 8 อัน ออกผลเป็นฝัก ลักษณะของฝักมีรูปร่างแบน โค้งงอ ปลายฝักแหลม มีขนปกคลุม

สรรพคุณทางยาของไมยราพ สามารถนำไปเป็นยารักษาโรคเบาหวาน เพราะ ไมยราบยักษ์นั้นมีสารที่ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ นอกจากนั้นทุกส่วนของต้นสามารถนำไปชงดื่มแทนชาได้ (ต้องหั่นและนำไปคั่วก่อน) จะสามารถลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดได้ ใบของมันสามารถนำมาตำพอก เพื่อรักษาอาการปวดบวมได้ ต้นแห้งของไมยราบสามารถนำมา ต้มกินกับน้ำ จะช่วยให้ร่างกายฟื้นตัวจากอาการอ่อนเพลียที่เกิดขึ้นได้ (โชติอนันต์, 2550)

รูปที่ 2.7 ไมยราบยักษ์

(ที่มา : http://chm-thai.onep.go.th/chm/alien/IAS/detail.aspx?alienID=200)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.8 ลูกใต้ใบ

ลูกใต้ใบมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Phyllanthus amarus Schumach & Thonn* จัดอยู่ในวงศ์ EUPHORBIACEAE มีลักษณะเป็นพืชล้มลุก สูง 10 - 60 เซนติเมตร ทุกส่วนมีรสขม ใบเป็นใบประกอบแบบขนนกชั้นเดียวปลายคี่ มีใบย่อย 23 - 25 ใบ ใบย่อยรูปขอบขนานแกมไข่กลับ ปลายใบมนกว้างโคนใบมนแคบ ก้านใบสั้นมากและมีหูใบสีขาวนวลรูปสามเหลี่ยมปลายแหลมเกาะติด 2 อัน ดอกแยกเพศ เพศเมียมักอยู่ส่วนโคน เพศผู้มักอยู่ส่วนปลายก้านใบ ดอกขนาดเล็กสีขาว ผลทรงกลม ผิวเรียบสีเขียวอ่อนนวลขนาดเล็ก เกาะติดอยู่ที่ใต้โคนใบย่อย เมื่อแก่จะแตกเป็นพู แต่ละพูจะมี 1 เมล็ด มีสีน้ำตาลรูปเสี้ยว 1/6 ของทรงกลม ลูกใต้ใบมีความสำคัญในการประกอบเป็นยาสามารใช้ทั้งต้นสดทำยาได้ ดังนั้นทั้งต้นจึงประกอบด้วยแร่ธาตุที่สำคัญ ดังนี้ ธาตุโซเดียม 0.86 % ธาตุโพแทสเซียม 12.84 % ธาตุเหล็ก 10.68 % ธาตุแคลเซียม 6.57 % ธาตุแมกนีเซียม 0.34 % ธาตุอะลูมิเนียม 3.92 % ธาตุฟอสฟอรัส 0.34 % ธาตุแคดเมียม 8 ppm และสารหนู 12 pmm ส่วนองค์ประกอบของสารเคมี จะประกอบไปด้วยสารแทนนิน (Tannins) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ลิกแนนส์ (Lignans) ไกลโคไซด์ (Glycosides) ซาโปนิน (Saponin)

สรรพคุณทางยาของต้นลูกใต้ใบ มีดังนี้ รากและใบของลูกใต้ใบ ใช้ยาชงกินกับน้ำเป็นยาบำรุงร่างกาย ช่วยบำรุงธาตุในร่างกาย ลูกใต้ใบเป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์ช่วยควบคุมและลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ จึงมีประโยชน์ต่อผู้เป็นโรคเบาหวานแต่มีข้อแนะนำสำหรับผู้ป่วยเบาหวานว่าต้องรับประทานยาแผนปัจจุบันตามที่แพทย์สั่งและควรหมั่นตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดอย่างสม่ำเสมอ ช่วยลดความดันโลหิต ใช้เป็นยาแก้ไข้ ลดความร้อน ช่วยลดไข้ทุกชนิด ช่วยแก้อาการร้อนในกระหายน้ำ ใช้เป็นยาขับปัสสาวะ แก้ปัสสาวะขัด แก้ขัดเบา ช่วยแก้อาการท้องเสีย ช่วยรักษาริดสีดวงทวาร ช่วยแก้ฝี แก้อาการปวดฝี ด้วยการใช้ต้นสดนำมาตำผสมกับเหล้า แล้วนำมาพอกบริเวณที่เป็น หากเป็นแผลสด แผลฟกช้ำ ให้ใช้ลูกใต้ใบนำมาตำแล้วพอก แต่ถ้าเป็นแผลเรื้อรังให้ใช้ใบนำมาต้มผสมกับซาวข้าวแล้วนำมาพอก ช่วยแก้อาการปวด ปวดบวมตามร่างกาย มีรายงานวิจัยระบุว่านอกจากสมุนไพรลูกใต้ใบจะมีฤทธิ์ในการแก้ไข้แล้วยังมีฤทธิ์แก้อาการอักเสบได้อีกด้วย (โชติอนันต์, 2553)

รูปที่ 2.8 ลูกใต้ใบ
(ที่มา : http://frynn.com/ลูกใต้ใบ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.9 ส้มกบ

ส้มกบเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Oxalis corniculata* เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ OXALIDACEAE เป็นวัชพืชชนิดหนึ่งที่สามารถพบได้ทั่วไป เจริญเติบโตได้ดีในดินที่ร่วนซุยและชุ่มชื้น มีความสูง 2-3 นิ้ว เป็นพืชขนาดเล็ก ขึ้นปกคลุมผิวดินเป็นกลุ่ม ลำต้นเป็นไหลทอดยาวไปตามพื้นดิน ลำต้นมีขนปกคลุม ใบเป็นใบประกอบ มีใบย่อย 3 ใบ เกิดจากจุดเดียวกันที่ปลายก้านใบ ใบย่อยมีลักษณะเป็นรูปหัวใจ ปลายใบเว้า โคนใบแหลม ออกดอกตามซอกใบ เป็นดอกเดี่ยว กลับดอกสีเหลือง ส่วนโคนดอกเชื่อมติดกันเป็นรูปกรวย ปลายแยกเป็น 5 กลีบ ออกดอกตลอดทั้งปี ติดผลเป็นฝัก มีลักษณะ 5 เหลี่ยม มีขนขึ้นปกคลุม ยาว 4-6 มิลลิเมตร เมื่อผลแก่แห้ง จะดีดเมล็ดออกมา

สรรพคุณทางยาของส้มกบ คือ เมื่อทำการคั้นน้ำจากต้นสดของส้มกบ พบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรียแกรมบวกชนิดอื่นๆอีกด้วยแต่พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *Escherichia coli* ส้มกบมีความสามารถช่วยให้เจริญอาหารและยังช่วยย่อยอาหาร รักษาโรคนอนไม่หลับ ช่วยดับพิษร้อนในร่างกาย ช่วยแก้อาการร้อนใน ช่วยแก้ฝีในลำคอ ช่วยแก้อาการปวดท้องและบรรเทาอาการถ่ายเป็นเลือด

ข้อควรระวังในการรับประทานส้มกบ เนื่องจากส้มกบนั้นมีกรดออกซาลิก หากได้รับเข้าไปในร่างกายปริมาณมากๆ จะเกิดอาการอักเสบในระบบทางเดินอาหาร มีอาการปวดศีรษะ มีอาการชัก การรับประทานกรดออกซาลิกมากเกินไปและได้รับเป็นเวลานานอาจทำให้เกิดนิ่วในไตได้ ฤทธิ์ทำให้ระคายเคืองต่อระบบทางเดินอาหาร การรับประทานครั้งละมากๆ อาจทำให้รู้สึกคลื่นไส้อาเจียนได้ (โชติอนันต์, 2550)

รูปที่ 2.9 ส้มกบ
(ที่มา : http://frynn.com/ส้มกบ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.10 หญ้าแห้วหมู

หญ้าแห้วหมูมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cyperus rotundus* L. จัดอยู่ในวงศ์ CYPERACEAE มีลักษณะเป็นพืชล้มลุก อยู่ในจำพวกหญ้ามีลำต้นใต้ดินสามารถแพร่ขยายไปเป็นเส้นยาว ที่ปลายสุดมีหัวรูปกลมหรือรีแข็งสีดำ ลำต้นมีขนาดเล็กเกลี้ยงเป็นสามเหลี่ยมเกิดจากก้านใบหุ้มซ้อนกัน ใบเป็นใบเดี่ยว ลักษณะเป็นใบเล็กยาวเรียว ปลายแหลมทู่ กลางใบเป็นสันร่อง ผิวใบเกลี้ยง สีเขียวเข้ม ดอกมีลักษณะดอกเป็นช่อขนาดเล็กขึ้นจากกลางต้น ช่อหนึ่งมีใบประดับรองรับช่อดอก 2 - 4 ใบ กางออกอยู่ฐานช่อดอก ดอกย่อยไม่มีก้าน ดอกมีสีน้ำตาล ลักษณะผลเป็นรูปขอบขนานแกมรูปไข่กลับ ปลายแหลมสีน้ำตาลหรือดำ หน้าตัดเป็นรูปสามเหลี่ยม มักพบขึ้นตามข้างทาง ทุ่งนา หรือที่รกร้างเป็นวัชพืชในสนามหญ้ามักเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ เจริญเติบโตได้ดีในดินแทบทุกชนิด

สรรพคุณทางยา ลำต้นหรือหัวที่อยู่ใต้ดินมีรสเผ็ดหอมปร่า เป็นยาขับปัสสาวะ บำรุงหัวใจ ขับเหงื่อ แก้บิด บำรุงกำลัง รักษาอาการปวดท้อง ขับลมในลำไส้ แน่นจุกเสียดและท้องขึ้น รากเผ็ดปร่า ใช้เป็นยาขับปัสสาวะ ลดไข้ บำรุงธาตุ แก้กษัย หัวสดนำมาตำให้ละเอียดใช้พอกแก้อาการคันอันเนื่องมาจากโรคผิวหนังได้หรือใช้เป็นยาพอก ช่วยดูดหนองจากฝีมีหัวมีหนอง หรืออีกสูตรใช้หัวแห้วหมูและเกลือตัวผู้พอประมาณ พริกไทย 7-8 เม็ด และข้าวเหนียวที่คั่วให้เหลืองตำละเอียดแล้วประมาณ 3 หยิบมือ นำทั้งหมดมาผสมกันและคลุกผสมกับน้ำปูนใส แล้วนำมาพอกบริเวณที่เป็นหัวฝี ตัวยาจะช่วยดูดหนองออกมาจนหมด ช่วยรักษาแผลเรื้อรัง น้ำมันหอมระเหยในหัวแห้วหมูมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นนั่นคือ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดฝีเจ็บคอและอาการท้องเสีย หัวแห้วหมูที่นำมาสกัดด้วยแอลกอฮอล์ จะได้สารที่ช่วยต้านเชื้อรา ส่วนฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอื่น ๆ ก็คือช่วยต้านเชื้อไวรัส เชื้อมาลาเรีย เชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และช่วยฆ่าแมลง (โชติอนันต์, 2551)

รูปที่ 2.10 หญ้าแห้วหมู

(ที่มา : http://www.uaex.edu/yard-garden/resource-library/weed-id/images/cyperus_rotundus.jpg)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

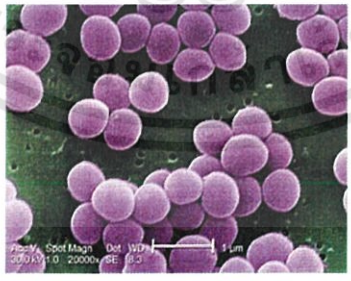
2.2 เชื้อแบคทีเรีย

2.2.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก จัดอยู่ในวงศ์ *Staphylococcaceae* มีรูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเซลล์ประมาณ 0.5-1.5 ไมโครเมตร มักพบอยู่เป็นคู่ ต่อกันเป็นสายสั้น บางครั้งพบว่าเกาะกลุ่มกันมีลักษณะคล้ายกับพวงองุ่น ไม่สร้างสปอร์ ไม่มีการเคลื่อนที่ ต้องการอากาศในการเจริญหรือเจริญได้ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีอากาศ มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์คะตะเลสได้ โดยทั่วไปเชื้อชนิดนี้เจริญได้ดีที่ในอุณหภูมิที่เหมาะสมเท่ากับ 35 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญประมาณ 7.0-7.5 เชื้อชนิดสามารถทำลายได้ง่ายด้วยความร้อนและสารทำความสะอาด โดยแหล่งสำคัญของเชื้อมักพบตามผิวหนังและรูจมูกของมนุษย์ จึงทำให้เกิดการปนเปื้อนและเป็นสาเหตุในการติดเชื้อจากอาหารสู่คนได้โดยง่าย

เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในอาหาร มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งอาการที่จะพบคือ มีอาการคลื่นไส้อาเจียน ปวดศีรษะ เป็นตะคริวในช่องท้องและเกิดอาการอ่อนเพลีย รวมทั้งมีการเต้นผิดปกติของชีพจร ทั้งนี้ความรุนแรงจะขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานสารพิษจองร่างกายในแต่ละบุคคล นอกจากอาการของโรคอาหารเป็นพิษแล้วนั้น ยังพบอีกว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวเป็นเชื้อแบคทีเรียเจ้าถิ่น กล่าวคือ สามารถพบได้ทั่วไปตามร่างกาย คอยดูแลบริเวณผิวหนังไม่ให้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ มาอาศัยได้แต่เมื่อร่างกายมีการเกิดบาดแผลขึ้น เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถทำให้บาดแผลนั้นเกิดอาการอักเสบจนเกิดเป็นหนองได้ ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมสุขลักษณะของร่างกายให้มีความสะอาดและไม่ก่อให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรีย

การป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว สามารถทำได้โดย รับประทานอาหารที่มีการปรุงสุกใหม่ หากพบว่ายังไม่สามารถรับประทานอาหารได้ทันทีให้นำอาหารที่ผ่านการปรุงสำเร็จแล้วไปเก็บที่อุณหภูมิต่ำอย่างรวดเร็ว เพราะการเก็บที่อุณหภูมิต่ำจะช่วยทำให้เชื้อแบคทีเรียหยุดการเจริญหรือแบ่งตัวและไม่ทำการสร้างสารพิษ หากต้องการรับประทานอาหารที่เก็บในอุณหภูมิต่ำ ให้ทำการอุ่นอาหารให้ร้อนก่อนทุกครั้งที่จะรับประทาน ไม่ควรให้ผู้ที่มีอาการติดเชื้อ *S. aureus* บริเวณมือ แขน หรือนิ้วมือ ทำหน้าที่ประกอบอาหารเพราะจะทำให้อาหารดังกล่าวมีการติดเชื้อไปด้วย (สุรีย์, 2557)



รูปที่ 2.11 ลักษณะของแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*
(แหล่งที่มา https://th.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus)

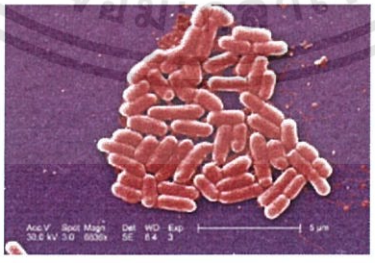
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 *Escherichai coli*

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) มีรูปร่างเป็นแท่ง ไม่มีการสร้างสปอร์ เป็นแบคทีเรียชนิด facultative anaerobe ที่สามารถเจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน จัดอยู่ในวงศ์ *Enterobacteriaceae* เป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliform) ประเภท fecal colilorm ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น

Escherichia coli เป็นหนึ่งในแบคทีเรียประจำถิ่นที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ทำหน้าที่ในการช่วยส่งเสริมการทำงานและการเคลื่อนไหวของลำไส้ แต่ในทางตรงกันข้ามหากมีจำนวนเชื้ออีโคไลมากเกินไป หรือได้รับเชื้ออีโคไลสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคผ่านทางการรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนเชื้อเหล่านี้เข้าไป เช่น อาหารที่ปรุงไม่สุก ผักผลไม้ที่ล้างไม่สะอาด หรือน้ำที่มีการปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าว จะทำให้เกิดอาการท้องเสียได้ นอกจากโรคอาหารเป็นพิษแล้วนั้น ยังพบว่าเชื้ออีโคไลสามารถก่อให้เกิดโรคติดเชื้อได้อีกด้วย นั่นคือ โรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะซึ่งสาเหตุมาจากเชื้อที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของผู้ป่วยเองและการติดเชื้อดังกล่าวมักจะพบในผู้หญิง เนื่องจากท่อปัสสาวะที่มีขนาดสั้นและตรงเข้าสู่กระเพาะปัสสาวะ จึงทำให้มีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคติดเชื้อที่กระเพาะปัสสาวะและยังสามารถลุกลามไปยังไตได้ด้วย โรคติดเชื้ออื่นๆ ที่เกิดจากเชื้ออีโคไล เช่น ปอดบวม แผลติดเชื้อ ส่วนมากมักเกิดจากการผ่าตัด การใช้เครื่องช่วยหายใจและการใช้สายสวนอวัยวะต่างๆ ที่มีความสะอาดไม่เหมาะสมและเพียงพอจึงทำให้เชื้อดังกล่าวสามารถปนเปื้อนจนเกิดการติดเชื้อกับอวัยวะต่างๆ ได้

การป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวก่อโรคได้ โดยการรับประทานอาหารและน้ำที่มีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียเข้าไปเท่านั้น สำหรับวิธีการฆ่าเชื้อสามารถฆ่าเชื้อได้ด้วยความร้อน ดังนั้นการป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียทำได้โดยการรับประทานอาหารที่มีการผ่านความร้อนและวิธีประกอบอาหารมีความสะอาดและถูกสุขลักษณะ ในส่วนของผักและผลไม้ชนิดต่างๆ ที่ต้องทานแบบไม่ผ่านการประกอบอาหารให้ทำการล้างด้วยน้ำสะอาดหลายๆ ครั้งหรือทำการแช่ผักและผลไม้นั้นด้วยน้ำสะอาดผสมด่างทับทิม หรือน้ำยาล้างผักผลไม้โดยทำการแช่ทิ้งไว้ประมาณ 15 นาทีแล้วทำการล้างออกด้วยน้ำสะอาดชนิดไหลผ่าน วิธีดังกล่าวจะช่วยชะล้างเชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิดที่ปนเปื้อนอยู่บนผักและผลไม้ต่างๆ ได้ (นงลักษณ์, 2547)



รูปที่ 2.12 ลักษณะของแบคทีเรีย *Escherichia coli*
(แหล่งที่มา www.livescience.com)

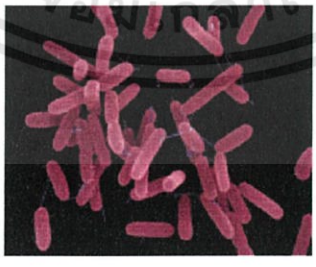
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa จัดอยู่ในวงศ์ *Pseudomonadaceae* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างแท่ง มีขนาดประมาณ 0.5-1.0 ไมโครเมตร โดยพบว่าแบคทีเรียชนิดนี้มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ออกซิเดส สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา มีการสร้างเมือกที่เคลือบอยู่รอบๆเซลล์ ลักษณะคล้ายแคปซูล สร้างพลังงานโดยผ่านกระบวนการออกซิเดชั่น สามารถเจริญเติบโตได้ช้าในสภาวะไร้ออกซิเจน เชื้อชนิดนี้มีความสามารถในการมีชีวิตและเพิ่มจำนวนได้ในสภาวะแวดล้อมที่มีสารอาหารเพียงเล็กน้อย อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญประมาณ 20-40 องศาเซลเซียส จึงสามารถพบได้ง่ายตามสภาพแวดล้อมทั่วไปและในโรงพยาบาล เป็นเชื้อฉวยโอกาสในการก่อให้เกิดโรคในมนุษย์ โดยพบว่าเป็นสาเหตุอันดับต้นๆ ในการก่อให้เกิดโรคติดเชื้อบริเวณผิวหนังหรือการอักเสบบริเวณบาดแผล เป็นต้น

เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้พบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียฉวยโอกาสที่มักจะมีการติดเชื้อกับผู้ที่มีร่างกายอ่อนแอหรือผู้ที่มีภูมิคุ้มกันที่ต่ำ โดยเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้จัดเป็นเชื้อฉวยโอกาสชนิดต้นๆ ในโรงพยาบาล โรคติดเชื้อที่เกิดขึ้นจากเชื้อชนิดนี้ จัดเป็นปัญหาที่รุนแรงอย่างมาก เนื่องจากผู้ป่วยที่พักอยู่ในโรงพยาบาลนั้นมีสภาวะที่ร่างกายอ่อนแออยู่แล้วจึงง่ายต่อการติดเชื้อดังกล่าว และเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้มีความสามารถต่อการดื้อยาปฏิชีวนะอย่างมาก จึงทำให้เกิดความยากต่อการรักษาโรคดังกล่าว สาเหตุที่เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถติดเชื้อได้ในหลายระบบของร่างกาย เนื่องมาจากความสามารถในการยึดเกาะกับเยื่อบุผิวหนังที่ดี

ด้วยความสามารถอันหลากหลายต่อการติดเชื้อต่ออวัยวะต่างๆของร่างกายในมนุษย์ จึงทำให้พบว่าในคนที่มีสุขภาพที่ดีหรือแข็งแรงยังสามารถที่จะติดเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้ โดยเกิดจากการอาบน้ำหรือว่ายน้ำในสระว่ายน้ำที่มีเชื้อแบคทีเรียปะปนอยู่ เมื่อผู้ที่ติดเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวไปแล้วไม่ทำการรักษาจะเกิดอาการรุนแรงขึ้นและหากรุนแรงสูงสุดจะถึงขั้นติดเชื้อในกระแสเลือดร่วมด้วย ซึ่งในการรักษามักจะนิยมใช้ยาปฏิชีวนะสองตัวร่วมกันหรือในบางกรณีอาจจะใช้การผ่าตัด ซึ่งอาจจะต้องทำการผ่าตัดเนื้อเยื่อส่วนที่ติดเชื้อและถูกทำลายออกไป อย่างไรก็ตามพบว่าการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ยังคงเป็นสาเหตุหลักๆ ที่ทำให้เกิดการเสียชีวิตด้วยการติดเชื้อนกระแสเลือดของผู้ป่วยในโรงพยาบาล (ภัทรชัย, 2549)



รูปที่ 2.13 ลักษณะของแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa*
(แหล่งที่มา www.cnn.com)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.4 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่ม Bacillus จัดอยู่ในวงศ์ BACILLACEAE ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิดที่ก่อให้เกิดโรค เป็นแบคทีเรียชนิดแกรมบวก มีรูปร่างเป็นท่อน ความสามารถในการสร้างสปอร์ เจริญได้ในที่มีอากาศ สามารถสร้างสารพิษ ที่ทนต่ออุณหภูมิสูงได้ แบคทีเรียชนิดนี้เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง ในร่างกายมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 28-37 องศาเซลเซียส ไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียสและสูงกว่า 55 องศาเซลเซียส พบทั่วไปในธรรมชาติ ในดิน *Bacillus cereus* สามารถสร้างสปอร์ซึ่งทนความแห้งแล้งได้ดี สปอร์จึงพบได้ทั่วไปในฝุ่น ควัน และ ปะปนมากับอาหารแห้ง เช่น น้ำตาล วัตถุเจือปนอาหาร เครื่องเทศ และพบบ่อยในอาหารกลุ่ม แป้ง เมล็ดธัญชาติ เช่น ข้าวหุงสุก เส้นก๋วยเตี๋ยวและอาหารกึ่งสำเร็จรูป

เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกชนิดนี้มีความสามารถในการก่อให้เกิดโรคได้ โดยโรคที่เด่นชัด คือ โรคอาหารเป็นพิษ เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* โดยลักษณะอาการของโรคจะมี 2 ลักษณะดังนี้ โดยลักษณะอาการที่หนึ่ง คือ อาการอาเจียน (Emetic syndrome) เกิดจากที่ร่างกายได้รับสารพิษจากการที่แบคทีเรียสร้างขึ้นในอาหารก่อนที่ผู้ป่วยจะบริโภคเข้าไป สารพิษนี้สามารถทนต่ออุณหภูมิสูงและทนต่อความเป็นกรดในกระเพาะอาหารได้ดี ผู้ป่วยจะมีอาการคลื่นไส้และอาเจียน ภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไปประมาณ 5 ชั่วโมง โดยทั่วไปอาการดังกล่าวจะเป็นอยู่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง โรคอาหารเป็นพิษลักษณะนี้ มักเรียกว่า Chinese restaurant syndrome มักพบในผู้ป่วยที่รับประทานอาหารจีน ซึ่งเป็นข้าวผัดที่ทำจากข้าวสุกที่หุงค้างไว้นาน ทำให้แบคทีเรียเจริญเติบโตและสร้างสารพิษที่ทนต่อความร้อน ลักษณะอาการที่สอง คือ อาการถ่ายเหลว เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีเซลล์ของแบคทีเรียและไปเพิ่มจำนวนในลำไส้ของมนุษย์ จะใช้เวลาฟักตัวเซลล์แบคทีเรียประมาณ 8-16 ชั่วโมง มีสารพิษเอนเทอโรทอกซิน ที่ไม่ทนต่อความร้อน ทำให้เกิดอาการการปวดท้อง เป็นตะคริวที่ท้อง และถ่ายอุจจาระเหลวโดยทั่วไปอาการจะเป็นอยู่ไม่เกิน 14 ชั่วโมง ปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดโรคและอาการดังกล่าวประมาณ 100-100,000 เซลล์ต่อกรัม ในการป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกชนิดนี้ ทำได้โดยการรับประทานอาหารที่มีสุขลักษณะที่ดี มีการปรุงสุกและผ่านความร้อนและทำการเก็บอาหารที่ทำสุกแล้วในอุณหภูมิต่ำหลีกเลี่ยงการเก็บอาหารช่วงอุณหภูมิที่เป็นอันตราย คือ 4-55 องศาเซลเซียส (ภัทรชัย, 2549)

รูปที่ 2.14 ลักษณะของแบคทีเรีย *Bacillus cereus*
(แหล่งที่มา www.foodnetworksolution.com)

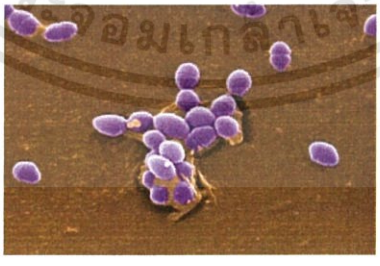
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.5 Enterococcus faecalis

Enterococcus faecalis เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่ม Streptococcus จัดอยู่ในวงศ์ *Enterococcaceae* แบคทีเรียชนิดนี้เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ การเรียงตัวอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่หรือเป็นโซ่สั้นๆ ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ จัดเป็นแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่ม Facultative anaerobe ส่วนใหญ่จะเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10-45 องศาเซลเซียส เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้เป็นแบคทีเรียประจำถิ่น มักพบว่าอาศัยอยู่ในสภาวะที่ไร้ออกซิเจน เช่น ในระบบทางเดินอาหาร ทางเดินน้ำดีและช่องคลอดของคนและสัตว์ เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคทางเดินปัสสาวะอักเสบและการติดเชื้ออื่น ๆ ในมนุษย์

เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกชนิดนี้จัดได้ว่าเป็นเชื้อฉวยโอกาสตัวสำคัญตัวหนึ่งในโรงพยาบาลเพราะเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว มีความสามารถในการติดเชื้อต่อผู้ป่วยได้สูงและยังมีฤทธิ์ในการดื้อยาต้านเชื้อแบคทีเรียหลายชนิด เมื่อมนุษย์มีสภาวะในการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้แล้ว สามารถก่อให้เกิดโรคทางเดินปัสสาวะอักเสบ สภาวะเลือดเป็นพิษหรือติดเชื้อในกระแสเลือด และเป็นปัจจัยหลักในการก่อให้เกิดโรคลิ้นหัวใจอักเสบ นอกจากนี้ยังมีความสามารถในการติดเชื้อที่อวัยวะส่วนอื่นๆ ของร่างกายได้อีกด้วย ซึ่งการติดเชื้อแบคทีเรียสามารถเกิดได้จากเชื้อที่อาศัยเป็นเชื้อประจำถิ่นในตัวผู้ป่วยเองหรืออาจได้รับเชื้อจากภายนอก ถึงแม้ว่าเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้จะสามารถก่อให้เกิดโรคได้รุนแรงและอาจถึงขั้นเสียชีวิตได้ กลไกการก่อโรคนั้นยังไม่ทราบชัดเจน เพราะเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวไม่มีคุณสมบัติในการต่อต้านการจับกินของเม็ดเลือดขาว และไม่พบการสร้างสารพิษหรือปัจจัยที่มีบทบาทโดยตรงในการก่อโรค

การให้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียเพื่อรักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียชนิดนี้จัดเป็นปัญหาสำคัญในปัจจุบัน เนื่องจากมีความสามารถในการดื้อยาได้สูง ดังนั้นในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้จำเป็นที่จะต้องใช้ยาต้านเชื้อแบคทีเรียอย่างน้อย 2 ชนิดเพื่อเสริมฤทธิ์ในการรักษาโดยเฉพาะผู้ที่ติดเชื้อในกระแสเลือดและโรคลิ้นหัวใจอักเสบ สำหรับการป้องกันโรคติดเชื้อทำได้ยากโดยเฉพาะการติดเชื้อในโรงพยาบาล เพราะฉะนั้นผู้ที่มีภาวะเสี่ยงใรการติดเชื้อ ควรจะมีความระมัดระวังไม่ให้เกิดการนำเชื้อจากผู้หนึ่งแพร่ไปสู่อีกผู้หนึ่ง จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการสวมเสื้อกาวน์และถุงมือ หรือล้างมือด้วยสบู่ฆ่าเชื้อทุกครั้งหลังมีการสัมผัสผู้ป่วย (ภัทรชัย, 2549)



รูปที่ 2.15 ลักษณะของแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis*
(แหล่งที่มา www.bacteriainphotos.com)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การสกัดสารจากพืชสมุนไพร

การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรนั้นมีวิธีการสกัดหลายวิธี โดยไม่ว่าจะสกัดด้วยตัวทำละลายหรือกระบวนการใดสิ่งที่ได้ออกมานั้นจะเป็นสารสกัดอย่างหยาบหรือที่เรียกว่า Crude extract ซึ่งสารสกัดอย่างหยาบนี้จะมีองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา โดยจะเรียกสารดังกล่าวว่า “สารสำคัญ” แต่สำหรับองค์ประกอบที่ออกมาด้วยแต่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยานั้นจะเรียกว่า “สารเฉื่อย” ซึ่งวัตถุประสงค์ในการสกัดพืชนั้นจัดทำขึ้นเพื่อแยกเอาสารสำคัญออกจากพืชสมุนไพร เพื่อลดขนาดและปริมาณการใช้พืชสมุนไพรให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมและเพื่อให้ได้สารสำคัญที่มีความเข้มข้นสูง

2.3.1 น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย

2.3.1.1 น้ำ

จัดเป็นตัวทำละลายที่ดี หาง่าย ราคาถูก แต่การใช้น้ำอย่างเดียวเป็นตัวทำละลายมีข้อเสียหลายประการ คือ น้ำสามารถละลายองค์ประกอบที่ไม่ต้องการออกมาได้มากเช่นเดียวกับสารที่ต้องการ สารเฉื่อยที่ละลายออกมากับน้ำ เช่น น้ำตาล แป้ง ล้วนเป็นอาหารที่ดีของเชื้อจุลินทรีย์จึงทำให้เกิดการบูดเสียของสารสกัดเนื่องจากจุลินทรีย์ได้ นอกจากนี้น้ำระเหยได้ที่อุณหภูมิสูงถ้าต้องการให้สารสกัดมีความเข้มข้นขึ้นจะต้องใช้อุณหภูมิสูงในการระเหยน้ำออกไป ซึ่งการใช้อุณหภูมิสูงนี้อาจทำให้เกิดความเสียหายกับสารสำคัญที่ต้องการได้

2.3.1.2 เอทิลแอลกอฮอล์หรือเอทานอล

จัดเป็นตัวทำละลายที่ดีมากเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำ เอทิลแอลกอฮอล์จะมีข้อดีกว่าน้ำ คือ มีความจำเพาะในการละลายมากกว่าน้ำเนื่องจากสามารถละลายองค์ประกอบที่ต้องการออกมาได้มากกว่า มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และหากต้องการให้สารสกัดเข้มข้นขึ้นจะระเหยได้ง่ายแต่จะมีราคาสูงกว่าน้ำ

2.3.1.3 คลอโรฟอร์ม (Chloroform) และอีเทอร์ (Ether)

จัดเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลาง ใช้สกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้วไปจนถึงสารที่มีขั้วปานกลางได้

2.3.1.4 เมทิลแอลกอฮอล์หรือเมทานอล

จัดเป็นตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารที่มีขั้ว เช่นเดียวกับเอทิลแอลกอฮอล์ แต่ส่วนใหญ่มักนิยมใช้เอทิลแอลกอฮอล์มากกว่าเพราะราคาที่ถูกกว่าและความเป็นพิษที่ต่ำกว่า

2.3.2 การเลือกตัวทำละลาย

หลักการของตัวทำละลายคือสารที่มีขั้วเหมือนกันจะสามารถละลายเข้าด้วยกันได้ ดังนั้นการใช้ตัวทำละลายในการสกัดก็เปรียบเสมือนการดึงเอาสารที่มีขั้วเหมือนกับตัวทำละลายออกมาจากพืช โดยคุณสมบัติของตัวทำละลายที่เหมาะสมและสิ่งที่ควรคำนึงถึงในการเลือกตัวทำละลายมีดังนี้

1) สารที่ใช้ต้องมีความสามารถในการละลายสารสำคัญออกมาให้มากที่สุดและไม่ละลายสารประกอบอื่นๆหรือละลายได้น้อย
2) มีความคงตัวหาง่ายและราคาถูก
3) ไม่เป็นพิษหรือมีความเป็นพิษต่ำและไม่ระเหยง่ายเกินไป

2.3.3 วิธีสกัดสารจากพืชสมุนไพร

มาเซอเรชัน (Maceration) เป็นกระบวนการสกัดสารจากพืชสมุนไพรโดยใช้วิธีการหมักหรือแช่พืชกับตัวทำละลาย จนกระทั่งตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในของพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้ ซึ่งวิธีการนี้ควรใช้กับภาชนะที่มีฝาปิดสนิทเพื่อป้องกันการระเหยไปของตัวทำละลายชนิดที่มีจุดเดือดต่ำ โดยระยะเวลาที่ใช้ในการแช่หรือหมักนั้นอาจเป็น 3-7 วันหรือตามเวลาที่คาดว่าองค์ประกอบของสารสำคัญที่ต้องการนั้นละลายออกมาหมด ในระหว่างการแช่ควรมีการคนหรือเขย่าเพื่อกระตุ้นให้ตัวทำละลายแทรกซึมเข้าสู่ตัวอย่างพืชมากยิ่งขึ้น เมื่อครบเวลาการแช่ จะนำสารผสมที่ได้มาผ่านการกรองเพื่อแยกกากของพืชสมุนไพรออก วิธีการสกัดสารชนิดนี้เหมาะสำหรับการสกัดสารสำคัญชนิดไม่ทนความร้อนเพราะในกระบวนการสกัดไม่ได้มีการนำความร้อนเข้ามาใช้ นอกจากนี้ยังพบว่าใช้ตัวทำละลายในปริมาณที่ต่ำอีกด้วย

2.3.4 วิธีการทำให้สารสกัดเข้มข้น

การระเหย เป็นกระบวนการที่จะนำตัวทำละลายออกจากสารสกัด ทำได้โดยการใช้ความร้อนจากอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) วิธีนี้เป็นการระเหยด้วยการใช้ความร้อนโดยตรง ซึ่งอาจทำให้องค์ประกอบของสารสำคัญเกิดการสลายตัวหรือสูญเสียความสามารถในการออกฤทธิ์ได้ ดังนั้นจึงต้องคำนึงถึงอุณหภูมิที่จะใช้ในการระเหยเป็นอย่างมากเพื่อป้องกันความเสียหายที่อาจเกิดขึ้นได้

การกลั่นในภาวะสุญญากาศ (distillation in vacuum) เป็นกระบวนการที่นิยมมากที่สุดโดยเป็นการระเหยตัวทำละลายออกจากสารสกัด การกลั่นที่อุณหภูมิต่ำและลดความดันลงให้สภาวะเกือบเป็นสุญญากาศโดยการใช้ปั๊มดูดอากาศออก เครื่องมือที่ใช้ในการสกัดนี้เรียกว่า เครื่องระเหยสุญญากาศชนิดหมุน (รูปที่ 2.16) ซึ่งมีส่วนประกอบ 3 ส่วนนั่นคือ ภาชนะบรรจุสารสกัดที่จะทำการกลั่น ส่วนควบแน่นไอระเหยของตัวทำละลาย และภาชนะบรรจุตัวทำละลายหลังการกลั่น โดยสารสกัดหยาบจะถูกบรรจุในภาชนะและแช่อยู่ในหม้อไอน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิ จะทำการหมุนเพื่อช่วยให้กระจายอุณหภูมิได้อย่างทั่วถึง โดยส่วนของภาชนะที่ใช้บรรจุสารสกัดหยาบจะต่อเข้ากับส่วนควบแน่นและปลายของส่วนควบแน่นจะเป็นส่วนรองรับตัวทำละลาย โดยทั้งระบบนี้จะมีปั๊มเพื่อช่วยทำให้ระบบเป็นสุญญากาศ โดยตัวทำละลายที่ระเหยจะถูกควบแน่นและหยดลงมาในภาชนะรองรับ ซึ่งตัวทำละลายดังกล่าวสามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์และนำกลับมาใช้ใหม่ได้ (รัตนา, 2550)

รูปที่ 2.16 เครื่องระเหยสุญญากาศชนิดหมุน (Rotary evaporator)

(แหล่งที่มา www.coleparmer.com)

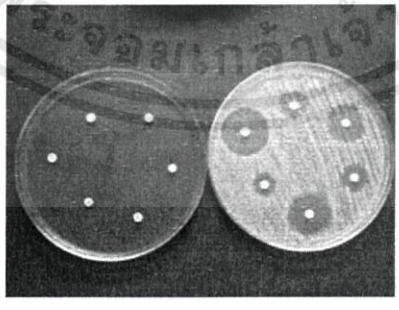
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากวัชพืช

2.4.1 Agar diffusion Test

วิธี Agar diffusion Test ที่ใช้แพร่หลายมากที่สุด คือ Disc diffusion method เนื่องจากสะดวก ประหยัด และใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่นๆ วิธีนี้เป็นการทดสอบในเชิงคุณภาพ สามารถบอกได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการทดลองมีความไวต่อการทดสอบหรือไม่ โดยในการทดลองดังกล่าวจะยังไม่สามารถทราบค่า MIC ได้ ซึ่งวิธีนี้ไม่เหมาะสมในการใช้ทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้ช้าและเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้อากาศในการดำรงชีพ โดยหลักการทั่วไปของการใช้วิธีนี้ คือ การทำให้สารสกัดสมุนไพรที่บรรจุอยู่ในแผ่นกระดาษกรอง (paper disc) ที่เตรียมไว้ ซึมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้มีการกระจายเชื้อ (spread) ในจำนวนที่เหมาะสมไว้ แล้ว จากนั้นนำไปบ่มเพาะเลี้ยงให้เชื้อเจริญเติบโต ในการอ่านผลการทดสอบทำได้โดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibition zone ซึ่งจะเห็นเป็นวงใสไม่มีโคโลนีเชื้อรอบๆ แผ่นดิสก์ ซึ่งความสามารถในการยับยั้งเชื้อจะแปรผันตามขนาดของ inhibition zone

วิธีการนี้โดยทั่วไปมักใช้ทำการทดสอบสมุนไพรเพียงความเข้มข้นเดียว และใช้เป็นการตรวจกรองฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในเบื้องต้น นอกจากขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใสที่ได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวของเชื้อที่ทดสอบแล้ว ยังอาจขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ขนาดโมเลกุลของสารสกัดสมุนไพร ความสามารถในการละลายหรือซึมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อของสมุนไพร อัตราการเจริญของเชื้อและระยะเวลาในการเพาะเชื้อ สำหรับแหล่งรองรับสมุนไพรที่ใช้ มักใช้เป็นกระดาษซับวงกลม อาจเรียกว่า dish sensitivity test หรือ อาจเป็นหลุมที่เจาะลงในเนื้ออาหารวุ้นแล้วทำการใส่สารลงในหลุมเรียกวิธีนี้ว่า Cup plate method เป็นการทดสอบความไวของเชื้อโดยการใส่สารต้านจุลชีพลงในภาชนะบรรจุที่อยู่ภายในหรือด้านบนของอาหารวุ้นที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อไว้ หลังจากใส่สารต้านจุลชีพแล้วนำไปบ่ม ทำการสังเกตดูรอบบริเวณของภาชนะบรรจุที่ตัวยาซึมไปว่ามีบริเวณใสที่ไม่มีการเจริญของเชื้อเกิดขึ้น ซึ่งวิธีนี้มักทำการทดสอบยาเพียงความเข้มข้นเดียวเช่นกันกับวิธีข้างต้น และวิธีอ่านผลทำได้โดยดูลักษณะบริเวณใสที่เกิดขึ้น ซึ่งพบว่าบริเวณใสที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบ



รูปที่ 2.17 วิธีการทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion method

(แหล่งที่มาจาก : www. jcm.asm.org)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 Minimum inhibition concentration (MIC)

Minimum inhibition concentration เป็นวิธีการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหรือยาที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยหน่วยความเข้มข้นที่นิยมใช้ทั่วไป คือ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งค่า MIC ใช้เป็นค่าที่นำไว้เปรียบเทียบดูความไวของเชื้อต่างๆ ต่อสารต้านจุลชีพนั้นๆ ซึ่งในการทดลองการหาค่า MIC นี้จะทำได้โดยการเจือจางสารสกัดด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้ความเข้มข้นของสารสกัดลดลง โดยการเจือจางจะทำได้ในลักษณะการลดความเข้มข้นทุก 2 เท่าไปเรื่อยๆ ตามช่วงกำหนดที่ตั้งไว้ เรียกได้ว่าเป็น "2-fold serial dilution" สำหรับการทดสอบหาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี dilution test จะเป็นการทดสอบในเชิงปริมาณ เพราะสามารถทราบค่าความเข้มข้นที่แน่นอนของสารสกัดสมุนไพรหรือยาที่มีความสามารถในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยวิธีดังกล่าวจะนิยมใช้กับการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการเจริญช้า มักใช้วิธีนี้ในการทดสอบเพื่อยืนยันผลจากวิธี Agar diffusion Test ที่เป็นเพียงการทดสอบการหาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเชิงคุณภาพเท่านั้น

หลักการโดยทั่วไปของวิธีการทดสอบแบบการเจือจางด้วยอาหารเหลว คือ จะทำการเจือจางสารสกัดสมุนไพรด้วยการใช้อาหารเพื่อให้สารสกัดสมุนไพรมีความเข้มข้นต่างๆ ที่กำหนดไว้ จากนั้นจะทำการใส่เชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบลงในอาหารผสมที่มีสารสกัดจากสมุนไพรหรือยาที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ได้ทำการเตรียมไว้ ทำการบ่มเพาะตามระยะเวลาและสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมของเชื้อจุลินทรีย์นั้นๆ ภายหลังการบ่มเพาะ ให้ดูค่า MIC ที่ได้ จากการสังเกตความขุ่นหรือความใสของอาหารและการเจริญหรือไม่เจริญของเชื้อที่เกิดขึ้นในอาหารเหลวที่ได้ทำการทดลอง (มาลิน, 2540)

2.4.3 Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

การทดสอบ MBC คือ การหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดของสารสกัดสมุนไพรหรือยา ที่มีความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทำการทดสอบได้ สำหรับการหาค่า MBC นั้นสามารถทำได้โดยการนำหลอดอาหารเหลวที่มีการผสมร่วมกับสารสกัดจากสมุนไพรหรือยา กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบในความเข้มข้นต่างๆ ที่ได้ผ่านการสังเกตและตรวจสอบด้วยตาเปล่าแล้วพบว่าในหลอดอาหารดังกล่าวไม่มีความขุ่นหรือไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นนำสารผสมจากหลอดอาหารที่ได้คัดเลือก มาทำการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งหรืออาหารวุ้น ที่ปราศจากสารสกัดจากสมุนไพรหรือยา ทำการบ่มเพาะตามสภาวะและเวลาที่เหมาะสมต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบ หลังจากการบ่มเพาะทำการตรวจผลได้โดยดูการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบ หากพบว่าความเข้มข้นใดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารแข็งแล้วนั้นแสดงให้เห็นว่าค่าความเข้มข้นดังกล่าวเป็นค่าความเข้มที่ต่ำที่สุดของสารสกัดจากสมุนไพรหรือยาที่มีความสามารถในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ให้ลดลงได้ไม่น้อยกว่า 99.9% ถือว่าเป็นค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดในการทำลายหรือฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) (ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชรและคณะ, 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ยาที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์

2.5.1 ยาแวนโคมัยซิน (Vancomycin)

ยาแวนโคมัยซิน (Vancomycin) เป็นยากลุ่มยาปฏิชีวนะที่มีโครงสร้างทางเคมีแบบไกลโคเปปไทด์ เป็นยาปฏิชีวนะกลุ่มที่มีผลต่อการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ถูกค้นพบครั้งแรกในปี พ.ศ.2496 โดยการแยกสกัดได้จากเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในดินซึ่งมีชื่อว่า *Amycolatopsis orientalis* ยาแวนโคมัยซินเป็นยาปฏิชีวนะอันดับต้นๆ ที่นำมาใช้ในการรักษาและต้านแบคทีเรียแกรมบวกซึ่งเป็นสาเหตุในการติดเชื้อของผิวหนังbการติดเชื้อในกระแสเลือด การติดเชื้อที่เยื่อบุหัวใจ/เยื่อบุหัวใจอักเสบติดเชื้อ การติดเชื้อของกระดูกและข้อ การติดเชื้อที่เยื่อหุ้มสมอง การติดเชื้อในลำไส้เล็ก เป็นต้น จากการศึกษาด้านการกระจายตัวของยาพบว่า แวนโคมัยซินจะถูกดูดซึมจากทางเดินอาหารเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ดังนั้นการใช้ยาในผู้ป่วยส่วนมากมักจะนิยมใช้เป็นยาฉีดซึ่งโครงสร้างในโมเลกุลของยาที่ค่อนข้างเสถียรและไม่ถูกเปลี่ยนแปลงแต่อย่างใดเมื่ออยู่ในร่างกาย สำหรับการกำจัดยาออกจากกระแสเลือดปริมาณ 50% จำเป็นต้องใช้ระยะเวลา 4 - 11 ชั่วโมง โดยขับทิ้งผ่านทางปัสสาวะ องค์การอนามัยโลกได้จัดให้แวนโคมัยซินเป็นยาจำเป็นขั้นพื้นฐานในระดับชุมชน และคณะกรรมการอาหารและยาของไทยได้บรรจุให้ยาแวนโคมัยซินอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ ทั้งนี้ในประเทศไทยสามารถพบเห็นการใช้แวนโคมัยซินในรูปแบบของยาฉีดและยาชนิดรับประทานตามสถานพยาบาลทั้งของรัฐและเอกชน

ยาแวนโคมัยซินมีลักษณะกลไกการออกฤทธิ์ของยาที่ใช้ในการต่อต้านการติดเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus* ขั้นรุนแรง หรือใช้ต่อต้านเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะตัวอื่นโดยเฉพาะในแบคทีเรียชนิดแกรมบวก โดยยาจะไปยับยั้งการสร้างสารเปปทิโดกลัยแคน (Peptidoglycan) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์ของแบคทีเรียส่งผลให้หยุดการแพร่พันธุ์และตายลงในที่สุด สำหรับแบคทีเรียที่ตอบสนองต่อแวนโคมัยซินได้ดีเช่น *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Clostridium difficile*, *Bacillus anthracis* และ *Listeria* species เป็นต้น

ผลหรืออาการข้างเคียงของการใช้ยาแวนโคมัยซิน ตัวยาชนิดนี้สามารถก่อให้เกิดผลอันไม่พึงประสงค์ ดังนี้ เช่น เป็นพิษต่อประสาทหูทำให้เกิดอาการหูตึง เป็นพิษต่อไต มีภาวะที่เรียกว่า Red-man syndrome ซึ่งมักมีอาการหน้าแดง ความดันโลหิตต่ำ มีผื่นแดงตามผิวหนัง นอกจากนี้ยังอาจพบลมพิษ มีเม็ดเลือดขาวบางชนิดสูงมากขึ้น (Eosinophilla) หรือในบางคนอาจเกิดอาการแพ้ยา ดังนั้นจึงมีข้อควรระวังการใช้ยาแวนโคมัยซินดังนี้เช่น ห้ามใช้กับผู้ที่แพ้ยานี้ ห้ามใช้กับผู้ที่มีประวัติสูญเสียการได้ยินเสียง ห้ามฉีดยานี้เข้ากล้ามเนื้อโดยเด็ดขาดเพราะจะทำให้ปวดตรงตำแหน่งที่ฉีดยามาก นอกจากนี้ ยังส่งผลให้เนื้อเยื่อในตำแหน่งนั้นอักเสบถึงขั้นเกิดเนื้อตายได้ ระวังการใช้ยานี้กับผู้ป่วยโรคไต สตรีตั้งครรภ์ สตรีที่อยู่ในภาวะให้นมบุตร เด็กทารก และผู้สูงอายุ การให้ยานี้ทางหลอดเลือดดำต้องใช้อัตราที่ช้า ห้ามรีบเร่ง เพราะการรีบให้ยาอาจส่งผลให้เกิดหัวใจหยุดเต้นได้ และควรเจือจางตัวยาด้วยสารน้ำตามมาตรฐานที่ระบุอยู่ในเอกสารกำกับยา (ปราณี, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 เจนตามัยซิน (Gentamicin)

ยาเจนตามัยซิน (Gentamicin) เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ (Aminogly coside) ที่สังเคราะห์ได้จากแบคทีเรียแกรมบวกที่มีชื่อว่า *Micromonospora* ซึ่งพบมากในน้ำและดิน ยาเจน-ตามัยซินมีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งกับแบคทีเรียแกรมลบ แต่ก็มีข้อจำกัดที่ไม่สามารถใช้กับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบบางตัวได้เช่น *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitides* ตัวยาเจนตามัยซินสามารถก่อให้เกิดพิษต่อเส้นประสาทที่มีหน้าที่เกี่ยวกับการได้ยินและก่อให้เกิดความเป็นพิษกับไต ซึ่งถือเป็นปัญหาหลักๆของยาตัวนี้

จากข้อมูลด้านเภสัชจลนศาสตร์พบว่า ยาเจนตามัยซินไม่สามารถดูดซึมได้จากระบบทางเดินอาหารของคน จึงไม่พบยานี้ในลักษณะของยารับประทาน แต่จะพบในรูปแบบยาฉีด ยาหยอดตา และยาทาภายนอก และเมื่อยาเข้าสู่กระแสเลือดจะเข้าจับกับพลาสมาโปรตีนได้ไม่เกิน 10% ซึ่งร่างกายต้องใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมงในการกำจัดยา 50% ออกจากกระแสเลือดโดยขับออกทางปัสสาวะ องค์การอนามัยโลกได้บรรจุให้ยาเจนตามัยซินเป็นหนึ่งในรายชื่อยาขั้นพื้นฐานที่ควรมีไว้ใช้ในระดับชุมชน คณะกรรมการอาหารและยาของไทยได้รับรองให้เจนตามัยซินอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ

ยาเจนตามัยซินมีสรรพคุณดังนี้ รักษาอาการติดเชื้อแบคทีเรีย เช่น การติดเชื้อในระบบทางเดินน้ำดี, โรคติดเชื้อจากสัตว์ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียชื่อ *Brucella* โรคเยื่อบุมดลูกอักเสบ ลำไส้อักเสบ โรคติดเชื้อจากแบคทีเรียชื่อ *Klebsiella granulomatis* เยื่อหุ้มสมองอักเสบ หูติดเชื้อ เยื่อบุช่องท้องอักเสบ การติดเชื้อในอุ้งเชิงกราน กาฬโรค ปอดบวม การติดเชื้อแบคทีเรียที่ผิวหนัง โรคติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะสำหรับกลไกการออกฤทธิ์ของยาเจนตามัยซินคือ ตัวยาจะเข้าจับกับสารพันธุกรรมของแบคทีเรียที่เรียกว่า ไรโบโซม (Ribosome) และรบกวนการสร้างโปรตีนของตัวแบคทีเรีย ด้วยกลไกเหล่านี้จึงทำให้แบคทีเรียหยุดการแพร่พันธุ์และตายลงในที่สุด

ผลหรืออาการข้างเคียงของยาเจนตามัยซินสามารถก่อให้เกิดผลอันไม่พึงประสงค์ดังนี้ วิงเวียนศีรษะ ภาวะไตล้มเหลวเฉียบพลัน ไตอักเสบ ร่างกายขาดเกลือแร่ขาดความสมดุล คลื่นไส้ อาเจียน อาจเกิดอาการชัก ซึมเศร้า ประสาทหลอน และเป็นพิษกับเส้นประสาทหู การได้ยินลดลงหรือรุนแรงถึงขั้นหูตึง ดังนั้นจึงมีข้อควรระวังการใช้ยาเจนตามัยซินดังนี้ ห้ามใช้ยานี้กับผู้ป่วยที่มีประวัติแพ้ยานี้และแพ้ยาปฏิชีวนะกลุ่มอะมิโนไกลโคไซด์ ห้ามใช้ยานี้กับหญิงตั้งครรภ์ ผู้ป่วยโรคตับ ผู้ที่มีภาวะแก้วหูทะลุ ระวังการใช้ยานี้ในผู้ป่วยกล้ามเนื้ออ่อนแรง ผู้ป่วยโรคพาร์กินสัน ผู้ป่วยโรคไต ระวังการใช้ยานี้กับหญิงที่อยู่ในภาวะให้นมบุตร เด็กทารกและผู้สูงอายุ การใช้ยานี้กับผู้ป่วยกลุ่มนี้ต้องเป็นไปตามคำสั่งของแพทย์เท่านั้น ห้ามแบ่งยาให้ผู้อื่นใช้ และที่สำคัญที่สุดห้ามใช้ยาเมื่อยาหมดอายุการใช้งาน (ปราณี, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 Scaning eletron microscopy (SEM)

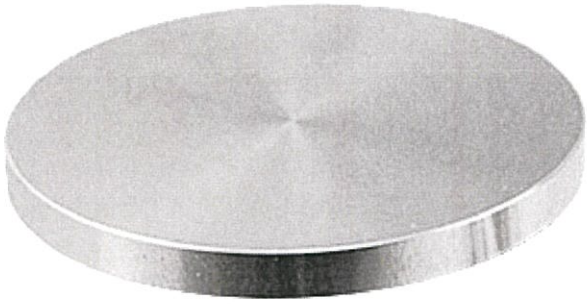
Scanning electron microscope (SEM) เป็นกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่มีกำลังขยายไม่สูงเท่ากับเครื่อง TEM โดยเครื่อง SEM มีกำลังขยายสูงสุดประมาณ 10 นาโนเมตร ในการเตรียมตัวอย่างเพื่อที่จะดูด้วยเครื่อง SEM นี้ไม่จำเป็นว่าตัวอย่างที่เตรียมจะต้องมีขนาดเล็กและบางเท่ากับตัวอย่างที่จะต้องการดูด้วยเครื่อง TEM เพราะไม่ได้ตรวจวัดจากการที่อิเล็กตรอนเคลื่อนที่ทะลุผ่านตัวอย่าง แต่การแสดงภาพของ SEM ทำได้โดยการตรวจวัดอิเล็กตรอนที่สะท้อนจากพื้นผิวหน้าของตัวอย่างที่ทำการสำรวจ ซึ่งภาพที่ได้จากเครื่อง SEM นี้จะเป็นภาพลักษณะของ 3 มิติ ดังนั้นเครื่อง SEM จึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาสัณฐานและรายละเอียดของลักษณะพื้นผิวของตัวอย่าง เช่น ลักษณะพื้นผิวด้านนอกของเนื้อเยื่อและเซลล์ หน้าตัดของโลหะและวัสดุ เป็นต้น (นงลักษณ์, 2552)

สำหรับการเตรียมตัวอย่างเพื่อใช้ในการส่องดูด้วยกล้อง SEM นั้น เราสามารถใช้กล้อง SEM ศึกษาข้อมูลของวัสดุได้หลายประเภท ไม่ว่าจะเป็นรายละเอียดของพื้นผิว ขนาดและรูปร่างของอนุภาคหรือการใช้เทคนิค EDS ร่วมกับ SEM ในระดับจุลภาพวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในระดับจุลภาคเบื้องต้นการเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาด้วย SEM จำเป็นต้องคำนึงถึงลักษณะของข้อมูลที่ต้องการศึกษาและชนิดของ SEM ประกอบกัน ทั้งนี้วิธีการทั่วไปคือ นำชิ้นงานหรือตัวอย่างทางชีวภาพที่ได้ผ่านการตรึงบนวัสดุยึดเกาะแล้วนั้นนำมาติดบนแท่นโลหะสำหรับวางชิ้นงาน ซึ่งแท่นโลหะชนิดนี้จะเรียกว่า “สตับ” (stub) โดยลักษณะของสตับก็จะขึ้นอยู่กับ SEM แต่ละรุ่นและชิ้นงานจะยึดติดกับสตับด้วยเทปกาวนำไฟฟ้า (conductive tape)

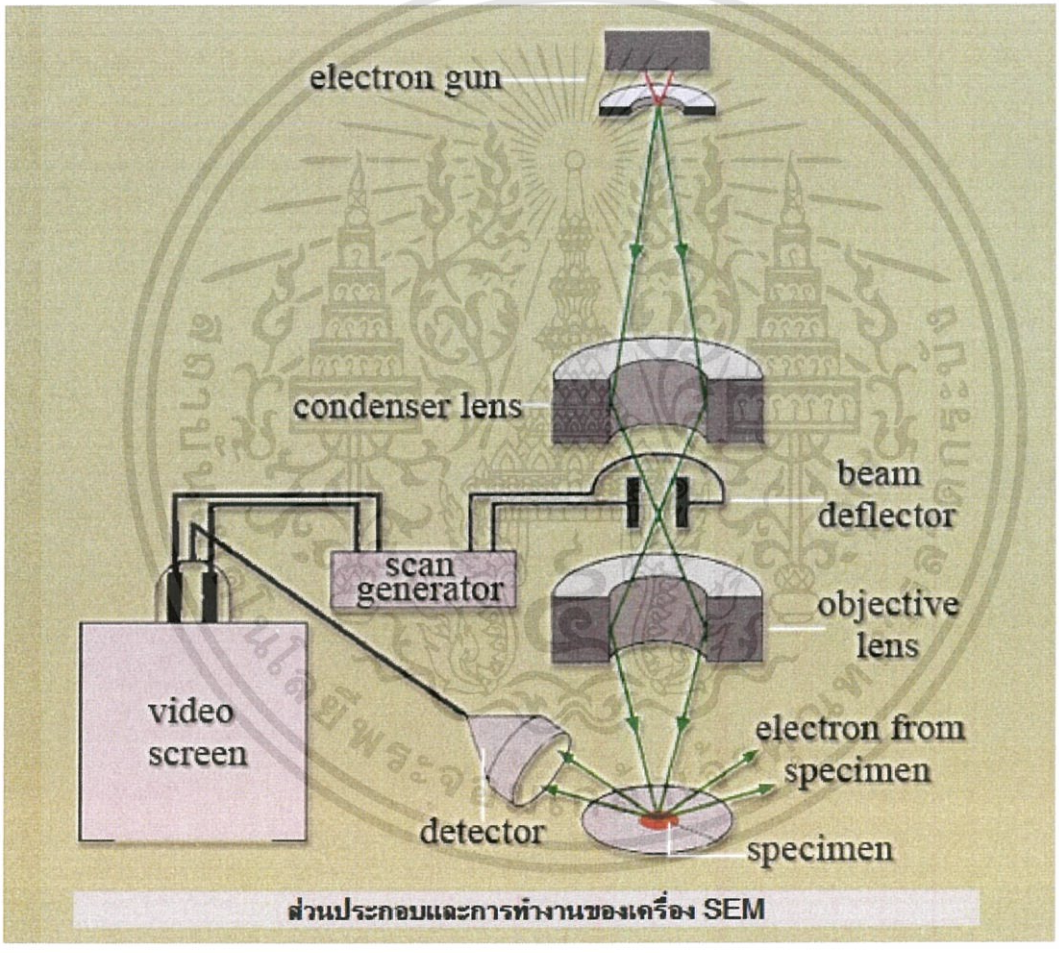
หลักการทำงานเครื่อง Scanning electron microscope เครื่อง SEM จะประกอบด้วยแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอนซึ่งทำหน้าที่ผลิตอิเล็กตรอนเพื่อป้อนให้กับระบบ โดยกลุ่มอิเล็กตรอนที่ได้จากแหล่งกำเนิดจะถูกเร่งด้วยสนามไฟฟ้า จากนั้นกลุ่มอิเล็กตรอนจะผ่านเลนส์รวบรวมรังสี (condenser lens) เพื่อทำให้กลุ่มอิเล็กตรอนกลายเป็นลำอิเล็กตรอน ซึ่งสามารถปรับให้ขนาดของลำอิเล็กตรอนใหญ่หรือเล็กได้ตามที่ต้องการ หากต้องการภาพที่มีความคมชัดจะปรับให้ลำอิเล็กตรอนมีขนาดเล็ก หลังจากนั้นลำอิเล็กตรอนจะถูกปรับระยะโฟกัสโดยเลนส์ใกล้วัตถุ (objective lens) ลงไปบนผิวชิ้นงานหรือพื้นผิววัตถุที่ต้องการศึกษา หลังจากลำอิเล็กตรอนถูกกราดลงบนชิ้นงานจะทำให้เกิดอิเล็กตรอนทุติยภูมิ (secondary electron) ขึ้น ซึ่งสัญญาณจากอิเล็กตรอนทุติยภูมินี้จะถูกบันทึกและแปลงไปเป็นสัญญาณทางอิเล็กทรอกนิกส์จากนั้นจะถูกนำไปสร้างและแสดงเป็นภาพบนจอโทรทัศน์หรือมอนิเตอร์ต่อไป นอกจากนี้ยังสามารถบันทึกภาพจากหน้าจอโทรทัศน์ได้เลย

ข้อดีของเครื่อง SEM เมื่อเปรียบเทียบกับเครื่อง TEM คือ ภาพโครงสร้างที่เห็นจากเครื่อง SEM จะเป็นภาพลักษณะ 3 มิติ ในขณะที่ภาพจากเครื่อง TEM จะให้ภาพลักษณะ 2 มิติ อีกทั้งวิธีการใช้งานเครื่อง SEM จะมีความรวดเร็วและใช้งานง่ายกว่าเครื่อง TEM มาก (บัญชา, 2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.18 รูปแท่นโลหะสำหรับวางชิ้นงาน (stub)
(แหล่งที่มาจาก : www.microtonano.com)



รูปที่ 2.19 หลักการทำงานเครื่อง Scanning electron microscope
(แหล่งที่มาจาก : www.il.mahidol.ac.the-mediananoPageUnit4-5.html)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 กลไกการทำลายเชื้อแบคทีเรีย

กลไกหรือกระบวนการที่จุลินทรีย์สามารถถูกยับยั้งหรือทำลายได้ สามารถเกิดได้จากปัจจัยต่างๆ และมีสาเหตุมาจากการทำลายที่ส่วนต่างๆของเซลล์จุลินทรีย์ ดังนี้

2.7.1 การทำลายเซลล์จุลินทรีย์ที่ผนังเซลล์หรือการยับยั้งการสร้างผนังเซลล์

แบคทีเรียมีผนังเซลล์เป็นส่วนนอกสุดของเซลล์ เป็นชั้นที่แข็งแรงคงทนเพื่อทำหน้าที่ป้องกันสิ่งที่อยู่ภายในเซลล์ โดยพบว่าผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิดสามารถถูกทำลายได้ด้วยเอ็นไซม์ไลโซไซม์ (lysozyme) ที่พบได้ในน้ำตา ในเม็ดเลือดขาวและสารจำพวกเมือก เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบในแบคทีเรียได้อีกหลายชนิด โดยเอ็นไซม์ชนิดนี้จะไปย่อยสลายโครงสร้างของผนังเซลล์ จึงทำให้เซลล์แตก และสารเคมีบางชนิดอาจไปยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่กำลังเจริญเติบโต มีผลทำให้เกิดเป็นโพรโทพลาสต์ (photoplast) ซึ่งถ้าไม่เลี้ยงไว้ในสภาพที่เหมาะสมเซลล์จะแตกได้ หรือการให้ยาเพนิซิลลินก็มีผลในการยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ โดยยาเพนิซิลลินจัดเป็นสารที่มี Beta-lactam ring เป็นโครงสร้างพื้นฐาน ออกฤทธิ์โดยห้ามการสร้างผนังเซลล์ โดยจับกับ Penicillin-binding-protein ชนิด 1-3 ทำให้ไม่เกิด Transpeptidation จึงไม่มีการสร้าง Peptidoglycan ทำให้มี autolysis ทำให้เซลล์แตก ดังนั้นเมื่อเกิดกระบวนการที่ไม่สามารถสร้างผนังเซลล์หรือเกิดกระบวนการทำลายผนังเซลล์แล้วนั้น จึงทำให้เซลล์จุลินทรีย์อยู่ในภาวะอ่อนแอและสุดท้ายหากไม่ได้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมเซลล์จุลินทรีย์ก็จะตายลงในที่สุด

2.7.2 เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ที่ยอมให้สารผ่าน

หน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ทั่วไป คือ เป็น Osmotic barrier คือช่วยป้องกันไม่ให้สารต่างๆ เข้าหรือออกจากเซลล์ง่ายเกินไป โดยเยื่อหุ้มเซลล์มีคุณสมบัติยอมให้สารอาหารผ่านเข้าสู่เซลล์ ถ้าหากเยื่อหุ้มเซลล์นี้ถูกทำลายจะมีผลทำให้เกิดการชะงักในการเจริญเติบโตของเซลล์ และทำให้เซลล์ตายได้ โดยในกระบวนการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์นี้จะทำได้โดย สารต้านจุลชีพจะเข้าไปแทรกตัวในระหว่างชั้นของเยื่อหุ้มเซลล์ และทำลายหมู่ฟอสเฟตของฟอสโฟลิพิดที่เยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดการรั่วไหลและไม่สามารถควบคุมการเข้าออกของสารต่างๆ ได้ดังนั้นแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์จะตายลงเพราะเกิดการสูญเสียสารต่างๆ ที่จำเป็นสำหรับการดำรงชีวิต ตัวอย่างสารเคมีบางอย่าง เช่น ฟีนอล สารซักฟอก สบู่ มีความสามารถที่ไปเปลี่ยนแปลงคุณสมบัตินี้ของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้องค์ประกอบต่างๆ ภายในเซลล์รั่วไหลออกมา

2.7.3 เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพของโปรตีนหรือมีฤทธิ์ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน

เซลล์เป็นสิ่งมีชีวิตที่ต้องมีโปรตีนและกรดนิวคลีอิกอยู่ภายในเซลล์ในสภาพปกติหรือเป็นธรรมชาติ ถ้ามีสารเคมีหรือสภาพใดๆ ที่มาทำให้โปรตีนและกรดนิวคลีอิกเปลี่ยนไปจากสภาพธรรมชาติ (denature) โดยการทำงานของสารต้านจุลชีพคือจะทำการจับกับไรโบโซมของแบคทีเรียทำให้ไม่เกิดการสร้างสายเพบไทด์ ซึ่งจะมีผลทำลายเซลล์ได้ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยต่างๆ เช่น อุณหภูมิสูง สารเคมีความเข้มข้นสูงจะทำให้โปรตีนและกรดนิวคลีอิกตกตะกอน จับตัวเป็นก้อนแข็ง ซึ่งจะไม่สามารถแปรสภาพกลับเหมือนเดิมได้อีก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.4 การยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์

เอ็นไซม์ต่างๆ จำเป็นในปฏิกิริยาเคมีของกระบวนการเมแทบอลิซึมในเซลล์ ดังนั้นถ้ามีตัวยับยั้งเอนไซม์ (enzyme inhibitor) ก็จะมีผลต่อปฏิกิริยาของกระบวนการต่างๆ เช่น กระบวนการไกลโคลิซิส (glycolysis) วัฏจักรเครปส์ (Kreb's tricarboxylic acid cycle) และระบบไซโตโครม (cytochrome system) สารที่เป็นตัวยับยั้ง ได้แก่ ไซยาไนด์ ยับยั้งไซโตโครมออกสิเดส ฟลูออไรด์ยับยั้งไกลโคลิซิส เป็นต้น สารที่เป็นออกซิไดซิงเอเจนต์อย่างแรง เช่น ฮาโลเจน และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อาจทำลายองค์องค์ประกอบของเซลล์จนเซลล์ไม่สามารถทำหน้าที่ตามปกติต่อไปได้ เช่น รวมตัวกับหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (sulfhydryl) ของเอ็นไซม์ในเซลล์ ทำให้โครงสร้างของเอ็นไซม์เปลี่ยนไป เอ็นไซม์จึงไม่ทำงาน นอกจากนี้ยังมีไอออนของโลหะ เช่น เงิน ทองแดง และปรอท ซึ่งจะไปรวมตัวกับหมู่ซัลฟ์ไฮดริลของเอ็นไซม์หรือโปรตีน มีผลทำให้เซลล์ถูกทำลายได้

2.7.5 ป้องกันการสร้างเมแทบอไลต์ (antimetabolites)

เมแทบอไลต์เป็นสารที่จะเป็นสำหรับกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ เช่น ในการสังเคราะห์กรดโฟลิก จุลินทรีย์จำเป็นต้องใช้สารกรดพาราอะมิโนเบนโซอิก (p-aminobenzoic acid) ซึ่งสารนี้มีโครงสร้างคล้ายกับ ซัลฟานิลาไมด์ (sulfanilamide) ดังนั้นการใช้ซัลฟานิลาไมด์เข้าแย่งทำปฏิกิริยาแทนที่กรดพาราอะมิโนเบนโซอิก ทำให้การสังเคราะห์กรดโฟลิกหยุดชะงัก ดังนั้นการใช้สารเคมีที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกันกับสารเมแทบอไลต์เพื่อไปยับยั้งเมแทบอลิซึมของเซลล์จึงช่วยทำลายจุลินทรีย์ได้

2.7.6 การยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก

โดยรบกวนปฏิกิริยาหรือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดนิวคลิอิก ซึ่งสารบางอย่างมีผลในการยังยั้งการสังเคราะห์ DNA และ RNA โดยสารนั้นจะไปขัดขวางการสร้างหน่วยพื้นฐานของกรดนิวคลีอิก คือ พิวรีนและ พิริมิดีน และไปขัดขวางการรวมตัวของนิวคลีโอไทด์เข้าเป็นกรดนิวคลีอิก ซึ่งมีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนของเซลล์ทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมผิดปกติไป และทำให้เซลล์ถูกทำลายได้ในที่สุด (อิสยาและวัชรินทร์, 2551)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.8.1 Alalor และคณะ (2012) ทำการศึกษาหาฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยสารสกัดจากน้ำและเมทานอลของใบชุมเห็ดเทศสามารถตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้โดยการทดสอบสารสกัดดังกล่าวกับเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ด้วยวิธี Agar plate cup method และการหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) ของสารสกัดจากน้ำ โดยเป็นการทดสอบความไวของจุลินทรีย์ต่อสารสกัด ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้การเจือจางสารสกัดด้วยอาหารเหลว จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าพืชชนิดนี้สามารถใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *S. aureus* และ *B. subtilis* ซึ่งเชื้อทั้งสองชนิดนี้มีความไวต่อสารสกัดของชุมเห็ดเทศ ผลจากการศึกษาในหลอดทดลองแสดงให้เห็นถึงการใช้สารสกัดจากชุมเห็ดเทศในการรักษาแบบดั้งเดิมสำหรับการรักษาโรคติดเชื้อที่ผิวหนังภายนอก ชุมเห็ดเทศเป็นพืชที่มีประโยชน์หลากหลายและสามารถนำมาเป็นทางเลือกที่จะใช้เป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรียได้ในอนาคต โดยจะเลือกใช้ชุมเห็ดเทศเพียงอย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับพืชที่มีฤทธิ์ทางยาชนิดอื่นๆได้ ถ้าใช้ในปริมาณที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.2 Arthanari และคณะ (2015) จากการศึกษาการสังเคราะห์อนุภาคของซิลเวอร์ที่ใช้ในการบรรจุสารสกัดจากชุมเห็ดไทเพื่อใช้ศึกษาหาฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียและสารต้านอนุมูลอิสระ โดยพบว่าการศึกษากิจกรรมในการต้านเชื้อแบคทีเรียของ AgNPs ในการทดลองนี้จะใช้วิธีทดลองคือ Agar well diffusion ซึ่งจากผลการทดลองเห็นได้ว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารจะช่วยเพิ่มอัตราการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดียิ่งขึ้นและจากการทดลองจะเห็นได้ว่าแบคทีเรียแกรมลบแสดงให้เห็นบริเวณยับยั้งที่มีมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก จึงสามารถสรุปได้ว่าอนุภาคนาโนของซิลเวอร์สังเคราะห์ที่มีการบรรจุสารสกัดจากชุมเห็ดไทนั้นมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทั้งต่อแบคทีเรียแกรมบวก (*Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis*) และแบคทีเรียแกรมลบ (*Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa*) แต่พบว่าสารสกัดที่บรรจุอยู่ในอนุภาคดังกล่าวมีผลในการยับยั้งต่อแบคทีเรียแกรมลบมากกว่าแกรมบวกอาจเกิดจากการที่แบคทีเรียแกรมบวกมีผนังเซลล์ที่มีความแข็งแรงมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้มีประโยชน์ต่อการเตรียมพร้อมสำหรับการสังเคราะห์อนุภาคนาโนและการใช้สารสกัดจากสมุนไพรมาใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

2.8.3 Mahavir Joshi และ Sandeep Kaur (2013) ในปัจจุบันพืชสมุนไพรได้รับความสนใจให้มีบทบาทในการนำกลับมาทำเป็นยารักษาโรค เพราะในพืชส่วนใหญ่นั้นมีสารพฤกษเคมีบางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ แทนนินและฟีนอล ซึ่งสารต่างๆดังกล่าวมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้จะทำการตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารสกัดจากเอทานอล เมทานอลและน้ำของผักตบชวากับเชื้อแบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* (MTCC-40), *Staphylococcus epidermidis* (MTCC-10623), *Pseudomonas aeruginosa* (MTCC- 424) และ *Bacillus subtilis* (MTCC- 736) โดยใช้วิธีการทดสอบคือ Agar well diffusion และใช้ DMSO เป็นตัวทำละลายสารสกัดหยาบของผักตบชวา ใช้ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลินและเตตร้าซัยคลินเป็นตัวควบคุมเชิงบวก จากการทดลองแสดงให้เห็นผลว่าสารสกัดจากเอทานอล เมทานอลและน้ำของผักตบชวา มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด แต่สำหรับเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* จัดได้ว่ามีความไวน้อยกับสารสกัดเมื่อเทียบกับเชื้อแบคทีเรียที่กล่าวมาข้างต้น จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าผักตบชวามีส่วนประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ในการรักษาโรคติดเชื้อจากแบคทีเรียได้

2.8.4 Sivaraman และคณะ (2010) ทำการศึกษาการทดลองโดยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อประเมินหาฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของผักบุ้งนา ทำได้โดยการทดสอบสารสกัดร่วมกับเชื้อแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบ ดังนี้ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* และ *Proteus vulgaris* เป็นต้น ซึ่งวิธีที่ใช้ในการทดสอบคือ Agar disc diffusion จากการทดสอบหาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดเมทานอลของผักบุ้งนาพบว่า มีการเกิดบริเวณยับยั้งขึ้นที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15-25 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นค่าที่สูงกว่าบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดขึ้นจากการบ่มเชื้อแบคทีเรียร่วมกับสารสกัดด้วยน้ำของผักบุ้งนาซึ่งมีบริเวณยับยั้งเกิดขึ้นเพียง 8-19 มิลลิเมตร จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากผักบุ้งนามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดของเชื้อแบคทีเรียและไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษเฉียบพลันกับสัตว์ทดลองอีกด้วย

2.8.5 Geethalakshmi และ Sarada (2013) ในการศึกษาหาฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียและสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักเบี้ยหิน เป็นที่ทราบกันดีว่าน้ำมันหอมระเหย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรือสารสกัดจากพืชสมุนไพรมักเป็นแหล่งที่อยู่สำคัญของสารที่มีความสามารถในการต้านฤทธิ์ของเชื้อแบคทีเรียและสารสกัดที่ได้จากการศึกษางานวิจัยครั้งนี้ ได้ทำการสกัดจากใบของผักเบี้ยโดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบของผักเบี้ยหินมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโดยมีบริเวณใสเกิดขึ้นเมื่อทำการบ่มสารสกัดและเชื้อแบคทีเรียร่วมกัน ผลการทดลองความเข้มข้นของสารที่ 1 มิลลิกรัมต่อ disc แสดงให้เห็นบริเวณยับยั้งขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางในช่วง 19±0.01 ถึง 24±0.05 นาโนเมตร มีการใช้ตัวควบคุมเชิงบวกคือยา Chloramphenicol และ nystatin ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อdisc ให้ผลแสดงเป็นบริเวณยับยั้งขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางในช่วง 18±0.05 ถึง 23.6±0.02 นาโนเมตร สำหรับค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากผักเบี้ยหินที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย อยู่ในช่วง 625 ถึง 1250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถสรุปได้ว่าใบของผักเบี้ยหินมีสาระสำคัญที่มีความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้ง 12 สายพันธุ์ที่นำมาทำการทดลองได้

2.8.6 Sivagurunathan และ Xavier Innocent (2014) ทำการศึกษาหาฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดของผักแว่นจากตัวทำละลาย 3 ชนิดกับเชื้อแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ดังนี้ *Escherichia coli, Klebsiella pneumonia, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* และ *Aeromonas hydrophila* และเชื้อราทั้ง 3 สายพันธุ์ *Aspergillus niger, Candida albicans* และ *Pencillium notatum* จากการทดลองสามารถตรวจสอบได้ว่าสารสกัดของผักแว่นจากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา โดยพบว่าสารสกัดที่ได้จากเบนซินมีฤทธิ์ในการยับยั้งสูงที่สุด ตามด้วยสารสกัดที่ได้จากเอทานอล แต่สำหรับการยับยั้งเชื้อรานั้น พบว่าสารสกัดที่ได้จากเอทานอลของผักแว่นให้ผลดีกว่าสารสกัดจากตัวทำละลายอื่นๆ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดด้วยน้ำของผักแว่นนั้นไม่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียจึงจัดให้ชุดการทดลองดังกล่าวเป็นการทดลองชุดควบคุม จากการตรวจสอบเบื้องต้นในการหาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารสกัดจากผักแว่น สามารถสรุปได้ว่าผักแว่นมีความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์หรือจัดได้ว่าเป็นสารต้านจุลชีพได้

2.8.7 Rajesh Singh Tomar และคณะ (2014) จากงานวิจัยฉบับนี้มีจุดมุ่งหมายหลักในการศึกษาเพื่อแสดงให้เห็นว่าไมยราบนั้นมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้ จึงทำการทดลองโดยใช้สารสกัดเมทานอลของไมยราบในการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 สายพันธุ์ ดังนี้ *Escherichia coli, Klebsiella pneumonia, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* และ *Aeromonas hydrophila* โดยใช้การทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบจากไมยราบมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย จากการเกิดขึ้นของบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 17.25-20 มิลลิเมตร ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารสกัดหยาบของไมยราบมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้

2.8.8 Babatunde S.K และคณะ (2014) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านจุลชีพจากสารสกัดหยาบของลูกใต้ใบกับเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของมนุษย์ ลูกใต้ใบจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่ปลูกอยู่ในทวีปแอฟริกาและมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ในการทดลองนี้ทำการสกัดสาระสำคัญโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายและมีการเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดให้มีความแตกต่างกันเพื่อใช้ในการทดลอง ทำการทดสอบสารสกัดกับเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Klebsiella pneumonia, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Proteus mirabilis* และ *Enterococcus faecalis* ด้วยวิธี Agar diffusion และ Broth dilution จากการทดลองพบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญของเชื้อแบคทีเรียถูกยับยั้งได้ที่ความเข้มข้นของสารสกัดจากลูกใต้ใบที่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและพบว่าความเข้มข้นมีความแปรผกผันกับการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดจากลูกใต้ใบมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านจุลชีพในลำไส้ได้

2.8.9 Lagnika และคณะ (2014) การทดลองฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในหลอดทดลองของพืชสมุนไพรสองชนิดที่ใช้ในการรักษาอาการติดเชื้อจากจุลินทรีย์ในประเทศ Bénin ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) เมทานอล (methanol) และไฮโดรเอทานอล (hydroethanol) ในการสกัดสารจากสนทะเล *(Casuarina equisetifolia)* และส้มกบ *(Oxalis corniculata)* ซึ่งพืชทั้งสองชนิดนี้เป็นพืชสมุนไพรทางการแพทย์แผนโบราณที่ใช้ในการรักษาอาการติดเชื้อจากจุลินทรีย์ ได้ทำการทดลองหาความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียจากแบคทีเรียทั้ง 7 สายพันธุ์ซึ่งเป็นทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococus faecalis*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella aboni*, *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ meticillin และ *Staphylococcus epidermidis*) วิธีที่ใช้แสดงความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดแสดงให้เห็นได้ด้วยวิธี *p*-iodonitrotetrazolium microdilution จากผลการทดลองสามารถระบุได้ว่าสารสกัดทั้งหมดที่นำมาทดสอบฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพที่ดีในระดับความเข้มข้นที่ต่างกันสังเกตได้จากค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการยับยั้ง ซึ่งอยู่ในช่วงความเข้มข้น 0.078 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ถึง 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสารสกัดจากตัวทำละลายไฮโดรเอทาโนลิก (hydroethanolic) มีประสิทธิภาพมากกว่าสารสกัดอื่น ๆ เพราะมีค่า MIC ของเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ที่ความเข้มข้นสาร 0.078 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการทดลองทั้งหมดทำให้ทราบได้ว่า สารสกัดไฮโดรเอทาโนลิกของส้มกบเป็นที่น่าสนใจมากที่สุด (1,689.7 มิลลิลิตร) อีกทั้งสารสกัดเมทานอลของส้มกบยังมีความเป็นพิษเพียงเล็กน้อยต่อไรทะเล ซึ่งมีค่า LC_{50} อยู่ที่ 26.87 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.8.10 ศิริวัฒณา (2014) ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาถึงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากต้อยติ่งและหญ้าแห้วหมู ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* TISTR1466 ด้วยวิธี Disc diffusion พบว่าที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดของใบต้อยติ่ง ต้นต้อยติ่ง เมล็ดต้อยติ่ง ใบหญ้าแห้วหมูสด ใบหญ้าแห้วหมูแห้ง ดอกแห้วหมูสดและดอกแห้วหมูแห้ง ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR1466 ส่วนสารสกัดของหญ้าแห้วหมูสดและหญ้าแห้วหมูแห้งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ขนาดเฉลี่ยของพื้นที่ยับยั้งการเจริญได้ 6.89±0.33 และ 7.89±0.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดหญ้าแห้วหมูสดและหญ้าแห้วหมูแห้งไปทดสอบด้วยวิธี broth microdilution พบว่า สารสกัดหญ้าแห้วหมูสดและหญ้าแห้วหมูแห้งมีค่า MIC (Minimum inhibitory concentration) ต่อเชื้อ *S. aureus* TISTR 146 ที่ 380 และ 42.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ

ทำการเก็บรวบรวมวัชพืชจำนวน 10 ชนิด ได้แก่ ชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata* (L.) Roxb.), ชุมเห็ดไท (*Senna tora* (L.) Roxb.), ผักตบชวา (*Eichhornia crassipes*), ผักบุ้งนา (*Ipomcea aquatica* Forsk.), ผักเบี้ยหิน (*Trianthema portulacastrum* Linn.), ผักแว่น (*Marsilea crenata*), ไมยราบยักษ์ (*Mimosa pigra* L.), ลูกใต้ใบ (*phyllanthus amarus* Schum & Thonn.), ส้มกบ (*Oxalis corniculata* Linn.) และ หญ้าแห้วหมู (*Cyperus rotundus* Linn.) โดยเก็บทุกส่วนของวัชพืชทั้ง ใบ ลำต้น กิ่ง ราก ดอก และฝัก โดยทำการเก็บและรวบรวมจากตำบลนิลเพชร อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม ในช่วงเดือน สิงหาคม พ.ศ. 2558

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

1) *Bacillus cereus* TISTR 687
2) *Escherichia coli* ATCC 8739
3) *Enterococcus faecalis* TBRC 1546
4) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
5) *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติและศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) 111 อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ถนนพหลโยธิน ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

3.3 สารเคมี

1) เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 50 70 90 และ 100
2) เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100
3) ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethylsulfoxide; DMSO)
4) กลูทัลดีไฮด์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 (Glutaldehyde 2.5%)
5) สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (Phosphate Buffer Saline; PBS)
6) ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (Gentamycin)
7) ยาปฏิชีวนะแวนโคมัยซิน (Vancomycin)
8) อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Nutrient Agar; NA
9) อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Nutrient Broth; NB
10) อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Tryptic Soy Agar; TSA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11) อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Tryptic Soy Broth; TSB
12) อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Mueller Hinton Agar; MHA
13) อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Mueller Hinton Broth; MHB
14) น้ำกลั่น (Deionized water; DI water type II)

3.4 อุปกรณ์

1) เครื่องอบลมร้อน (hot air oven) อุณหภูมิ 45 50 และ 65.5 องศาเซลเซียส
2) เครื่องปั่น (blender)
3) เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 และ 2 ตำแหน่ง (balance)
4) เครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (rotary evaporator)
5) เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ (autoclave)
6) เครื่องเขย่าสาร (vortex)
7) เครื่องกรองสุญญากาศ (Glass Vacuum Filter Holder)
8) เครื่องสั่นความถี่สูง (ultrasonic bath)
9) เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-Vis spectrophotometer)
10) เครื่องทำแห้งตัวอย่างแบบวิกฤต (Critical Point Drier; CPD)
11) เครื่องฉาบผิวด้วยทอง (Sputter coater)
12) ตู้ดูดความชื้น (desiccator)
13) ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
14) ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส (Deep freezer)
15) ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (incubator)
16) ตู้ปลอดเชื้อชนิดลมเป่า (laminar air flow hood; class II)
17) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM)
18) จานเพาะเลี้ยงเชื้อแบบพลาสติก (Petri dish; PS sterile)
19) ไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (cotton swab)
20) เข็มเขี่ยเชื้อปลายกลม (loop)
21) ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 2-20, 10-100 และ 100-1,000 ไมโครลิตร
22) ไมโครปิเปตแบบ 8 หัว (micropipette 8 channel)
23) ไมโครเพลท 96 หลุม (96-well micro plate flat bottom)
24) หลอดทดลอง (test tube)
25) เครื่องดูดจ่ายสารละลาย (auto pipette)
26) กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1
27) ขวด vial
28) ขวดดูแรน
29) ขวดปรับปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

30) กระบอกตวง
31) พาราฟิล์ม
32) พาสเจอร์ปิเปต
33) บีกเกอร์ขนาด 250 และ 1000 มิลลิลิตร
34) เยื่อกรองขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร
35) ฟอยล์
36) กรวย

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 กระบวนการสกัดสารจากวัชพืช 10 ชนิด

3.5.1.1 การเตรียมวัตถุดิบ

นำใบ ลำต้น กิ่ง ราก ดอก และฝักที่เก็บตัวอย่างมาจากตำบลนิลเพชร อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม ในช่วงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2558 มาล้างน้ำให้สะอาดเพื่อนำเศษดินออกเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่อาจมาจากดิน และนำมาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม จากนั้นจึงนำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำแต่ละส่วนมาปั่นละเอียดจนมีลักษณะเป็นผง โดยแยกตามวัชพืชทั้งหมด 10 ชนิด แล้วเก็บใส่ถุงพลาสติกให้พ้นแสง

3.5.1.2 การสกัด

ทำการชั่งวัชพืชทั้ง 10 ชนิดที่ผ่านการปั่นละเอียด ชนิดละ 200 กรัม นำมาใส่ในภาชนะที่มีฝาปิดมิดชิดปริมาตร 2 ลิตร ทำการเติมเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 (absolute methanol) ปริมาตร 1800 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่นสนิท แช่ทิ้งไว้ในที่ปราศจากแสงเป็นเวลา 7 วัน ในระหว่างนั้นมีการกวนเพื่อให้ตัวทำละลายสามารถดึงสารสำคัญจากวัชพืชได้มากที่สุด เมื่อครบกำหนด นำไปผ่านการกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 จนได้สารละลายสีเขียวใส จากนั้นนำไปสกัดตัวทำละลายเมทานอลออก โดยการทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศชนิดหมุน (rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบ (crude extract) ที่มีลักษณะข้นเหนียวของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด นำสารสกัดหยาบเก็บในภาชนะขวดสีชาและเก็บรักษาไว้ที่มืด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พร้อมสำหรับการนำไปใช้ในการทดสอบหาฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธีการดังนี้ วิธีทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะ (Disc diffusion method) วิธีการศึกษารูปร่างที่เปลี่ยนแปลงไปทั้งก่อนและหลังการได้รับสารสกัดจากวัชพืชของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) วิธีการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum inhibition concentration; MIC) วิธีการหาความเข้มข้นต่ำสุดจากหลอดทดลอง ที่เมื่อนำเชื้อมาเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้ (Minimum bactericidal concentration; MBC) และวิธีการหาความเข้มข้นต่ำสุดจากหลอดทดลอง ที่เมื่อนำเชื้อมาเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถป้องกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้ (Minimum bactericidal concentration; MBC) ในขนาดที่ใหญ่ขึ้น (MBC Big scale) ซึ่งอ้างอิงจากมาตรฐานของ CLSI M2-A11: Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests และ CLSI M7-A9: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically ตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ISO 17025 (NANOTEC; NSTDA)

3.5.2 การจัดเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและการเลี้ยงเชื้อ

นำเชื้อแบคทีเรียจากคลังเก็บเชื้อ (reference stock) เป็นเชื้ออ้างอิงที่เก็บรักษาไว้ในหลอด cryotube ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาใช้งานประจำ (working culture) โดยเก็บไว้ใช้งานภายใน 1 เดือน อาหารที่ใช้คือ Tryptic Soy Agar; TSA จากนั้นนำมาทำเป็นหัวเชื้อ (inoculum) บนอาหารเอียง (slant) Nutrient agar; NA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาจึงนำอาหารเหลว Tryptic Soy Broth; TSB มาชะเชื้อแบคทีเรียให้หลุดออกมาอยู่ในอาหารเหลวแล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่า absorbance; O.D. ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 0.20-0.50 โดยทั่วไป 0.20 = 10^8 CFU/ml โดยหาได้จาก growth curve ซึ่งนำไปใช้ได้กับวิธี disc diffusion พบว่าเป็นช่วงการเจริญของแบคทีเรียที่เหมาะสม โดยส่วนใหญ่แบคทีเรียแกรมบวกมีค่า O.D. ไม่เกิน 0.25 และแบคทีเรียแกรมลบมีค่า O.D. ไม่เกิน 0.20

3.5.3 วิธีทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารสกัดวัชพืช (Disc diffusion method)

ใช้วิธีอ้างอิงจาก CLSI M2-A11: Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests โดยนำวัชพืชทั้ง 10 ชนิด ได้แก่ ชุมเห็ดเทศ ชุมเห็ดไท ผักตบชวา ผักบุ้งนา ผักเบี้ยหิน ผักแว่น ไมยราบยักษ์ ลูกใต้ใบ ส้มกบ และ หญ้าแห้วหมู มาทดสอบกับแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งเป็นการทดสอบหาฤทธิ์ทางชีวภาพในเชิงคุณภาพ เป็นการทดลองเบื้องต้นเพื่อหาคุณสมบัติที่เด่นชัดของวัชพืชก่อนคัดเลือก เพื่อนำมาศึกษาด้วยวิธีอื่นๆ ต่อไป

3.5.3.1 การเตรียมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก่อนการทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion จะนำสารสกัด (crude extract) ของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด มาทำการหยดลงบนแผ่นดิสก์ (disc) ด้านที่มีความนูน ปริมาณ 20 ไมโครลิตร แล้วเก็บไว้ในเพลทเปล่าที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เพื่อระเหยส่วนที่เป็นเมทานอลออก (หากมีการหลงเหลืออยู่) และจัดทำตัวควบคุมขึ้น โดยตัวควบคุมเชิงลบคือเมทานอล ทำการทดสอบเพื่อดูผลกระทบที่เกิดจากเมทานอลต่อเชื้อแบคทีเรีย

สำหรับการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้ในวิธีทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อยาปฏิชีวนะและสารสกัดจากวัชพืชนั้น อาหารที่ใช้คือ Mueller Hinton Agar (MHA) นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ที่สภาวะ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เมื่อครบกำหนด ทำการเทอาหารใส่จานเพาะเลี้ยงเชื้อแบบพลาสติก แช่ตู้เย็นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.3.2 ทดสอบความไวของเชื้อแบคทีเรียต่อสารสกัดวัชพืช (Disc diffusion method)

ทำการเตรียมเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 สายพันธุ์ ให้มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 10^8 CFU/ml จากนั้นทำการ swab เชื้อแบคทีเรียลงบนจานอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อให้ทั่วทุกทิศทาง นำดิสก์ของสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบฤทธิ์มาวาง โดยการนำด้านที่นูนแปะลงบนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมีอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) ที่มีปริมาตรเท่ากับ 25 มิลลิลิตร จากนั้นใช้ดิสก์ยาปฏิชีวนะเป็นตัวควบคุมเชิงบวกตามชนิดของแบคทีเรีย โดยระบุให้ใช้ยาแวนโคมัยซินที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 30 ไมโครกรัมกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และยาเจนตามัยซินที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10 ไมโครกรัมกับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดสามารถอ่านผลได้จากการสังเกตบริเวณใส (clear zone) ที่เกิดขึ้น ทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสของเชื้อแต่ละตัวอย่างและทำการจดบันทึก

รูปที่ 3.1 รูปแสดงลักษณะการวางแผ่นดิสก์ของสารสกัดลงบนอาหารวุ้นในจานอาหารเพาะเชื้อแบคทีเรีย

หมายเหตุ :

- หมายถึง ยาปฏิชีวนะ โดยแบคทีเรียแกรมบวกใช้ยา Vancomycin ที่มีความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมและแบคทีเรียแกรมลบ ใช้ยาปฏิชีวนะ Gentamycin ที่มีความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม
- หมายถึง สารสกัดหยาบของวัชพืชในแต่ละชนิด จำนวน 10 ชนิดที่ทำการหยดทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงก่อนทดสอบ
- หมายถึง เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 ที่หยดแล้วทำการทดสอบทันที
- หมายถึง เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 100 ที่หยดและผ่านการทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงแล้วจึงนำมาทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.4 การศึกษารูปร่างที่เปลี่ยนแปลงไปทั้งก่อนและหลังการได้รับสารสกัดจากวัชพืชของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM)

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า จึงจำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ที่สามารถมองเห็นได้ เช่น กล้องจุลทรรศน์ซึ่งแตกต่างกันไปตามวิธีการ แต่ในงานวิจัยครั้งนี้ได้เลือกใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะของพื้นผิวตัวอย่างที่เปลี่ยนแปลงไปหลังจากได้รับสารสกัดจากวัชพืชในแต่ละชนิด ซึ่งทางผู้ทำการทดลองได้คัดเลือกสารสกัดจากวัชพืช 3 ชนิด ที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงไปของแบคทีเรียมากที่สุด ซึ่งอ้างอิงมาจากการทดสอบในเบื้องต้นก่อนทำการคัดเลือกจนเหลือเพียง 3 ชนิด คือ ชุมเห็ดเทศ ลูกใต้ใบและหญ้าแห้วหมู ที่มีคุณลักษณะเด่นในการออกฤทธิ์ยับยังการเจริญของแบคทีเรียได้ จึงนำมาทดสอบกับแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ เพื่อดูลักษณะการเปลี่ยนแปลง โดยต้องมีการเตรียมตัวอย่างก่อนนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด ซึ่งจะเตรียมตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ได้รับสารสกัดวัชพืช และเชื้อแบคทีเรียที่ได้รับสารสกัดวัชพืช รวมถึงการส่องผลึกของสารทั้ง 3 ชนิด และศึกษาโครงสร้างผลึกของสารซึ่งอาจมีผลต่อโครงสร้างที่เปลี่ยนแปลงไปของแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์คือ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa*

3.5.4.1 การเตรียมตัวอย่างสดทางชีวภาพเพื่อใช้ในการส่อง SEM

ขั้นตอนการเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ได้รับสารสกัดวัชพืชและเชื้อแบคทีเรียที่ไม่ได้รับสารสกัดวัชพืชที่ผ่านการคัดเลือกในการทดสอบเบื้องต้น ซึ่งเป็นตัวควบคุม เทคนิคที่นำมาใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ คือ วิธีการหยดสารลงบนเยื่อกรองขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร แล้วทำการตรึงโดยไม่ผ่านการปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ใช้ปริมาณเชื้อแบคทีเรียต่อสารสกัดวัชพืชที่อัตราส่วน 1:2 โดยมีขั้นตอนดังนี้

1) เตรียมเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 สายพันธุ์ ให้มีปริมาณ 10^8 CFU/ml หยดเชื้อแบคทีเรียลงบนเยื่อกรองปริมาตร 50 ไมโครลิตร (ตัวควบคุม)
2) เตรียมเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 สายพันธุ์ที่ทำการผสมกับสารสกัดวัชพืช บ่มทิ้งไว้ 60 นาที หยดสารผสมลงบนเยื่อกรองปริมาตร 50 ไมโครลิตร
3) ล้างตัวอย่างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (Phosphate Buffer Saline; PBS)
4) ทำการตรึงเซลล์แบคทีเรียด้วยกลูทัลดีไฮด์ความเข้มข้นร้อยละ 2.5 (Glutaldehyde 2.5%) นาน 60 นาที
5) ล้างตัวอย่างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลีน (Phosphate Buffer Saline; PBS) 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที
6) Dehydration โดยหยด ethyl alcohol 30%, 50%, 70%, 90% Series ละ 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที
7) Dehydration โดยหยด ethyl alcohol ที่ 100% 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที
8) นำตัวอย่างใส่เครื่อง critical point dryer (CPD) นาน 3 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9) นำตัวอย่างใส่ตู้ดูดความชื้น (desiccator)

10) นำตัวอย่างวางบน stub หลังจากนั้นเข้าเครื่องฉาบผิวด้วยทอง (Sputter coater)

11) นำตัวอย่างไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM) ทั้งหมด 20 ตัวอย่าง

3.5.4.2 การเตรียมตัวอย่างส่องผลึกของสารสกัดวัชพืช 3 ชนิด ได้แก่ ชุมเห็ดเทศ ลูกใต้ใบ และหญ้าแห้วหมู

1) ทำการเจือจางสารสกัดวัชพืชทั้ง 3 ชนิดด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethylsulfoxide; DMSO) โดยเลือกใช้อัตราส่วนที่แตกต่างกันคือ 1:1 1:2 และ 1:3

2) หยดสารสกัดในแต่ละอัตราส่วนลงบนเยื่อกรอง

3) นำตัวอย่างใส่ตู้ดูดความชื้น (desiccator)

4) นำตัวอย่างวางบน stub เข้าเครื่องฉาบผิวด้วยทอง (Sputter coater)

5) นำตัวอย่างไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM) ทั้งหมด 9 ตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.5 วิธีการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum inhibition concentration; MIC)

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี dilution test จะเป็นการทดสอบในเชิงปริมาณ เพราะทำให้สามารถทราบค่าความเข้มข้นของสารสกัดจากวัชพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ ซึ่งสามารถใช้ทดสอบเพื่อยืนยันผลจากวิธี Disc diffusion ที่ให้ความไวปานกลางหรือดื้อยาได้ โดย broth dilution test เป็นการทดสอบหาความไวของเชื้อต่อสารสกัดวัชพืชที่ละเอียดวิธีหนึ่ง ซึ่งการทดสอบนี้จะทำให้ทราบผลได้ทั้งค่า MIC และ MBC ของสารสกัดวัชพืชนั้นๆ กับเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ โดยสามารถแบ่งออกได้เป็น Macrodilution test และ Microdilution test โดยในงานวิจัยครั้งนี้ได้คัดเลือกวิธี Microdilution test ซึ่งทำใน microtiter plate 96 well การอ่านค่า MIC ทำได้โดยดูความขุ่นด้วยตาเปล่า ซึ่งต่างจาก Macrodilution test ที่ทำในหลอดทดลองและวิธีวัดความขุ่นต่างกัน

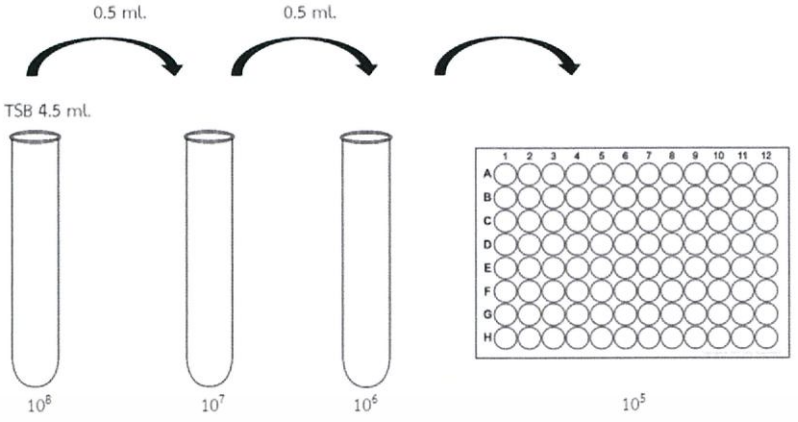
ใช้วิธีอ้างอิงจาก CLSI M7-A9: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically โดยนำวัชพืชทั้ง 10 ชนิด ได้แก่ ชุมเห็ดเทศ ชุมเห็ดไทย ผักตบชวา ผักบุ้งนา ผักเบี้ยหิน ผักแว่น ไมยราบยักษ์ ลูกใต้ใบ ส้มกบ และ หญ้าแห้วหมู มาทดสอบกับแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ซึ่งเป็นการทดสอบหาฤทธิ์ทางชีวภาพในเชิงปริมาณ เป็นการทดลองเบื้องต้นเพื่อหาคุณสมบัติที่เด่นชัดของวัชพืชก่อนคัดเลือกนำออกมาศึกษาด้วยวิธีอื่นๆ ต่อไป

3.5.5.1 การเตรียมตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อ

นำตัวอย่างสารสกัดหยาบวัชพืช (crude extract) ทั้ง 10 ชนิด ละลายด้วยไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethylsulfoxide; DMSO) ในอัตราส่วน 1:1 (กรัมต่อมิลลิลิตร) ในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากัน และนำไปเข้าเครื่องสั่นความถี่สูง (ultrasonic bath) อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที เพื่อให้สารสกัดมีความเป็นเนื้อเดียวกันมากที่สุดก่อนนำไปทำการทดลอง การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) ทำได้โดยการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic Soy Broth (TSB) ใส่หลอดทดลอง หลอดละ 4.5 มิลลิลิตร เพื่อใช้สำหรับการปรับความขุ่นเชื้อในการทำ MIC โดยค่า O.D. ในช่วง 0.20-0.25 = 10^8 CFU/ml ซึ่งค่าที่ได้มาจากการทำ Growth curve ค่าการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ จากนั้นจึงนำเชื้อที่ปรับความขุ่นได้พอดีมาทำการเจือจางให้ได้ 10^5 CFU/ml ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมต่อการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) ตามมาตรฐานกำหนด

3.5.5.2 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

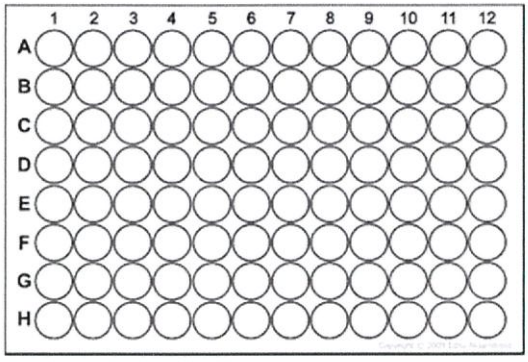


รูปที่ 3.2 รูปภาพแสดงลักษณะการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (Minimum inhibition concentration; MIC)

หลังจากทำการปรับปริมาณของเชื้อแบคทีเรียได้ 10^6 CFU/ml นำอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth (MHB) ที่เตรียมไว้ในหลอดทดลอง 10 มิลลิลิตร เทใส่ลงในถาด (tray) ซึ่งเตรียมไว้สำหรับปรับความเจือจาง โดยใช้ 96 well-plate ละ 2 ตัวอย่างของสารสกัดวัชพืชใน 1 เชื้อ ใช้แถว A B และ C เป็นจำนวน 3 ซ้ำของสารสกัดวัชพืชชนิดแรก และแถว F G และ H เป็นจำนวน 3 ซ้ำของสารสกัดวัชพืชชนิดที่สอง ส่วนแถว E และ F จะใช้เป็นชุดควบคุมเชิงลบ (ไม่มีการใส่เชื้อแบคทีเรีย) ซึ่งในการทดลองหาค่า MIC นี้จะใช้ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethylsulfoxide; DMSO) เป็นชุดควบคุมทั้งหมด (background) เพื่อสังเกตการมีผลของ DMSO ต่อเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ สำหรับใช้ในการยืนยันผลการทดลองนี้

ขั้นตอนแรกสำหรับการทดลอง คือ นำสารสกัดวัชพืชละลายด้วย DMSO ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วผ่านการเข้าเครื่องสั่นความถี่สูงเพื่อให้สารผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ทำการปิเปตสารผสมลงใน 96 well-plate ในแถวที่ 1 และ 2 ปริมาตร 90 ไมโครลิตร จากนั้นนำไมโครปิเปตชนิด 8 หัว ดูดอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB จากถาดอาหารปริมาตร 90 ไมโครลิตร ปิเปตลงใน แถวที่ 2 และทำการผสมโดยการดูดขึ้น-ลง (mix) จากนั้นจึงดูดจากแถวที่ 2 ไป แถวที่ 3 ในปริมาตร 90 ไมโครลิตรเท่าเดิม และดูดอาหาร MHB 90 ไมโครลิตร จากถาดอาหาร ปิเปตลงในแถวที่ 3 และทำการดูดขึ้น-ลง (mix) จากนั้นดูดขึ้นมา 90 ไมโครลิตรจากแถวที่ 3 ใส่ลงในแถวที่ 4 ถัดไปจนครบจนถึงแถวที่ 11 ให้ดูดสารผสมปริมาตร 90 ไมโครลิตรทิ้ง และสำหรับแถวที่ 12 นั้นจะทำการปิเปตอาหาร MHB ปริมาตร 90 ไมโครลิตรเท่านั้น ในขั้นตอนสุดท้ายคือการใส่เชื้อแบคทีเรียลงไปทุกแถว ยกเว้น แถว D และ E ซึ่งเป็นช่องควบคุม จัดทำไว้เพื่อเปรียบเทียบความขุ่นที่ต่างกันระหว่างสารตัวอย่างที่มีเชื้อแบคทีเรียและไม่มีเชื้อแบคทีเรีย โดยใส่เชื้อแบคทีเรียในปริมาตร 10 ไมโครลิตร ซึ่งปริมาณเชื้อในแต่ละหลุมจะเท่ากับ 10^5 CFU/ml และปริมาตรสุดท้ายทั้งหมดใน 96 well-plate จะเท่ากับ 100 ไมโครลิตร นำไปบ่ม 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดจึงสังเกตความขุ่น (turbidity) โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างช่องควบคุมกับช่องของสารสกัดหยาบของตัวอย่างทั้ง 3 ซ้ำ โดยในการทดลองนี้ได้ทำการใช้ 96 well-plate ที่มีคุณสมบัติพิเศษที่เคลือบสารภายในเพื่อป้องกันการตกตะกอนของสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



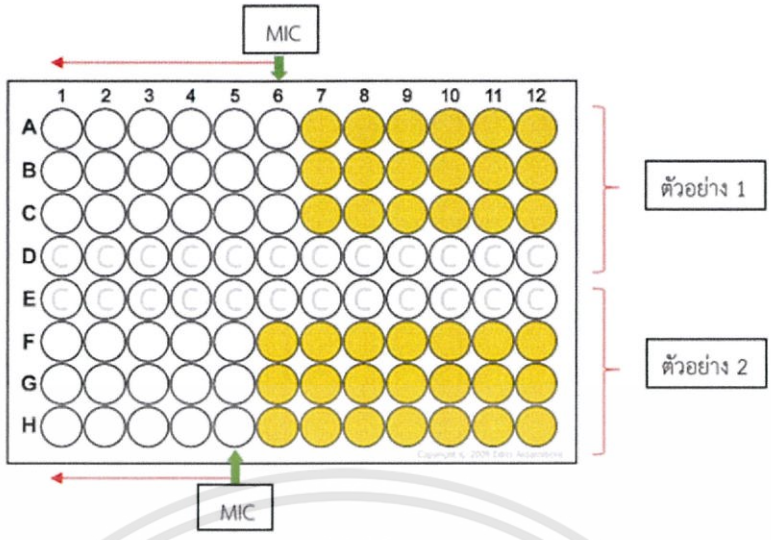
รูปที่ 3.3 รูปภาพแสดงลักษณะ 96 well-plate ที่ใช้ในการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (MIC)

วิธีตรวจสอบผลการทดลอง ทำได้โดยการตรวจสอบแถว A, B, C และ F, G, H ซึ่งเปรียบเทียบกับแถวของ control คือแถว D และ E หากพบว่าที่ความเข้มข้นต่ำสุดของแถว A, B, C และ F, G, H มีความใสเทียบเท่ากับแถวของ control แสดงให้เห็นว่าแถวที่มีความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่แสดงส่วนใส คือ ค่า MIC ดังนั้นสามารถระบุได้ว่าความเข้มข้นดังกล่าวของสารตัวอย่างนั้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ จากนั้นทำการเลือกช่วงความเข้มข้นของสารสกัดทั้งหมดที่มีความใสเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ไปทดสอบด้วยวิธีการหาความเข้มข้นต่ำสุดจากหลอดทดลอง เมื่อนำเชื้อมาเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้ (MBC)

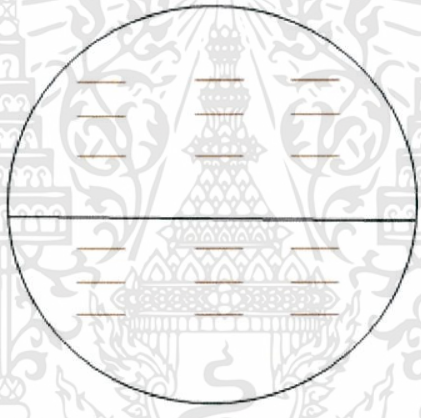
3.5.6 วิธีการหาความเข้มข้นต่ำสุดจากหลอดทดลองที่เมื่อนำเชื้อมาเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้ (Minimum bactericidal Concentration; MBC)

การทดสอบ MBC จะทำต่อเนื่องจากการการหาค่า MIC (ทำจาก broth dilution test) โดยการ subculture เชื้อจาก broth ที่ไม่มีเชื้อขึ้น ตั้งแต่ช่วงค่า MIC ขึ้นไป streak บน agar plate เพื่อเปรียบเทียบได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ซึ่งจากการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เชื้อไม่เจริญในอาหารเหลวนั้นสามารถนำมาหาค่า MBC ได้ โดยเลือกหลุมใน 96 well-plate ที่ไม่มีความขุ่นไปขีดด้วยไม้จิ้มฟันที่ผ่านการฆ่าเชื้อลงบนอาหารแข็ง Tryptic Soy Agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง หากความเข้มข้นของสารสกัดสามารถทำลายเชื้อได้จะไม่พบการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ถ้าเชื้อไม่ถูกทำลายก็จะเกิดการเจริญของเชื้อบนอาหารแข็งตามรอยที่ขีดลงไป สำหรับการอ่านผล สามารถอ่านผลได้โดยรอยขีดของความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรียเกิดขึ้นแสดงให้เห็นว่าเป็นค่า MBC นอกจากนี้ผลการทดลองของ MBC สามารถมีค่าความเข้มข้นเท่ากับค่าผลการทดลอง MIC ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.4 จากรูปด้านบนของตัวอย่างที่ 1 เป็นการคัดเลือกความเข้มข้นของสารตัวอย่างจากการทดสอบหาค่า MIC ไปทำการทดลองหาค่า MBC



รูปที่ 3.5 จากรูปด้านบนของตัวอย่างที่ 1 เป็นการทดลองหาความเข้มข้นต่ำสุดจากหลอดทดลองที่เมื่อนำเชื้อมาเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้ (Minimum bactericidal Concentration; MBC)

จากรูปที่ 3.4 และ 3.5 ตัวอย่างที่ 1 พบว่าแถวที่ 1 ถึง 6 ไม่มีความขุ่นหรือไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย จึงนำมาหาค่า MBC ต่อ โดยขีดเชื้อจาก 6 แถว แถวละ 3 หลุม ไม่รวม control ลงบนอาหารแข็ง TSA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง สังเกตผลการเจริญของเชื้อ หากพบว่าไม่มีการเจริญของเชื้อทั้ง 6 แถว หมายถึง ค่า MIC และ MBC ของสารตัวอย่างที่ 1 มีค่าเท่ากัน หรือสามารถบอกได้ว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ คือ ความเข้มข้นในแถวที่ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.7 วิธีการหาความเข้มข้นต่ำสุดจากหลอดทดลอง เมื่อนำเชื้อมาเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้ (Minimum bactericidal concentration; MBC) ในขนาดที่ใหญ่ขึ้น (MBC Big scale)

ในงานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการทดลองหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ในลักษณะการทดสอบแบบ Macrodilution test ซึ่งทำในหลอดทดลอง โดยความเข้มข้นที่นำมาทดสอบคือความเข้มข้นจากผลของ MBC ที่ได้มาจากการทดสอบด้วยวิธี Microdilution มาก่อน ทำการเลือกช่วงความเข้มข้นของสารสกัดจากวัชพืชที่มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียต่ำ เพื่อขยายช่วงความเข้มข้นให้ได้ค่าความเข้มข้นในช่วงที่ละเอียดและมีความชัดเจนมากยิ่งขึ้น สะดวกต่อการสังเกตความขุ่นด้วยตาเปล่า การเพิ่มขนาดของการทดลองจาก 96 well-plate มาเป็นหลอดทดลอง เริ่มจากการเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ในความเข้มข้นต่ำที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของ DMSO ทำการคำนวณการเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดที่ต้องการ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MHB ในการเจือจางสารสกัด เมื่อได้ความเข้มข้นของสารที่ต้องการ ปิเปตหัวเชื้อแบคทีเรียปริมาตร 10 ไมโครลิตรที่มีการปรับความเจือจางของเชื้อจนถึง 10^7 CFU/ml ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อและสารสกัดตัวอย่างที่ความเข้มข้นแตกต่างกันให้ได้ปริมาตรสุดท้ายในหลอดทดลองเท่ากับ 2 มิลลิลิตร ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างจากหลอดทดลองมาขีด (Steak) ลงบนอาหารแข็ง TSA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด ทำการตรวจสอบผลการทดลองโดยดูจากรอยขีด หากพบว่ารอยขีดที่ความเข้มข้นต่ำสุดไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย สามารถระบุได้ว่าความเข้มข้นบริเวณรอยดังกล่าวเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้หรือเรียกได้ว่า เป็นค่า MBC

3.6 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) โดยมีจำนวนซ้ำ 6 ซ้ำเปรียบเทียบความแตกต่างในแต่ละตัวอย่างด้วยวิธี Tukey's โดยการใช้โปรแกรม Minitab เวอร์ชั่น 16.1 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 สารสกัดหยาบจากพืชที่ใช้ในการทดลอง

สารสกัดหยาบจากวัชพืชจำนวน 10 ชนิด ที่ใช้ในการทดลองได้มาจากตำบลนิลเพชร อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม โดยนำมาผ่านกระบวนการอบแห้งและบดให้เป็นผง จากนั้นนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลร้อยละ 100 ทำให้เข้มข้นโดยการใช้เครื่องระเหยสุญญากาศชนิดหมุน จะได้ปริมาณสารสกัดหยาบเข้มข้นของวัชพืชจำนวน 10 ชนิด

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงปริมาณสารสกัดหยาบเข้มข้นของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด จากการใช้น้ำหนักแห้งจากส่วนต่างๆของวัชพืชที่ 600 กรัม

ชนิดสารสกัดหยาบ	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (กรัม)	อัตราส่วนระหว่างสารสกัดหยาบต่อน้ำหนักแห้ง (กรัมสารสกัดหยาบต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)
ชุมเห็ดเทศ	50.27	0.084
ชุมเห็ดไท	45.73	0.076
ผักตบชวา	41.22	0.069
ผักบุ้งนา	52.77	0.088
ผักเบี้ยหิน	47.91	0.080
ผักแว่น	51.65	0.086
ไมยราบยักษ์	43.72	0.073
ลูกใต้ใบ	53.82	0.088
ส้มกบ	40.54	0.068
หญ้าแห้วหมู	50.27	0.084

4.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจากสารสกัดของวัชพืชจำนวน 10 ชนิดด้วยวิธี Disc diffusion

ในการศึกษาหาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดของวัชพืช เชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 สายพันธุ์ที่นำมาใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบ คือ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Bacillus cereus* TISTR 687, *Enterococcus faecalis* TBRC 1546, *Escherichia coli* ATCC 8739 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ซึ่งวิธีการทดสอบคือ Disc diffusion โดยใช้ความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดจากวัชพืช เพื่อตรวจสอบหาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียในเชิงคุณภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากวัชพืชจำนวน 10 ชนิดที่ความเข้มข้นสูงสุด ร้อยละ 100 พบว่าสารสกัดทั้ง 10 ชนิดที่นำมาทำการทดสอบนั้น มีผลในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 3 สายพันธุ์ แต่ไม่พบความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งในการทดสอบนี้จะเห็นได้ชัดว่ามีสารสกัดจากวัชพืชจำนวน 3 ชนิดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ดี โดยการสังเกตได้จากบริเวณใสที่เกิดขึ้นรอบๆ แผ่นดิสก์ที่มีการบรรจุสารสกัดของตัวอย่างทั้ง 3 ชนิดนั้นไว้ ได้แก่ ชุมเห็ดเทศ ลูกใต้ใบ และหญ้าแห้วหมู โดยพบว่าสารสกัดจากลูกใต้ใบจะเห็นบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*, *B. cereus* และ *E. faecalis* ได้ชัดเจนมากที่สุดตามลำดับ และสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั้งสามชนิดที่รองลงมา ได้แก่ ชุมเห็ดเทศและหญ้าแห้วหมู ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจากสารสกัดหยาบเมทานอลของวัชพืชจำนวน 10 ชนิดที่ความเข้มข้นสูงสุด (ร้อยละ 100) กับเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 สายพันธุ์ ด้วยวิธี Disc diffusion

ชนิดของสาร	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (มิลลิเมตร)				
	S. aureus	*B. cereus*	*E. faecalis*	*E. coli*	*P. aeruginosa*
ชุมเห็ดเทศ	$12.0^{hij} \pm 0.82$	$14.8^{ef} \pm 0.27$	$10.0^{lmnop} \pm 0.89$	S	S
ชุมเห็ดไท	$8.3^{qr} \pm 0.61$	$12.8^{gh} \pm 1.47$	$10.8^{ijklm} \pm 0.98$	S	S
ผักตบชวา	$7.2^{rs} \pm 1.29$	$9.8^{mnopq} \pm 0.26$	$9.3^{nopq} \pm 1.08$	S	S
ผักบุ้งนา	$9.0^{pq} \pm 0.63$	$10.4^{jklmnop} \pm 1.56$	$7.2^{rs} \pm 0.41$	S	S
ผักเบี้ยหิน	S	S	S	S	S
ผักแว่น	$9.4^{nopq} \pm 0.66$	$9.2^{opq} \pm 0.41$	$11.5^{hijkl} \pm 0.84$	S	S
ไมยราบยักษ์	$10.7^{jklmno} \pm 1.72$	$9.8^{mnopq} \pm 1.57$	$10.0^{lmnop} \pm 0.63$	S	S
ลูกใต้ใบ	$17.8^{c} \pm 1.17$	$16.2^{de} \pm 0.88$	$14.3^{fg} \pm 0.82$	S	S
ส้มกบ	$10.1^{klmnop} \pm 1.43$	$11.4^{hijklm} \pm 1.28$	$9.2^{opq} \pm 0.41$	S	S
หญ้าแห้วหมู	$11.2^{ijklm} \pm 1.33$	$11.7^{hijk} \pm 0.60$	$12.4^{hi} \pm 0.80$	S	S
ยาแวนโคมัยซิน	$19.0^{c} \pm 0.63$	$23.1^{a} \pm 0.58$	$17.5^{cd} \pm 0$	-	-
ยาเจนตามัยซิน	-	-	-	$20.7^{b} \pm 0.82$	$24.7^{a} \pm 0.26$
เมทานอล	S	S	S	S	S

เมื่อ a-s มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์และสัญลักษณ์ s หมายถึงไม่มีการเกิดบริเวณยับยั้ง (Clear zone) ขึ้น

หมายเหตุ : ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดิสก์มีค่าเท่ากับ 6 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลจากการทดสอบหาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดของวัชพืช จำนวน 10 ชนิดที่ความเข้มข้นสูงสุด พบว่าสารสกัดทั้ง 10 ชนิดของวัชพืชมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยเชื้อ *S. aureus* จะพบว่ามีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อจากสารสกัดเมทานอลของลูกใต้ใบ ชุมเห็ดเทศและหญ้าแห้วหมูดีที่สุด คือ 17.8 12.0 และ 11.2 มิลลิเมตร ตามลำดับ เชื้อ *B. cereus* พบว่ามีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อจากสารสกัดเมทานอลของลูกใต้ใบ ชุมเห็ดเทศ ชุมเห็ดไทและหญ้าแห้วหมูดีที่สุด คือ 16.2 14.8 12.8 และ 11.7 มิลลิเมตร ตามลำดับ เชื้อ *E. faecalis* พบว่ามีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อจากสารสกัดเมทานอลของลูกใต้ใบ หญ้าแห้วหมู ผักแว่นและชุมเห็ดเทศดีที่สุด คือ 14.3 12.4 11.5 และ 10.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Babatunde S.K และคณะ (2014) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านจุลชีพจากสารสกัดหยาบของลูกใต้ใบกับเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของมนุษย์ ในการทดลองนี้ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย จากนั้นทำการทดสอบสารสกัดกับเชื้อแบคทีเรียได้แก่ *S. aureus* และ *E. faecalis* ด้วยวิธี Agar diffusion และ Broth dilution จากการทดลองพบว่าการเจริญของเชื้อแบคทีเรียถูกยับยั้งได้ที่ความเข้มข้นของสารสกัดจากลูกใต้ใบที่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและพบว่าความเข้มข้นมีความแปรผกผันกับการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดจากลูกใต้ใบมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านจุลชีพในลำไส้ได้ และรายงานวิจัยของ ศิริวัฒณา (2014) ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาถึงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมู ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* TISTR1466 ด้วยวิธี Disc diffusion พบว่าที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมู สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้โดยมีขนาดเฉลี่ยของพื้นที่ยับยั้งการเจริญคือ 6.89 มิลลิเมตร นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากชุมเห็ดเทศของ Alalor และคณะ (2012) ทำการศึกษาหาฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยสารสกัดจากน้ำและเมทานอลของใบชุมเห็ดเทศสามารถตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้โดยการทดสอบสารสกัดกับเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *S. aureus* ด้วยวิธี Agar plate cup จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าพืชชนิดนี้สามารถใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *S. aureus* ได้

สำหรับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ใช้ในการทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion จากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด ไม่พบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง *E. coli* และ *P. aeruginosa* ซึ่งจากผลการทดลองที่เกิดขึ้น อาจเกิดได้จากความเข้มข้นของสารมากเกินไปจึงส่งผลให้การแพร่หรือการกระจายตัวของสารสกัดมีการเคลื่อนที่ไม่ดีพอ จึงทำให้ไม่เกิดผลการยับยั้งในเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ

ซึ่งจากการทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion เป็นการทดสอบผลการทดลองในเชิงคุณภาพเพื่อต้องการทราบว่าสารสกัดจากวัชพืชทั้ง 10 ชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ จึงเป็นเพียงแนวทางเบื้องต้นในการคัดแยกสารสกัดเท่านั้น จำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องนำสารสกัดทั้ง 10 ชนิดไปทำการทดสอบในเชิงปริมาณเพื่อตรวจสอบว่าสารสกัดทั้ง 10 ชนิดจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญแบคทีเรียได้และสามารถระบุความเข้มข้นที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

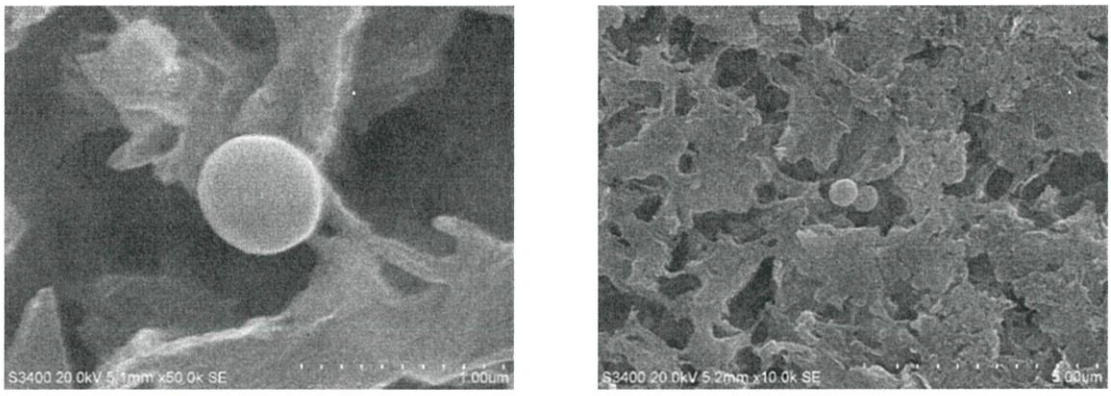
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการศึกษารูปร่างที่เปลี่ยนแปลงไปทั้งก่อนและหลังการได้รับสารสกัดจากวัชพืชของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM)

จากผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดของวัชพืชจำนวน 10 ชนิดด้วยวิธี Disc diffusion ซึ่งเป็นการศึกษาผลการทดลองในเชิงคุณภาพนั้น ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบเมทานอลของวัชพืชจำนวน 10 ชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ โดยเฉพาะสารสกัดเมทานอลของลูกใต้ใบ ชุมเห็ดเทศและหญ้าแห้วหมู มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวกได้ดี นอกจากนี้การทดลองด้วยวิธี Disc diffusion แสดงผลให้เห็นว่าไม่เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบจากสารสกัดจากวัชพืชทั้ง 10 ชนิด ในการศึกษาผลการทดลองเชิงคุณภาพ จึงทำการนำสารสกัดจากวัชพืชทั้ง 3 ชนิดที่มีฤทธิ์สูงในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย มาทำการทดลองต่อด้วยการศึกษารูปร่างที่เปลี่ยนแปลงไปทั้งก่อนและหลังการได้รับสารสกัดจากวัชพืชของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด

จากผลการศึกษารูปร่างที่เปลี่ยนแปลงไปทั้งก่อนและหลังการได้รับสารสกัดจากวัชพืชของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียที่เป็นชนิดควบคุมนั้น จะมีรูปร่างลักษณะของเซลล์ที่ปกติ คือ มีผนังเซลล์เรียบและไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปของรูปร่าง เห็นภาพชัดเจน แต่สำหรับเซลล์แบคทีเรียที่มีการบ่มร่วมกับสารสกัดจากวัชพืชทั้ง 3 ชนิดที่คัดเลือกมานั้น พบว่าผนังเซลล์ของแบคทีเรียจะมีความผิดปกติเกิดขึ้น โดยบริเวณผนังเซลล์แบคทีเรียมีลักษณะบิดเบี้ยวไปจากเดิม ขอบขรุขระ บางตัวเกิดรอยแตก และลักษณะที่เห็นได้ชัด คือ แบคทีเรียที่มีการบ่มร่วมกับสารสกัดของลูกใต้ใบ จะเห็นได้ว่าลักษณะของแบคทีเรียที่ปรากฏขึ้นนั้นจะมีแผ่นฟิล์มเคลือบตัวเซลล์แบคทีเรีย ซึ่งสามารถสันนิษฐานได้ว่าสารสกัดจากลูกใต้ใบมีลักษณะของสารที่เป็นเมือก ดังนั้นสามารถเป็นสารเคลือบผิวของผนังเซลล์แบคทีเรียได้ โดยพบว่าผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกบางชนิดสามารถถูกทำลายได้ด้วยเอ็นไซม์ไลโซไซม์ (lysozyme) และสารจำพวกเมือก นอกจากนี้ยังพบในแบคทีเรียได้อีกหลายชนิด โดยในสารเมือกหรือเอ็นไซม์จะไปย่อยสลายโครงสร้างของผนังเซลล์ จึงทำให้เซลล์แตก และอาจมีสารเคมีบางชนิดไปยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่กำลังเจริญเติบโต มีผลทำให้เกิดเป็นโพรโทพลาสต์ (photoplast) ซึ่งถ้าไม่เลี้ยงไว้ในสภาพที่เหมาะสม เซลล์จะแตกได้ ดังนั้นเมื่อเกิดกระบวนการที่ไม่สามารถสร้างผนังเซลล์หรือเกิดกระบวนการทำลายผนังเซลล์แล้วนั้น จึงทำให้แบคทีเรียอยู่ในสภาวะอ่อนแอและตายในที่สุด (อิสยา และวัชรินทร์, 2551)

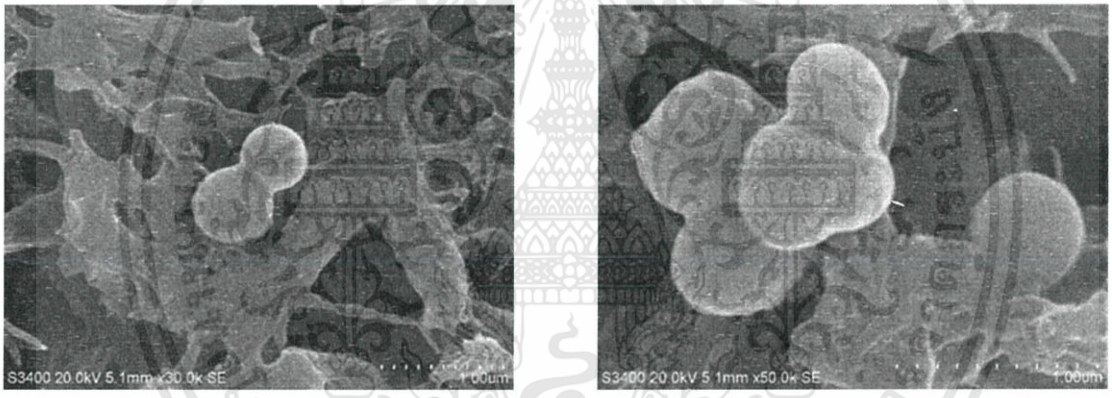
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



A B

รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ซึ่งเป็นเชื้อปกติที่ไม่ได้รับสารสกัด (control)

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 50,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 10,000 เท่า

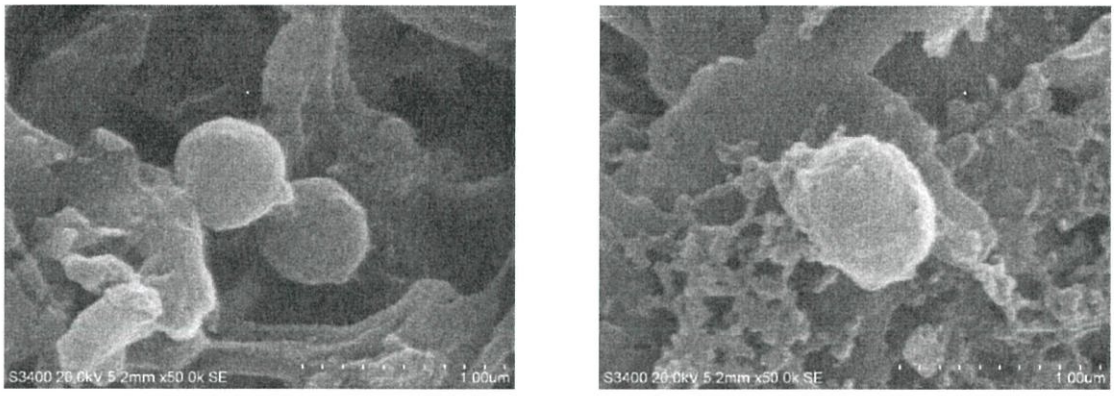


A B

รูปที่ 4.2 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ที่ได้รับสารสกัดของชุมเห็ดเทศที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 30,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 50,000 เท่า

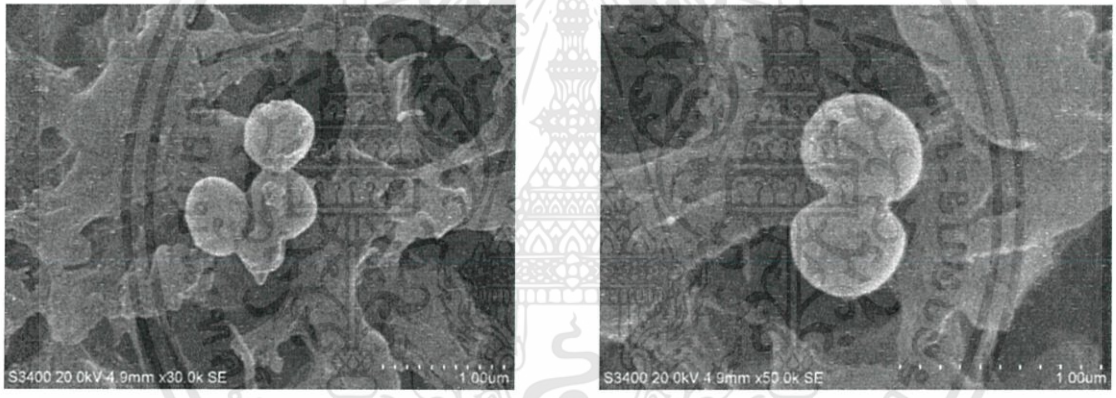
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



A B

รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ที่ได้รับสารสกัดของลูกใต้ใบที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 50,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 50,000 เท่า

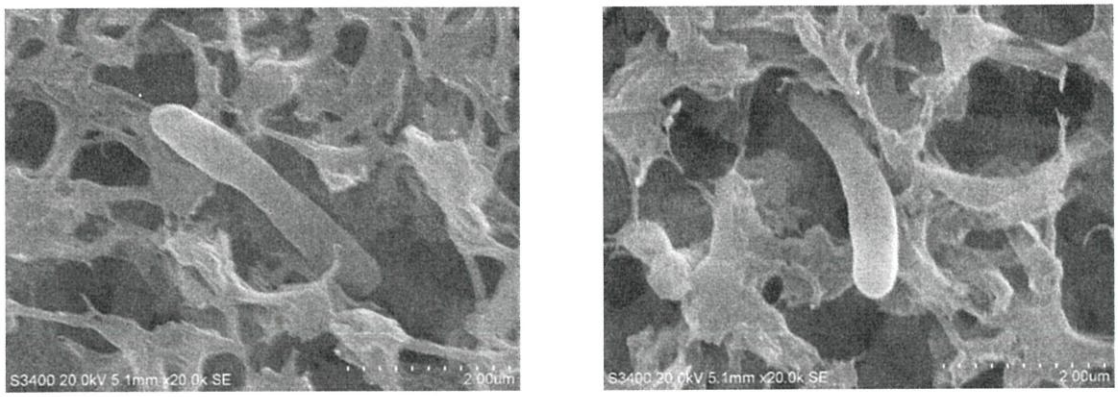


A B

รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ที่ได้รับสารสกัดของหญ้าแห้วหมูที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 30,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 50,000 เท่า

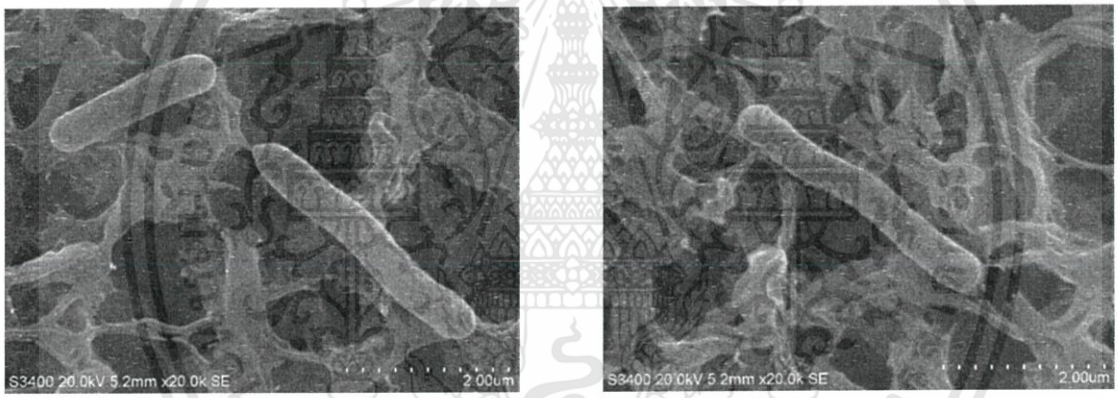
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



A B

รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 ซึ่งเป็นเชื้อปกติที่ไม่ได้รับสารสกัด (control)

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 20,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 20,000 เท่า

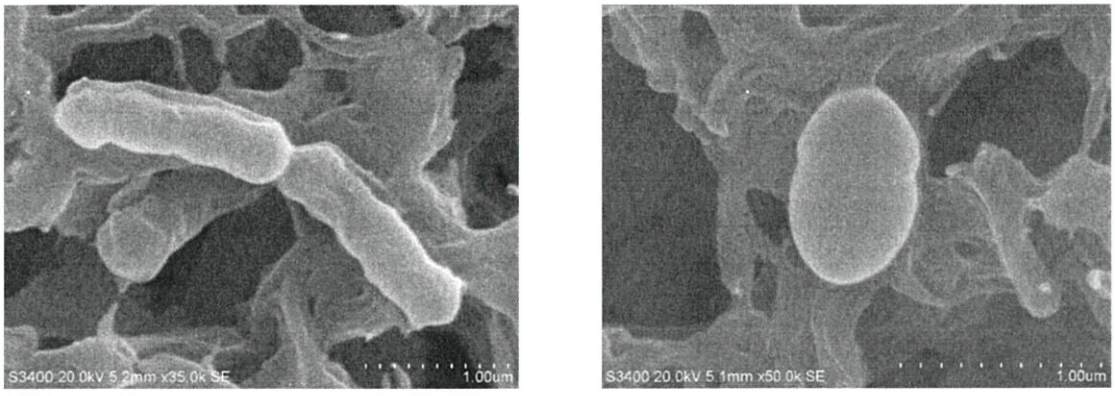


A B

รูปที่ 4.6 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 ที่ได้รับสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 20,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 20,000 เท่า

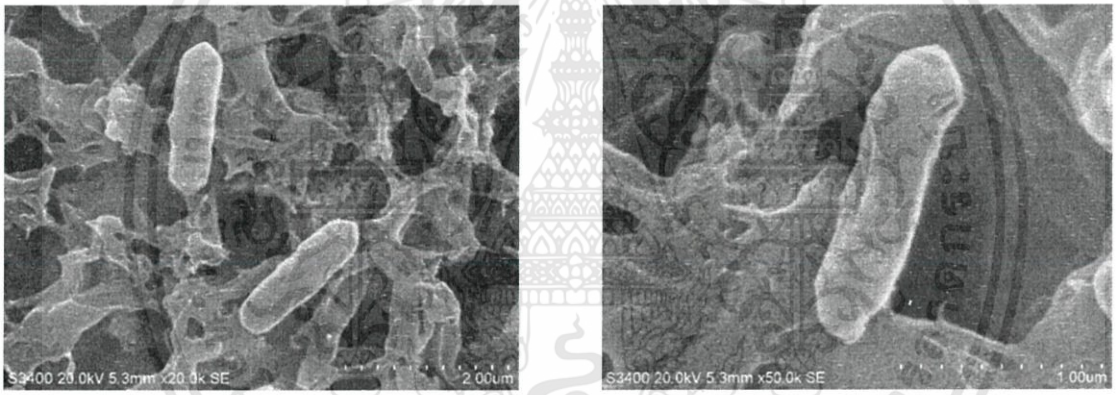
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



A B

รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 ที่ได้รับสารสกัดลูกใต้ใบที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 35,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 30,000 เท่า

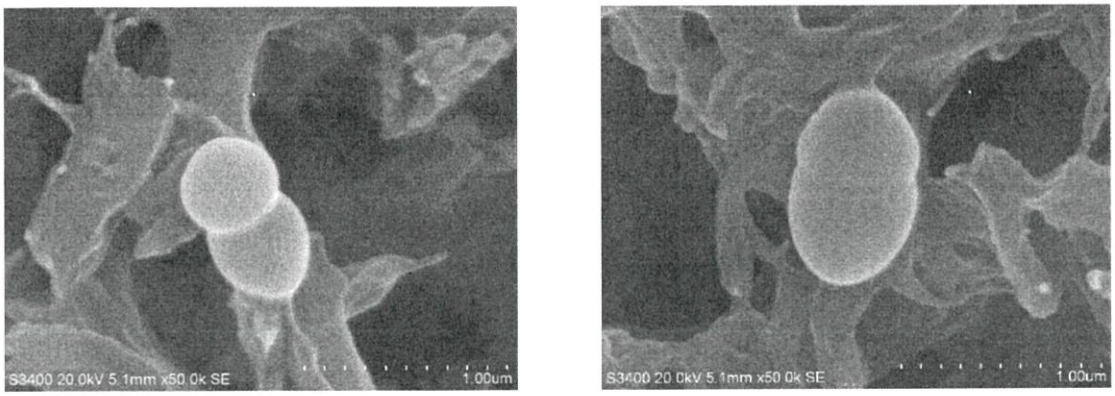


A B

รูปที่ 4.8 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 ที่ได้รับสารสกัดหญ้าแห้วหมูที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 20,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 50,000 เท่า

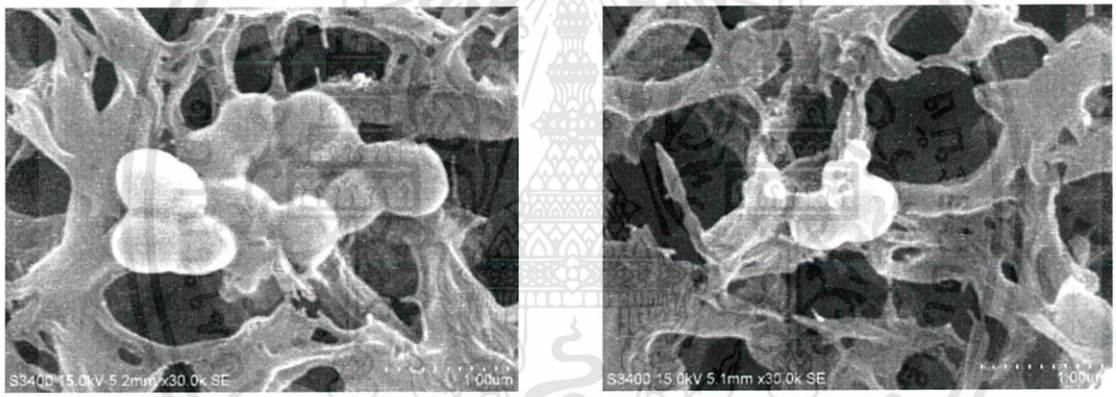
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



A B

รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546 ซึ่งเป็นเชื้อปกติที่ไม่ได้รับสารสกัด (control)

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 50,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 50,000 เท่า

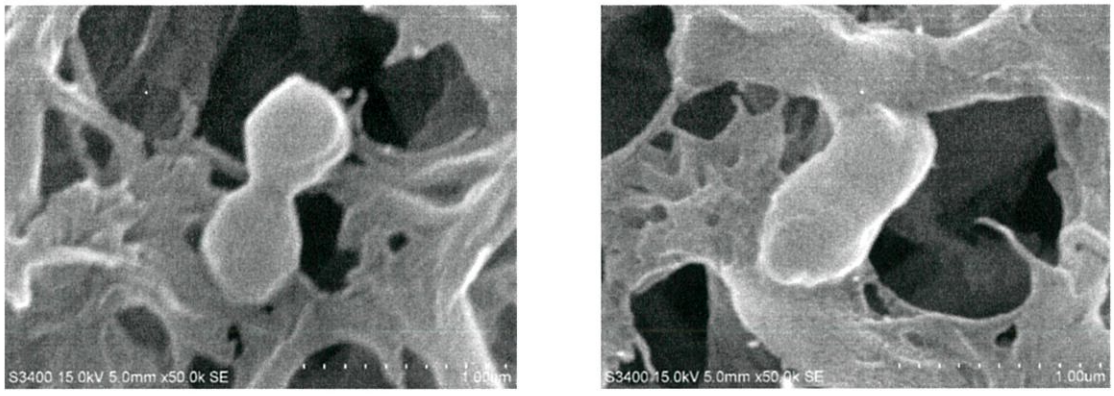


A B

รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546 ที่ได้รับสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 30,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 30,000 เท่า

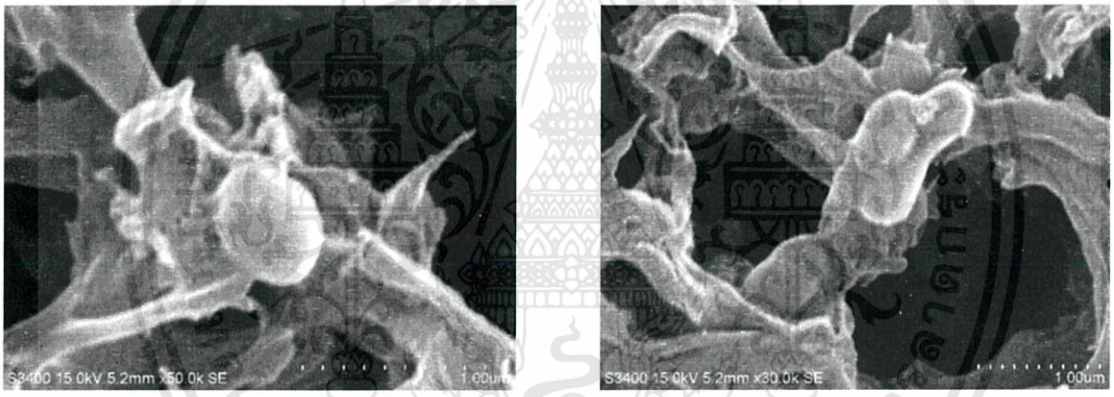
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



A B

รูปที่ 4.11 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546 ที่ได้รับสารสกัดลูกใต้ใบที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 50,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 50,000 เท่า

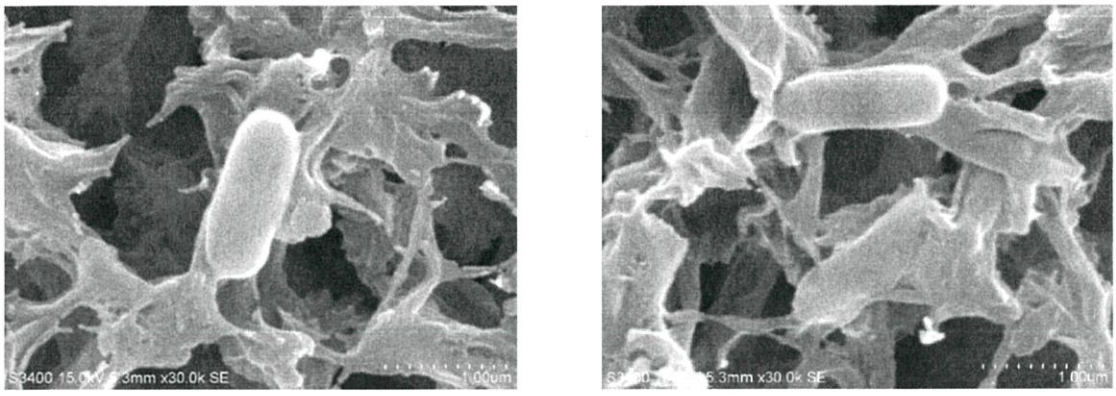


A B

รูปที่ 4.12 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546 ที่ได้รับสารสกัดหญ้าแห้วหมูที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 50,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 30,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

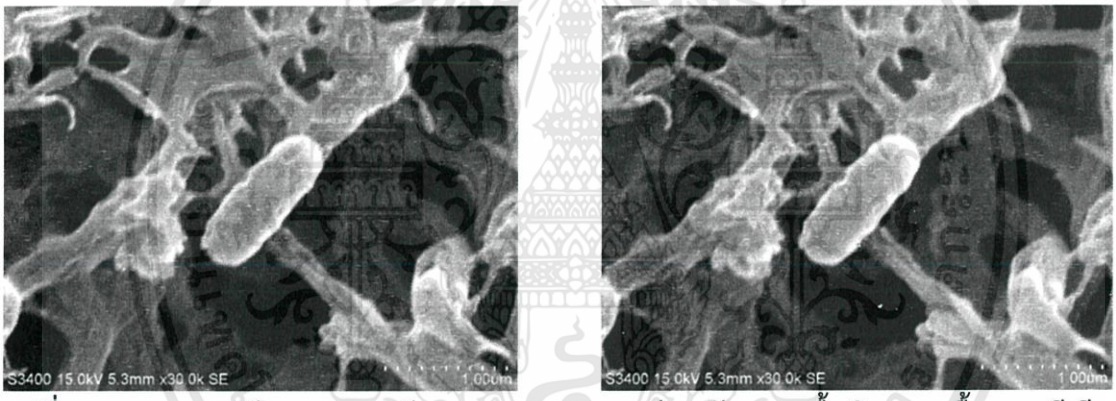


A B

รูปที่ 4.13 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 ซึ่งเป็นเชื้อปกติที่ไม่ได้รับสารสกัด (control)

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 30,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 30,000 เท่า

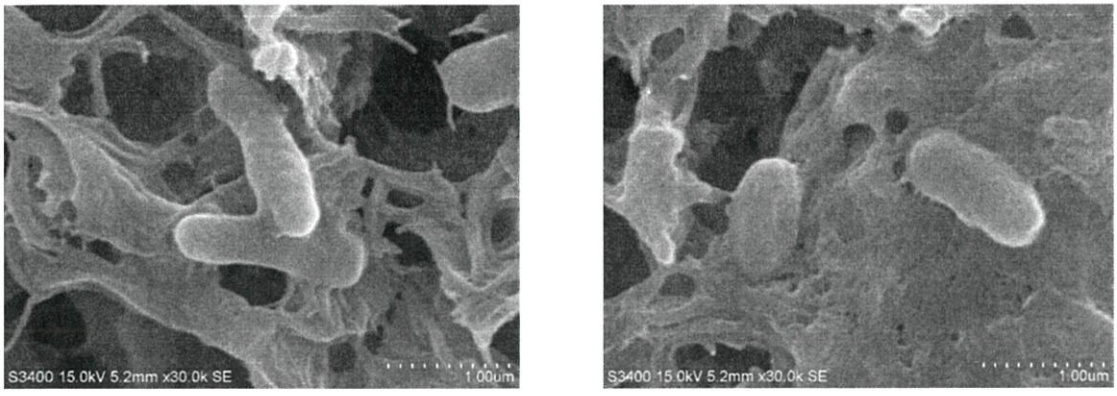
A B



รูปที่ 4.14 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 ที่ได้รับสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 30,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 30,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

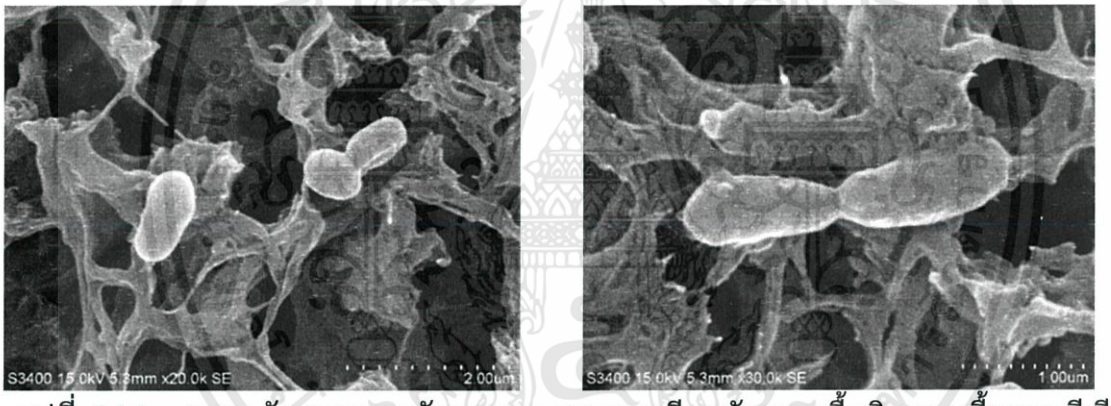


A B

รูปที่ 4.15 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 ที่ได้รับสารสกัดลูกใต้ใบที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 30,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 30,000 เท่า

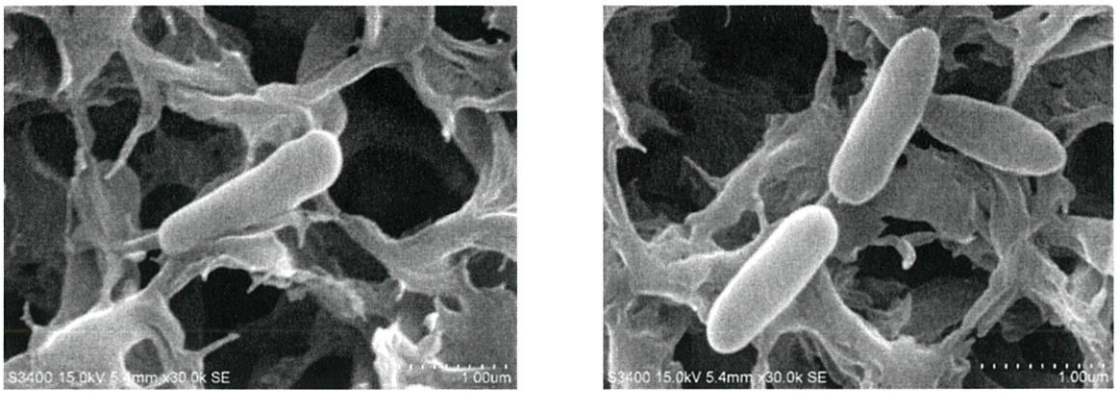
A B



รูปที่ 4.16 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 ที่ได้รับสารสกัดหญ้าแห้วหมูที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 20,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 30,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

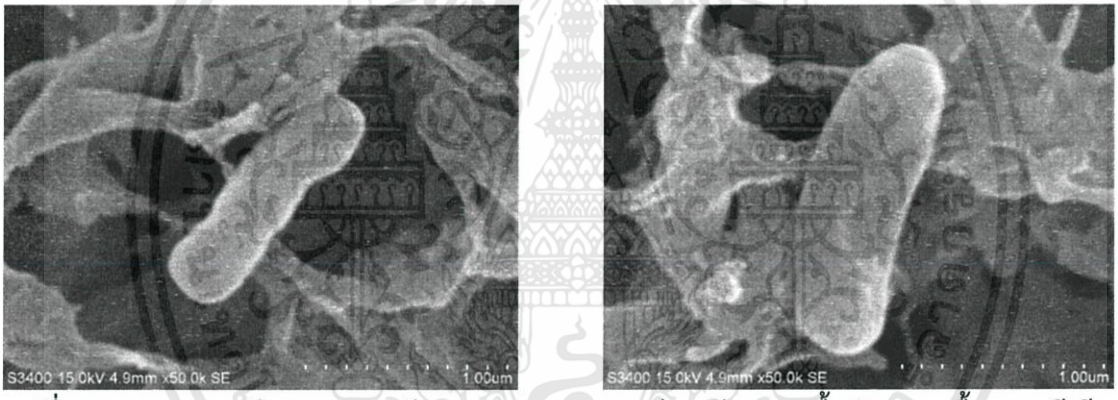


A B

รูปที่ 4.17 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ซึ่งเป็นเชื้อปกติที่ไม่ได้รับสารสกัด (control)

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 30,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 30,000 เท่า

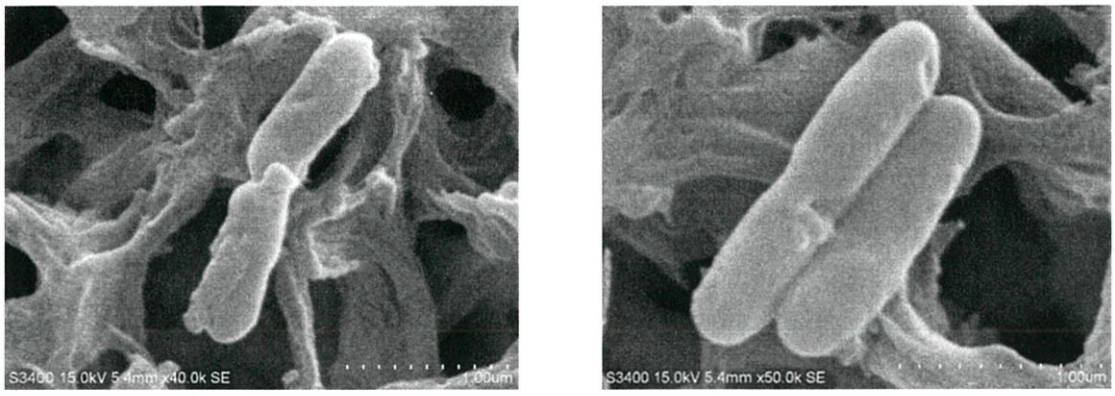
A B



รูปที่ 4.18 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ที่ได้รับสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 50,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 50,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



A B

รูปที่ 4.19 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ที่ได้รับสารสกัดลูกใต้ใบที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 40,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 50,000 เท่า

A B

รูปที่ 4.20 แสดงลักษณะทางสัณฐานและรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ที่ได้รับสารสกัดหญ้าแห้วหมูที่ความเข้มข้นร้อยละ 100

หมายเหตุ: A เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 40,000 เท่า
B เป็นรูปภาพแสดงที่กำลังขยายสูงสุด 45,000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum inhibition concentration; MIC)

วัชพืชจำนวน 10 ชนิดเมื่อนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลและทำการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นในหน่วย มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.3 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P

ค่า Minimum inhibition concentration (MIC) ของ *S. aureus*												
สารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)											
	1000	500	250	125	62.50	31.25	15.63	7.81	3.90	1.90	0.95	0.48
ชุมเห็ดเทศ								X				
ชุมเห็ดไท					X							
ผักตบชวา					X							
ผักบุ้งนา					X							
ผักเบี้ยหิน						X						
ผักแว่น					X							
ไมยราบยักษ์							X					
ลูกใต้ใบ								X				
ส้มกบ						X						
หญ้าแห้วหมู									X			

จากตารางที่ 4.3 สามารถอธิบายข้อมูลในตารางได้ ดังนี้ สารสกัดชุมเห็ดเทศและสารสกัดลูกใต้ใบเมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *S. aureus* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดชุมเห็ดไท สารสกัดผักตบชวา สารสกัดผักแว่นและสารสกัดผักบุ้งนาเมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *S. aureus* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดผักเบี้ยหินและสารสกัดส้มกบเมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *S. aureus* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสารสกัดไมยราบยักษ์เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *S. aureus* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดหญ้าแห้วหมูเมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *S. aureus* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 3.90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการอธิบายข้างต้นพบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่ำสุดในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีค่าที่ดีที่สุดคือ สารสกัดหญ้าแห้วหมูมีค่า MIC เท่ากับ 3.90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาได้แก่ สารสกัดลูกใต้ใบและสารสกัดชุมเห็ดเทศ มีค่า MIC เท่ากับ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.4 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687

ค่า Minimum inhibition concentration (MIC) ของ *B. cereus*												
สารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)											
	1000	500	250	125	62.5	31.25	15.63	7.81	3.90	1.90	0.95	0.48
ชุมเห็ดเทศ							X					
ชุมเห็ดไท					X							
ผักตบชวา					X							
ผักบุ้งนา				X								
ผักเบี้ยหิน				X								
ผักแว่น					X							
ไมยราบยักษ์					X							
ลูกใต้ใบ								X				
ส้มกบ							X					
หญ้าแห้วหมู									X			

จากตารางที่ 4.4 สามารถอธิบายข้อมูลในตารางได้ ดังนี้ สารสกัดชุมเห็ดเทศและสารสกัดส้มกบเมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *B. cereus* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดชุมเห็ดไท สารสกัดผักตบชวา สารสกัดผักแว่นและสารสกัดไมยราบยักษ์ เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *B. cereus* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดผักบุ้งนาและสารสกัดผักเบี้ยหินเมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *B. cereus* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสารสกัดลูกใต้ใบ เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *B. cereus* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหญ้าแห้วหมู เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *B. cereus* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 3.90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการอธิบายข้างต้นพบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ที่ความเข้มข้นต่ำสุดในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีค่าที่ดีที่สุดคือ สารสกัดหญ้าแห้วหมูมีค่า MIC เท่ากับ 3.90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาได้แก่สารสกัดลูกใต้ใบมีค่า MIC เท่ากับ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดชุมเห็ดเทศและสารสกัดส้มกบมีค่า MIC เท่ากับ 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546

ค่า Minimum inhibition concentration (MIC) ของ *E. faecalis*												
สารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)											
	1000	500	250	125	62.5	31.25	15.63	7.81	3.90	1.90	0.95	0.48
ชุมเห็ดเทศ							X					
ชุมเห็ดไท					X							
ผักตบชวา					X							
ผักบุ้งนา				X								
ผักเบี้ยหิน				X								
ผักแว่น						X						
ไมยราบยักษ์						X						
ลูกใต้ใบ							X					
ส้มกบ						X						
หญ้าแห้วหมู							X					

จากตารางที่ 4.5 สามารถอธิบายข้อมูลในตารางได้ ดังนี้ สารสกัดชุมเห็ดเทศ สารสกัดลูกใต้และสารสกัดหญ้าแห้วหมู เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *E. faecalis* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 15.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดชุมเห็ดไทและสารสกัดผักตบชวาเมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *E. faecalis* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสารสกัดผักบุ้งนาและสารสกัดผักเบี้ยหินเมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *E. faecalis* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดผักแว่น สารสกัดไมยราบยักษ์และสารสกัดส้มกบเมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *E. faecalis* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการอธิบายข้างต้นพบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E. faecalis* ที่ความเข้มข้นต่ำสุดในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีค่าที่ดีที่สุดคือ สารสกัดชุมเห็ดเทศสารสกัดลูกใต้ใบและสารสกัดหญ้าแห้วหมู ซึ่งมีค่าเท่ากันทั้งหมดเท่ากับ 15.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739

ค่า Minimum inhibition concentration (MIC) ของ *E. coli*												
สารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)											
	1000	500	250	125	62.5	31.25	15.63	7.81	3.90	1.90	0.95	0.48
ชุมเห็ดเทศ						X						
ชุมเห็ดไท				X								
ผักตบชวา					X							
ผักบุ้งนา				X								
ผักเบี้ยหิน				X								
ผักแว่น					X							
ไมยราบยักษ์					X							
ลูกใต้ใบ							X					
ส้มกบ							X					
หญ้าแห้วหมู					X							

จากตารางที่ 4.6 สามารถอธิบายข้อมูลในตารางได้ ดังนี้ สารสกัดชุมเห็ดเทศ เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *E. coli* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดชุมเห็ดไท สารสกัดผักบุ้งนาและสารสกัดผักเบี้ยหิน เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *E. coli* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสารสกัดผักตบชวา สารสกัดผักแว่น สารสกัดไมยราบยักษ์และสารสกัดหญ้าแห้วหมู เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *E. coli* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดลูกใต้ใบและสารสกัดส้มกบ เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *E. coli* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 15.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการอธิบายข้างต้นพบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ที่ความเข้มข้นต่ำสุดในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีค่าที่ดีที่สุดคือ สารสกัดลูกใต้ใบและสารสกัดส้มกบมีค่า MIC เท่ากับ 15.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดชุมเห็ดเทศมีค่า MIC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยพบว่าค่าที่ได้นั้นมีค่าความเข้มข้นสูงกว่าในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวก

จากตารางที่ 4.7 สามารถอธิบายข้อมูลในตารางได้ ดังนี้ สารสกัดชุมเห็ดเทศ สารสกัดไมยราบยักษ์และสารสกัดส้มกบ เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *P. aeruginosa* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดชุมเห็ดไท สารสกัดผักบุ้งนาและสารสกัดหญ้าแห้วหมู เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *P. aeruginosa* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสารสกัดผักตบชวา สารสกัดผักแว่นและสารสกัดลูกใต้ใบ เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *P. aeruginosa* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดผักเบี้ยหินเมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดต่อเชื้อ *P. aeruginosa* พบว่ามีค่า MIC เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการอธิบายข้างต้นพบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ที่ความเข้มข้นต่ำสุดในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีค่าที่ดีที่สุดคือ สารสกัดชุมเห็ดเทศ สารสกัดไมยราบยักษ์ และสารสกัดส้มกบ ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 15.62 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.7 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

ค่า Minimum inhibition concentration (MIC) ของ *P. aeruginosa*												
สารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)											
	1000	500	250	125	62.5	31.25	15.63	7.81	3.90	1.90	0.95	0.48
ชุมเห็ดเทศ							X					
ชุมเห็ดไท				X								
ผักตบชวา						X						
ผักบุ้งนา				X								
ผักเบี้ยหิน					X							
ผักแว่น						X						
ไมยราบยักษ์							X					
ลูกใต้ใบ						X						
ส้มกบ							X					
หญ้าแห้วหมู				X								

จากการทดลองหาค่า MIC ที่มีฤทธิ์ดีในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ พบว่าสารสกัดจากหญ้าแห้วหมูมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ที่ค่า MIC เท่ากับ 3.90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดจากหญ้าแห้วหมูมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* ที่ค่า MIC เท่ากับ 3.90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ ลูกใต้ใบและหญ้าแห้วหมูมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E. faecalis* ที่ค่า MIC เท่ากับ 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสารสกัดจากลูกใต้ใบและส้มกบมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ที่ค่า MIC เท่ากับ 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ ไมยราบยักษ์และส้มกบมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *P. aeruginosa* ที่ค่า MIC เท่ากับ 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นต่ำสุดจากหลอดทดลอง ที่เมื่อนำเชื้อมาเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้ (Minimum bactericidal concentration; MBC)

วัชพืชจำนวน 10 ชนิดเมื่อนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล และทำการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่เมื่อนำเชื้อมาเพาะลงในจานอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ โดยวิธีนี้เป็นการยืนยันผลของวิธี MIC เพื่อให้ได้ค่าความเข้มข้นที่ถูกต้องที่สุด ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นในหน่วย มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.8 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่มีความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*												
สารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)											
	1000	500	250	125	62.5	31.25	15.63	7.81	3.90	1.90	0.95	0.48
ชุมเห็ดเทศ						X						
ชุมเห็ดไท				X								
ผักตบชวา			X									
ผักบุ้งนา					X							
ผักเบี้ยหิน					X							
ผักแว่น			X									
ไมยราบยักษ์							X					
ลูกใต้ใบ							X					
ส้มกบ					X							
หญ้าแห้วหมู								X				

จากตารางที่ 4.8 สามารถอธิบายข้อมูลในตารางได้ ดังนี้ สารสกัดชุมเห็ดเทศ เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดชุมเห็ดไท เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดผักตบชวาและสารสกัดผักแว่นเมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสารสกัดผักบุ้งนา สารสกัดผักเบี้ยหิน สารสกัดไมยราบยักษ์ และสารสกัดส้มกบ เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดลูกใต้ใบเมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทำลายเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สุดท้ายสารสกัดหญ้าแห้วหมู เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการอธิบายข้างต้นพบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ที่ความเข้มข้นต่ำสุดในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีค่าที่ดีที่สุดคือ สารสกัดหญ้าแห้วหมูมีค่า MBC เท่ากับ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาได้แก่ สารสกัดลูกใต้ใบและสารสกัดไมยราบยักษ์ สารสกัดผักบุ้งนาและสารสกัดผักเบี้ยหิน มีค่า MBC เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.9 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่มีความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus*												
สารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)											
	1000	500	250	125	62.50	31.25	15.63	7.81	3.90	1.90	0.95	0.48
ชุมเห็ดเทศ					X							
ชุมเห็ดไท				X								
ผักตบชวา				X								
ผักบุ้งนา			X									
ผักเบี้ยหิน			X									
ผักแว่น			X									
ไมยราบยักษ์			X									
ลูกใต้ใบ						X						
ส้มกบ				X								
หญ้าแห้วหมู						X						

จากตารางที่ 4.9 สามารถอธิบายข้อมูลในตารางได้ ดังนี้ สารสกัดชุมเห็ดเทศ เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดชุมเห็ดไท สารสกัดผักตบชวาและสารสกัดส้มกบ เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสารสกัดผักบุ้งนา สารสกัดผักเบี้ยหิน สารสกัดผักแว่นและสารสกัดไมยราบยักษ์ เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดลูกใต้ใบและสารสกัดหญ้าแห้วหมู เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการอธิบายข้างต้นพบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* ที่ความเข้มข้นต่ำสุดในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีค่าที่ดีที่สุดคือ สารสกัดลูกใต้ใบและสารสกัดหญ้าแห้วหมู มีค่า MBC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาได้แก่ สารสกัดชุมเห็ดเทศ มีค่า MBC เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.10 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่มีความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis*												
สารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)											
	1000	500	250	125	62.50	31.25	15.63	7.81	3.90	1.90	0.95	0.48
ชุมเห็ดเทศ		X										
ชุมเห็ดไท		X										
ผักตบชวา			X									
ผักบุ้งนา			X									
ผักเบี้ยหิน		X										
ผักแว่น		X										
ไมยราบยักษ์		X										
ลูกใต้ใบ		X										
ส้มกบ		X										
หญ้าแห้วหมู			X									

จากตารางที่ 4.10 สามารถอธิบายข้อมูลในตารางได้ ดังนี้ สารสกัดชุมเห็ดเทศ สารสกัดชุมเห็ดไท สารสกัดผักเบี้ยหิน สารสกัดผักแว่น สารสกัดไมยราบยักษ์ สารสกัดลูกใต้ใบและสารสกัดส้มกบ เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดผักตบชวา สารสกัดผักบุ้งและสารสกัดหญ้าแห้วหมู เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการอธิบายข้างต้นพบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis* ที่ความเข้มข้นต่ำสุดในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีค่าที่ดีที่สุดคือ สารสกัดผักตบชวา สารสกัดผักบุ้งนา และสารสกัดหญ้าแห้วหมู มีค่า MBC เท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.11 สามารถอธิบายข้อมูลในตารางได้ ดังนี้ สารสกัดชุมเห็ดเทศและสารสกัดหญ้าแห้วหมู เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดชุมเห็ดไท สารสกัดผักบุ้ง สารสกัดผักเบี้ย สารสกัดผักแว่นและสารสกัดส้มกบ เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสารสกัดผักตบชวาและลูกใต้ใบ เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E.coli* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดไมยราบยักษ์เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการอธิบายข้างต้นพบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ที่ความเข้มข้นต่ำสุดในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีค่าที่ดีที่สุดคือ สารสกัดไมยราบยักษ์ มีค่า MBC เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาได้แก่ สารสกัดชุมเห็ดเทศและสารสกัดหญ้าแห้วหมู มีค่า MBC เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.11 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่มีความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*												
สารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)											
	1000	500	250	125	62.50	31.25	15.63	7.81	3.90	1.90	0.95	0.48
ชุมเห็ดเทศ				X								
ชุมเห็ดไท			X									
ผักตบชวา		X										
ผักบุ้งนา			X									
ผักเบี้ยหิน			X									
ผักแว่น			X									
ไมยราบยักษ์					X							
ลูกใต้ใบ		X										
ส้มกบ			X									
หญ้าแห้วหมู				X								

จากตารางที่ 4.12 สามารถอธิบายข้อมูลในตารางได้ ดังนี้ สารสกัดชุมเห็ดเทศ สารสกัดผักตบชวาและสารสกัดผักแว่น เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดชุมเห็ดไท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดผักเบี้ยหิน สารสกัดไมยราบยักษ์และสารสกัดหญ้าแห้วหมู เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดผักบุ้งนา สารสกัดลูกใต้ใบและสารสกัดจากส้มกบ เมื่อทดสอบความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* พบว่ามีค่า MBC เท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการอธิบายข้างต้นพบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ที่ความเข้มข้นต่ำสุดในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีค่าที่ดีที่สุดคือ สารสกัดชุมเห็ดไท สารสกัดผักเบี้ยหิน สารสกัดไมยราบยักษ์และสารสกัดหญ้าแห้วหมู มีค่า MBC เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.12 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่มีความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa*												
สารสกัด	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)											
	1000	500	250	125	62.50	31.25	15.63	7.81	3.90	1.90	0.95	0.48
ชุมเห็ดเทศ		X										
ชุมเห็ดไท				X								
ผักตบชวา		X										
ผักบุ้งนา			X									
ผักเบี้ยหิน				X								
ผักแว่น		X										
ไมยราบยักษ์				X								
ลูกใต้ใบ			X									
ส้มกบ			X									
หญ้าแห้วหมู				X								

จากการทดลองหาค่า MBC ที่มีฤทธิ์ดีในการทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ พบว่าสารสกัดจากหญ้าแห้วหมูมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *S. aureus* ที่ค่า MBC เท่ากับ 7.80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดจากลูกใต้ใบและหญ้าแห้วหมูมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *B. cereus* ที่ค่า MBC เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากผักตบชวา ผักบุ้งนาและหญ้าแห้วหมูมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E. faecalis* ที่ค่า MBC เท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสารสกัดจากไมยราบยักษ์มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *E. coli* ที่ค่า MBC เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดจากชุมเห็ดไท ผักเบี้ยหิน ไมยราบยักษ์และหญ้าแห้วหมูมีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *P. aeruginosa* ที่ค่า MBC เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4.6 ผลการหาความเข้มข้นต่ำสุดจากหลอดทดลอง ที่เมื่อนำเชื้อมาเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้ (Minimum bactericidal concentration; MBC) ในขนาดที่ใหญ่ขึ้น (MBC Big scale)

จากผลการวิเคราะห์ในเบื้องต้นสำหรับการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชจำนวน 10 ชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญ (MIC) และทำลายเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ได้นั้น เป็นการหาช่วงความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญและการทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ ซึ่งในการวิเคราะห์ผลจากการทดลองทั้ง 2 วิธีข้างต้น จะเห็นได้ว่า มีสารสกัดจากวัชพืชจำนวน 3 ชนิดจาก 10 ชนิด ที่มีความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ได้ดีที่ความเข้มข้นต่ำกว่าสารสกัดชนิดอื่นๆ ซึ่งสารสกัดจากวัชพืชทั้ง 3 ชนิดนั้น ได้แก่ ชุมเห็ดเทศ ลูกใต้ใบและหญ้าแห้วหมู จากผลการทดลองหาค่า MIC และ MBC มีความสอดคล้องมาจากผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจากสารสกัดของวัชพืชจำนวน 10 ชนิดด้วยวิธี Disc diffusion ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากวัชพืชจำนวน 3 ชนิดนี้ให้ผลที่ดีในการทดลองดังกล่าว ดังนั้นจึงได้ทำการคัดเลือกสารสกัดจากวัชพืชทั้ง 3 ชนิดนี้ มาทำการศึกษาหาความเข้มข้นต่ำสุดจากหลอดทดลอง ที่เมื่อนำเชื้อมาเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียในขนาดที่ใหญ่ขึ้นแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้ เพื่อเป็นการทดสอบหาความเข้มข้นที่แน่ชัดในการนำไปใช้งานในภายภาคหน้าต่อไป โดยการนำช่วงความเข้มข้นระหว่างค่า MBC ที่ได้จากการเพาะเชื้อแบคทีเรียลงในจานอาหารแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้ (สเกลเล็ก) มากระจายความเข้มข้นให้ครอบคลุม เพื่อให้ความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้มีความชัดเจนมากยิ่งขึ้น

ตารางที่ 4.13 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชจำนวน 3 ชนิดที่มีความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียในขนาดที่ใหญ่ขึ้น (Minimum bactericidal concentration; MBC Big scale)			
เชื้อแบคทีเรีย	ความเข้มข้นของสารสกัดจากวัชพืช (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)		
	ชุมเห็ดเทศ	ลูกใต้ใบ	หญ้าแห้วหมู
S. aureus	40	9.5	6
B. cereus	90	32.5	17.5
E. faecalis	400	300	120
E. coli	180	350	220
P. aeruginosa	160	160	250

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.13 แสดงผลการทดลองหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรียได้ในขนาดที่ใหญ่ขึ้นนั้น พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* มีค่า MBC เท่ากับ 6 9.5 และ 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นของสารสกัดหญ้าแห้วหมู สารสกัดลูกใต้ใบและสารสกัดชุมเห็ดเทศ ตามลำดับ เชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* มีค่า MBC เท่ากับ 17.5 32.5 และ 90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นของสารสกัดหญ้าแห้วหมู สารสกัดลูกใต้ใบและสารสกัดชุมเห็ดเทศ ตามลำดับ เชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis* มีค่า MBC เท่ากับ 120 300 และ 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งเป็นของสารสกัดหญ้าแห้วหมู สารสกัดลูกใต้ใบและสารสกัดชุมเห็ดเทศ ตามลำดับ เชื้อแบคทีเรีย *E. coli* มีค่า MBC เท่ากับ 180 220 และ350 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นของสารสกัดชุมเห็ดเทศ สารสกัดหญ้าแห้วหมูและสารสกัดลูกใต้ใบ ตามลำดับและเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* มีค่า MBC เท่ากับ 160 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดชุมเห็ดเทศและสารสกัดลูกใต้ใบ และความเข้มข้นเท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดหญ้าแห้วหมู

จากผลการทดลองในการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญ (MIC) และทำลายเชื้อแบคทีเรีย (MBC) สามารถระบุได้ว่า สารสกัดที่มีฤทธิ์ดีในการยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อ *S. aureus*, *B. cereus* และ *E. faecalis* เป็นสารชนิดเดียวกัน คือ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมู โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อได้ เท่ากับ 3.90, 6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 3.90, 17.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 15.63, 120 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สำหรับสารสกัด ที่มีฤทธิ์ที่ดีในการยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อ *P. aeruginosa* เป็นสารสกัดชนิดเดียวกัน คือสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ ซึ่งมีความเข้มข้นเท่ากับ 15.63, 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดที่มี ฤทธิ์ที่ดีในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *E. coli* คือสารสกัดจากลูกใต้ใบและส้มกบที่ความเข้มข้นเท่ากับ 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่สารสกัดที่มีฤทธิ์ดีในการทำลายเชื้อ คือ สารสกัดจากชุมเห็ดเทศที่มี ความเข้มข้นเท่ากับ 180 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการทดลองข้างต้นพบว่ามีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Surendra Kumar Sharma และคณะ (2011) โดยสารสกัดของหญ้าแห้วหมูที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* เท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหญ้าแห้วหมูที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* มีค่าเท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งงานวิจัยที่เราได้ทำการศึกษานั้นพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* เท่ากับ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ถึงอย่างไรก็ตาม งานวิจัยที่เราทำการศึกษานั้นได้นำผลไปทดลองต่อโดยการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อได้ และจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อ *E. coli* มีค่าเท่ากับ 240 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพราะจัดอยู่ในช่วงความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยังยั้งและทำลายเชื้อ *E. coli* ระหว่าง 62.5 ถึง 240 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัดหญ้าแห้วหมู นอกจากนี้การทดลองที่เราได้ทำการศึกษาพบว่าสารสกัดหญ้าแห้วหมูออกฤทธิ์ได้ดีกับเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมบวกทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ *S. aureus*, *B. cereus* และ *E. faecalis* ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Soumaya Kilani และคณะ (2008) โดยจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากหญ้าแห้วหมูที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้กับทุกสายพันธุ์ โดยเฉพาะกับแบคทีเรียชนิดแกรมบวกซึ่งมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อและทำลายแบคทีเรียทุกชนิดจากสารสกัดหญ้าแห้วหมูเท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับสารสกัดจากชุมเห็ดเทศเมื่อนำมาทำการทดลองหาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย พบว่ามีความสามารถในการยับยั้งและทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและทำลายเชื้อได้เท่ากับ 7.81-400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Alalor และคณะ (2012) ที่ทำการศึกษาหาฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยสารสกัดจากน้ำและเมทานอลของใบชุมเห็ดเทศ สามารถตรวจสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้โดยการทดสอบสารสกัดดังกล่าวกับเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าพืชชนิดนี้สามารถใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่เกิดจาก *S. aureus* โดยหากต้องการให้ชุมเห็ดเทศมีการออกฤทธิ์ที่ดีต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดแกรมลบอาจทำการสังเคราะห์อนุภาคนาโนเพื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาร ซึ่งอาจช่วยเพิ่มอัตราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดียิ่งขึ้น (Arthanari และคณะ , 2015) ในส่วนของสารสกัดจากลูกใต้ใบเมื่อนำมาทำการทดลองหาฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย พบว่ามีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ เท่ากับ 350 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Babatunde S.K และคณะ (2014) ที่ทำการศึกษาฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์จากสารสกัดหยาบของลูกใต้ใบกับเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ของมนุษย์ โดยทดสอบสารสกัดกับเชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. mirabilis* และ *E. faecalis* จากการทดลองพบว่าการเจริญของเชื้อแบคทีเรียถูกยับยั้งได้ที่ความเข้มข้นของสารสกัดจากลูกใต้ใบที่ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งจากงานวิจัยที่เราทำการศึกษาใช้ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ เท่ากับ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งมีความใกล้เคียงกันกับงานวิจัยของ Babatunde S.K และคณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1. สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาหาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในเชิงคุณภาพ โดยการนำเอาสารสกัดหยาบเมทานอลจากวัชพืชจำนวน 10 ชนิดที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 มาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ คือ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Bacillus cereus* TISTR 687, *Enterococcus faecalis* TBRC 1546, *Escherichia coli* ATCC 8739 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ด้วยวิธี Disc diffusion ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบเมทานอลของวัชพืชทั้ง 10 ชนิด มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทั้ง 3 สายพันธุ์ แต่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ โดยสามารถสรุปผลการทดลองได้ว่า สารสกัดจากลูกใต้ใบมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีที่สุดจากสารสกัดทั้งหมดของวัชพืช ซึ่งสารสกัดจากลูกใต้ใบแสดงให้เห็นบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *B. cereus* และ *E. faecalis* ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 17.80, 16.20 และ 14.30 มิลลิเมตร ตามลำดับ นอกจากสารสกัดจากลูกใต้ใบแล้วยังพบว่ามีสารสกัดอีก 2 ชนิดที่ให้ผลในการยับยั้งการเจริญได้ดีรองลงมา คือ สารสกัดจากชุมเห็ดเทศที่แสดงให้เห็นบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *B. cereus* และ *E. faecalis* ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 12.0, 14.80 และ 10 มิลลิเมตร ตามลำดับ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมูแสดงให้เห็นบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 11.20, 11.70 และ 12.40 มิลลิเมตร ตามลำดับ

นอกจากการศึกษาด้วยวิธี Disc diffusion ในเบื้องต้นแล้วยังมีการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาที่เปลี่ยนแปลงไปทั้งก่อนและหลังการได้รับสารสกัดจากวัชพืชของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning electron microscope; SEM) ซึ่งจากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่คัดเลือกมาทำการทดลองนั้น มีผลกระทบโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงไปของรูปร่างผนังเซลล์แบคทีเรียอย่างเห็นได้ชัดทั้ง 5 สายพันธุ์

สำหรับการศึกษาหาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในเชิงปริมาณ จะใช้วิธีการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและทำลายการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยจากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศในการยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *B. cereus*, *E. faecalis*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* มีค่าเท่ากับ 7.80-40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, 15.63-90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, 15.63-400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, 31.25-180 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ 15.63-160 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ค่าความเข้มเข้มข้นที่ต่ำสุดของสารสกัดจากลูกใต้ใบในการยับยั้งการเจริญและการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *B. cereus*, *E. faecalis*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* มีค่าเท่ากับ 7.80-9.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, 7.80-32.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, 15.63-300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, 15.63-350 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 31.25-160 มิลลิกรัมต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตรและค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมูในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *B. cereus*, *E. faecalis*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* มีค่าเท่ากับ 3.90-6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, 3.90-17.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, 15.625-120 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร, 62.50-220 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ 125-250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยค่าความเข้มข้นที่ได้นั้นสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ครีม, ผ้าปิดแผล ที่เกี่ยวข้องกับการต้านเชื้อแบคทีเรีย โดยจะทำให้ทราบปริมาณสารสกัดอย่างน้อยที่สุดที่สามารถนำไปใช้ในการเติมผลิตภัณฑ์ได้

ดังนั้นทางผู้ทำการวิจัยจึงเห็นความสำคัญของวัชพืชทั้งสามชนิดที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านการแพทย์ได้ในอนาคต โดยอาจต้องทำการศึกษาต่อถึงโครงสร้างและสารออกฤทธิ์สำคัญในสารสกัดทั้งสามชนิด รวมถึงกลไกการออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรีย ซึ่งอาจนำไปสู่การค้นพบองค์ประกอบของสารชีวภาพตัวใหม่ที่สามารถออกฤทธิ์ได้ดีแทนการใช้ยาในปัจจุบัน

5.2. ข้อเสนอแนะ

ในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสารสกัดวัชพืชและเชื้อแบคทีเรีย เพื่อทำการศึกษาผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ควรปรับเวลาในการบ่มตัวอย่างให้เหมาะสม เนื่องจากผู้ทำการทดลองใช้เวลาในการบ่มที่น้อยเกินไป สารสกัดจึงทำปฏิกิริยากับเชื้อได้ไม่เต็มที่ ทำให้การมองเห็นการเสียสภาพทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรียได้ไม่ชัดเจนมากนัก

การนำสารสกัดวัชพืชที่มีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งและทำลายเชื้อแบคทีเรีย ไปวิเคราะห์หาสารออกฤทธิ์ด้วย เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เพื่อศึกษาลักษณะโครงสารของสารประกอบที่พบในสารสกัดวัชพืช

การประยุกต์ใช้สารสกัดวัชพืชทางการแพทย์ เพื่อนำไปทำเป็นยาใช้ภายใน ยาใช้ภายนอก ต้องทำให้สารสกัดมีความบริสุทธิ์ตามวัตถุประสงค์ของการใช้งาน อาจเป็นการเปลี่ยนตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารเป็นเอทานอลแทนการใช้เมทานอลเพื่อความปลอดภัยยิ่งขึ้น และด้านปริมาณการใช้สารสกัดควรใช้ความเข้มข้นที่สูงกว่าค่า MIC ที่ได้จากการทดลอง เนื่องจากสารสกัดอาจเกิดการสูญเสียหรือเสื่อมสภาพในระหว่างกระบวนการผลิตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

โชติอนันต์และกลุ่มสมุนไพรแผนไทย, จรัญ หอมเทียนทอง (ผู้รวบรวม). 2551. ผัก-สมุนไพรไทยใกล้ตัว. กรุงเทพฯ : แสงดาว

โชติอนันต์และคณะ. 2550. รักษาโรคด้วยสมุนไพรใกล้ตัว. กรุงเทพฯ : The Knowledge center.

โชติอนันต์และคณะ. 2553. รักษาโรคด้วยสมุนไพรใกล้ตัว เล่มที่ 2. กรุงเทพฯ : ดวงกมลพับลิชชิ่ง.

ณรงค์ มูลคำ, ดลยา เจริญรัชตพันธุ์ (ผู้รวบรวม). 2553. ปลูกผักพื้นบ้าน อาหาร-ยารักษาโรค. กรุงเทพฯ : Feel good.

ธารธรรมแก้ว เชื้อเมือง, (ผู้รวบรวม). 2544. สมุนไพรสำคัญที่ควรรู้. กรุงเทพฯ : กำแก้ว.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2547. แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : Noble Print.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจและปรีชา สุวรรณพินิจ. 2552. พิมพ์ครั้งที่ 7. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

บัญชา ธนบุญสมบัติและศุภกาญจน์ คำมณี. 2544. จุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนนิงประตูสู่โลกระดับจุลภาค. กรุงเทพฯ : ศูนย์เทคโนโลยีและวัสดุแห่งชาติ.

ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร, พิทัย กาญบุตร และสาธร พรตระกูลพิพัฒน์. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ. ขอนแก่น : คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2551.

ปราณี ทู้ไพเราะ. 2548. พิมพ์ครั้งที่ 2. คู่มือยา. กรุงเทพฯ : L.T. Press

พจนีย์ สุริยะวงศ์. 2537. ความก้าวหน้าของยาและสมุนไพรต้านจุลชีพ. กรุงเทพฯ : ที.พี. พริ้นท์

ภัทรชัย กีรติสิน. 2549. ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์. กรุงเทพฯ : วี.เจ. พริ้นติ้ง.

ภานุทรรศน์. 2544. วิธีนำพืชสมุนไพรมาปรุงยา. กรุงเทพฯ : รุ่งแสงการพิมพ์

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2550. การตรวจสอบและการสกัดแยกสาระสำคัญของสมุนไพร.พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : แอคทีฟ พริ้นท์.

ศิริวัฒณา ลาภหลาย,(ผู้รวบรวม). 2557. การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากต้อยติ่งในการยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus*, วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

สุรีย์ นานาสมบัติ. 2557. หนังสือปฏิบัติการจุลชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อิสรา จันทร์วิทยานุชิตและวัชรินทร์ รังสีภานุรัตน์. 2551. แบคทีเรียทางการแพทย์. กรุงเทพฯ : แอคทีฟ พริ้นท์.

Alalor C.A., Igwilo C.I. and Jeroh E., 2012. Evaluation of the antibacterial properties of aqueous and methanol extracts of *cassia alata*. JPAHS., 2: 40-46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Babatunde S.K, Abubakare A.A, Abdulraheem Y.J and Ajiboye E.A., 2014. Antimicrobial activity of *Phyllanthus amarus* on some human intestinal facultatively anaerobic flora. IJMBR., 3(1) : 52-57

Dhanasekaran Sivaraman, Palayan Muralidaran, S.Shantha Kumar., 2010. Evaluation of Anti-microbial and anti- inflammatory activity of methanol leaf extract of Ipomoea aquatica Forsk. RJPBCS., 2: 258-264

Geethalakshmi R. and Sarada D.V.L., 2013. Evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of essential oil of Trianthema decandra L.. ELSEVIER., 6 : 101-106

Lagnika L, Amoussa AMO and Sanni A., 2014. In vitro antibacterial activity of two medicinal plants used in Bénin to treat microbial infections. IJS., 8(19) : 10-15

Mahavir Joshi and Sandeep Kaur., 2013. In vitro evaluation of antimicrobial activity and phytochemical analysis of *calotropis procera, eichhornia crassipes and datura innoxia leaves.* AJPCR, 6(5) : 25-28

Rajesh Singh Tomar, Vikas Shrivastava and Shuchi Kaushik., 2014. In vitro efficacy of methanolic extract of Mimosa pudica against selected micro-organisms for its broad spectrum antimicrobial activity. IJCMS., 3(4): 780-784

Saravanakumar Arthanari et al., 2015. Biosynthesis of silver nanoparticles using *Cassia tora* leaf extract and its antioxidant and antibacterial activities. ELSEVIER., 28 : 277–281

Sivagurunathan A., Xavier Innocent B., 2014. Phytochemical Analysis and Antimicrobial Efficiency of *Marsilea quadrifolia*linn (Aquatic Fern). IJPRS., 3(2): 425-431

Soumaya Kilani et al., 2008. In vitro evaluation of antibacterial, antioxidant, cytotoxic and apoptotic activities of the tubers infusion and extracts of *Cyperus rotundus.* ELSEVIER., 99: 9004-9008

Surendra Kumar Sharma and Ajay Pal Singh. 2011. Antimicrobial investigations on rhizomes of *Cyperus rotundus* Linn.. SRL., (3):427-431

Clinical and laboratory standards institute. 2012. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. [Slide]. USA : HIS.

[Online].Available : http://chm-thai.onep.go.th/chm/alien/IAS/detail.aspx?alienID=200 (12 มกราคม 2559)

[Online].Available : http://frynn.com/ผักเบี้ยหิน (4 มกราคม 2559)

[Online].Available : http://frynn.com/ลูกใต้ใบ (4 มกราคม 2559)

[Online].Available : http://frynn.com/ส้มกบ (4 มกราคม 2559)

[Online].Available : http://luirig.altervista.org/cpm/albums/bot-hawaii28/13814-Senna-surattensis.jpg (27 กุมภาพันธ์ 2559)

[Online].Available : https://th.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus (27 กุมภาพันธ์ 2559)

[Online].Available : http://www.bacteriainphotos.com (27 กุมภาพันธ์ 2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[Online].Available : http://www.cnn.com (27 กุมภาพันธ์ 2559)
[Online].Available : http://www.coleparmer.com (15 มีนาคม 2559)
[Online].Available : http://www.foodnetworksolution.com (27 กุมภาพันธ์ 2559)
[Online].Available : http://www.il.mahidol.ac.the-mediananoPageUnit4-5.html (12 มกราคม 2559)
[Online].Available : http://www.jcm.asm.org (15 มีนาคม 2559)
[Online].Available : http://www.kasetporpeang.com/forums/index.php?topic=117211.0 (4 มกราคม 2559)
[Online].Available : http://www.kasettrakonthai.com (4 มกราคม 2559)
[Online].Available : http://www.livescience.com (15 มีนาคม 2559)
[Online].Available : http://www.microtonano.com (12 มกราคม 2559)
[Online].Available : http://www.samunpri.com/ผักตบชวา (4 มกราคม 2559)
[Online].Available : http://www.uaex.edu/yard-garden/resource-library/weedid/images/cyperus_rotundus.jpg (15 มีนาคม 2559)
[Online].Available : http://www.virboga.de/Ipomoea_aquatica.htm (4 มกราคม 2559)

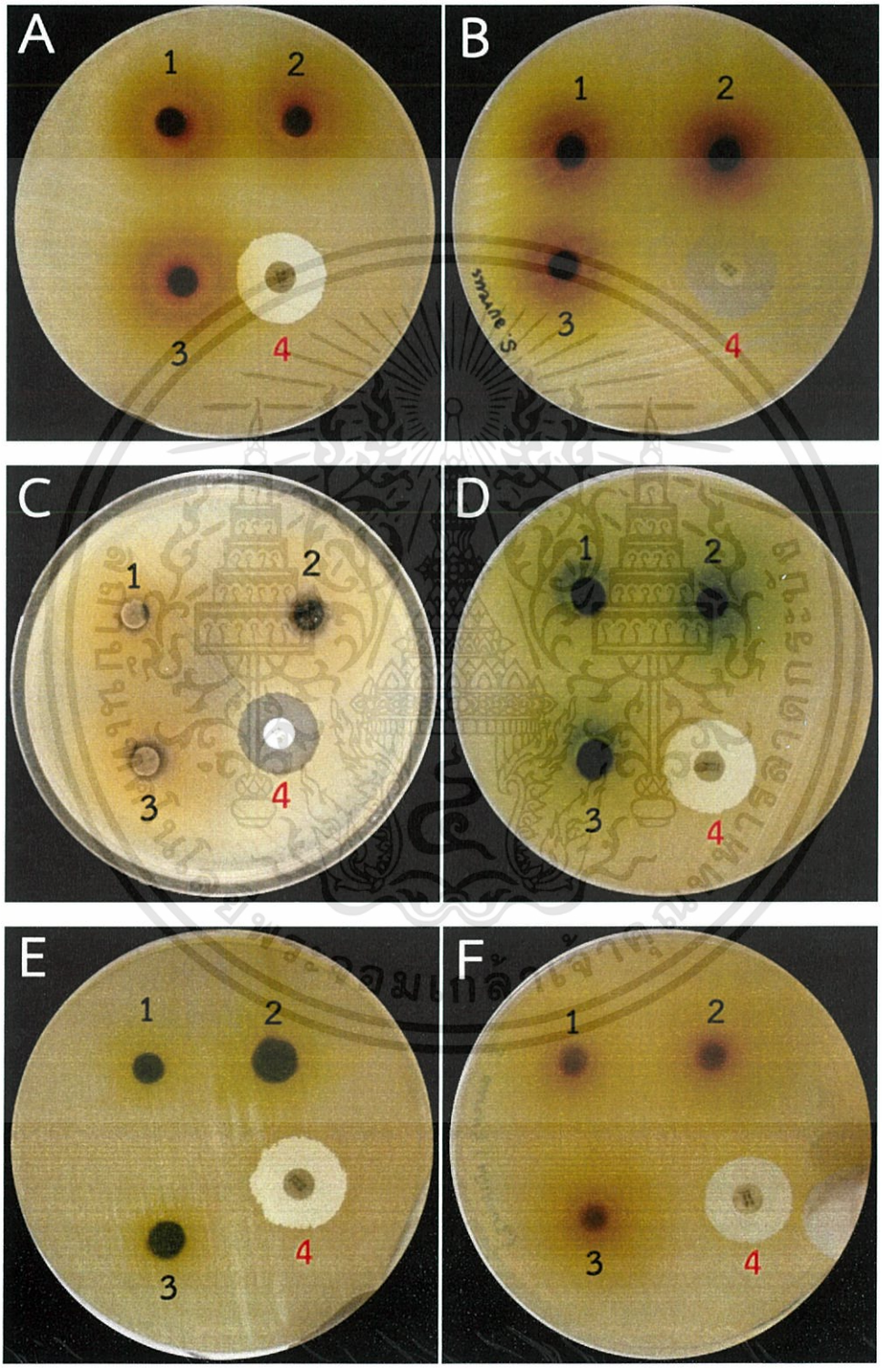
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

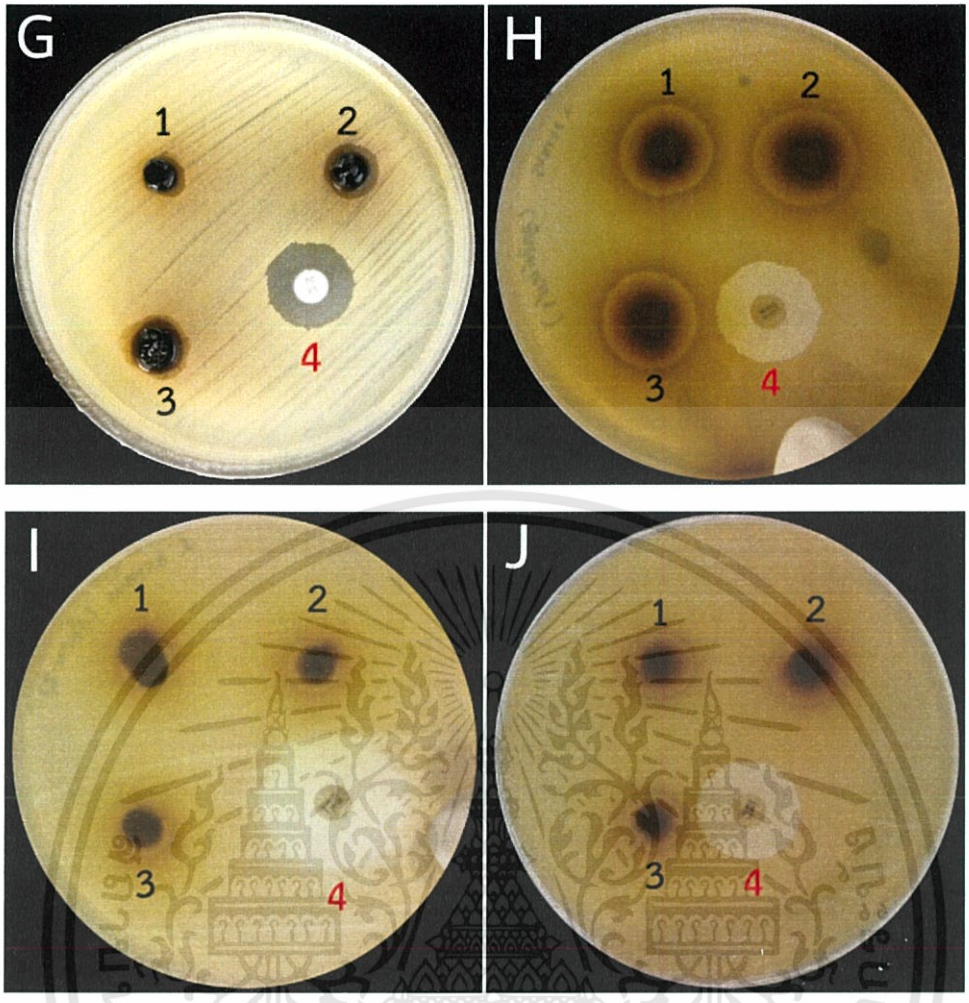
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

รูปภาพแสดงผลการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์จากสารสกัดของวัชพืชจำนวน 10 ชนิดด้วยวิธี Disc diffusion



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P จากสารสกัดของวัชพืชจำนวน 10 ชนิด ที่ความเข้มข้นสูงสุด ด้วยวิธี Disc diffusion

หมายเหตุ : A คือ สารสกัดจากชุมเห็ดเทศ B คือ สารสกัดจากชุมเห็ดไท

C คือ สารสกัดจากผักตบชวา D คือ สารสกัดจากผักบุ้งนา

E คือ สารสกัดจากผักเบี้ยหิน F คือ สารสกัดจากผักแว่น

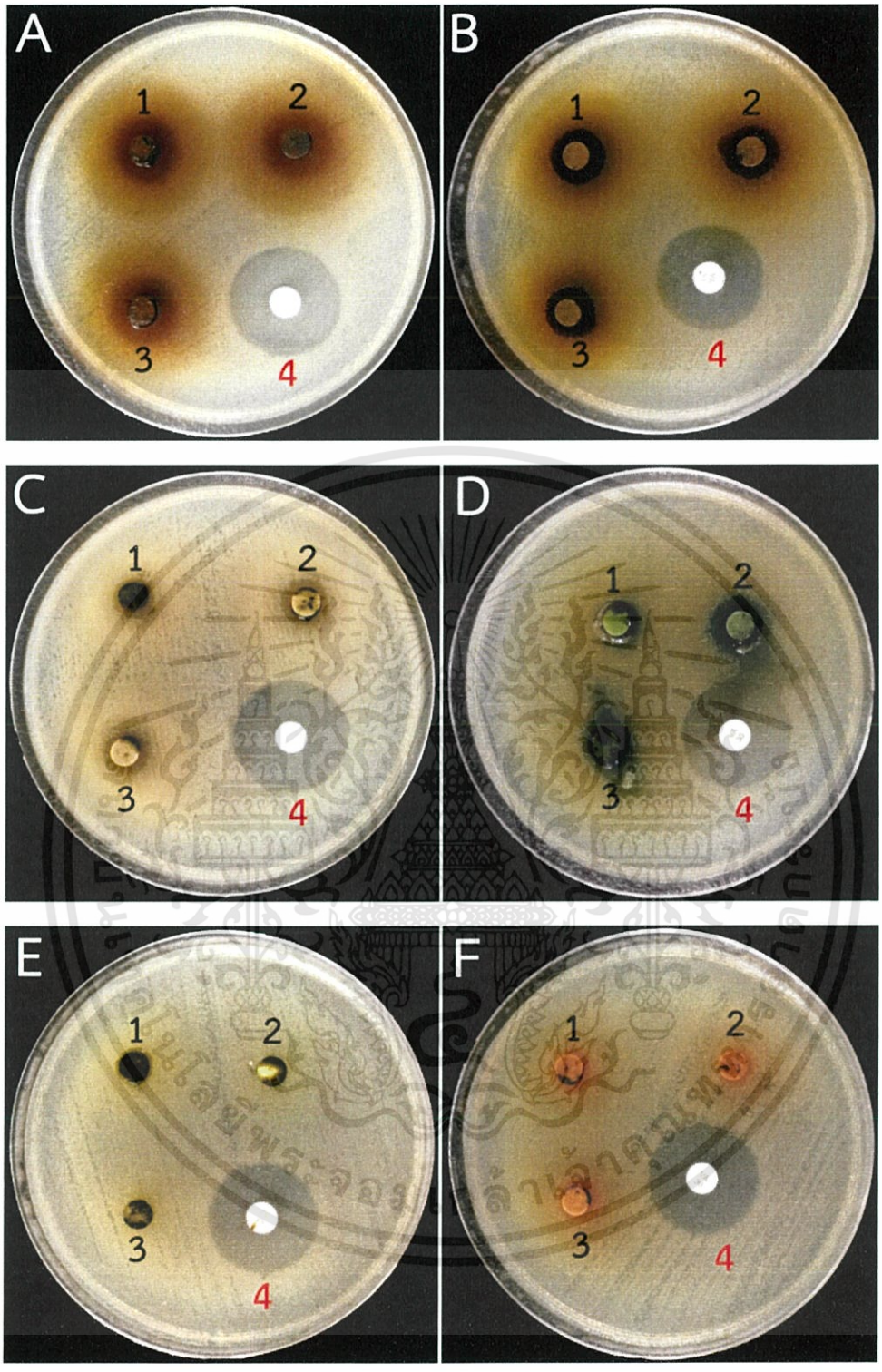
G คือ สารสกัดจากไมยราบยักษ์ H คือ สารสกัดจากลูกใต้ใบ

I คือ สารสกัดจากส้มกบ J คือ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมู

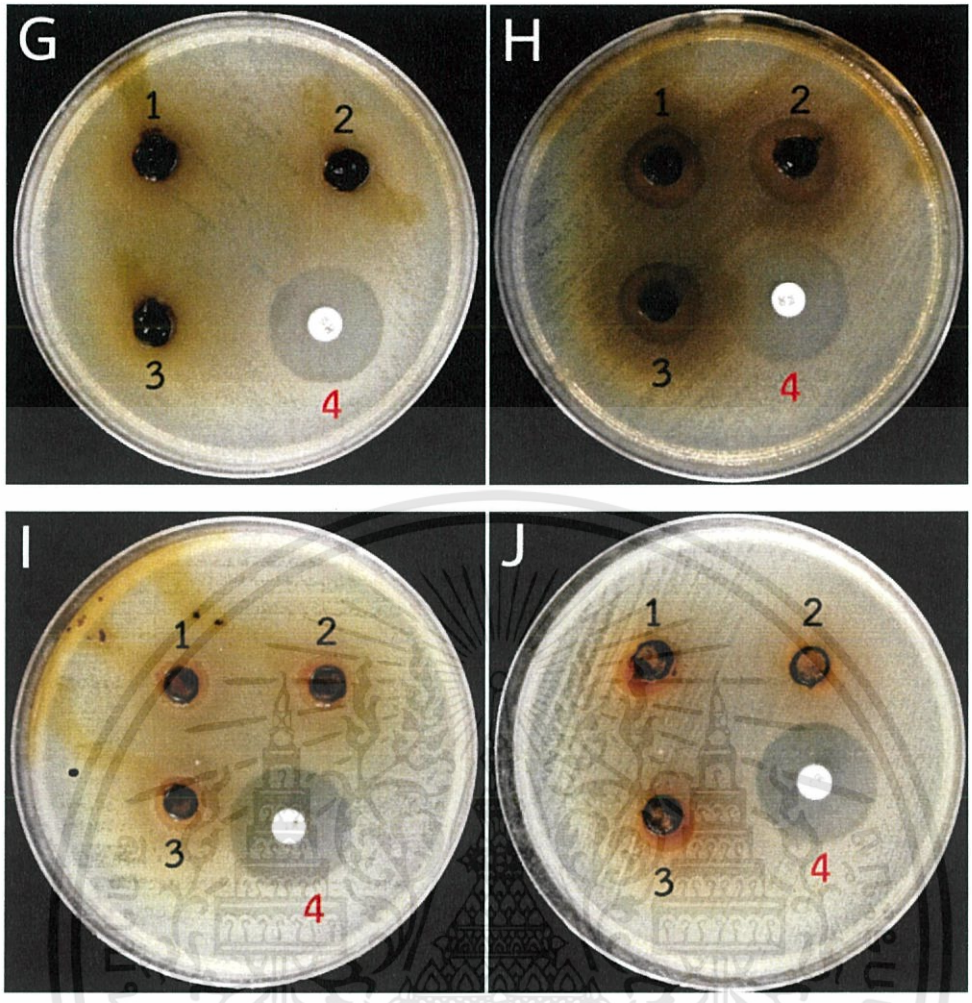
**หมายเลข 1-3 คือ บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากสารสกัดของวัชพืช

หมายเลข 4 คือ บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากยาปฏิชีวนะแวนโคมัยซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 จากสารสกัดของวัชพืชจำนวน 10 ชนิด ที่ความเข้มข้นสูงสุด ด้วยวิธี Disc diffusion

หมายเหตุ : A คือ สารสกัดจากชุมเห็ดเทศ B คือ สารสกัดจากชุมเห็ดไท

C คือ สารสกัดจากผักตบชวา D คือ สารสกัดจากผักบุ้งนา

E คือ สารสกัดจากผักเบี้ยหิน F คือ สารสกัดจากผักแว่น

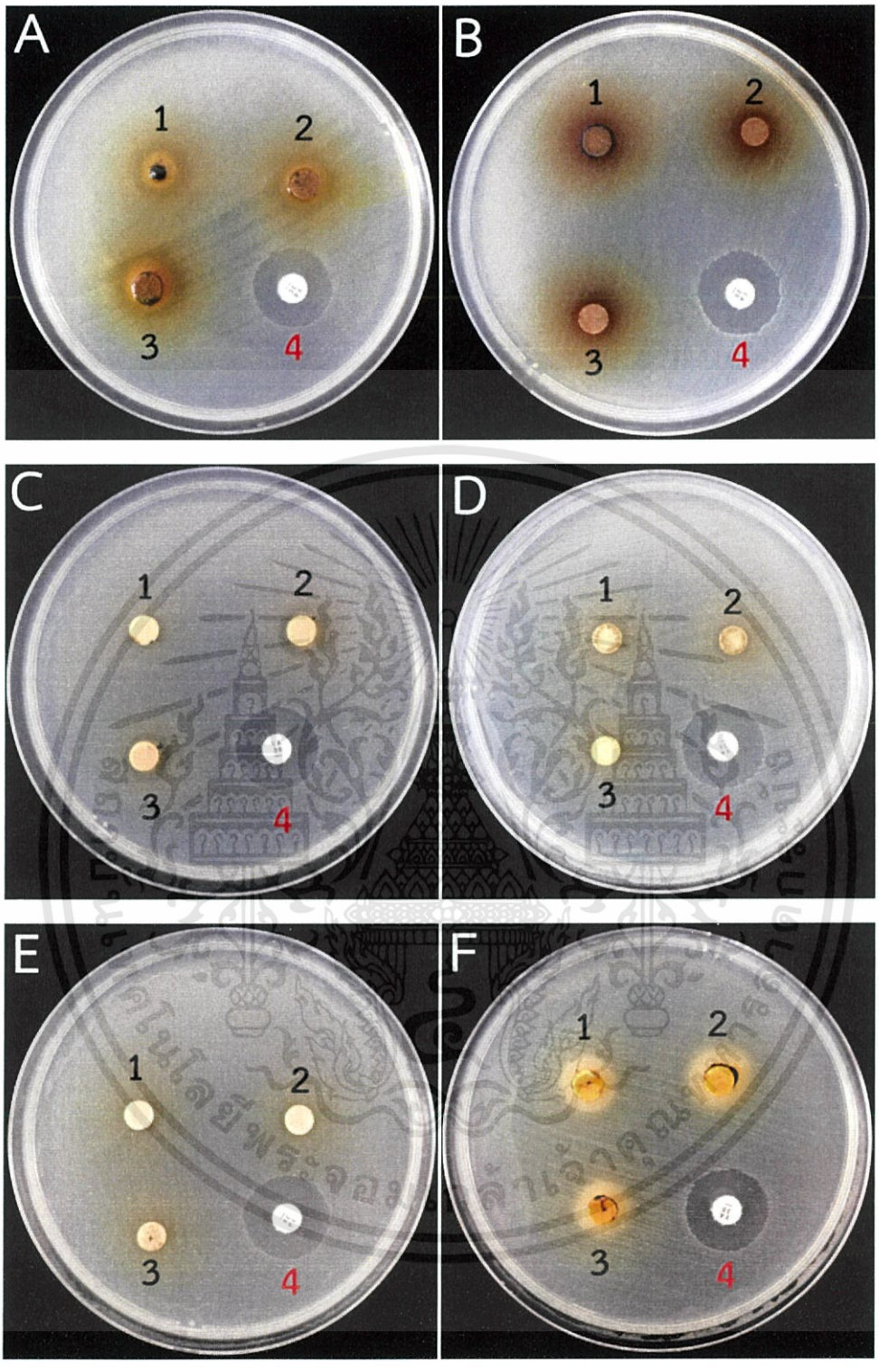
G คือ สารสกัดจากไมยราบยักษ์ H คือ สารสกัดจากลูกใต้ใบ

I คือ สารสกัดจากส้มกบ J คือ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมู

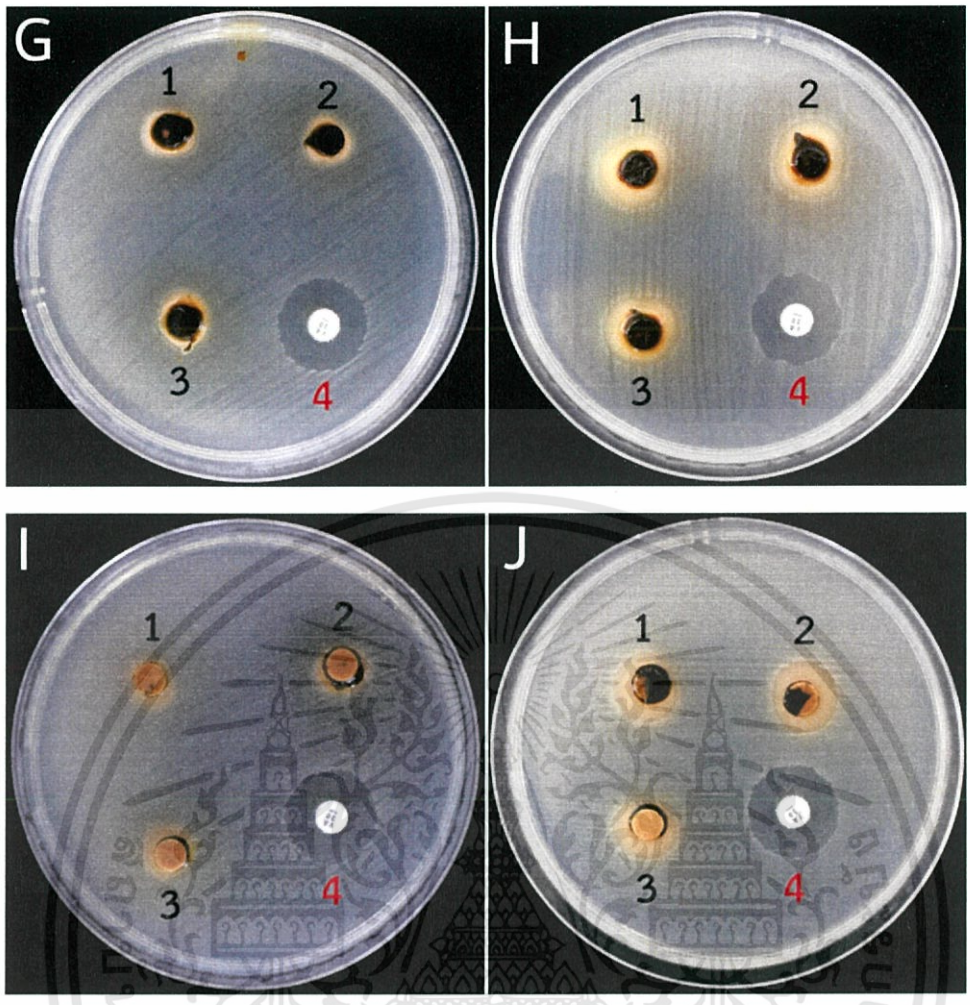
**หมายเลข 1-3 คือ บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากสารสกัดของวัชพืช

หมายเลข 4 คือ บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากยาปฏิชีวนะแวนโคมัยซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546 จากสารสกัดของวัชพืชจำนวน 10 ชนิด ที่ความเข้มข้นสูงสุด ด้วยวิธี Disc diffusion

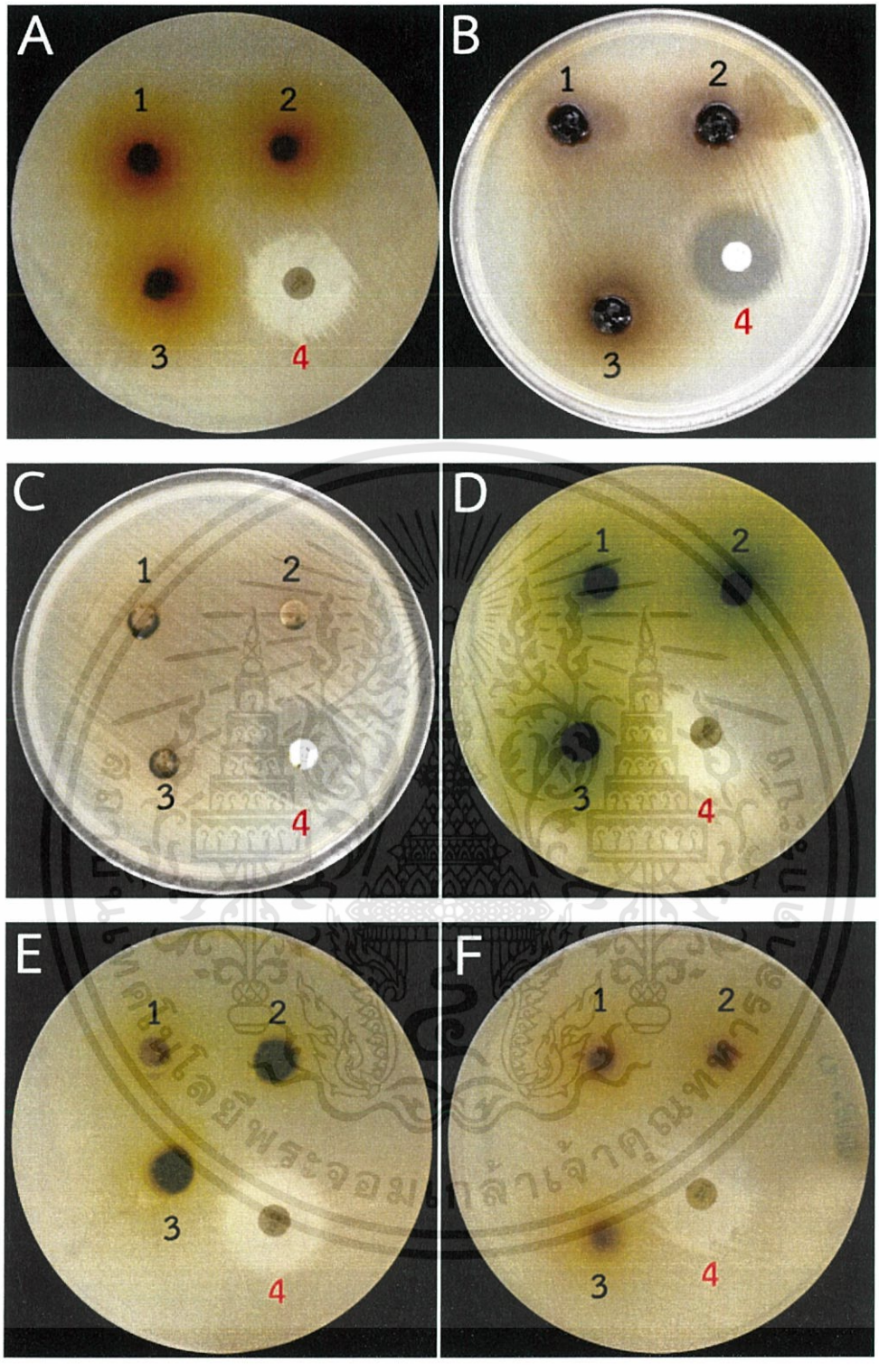
หมายเหตุ :

A คือ สารสกัดจากชุมเห็ดเทศ
B คือ สารสกัดจากชุมเห็ดไท
C คือ สารสกัดจากผักตบชวา
D คือ สารสกัดจากผักบุ้งนา
E คือ สารสกัดจากผักเบี้ยหิน
F คือ สารสกัดจากผักแว่น
G คือ สารสกัดจากไมยราบยักษ์
H คือ สารสกัดจากลูกใต้ใบ
I คือ สารสกัดจากส้มกบ
J คือ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมู

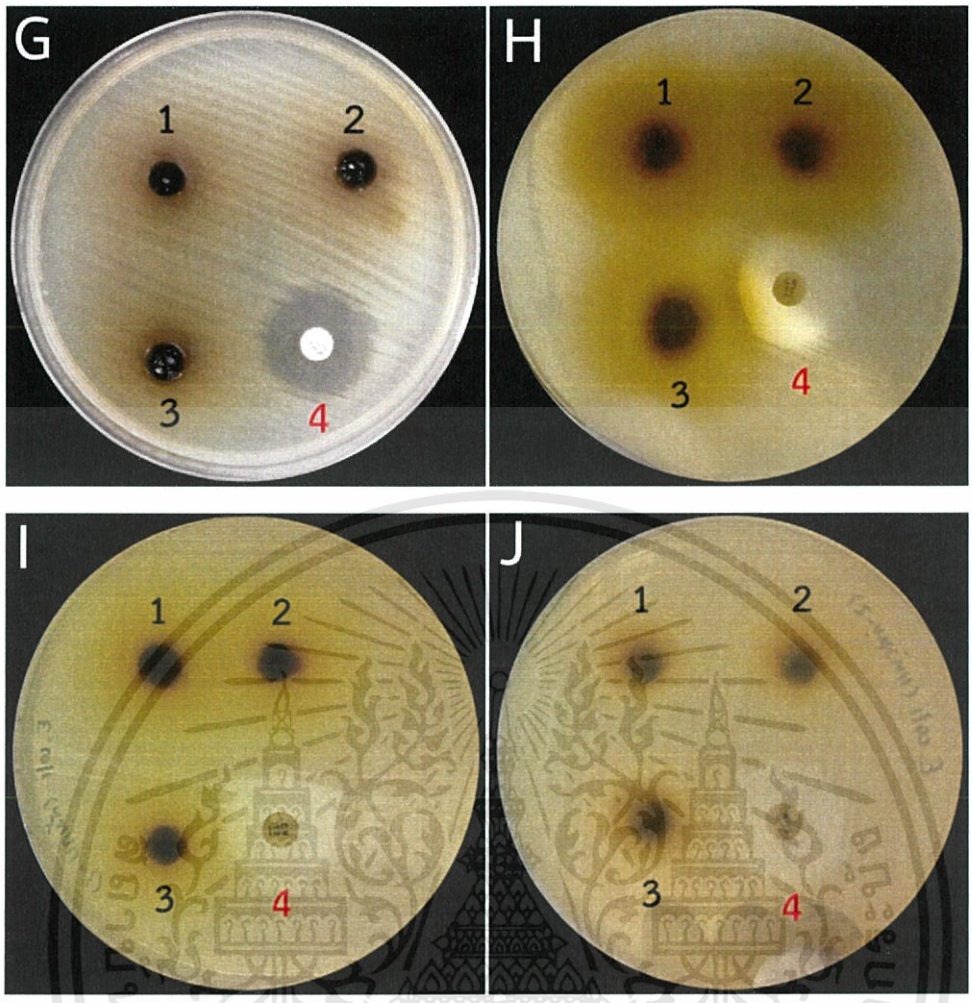
**หมายเลข 1-3 คือ บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากสารสกัดของวัชพืช

หมายเลข 4 คือ บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากยาปฏิชีวนะแวนโคมัยซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 จากสารสกัดของวัชพืชจำนวน 10 ชนิด ที่ความเข้มข้นสูงสุด ด้วยวิธี Disc diffusion

หมายเหตุ : A คือ สารสกัดจากชุมเห็ดเทศ B คือ สารสกัดจากชุมเห็ดไท

C คือ สารสกัดจากผักตบชวา D คือ สารสกัดจากผักบุ้งนา

E คือ สารสกัดจากผักเบี้ยหิน F คือ สารสกัดจากผักแว่น

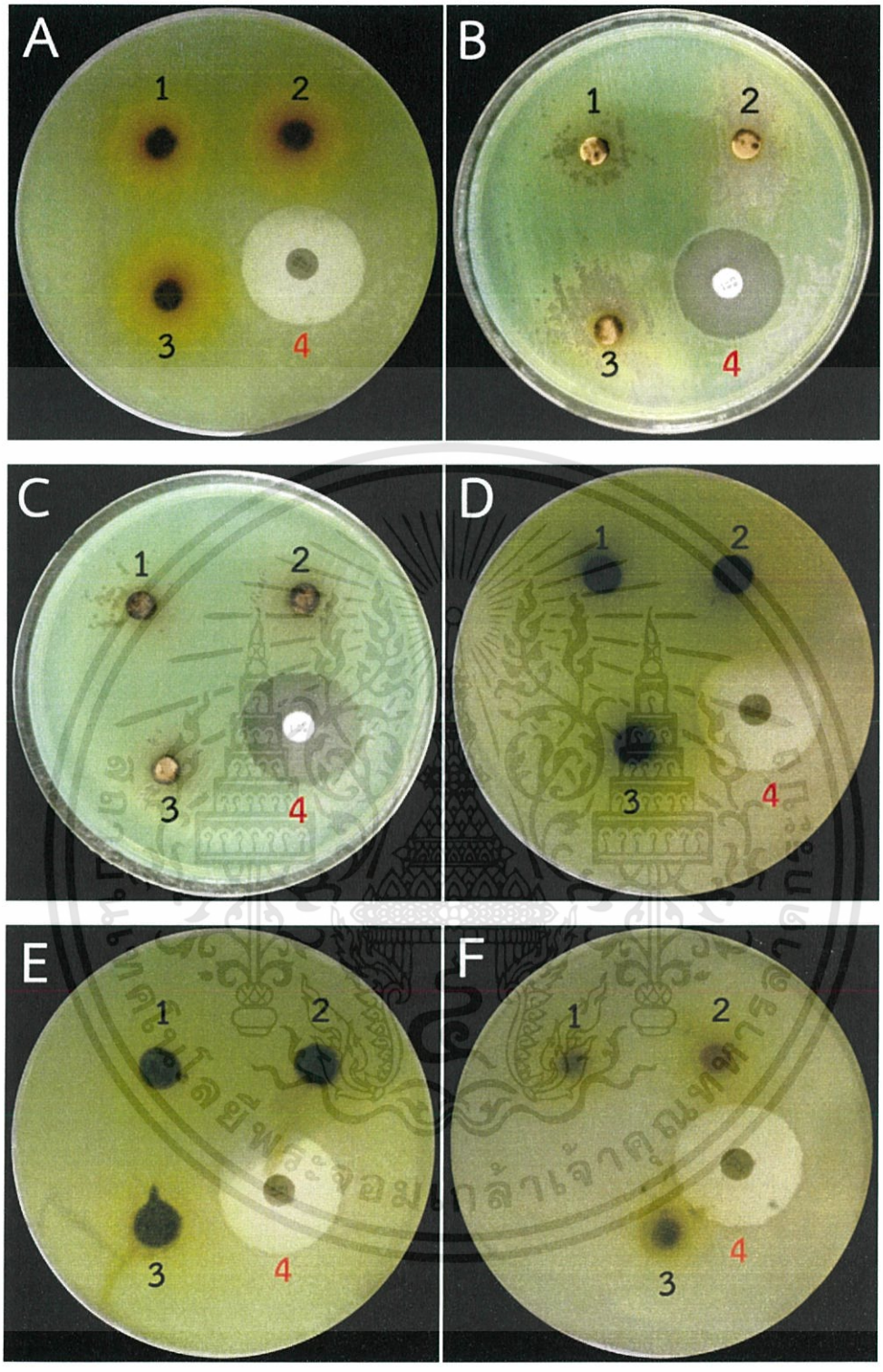
G คือ สารสกัดจากไมยราบยักษ์ H คือ สารสกัดจากลูกใต้ใบ

I คือ สารสกัดจากส้มกบ J คือ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมู

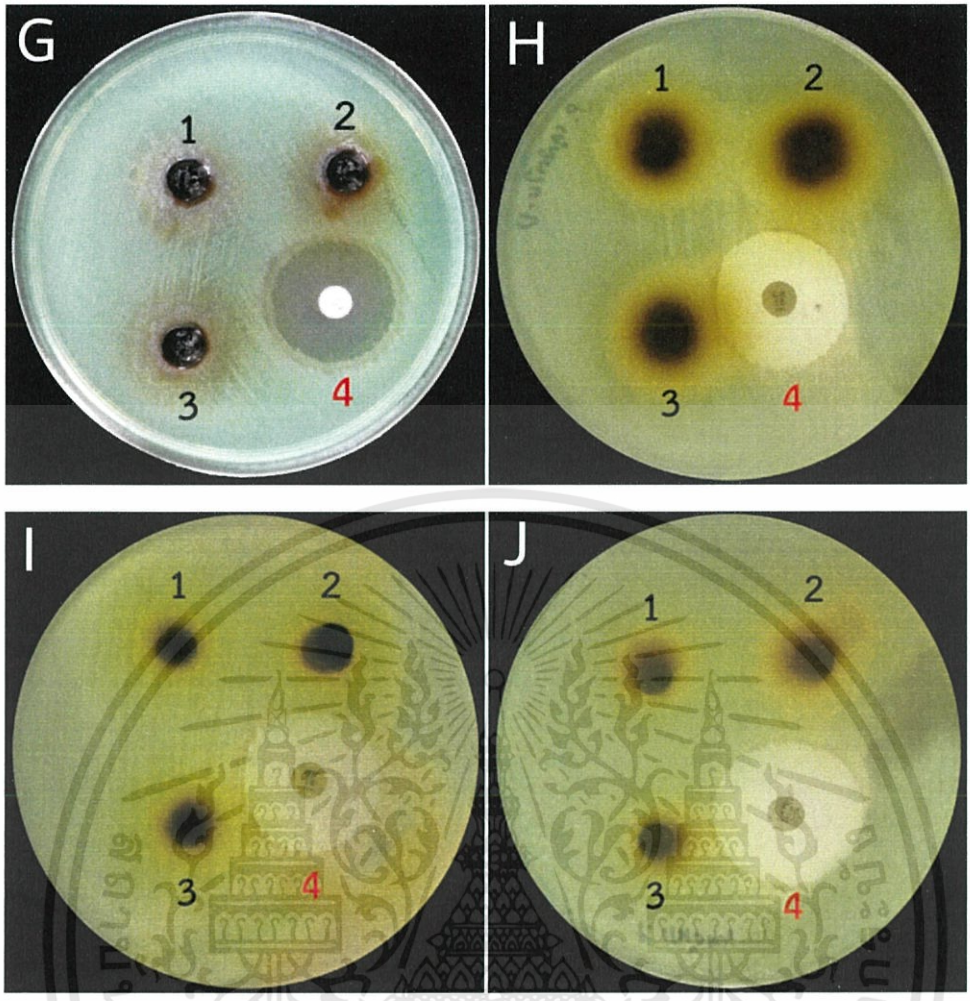
**หมายเลข 1-3 คือ บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากสารสกัดของวัชพืช

หมายเลข 4 คือ บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 จากสารสกัดของวัชพืชจำนวน 10 ชนิด ที่ความเข้มข้นสูงสุด ด้วยวิธี Disc diffusion

หมายเหตุ : A คือ สารสกัดจากชุมเห็ดเทศ B คือ สารสกัดจากชุมเห็ดไท

C คือ สารสกัดจากผักตบชวา D คือ สารสกัดจากผักบุ้งนา

E คือ สารสกัดจากผักเบี้ยหิน F คือ สารสกัดจากผักแว่น

G คือ สารสกัดจากไมยราบยักษ์ H คือ สารสกัดจากลูกใต้ใบ

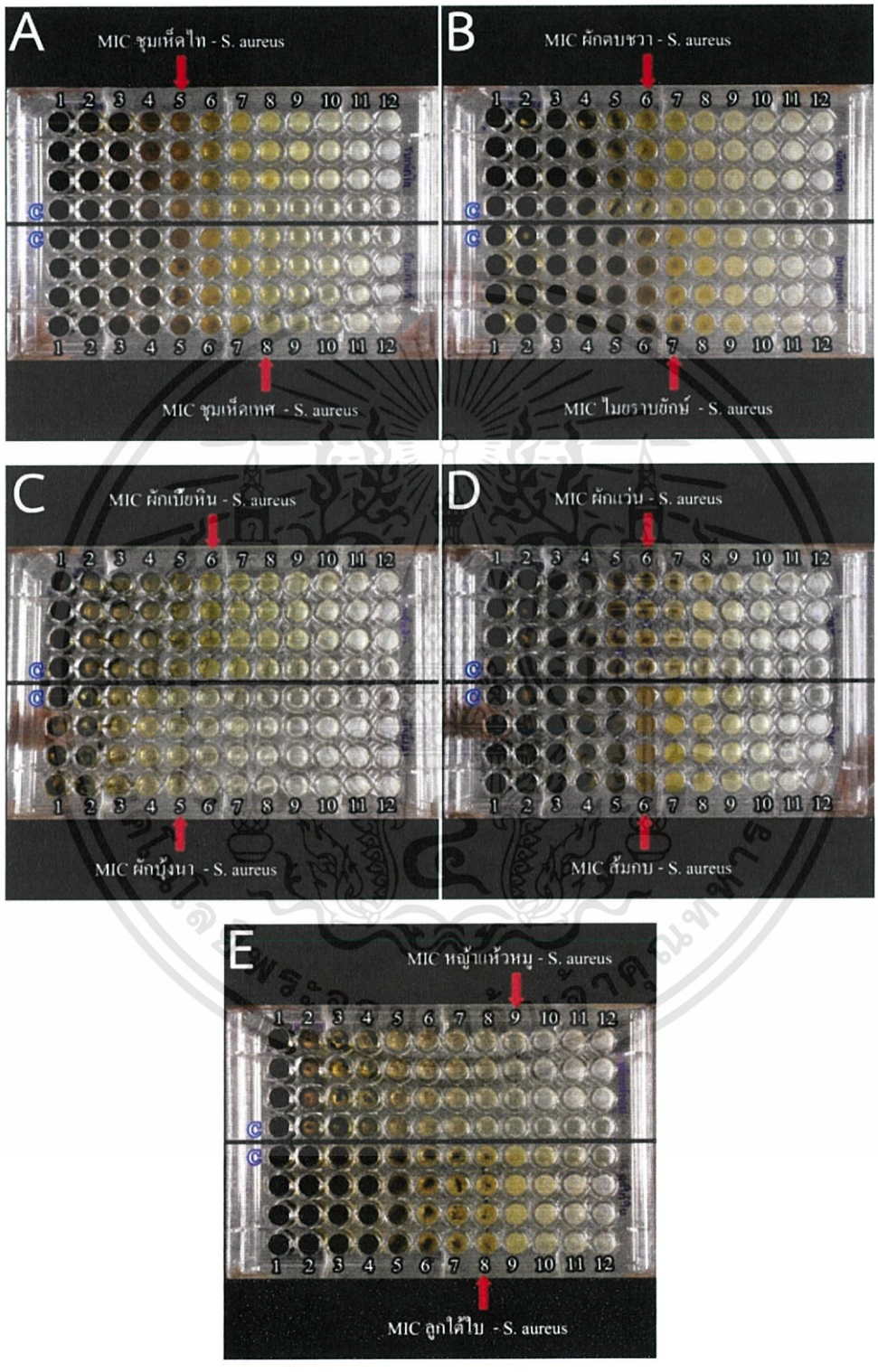
I คือ สารสกัดจากส้มกบ J คือ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมู

**หมายเลข 1-3 คือ บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากสารสกัดของวัชพืช

หมายเลข 4 คือ บริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เกิดจากยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปภาพแสดงผลการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum inhibition concentration; MIC)



รูปที่ 1 รูปภาพแสดงผลการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืชจำนวน 10 ชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P (Minimum inhibition concentration; MIC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ :A คือ สารสกัดจากชุมเห็ดไทที่หมายเลข 5 มีค่า MIC = 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากชุมเห็ดเทศที่หมายเลข 8 มีค่า MIC = 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

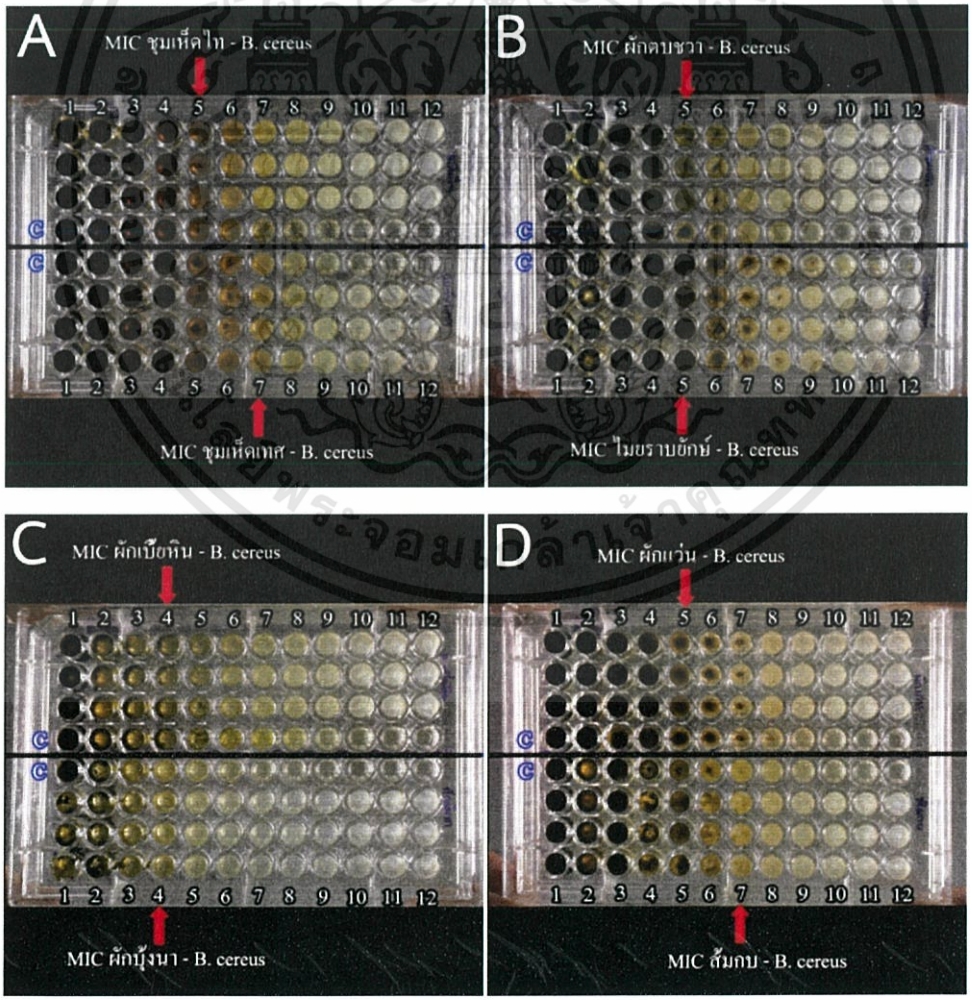
B คือ สารสกัดจากผักตบชวาที่หมายเลข 6 มีค่า MIC = 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากผักตบชวาที่หมายเลข 7 มีค่า MIC = 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

C คือ สารสกัดจากผักเบี้ยหินที่หมายเลข 6 มีค่า MIC = 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดผักบุ้งนาที่หมายเลข 5 มีค่า MIC = 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

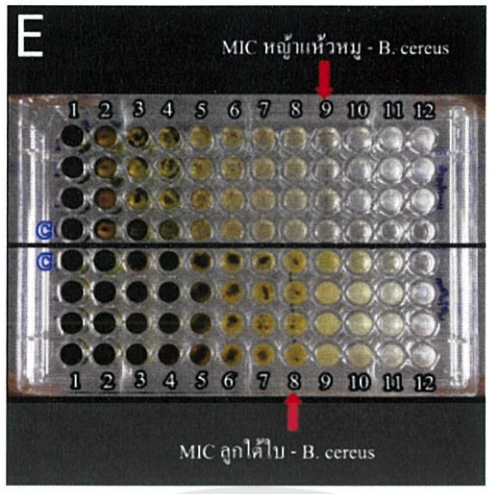
D คือ สารสกัดจากผักแว่นที่หมายเลข 6 มีค่า MIC = 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากส้มกบที่หมายเลข 6 มีค่า MIC = 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

E คือ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมูที่หมายเลข 9 มีค่า MIC = 3.90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากลูกใต้ใบที่หมายเลข 8 มีค่า MIC = 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

*** C คือ แถวของชุดการทดลองควบคุมกำหนดให้เป็นตัวเทียบความขุ่นของสารสกัด (control)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2 รูปภาพแสดงผลการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืช จำนวน 10 ชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 (Minimum inhibition concentration; MIC)

หมายเหตุ :A คือ สารสกัดจากชุมเห็ดไทที่หมายเลข 5 มีค่า MIC = 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากชุมเห็ดเทศที่หมายเลข 7 มีค่า MIC = 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

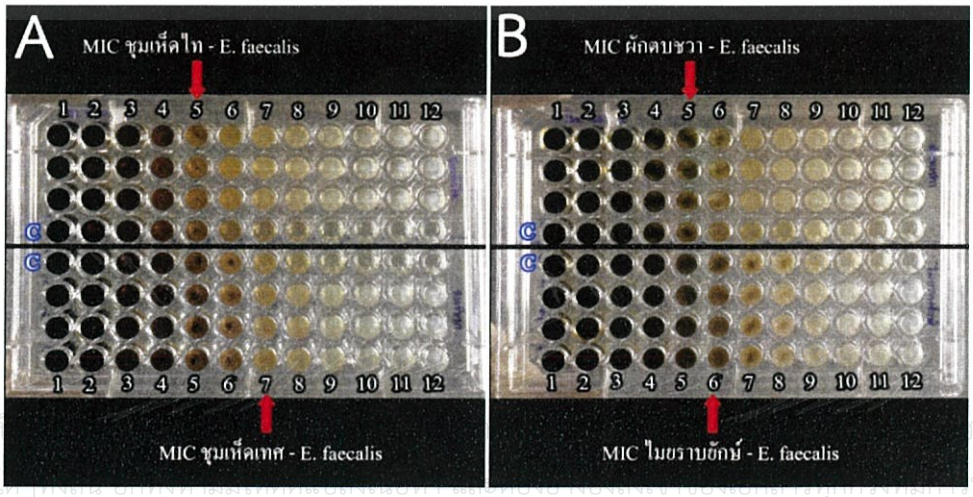
B คือ สารสกัดจากผักตบชวาที่หมายเลข 5 มีค่า MIC = 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากผักตบชวาที่หมายเลข 5 มีค่า MIC = 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

C คือ สารสกัดจากผักเบี้ยหินที่หมายเลข 4 มีค่า MIC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดผักบุ้งนาที่หมายเลข 4 มีค่า MIC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

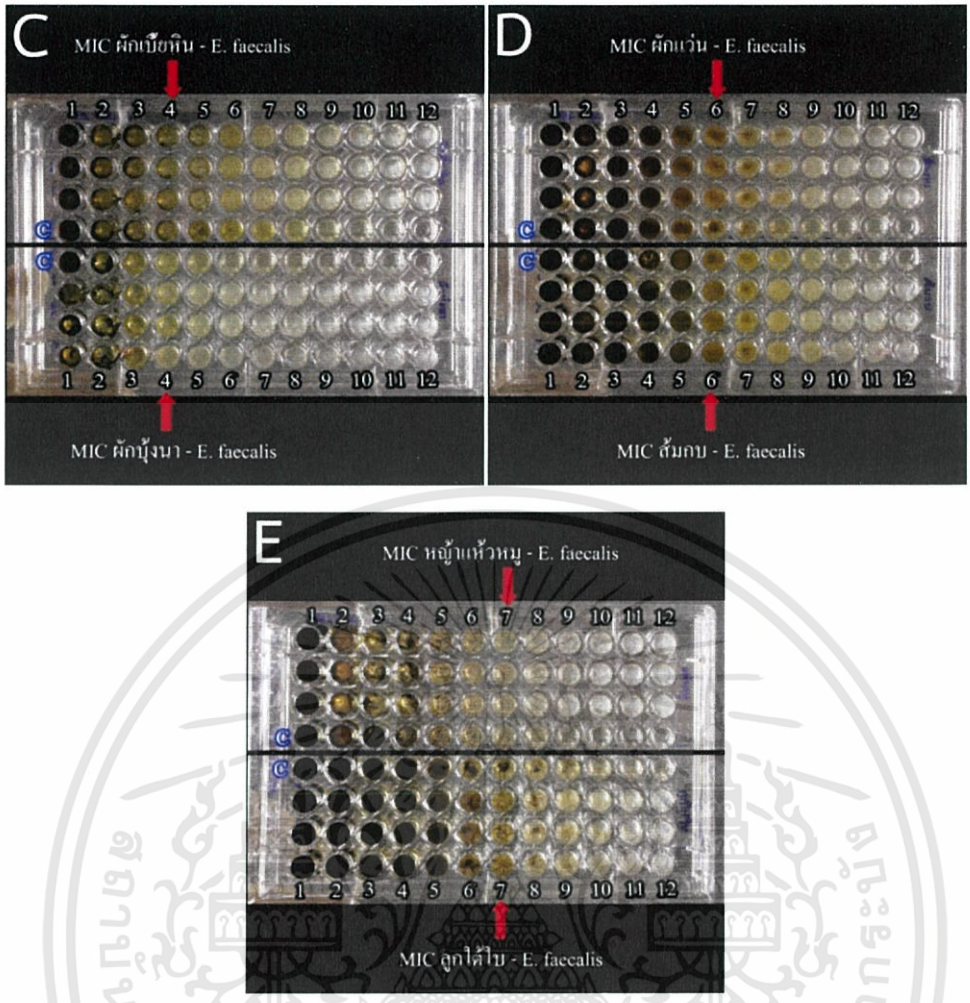
D คือ สารสกัดจากผักแว่นที่หมายเลข 5 มีค่า MIC = 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากส้มกบที่หมายเลข 7 มีค่า MIC = 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

E คือ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมูที่หมายเลข 9 มีค่า MIC = 3.90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากลูกใต้ใบที่หมายเลข 8 มีค่า MIC = 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

*** C คือ แถวของชุดการทดลองควบคุมกำหนดให้เป็นตัวเทียบความขุ่นของสารสกัด (control)



เอกสารนี้เ ์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใ นำไปใช้



รูปที่ 3 รูปภาพแสดงผลการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืช จำนวน 10 ชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis*TBRC 1546 (Minimum inhibition concentration; MIC)

หมายเหตุ :A คือ สารสกัดจากชุมเห็ดไทที่หมายเลข 5 มีค่า MIC = 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากชุมเห็ดเทศที่หมายเลข 7 มีค่า MIC = 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

B คือ สารสกัดจากผักตบชวาที่หมายเลข 5 มีค่า MIC = 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากผักตบชวาที่หมายเลข 6 มีค่า MIC = 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

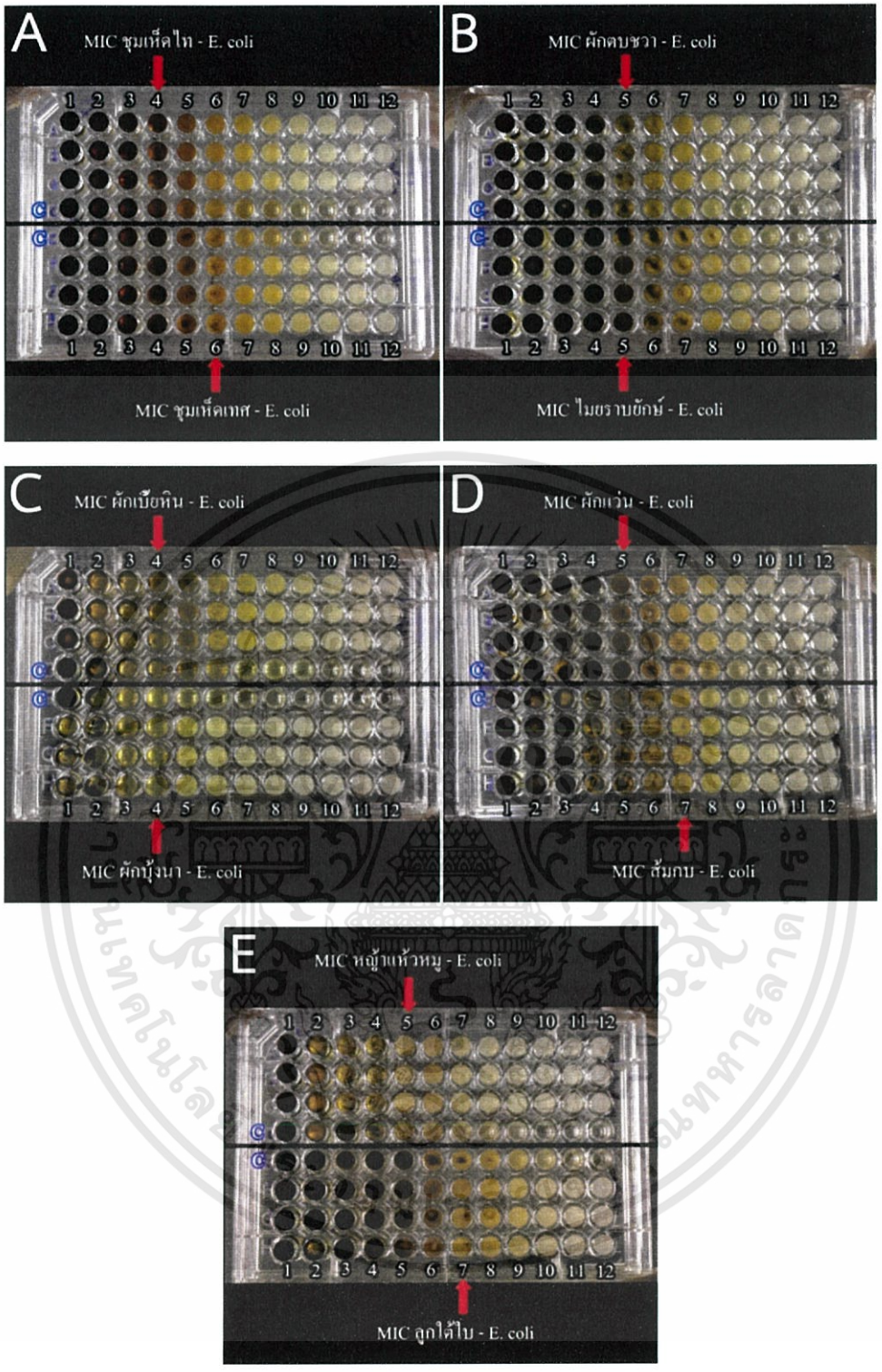
C คือ สารสกัดจากผักเบี้ยหินที่หมายเลข 4 มีค่า MIC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดผักบุ้งนาที่หมายเลข 4 มีค่า MIC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

D คือ สารสกัดจากผักแว่นที่หมายเลข 6 มีค่า MIC = 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากส้มกบที่หมายเลข 6 มีค่า MIC = 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

E คือ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมูที่หมายเลข 7 มีค่า MIC = 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากลูกใต้ใบที่หมายเลข 7 มีค่า MIC = 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

*** C คือ แถวของชุดการทดลองควบคุมกำหนดให้เป็นตัวเทียบความขุ่นของสารสกัด (control)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 รูปภาพแสดงผลการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืช จำนวน 10 ชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 (Minimum inhibition concentration; MIC)

หมายเหตุ :A คือ สารสกัดจากชุมเห็ดไทที่หมายเลข 4 มีค่า MIC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ สารสกัดจากชุมเห็ดเทศที่หมายเลข 6 มีค่า MIC = 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

B คือ สารสกัดจากผักตบชวาที่หมายเลข 5 มีค่า MIC = 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ สารสกัดจากผักตบชวาที่หมายเลข 5 มีค่า MIC = 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

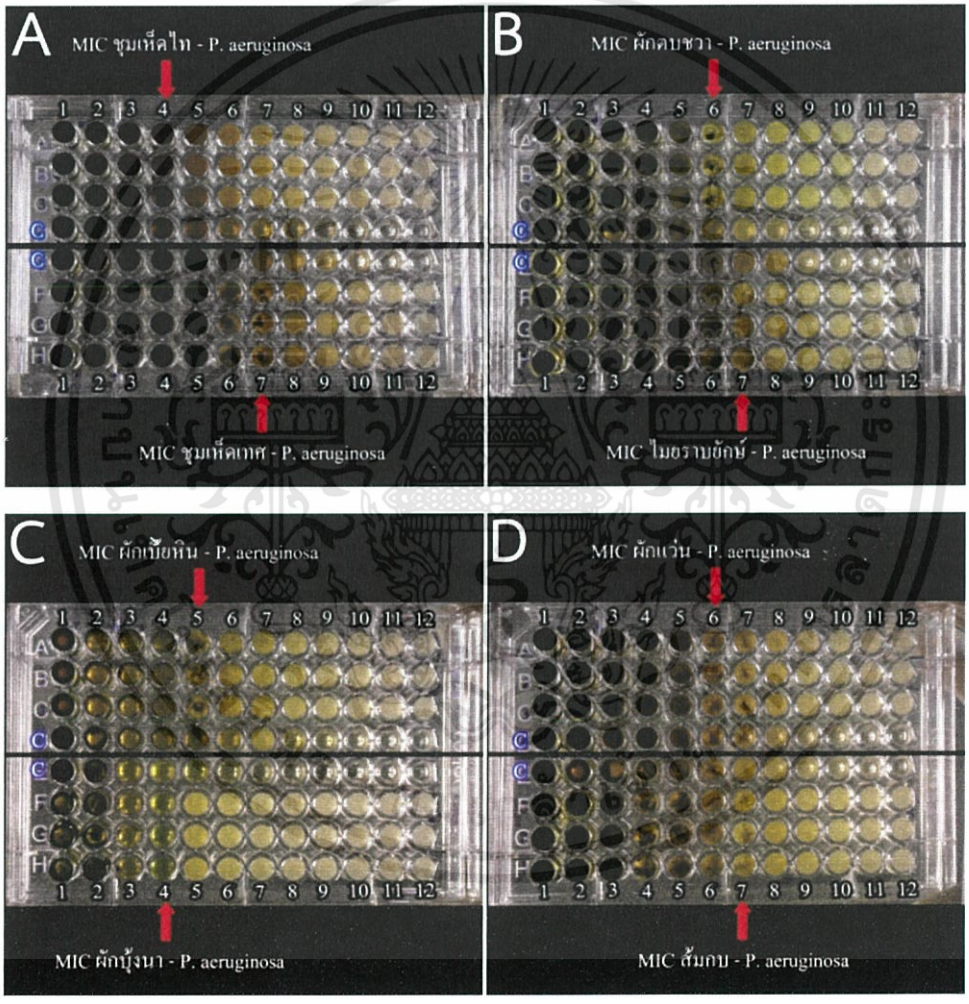
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

C คือ สารสกัดจากผักเบี้ยหินที่หมายเลข 4 มีค่า MIC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดผักบุ้งนาที่หมายเลข 4 มีค่า MIC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

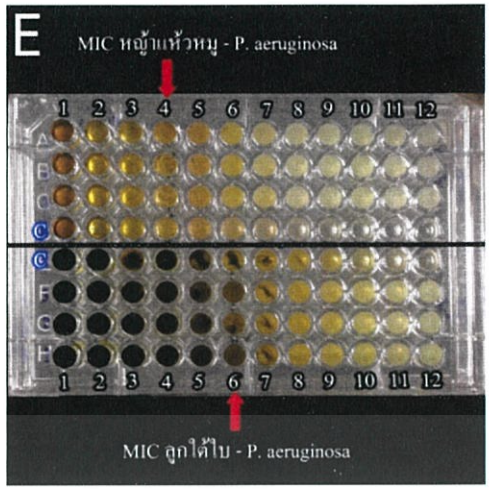
D คือ สารสกัดจากผักแว่นที่หมายเลข 5 มีค่า MIC= 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากส้มกบที่หมายเลข 7 มีค่า MIC = 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

E คือ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมูที่หมายเลข 5 มีค่า MIC = 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากลูกใต้ใบที่หมายเลข 7 มีค่า MIC = 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

*** C คือ แถวของชุดการทดลองควบคุมกำหนดให้เป็นตัวเทียบความขุ่นของสารสกัด (control)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5 รูปภาพแสดงผลการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดจากสารสกัดเมทานอลของวัชพืช จำนวน 10 ชนิดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Minimum inhibition concentration; MIC)

หมายเหตุ :A คือ สารสกัดจากชุมเห็ดไทที่หมายเลข 4 มีค่า MIC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากชุมเห็ดเทศที่หมายเลข 7 มีค่า MIC = 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

B คือ สารสกัดจากผักตบชวาที่หมายเลข 6 มีค่า MIC = 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากผักตบชวาที่หมายเลข 7 มีค่า MIC = 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

C คือ สารสกัดจากผักเบี้ยหินที่หมายเลข 5 มีค่า MIC = 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดผักบุ้งนาที่หมายเลข 4 มีค่า MIC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

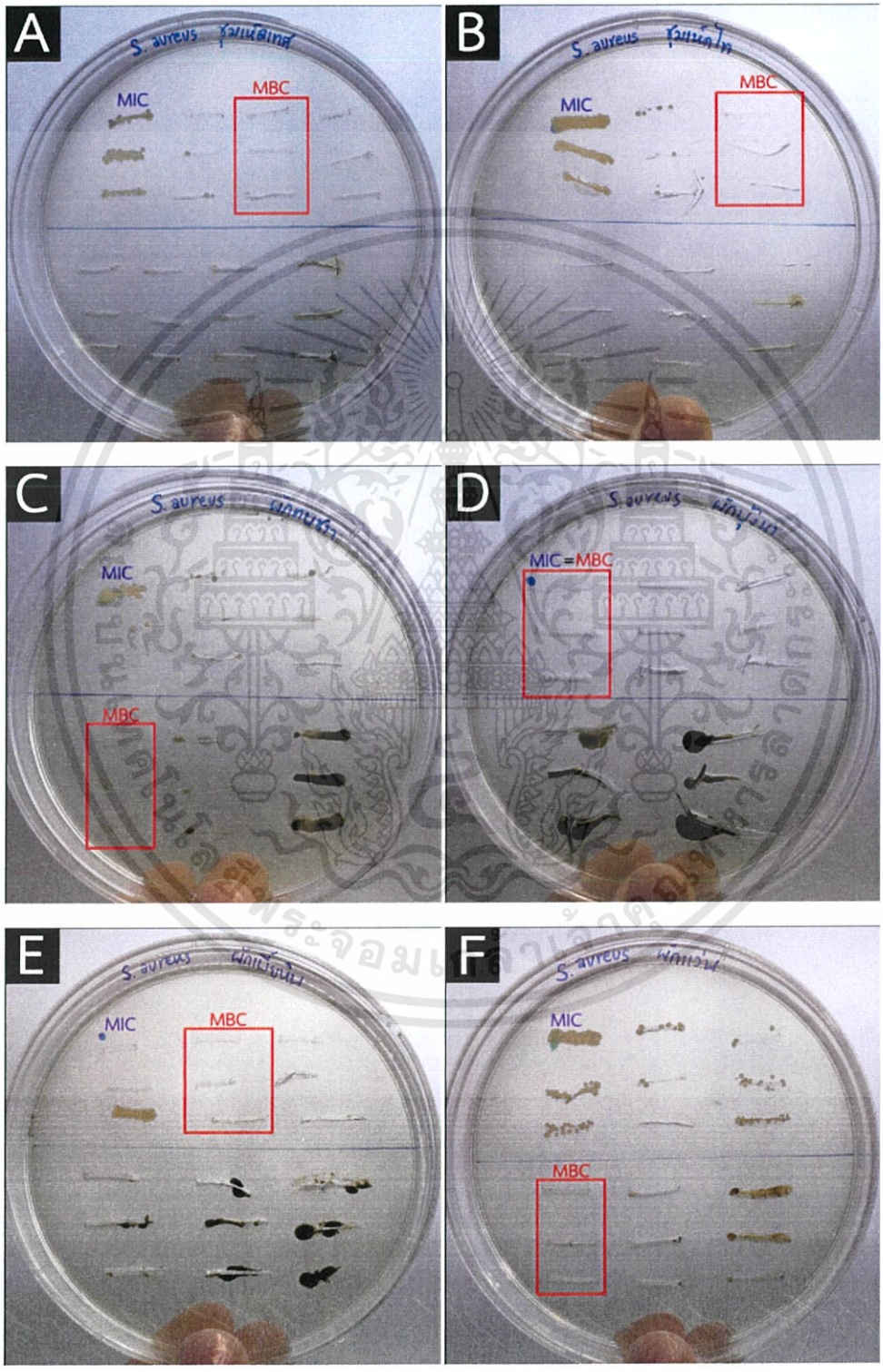
D คือ สารสกัดจากผักแว่นที่หมายเลข 6 มีค่า MIC = 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากส้มกบที่หมายเลข 7 มีค่า MIC = 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

E คือ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมูที่หมายเลข 4 มีค่า MIC = 125มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารสกัดจากลูกใต้ใบที่หมายเลข 6 มีค่า MIC = 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

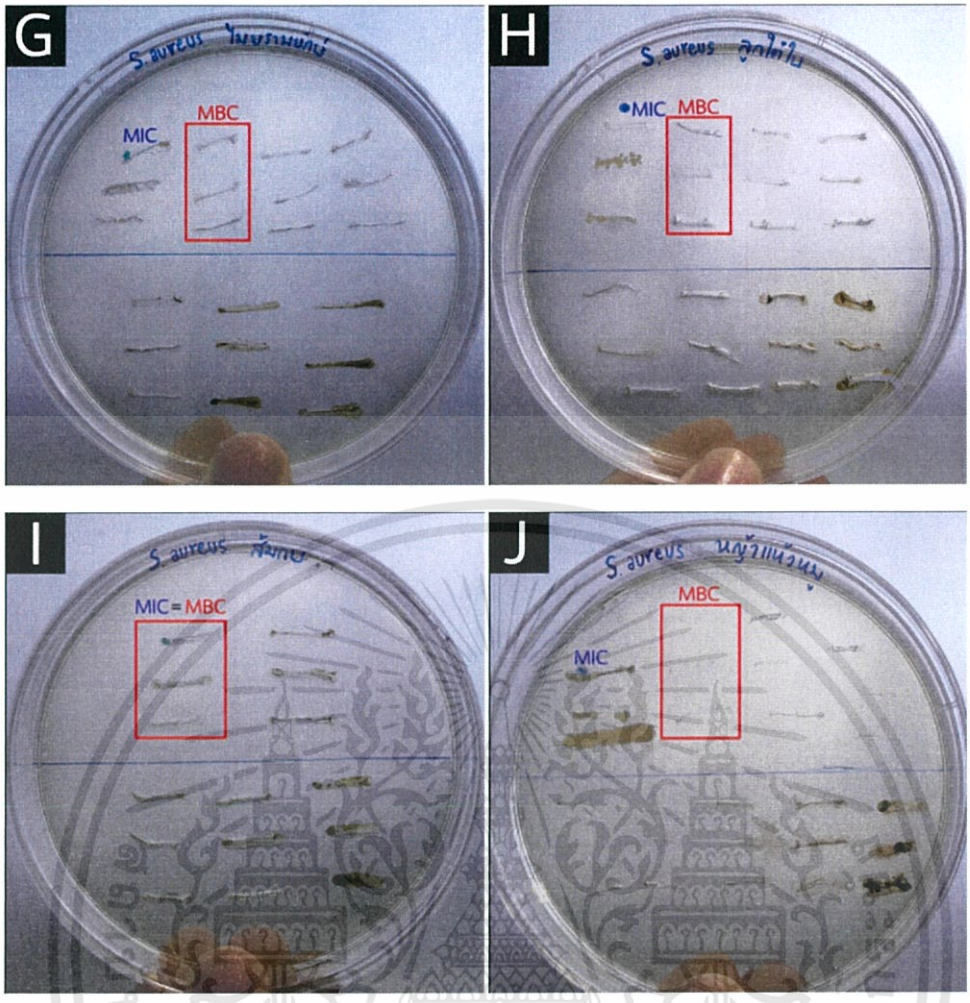
*** C คือ แถวของชุดการทดลองควบคุมกำหนดให้เป็นตัวเทียบความขุ่นของสารสกัด (control)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปภาพแสดงผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นต่ำสุดจากหลอดทดลอง ที่เมื่อนำเชื้อมาเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้ (Minimum bactericidal concentration; MBC)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 รูปภาพแสดงรอยขีดค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชจำนวน 10 ชนิด ที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P (Minimum bactericidal concentration : MBC)

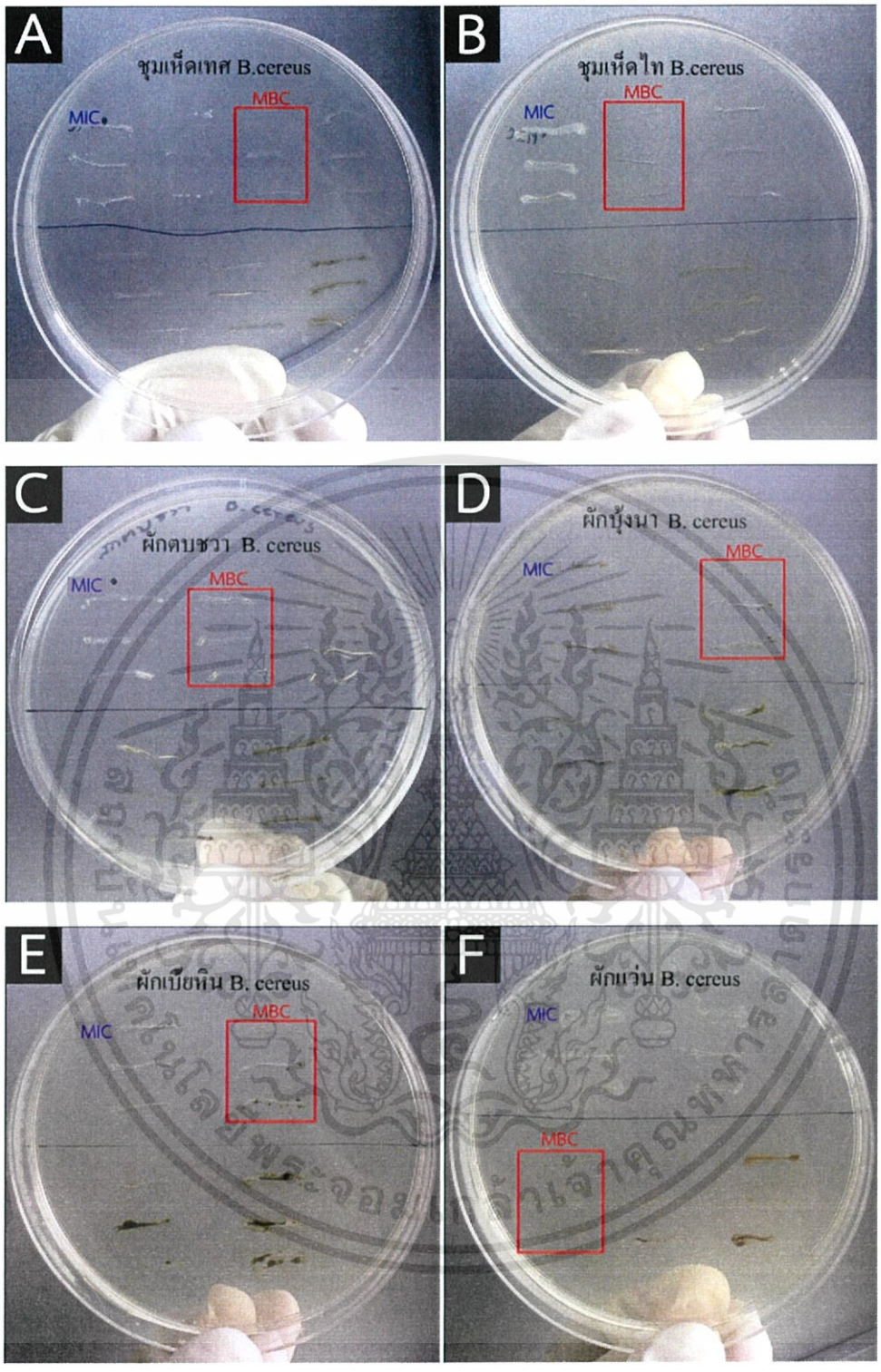
หมายเหตุ :

A คือ สารสกัดจากชุมเห็ดเทศ	ที่ค่า MBC = 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
B คือ สารสกัดจากชุมเห็ดไท	ที่ค่า MBC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
C คือ สารสกัดจากผักตบชวา	ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
D คือ สารสกัดจากผักบุ้งนา	ที่ค่า MBC = 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
E คือ สารสกัดจากผักเบี้ยหิน	ที่ค่า MBC = 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
F คือ สารสกัดจากผักแว่น	ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
G คือ สารสกัดจากไมยราบยักษ์	ที่ค่า MBC = 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
H คือ สารสกัดจากลูกใต้ใบ	ที่ค่า MBC = 15.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
I คือ สารสกัดจากส้มกบ	ที่ค่า MBC = 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
J คือ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมู	ที่ค่า MBC = 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

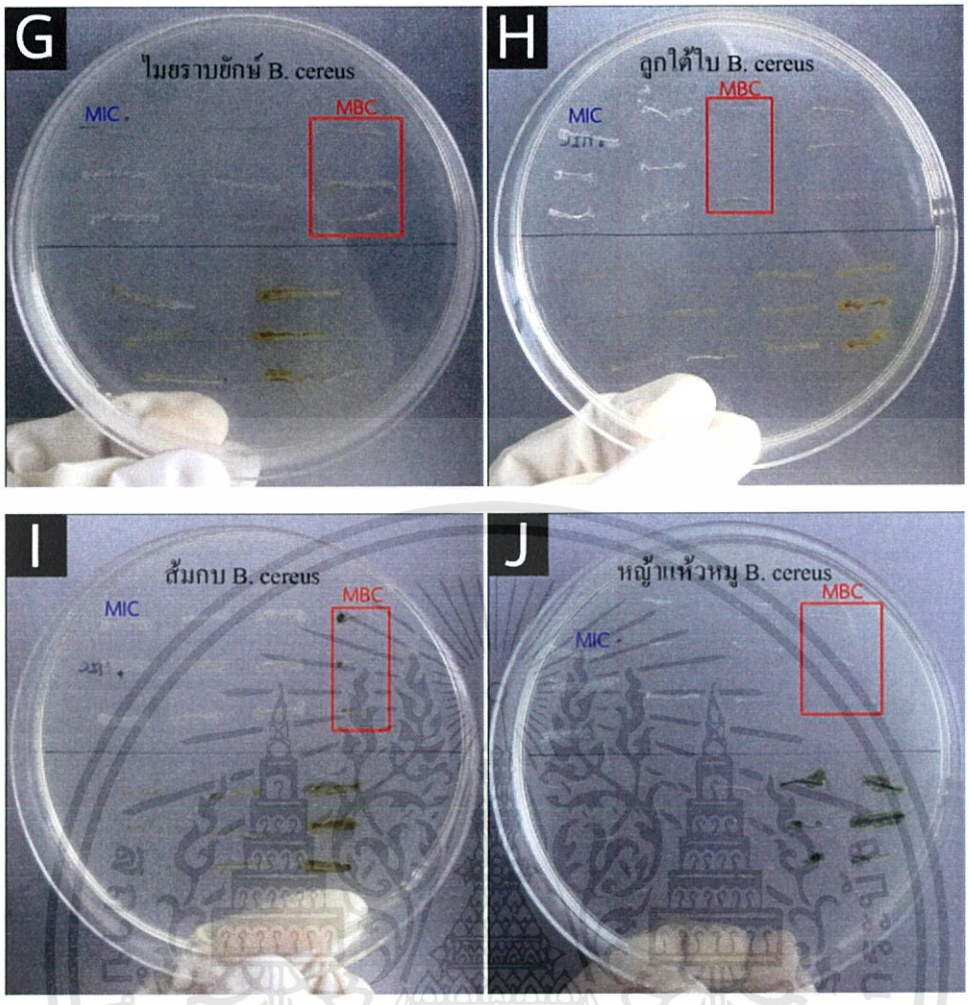
**MIC (สีน้ำเงิน) คือ รอยขีดค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

MBC (สีแดง) คือ รอยขีดค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย (ไม่มีรอยการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2 รูปภาพแสดงรอยขีดค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชจำนวน 10 ชนิด ที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 (Minimum bactericidal concentration : MBC)

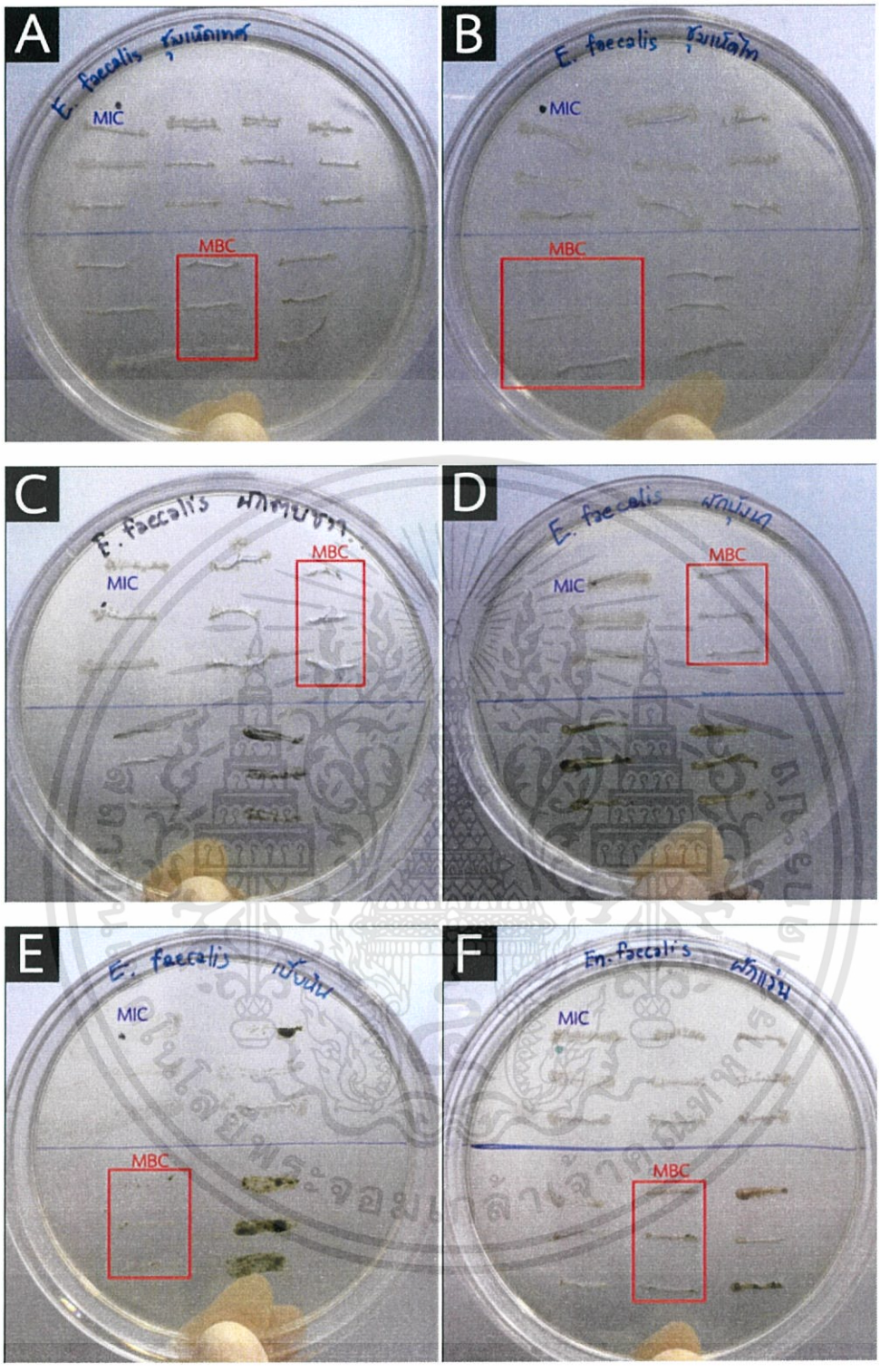
หมายเหตุ :

A คือ สารสกัดจากชุมเห็ดเทศ ที่ค่า MBC = 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
B คือ สารสกัดจากชุมเห็ดไท ที่ค่า MBC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
C คือ สารสกัดจากผักตบชวา ที่ค่า MBC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
D คือ สารสกัดจากผักบุ้งนา ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
E คือ สารสกัดจากผักเบี้ยหิน ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
F คือ สารสกัดจากผักแว่น ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
G คือ สารสกัดจากไมยราบยักษ์ ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
H คือ สารสกัดจากลูกใต้ใบ ที่ค่า MBC = 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
I คือ สารสกัดจากส้มกบ ที่ค่า MBC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
J คือ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมู ที่ค่า MBC = 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

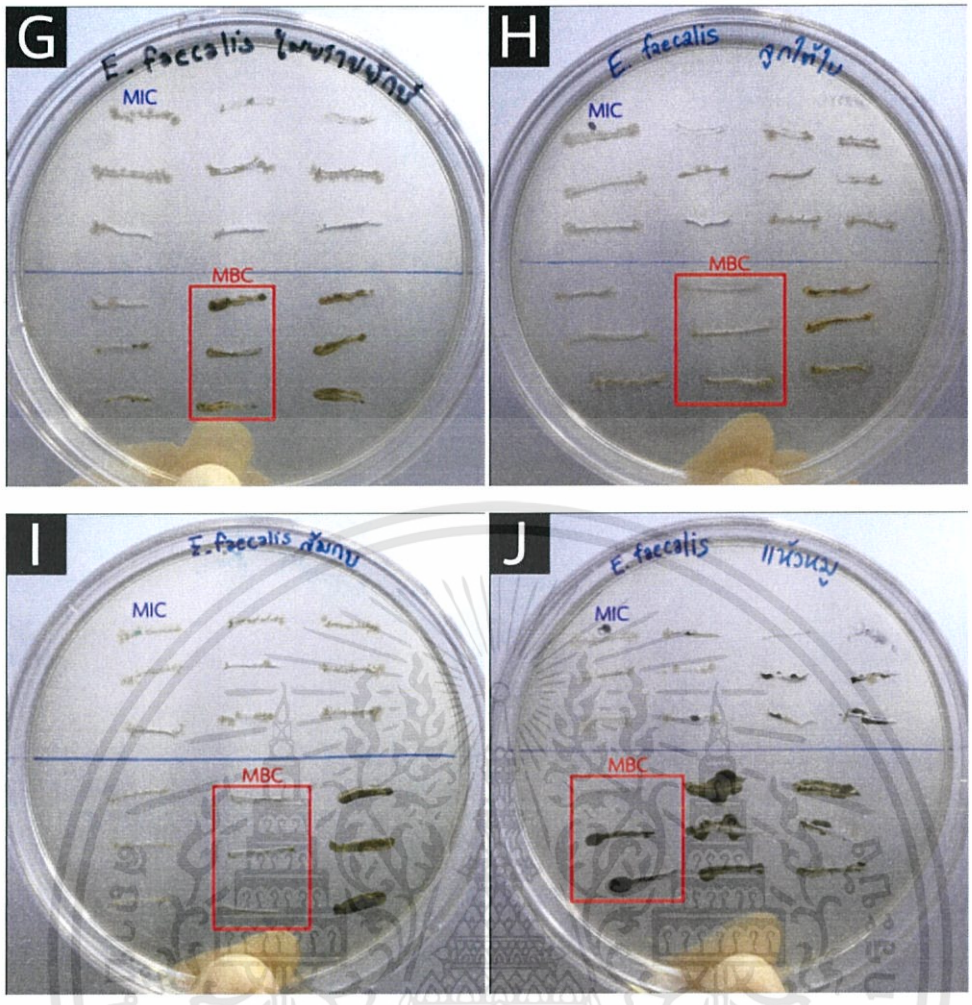
**MIC (สีน้ำเงิน) คือ รอยขีดค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

MBC (สีแดง) คือ รอยขีดค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย (ไม่มีรอยการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3 รูปภาพแสดงรอยขีดค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชจำนวน 10 ชนิด ที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546 (Minimum bactericidal concentration : MBC)

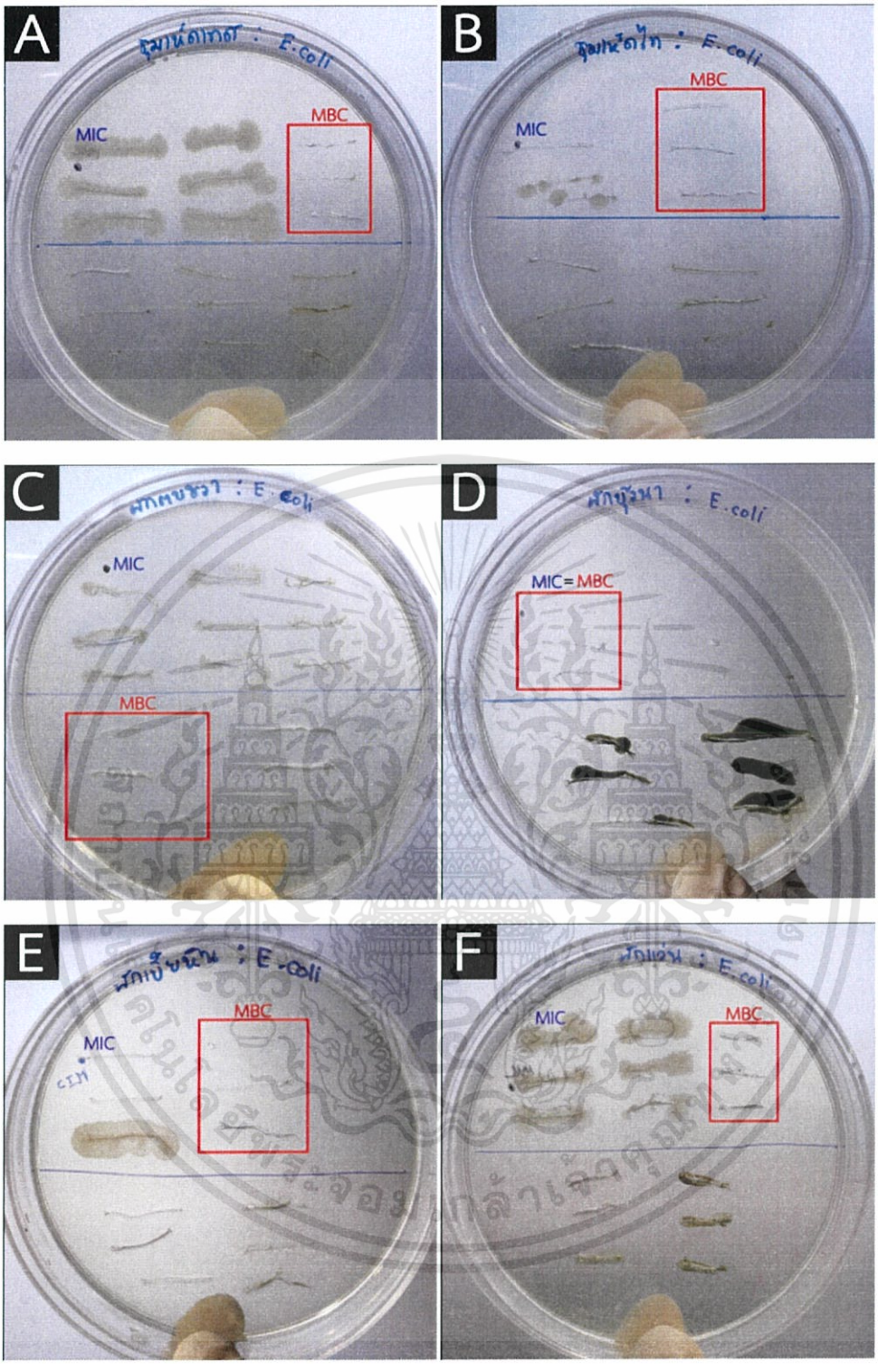
หมายเหตุ :

A คือ สารสกัดจากชุมเห็ดเทศ	ที่ค่า MBC = 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
B คือ สารสกัดจากชุมเห็ดไท	ที่ค่า MBC = 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
C คือ สารสกัดจากผักตบชวา	ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
D คือ สารสกัดจากผักบุ้งนา	ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
E คือ สารสกัดจากผักเบี้ยหิน	ที่ค่า MBC = 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
F คือ สารสกัดจากผักแว่น	ที่ค่า MBC = 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
G คือ สารสกัดจากไมยราบยักษ์	ที่ค่า MBC = 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
H คือ สารสกัดจากลูกใต้ใบ	ที่ค่า MBC = 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
I คือ สารสกัดจากส้มกบ	ที่ค่า MBC = 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
J คือ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมู	ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

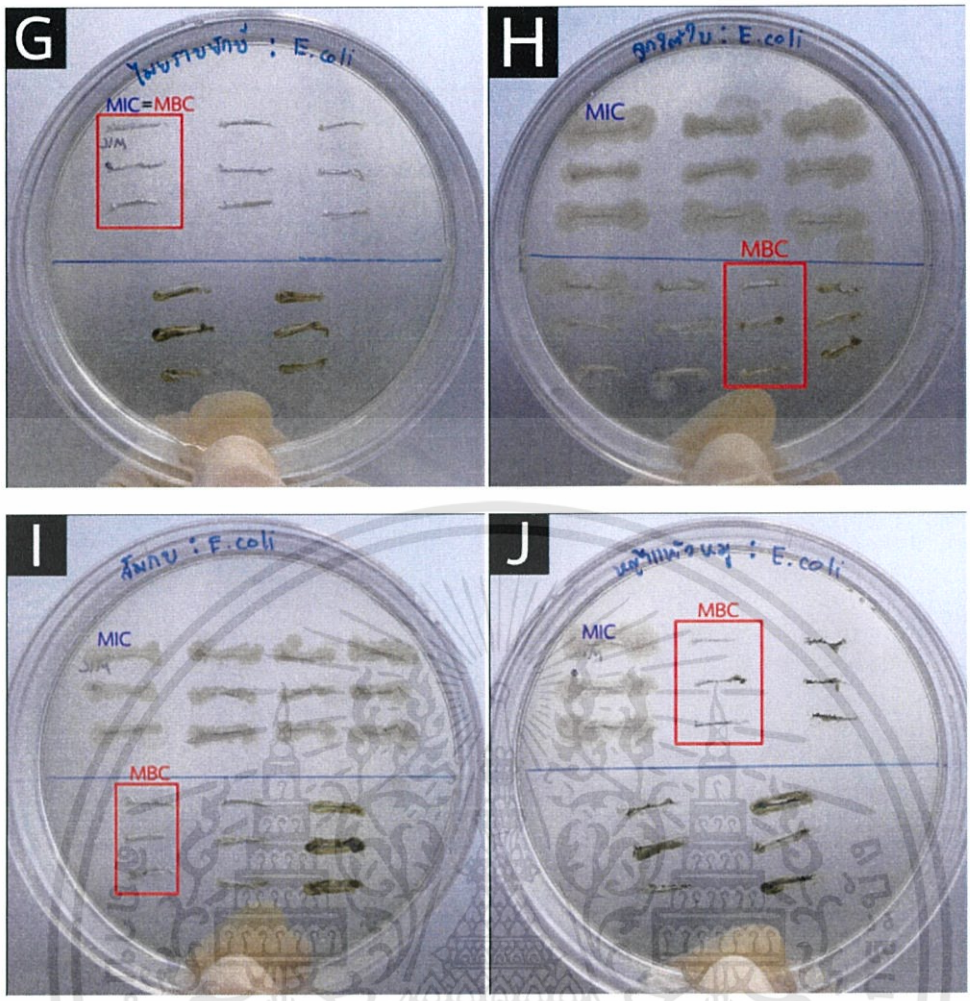
**MIC (สีน้ำเงิน) คือ รอยขีดค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

MBC (สีแดง) คือ รอยขีดค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย (ไม่มีรอยการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 รูปภาพแสดงรอยขีดค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชจำนวน 10 ชนิด ที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 (Minimum bactericidal concentration : MBC)

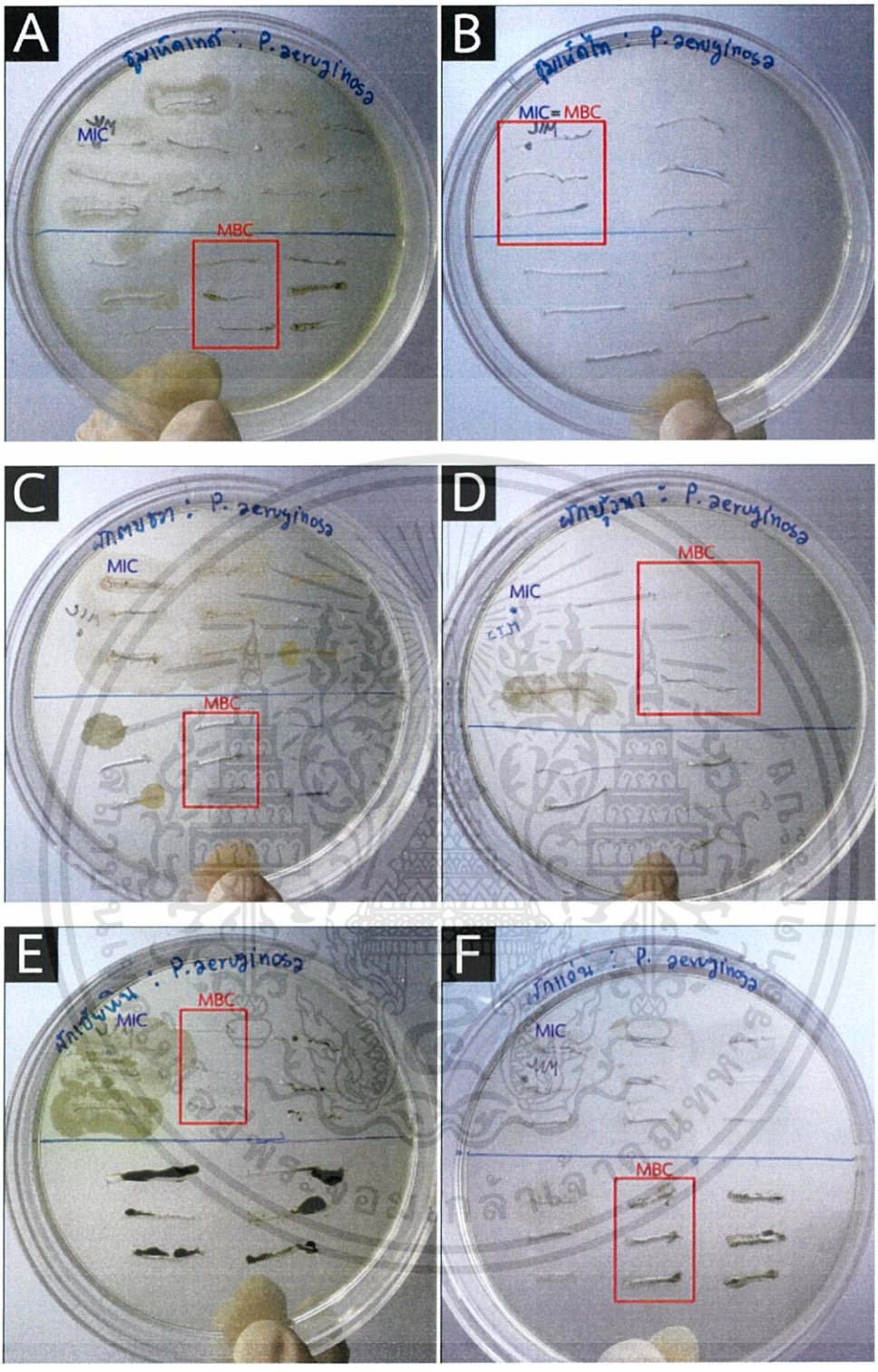
หมายเหตุ :

A คือ สารสกัดจากชุมเห็ดเทศ	ที่ค่า MBC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
B คือ สารสกัดจากชุมเห็ดไท	ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
C คือ สารสกัดจากผักตบชวา	ที่ค่า MBC = 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
D คือ สารสกัดจากผักบุ้งนา	ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
E คือ สารสกัดจากผักเบี้ยหิน	ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
F คือ สารสกัดจากผักแว่น	ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
G คือ สารสกัดจากไมยราบยักษ์	ที่ค่า MBC = 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
H คือ สารสกัดจากลูกใต้ใบ	ที่ค่า MBC = 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
I คือ สารสกัดจากส้มกบ	ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
J คือ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมู	ที่ค่า MBC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

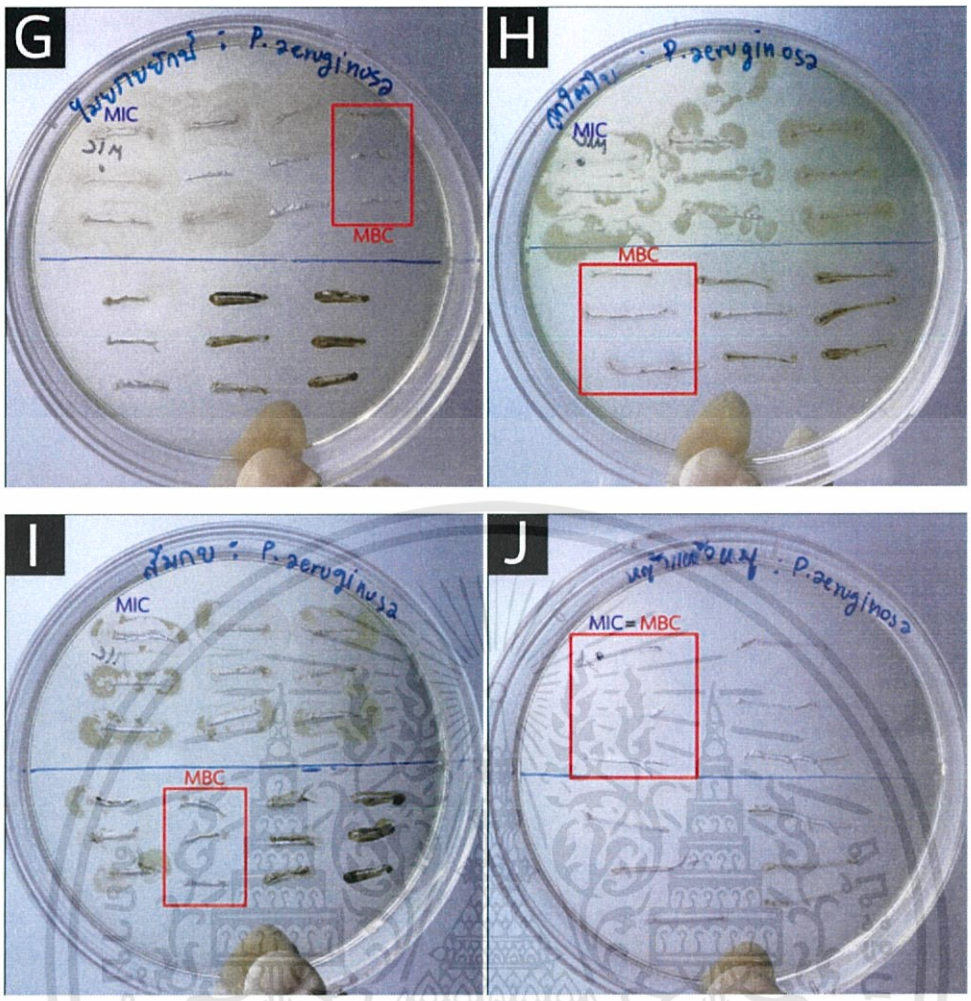
**MIC (สีน้ำเงิน) คือ รอยขีดค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

MBC (สีแดง) คือ รอยขีดค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย (ไม่มีรอยการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5รูปภาพแสดงรอยขีดค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชจำนวน 10 ชนิด ที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Minimum bactericidal concentration : MBC)

หมายเหตุ :

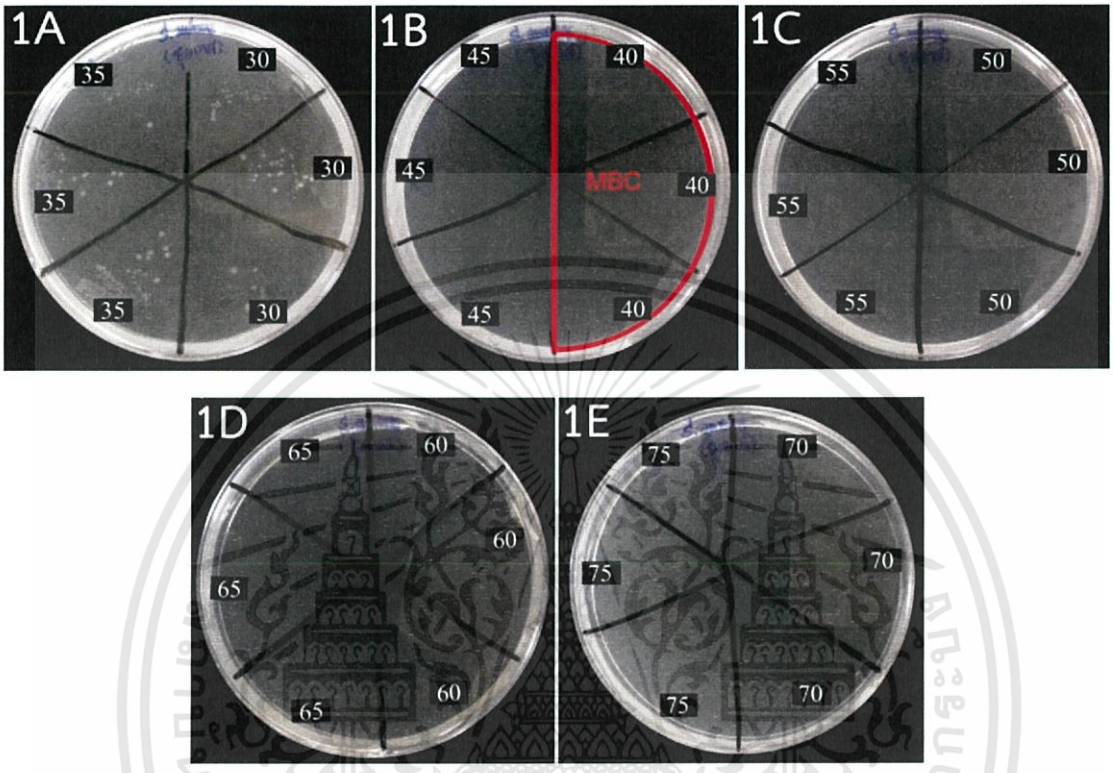
A คือ สารสกัดจากชุมเห็ดเทศ	ที่ค่า MBC = 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
B คือ สารสกัดจากชุมเห็ดไท	ที่ค่า MBC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
C คือ สารสกัดจากผักตบชวา	ที่ค่า MBC = 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
D คือ สารสกัดจากผักบุ้งนา	ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
E คือ สารสกัดจากผักเบี้ยหิน	ที่ค่า MBC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
F คือ สารสกัดจากผักแว่น	ที่ค่า MBC = 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
G คือ สารสกัดจากไมยราบยักษ์	ที่ค่า MBC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
H คือ สารสกัดจากลูกใต้ใบ	ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
I คือ สารสกัดจากส้มกบ	ที่ค่า MBC = 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
J คือ สารสกัดจากหญ้าแห้วหมู	ที่ค่า MBC = 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**MIC (สีน้ำเงิน) คือ รอยขีดค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

MBC (สีแดง) คือ รอยขีดค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากวัชพืชที่สามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย (ไม่มีรอยการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปภาพแสดงผลการหาความเข้มข้นต่ำสุดจากหลอดทดลอง เมื่อนำเชื้อมาเพาะลงในอาหารที่ปราศจากสารต้านเชื้อแบคทีเรียแล้วสามารถป้องกันไม่ให้เชื้อแบคทีเรียเกิดการเจริญได้ (Minimum bactericidal concentration; MBC) ในขนาดที่ใหญ่ขึ้น (MBC Big scale)

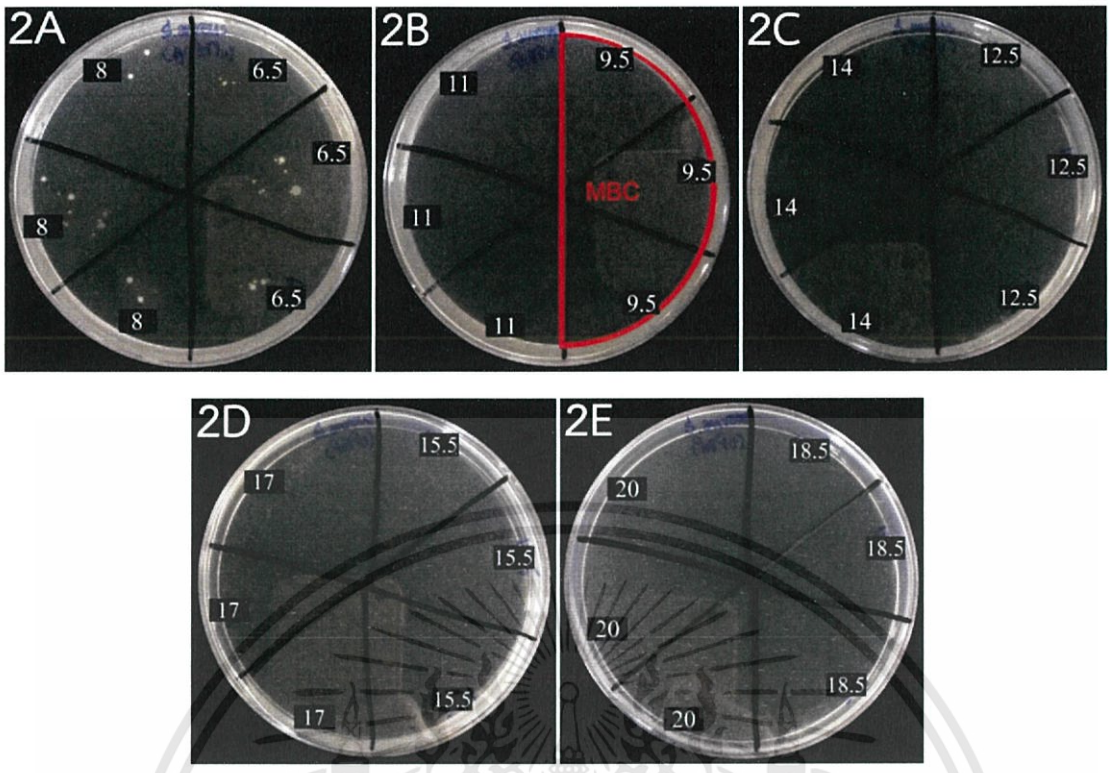


รูปที่ 1 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ (Minimum bactericidal concentration : MBC) ด้วยวิธีการขยายขนาดการทดลอง

จากการทดลองพบว่าฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปภาพ 1B)

หมายเหตุ : รูปภาพ 1A-1E คือ รูปภาพแสดงรอย streak ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ จากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

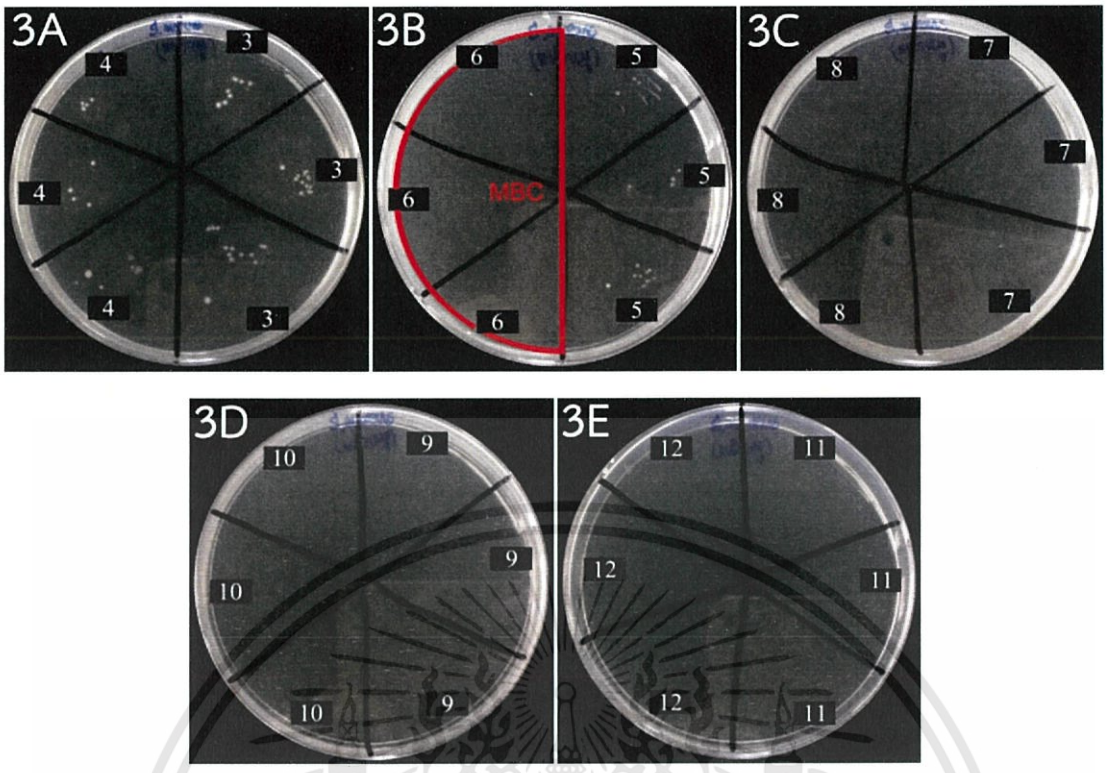


รูปที่ 2 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากลูกใต้ใบ (Minimum bactericidal concentration : MBC) ด้วยวิธีการขยายขนาดการทดลอง

จากการทดลองพบว่าฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ของสารสกัดจากลูกใต้ใบมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 9.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปภาพ 2B)

หมายเหตุ : รูปภาพ 2A-2E คือ รูปภาพแสดงรอย streak ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากลูกใต้ใบ จากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

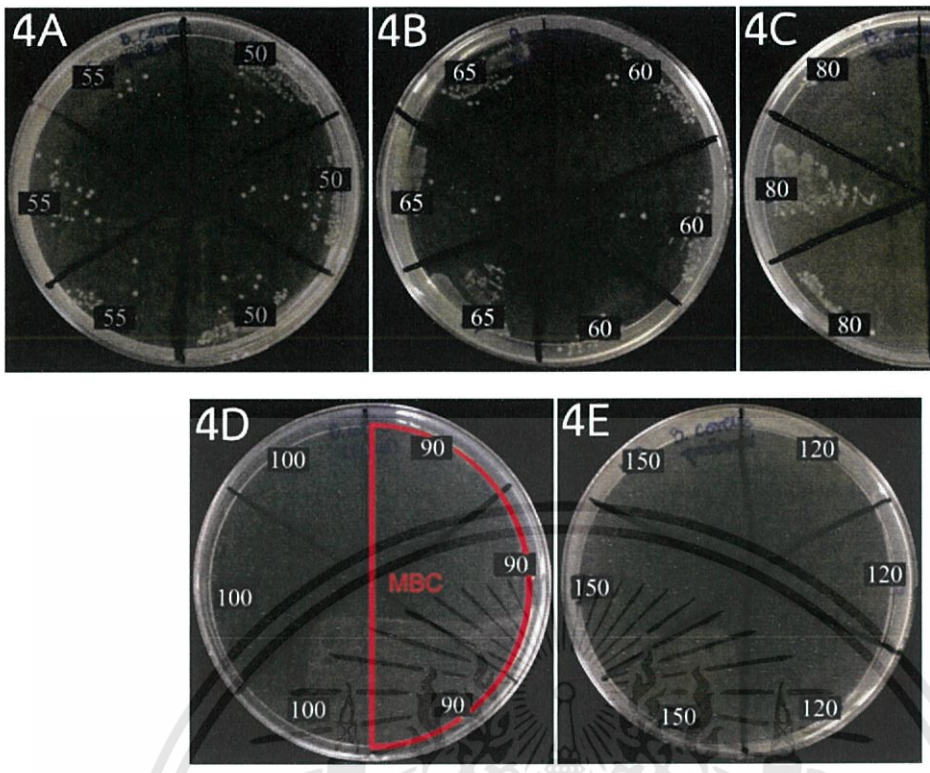


รูปที่ 3 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมู (Minimum bactericidal concentration : MBC) ด้วยวิธีการขยายขนาดการทดลอง

จากการทดลองพบว่าฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมูมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปภาพ 3B)

หมายเหตุ : รูปภาพ 3A-3E คือ รูปภาพแสดงรอย streak ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมู จากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

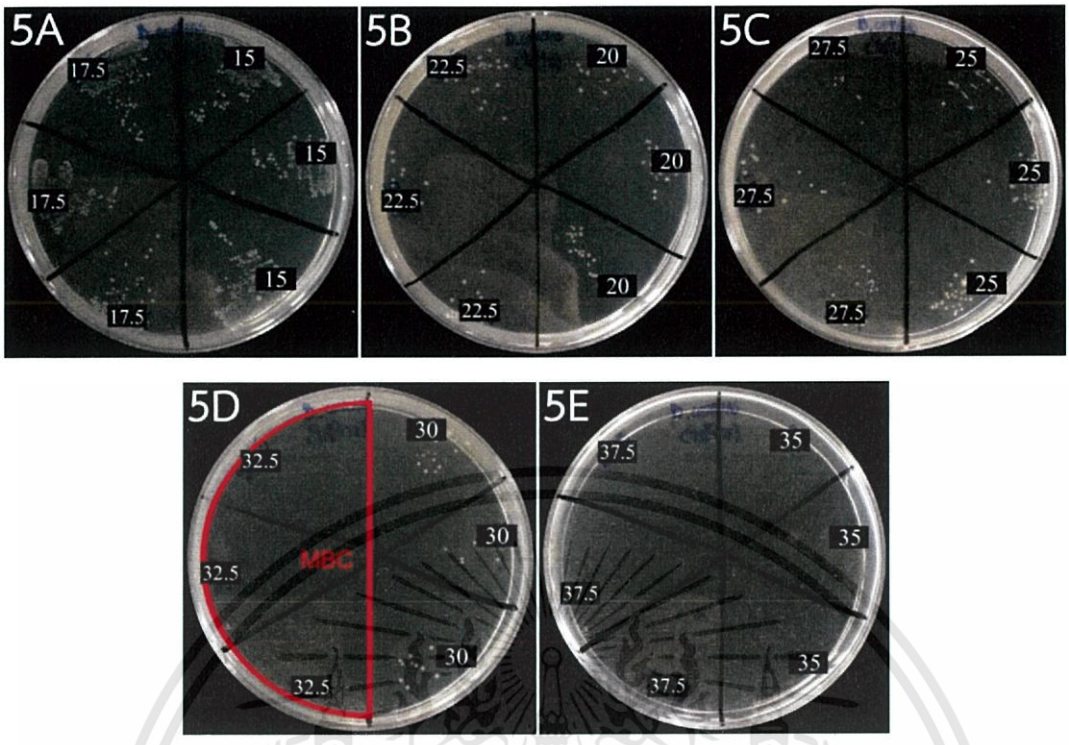


รูปที่ 4 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ (Minimum bactericidal concentration : MBC) ด้วยวิธีการขยายขนาดการทดลอง

จากการทดลองพบว่าฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* ของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 90 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปภาพ 4D)

หมายเหตุ : รูปภาพ 4A-4E คือ รูปภาพแสดงรอย streak ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ จากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

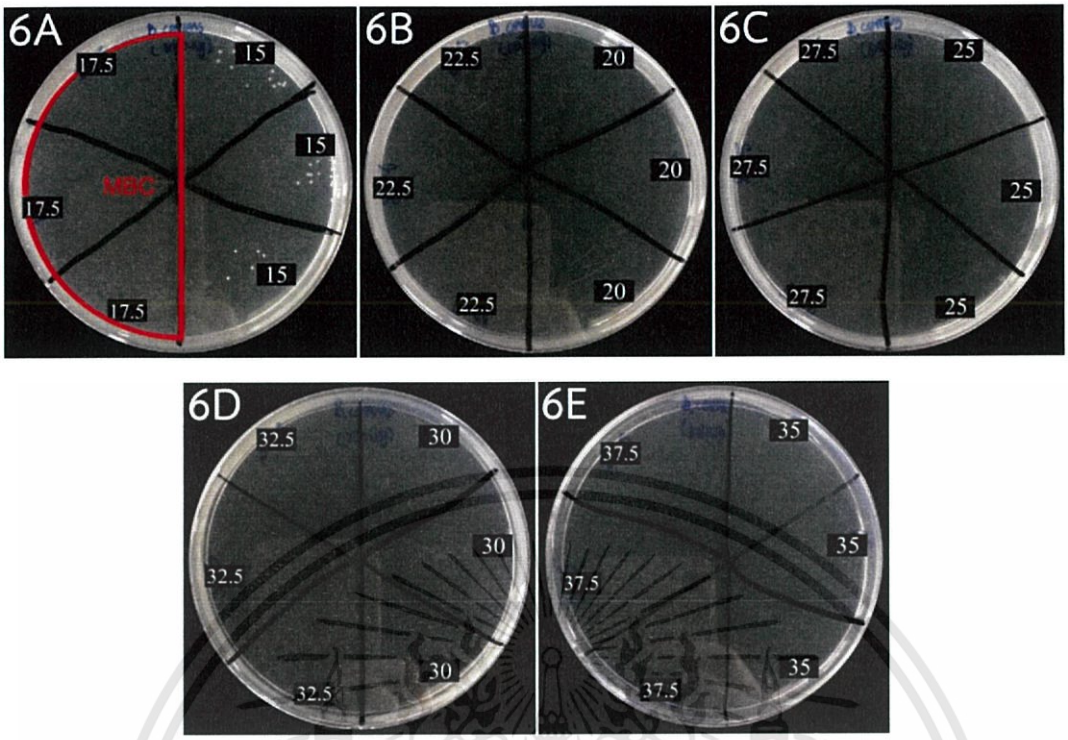


รูปที่ 5 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากลูกใต้ใบ (Minimum bactericidal concentration : MBC) ด้วยวิธีการขยายขนาดการทดลอง

จากการทดลองพบว่าฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* ของสารสกัดจากลูกใต้ใบมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 32.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปภาพ 5D)

หมายเหตุ : รูปภาพ 5A-5E คือ รูปภาพแสดงรอย streak ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากลูกใต้ใบจากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

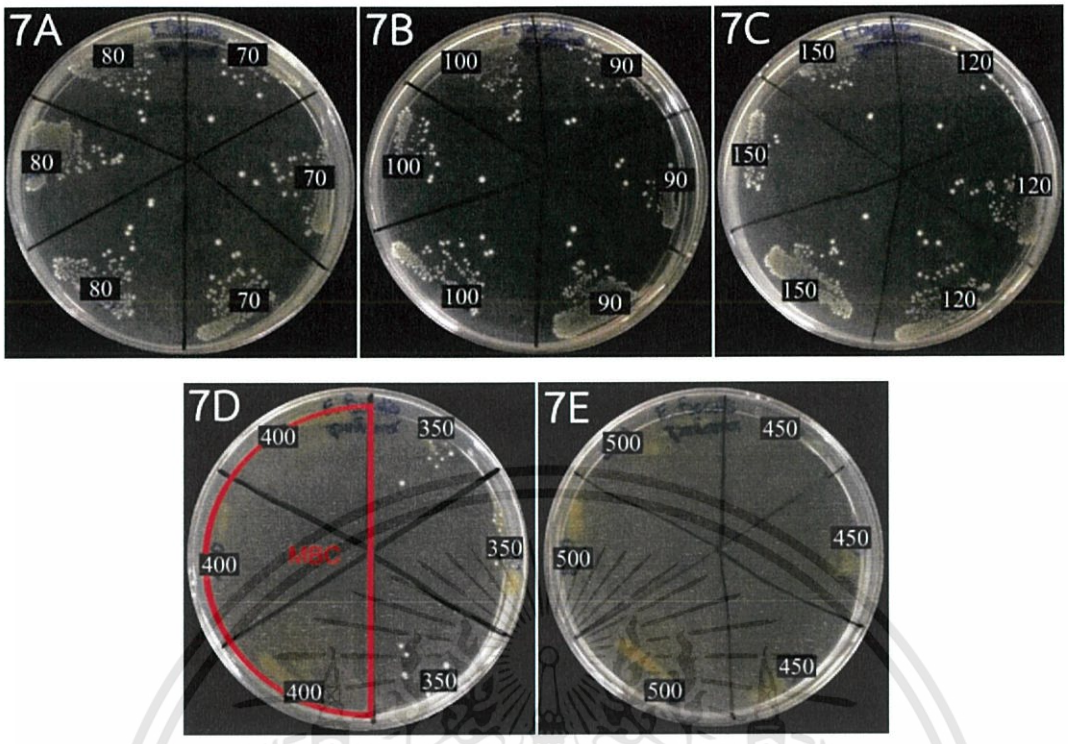


รูปที่ 6 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมู (Minimum bactericidal concentration : MBC) ด้วยวิธีการขยายขนาดการทดลอง

จากการทดลองพบว่าฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* ของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมูมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 17.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปภาพ 6A)

หมายเหตุ : รูปภาพ 6A-6E คือ รูปภาพแสดงรอย streak ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมูจากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

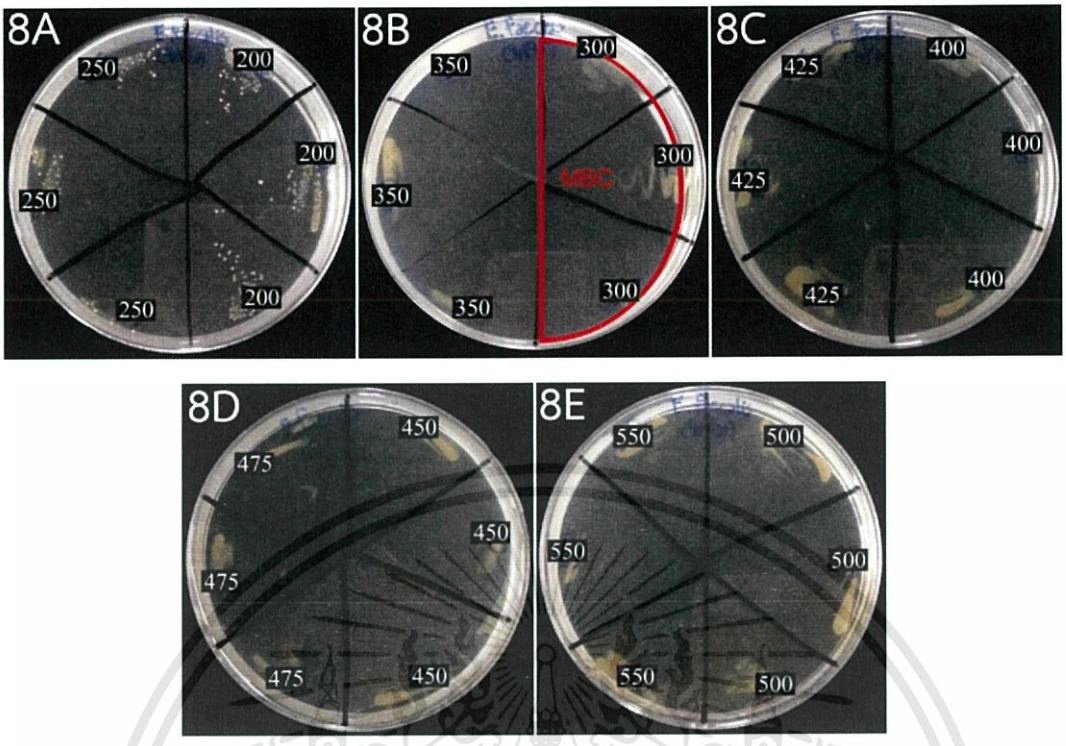


รูปที่ 7 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546 ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ (Minimum bactericidal concentration : MBC) ด้วยวิธีการขยายขนาดการทดลอง

จากการทดลองพบว่าฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis* ของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปภาพ 7D)

หมายเหตุ : รูปภาพ 7A-7E คือ รูปภาพแสดงรอย streak ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ จากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

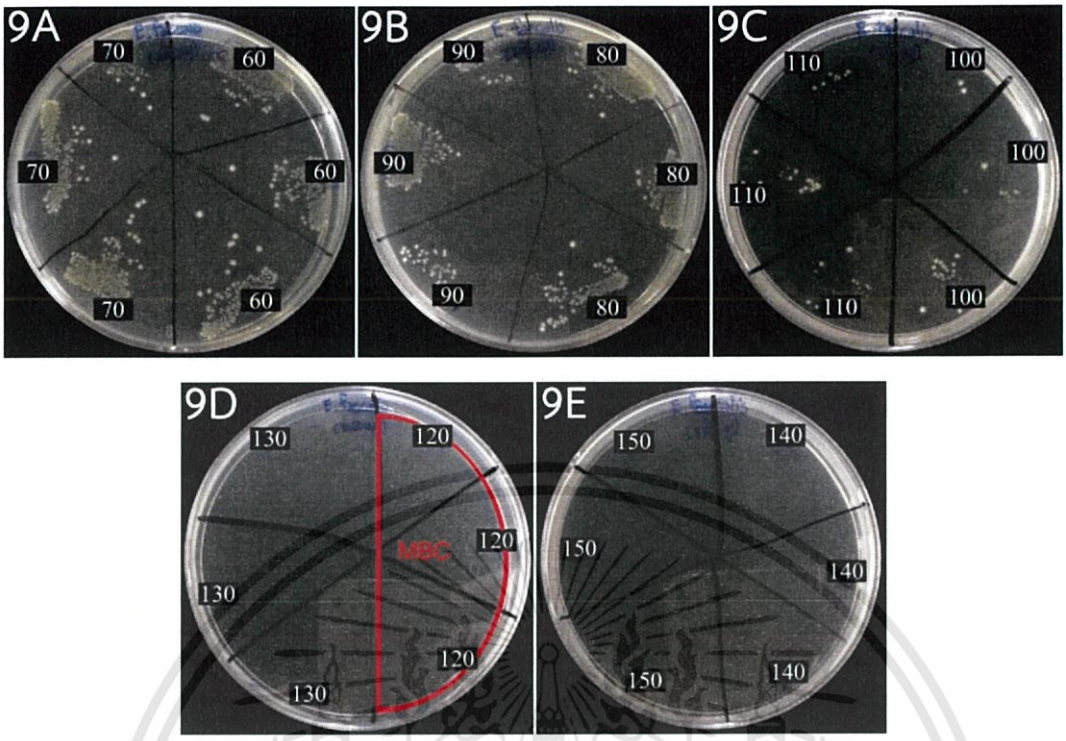


รูปที่ 8 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546 ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากลูกใต้ใบ (Minimum bactericidal concentration : MBC) ด้วยวิธีการขยายขนาดการทดลอง

จากการทดลองพบว่าฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis* ของสารสกัดจากลูกใต้ใบมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปภาพ 8B)

หมายเหตุ : รูปภาพ 8A-8E คือ รูปภาพแสดงรอย streak ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากลูกใต้ใบ จากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

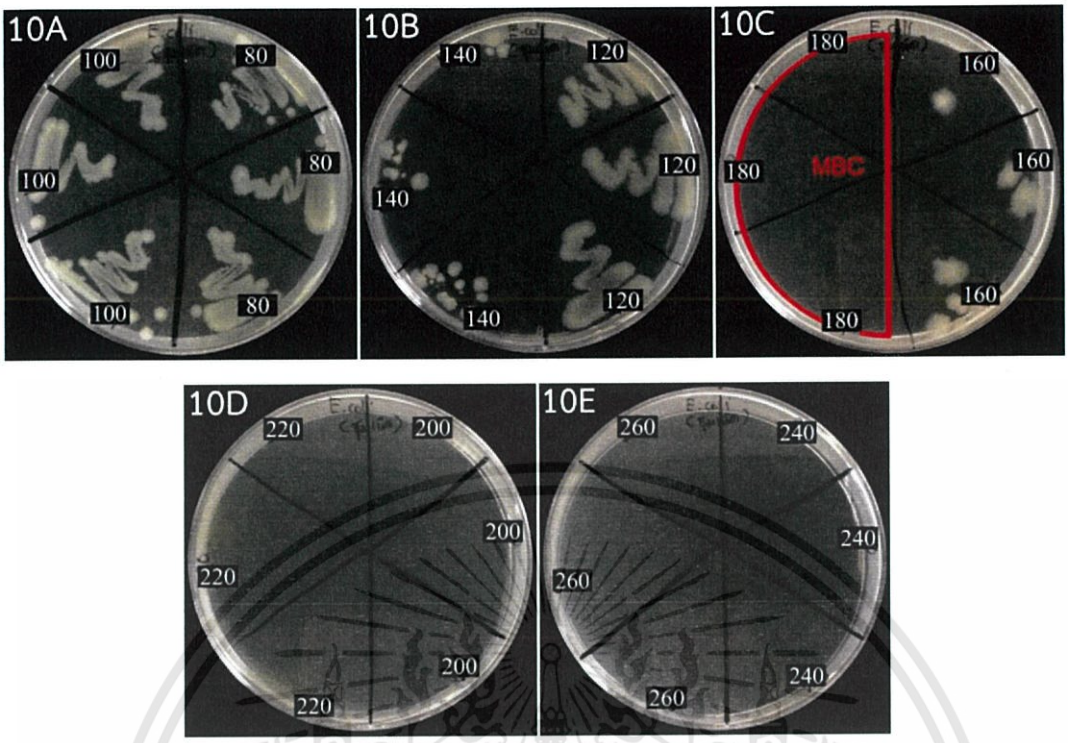


รูปที่ 9 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546 ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมู (Minimum bactericidal concentration : MBC) ด้วยวิธีการขยายขนาดการทดลอง

จากการทดลองพบว่าฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis* ของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมูมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 120 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปภาพ 9D)

หมายเหตุ : รูปภาพ 9A-9E คือ รูปภาพแสดงรอย streak ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมู จากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

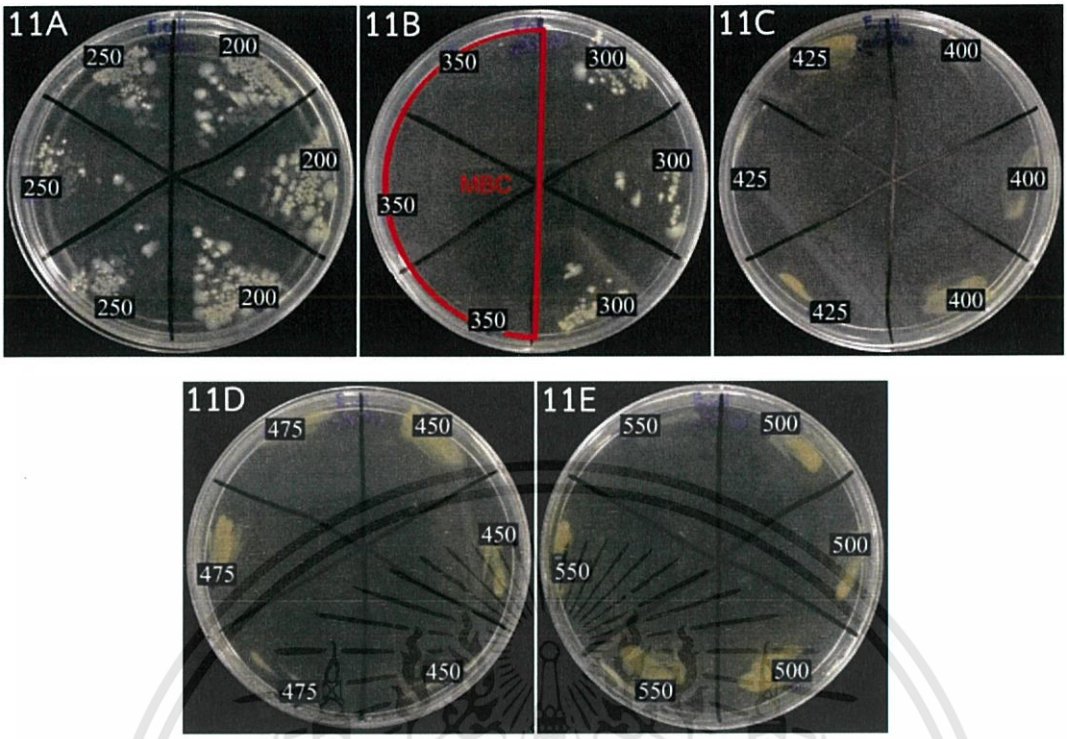


รูปที่ 10 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ (Minimum bactericidal concentration : MBC) ด้วยวิธีการขยายขนาดการทดลอง

จากการทดลองพบว่าฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 180 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปภาพ 10C)

หมายเหตุ : รูปภาพ 10A-10E คือ รูปภาพแสดงรอย streak ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ จากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

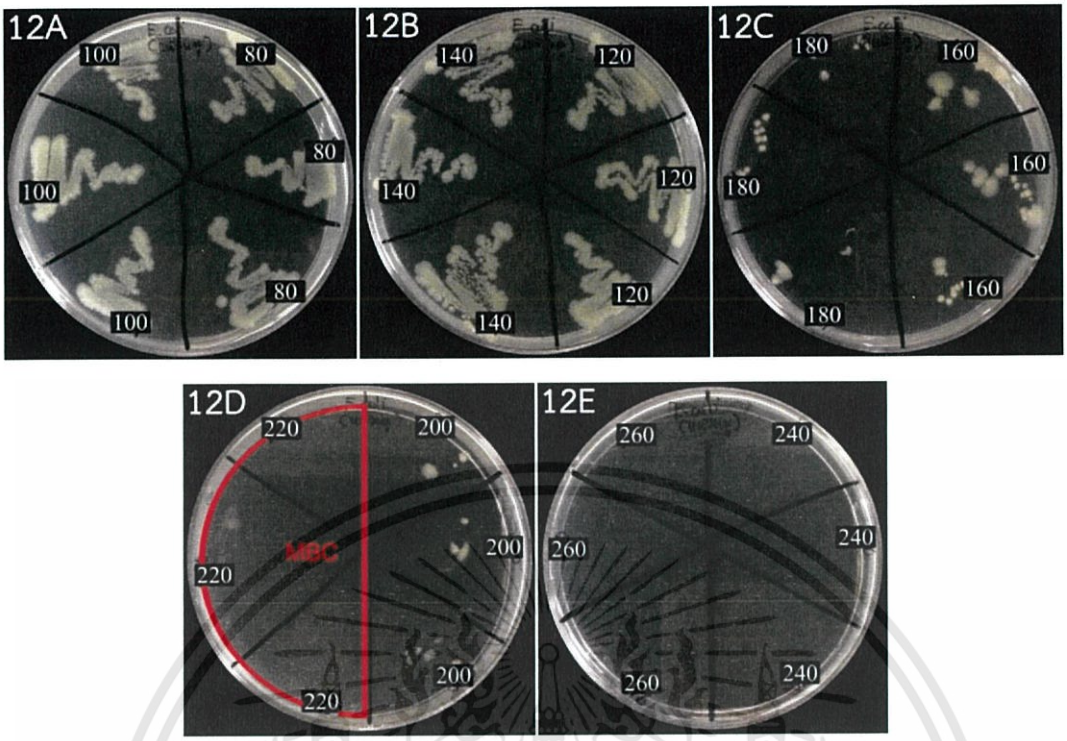


รูปที่ 11 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากลูกใต้ใบ (Minimum bactericidal concentration : MBC) ด้วยวิธีการขยายขนาดการทดลอง

จากการทดลองพบว่าฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ของสารสกัดจากลูกใต้ใบมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 350 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปภาพ 11B)

หมายเหตุ : รูปภาพ 11A-11E คือ รูปภาพแสดงรอย streak ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากลูกใต้ใบ จากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

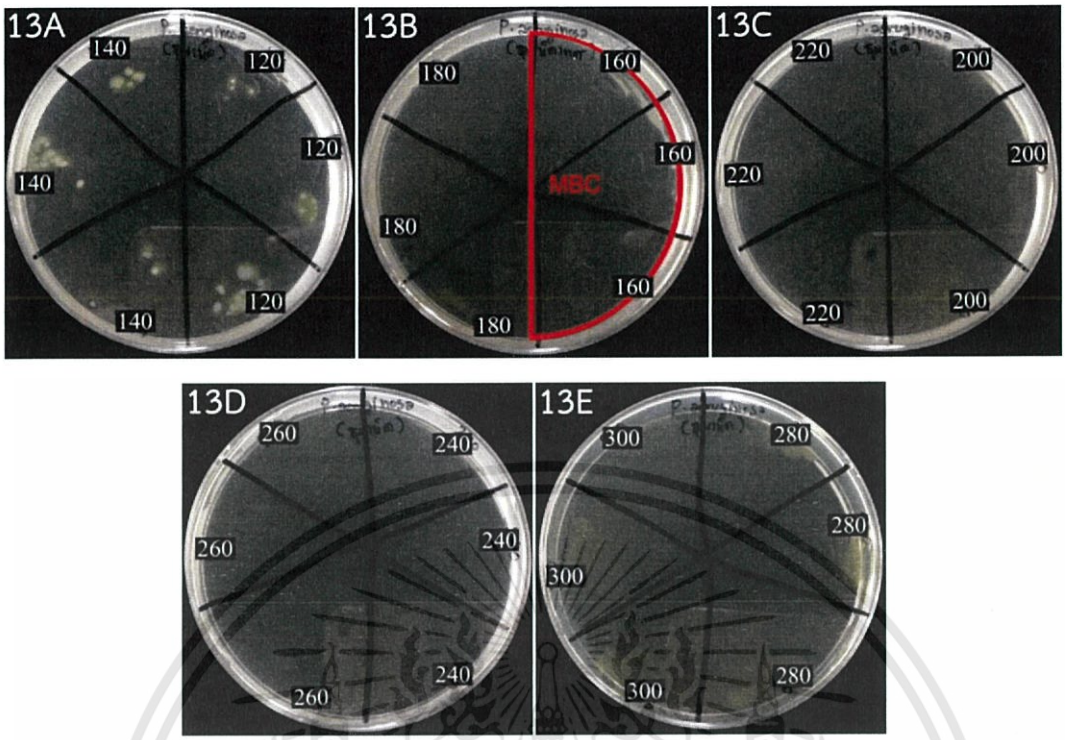


รูปที่ 12 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมู (Minimum bactericidal concentration : MBC) ด้วยวิธีการขยายขนาดการทดลอง

จากการทดลองพบว่าฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมู มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 350 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปภาพ 12D)

หมายเหตุ : รูปภาพ 12A-12E คือ รูปภาพแสดงรอย streak ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมู จากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

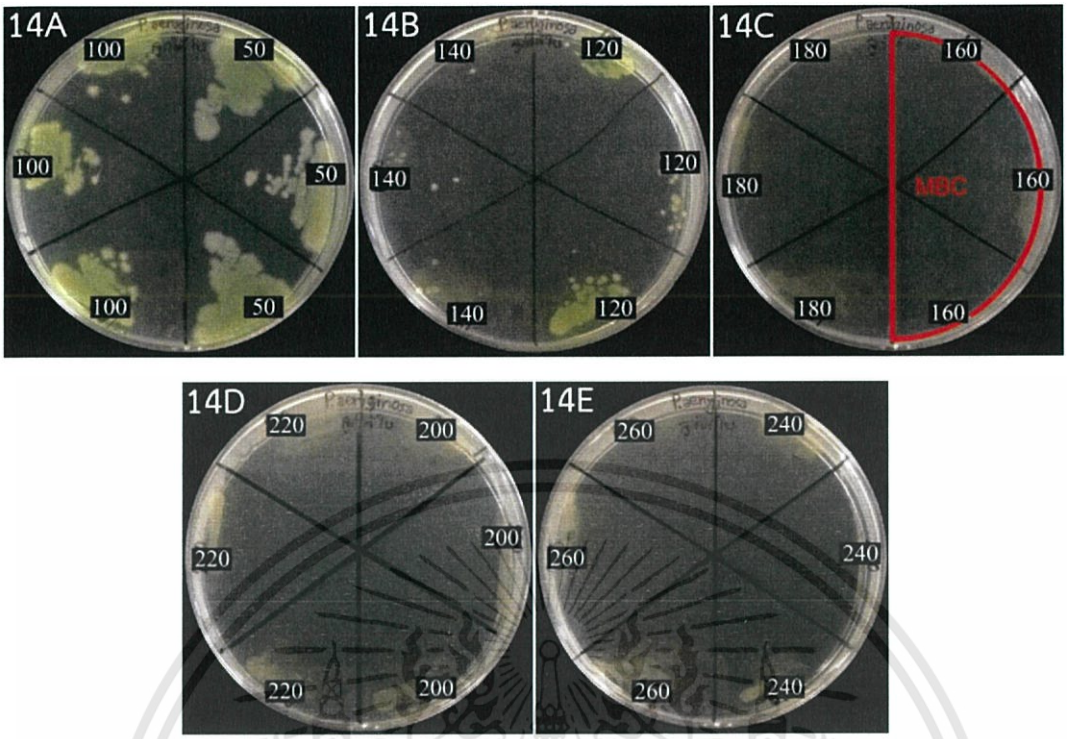


รูปที่ 13 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ (Minimum bactericidal concentration : MBC) ด้วยวิธีการขยายขนาดการทดลอง

จากการทดลองพบว่าฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 160 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปภาพ 13B)

หมายเหตุ : รูปภาพ 13A-13E คือ รูปภาพแสดงรอย streak ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ จากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

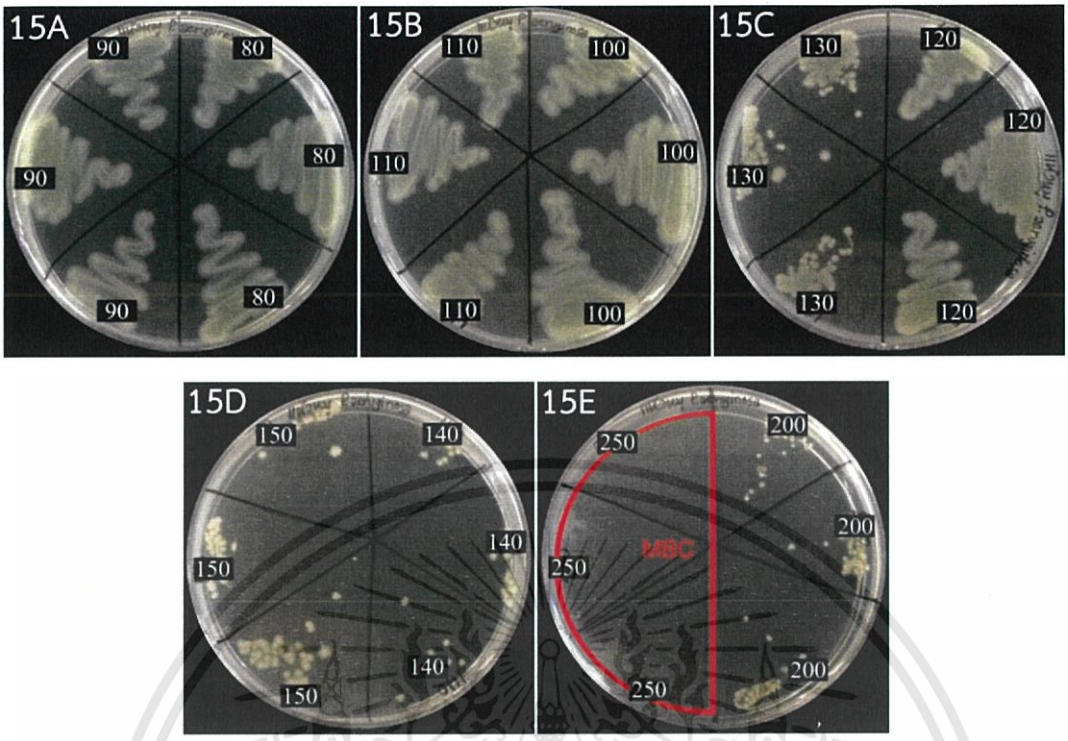


รูปที่ 14 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากลูกใต้ใบ (Minimum bactericidal concentration : MBC) ด้วยวิธีการขยายขนาดการทดลอง

จากการทดลองพบว่าฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ของสารสกัดจากลูกใต้ใบมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 160 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปภาพ 14C)

หมายเหตุ : รูปภาพ 14A-14E คือ รูปภาพแสดงรอย streak ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากลูกใต้ใบ จากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 15 รูปภาพแสดงการศึกษาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมู (Minimum bactericidal concentration : MBC) ด้วยวิธีการขยายขนาดการทดลอง

จากการทดลองพบว่าฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa* ของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมูมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดเท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (รูปภาพ 15E)

หมายเหตุ : รูปภาพ 15A-15E คือ รูปภาพแสดงรอย streak ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมู จากความเข้มข้นต่ำไปยังความเข้มข้นสูงตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ผลการวัดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ที่ยังไม่ได้ลบค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของดิสก์ยาออก ซึ่งเป็นการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจากสารสกัดของวัชพืชจำนวน 10 ชนิดด้วยวิธี Disc diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ตารางแสดงขนาดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P

ขนาดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P (มิลลิเมตร)										
สารสกัด/จำนวนซ้ำ	ชุมเห็ดไท	ชุมเห็ดเทศ	ลูกใต้ใบ	หญ้าแห้วหมู	ผักแว่น	ส้มกบ	ผักตบชวา	ผักบุ้งนา	ไมยราบยักษ์	ผักเบี้ยหิน
1	8	13	16	12	8.50	9	8.50	8.50	12	6
2	7.50	13	18	12	10	8.50	6	8	11	6
3	9	12	18	10	10	9	6	9	9	6
4	8.50	11	19	12	9	11	9	9.50	12	6
5	8	12	17	12	9	12	7	9.50	12	6
6	9	11	19	9	10	11	6.50	9.50	8	6
ค่าเฉลี่ย	8.33	12.00	17.83	11.17	9.42	10.08	7.17	9.00	10.67	6.00
ยาแวนโคมัยซิน	19	19	19	19	19	18	18	20	18	19
เมทานอล	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

หมายเหตุ : ขนาดของบริเวณยับยั้ง = (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดิสก์และบริเวณยับยั้งของเชื้อ) - ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดิสก์ยา (6 มิลลิเมตร)

ตารางที่ 2 ตารางแสดงขนาดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687

ขนาดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* TISTR 687 (มิลลิเมตร)										
สารสกัด/จำนวนซ้ำ	ชุมเห็ดไท	ชุมเห็ดเทศ	ลูกใต้ใบ	หญ้าแห้วหมู	ผักแว่น	ส้มกบ	ผักตบชวา	ผักบุ้งนา	ไมยราบยักษ์	ผักเบี้ยหิน
1	11	15	16.50	11	9	11	10	10	9.50	6
2	12	15	16	12	9.50	10	9.50	10	9.50	6
3	12	14.50	16.50	12.50	8.50	10	9.50	13.50	7	6
4	15	15	17.50	12	9.50	13	10	10	11	6
5	14	14.50	15.50	11	9.50	12	10	10	11	6
6	13	14.50	15	11.50	9	12.50	10	9	11	6
ค่าเฉลี่ย	12.83	14.75	16.17	11.67	9.17	11.42	9.83	10.42	8.00	6.00
ยาแวนโคมัยซิน	22	24.50	23.50	23	23.50	23	24	21	22	23
เมทานอล	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

หมายเหตุ : ขนาดของบริเวณยับยั้ง = (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดิสก์และบริเวณยับยั้งของเชื้อ) - ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดิสก์ยา (6 มิลลิเมตร)

ตารางที่ 3 ตารางแสดงขนาดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546

ขนาดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* TBRC 1546 (มิลลิเมตร)										
สารสกัด/จำนวนซ้ำ	ชุมเห็ดไท	ชุมเห็ดเทศ	ลูกใต้ใบ	หญ้าแห้วหมู	ผักแว่น	ส้มกบ	ผักตบชวา	ผักบุ้งนา	ไมยราบยักษ์	ผักเบี้ยหิน
1	11	9	15	13	12	9	11	7.50	9	7
2	11	11	14	13	12	9	8	7.50	10	6
3	12	10	15	12.50	12	9	9	7.50	10	6
4	9	10	15	12	12	9	9	7	10	7
5	11	9	14	11	11	10	8.5	7	10	6.50
6	11	11	13	13	10	9	10	6.5	11	6
ค่าเฉลี่ย	9.00	8.17	12.17	10.25	9.83	7.67	7.58	6.08	8.17	5.42
ยาแวนโคมัยซิน	17.50	17.50	17.50	17.50	17.50	17.50	17.50	17.50	17.50	17.50
เมทานอล	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

หมายเหตุ : ขนาดของบริเวณยับยั้ง = (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดิสก์และบริเวณยับยั้งของเชื้อ) - ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดิสก์ยา (6 มิลลิเมตร)

ตารางที่ 4 ตารางแสดงขนาดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739

ขนาดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ATCC 8739 (มิลลิเมตร)										
สารสกัด/จำนวนซ้ำ	ชุมเห็ดไท	ชุมเห็ดเทศ	ลูกใต้ใบ	หญ้าแห้วหมู	ผักแว่น	ส้มกบ	ผักตบชวา	ผักบุ้งนา	ไมยราบยักษ์	ผักเบี้ยหิน
1	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
2	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
3	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
4	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
ค่าเฉลี่ย	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
ยาเจนตามัยซิน	21	21	20	20	20	20	20	22	21	20
เมทานอล	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6

หมายเหตุ : ขนาดของบริเวณยับยั้ง = (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดิสก์และบริเวณยับยั้งของเชื้อ) - ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดิสก์ยา (6 มิลลิเมตร)

ตารางที่ 5 ตารางแสดงขนาดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

ขนาดบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (มิลลิเมตร)										
สารสกัด/จำนวนซ้ำ	ชุมเห็ดไท	ชุมเห็ดเทศ	ลูกใต้ใบ	แห้วหมู	ผักแว่น	ส้มกบ	ผักตบ	ผักบุ้งนา	ไมยราพ	เบี้ยหิน
1	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
2	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
3	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
4	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
ค่าเฉลี่ย	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
ยาเจนตามัยซิน	24.50	24.50	25	25	25	24.50	25	25	25	25

หมายเหตุ : ขนาดของบริเวณยับยั้ง = (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดิสก์และบริเวณยับยั้งของเชื้อ) - ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของดิสก์ยา (6 มิลลิเมตร)

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ทำการคำนวณค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Minitab 16.1 แบบ One-Way ANOVA ตามวิธีของ Tukey's

Results for: Minitab worksheet.MTW
General Linear Model: C3 versus C1, C2

```
Factor  Type   Levels  Values
C1      fixed      13  1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13
C2      fixed       5  1, 2, 3, 4, 5

Analysis of Variance for C3, using Adjusted SS for Tests

Source   DF   Seq SS   Adj SS  Adj MS       F      P
C1       12  2191.08  2191.08  182.59  399.94  0.000
C2        4  1062.47  1062.47  265.62  581.81  0.000
C1*C2    48  4629.24  4629.24   96.44  211.25  0.000
Error   325   148.37   148.37    0.46
Total   389  8031.17

S = 0.675676   R-Sq = 98.15%   R-Sq(adj) = 97.79%

Unusual Observations for C3

Obs       C3      Fit  SE Fit  Residual  St Resid
 37  11.0000  12.8333  0.2758   -1.8333     -2.97 R
 40  15.0000  12.8333  0.2758    2.1667      3.51 R
 46   9.0000  10.8333  0.2758   -1.8333     -2.97 R
 61   8.5000   7.1667  0.2758    1.3333      2.16 R
 64   9.0000   7.1667  0.2758    1.8333      2.97 R
 73  11.0000   9.2500  0.2758    1.7500      2.84 R
 74   8.0000   9.2500  0.2758   -1.2500     -2.03 R
 99  13.5000  10.4167  0.2758    3.0833      5.00 R
102   9.0000  10.4167  0.2758   -1.4167     -2.30 R
168  10.0000  11.5000  0.2758   -1.5000     -2.43 R
181  12.0000  10.6667  0.2758    1.3333      2.16 R
183   9.0000  10.6667  0.2758   -1.6667     -2.70 R
184  12.0000  10.6667  0.2758    1.3333      2.16 R
185  12.0000  10.6667  0.2758    1.3333      2.16 R
186   8.0000  10.6667  0.2758   -2.6667     -4.32 R
189   7.0000   9.8333  0.2758   -2.8333     -4.59 R
211  16.0000  17.8333  0.2758   -1.8333     -2.97 R
220  17.5000  16.1667  0.2758    1.3333      2.16 R
228  13.0000  14.3333  0.2758   -1.3333     -2.16 R
242   8.5000  10.0833  0.2758   -1.5833     -2.57 R
245  12.0000  10.0833  0.2758    1.9167      3.11 R
248  10.0000  11.4167  0.2758   -1.4167     -2.30 R
249  10.0000  11.4167  0.2758   -1.4167     -2.30 R
250  13.0000  11.4167  0.2758    1.5833      2.57 R
276   9.0000  11.1667  0.2758   -2.1667     -3.51 R
287  11.0000  12.4167  0.2758   -1.4167     -2.30 R
351  22.0000  20.6667  0.2758    1.3333      2.16 R

R denotes an observation with a large standardized residual.
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

C1	C2	N	Mean	Grouping
12	5	6	24.7	A
11	2	6	23.1	A
12	4	6	20.7	B
11	1	6	19.0	C
8	1	6	17.8	C
11	3	6	17.5	C D
8	2	6	16.2	D E
1	2	6	14.8	E F
8	3	6	14.3	F G
2	2	6	12.8	G H
10	3	6	12.4	H I
1	1	6	12.0	H I J
10	2	6	11.7	H I J K
6	3	6	11.5	H I J K L
9	2	6	11.4	H I J K L M
10	1	6	11.2	I J K L M
2	3	6	10.8	I J K L M N
7	1	6	10.7	J K L M N O
4	2	6	10.4	J K L M N O P
9	1	6	10.1	K L M N O P
1	3	6	10.0	L M N O P
7	3	6	10.0	L M N O P
7	2	6	9.8	M N O P Q
3	2	6	9.8	M N O P Q
6	1	6	9.4	N O P Q
3	3	6	9.3	N O P Q
9	3	6	9.2	O P Q
6	2	6	9.2	O P Q
4	1	6	9.0	P Q
2	1	6	8.3	Q R
3	1	6	7.2	R S
4	3	6	7.2	R S
5	3	6	6.4	S
12	2	6	6.0	S
8	5	6	6.0	S
5	2	6	6.0	S
12	3	6	6.0	S
5	5	6	6.0	S
5	1	6	6.0	S
5	4	6	6.0	S
4	5	6	6.0	S
8	4	6	6.0	S
3	5	6	6.0	S
13	2	6	6.0	S
6	5	6	6.0	S
1	5	6	6.0	S
4	4	6	6.0	S
13	3	6	6.0	S
11	4	6	6.0	S
9	4	6	6.0	S
2	4	6	6.0	S
9	5	6	6.0	S

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3	4	6	6.0	S
2	5	6	6.0	S
13	5	6	6.0	S
13	1	6	6.0	S
12	1	6	6.0	S
10	5	6	6.0	S
10	4	6	6.0	S
13	4	6	6.0	S
1	4	6	6.0	S
7	5	6	6.0	S
11	5	6	6.0	S
6	4	6	6.0	S
7	4	6	6.0	S

Means that do not share a letter are significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้