

การเปรียบเทียบปริมาณและประสิทธิภาพแทนนินในดอกสุพรรณิการ์โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย
ที่ต่างกันเพื่อยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*
A comparison of the amount and efficiency of tannins in *Cochlospermum regium*
flowers by extraction methods with different solvents to inhibit
Staphylococcus aureus

โรงเรียนอุทัยวิทยาคม
จังหวัดอุทัยธานี

คณะผู้จัดทำโครงการ

- | | |
|------------------|-------------------|
| 1. นายพลชนภัทร | ตระกูลมีทรัพย์ |
| 2. นางสาวคุณัญญา | อยู่รอง |
| 3. นางสาวณัฐวีย์ | ประสิทธิเวชศักดิ์ |

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงงานสาขาวิชาเคมี
การนำเสนอโครงงานของนักเรียนจากโรงเรียนในโครงการห้องเรียนพิเศษวิทยาศาสตร์ คณิตศาสตร์
เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม เครือข่ายภาคกลางตอนบน ประจำปีการศึกษา 2566

การเปรียบเทียบปริมาณและประสิทธิภาพแทนนินในดอกสุพรรณิการ์โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย
ที่ต่างกันเพื่อยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus*

A comparison of the amount and efficiency of tannins in *Cochlospermum regium*
flowers by extraction methods with different solvents to inhibit
Staphylococcus aureus

โรงเรียนอุทัยวิทยาคม
จังหวัดอุทัยธานี

คณะผู้จัดทำโครงงาน

- | | |
|------------------|--------------------|
| 1. นายพลชนภัทร | ตระกูลมีทรัพย์ |
| 2. นางสาวคุณัชญา | อยู่รอง |
| 3. นางสาวณัฐวรี | ประสิทธิ์เวชศักดิ์ |

ครูที่ปรึกษาโครงงาน

- | | |
|------------------|-------------|
| 1. นางสาววิรญาดา | บางแบ่ง |
| 2. นายชัยเรศน์ | ฉลาดธัญญกิจ |

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงงานสาขาวิชาเคมี
การนำเสนอโครงงานของนักเรียนจากโรงเรียนในโครงการห้องเรียนพิเศษวิทยาศาสตร์ คณิตศาสตร์
เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม เครือข่ายภาคกลางตอนบน ประจำปีการศึกษา 2566

บทคัดย่อ

โครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารแทนนินในดอกสุพรรณิการ์ เพื่อเปรียบเทียบปริมาณของสารแทนนินในส่วนของดอกสุพรรณิการ์ที่โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน และเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารแทนนินในดอกสุพรรณิการ์โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน โดยการทดลองแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอนคือ 1. การตรวจสอบยืนยันสารแทนนินในดอกสุพรรณิการ์และเลือกส่วนที่มีสารแทนนินมากที่สุด 2. การเปรียบเทียบปริมาณของสารแทนนินในส่วนของดอกสุพรรณิการ์ที่มีสารแทนนินมากที่สุดจากวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันแล้ววัดค่าจากการอ่านผลเครื่อง spectrophotometer และ 3. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารแทนนินในส่วนของดอกสุพรรณิการ์โดยการเพาะเชื้อและสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และวัดรัศมีเพื่อดูขนาด Clear zone

จากการทดลองพบว่าส่วนของกลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกเมื่อนำไปทำปฏิกิริยากับสาร $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ จะได้สารสีดำโดยที่มีความเข้มของสีดำใกล้เคียงแทนนินบริสุทธิ์มากที่สุด จึงเลือกใช้กลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกในการทำการทดลองถัดไปและผลจากการเปรียบเทียบปริมาณและประสิทธิภาพจากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างชนิดกันคือน้ำกลั่น เอทานอล และอะซิโตน พบว่าน้ำเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดด้านปริมาณ มีค่าความต่างของค่าดูดกลืนแสงอยู่ที่ 0.052 ซึ่งใกล้เคียงกับสารละลายแทนนินบริสุทธิ์ และเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดด้านประสิทธิภาพ โดยประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* มีขนาด Clear zone กว้างที่สุด ทราบจากรัศมีคือ 9.17 mm. ซึ่งใกล้เคียงกับแทนนินบริสุทธิ์คือ 9.57 mm. สามารถนำไปต่อยอดในเรื่องการกำจัดเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ซึ่งไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อบุคคลและสิ่งแวดล้อมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

โครงการเรื่องนี้ประกอบด้วยการดำเนินการหลายขั้นตอน นับตั้งแต่การศึกษาข้อมูล การทดลอง และการวิเคราะห์ผลการทดลอง การจัดทำโครงการเป็นรูปเล่ม จนกระทั่งสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องด้วยความกรุณาอย่างสูงจาก คุณครูวิรญาดา บางแบ่ง ครูที่ปรึกษาโครงการ ที่ได้ให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ และคำติชม ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ มาด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดี จนโครงการเล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ คณะผู้จัดทำจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณ คุณครูชัยเรศน์ ฉลาดธัญญกิจ ที่ได้คำปรึกษาโครงการและให้คณะผู้จัดทำได้ใช้สถานที่และอุปกรณ์การทดลองสำหรับโครงการในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณคุณพ่อและคุณแม่ผู้สนับสนุนค่าใช้จ่ายในการทำโครงการครั้งนี้รวมทั้งเป็นกำลังใจ และให้โอกาสการศึกษาอันมีค่าอย่างยิ่ง

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณเพื่อนๆ ที่คอยช่วยเหลือในการทำโครงการและคำปรึกษาต่างๆ ที่เกี่ยวกับโครงการนี้รวมถึงคอยสนับสนุนพวกเราให้กำลังใจที่ดีเสมอมา

คณะผู้จัดทำ

สารบัญ	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูปภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
ที่มาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์	1
สมมติฐาน	2
ตัวแปรที่ศึกษา	2
ขอบเขตการศึกษา	3
บทที่ 2 เอกสารที่เกี่ยวข้อง	
ดอกสุพรรณิการ์	4
แทนนิน	5
Well diffusion method	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	7
การแยกเชื้อบริสุทธิ์	8
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	10
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน	
พืช	11
เครื่องมืออุปกรณ์	11
สารเคมี	11
ขั้นตอนการดำเนินงาน	11
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
เพื่อศึกษาสารแทนนินในดอกสุพรรณิการ์	13
เพื่อเปรียบเทียบปริมาณของสารแทนนินในส่วนของดอกสุพรรณิการ์	15
โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน	
เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารแทนนินในดอกสุพรรณิการ์	17
โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน	

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง	
สรุปผลและอภิปรายผลการทดลอง	19
ประโยชน์ที่ได้รับ	20
ข้อเสนอแนะ	20
บรรณานุกรม	21
ภาคผนวก	22

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

ตารางที่ 4.1.1 ผลการทดลองสารละลายแทนนินบริสุทธิ์ทำปฏิกิริยากับสาร $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$	13
ตารางที่ 4.1.2 ผลการทดลองตรวจสอบแทนนินสุพรรณิการ์ด้วยสาร $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$	14
ตารางที่ 4.2.1 เพื่อเปรียบเทียบปริมาณของสารแทนนินในส่วนของดอกสุพรรณิการ์ที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน	15
ตารางที่ 4.2.2 ผลการทดลองการเปรียบเทียบปริมาณแทนนินบริสุทธิ์ในตัวทำละลายเอทานอลกับแทนนินจากกลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกในตัวทำละลายเอทานอล	15
ตารางที่ 4.2.3 ผลการทดลองการเปรียบเทียบปริมาณแทนนินบริสุทธิ์ในตัวทำละลายอะซิโตนกับแทนนินจากกลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกในตัวทำละลายอะซิโตน	16
ตารางที่ 4.3.1 ผลการทดลองการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแทนนินบริสุทธิ์และแทนนินจากฐานรองดอกในเอทานอล	17
ตารางที่ 4.3.2 ผลการทดลองการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแทนนินบริสุทธิ์และแทนนินจากฐานรองดอกในน้ำ	17
ตารางที่ 4.3.3 ผลการทดลองการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแทนนินบริสุทธิ์และแทนนินจากฐานรองดอกในอะซิโตน	18

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 2.1 ดอกสุพรรณิการ์	4
ภาพที่ 2.2 ภาพแสดงสูตรโครงสร้างของแทนนิน(tannin)	6
ภาพที่ 2.3 ภาพแสดงการอ่านผลของ Well diffusion method	7
ภาพที่ 2.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	8
ภาพที่ 2.5 วิธี <i>Cross streak plate</i>	9
ภาพที่ 1 การอบส่วนประกอบของดอกสุพรรณิการ์ เพื่อนำความชื้นออก	22
ภาพที่ 2 การสกัดแทนนินจากฐานรองดอกของดอกสุพรรณิการ์ด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน	22
ภาพที่ 3 การตรวจสอบค่าดูดกลืนแสงของแทนนินจากฐานรองดอกเมื่อเทียบกับสารบริสุทธิ์ของตัวทำละลายด้วยเครื่อง Spectrophotometer	23
ภาพที่ 4 การย้อมสีแกรมเชื้อ <i>Staphylococcus aureus sp.</i> เพื่อนำไปส่องกล้องจุลทรรศน์	23
ภาพที่ 5 เชื้อ <i>Staphylococcus aureus sp.</i> ที่ได้จากการส่องกล้องจุลทรรศน์เพื่อยืนยันตัวอย่างเชื้อ	24
ภาพที่ 6 ทดสอบประสิทธิภาพแทนนินจากสารละลายทั้ง 3 ชนิดภายในจานเพาะเชื้อ	24

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

อาหารในปัจจุบันนี้มีความหลากหลายอย่างมาก อาหารแต่ละชนิดอาจมีองค์ประกอบที่ประกอบไปด้วยเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารสุกๆ ดิบๆ หากระบุเชื้อจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เป็นปัญหาอยู่ ณ ปัจจุบัน เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษและอาจมีอาการตามมาภายหลังคือมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้องและอ่อนเพลีย แบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* แต่ก็มีสารบางประเภทที่สามารถยับยั้งเชื้อชนิดนี้ได้ดีหากนำมาผ่านกระบวนการและวิธีที่เหมาะสม

สารแทนนินเป็นสารที่มีโมเลกุลใหญ่ โครงสร้างซับซ้อน มีสมบัติเป็นกรดอ่อนพบมากในพืชที่มีรสฝาดเช่น ในเปลือกกล้วยดิบ ในเปลือกมังคุด ดอกไม้ กาบมะพร้าว ฯลฯ มีฤทธิ์ในการบรรเทาอาการท้องเสีย และ ป้องกันการทำลายของเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียโดยเฉพาะอย่างยิ่ง

Staphylococcus aureus ซึ่งสามารถนำสารนี้ออกมาใช้ประโยชน์ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย

คณะผู้จัดทำเห็นถึงปัญหาของเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวและเห็นถึงประโยชน์ของแทนนินซึ่งพบได้ในพืชที่อยู่ชีวิตประจำวันของมนุษย์จึงได้นำส่วนประกอบต่างๆ ในดอกสุพรรณิการ์ซึ่งเป็นดอกไม้ประจำจังหวัดอุทัยธานี ได้แก่ กลีบดอก เกสร และกลีบเลี้ยงกับฐานรองดอกเพื่อนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด มาเลือกส่วนที่มีสารแทนนินมากที่สุดและนำไปสกัดสารแทนนินด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันโดยใช้น้ำ เอทานอล และอะซิโตนเพื่อที่จะทดสอบว่าสารใดเป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพที่สุดทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพของสารแทนนินที่ได้และนำสารนั้นไปพัฒนาและต่อยอดต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสารแทนนินในดอกสุพรรณิการ์
2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณของสารแทนนินในส่วนของดอกสุพรรณิการ์ที่โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน
3. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารแทนนินในดอกสุพรรณิการ์โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน

1.3 สมมติฐาน

1. ดอกสุพรรณิการ์แต่ละส่วนพบสารแทนนินในปริมาณที่แตกต่างกัน
2. ปริมาณสารแทนนินที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันจะมีปริมาณที่แตกต่างกัน
3. ประสิทธิภาพสารแทนนินที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน ตัวทำละลายที่สกัดแทนนินได้มาก สามารถกำจัดแบคทีเรียได้ดีที่สุด

1.4 ตัวแปรที่ศึกษา

ตอนที่ 1 เพื่อศึกษาสารแทนนินในดอกสุพรรณิการ์

ตัวแปรต้น ส่วนประกอบของดอกสุพรรณิการ์คือ กลีบดอก เกสร และกลีบเลี้ยงรวมฐานรองดอก

ตัวแปรตาม ความเข้มข้นปริมาณสารแทนนิน

ตัวแปรควบคุม ชนิดพืช ปริมาณพืช อุณหภูมิ ปริมาณตัวทำละลาย

ตอนที่ 2 เพื่อเปรียบเทียบปริมาณของสารแทนนินในส่วนของดอกสุพรรณิการ์ที่ได้โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน

ตัวแปรต้น ตัวทำละลาย 3 ชนิดที่ใช้ในการสกัดด้วยตัวทำละลายคือน้ำกลั่น

เอทานอล และอะซิโตน

ตัวแปรตาม ปริมาณของสารแทนนินที่ได้

ตัวแปรควบคุม ปริมาณตัวทำละลาย ชนิดพืช ปริมาณพืช อุณหภูมิ วิธีการสกัด

ตอนที่ 3 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารแทนนินในดอกสุพรรณิการ์โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน

ตัวแปรต้น ตัวทำละลาย 3 ชนิดที่ใช้ในการสกัดด้วยตัวทำละลายคือน้ำกลั่น

เอทานอล และอะซิโตน

ตัวแปรตาม ปริมาณของ *Staphylococcus aureus* ที่เหลือ

ตัวแปรควบคุม ปริมาณตัวทำละลาย ชนิดพืช ปริมาณพืช อุณหภูมิ วิธีการสกัด

1.5 ขอบเขตของการศึกษา

เปรียบเทียบปริมาณและประสิทธิภาพของสารแทนนินจากวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันคือน้ำกลั่น เอทานอล และอะซิโตน โดยใช้ส่วนต่างๆ ของดอกสุพรรณิการ์คือ กลีบดอก เกสร และกลีบเลี้ยงรวมฐานรองดอก

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โครงงานเรื่อง การเปรียบเทียบปริมาณและประสิทธิภาพแทนนินในดอกสุพรรณิการ์โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันเพื่อยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ผู้จัดทำได้ศึกษาค้นคว้าข้อมูลและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้

2.1 สุพรรณิการ์

ดอกสุพรรณิการ์ หรือ ดอกฝ้ายคำ เป็นดอกไม้ประจำจังหวัดนครนายก, บุรีรัมย์, สระบุรี, สุพรรณบุรี, อุทัยธานี และต้นสุพรรณิการ์เป็นต้นไม้พระราชทานจากสมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา เจ้าฟ้ามหาวชิราลงกรณวราชนกคดี สิริภิกขาริณีพิริยพัฒน รัฐสีมาคุณากรปิยชาติ สยามบรมราชกุมารีให้เป็นต้นไม้ประจำมหาวิทยาลัยรามคำแหง โดยให้ความหมายของดอกสุพรรณิการ์ ว่า ความศักดิ์สิทธิ์ ความสูงค่า

เป็นพืชในวงศ์ *Cochlospermaceae-Bixaceae* มีต้นกำเนิดมาจากอเมริกากลางและอเมริกาใต้



ภาพที่ 2.1 ดอกสุพรรณิการ์

ที่มา : <https://www.disthai.com/17364407/>

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

1. ต้น ไม้ต้นขนาดกลางสูง 8-15 เมตร ขนาดทรงพุ่ม 4-6 เมตร ผลัดใบทรงพุ่มค่อนข้างกลม โคนต้นมีขนาดใหญ่ กิ่งก้าน คดงอ เปลือกต้นสีเทาอ่อนข้างเรียบ หรือเป็นปมขนาดเล็กสีน้ำตาลทั่วทั้งลำต้น

2. ใบ ใบเดี่ยว เรียงเวียนสลับ รูปทรงกลมหรือรูปหัวใจ กว้าง 10-12 เซนติเมตร ยาว 20-22 เซนติเมตร ใบจักเป็นแฉกแหลมลึก 3-5 แฉก ปลายใบแหลม โคนใบรูปหัวใจขอบใบเรียบหรือจักเล็กน้อย แผ่นใบค่อนข้างหนา และเหนียว ใบสีเขียวสดเป็นมัน ก้านใบยาว 10-15 เซนติเมตร

3. ดอก สีเหลืองสดหรือเหลืองทอง ออกเป็นช่อแบบช่อแยกแขนง ที่ปลายกิ่ง ช่อดอกตั้งยาว 20-40 เซนติเมตร กลีบเลี้ยง 5 กลีบรูปรีสีเขียวเหลื่อมม้วน กลีบดอก 5 กลีบ รูปช้อนปลายเว้า กลีบค่อนข้างแข็ง เกสรเพศผู้เป็นเส้นฝอยสีเหลือง เส้นผ่านศูนย์กลางดอก 6-10 เซนติเมตร

4. ผล ผลแห้งแตกกลางพู ทรงไข่กลับมีลักษณะเป็นพู 5 พู ปลายผลบวม กว้าง 6-8 เซนติเมตร ยาว 8-10 เซนติเมตร สีเขียว เมื่อสุกสีน้ำตาล เมล็ดมีปุยสีขาวคล้ายสำลีห่อหุ้ม เมล็ดรูปไต สีน้ำตาลเข้ม หลายเมล็ด

2.1.2 ประโยชน์ของดอกสุพรรณิการ์

นอกจากจะปลูกเพื่อเป็นไม้ประดับสวยงามและเป็นสิริมงคลแก่ผู้ที่พักอาศัยแล้ว ยังนำดอกมาบูชาถวายพระ เนื้อไม้ ต้มกับแปงเป็นอาหารได้ ยางจากต้นยังให้ผลิตภัณฑ์เป็น *Karaya gum* หรือทางการค้าเรียกว่า *Crystal gum* เป็นก้อนผลึกสีเหลืองอ่อนหรือน้ำตาลอมชมพู ใช้เป็นยาระบาย ใช้เป็นส่วนผสมในน้ำยาเซทผม เป็นยาทาบำรุงผิว ใช้ในอุตสาหกรรมทอผ้าและการพิมพ์ อุตสาหกรรมอาหาร กระป๋อง ผสมไอศกรีมทำให้ข้น เนื้อไม้ต้มกับแปงเป็นอาหาร ใบอ่อนใช้สระผม ดอกแห้งและใบแห้งใช้เป็นยาบำรุงกำลัง หรือทำเป็นเครื่องดอกไม้หอมจำพวกบุหงาได้และยังสามารถยับยั้งเชื้อราหรือแบคทีเรียได้

2.2 แทนนิน

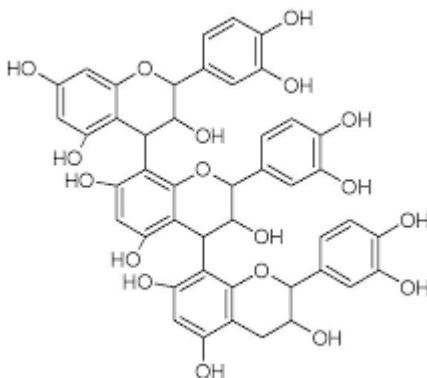
แทนนิน (Tannin, Tannic Acid) เป็นสารประกอบพอลิฟีนอลโครงสร้างซับซ้อนมีหมู่ Hydroxyl จำนวนมาก มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน มีสูตรโมเลกุล คือ $C_{75}H_{52}O_{46}$ ประกอบด้วย Gallic Acid 9 โมเลกุล และน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล มีจำหน่ายเป็นการค้าในรูปของกรดแทนนิก (Tannic Acid) เป็นสารให้ความฝาดและรสขม แทนนินเป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (Enzymatic Browning Reaction) ของผลไม้ มีคุณสมบัติเป็นสารกันเสีย ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

2.2.1 แหล่งที่พบ

พบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ใบชา ใบฝรั่ง ใบพลู ใบชุมเห็ด ผลไม้ดิบ เช่น ในเปลือกกล้วยดิบ เปลือกมังคุด เปลือกมะพร้าวอ่อน เมล็ดของผลไม้ เช่น องุ่น เม็ดในของมะขาม และพบในไวน์แดง รวมถึงพืชทั่วไปมากขึ้นอยู่กับชนิดพืชนั้นๆ

2.2.2 การใช้ประโยชน์จากแทนนิน

ป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ ใช้เป็นส่วนผสมของยาภายใน และภายนอก อาทิ ยารักษาโรคเบาหวานเพื่อช่วยควบคุมสมดุลการหลั่งฮอร์โมนจากตับอ่อน รวมถึงใช้ในการป้องกัน และต้านเชื้อแบคทีเรียในอาหาร ป้องกันการเน่าเสีย ใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารเสริม ช่วยต้านอนุมูลอิสระ และลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเส้นเลือด ใช้เคลือบยา อาหารหรืออาหารเสริมในรูปของส่วนผสมหรือแคปซูลสำหรับป้องกันการย่อยด้วยยาบริเวณกระเพาะอาหารเพื่อให้ถูกดูดกลืนบริเวณลำไส้มากที่สุด ใช้แทนนินเป็นสารจับกับโปรตีน และเอนไซม์ของโลหะในกระบวนการผลิตอาหารเครื่องดื่มเพื่อกำจัดกลิ่นรสที่ไม่ต้องการ และตกตะกอนโลหะที่เจือปน ใช้สำหรับผลิตกาวยา้อมผ้า เช่น การใช้โปรแอนโทไซยานิดินแทนนินแทนสารฟีนอลสังเคราะห์ในการผลิตไม้อัด



ภาพที่ 2.2 ภาพแสดงสูตรโครงสร้างของแทนนิน(Tannin)
ที่มา : คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

2.2.3 การสกัดแทนนินจากดอกสุพรรณิการ์

ใช้การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction) เป็นวิธีการแยกสารที่เป็นของเหลว หรือของแข็งปนอยู่กับของแข็ง โดยอาศัยสมบัติของการละลายของสาร หลักการสำคัญของการสกัดด้วยตัวทำละลายคือ การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารที่ต้องการออกมาให้ได้มากที่สุด

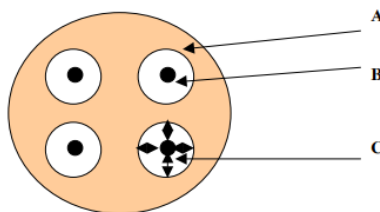
2.2.4 คุณสมบัติแทนนิน

มีคุณสมบัติเป็น *Alkaloid gelatin* และโปรตีน มีสถานะเป็นกรดอ่อน เป็นสารที่ทำให้เกิดรสฝาดหรือขมคุณสมบัติแทนนิน มีฤทธิ์ฝาดสมาน(Astringent) จึงมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อโรค ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย(เพียวว์ เหมือนวงษ์ญาติ, 1986)

2.3 Well diffusion method

2.3.1 การอ่านผล

ผลการยับยั้งที่ได้จากการทดสอบ ทำได้โดยการวัดขนาดของวงใสการยับยั้งที่เกิดขึ้นดังภาพ 2.3 โดยใช้ Vernier Caliper วัด 4 แนวจากขอบของเชื้อที่ต้องการศึกษา ที่สร้างสารยับยั้งไปยังริมของวงใสที่เชื้อเติบโตได้แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย หน่วยที่ใช้เป็นเมตร(m)



ภาพที่ 2.3 ภาพแสดงการอ่านผลของ Well diffusion method

ที่มา : https://kb.psu.ac.th/psukb/bitstream/2010/6944/6/261468_ch2.pdf

A : บริเวณที่เชื้ออินดิเคเตอร์สามารถเติบโตได้

B : บริเวณเชื้อที่ต้องการ ซึ่งสร้างสารยับยั้งการเติบโตระยะที่ใช้วัดขนาดของขอบวงใส

C : ระยะที่ใช้วัดขนาดของขอบวงใสการยับยั้ง

2.3.2. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทดลองทุกครั้งจะทำ 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย ผลที่ได้นำไปหาความแตกต่างทางสถิติ การวางแผนการทดลองทำแบบสุ่มตลอด(completely Randomized Design,) ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน(ANOVA) และเปรียบเทียบชุดการทดลองโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test(DMRT)

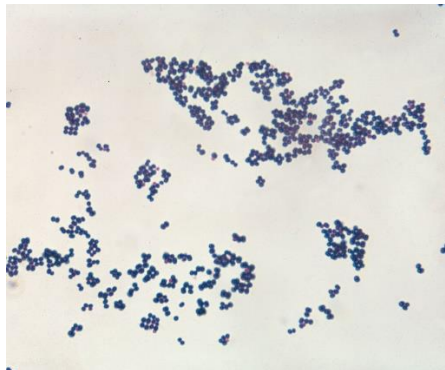
2.4 Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus เขียนย่อว่า *S. aureus* เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งในสกุล (Genus) *Staphylococcus* อยู่ในวงศ์ *Micrococcaceae* *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในอาหาร แบคทีเรียชนิดนี้ย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างเป็นทรงกลม (Coccus) อยู่รวมกันเป็นพวงคล้ายพวงองุ่น ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนไหว ส่วนใหญ่ไม่มีแคปซูล ให้ผลบวกในการทดสอบ catalase และในภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะสลายน้ำตาลกลูโคสให้กรดอินทรีย์ จัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobe

คือเจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ แต่เจริญได้ดีกว่าในสภาวะที่มีอากาศ *Staphylococcus aureus* สร้างสารพิษชนิดเอนทีโรทอกซิน (Enterotoxin) สารพิษที่สร้างมีสมบัติพิเศษ คือ ทนความร้อน

Staphylococcus aureus ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ชนิด Intoxication ซึ่งเกิดจากบริโภคอาหารที่มีสารพิษ Enterotoxin ที่เชื้อสร้างขึ้น ปนเปื้อนในปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม จะสามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้องและอ่อนเพลีย ผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการปวดศีรษะ เป็นตะคริวที่กล้ามเนื้อ และมีการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเป็นระยะๆ รวมทั้งอาจมีการเด่นของชีพจรผิดปกติ ซึ่งโดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นภายใน 2-3 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานสารพิษของร่างกาย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในอาหารและปริมาณสารพิษที่สร้างขึ้นในอาหาร รวมทั้งสภาพร่างกายโดยทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อ

Staphylococcus aureus เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 6-46 องศาเซลเซียส โดยมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30-37 องศาเซลเซียส สร้างสารพิษได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 10 องศาเซลเซียส เจริญได้อยู่ในช่วงค่า pH 4.0-10.0 โดยมีช่วงที่เหมาะสมคือ 7.0-7.5



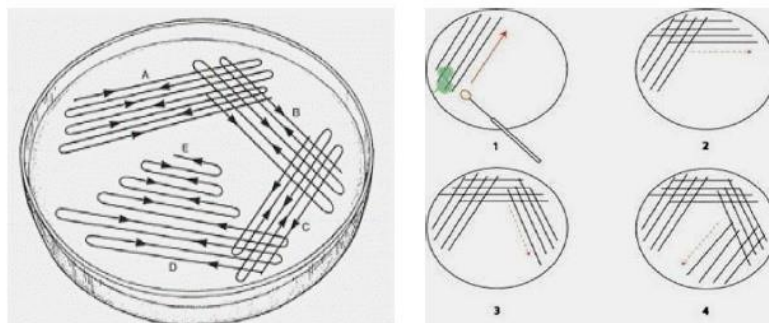
ภาพที่ 2.4 *Staphylococcus aureus*

ที่มา : <https://www.britannica.com/science/Staphylococcus>

2.5 การแยกเชื้อบริสุทธิ์

หลักการของการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Culture medium) คือ จะต้องแยกเชื้อให้ได้โคโลนีเดี่ยวๆ (Single colony) จำนวนมาก จากนั้นจึงนำเชื้อที่เป็นโคโลนีเดี่ยวไปศึกษารูปร่าง ลักษณะ และคุณสมบัติต่างๆ เพื่อให้ทราบว่าเป็นเชื้อชนิดใด เทคนิคที่นิยมใช้ในการแยกเชื้อบริสุทธิ์คือ วิธี *Cross Streak plate* ซึ่งทำได้โดยใช้ห่วงเชี่ยเชื้อ (Loop)แตะตัวอย่างหรือสิ่งส่งตรวจแล้วลากหรือขีด (Streak) ลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารแข็ง (Agar plate) อยู่ให้ได้แนวระนาบติดต่อกัน 4-5 เส้น หลังจากเสร็จในระนาบแรกซึ่งมีเชื้อจุลินทรีย์อยู่หนาแน่นที่สุด ให้นำห่วงเชี่ยเชื้อมาเผาไฟให้ลวดที่ปลายร้อนแดงเพื่อฆ่าเชื้อที่ติดให้หมด จากนั้นจึงขีดเชื้อจากส่วนของรอยลากในระนาบแรกออกมาเพียงหนึ่งครั้ง

แล้วลากเป็นระนาบที่สอง 4-5 เส้นติดกันโดยรอยขีดของเข็มจะไม่ทับกับระนาบแรกอีก หลังจากนั้นก็ทำเช่นเดียวกันกับระนาบที่สองจนครบทั่วทั้งจานเพาะเชื้อซึ่งมีประมาณสี่ระนาบ เมื่อได้เชื้อบริสุทธิ์แล้วจะมีการศึกษาเชื้อต่อไปในด้านต่างๆ ซึ่งจะต้องมีการถ่ายเชื้อจากอาหารเดิมไปยังอาหารใหม่ หรือมีการเพาะเชื้อลงในอาหารเพื่อการทดสอบและการวิเคราะห์ต่างๆ ดังนั้นการเรียนรู้เทคนิคที่ถูกต้องในการถ่ายเชื้อจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งซึ่งต้องอาศัยหลักการของ Aseptic Technique เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อชนิดอื่นซึ่งจะทำให้ผลการทดลองผิดพลาดได้ อุปกรณ์พื้นฐานที่ใช้ในการถ่ายเชื้อคือ ห่วงเข็มเชื้อ เข็มเข็มเชื้อ (Needle) และตะเกียงแอลกอฮอล์สำหรับใช้ฆ่าเชื้อโดยการเผา (Incineration) การถ่ายเชื้อจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียและยีสต์จะใช้ห่วงเข็มเชื้อเป็นส่วนใหญ่ มีบางครั้งที่ใช้เข็มเข็มเชื้อปลายตรง ส่วนเชื้อราที่เป็นเส้นสาย (Filamentous Fungi) มักจะใช้เข็มเข็มเชื้อปลายงอ



ภาพที่ 2.5 วิธี Cross streak plate

ที่มา : <https://www.scimath.org/lesson-biology/item/7448-2017-08-11-07-30-49>

ในแหล่งธรรมชาตินั้นปกติเชื้อแบคทีเรียจะเติบโตอยู่ร่วมกันหลายๆสายพันธุ์ เพื่อการคัดแยกและจำแนกชนิดของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์จะต้องมีขั้นตอนการทำให้เชื้อบริสุทธิ์ (Pure culture) โดยเทคนิคที่ทำได้ง่ายคือ Spread Plate technique ซึ่งเทคนิคนี้แบคทีเรียที่ถูกทำให้เจือจางให้มีจำนวนประมาณ 100-200 เซลล์ หรือน้อยกว่าจะถูกนำไปวางตำแหน่งตรงกลางของจานเพาะเชื้อ (Petri dish/plate) แล้วทำการเกลี่ยให้เชื้อกระจายทั่วด้วยแท่งแก้วรูปตัว L หลังจากบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมและมีระยะเวลาเพียงพอ จะปรากฏโคโลนี (Colony) ของเชื้อแบคทีเรียขึ้น โดยแต่ละโคโลนีจะมีจำนวนแบคทีเรียอยู่จำนวนมาก และแต่ละโคโลนีจะถือว่ามาจากแบคทีเรียสายพันธุ์เดียว ดังนั้นจะทำให้เกิดการแยกจุลินทรีย์ออกมาเป็นเชื้อบริสุทธิ์ขึ้น เมื่อมองด้วยตาเปล่าแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์โคโลนีจะมีลักษณะแตกต่างกัน

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นางปาริชาติ พจนศิลป์. (2561) ได้ศึกษาการสกัดสารแทนนินจากเปลือกมะพร้าวอ่อน โดยทำการสกัดตัวอย่างเปลือกมะพร้าวอ่อนที่แบ่งเป็นเปลือกส่วนนอกและเปลือกส่วนใน และทำการสกัดด้วยสารละลายเอทานอล ด้วยความเข้มข้นที่ต่างกันที่อุณหภูมิห้อง แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่องยูวี – วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์

วรพจน์ จันทรแสนตอ. (2541) พืชที่มีแทนนินสูง มาใช้ในการยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เนื่อหมูเน่าเสีย การทดลองตอนที่ 1 เป็นการวิเคราะห์ปริมาณ สารแทนนินโดยวิธีการตกตะกอนโปรตีน ซึ่งมีการวิเคราะห์ในใบฝรั่ง เปลือกมังคุด ชาเขียว ใบพลู กระถิน เปลือกกล้วยน้ำว้า และเนื่อกล้วยน้ำว้า ผลที่ได้ปรากฏว่าใบฝรั่งและเปลือกมังคุดมีปริมาณสารแทนนินอยู่มากกว่าในพืชสมุนไพรชนิดอื่น ทางผู้จัดทำจึงเลือกเอาใบฝรั่งและเปลือกมังคุดมาศึกษาในการทดลองตอนที่ 2 และตอนที่ 3 ต่อไป การทดลองตอนที่ 2 เป็นการสกัดสารจากใบฝรั่งและเปลือกมังคุดมายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* , *Pseudomonas aeruginosa* และ *Escherichia coli* ผลปรากฏว่าทั้งสารสกัดจากใบฝรั่งและเปลือกมังคุดสามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* และ *Escherichia coli* ได้ การทดลองตอนที่ 3 เป็นการประยุกต์เอาเนื่อหมูมาแช่ในสารสกัดจากใบฝรั่งและเปลือกมังคุด เป็นเวลา 20 นาที ปรากฏว่าหลังแช่ สีของเนื่อหมูที่แช่ในสารสกัดจากเปลือกมังคุดจะดูคล้ายเนื่อหมูตามท้องตลาดมากที่สุด และเมื่อนำเนื่อหมู ที่แช่สารสกัดมาตั้งทิ้งไว้ 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าเชื้อในเนื่อหมูที่แช่ด้วยสารสกัดจากเปลือกมังคุด มีปริมาณน้อยกว่าเชื้อในเนื่อหมูที่แช่ด้วยสารสกัดจากใบฝรั่ง จึงสรุปได้ว่าสารสกัดจาก เปลือกมังคุดสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารยัดอายุอาหารในเนื่อหมูได้อีกในอนาคต

จิตรลดา เศษจันทร์และคณะ. (2563) ได้ศึกษาการศึกษาของค์ประกอบทางเคมีจากดอกสุพรรณิการ์ ให้บริสุทธิ์ซึ่งกระบวนการวิจัยเป็นการศึกษาเก็บตัวอย่างในจังหวัดสระแก้วและหมักด้วยตัวทำละลายเมทานอล เมื่อนำมาแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีสามารถแยกสารบริสุทธิ์ได้ 2 สาร คือ **B-Sitosterol** และ *Trilinolein*

นางสาวเพ็ญพิชชา ผูกพัน และ นางสาวสิริยากร พิริยะกิจไพบูลย์. (ไม่ปรากฏปีที่พิมพ์) ได้ศึกษาสารแทนนินในผลของกันเกรา และคิดค้นผลิตภัณฑ์สารสกัดจากธรรมชาติต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย โดยทดสอบกับสารสกัดแทนนินที่มีความเข้มข้น 1:5 และ 1:10 กับแบคทีเรีย *E. coli*, *S. Dysenteriae*, *S. Marcescens* และ *S. typhi* จากการศึกษาพบว่า สารสกัดแทนนินที่มีความเข้มข้น 1:5 สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *E. coli*, *S. Dysenteriae* และ *S. Typhi* ได้ดีที่สุด โดยให้ Clear zone ขนาด 9.5 มิลลิเมตร, 11.75 มิลลิเมตร และ 12 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่สารสกัดแทนนินที่มีความเข้มข้น 1:10 สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *S. Marcescens* ได้ดีที่สุด โดยให้ Clear zone ขนาด 8.25 มิลลิเมตร จากนั้นจึงนำมาทำผลิตภัณฑ์สารสกัดจากธรรมชาติ เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

โครงงานเรื่อง การเปรียบเทียบปริมาณและประสิทธิภาพแทนนินในดอกสุพรรณิการ์โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันเพื่อยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้มีการดำเนินงานตามขั้นตอนดังนี้

3.1 พืช

1. ดอกสุพรรณิการ์

3.2 เครื่องมือ อุปกรณ์

- | | |
|----------------------------------|------------------------------|
| 1. จานเพาะเลี้ยงเชื้อ | 8. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ |
| 2. หัวเข็มฉีดยา | 9. เข็มฉีดยา |
| 3. แท่งแก้วคนสาร | 10. แท่งแก้วสามเหลี่ยม |
| 4. ตะเกียงแอลกอฮอล์พร้อมที่บังลม | 11. เครื่องชั่งดิจิตอล |
| 5. กระบอกตวง | 12. คิวเวต |
| 6. หลอดทดลอง | 13. ปีกเกอร์ |
| 7. ปีกเกอร์ | 14. เครื่องตีไฮเดรต |

3.3 สารเคมี

1. น้ำกลั่น
2. เอทานอล
3. อะซิโตน
4. สารละลายเฟอร์ริกไนเตรต $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$

3.4 ขั้นตอนการดำเนินงาน

ตอนที่ 1 เพื่อศึกษาสารแทนนินในดอกสุพรรณิการ์

1. แยกส่วนของดอกสุพรรณิการ์ออกเป็น กลีบดอก เกสร กลีบเลี้ยง+ฐานรองดอก
2. นำส่วนที่ได้ไปอบแห้งด้วยเครื่องตีไฮเดรตโดยใช้อุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

3. นำส่วนที่ได้จากการอบไปปั่น
4. นำส่วนที่ได้จากการปั่น 0.1 กรัมไปละลายด้วยน้ำ 40 ลูกบาศก์เซนติเมตร
5. นำสารที่ได้ไปทดสอบกับสาร $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ในสัดส่วนปริมาณที่เท่ากันและ

เลือกส่วนที่มีแทนนินมากที่สุด

ตอนที่ 2 เพื่อเปรียบเทียบปริมาณของสารแทนนินในส่วนของดอกสุพรรณิการ์ที่โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน

1. นำส่วนของดอกสุพรรณิการ์ที่ได้จากตอนที่ 1 1.48 กรัม มาสกัดด้วยตัวทำละลายคือ น้ำกลั่น 30 ลูกบาศก์เซนติเมตร จากนั้นเปลี่ยนเป็นเอทานอล และอะซิโตน ตามลำดับ โดยควบคุมปริมาณส่วนของดอกไม้และตัวทำละลายให้คงที่
2. นำแทนนินบริสุทธิ์ 1.48 กรัม มาละลายด้วยตัวทำละลายคือ น้ำกลั่น 30 ลูกบาศก์เซนติเมตร จากนั้นเปลี่ยนเป็นเอทานอล และอะซิโตน ตามลำดับ
3. การวัดค่าความเข้มข้นด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง(spectrophotometer)
 - 3.1 นำตัวทำละลายบริสุทธิ์ 0.2 มิลลิลิตร ใส่ลงในช่อง Blank และนำสารละลายแทนนินจากส่วนของดอกสุพรรณิการ์ที่สกัดด้วยน้ำ 0.2 มิลลิลิตร ใส่ลงในช่อง 1 และบันทึกผลจากกราฟที่ได้
 - 3.2 นำสารละลายแทนนินบริสุทธิ์(ตัวทำละลายน้ำ)ใส่ลงในช่อง 1 แทนที่สารละลายแทนนินจากส่วนของดอกสุพรรณิการ์ บันทึกผลจากกราฟที่ได้และเปรียบเทียบผลต่างระหว่างปริมาณแทนนินในกราฟแรกและกราฟที่สอง
 - 3.3 จากนั้นทำเช่นเดิม โดยเปลี่ยนตัวทำละลายจากน้ำเป็นเอทานอลและอะซิโตน

4. เปรียบเทียบค่าดูดกลืนแสงจากกราฟที่ได้จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

ตอนที่ 3 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารแทนนินในดอกสุพรรณิการ์โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน

1. เตรียมเชื้อ *Staphylococcus aureus* แบคทีเรียจากสารตัวอย่างคือเนื้อหมู
2. นำเชื้อดังกล่าวมา streak เพื่อแยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยเชื้อจะมีลักษณะโคโลนีเป็นสีขาวออกเหลืองอ่อน
3. หลังจากตรวจสอบเชื้อบริสุทธิ์ นำเชื้อมาเกลี่ยให้ทั่วลงในจานเพาะเชื้อ
4. ทดสอบโดยใช้จานเพาะเชื้อ 1 จานต่อตัวทำละลาย 1 ชนิดโดย 1 จานจะใช้กระดาษ Paper disc 3 แผ่น โดยประกอบด้วย เอทานอล เอทานอลรวมกับฐานรองดอก และเอทานอลรวมกับแทนนินบริสุทธิ์
5. ทำซ้ำข้อ 3 และ 4 ซ้ำโดยเปลี่ยนเอทานอลเป็นน้ำและอะซิโตนตามลำดับ
6. สังเกต เปรียบเทียบและบันทึกผลโดยดูจากรัศมีเพื่อวัดขนาด Clear zone ที่เกิดขึ้น

บทที่ 4

ผลการทดลอง

โครงงานเรื่อง การเปรียบเทียบปริมาณและประสิทธิภาพแทนนินในดอกสุพรรณิการ์โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันเพื่อยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* คณะผู้จัดทำได้ดำเนินการตามขั้นตอนการดำเนินการ มีผลการทดลองดังนี้

4.1 เพื่อศึกษาสารแทนนินในดอกสุพรรณิการ์

ตารางที่ 4.1.1 ผลการทดลองสารละลายแทนนินบริสุทธิ์ทำปฏิกิริยากับสาร $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$

สาร	ลักษณะของสารละลายแทนนินก่อนทำปฏิกิริยากับ $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$	ลักษณะของสารละลายแทนนินหลังทำปฏิกิริยากับ $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$
แทนนินบริสุทธิ์		

จากตารางที่ 4.1.1 พบว่าในแทนนินบริสุทธิ์เมื่อทำปฏิกิริยากับ $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ จะเกิดสารที่มีลักษณะสีดำสนิทขึ้น

ตารางที่ 4.1.2 ผลการทดลองตรวจสอบแทนนินสุพรรณิการ์ด้วยสาร $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$

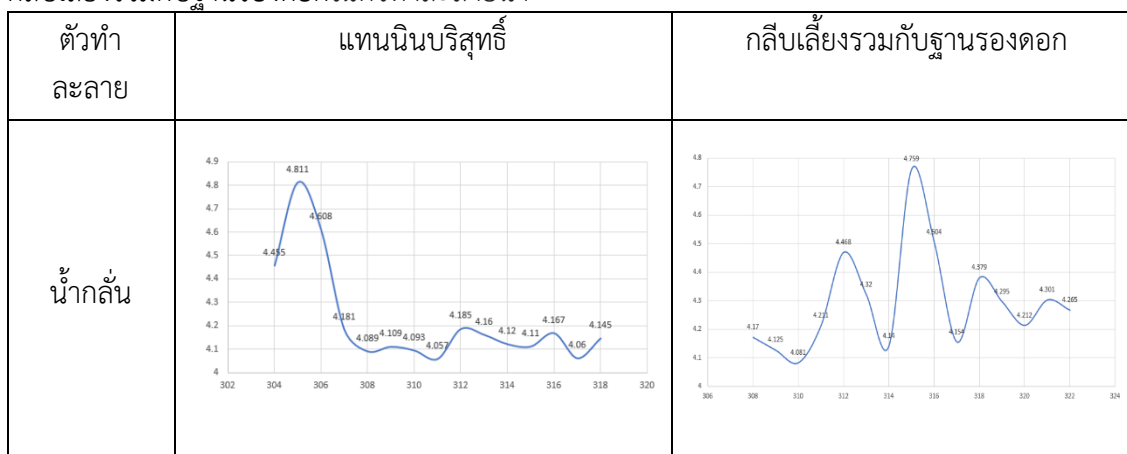
สารละลายแทนนินจากส่วนประกอบ ของดอกสุพรรณิการ์	ลักษณะของสารละลาย แทนนินก่อนทำปฏิกิริยา กับ $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$	ลักษณะของสารละลาย แทนนินหลังทำปฏิกิริยากับ $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$
กลีบดอก		
เกสร		
กลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอก		

จากตารางที่ 4.1.2 พบว่าสารละลายแทนนินจากส่วนประกอบทั้ง 3 ของดอกสุพรรณิการ์เมื่อนำมาหยดด้วย $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ จำนวน 1 หยด ความเข้มของสีดำที่เกิดขึ้นเรียงลำดับจากมากไปน้อย ดังนี้ กลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอก เกสร และกลีบดอก ตามลำดับ โดยกลีบดอกจะเป็นสีดำจางออกเขียว เกสร มีลักษณะเป็นสีดำเทา ในขณะที่กลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอก เกิดสารสีดำสนิทซึ่งใกล้เคียงกับแทนนินบริสุทธิ์ดังตารางที่ 4.1.1 มากที่สุด

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าส่วนของกลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกเมื่อนำไปทำปฏิกิริยากับ $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ จะได้สารสีดำโดยที่มีความเข้มของสีดำใกล้เคียงกับแทนนินบริสุทธิ์ เกสร กลีบดอก ตามลำดับ จึงเลือกใช้กลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกในการทำการทดลองต่อไป

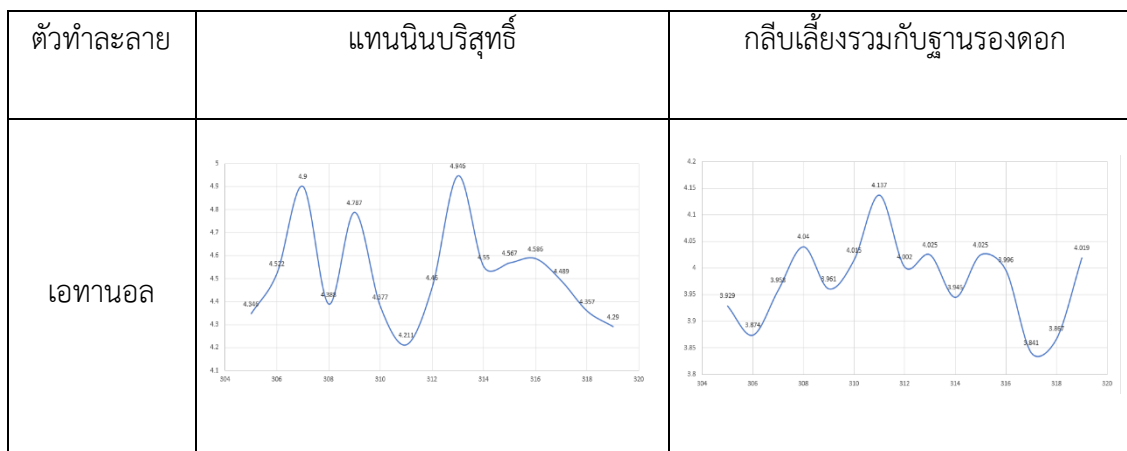
4.2 เพื่อเปรียบเทียบปริมาณของสารแทนนินในส่วนของดอกสุพรรณิการ์โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน

ตารางที่ 4.2.1 ผลการทดลองการเปรียบเทียบปริมาณแทนนินบริสุทธิ์ในตัวทำละลายน้ำกับแทนนินจากกลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกในตัวทำละลายน้ำ



จากตารางที่ 4.2.1 พบว่าค่าดูดกลืนแสงสูงสุดของแทนนินบริสุทธิ์ในตัวทำละลายเอทานอลอยู่ที่ 4.811 และค่าดูดกลืนแสงสูงสุดของแทนนินจากกลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกในตัวทำละลายเอทานอลอยู่ที่ 4.759 ค่าความต่างของค่าดูดกลืนแสงอยู่ที่ 0.052

ตารางที่ 4.2.2 ผลการทดลองการเปรียบเทียบปริมาณแทนนินบริสุทธิ์ในตัวทำละลายเอทานอลกับแทนนินจากกลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกในตัวทำละลายเอทานอล



จากตารางที่ 4.2.2 พบว่าค่าดูดกลืนแสงสูงสุดของแทนนินบริสุทธิ์ในตัวทำละลายเอทานอลอยู่ที่ 4.946 และค่าดูดกลืนแสงสูงสุดของแทนนินจากกลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกในตัวทำละลายเอทานอลอยู่ที่ 4.137 ค่าความต่างของค่าดูดกลืนแสงอยู่ที่ 0.809

ตารางที่ 4.2.3 ผลการทดลองการเปรียบเทียบปริมาณแทนนินบริสุทธิ์ในตัวทำละลายอะซิโตนกับแทนนินจากกลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกในตัวทำละลายอะซิโตน

ตัวทำละลาย	แทนนินบริสุทธิ์	กลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอก
อะซิโตน		

จากตารางที่ 4.2.3 พบว่าค่าดูดกลืนแสงสูงสุดของแทนนินบริสุทธิ์ในตัวทำละลายเอทานอลอยู่ที่ 4.332 และค่าดูดกลืนแสงสูงสุดของแทนนินจากกลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกในตัวทำละลายเอทานอลอยู่ที่ 3.946 ค่าความต่างของค่าดูดกลืนแสงอยู่ที่ 0.386

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าแทนนินจากกลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกในตัวทำละลายน้ำมีค่าความต่างการดูดกลืนแสง 0.052 ซึ่งใกล้เคียงกับแทนนินบริสุทธิ์ในตัวทำละลายน้ำมากที่สุด แทนนินจากกลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกในตัวทำละลายน้ำจึงมีปริมาณมากที่สุด

4.3 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารแทนนินในดอกสุพรรณิการ์โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน

ตารางที่ 4.3.1 ผลการทดลองการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแทนนินบริสุทธิ์และแทนนินจากฐานรองดอกในเอทานอล

สารทดสอบ	รูปภาพประกอบ	เส้นผ่านศูนย์กลาง			เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย(mm.)	รัศมี(mm.)
เอทานอล		15	16	16	15.67	7.83
ฐานรองดอก+เอทานอล		18	18.5	18.5	18.33	9.17
แทนนิน+เอทานอล		19	19.5	20	19.5	9.75

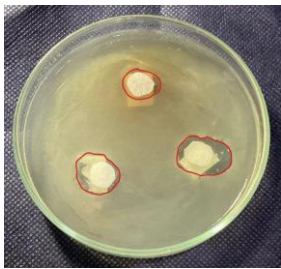
จากตารางที่ 4.3.1 พบว่าขนาด Clear zone โดยทราบจากรัศมี ของแทนนินรวมกับเอทานอลกว้างที่สุดคือ 9.75 mm. แคลลงมาคือฐานรองดอกรวมกับเอทานอลคือ 9.17 mm. และเอทานอลคือ 7.83 mm. ตามลำดับ

ตารางที่ 4.3.2 ผลการทดลองการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแทนนินบริสุทธิ์และแทนนินจากฐานรองดอกในน้ำกลั่น

สารทดสอบ	รูปภาพประกอบ	เส้นผ่านศูนย์กลาง			เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย(mm.)	รัศมี(mm.)
น้ำกลั่น		10	10	10	10	5
ฐานรองดอก+น้ำกลั่น		10	10.5	12	10.83	5.42
แทนนิน+น้ำกลั่น		11.5	12	12	11.83	5.92

จากตารางที่ 4.3.2 พบว่าขนาด Clear zone โดยทราบจากรัศมี แทนินรวมกับน้ำกลั่นกว้างที่สุดคือ 5.92 mm. แคลลงมาคือ ฐานรองดอกรวมกับน้ำคือ 5.42 mm. และเอทานอลคือ 5 mm. ตามลำดับ

ตารางที่ 4.3.3 ผลการทดลองการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแทนนินบริสุทธิ์และแทนนินจากฐานรองดอกในอะซิโตน

สารทดสอบ	รูปภาพประกอบ	เส้นผ่านศูนย์กลาง			เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย(mm.)	รัศมี(mm.)
อะซิโตน		13	15	16	14.67	7.34
ฐานรองดอก+อะซิโตน		16	17	17	16.67	8.34
แทนนิน+อะซิโตน		17	17.5	18.5	17.67	8.83

จากตารางที่ 4.3.3 พบว่าขนาด Clear zone โดยทราบจากรัศมี แทนินรวมกับอะซิโตนกว้างที่สุดคือ 8.83 mm. แคลลงมาคือฐานรองดอกรวมกับอะซิโตนคือ 8.34 mm. และอะซิโตนคือ 7.34 mm. ตามลำดับ

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าพบว่าขนาด Clear zone โดยทราบจากรัศมี แทนินทั้ง 2 ชนิดที่มีตัวละลายคือเอทานอลทั้งแทนนินบริสุทธิ์และแทนนินจากฐานรองดอกมีขนาดโดยเฉลี่ยที่กว้างกว่าแทนนินจากตัวทำละลายชนิดอื่นอย่างน้ำและอะซิโตน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพดี เหมาะสมที่สุดจากทั้ง 3 ตัวทำละลาย

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

โครงการเรื่องการเปรียบเทียบปริมาณและประสิทธิภาพแทนนินในดอกสุพรรณิการ์โดยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกันเพื่อยับยั้งแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* คณะผู้จัดทำดำเนินการตามขั้นตอนการดำเนินการ ได้ผลสรุปและอภิปรายผล ดังนี้

5.1 สรุปผลและอภิปรายผล

5.1.1 ในดอกสุพรรณิการ์มีสารแทนนิน โดยดอกสุพรรณิการ์ทำปฏิกิริยากับเฟอริกไนเตรต $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ ได้สารประกอบสีดำ ซึ่งเป็นไปตามบทความ การวิเคราะห์หาปริมาณเหล็กในน้ำกลั่นโดยใช้สารสกัดแทนนินเป็นรีเอเจนต์ ของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภาควิชาวิทยาศาสตร์สาขาวิชาเคมี ที่กล่าวว่าสารแทนนินจะทำปฏิกิริยากับเกลือของเหล็กในที่นี้คือ Fe^{3+} ได้สารประกอบสีดำหรือน้ำเงินเข้ม และส่วนที่มีแทนนินมากที่สุดคือบริเวณกลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกเนื่องจากมีลักษณะภายนอกใกล้เคียงกับแทนนินบริสุทธิ์มากที่สุด

ผลการศึกษาการตรวจสอบยืนยันสารแทนนินในดอกสุพรรณิการ์และส่วนที่มีสารแทนนินมากที่สุดสรุปได้ว่า ในดอกสุพรรณิการ์มีสารแทนนิน และส่วนที่มีแทนนินมากที่สุดคือบริเวณกลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอก

5.1.2 การสกัดสารแทนนินด้วยตัวทำละลายที่ต่างชนิดกันมีผลต่อปริมาณแทนนินที่ออกมาได้ ซึ่งเป็นไปตามบทความของสิริวัลย์ สร้อยกล่อม นักวิจัยชำนาญการพิเศษ ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก. ม.เกษตรศาสตร์ ที่กล่าวว่าการเลือกตัวทำละลายที่นำมาใช้ในการสกัดที่ต่างกันจะมีผลต่อปริมาณสารที่ได้

ผลการศึกษาการเปรียบเทียบปริมาณของสารแทนนินในส่วนของดอกสุพรรณิการ์ที่มีแทนนินมากที่สุดจากวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน สามารถสรุปได้ว่า แทนนินจากกลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำมีปริมาณแทนนินมากที่สุด

5.1.3 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* สามารถยับยั้งได้ดี ซึ่งเป็นไปตามบทความของศิริวรรณ แก้วเพชร และคณะ ที่กล่าวว่าแทนนินจากพืชสามารถใช้เพื่อยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เนื้อสัตว์เน่าเสียในห้องปฏิบัติการ โดยการวัดขนาด Clear zone

ผลการศึกษาการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารแทนนินในส่วนของดอกสุพรรณิการ์ที่มีสารแทนนินมากที่สุดจากวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน สามารถสรุปได้ว่า แทนนินจากกลีบเลี้ยงรวมกับฐานรองดอกที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีประสิทธิภาพและเหมาะสมมากที่สุด

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ศึกษาส่วนประกอบอื่นๆของต้นสุพรรณิการ์หรือพืชชนิดอื่น

5.2.2 ศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ

5.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

5.3.1 ได้ศึกษาปริมาณแทนนินในส่วนต่างๆ ของดอกสุพรรณิการ์

5.3.2 ได้ศึกษาสารแทนนินในส่วนของดอกสุพรรณิการ์ที่โดยวิธีการสกัดด้วย
ตัวทำละลายที่ต่างกันและการเพาะเชื้อแบคทีเรีย

5.3.3 สามารถนำผลการศึกษาไปพัฒนาและต่อยอดต่อไป

บรรณานุกรม

- จิตรลดา เศษจันทร์และคณะ. (2563). *ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากดอกสุพรรณิการ์ ให้บริสุทธิ์ซึ่งกระบวนการวิจัยเป็นการศึกษาเก็บตัวอย่างในจังหวัดสระแก้วและด้วยตัวทำละลายเมทานอล*. สืบค้น 12 พฤษภาคม 2566.
จาก <https://opac1.lib.buu.ac.th/medias3/b00332020/59210147.pdf>
- เนียรวรรณ มีเจริญ. (2560). *การแยกเชื้อบริสุทธิ์*. สืบค้น 25 พฤษภาคม 2566.
จาก <https://www.scimath.org/lesson-biology/item/7448-2017-08-11-07-30-49>
- ปาริชาติ พจนศิลป์. (2561). *ศึกษาการสกัดสารแทนนินจากเปลือกมะพร้าวอ่อน*. สืบค้น 25 พฤษภาคม 2566, จาก <https://www.scimath.org/lesson-biology/item/>
- พรพิมล พิมพ์รัตน์และคณะ. (2560). *ศึกษาสารสกัดแทนนินจากใบหูกวาง*. สืบค้น 10 มิถุนายน 2566, จาก <https://www.scimath.org/lesson-biology/item/7448-2017-08-11-07-30>
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และคณะ. (มปป). *เชื้อ Staphylococcus aureus*. สืบค้น 19 พฤษภาคม 2566, จาก <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1197/staphylococcus-aureus>
- ไม่ปรากฏชื่อผู้แต่ง. (2566). *ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของดอกสุพรรณิการ์*. สืบค้น 12 พฤษภาคม 2566.
จาก <https://www.samunpri.com>
- เรมาวดี. (2556). *ดอกสุพรรณิการ์*. สืบค้น 10 พฤษภาคม 2566.
จาก <https://www.remawadee.com/articles/YellowCotton.html>
- วรพจน์ จันทร์แสนตอ. (2541). *พืชที่มีแทนนินสูง มาใช้ในการยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เนื้อหมูเน่าเสีย*. สืบค้น 11 พฤษภาคม 2566, จาก <https://www.scimath.org/project/item/>
- วิภา สุโรจนะเมธากุล และ ชิตชม อีรางะ. (2537). *ศึกษาแทนนินจากเปลือกกล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า กล้วยไข่ที่มีระยะเวลาในการสุกต่างกัน*. สืบค้น 10 มิถุนายน 2566, จาก https://kukr.lib.ku.ac.th/kukr_es/BKN/search_detail/result/272995
- ศุภาวิตา จรรยา. (2563). *การแยกสารด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย*. สืบค้น 17 พฤษภาคม 2566, จาก <https://www.scimath.org/lesson-chemistry/item/>
- สยามเคมี. (2565). *การใช้ประโยชน์จากแทนนิน*. สืบค้น 12 พฤษภาคม 2566, จาก <https://www.siamchemi.com>
- หทัยพร. (2547). *ความหมายของแทนนิน*. สืบค้น 14 พฤษภาคม 2566, จาก <https://chumphon.mju.ac.th/goverment/>

ภาคผนวก

รูปภาพประกอบรายงานโครงงาน



ภาพที่ 1 การอบส่วนประกอบของดอกสุพรรณิการ์ เพื่อนำความชื้นออก



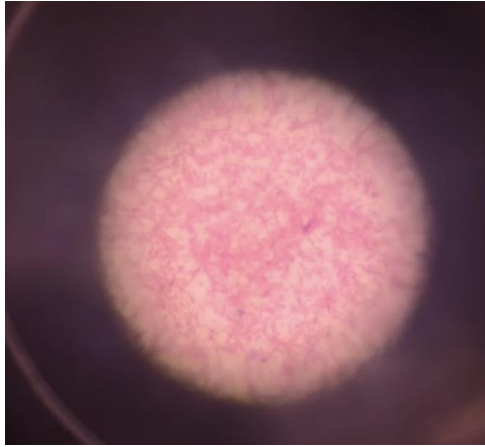
ภาพที่ 2 การสกัดแทนนินจากฐานรองดอกของดอกสุพรรณิการ์ด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน



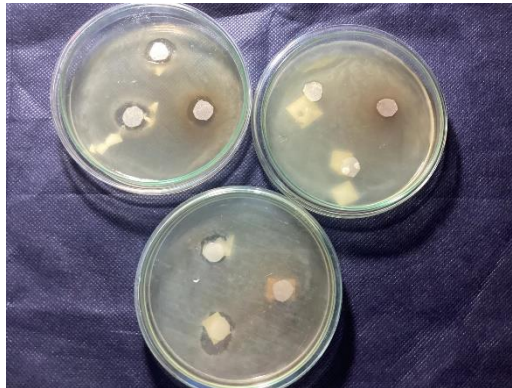
ภาพที่ 3 การตรวจสอบค่าดูดกลืนแสงของแทนนินจากฐานรองดอกเห็ดเทียบกับสารบริสุทธิ์ของ
ตัวทำละลายด้วยเครื่อง Spectrophotometer



ภาพที่ 4 การย้อมสีแกรมเชื้อ Staphylococcus aureus sp. เพื่อนำไปส่องกล้องจุลทรรศน์



ภาพที่ 5 เชื้อ *Staphylococcus aureus* sp. ที่ได้จากการส่องกล้องจุลทรรศน์เพื่อยืนยันตัวอย่างเชื้อ



ภาพที่ 6 ทดสอบประสิทธิภาพแทนนินจากสารละลายทั้ง 3 ชนิดภายในจานเพาะเชื้อ