

การทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของพืชซึ่งเป็นพืชต่อปลาบางชนิดด้วยโรสน้ำตาล (ไบรน์ซิมพ์)

นางสาว ศิริรัตน์ ดีศีลธรรม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2540

ISBN 974-638-417-1

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

TOXICITY TESTING OF SOME PISCICIDAL PLANTS ON BRINE SHRIMP *Artemia salina*

Miss Sirirat Deeseenthum

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Biotechnology

Program of Biotechnology

Graduate School

Chulalongkorn University

Academic Year 1997

ISBN 974-638-417-1



ศิริวัฒน์ ดีสีลธรรม : การทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษของพืชซึ่งเป็นพืชต่อปลาบางชนิดด้วยโรสิน้ำตาล (ไบรน์ชริมพ์) (Toxicity Testing of Some Piscicidal Plants on Brine Shrimp *Artemia salina*) อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์ ดร. สันติ ทิพยางค์, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ดร. กิ่งแก้ว วัฒนเสริมกิจ, 204 หน้า. ISBN 974-638-417-1

ในการเสาะหาสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชที่มีพืชต่อปลา โดยใช้สารสกัดเอทานอลจากต้นมะไฟนกุ่ม *Ammannia baccifera* Linn., ต้นผักไผ่น้ำ *Polygonum hydropiper* Linn. และเมล็ดมะคำดีควาย *Sapindus rarak* DC. จากการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษที่มีต่อโรสิน้ำตาล พบว่า ต้นมะไฟนกุ่มแสดงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อโรสิน้ำตาลมากที่สุด ( $LC_{50}$ , 6 ชม. = 1.94  $\mu\text{g/ml}$ ) รองมาคือสารสกัดจากเมล็ดมะคำดีควาย ( $LC_{50}$ , 6 ชม. = 314.63  $\mu\text{g/ml}$ ) และสารสกัดจากต้นผักไผ่น้ำ ( $LC_{50}$ , 6 ชม. = 328.04  $\mu\text{g/ml}$ ) ตามลำดับ จึงเลือกต้นมะไฟนกุ่มมาทำการแยกสกัดสารด้วยเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอล พบว่า สารสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตทให้ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อโรสิน้ำตาลสูงสุด ( $LC_{50}$ , 6 ชม. = 7.96, 1.02  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ) และให้ฤทธิ์ต่อปลาตะเพียนขาวสูงสุดเช่นกัน ( $LC_{50}$ , 96 ชม. = 18.42, 6.91  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ)

จากการแยกสิ่งสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตทโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีที่สามารถแยกสารออกมาได้ 6 ชนิดคือของผสมสเตียรอยด์ ชนิด Campesterol, Stigmasterol และ  $\beta$ -Sitosterol, 1,4-Naphthoquinone, Lupane triterpenoid, Alkyl trans-4-hydroxycinnamate, 4-Hydroxy-1-oxo-tetrahydronaphthalene และ Stigmasteryl-3-o- $\beta$ -D-glucopyranoside การวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสารเหล่านี้ได้โดยอาศัยสมบัติทางกายภาพ สมบัติทางเคมีและหลักฐานทางสเปกโทรสโกปี สารที่แยกได้พบว่า 1,4-Naphthoquinone, 4-Hydroxy-1-oxo-tetrahydronaphthalene, Lupane triterpenoid และ Alkyl trans-4-hydroxycinnamate มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อโรสิน้ำตาล ( $LC_{50}$ , 6 ชม. = 10.56, 17.88, 46.00 และ 166.74  $\mu\text{g/ml}$  ตามลำดับ) นอกจากนี้ 1,4-Naphthoquinone และ 4-Hydroxy-1-oxo-tetrahydronaphthalene ยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิด *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยให้ค่า MIC = 2.35, 2.35, 9.38 และ 150, 150, 300 ppm ตามลำดับ และ Alkyl trans-4-hydroxycinnamate ให้ฤทธิ์การยับยั้งเฉพาะเชื้อ *S.typhi* และ *P.aeruginosa* เท่านั้น โดยให้ค่า MIC เท่ากับ 250 ppm

ภาควิชา .....  
สาขาวิชา ..... เทคโนโลยีทางการแพทย์  
ปีการศึกษา ..... ๒๕๕๐

ลายมือชื่อนิสิต ..... สหณ  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ..... สันติ ทิพยางค์  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ..... กิ่งแก้ว วัฒนเสริมกิจ



## C827370 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORD: BRINE SHRIMP / *Artemia salina* / *Ammannia baccifera* / ANTIBACTERIAL ACTIVITY

SIRIRAT DEESEENTHUM : TOXICITY TESTING OF SOME PISCICIDAL PLANTS ON BRINE SHRIMP

*Artemia salina*. THESIS ADVISOR : SANTI TIP-YANG, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR : ASSOC. PROF.

KINGKAEW WATTANASIRMKIT, Ph.D. 204 pp. ISBN 974-638-417-1.

In the search for bioactive compounds from piscicidal plants, ethanolic extracts of *Ammannia baccifera* Linn, *Polygonum hydropiper* Linn and *Spindus rarak* DC. were bioassayed for brine shrimp *Artemia salina* toxicity. According to preliminary bioassays results, *Ammannia baccifera* showed the highest activity to brine shrimp (LC<sub>50</sub>, 6 hrs = 1.94 µg/ml), *Spindus rarak* (LC<sub>50</sub>, 6 hrs = 314.63 µg/ml) and *Polygonum hydropiper* (LC<sub>50</sub>, 6 hrs = 328.04 µg/ml) respectively. The whole plant of *Ammannia baccifera* was extracted with hexane, dichloromethane, ethyl acetate and butanol. The crude extracts of hexane and ethyl acetate showed very high activity to brine shrimp (LC<sub>50</sub>, 6 hrs = 7.96 and 1.02 µg/ml) and piscicidal activity (silver carp) (LC<sub>50</sub>, 96hrs = 18.42 and 6.91 µg/ml).

Fractionation of the crude hexane and ethyl acetate extracts by column chromatography led to the isolation of six substances. All six substances were characterized by mean of physical, chemical properties and spectroscopic data. They were a mixture of steroids (Campesterol, Stigmasterol and β-Sitosterol), 1,4-Naphthoquinone, Lupane triterpenoid, Alkyl trans-4-hydroxycinnamate, 4-Hydroxy-1-oxo-tetrahydronaphthalene and Stigmasteryl-3-O-β-D-glucopyranoside. The bioassay results indicated that 1,4-Naphthoquinone, 4-Hydroxy-1-oxo-tetrahydronaphthalene, Lupane triterpenoid and Alkyl trans-4-hydroxycinnamate showed cytotoxicity to brine shrimp (LC<sub>50</sub>, 6 hrs = 10.56, 17.88, 46.00 and 166.74 µg/ml, respectively). In addition, 1,4-Naphthoquinone and 4-Hydroxy-1-oxo-tetrahydronaphthalene also showed significant antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* and *Pseudomonas aeruginosa* at MIC = 2.35, 2.35, 9.38 and 150, 150, 300 ppm, respectively. The Alkyl trans-4-hydroxycinnamate was found to be active against only *S. typhi* and *P. aeruginosa* at MIC 250 ppm.

ภาควิชา.....	ลายมือชื่อนิสิต..... <i>สท อร</i>
สาขาวิชา <i>เทคโนโลยีทางชีวภาพ</i> .....	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... <i>วิมล ทรัพย์ทอง</i>
ปีการศึกษา <i>๒๕๔๐</i> .....	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... <i>ก้องเกียรติ อิ่มนวล</i>

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. สันติ ทิพยางค์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. กิ่งแก้ว วัฒนเสริมกิจ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลืออย่างดียิ่งในทุก ๆ ด้านตลอดเวลาที่ทำวิจัย รองศาสตราจารย์ ดร.อุดม ก๊กผล รองศาสตราจารย์ เกษร วีระชาติ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรินทร์ ชวศิริ อาจารย์ประจำหน่วยวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ที่ได้กรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้นและเอื้ออำนวยความสะดวกในการทำวิจัยด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณ ดร. ศิริพร ชิงสนธิพร กองวัชพีช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่เอื้ออำนวยวัชพีชในการทำวิจัย สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดมหาสารคามที่ได้อนุเคราะห์ลูกปลาตะเพียนขาวในการทำวิจัย โรงพยาบาลมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคามที่อนุเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ในการทำวิจัย และขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคามในการเอื้ออำนวยความสะดวกในการทำวิจัย

การวิจัยเรื่องนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย นอกจากนี้ผู้เขียนขอขอบคุณเพื่อนนิสิตปริญญาโทรุ่นพี่และรุ่นน้องที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจตลอดมา

ผู้เขียนขอรำลึกถึงความกรุณาของทุกท่านที่กล่าวมาแล้วข้างต้น รวมทั้งบิดามารดา และสมาชิกทุกคนในครอบครัว ที่ให้กำลังใจแก่ผู้เขียนเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้ด้วย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ.....	ต
สารบัญแผนภาพ.....	ท
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	ธ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. การตรวจสอบเอกสาร	
2.1 หลักพีชคณิตเบื้องต้น.....	3
2.2 สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	8
2.3 พีชที่ใช้ในการศึกษา.....	18
2.4 การสกัดแยกสารจากพืช.....	26
2.5 โครมาโทกราฟี.....	30
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	35

### 3. อุปกรณ์และวิธีทดลอง

3.1 ที่ชั่งตัวอย่าง.....	36
3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลองและวิเคราะห์สาร.....	36
3.3 สารเคมี.....	37
3.4 ชนิดสัตว์และจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	38
3.5 การสกัดสารจากต้นมะไฟนกกุ่ม, ต้นผักไผ่น้ำและเมล็ดมะคำดีควาย.....	38
3.6 เทคนิคต่าง ๆ ที่ใช้ในการแยกสาร.....	42
3.7 วิธีการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ.....	46

### 4. ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดเอทานอลจากต้นมะไฟนกกุ่ม, เมล็ดมะคำดีควาย และต้นผักไผ่น้ำ.....	50
4.2 ผลของสารสกัดจากต้นมะไฟนกกุ่ม, เมล็ดมะคำดีควายและต้นผักไผ่น้ำในตัวทำละลายแต่ ละชนิดตามลำดับความเข้มข้นที่มีฤทธิ์ต่อไรสน้ำตาล.....	53
4.3 ผลของสารสกัดจากต้นมะไฟนกกุ่มในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตท และบิวทานอลที่มีฤทธิ์ต่อไรสน้ำตาลและปลาตะเพียนขาว.....	62
4.4 ผลการแยกสารสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตทโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็วและฤทธิ์ ทางชีวภาพที่มีต่อไรสน้ำตาล.....	72
4.5 ผลการแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตท.....	78
4.6 ผลการตรวจลักษณะของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสิ่งสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตท.....	87
4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสิ่งสกัดเฮกเซนและเอทิล อะซิเตท.....	113

5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	123
-------------------------------------	-----

รายการอ้างอิง.....	126
ภาคผนวก.....	133
ประวัติผู้เขียน.....	204

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สารอินทรีย์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไรสีน้ำตาล.....	13
2.2 องค์ประกอบทางเคมีที่พบใน <i>Polygonum hydropiper</i> .....	20
4.1 ค่า LC <sub>50</sub> (µg/ml) ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเอทานอลจากต้นมะไฟนกุ่ม, ต้นผักไผ่น้ำและเมล็ด มะคำดีควาย โดยใช้โปรแกรมโพรบิท.....	51
4.2 ผลของสารสกัดเอทานอลจากต้นมะไฟนกุ่ม, ต้นผักไผ่น้ำและเมล็ดมะคำดีควายที่มีฤทธิ์ต่อไรสี น้ำตาล.....	52
4.3 ค่า LC <sub>50</sub> (µg/ml) ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลจาก ต้นมะไฟนกุ่ม โดยใช้โปรแกรมโพรบิท.....	54
4.4 ผลของสารสกัดจากต้นมะไฟนกุ่มในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลที่มีพิษต่อ ไรสีน้ำตาล.....	55
4.5 ค่า LC <sub>50</sub> (µg/ml) ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน และเอทานอลจากต้นผักไผ่น้ำ โดยใช้โปรแกรมโพรบิท.....	57
4.6 ผลของสารสกัดจากต้นผักไผ่น้ำในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลที่มีพิษต่อ ไรสีน้ำตาล.....	58
4.7 ค่า LC <sub>50</sub> (µg/ml) ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน และเอทานอลจากเมล็ด มะคำดีควาย โดยใช้โปรแกรมโพรบิท.....	60

4.8 ผลของสารสกัดจากเมล็ดมะคำดีควายในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลที่มีพิษต่อโรสน้ำตาล.....	61
4.9 ค่า $LC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลจากต้นมะไฟนาคุ่มและสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์กับโรสน้ำตาลโดยใช้โปรแกรมโพรบิท.....	65
4.10 ผลของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลจากต้นมะไฟนาคุ่มและสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ต่อโรสน้ำตาล.....	66
4.11 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำที่ใช้ในการทดลองก่อนและหลังทำการทดลอง.....	67
4.12 ค่า $LC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 96 ชั่วโมง (ช่วงแรก) ของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลจากต้นมะไฟนาคุ่มและสารมาตรฐานที่มีพิษต่อปลาตะเพียนขาวโดยใช้โปรแกรมโพรบิท.....	68
4.13 ผลของสารสกัดจากตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลของต้นมะไฟนาคุ่มและสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ต่อปลาตะเพียนขาว ที่เวลา 96 ชั่วโมง .....	69
4.14 ค่า $LC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 96 ชั่วโมง (ช่วงสอง) ของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลจากต้นมะไฟนาคุ่มและสารมาตรฐานที่มีพิษต่อปลาตะเพียนขาวโดยใช้โปรแกรมโพรบิท.....	70
4.15 ผลของสารสกัดจากตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลของต้นมะไฟนาคุ่มและสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ต่อปลาตะเพียนขาว ที่เวลา 96 ชั่วโมง (ช่วงสอง) .....	71
4.16 ผลของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเฮกเซนโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว .....	72
4.17 ค่า $LC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 6 ชั่วโมงของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเฮกเซนโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว โดยใช้โปรแกรมโพรบิท.....	73
4.18 ผลของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเฮกเซนโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็วที่มีฤทธิ์ต่อโรสน้ำตาล.....	74
4.19 ผลของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเอทิลอะซิเตทโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว.....	75

4.20 ค่า $LC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 6 ชั่วโมงของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเอทิลอะซิเตทด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว โดยใช้โปรแกรมโพรมิท	76
4.21 ผลของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเอทิลอะซิเตทด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็วที่มีฤทธิ์ต่อไรสน้ำตาล	77
4.22 ผลการแยกสารสกัดจากสารสกัดเฮกเซนโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี	78
4.23 ผลการแยกสารสกัดย่อยที่ 72-86 โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี	80
4.24 ผลของการแยกสกัดส่วนย่อยจากส่วนย่อยที่ 144-146	81
4.25 ผลของการแยกสารสกัดโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟีขนาดเล็ก	82
4.26 ผลของการแยกสารสกัดเอทิลอะซิเตทด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี	83
4.27 ผลของการแยกสารจากส่วนย่อยที่ 39-56 และ 72-111 โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี	86
4.28 ลักษณะและสมบัติของสารที่แยกได้จากสารสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตท	87
4.29 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร ABH1	88
4.30 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Retention time ของสารละลายมาตรฐานสเตรอยด์กับสาร ABH1	89
4.31 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร ABH2	91
4.32 การเปรียบเทียบตำแหน่งคาร์บอนของสาร ABH2 กับสาร 1,4-Naphthoquinone	92
4.33 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร ABH3	93
4.34 การเปรียบเทียบตำแหน่งคาร์บอนของสาร ABH3 กับ Lupeol	94
4.35 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร ABH4	97
4.36 แสดงความสัมพันธ์ของค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ของ คาร์บอนและโปรตอนของสาร ABH4	99
4.37 ความสัมพันธ์ของค่า chemical shift ( $\delta$ , ppm) ที่เกิดการคู่ควบ (coupling) ของโปรตอนกับคาร์บอนของสาร ABH4	100
4.38 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร ABH5	103



4.39 ความสัมพันธ์ของค่า chemical shift ( $\delta$ ,ppm) ของ คาร์บอนและโปรตอนของสาร <b>ABH5</b> .....	104
4.40 ความสัมพันธ์ของค่า chemical shift ( $\delta$ ,ppm) ที่เกิดการคู่ควบ (coupling) ของโปรตอนกับคาร์บอน ของสาร <b>ABH5</b> .....	105
4.41 การแปลความหมายของอินฟราเรดสเปกตรัมของสาร <b>ABE1</b> .....	109
4.42 การเปรียบเทียบค่า chemical shift ของคาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของ Stigmasteral กับสาร <b>ABE1</b> .....	110
4.43 การเปรียบเทียบค่า chemical shift ของคาร์บอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของน้ำตาลกลูโคสกับ สาร <b>ABE1</b> .....	112
4.44 ค่า LC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 6 ชั่วโมงของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัดเอทิลอะซิเตทกับเฮกเซน ที่มีต่อโรสน้ำตาลโดยใช้โปรแกรมไพโรบิท.....	114
4.45 ผลของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัดเฮกเซนกับเอทิลอะซิเตทที่มีต่อโรสน้ำตาล .....	115
4.46 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 3 ชนิดโดยใช้ยาต้านจุลชีพมาตรฐาน .....	118
4.47 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 3 ชนิดด้วยสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัด เฮกเซนและเอทิลอะซิเตท.....	119
4.48 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 3 ชนิดของสาร <b>ABH2</b> และ 1,4-Naphthoquinone .....	121
ภาคผนวกที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเอทานอลจากต้นมะไฟนกลุ่ม .....	134
ภาคผนวกที่ 2 เปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเอทานอลจากต้นผักไผ่น้ำ .....	136
ภาคผนวกที่ 3 เปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเอทานอลจากเมล็ดมะคำดีควาย .....	138

ภาคผนวกที่ 4 เปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเฮกเซนจากต้นมะไฟนาคุ่ม	140
ภาคผนวกที่ 5 เปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเอทิลอะซิเตทจากต้นมะไฟนาคุ่ม	142
ภาคผนวกที่ 6 เปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลที่ 6 ชั่วโมงของสาร 1,4-Naphthoquinone.....	144
ภาคผนวกที่ 7 เปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลที่ 6 ชั่วโมงของสาร Rotenone.....	146
ภาคผนวกที่ 8 เปอร์เซ็นต์การตายของปลาตะเพียนขาวที่ 96 ชั่วโมง (ช่วงสอง) ของสารสกัดเฮกเซนจากต้นมะไฟนาคุ่ม.....	148
ภาคผนวกที่ 9 เปอร์เซ็นต์การตายของปลาตะเพียนขาวที่ 96 ชั่วโมง (ช่วงสอง) ของสารสกัดเอทิลอะซิเตทจากต้นมะไฟนาคุ่ม.....	150
ภาคผนวกที่ 10 เปอร์เซ็นต์การตายของปลาตะเพียนขาวที่ 96 ชั่วโมง (ช่วงสอง) ของสาร 1,4-Naphthoquinone.....	152
ภาคผนวกที่ 11 เปอร์เซ็นต์การตายของปลาตะเพียนขาวที่ 96 ชั่วโมง (ช่วงสอง) ของสาร Rotenone....	154
ภาคผนวกที่ 12 เปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลที่ 6 ชั่วโมงของส่วนย่อยที่ 5 ซึ่งแยกได้จากสารสกัดเฮกเซนของมะไฟนาคุ่มโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว.....	156
ภาคผนวกที่ 13 เปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลที่ 6 ชั่วโมงของส่วนย่อยที่ 5 ซึ่งแยกได้จากสารสกัดเอทิลอะซิเตทของต้นมะไฟนาคุ่มโดยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว.....	158
ภาคผนวกที่ 14 เปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลที่ 6 ชั่วโมงของสาร ABH1.....	160
ภาคผนวกที่ 15 เปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลที่ 6 ชั่วโมงของสาร ABH2.....	162
ภาคผนวกที่ 16 เปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลที่ 6 ชั่วโมงของสาร ABH3.....	164
ภาคผนวกที่ 17 เปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลที่ 6 ชั่วโมงของสาร ABH4.....	166
ภาคผนวกที่ 18 เปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลที่ 6 ชั่วโมงของสาร ABH5.....	168
ภาคผนวกที่ 19 เปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลที่ 6 ชั่วโมงของสาร ABE1.....	170

## สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารพิษที่ได้รับเข้าไป (มก./กก.) กับการตอบสนองต่อการเกิดพิษของสารพิษแต่ละชนิด (แสดงด้วย%สัตว์ที่ตาย).....	5
2.2 ลักษณะของตัวอ่อนของไรสีน้ำตาล .....	11
2.3 สูตรโครงสร้างของสารอินทรีย์ที่แยกได้จากพืชที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไรสีน้ำตาล.....	14
2.4 สูตรโครงสร้างของสาร 1,4-Naphthoquinone.....	18
2.5 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารที่พบในต้นผักไผ่น้ำ.....	21
2.6 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารที่พบในเมล็ดมะคำดีควาย .....	23
2.7 ลักษณะต้นมะไฟนกคุ้ม (A) และต้นผักไผ่น้ำ (B).....	24
2.8 ลักษณะเมล็ดมะคำดีควาย (C) และต้นมะคำดีควาย (D).....	25
2.9 อุปกรณ์ของเครื่องโครมาโทรอน.....	33
3.1 ลักษณะการใส่ตัวทำละลายของเครื่องโครมาโทรอน.....	45
4.1 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของไรน้ำตาลกับลอการิทึม (log) ความเข้มข้นของสารสกัดเอทานอลจากต้นมะไฟนกคุ้ม, ต้นผักไผ่น้ำและเมล็ดมะคำดีควาย.....	51
4.2 กราฟเปรียบเทียบค่า $LC_{50}$ ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดเอทานอลจากต้นมะไฟนกคุ้ม, ต้นผักไผ่น้ำและเมล็ดมะคำดีควายที่มีพิษต่อไรสีน้ำตาล.....	52
4.3 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของไรน้ำตาลกับลอการิทึม (log) ความเข้มข้นของสารสกัดเฮกเซนไดคลอโรมีเทนและเอทานอลจากต้นมะไฟนกคุ้ม.....	54

4.4 กราฟเปรียบเทียบค่า  $LC_{50}$  ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดจากต้นมะไฟนาคุ่มในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลที่มีฤทธิ์ต่อโรสิน้ำตาล.....55

4.5 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของโรสิน้ำตาลกับลอการิทึม (log) ความเข้มข้นของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลจากต้นผักไผ่น้ำ.....57

4.6 กราฟเปรียบเทียบค่า  $LC_{50}$  ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดจากต้นผักไผ่น้ำในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลที่มีฤทธิ์ต่อโรสิน้ำตาล.....58

4.7 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของโรสิน้ำตาลกับลอการิทึม (log) ความเข้มข้นของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลจากเมล็ดมะคำดีควาย.....60

4.8 กราฟแสดงค่า  $LC_{50}$  ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดจากเมล็ดมะคำดีควายในตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทนและเอทานอลที่มีฤทธิ์ต่อโรสิน้ำตาล... ..61

4.9 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของโรสิน้ำตาลกับลอการิทึม (log) ความเข้มข้นของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลจากต้นมะไฟนาคุ่มและสารมาตรฐาน .....65

4.10 กราฟเปรียบเทียบแสดงค่า  $LC_{50}$  ที่ 6 ชั่วโมงของสารสกัดจากตัวทำละลายเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลของต้นมะไฟนาคุ่มและสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ต่อโรสิน้ำตาล .....66

4.11 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของปลาตะเพียนขาวกับลอการิทึม (log) ความเข้มข้น (ช่วงแรก) ของสารสกัดเฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, เอทิลอะซิเตทและบิวทานอลจากต้นมะไฟนาคุ่มและสารมาตรฐาน .....68

4.12 กราฟเปรียบเทียบค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง (ช่วงแรก) ของสารสกัดจากตัวทำละลายของต้นมะไฟนาคุ่มและสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ต่อปลาตะเพียนขาว.....69

4.13 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของปลาตะเพียนขาวกับลอการิทึม (log) ความเข้มข้น (ช่วงสอง) ของสารสกัดจากตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ของต้นมะไฟนาคุ่มและสารมาตรฐาน.....70

4.14 กราฟเปรียบเทียบค่า $LC_{50}$ ที่เวลา 96 ชั่วโมง (ช่วงสอง) ของสารสกัดจากตัวทำละลายของต้นมะไฟนาค คุ่มและสารมาตรฐานที่มีฤทธิ์ต่อปลาตะเพียนขาว .....	71
4.15 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลกับลอกจ์ความเข้มข้นของส่วนย่อยที่แยกได้จากสาร สกัดเหกเซนด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว .....	73
4.16 กราฟเปรียบเทียบค่า $LC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 6 ชม. ของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเหกเซนโดยวิธี โครมาโทกราฟีแบบรวดเร็วที่มีฤทธิ์ต่อโรสน้ำตาล .....	74
4.17 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลกับลอกจ์ความเข้มข้นของส่วนย่อยที่แยกได้จากสาร สกัด เอทิลอะซิเตทด้วยวิธีโครมาโทกราฟีแบบรวดเร็ว .....	76
4.18 กราฟเปรียบเทียบค่า $LC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ ) ที่ 6 ชม. ของส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดเอทิลอะซิเตทโดยวิธี โครมาโทกราฟีแบบรวดเร็วที่มีฤทธิ์ต่อโรสน้ำตาล .....	77
4.19 อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร ABH1 .....	172
4.20 แกสโครมาโทแกรมของสาร ABH1 กับสารสแตยรอยด์มาตรฐาน.....	173
4.21 สูตรโครงสร้างทางเคมีของ Campesterol, Stigmasteral และ $\beta$ -Sitosterol.....	90
4.22 อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร ABH2.....	174
4.23 โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร ABH2.....	175
4.24 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร ABH2.....	176
4.25 สูตรโครงสร้างทางเคมีของสาร 1,4- Naphthoquinone.....	92
4.26 อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร ABH3.....	177
4.27 โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร ABH3.....	178
4.28 คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร ABH3.....	179
4.29 สูตรโครงสร้างของสาร Lupeol.....	96
4.30 อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร ABH4.....	180
4.31 โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร ABH4.....	181

4.32	คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร <b>ABH4</b> .....	182
4.33	DEPT-135, DEPT-90 และ คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร <b>ABH4</b> .....	183
4.34	HMQC Inverse Probe Spectrum ( CDCl <sub>3</sub> ) ของสาร <b>ABH4</b> .....	184
4.34A	HMQC Inverse Probe Spectrum ( CDCl <sub>3</sub> ) ของสาร <b>ABH4</b> .....	185
4.35	HMBC Inverse Probe Spectrum ( CDCl <sub>3</sub> ) ของสาร <b>ABH4</b> .....	186
4.35A	HMBC Inverse Probe Spectrum ( CDCl <sub>3</sub> ) ของสาร <b>ABH4</b> .....	187
4.36	สูตรโครงสร้างและแสดงการ coupling ของโปรตอนและคาร์บอนของสาร <b>ABH4</b> .....	101
4.37	สูตรโครงสร้างทางเคมีของ Alkyl trans-4-hydroxycinnamate.....	102
4.38	อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร <b>ABH5</b> .....	188
4.39	โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร <b>ABH5</b> .....	189
4.40	คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร <b>ABH5</b> .....	190
4.41	DEPT-135, DEPT-90 และ คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร <b>ABH5</b> .....	191
4.42	HMQC Inverse Probe Spectrum ( CDCl <sub>3</sub> ) ของสาร <b>ABH5</b> .....	192
4.42A	HMQC Inverse Probe Spectrum ( CDCl <sub>3</sub> ) ของสาร <b>ABH5</b> .....	193
4.43	HMBC Inverse Probe Spectrum ( CDCl <sub>3</sub> ) ของสาร <b>ABH5</b> .....	194
4.43A	HMBC Inverse Probe Spectrum ( CDCl <sub>3</sub> ) ของสาร <b>ABH5</b> .....	195
4.43B	HMBC Inverse Probe Spectrum ( CDCl <sub>3</sub> ) ของสาร <b>ABH5</b> .....	196
4.43C	HMBC Inverse Probe Spectrum ( CDCl <sub>3</sub> ) ของสาร <b>ABH5</b> .....	197
4.44	สูตรโครงสร้างและแสดงการ coupling ของโปรตอนและคาร์บอนของสาร <b>ABH5</b> .....	107
4.45	สูตรโครงสร้างทางเคมีของ 4-Hydroxy-1-oxo-tetrahydronaphthalene.....	108
4.46	อินฟราเรดสเปกตรัมของสาร <b>ABE1</b> .....	198
4.47	โปรตอนเอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร <b>ABE1</b> .....	199
4.48	คาร์บอน-13 เอ็นเอ็มอาร์สเปกตรัมของสาร <b>ABE1</b> .....	200

4.49 แมสสเปกตรัมของสาร ABE1.....201

4.50 สูตรโครงสร้างทางเคมีของStigmasteryl-3-O-β-D-glucopyranoside.....113

4.51 กราฟแสดงค่าเปอร์เซ็นต์การตายของโรสน้ำตาลกับลอคจ์ความเข้มข้นของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จาก  
 สารสกัดเหกเซนและเอทิลอะซิเตท.....115

4.52 กราฟเปรียบเทียบค่า LC<sub>50</sub> (μg/ml) ที่ 6 ชม. ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัดเหกเซนและ  
 เอทิลอะซิเตท.....116

4.53 กราฟแสดงค่า MIC ของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ที่มีต่อเชื้อ *S.aureus*, *S.typhi* และ *P.aeruginosa*  
 .....122

## สารบัญแผนภาพ

แผนภาพที่	หน้า
3.1 การสกัดต้นมะไฟนกลุ่ม, ต้นผักไผ่น้ำและเมล็ดมะคำดีควายในตัวทำละลายแต่ละชนิดตามลำดับความมีขี้.....	40
3.2 การสกัดต้นมะไฟนกลุ่มด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดตามลำดับความมีขี้.....	42
4.1 ผลการสกัดต้นมะไฟนกลุ่มในตัวทำละลายแต่ละชนิดตามลำดับความมีขี้.....	62



### สัญลักษณ์คำย่อ

มม.	มิลลิเมตร
มก.	มิลลิกรัม
°C	องศาเซลเซียส
Hz	Hertz
IR	Infrared
NMR	Nuclear magnetic resonance
M+	molecular ion
MS	Mass spectroscopy
ppm	part per million
$\delta$	chemical shift
s	singlet
d	doublet
dd	double of doublet
t	triplet
m	multiplet
%	percent
TMS	Tetramethylsilane
m.p.	melting point
MIC	Minimal Inhibit Concentration