



กิตติกรรมประกาศ

บทคัดย่อ

สารบัญ

สารบัญตาราง

สารบัญภาพ

รายการสัญลักษณ์และคำย่อ

บทที่ 1 บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

หน้า

ก

ข

จ

ซ

ณ

ฎ

1

1

3

ขอบเขตของการวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
พืชตัวอย่าง	6
เอื้องคำ	7
เอื้องกุหลาบกระเป๋าเปิด	8
กะระระร้อน	9
การสกัดสารจากพืช	10
การเลือกตัวทำละลายในการสกัดสารสำคัญของพืช	11
การทำสารสกัดให้เข้มข้น	12
สารพฤษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical)	13
อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ (Free radical and Antioxidants)	19
สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compounds)	22
สารประกอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoid Compound)	25
จุลินทรีย์ก่อโรค	26
การสกัดสารจากพืชแบบแช่หมัก	32
การเลือกตัวทำละลายในการสกัดสารสำคัญของพืช	33
การทำสารสกัดให้เข้มข้น	33
การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	34
การขยายพันธุ์กล้วยไม้	34
การใช้ปุ๋ยเคมีทดแทนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้	36

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	37
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย	43
3.1 พืชที่ใช้ในการศึกษา	43
3.2 เครื่องมือ วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี	43

3.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในวิจัย	45
3.4 การดำเนินงานวิจัย	45
3.4.1 การเตรียมสารสกัดจากดอกกล้วยไม้	45
3.4.2 การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical Screening)	46
การตรวจสอบแอนทราควิโนน (Anthraquinones)	46
การตรวจสอบเทอร์พีนอยด์ (Terpenoids)	46
การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)	46
การตรวจสอบซาโปนิน (Saponins)	46
การตรวจสอบแทนนิน (Tannins)	46
การตรวจสอบแอลคาลอยด์ (Alkaloids)	47
การตรวจสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiac glycoside)	47
3.4.3 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content)	47
3.4.4 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid Content)	48
3.4.5 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธีดีพีพีเอช (DPPH Method)	49
3.4.6 การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์	51
การเจือจางสารสกัดหยาบ	51
การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ	51
การทดสอบความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบด้วยวิธี	51
Agar well diffusion method	
วิธีวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโต	52
ของจุลินทรีย์	
3.4.7 การขยายพันธุ์กล้วยไม้ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	52
การเตรียมตัวอย่างพืช	52
การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	53
การศึกษาผลของอาหารวุ้นสูตร KS ความเข้มข้นต่าง ๆ และอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง	53
ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้ 3 ชนิดในสภาพปลอดเชื้อ	

	หน้า
การย้ายต้นอ่อนนอกปลูก	54
การวิเคราะห์ผล	54
บทที่ 4 ผลการวิจัย	55
ผลการเตรียมสารสกัดจากดอกกล้วยไม้	55
ผลการตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical Screening)	55
ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content : TPC)	56
ผลการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid Content: TFC)	57
ผลการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธีดีพีพีเอช (DPPH Method)	59
ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาดจากดอกกล้วยไม้	63
การศึกษาผลของอาหารรุ้นสูตร KS ความเข้มข้นต่าง ๆ และอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง	67
ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องคำในสภาพปลอดเชื้อ	
การศึกษาผลของอาหารรุ้นสูตร KS ความเข้มข้นต่าง ๆ และอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง	71
ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเปาเปิดในสภาพปลอดเชื้อ	
การศึกษาผลของอาหารรุ้นสูตร KS ความเข้มข้นต่าง ๆ และอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง	73
ต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยไม้กะระระร้อนในสภาพปลอดเชื้อ	
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	77
บรรณานุกรม	80
ประวัติผู้วิจัย	86

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ตัวอย่างสารพิษเคมีที่สกัดได้จากตัวทำละลายที่แตกต่างกัน	12
4.1 น้ำหนักสารสกัด ร้อยละผลผลิต (%yield) และลักษณะทางกายภาพของสารสกัด	55
4.2 ผลการตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ป่า 3 ชนิด	55
4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ป่า 3 ชนิด ในรูป มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ป่าตัวอย่าง (mgGAE.g ⁻¹)	57
4.4 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ป่า 3 ชนิด ในรูป มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ป่าตัวอย่าง (mgQE.g ⁻¹)	58
4.5 ค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ ดีพีพีเอช (% DPPH free-radical inhibition) และค่า ความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC ₅₀)	60
4.6 ช่วงความเข้มข้น ค่า IC ₅₀ และค่า VCEAC ของสารตัวอย่าง	62
4.7 ผลของสารสกัดจากดอกเอื้องคำต่อการยับยั้งเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์	63
4.8 ผลของสารสกัดหยาบจากดอกเอื้องกุหลาบกระเปาะเปิดต่อการยับยั้งการเจริญเติบโต ของเชื้อจุลินทรีย์	64
4.9 ผลของสารสกัดหยาบจากดอกกะเหรี่ยงต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์	66
4.10 ความสูงและความยาวใบเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของต้นอ่อนเอื้องคำภายหลังการ เพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตรต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน	68
4.11 การเจริญเติบโตของต้นอ่อนเอื้องกุหลาบกระเปาะเปิดที่เลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร KS ความ เข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบกับสูตร VW ที่อุณหภูมิ 25°C และอุณหภูมิห้องเฉลี่ย 29.9°C เป็นเวลา 3 เดือน	72
4.12 การเจริญเติบโตของต้นอ่อนกะเหรี่ยงที่เลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร KS ความเข้มข้นต่าง ๆ	75

เปรียบเทียบกับสูตร VW ที่อุณหภูมิ 25°C และอุณหภูมิห้องเฉลี่ย
29.9°C เป็นเวลา 3 เดือน

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
2.1	เอื้องคำ	7
2.2	เอื้องกุหลาบกระเปาเปิด	8
2.3	กะเหรี่ยงร้อน	10
2.4	การหมักตัวอย่าง	11
2.5	การระเหยเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัด โดยใช้ปั๊มสุญญากาศ	13
2.6	ตัวอย่างโครงสร้างของกลุ่มสารแอนทราควิโนน	14
2.7	ตัวอย่างโครงสร้างของกลุ่มสารเทอร์พีนอยด์	15
2.8	ตัวอย่างโครงสร้างของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์	16
2.9	การเกิดปฏิกิริยาไซยานิดินของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์	16
2.10	ตัวอย่างโครงสร้างของกลุ่มสารซาโปนิน	17
2.11	โครงสร้างของกรดแทนนิน	17
2.12	ตัวอย่างโครงสร้างของกลุ่มสารแอลคาลอยด์	18
2.13	ตัวอย่างโครงสร้างของกลุ่มสารคาร์ดิแอกไกลโคไซด์	19
2.14	สมการปฏิกิริยาการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging	22
2.15	โครงสร้างหลักของสารประกอบฟีนอลิก	23
2.16	ปฏิกิริยาของฟีนอลิก	25
2.17	โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์	25
2.18	ปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนโดยใช้ AlCl ₃	26
2.19	ลักษณะเซลล์ของ <i>B. cereus</i>	27
2.20	ลักษณะเซลล์ของ <i>S. aureus</i>	28

2.21 ลักษณะเซลล์ของ <i>E. coli</i>	30
2.22 ลักษณะเซลล์ของ <i>E. aerogenes</i>	32
3.1 แผนภาพแสดงการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม	48
3.2 แผนภาพแสดงการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม	49
3.3 แผนภาพแสดงการหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธีพีพีเอช (DPPH Method)	50
3.4 การทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion method	52
4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสงในการหาปริมาณฟีนอลิกรวม	56
4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดเคอร์ซีดินกับค่าการดูดกลืนแสงในการหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม	58

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH กับความเข้มข้นของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ 3 ชนิด และสารมาตรฐาน	61
4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานวิตามินซีกับร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระโดยวิธีดีพีพีเอช	61
4.5 ผลรวมของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ป่าทั้ง 3 ชนิด	62
4.6 ต้นอ่อนเอื้องคำภายหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตรต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน	69
4.7 การปรับสภาพต้นอ่อนเอื้องคำจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก่อนการย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติ	69
4.8 ต้นอ่อนเอื้องคำภายหลังการย้ายออกปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์	70
4.9 ต้นอ่อนเอื้องกุหลาบกระเป๋าเปิดภายหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตรต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน	73
4.10 ต้นอ่อนกะเรงร่อนเปิดภายหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตรต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน	76



รายการสัญลักษณ์และคำย่อ

สัญลักษณ์และคำย่อ

คำจำกัดความ/คำเต็ม

ABTS

2,2'-อซิโน-บิส (3-เอทิลเบนซไธอะโซลีน-6-ซัลโฟ
นิก แอซิด) (2,2'-azino-bis (3-
ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid))

DPPH

2,2'-ไดฟีนิล-1-พิกริลไฮดราซิล แรดิคัล (2,2-
diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals)

GAE

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในหน่วยของ
มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักร
สกัด (Gallic acid equivalents)

IC₅₀

ความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ

ได้ร้อยละ 50 (Half Maximal Inhibitory Concentration)

MeOH

เมทานอล (Mathanol)

TEAC

ค่าการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับโทรลอกซ์ (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)

VCEAC

ค่าการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับวิตามินซี (Vitamin C - Equivalent Antioxidant Capacity)

QE

ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในหน่วย มิลลิกรัมของเคอร์ซีทินต่อกรัมของน้ำหนักรสสกัด (Quercetin Equivalents)

