

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ตารางแสดงค่า Chemical Shift จากการคำนวณโดยโปรแกรม CS ChemDraw Ultra Version 5.0

และกับ โครงสร้างที่มีรายงาน

ตารางที่ ก-1 แสดงค่า Chemical Shift ^1H และ ^{13}C NMR ของ Indol-6-Carboxaldehyde ที่มีรายงาน
และจากการคำนวณโดยโปรแกรม CS ChemDraw Ultra

No.	6-Formylindole*		CS ChemDraw Ultra	
		δ_{H} (ppm, $J = \text{Hz}$)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	NH	8.8 br s	-	-
2	CH	7.46 m	124.1	7.27
3	CH	6.64 br s	102.1	6.45
4	CH	7.74 d ($J=8.1$)	121.4	7.74
4a	C	-	133.4	-
5	CH	7.65 d ($J=8.1$)	122.9	7.55
6	C	-	127.8	-
6a	CHO	10.0 s	190.0	9.87
7	CH	7.96 s	112.2	7.95
7a	C	-	136.4	-

* ^1H MNR (250 MHz, CDCl_3) 6-Formylindole หรือ Indole-6-Carboxaldehyde
(Moyer et al., 1986)

ตารางที่ ก-2 แสดงค่า Chemical Shift ^1H และ ^{13}C NMR ของ 13-*epi*-Phaeophorbide-a และ
จากการคำนวณ โดยโปรแกรม CS ChemDraw Ultra

No	13- <i>epi</i> -Phaeophorbide-a*			CS ChemDraw Ultra **	
		δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm, J = Hz)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	C	142.1	-	117.0	-
2	C	131.9	-	118.0	-
2'	CH ₃	12.1	3.34 s	7.1	2.05
3	C	136.1	-	112.0	-
3'	CH	129.0	7.88 dd (J =17.8, 11.5)	135.8	6.63
3''	CH ₂	122.7	6.27 d(J =11.5)	118.3	5.61
			6.22 d (J =17.8)		5.18
4	C	136.2	-	119.0	-
5	CH	97.5	9.23 s	no	no
6	C	155.7	-	117.7	-
7	C	136.2	-	121.7	-
7'	CH ₃	11.2	3.12 s	7.0	2.05

ตารางที่ ก-2 (ต่อ)

No	13- <i>epi</i> -Phacophorbide-a*			CS ChemDraw Ultra **	
		δ_c (ppm)	δ_H (ppm, $J=$ Hz)	δ_c (ppm)	δ_H (ppm)
8	C	145.2	-	121.7	-
8 ¹	CH ₂	19.4	3.57 q ($J=7.2$)	15.8	2.47
8 ²	CH ₃	17.4	1.64 t ($J=7.2$)	17.5	1.24
9	C	151.0	-	117.7	-
10	CH	104.4	9.4 s	no	no
11	C	137.8	-	117.0	-
12	C	129.0	-	118.0	-
12 ¹	CH ₃	12.1	3.63 s	6.5	2.05
13	C	128.8	-	112.0	-
13 ¹	C	189.8	-	196.5	-
13 ²	CH	64.8	6.27 s	96.2	-
	-OCH ₃	52.9	3.87 s	50.8	3.67
14	C	149.7	-	119.0	-
15	C	105.1	-	no	-
16	C	161.5	-	no	-
17	CH	51.2	4.19 br d ($J=8.5$)	45.2	3.14
17 ¹	CH ₂	30.0	2.62 m 2.26 m	21.1	1.86
17 ²	CH ₂	31.1	2.34 m 2.59 m	41.6	2.45
17 ³	C=O	176.1	-	171.0	-
18	CH	50.2	4.45 q ($J=7.2$)	44.5	3.32
18 ¹	CH ₃	23.1	1.81 d ($J=7.2$)	12.9	1.34
19	C	172.3	-	no	-
20	CH	93.2	8.53 s	no	no

* ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) และ ¹H MNR (400 MHz, CDCl₃) (Duan et al., 2002)

** ค่า Chemical Shift ของโครงสร้าง 13²-Hydroxy Pheophytin a ในส่วนของ Porphyrin

no = โปรแกรม CS ChemDraw Ultra ไม่สามารถคำนวณได้

ตารางที่ ก-3 ค่า Chemical Shift จากการคำนวณโดยโปรแกรม CS ChemDraw Ultra ในส่วนของ
Phytyl ของ 13²-Hydroxy Pheophytin a

No		CS ChemDraw Ultra	
		δ_c (ppm)	δ_h (ppm)
21	CH	62.9	4.75
22	CH	121.2	5.39
23	C	141.8	-
23 ¹	CH ₃	16.8	1.71
24	CH ₂	40.2	1.96
25	CH ₂	25.3	1.33
26	CH ₂	37.6	1.25
27	CH	32.1	1.65
27 ¹	CH ₃	20.1	1.06
28	CH ₂	37.5	1.25
29	CH ₂	25.3	1.29
30	CH ₂	37.5	1.25
31	CH	32.0	1.65
31 ¹	CH ₃	20.1	1.06
32	CH ₂	37.5	1.25
33	CH ₂	25.0	1.29
34	CH ₂	39.7	1.25
35	CH	28.5	1.83
35 ¹	CH ₃	22.3	1.01
35 ²	CH ₃	22.3	1.01

ตารางที่ ก-4 แสดงค่า Chemical Shift ^1H และ ^{13}C NMR ของ 4-Acetoxydictyolacton ที่มีรายงาน
และจากการคำนวณโดยโปรแกรม CS ChemDraw Ultra
4,18-Dihydroxydictyolactone

No	4-Acetoxydictyolactone *			CS ChemDraw Ultra	
		δ_c (ppm)	δ_H (ppm, $J=$ Hz)	δ_c (ppm)	δ_H (ppm)
1	C	134.9	-	140.3	-
2	CH	36.7	3.36 (dtd, $J=7.7, 2.2, 1.6$)	25.8	2.83
3	CH	49.8	2.10 (dd, $J=2.3, 1.5$)	41.5	1.57
4	CH	75.6	5.27 (dd, $J=4.5, 2.3$)	67.2	3.24
5	CH ₂	45.1	2.17 (ddd, $J=13.8, 4.5, 1.0$) 2.47 (dd, $J=13.8, 2.3$)	46	2.11
6	C	134.9	-	142.6	-
7	CH	126.5	5.36 (dd, $J=11.6, 4.0$)	116.4	5.21
8	CH ₂	29.5	2.99 (dddd, $J=17.6, 7.5, 4.0, 1.0$) 3.19 (ddt, $J=17.6, 11.6, 2.2$)	23.3	2.63
9	CH	139.8	6.95 (dt, $J=7.5, 2.2$)	129.3	6.61
10	CH	32.3	1.64 m	26.3	1.64
11	CH ₂	37.6	1.2 m	36	1.29
12	CH ₂	25.8	1.88 m	24.3	1.96
13	CH	123.8	4.99 (triplet of septets, $J=7.1, 1.5$)	125.8	5.20
14	C	132.1	-	133.2	-
15	CH ₃	25.7	1.64 (d, $J=1.5$)	25.3	1.71
16	CH ₃	17.8	1.54 (d, $J=1.5$)	16.3	1.71
17	CH ₃	17.4	0.90 (d, $J=6.7$)	18.7	1.06
18	CH	68.1	4.10 (dd, $J=9.6, 7.7$) 4.44 (dd, $J=9.6, 1.6$)	102.8	5.72
19	C	172.9	-	165	-
20	CH ₃	19.7	1.78 (d, 1.5)	17.5	1.71

* ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) และ ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 2.03, 21.5 (3H, s, C, Ac),
169.8 (Ac) (Ishitsuka et al., 1988)

ตารางที่ ก-5 แสดงค่า Chemical Shift ^1H และ ^{13}C NMR ของ 8 β ,11-Dihydroxypachydictyol A
ที่มีรายงานและจากการคำนวณโดยโปรแกรม CS ChemDraw Ultra

No	8 β ,11-Dihydroxypachydictyol A*			CS ChemDraw Ultra	
		δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm, $J = \text{Hz}$)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	CH	47.0	2.57 m	32	2.57
2	CH ₂	35.0	2.32 m 2.36 m	31.5	2.28
3	CH	123.7	5.34 brs	124.3	5.38
4	C	141.9	-	141	-
5	CH	60.2	2.70 br s	49.3	2.38
6	CH	74.9	4.25 br s	56.3	3.23
7	CH	48.4	1.64 m	57.7	1.7
8	CH	71.2	4.63 (br t, $J=5.4$)	57	3.24
9	CH ₂	47.1	2.53 (dd, $J=5.4, 14.2$) 2.78 (dd, $J=5.4, 14.2$)	41.8	2.11
10	C	147.8	-	157.9	-
11	C	77.0	-	62.8	-
12	CH ₂	41.4	1.73 m	42.5	1.44
13	CH ₂	23.3	2.04 m	18.1	1.96
14	CH	124.1	5.14 (br t, $J=7.0$)	125.8	5.2
15	C	131.8	-	133.2	-
16	CH ₃	25.7	1.68 s	19.3	1.71
17	CH ₃	15.4	1.80 s	21	1.71
18	CH ₂	111.4	4.92 (br s)	105.5	4.75
19	CH ₃	25.9	1.32 s	26.4	1.31
20	CH ₃	17.6	1.60 s	19.3	1.71

* ^{13}C NMR (75.5 MHz, CDCl_3) และ ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) (De Nys et al., 1993)

ตารางที่ ก-6 แสดงค่า Chemical Shift ^1H และ ^{13}C NMR ของ 4 α -Hydroxycrenulide
ที่มีรายงานและจากการคำนวณโดยโปรแกรม CS ChemDraw Ultra

No	4 α -hydroxycrenulide			CS ChemDraw Ultra	
		δ_{C} (ppm) *	δ_{H} (ppm, J = Hz)**	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	C	128.1	-	130.6	-
2	C	168.5	-	151.4	-
3	CH	48.9	3.37 (br d, J =8.0)	46.6	2.23
4	CH	70.0	4.33 brs	66.8	3.24
5	CH ₂	48.6	1.89 m, 1.77 (br d, J =5.8)	40.5	1.4
6	CH	28.5	1.24 m	30.5	1.64
7	CH	10.2	1.48 m	20.6	0.23
8	CH ₂	8.2	0.36 (ddd, J =5.3, 5.4, 5.4), 1.02 m	6.6	0.18
9	CH	26.1	2.09 m	9.7	0.89
10	CH	32.9	1.94 m	25.8	1.68
11	CH ₂	35.8	1.37 m	36	1.29
12	CH ₂	25.7	0.97 m, 2.01 m	24.4	1.96
13	CH	123.8	5.06 (br dd, J = 7.1, 7.5)	125.8	5.2
14	C	132.3	-	133.21	-
15	CH ₃	17.7	1.59 s	19.3	1.71
16	CH ₃	25.6	1.69 s	25.3	1.71
17	CH ₃	17.4	4.19 m	18.7	1.06
18	CH ₂	72.3	4.73(dd, J =3.0, 17.3), 4.97 (dd, J =2.5, 17.3)	71.3	4.92
19	C=O	174.7	-	171	-
20	CH ₃	23.7	1.02 (d, J =6.9)	18	1.06

* ^{13}C NMR; CDCl_3 (Midland et Al., 1983)

** ^1H NMR; CDCl_3 ของ 17-Acetoxy-4 α -hydroxycrenulide (Konig et al., 1991)

ตารางที่ ก-7 แสดงค่า Chemical Shift ^1H และ ^{13}C NMR ของ Fucoxanthin ที่มีรายงานและจากการคำนวณ โดยโปรแกรม CS ChemDraw Ultra

No	Fucoxanthin*			CS ChemDraw Ultra	
		δ_c (ppm)	δ_H (ppm, $J=\text{Hz}$)	δ_c (ppm)	δ_H (ppm)
1	C	35.6	-	23.3	-
2	CH ₂	46.9	1.36 (dd, $J=8.5, 14.2$)	41.2	1.36
			1.49 (dd, $J=2.9, 14.2$)		-
3	CH	64.2	3.80 m	57.4	3.21
4	CH ₂	41.5	1.77 (dd, $J=8.7, 14.2$)	39.7	1.53
			2.29 (dd, $J=2.9, 17.8$)	-	
5	C	66	-	53.5	-
6	C	66.9	-	77.6	-
7	CH ₂	40.6	2.59 (d, $J=20.4$)	35.6	3.03
			3.64 (d, $J=20.4$)		
8	C	170.4	-	197.6	-
9	C	134.3	-	140	-
10	CH	139	7.14 (d, $J=12.8$)	134.2	7.12
11	CH	123.2	6.58 m	129.9	6.51
12	CH	144.9	6.66 (t, $J=12.8$)	129.9	6.51
13	C	135.3	-	139.3	-
14	CH	136.6	6.40 (d, $J=11.6$)	122.5	6.23
15	CH	129.3	6.67m	129.9	6.51
16	CH ₃	24.9	1.02 s	20.9	1.11
17	CH ₃	28	0.95 s	20.9	1.11
18	CH ₃	21	1.21 s	19.4	1.31
19	CH ₃	11.7	1.93 s	10.8	1.93
20	CH ₃	12.6	1.98 s	17.3	1.71
21	C	197.7	-	171	-
22	CH ₃	21.3	2.03 s	17.6	2.01

ตารางที่ ก-7 (ต่อ)

No	Fucoxanthin*			CS ChemDraw Ultra	
		δ_c (ppm)	δ_H (ppm, $J=Hz$)	δ_c (ppm)	δ_H (ppm)
1'	C	35	-	21.8	-
2'	CH ₂	45.2	1.41 (dd, $J=10.4,14.9$) 2.00 (dd, $J=2.9,14.9$)	43.6	1.49
3'	CH	67.8	5.37 (tt, $J=8.8,12.0$)	63.3	3.95
4'	CH ₂	45.1	1.53 (dd, $J=10.4,14.9$) 2.29 (dd, $J=2.9,17.8$)	44.3	1.68
5'	C	72.6	-	65.4	-
6'	C	117.3	-	108.6	-
7'	C	202.2	-	199.9	6.2
8'	CH	103.2	6.04 s	92.8	-
9'	C	132.4	-	139.3	-
10'	CH	128.4	6.12 (d, $J=11.6$)	122.5	6.15
11'	CH	125.5	6.71 (t, $J=12.0$)	129.9	6.51
12'	CH	137	6.34 (d, $J=11.6$)	129.9	6.51
13'	C	138	-	139.3	-
14'	CH	132	6.26 (d, $J=11.6$)	122.5	6.23
15'	CH	132.4	6.71 (dd, $J=12.0, 14.2$)	129.9	6.51
16'	CH ₃	29	1.37 s	21.2	1.14
17'	CH ₃	31.9	1.06 s	21.2	1.14
18'	CH ₃	31.1	1.34 s	21.9	1.34
19'	CH ₃	13.9	1.80 s	13.1	1.71
20'	CH ₃	12.8	1.98 s	17.3	1.71

* ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) และ 1H MNR (400 MHz, $CDCl_3$) (Mori et al., 2004)

หมายเหตุ

จากการเปรียบเทียบค่า Chemical Shift ของโครงสร้าง Fucoxanthin ที่ได้จากการวิเคราะห์และที่เคยมีรายงานพบว่าค่าที่ได้ใกล้เคียงกันแต่จะแตกต่างจากที่ทำการวิเคราะห์ คือที่ตำแหน่ง C-8 (Carbonyl) 197.9 ppm และที่ C-22 (Carbonyl ของ Acetate) 170.6 ppm แต่เมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการคำนวณโดยโปรแกรม CS ChemDraw Ultra พบว่าตรงกัน นอกจากนี้ค่า Chemical Shift ที่ตำแหน่งที่แตกต่างดังกล่าว ผู้วิจัยได้ใช้ 2D NMR เพื่อช่วยยืนยัน ซึ่งได้กล่าวไว้แล้วในบทที่ 4

การคำนวณค่า Chemical Shift

โดยโปรแกรม CS ChemDraw Ultra Version 5.0

CambridgeSoft Corporation 1985-1998

ภาคผนวก ข

ตารางบันทึกการเจริญเติบโตของต้นผักกาดหอม

ตารางที่ ข-2 อัตราการเจริญเติบโต (cm) ของต้นผักกาดหอมในวันที่ 8-9 มกราคม 2548 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดอย่างหยาบจากหญ้าทะเล เทียบกับ Blank

วันที่	crude <i>Enhalus acoroides</i>															crude <i>Halodule pinifolia</i>															blank
	10 ppm/plate					100 ppm/plate					1000 ppm/plate					10 ppm/plate					100 ppm/plate					1000 ppm/plate					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
8/1/2005	1.0	0.7	0.6	0.9	1.0	0.6	1.0	0.7	0.9	0.9	0.4	0.7	0.1	0.7	0.8	0.8	0.5	1.0	0.6	0.7	0.8	0.9	0.3	0.5	0.5	0.8	0.6	1.0	0.8	1.0	0.9
	0.9	0.5	0.7	0.7	0.7	0.4	0.6	0.4	1.0	0.2	0.3	0.6	0.4	0.5	1.2	1.0	0.5	0.7	0.9	0.6	0.8	0.4	0.4	0.3	0.7	0.1	0.5	0.6	0.7	0.8	0.5
	1.4	0.5	0.6	0.5	0.6	0.7	0.8	0.2	0.7	0.6	0.4	0.6	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	0.5	0.9	0.9	0.1	0.4	0.4	0.3	0.7	0.1	0.5	0.6	0.7	0.5	0.7
	0.9	0.6	0.7	0.8	0.7	1.0	0.9	0.5	0.9	0.9	0.5	0.7	0.6	0.0	0.5	1.0	0.8	0.5	0.5	0.5	0.5	0.2	0.7	0.5	0.5	0.7	1.1	0.9	0.9	0.4	0.8
	0.6	0.7	0.9	0.3	0.1	0.3	1.2	0.9	0.8	0.8	0.7	0.5	0.4	0.2	0.3	0.7	0.7	0.7	0.5	0.7	0.8	0.5	0.3	0.8	0.4	0.8	1.0	1.1	0.5	0.5	1.0
	0.8	0.6	0.5	0.6	0.6	0.2	0.6	0.5	0.6	0.7	0.6	0.5	0.5	0.1	0.5	1.1	0.7	1.1	0.6	0.8	0.9	0.9	0.4	0.6	0.4	0.2	0.9	0.5	0.5	0.7	1.3
	0.4	0.6	0.9	0.7	0.7	0.7	0.7	0.5	1.0	0.6	0.4	0.5	0.3	0.2	0.7	0.2	0.4	0.6	0.8	0.9	0.9	0.4	0.7	0.5	0.1	0.2	0.8	1.1	0.7	0.8	0.5
	0.7	0.7	1.0	0.1	0.6	0.2	1.0	0.0	0.9	0.6	0.9	0.3	0.4	0.5	0.5	0.9	0.7	0.6	0.4	0.7	0.7	0.5	0.2	0.6	0.2	0.5	0.1	0.7	0.9	0.8	0.6
	0.8	0.7	0.9	0.9	0.7	1.0	0.6	0.7	0.5	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5	0.7	1.1	0.9	0.6	0.1	0.5	0.9	0.2	0.7	0.2	0.4	0.7	0.1	0.4	0.6	0.7	
0.5	0.8	0.8	0.7	0.4	1.0	0.6	0.1	0.4	0.5	0.6	0.6	0.5	0.5	0.4	0.3	0.5	0.0	0.5	0.6	0.0	0.2	0.6	0.3	0.5	0.2	0.6	0.6	0.3	0.9	0.6	
9/1/2005	0.6	1.3	1.2	0.9	0.0	0.6	0.0	1.6	1.5	0.7	0.9	1.0	0.0	0.7	0.6	1.8	0.0	1.6	1.0	1.2	1.0	1.1	0.8	0.6	1.0	0.5	0.6	0.9	1.3	1.1	1.1
	0.6	1.2	0.9	0.8	0.0	1.2	0.0	1.0	1.3	1.5	1.6	0.5	0.0	0.8	0.0	1.0	1.0	0.0	2.0	0.9	1.2	0.8	1.2	0.6	1.1	0.7	1.2	1.0	0.6	1.4	0.5
	0.0	1.2	0.7	0.5	0.0	0.8	0.5	1.2	1.2	1.5	1.0	0.5	0.0	0.8	0.0	1.0	1.4	0.0	1.0	1.1	1.5	0.7	1.6	0.6	0.5	0.7	1.2	0.9	0.8	0.8	0.5
	0.0	2.0	1.1	0.8	0.0	1.0	0.5	1.4	1.0	1.5	0.7	0.4	0.0	0.7	0.0	1.2	1.0	1.4	0.7	0.6	1.0	1.3	0.6	0.8	0.7	1.0	0.9	1.0	0.9	1.0	1.0
	0.0	0.9	1.0	0.7	0.0	1.4	0.5	1.0	1.1	1.2	1.0	0.8	0.0	0.7	0.0	0.5	1.9	1.4	1.0	1.2	0.5	0.7	0.6	1.0	0.7	0.6	1.0	0.6	1.3	0.6	
	0.0	1.0	1.3	1.1	0.0	0.5	0.8	1.0	1.8	1.0	1.0	0.8	0.5	0.0	0.6	1.4	1.6	1.0	0.6	0.9	0.8	0.0	0.8	0.6	0.9	0.5	0.6	0.5	0.4	1.0	0.6
	0.0	0.6	0.5	1.1	0.0	1.1	0.9	0.5	0.9	0.8	0.8	0.5	0.0	1.6	1.3	0.0	1.9	0.5	1.3	0.0	1.1	0.6	0.8	0.5	0.8	0.6	1.3	1.1	0.2	1.6	1.0
	0.0	1.1	0.7	1.1	0.0	1.3	0.9	0.5	0.9	0.8	0.6	0.0	0.0	1.2	1.3	0.0	1.6	1.0	0.0	1.4	0.0	0.4	0.6	0.3	0.5	1.4	0.8	0.7	0.4	1.1	1.1
	0.0	1.0	0.9	0.7	0.0	0.5	1.0	0.8	0.6	0.8	0.5	0.0	0.0	0.8	1.2	0.0	1.2	0.9	0.0	1.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4	0.3	0.6	0.8	1.3	0.5	0.8
0.0	0.6	0.2	1.0	0.0	0.4	0.6	0.6	0.9	0.8	0.5	0.0	0.0	0.7	1.1	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	1.4	0.5	0.9	0.8	1.0	

ตารางที่ ข-3 อัตราการเจริญเติบโต (cm) ของต้นผักกาดหอมใน วันที่ 10-11 มกราคม 2548 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดอย่างหยาบจากหญ้าทะเล เทียบกับ Blank

วันที่	crude <i>Enhalus acoroides</i>															crude <i>Halodule pinifolia</i>															blank		
	10 ppm/plate					100 ppm/plate					1000 ppm/plate					10 ppm/plate					100 ppm/plate					1000 ppm/plate							
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5			
	10/1/2005	0.8	1.4	1.3	2.0	0.9	1.3	1.2	1.3	1.4	1.3	1.4	1.3	1.4	1.3	1.4	1.2	1.2	1.3	1.6	1.0	2.0	0.6	1.2	1.4	1.3	1.4	1.0	1.3	1.7		0.9	1.2
	1.1	1.1	0.8	1.1	0.6	1.3	0.7	1.6	1.6	1.0	1.6	1.0	1.6	1.0	1.6	1.7	1.7	1.4	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7		
	1.6	0.7	0.5	0.5	1.2	0.8	1.0	1.1	1.3	0.6	1.0	0.4	0.8	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9		
	1.0	1.0	1.1	1.3	0.9	0.5	1.3	1.1	1.0	1.6	0.8	0.5	0.8	0.7	0.9	1.2	1.1	0.6	1.2	0.9	1.0	0.3	0.6	0.8	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5		
	0.6	0.6	0.6	1.0	0.4	0.4	0.9	0.8	0.5	1.8	0.9	0.4	0.6	0.3	0.5	1.0	1.0	0.8	0.7	0.7	0.7	1.2	10.0	0.1	1.2	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	
	1.3	1.2	0.5	1.1	0.7	1.3	0.7	0.9	1.3	1.4	0.9	0.3	0.7	0.4	0.7	1.9	1.0	0.8	0.9	1.1	1.7	1.4	0.8	0.5	0.4	1.3	0.8	0.7	1.0	1.4	1.0		
	1.5	0.6	1.5	1.2	0.8	0.6	0.7	0.1	2.0	1.0	0.6	0.3	0.5	0.8	0.6	1.5	1.1	0.0	0.9	1.4	1.9	1.4	0.8	0.5	1.1	0.2	1.2	0.6	0.7	0.6	1.4	0.9	
	1.0	0.9	1.0	0.6	0.6	1.0	0.9	1.2	0.6	0.6	1.0	0.8	0.6	0.7	0.6	1.8	1.3	0.0	1.3	1.4	2.0	1.9	1.0	1.4	1.1	0.5	0.7	0.5	0.9	0.5	1.8	1.5	
	1.4	1.0	0.5	0.7	0.8	1.2	0.4	1.8	0.7	0.7	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5	0.6	1.4	0.0	1.1	1.5	1.1	1.4	1.0	1.4	0.8	0.5	0.6	0.4	0.6	0.5	1.7	1.4	
	1.0	1.1	1.2	1.2	0.7	0.7	0.0	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.5	0.5	0.7	0.5	1.4	0.0	0.9	0.0	0.6	0.0	0.9	1.0	1.0	1.0	0.5	0.5	0.0	0.5	1.0	1.2	
11/1/2005	1.2	1.4	1.3	1.9	1.2	1.2	0.4	1.9	1.5	1.4	1.5	1.4	1.5	1.4	1.0	1.7	1.1	1.3	1.4	2.1	1.6	1.0	0.6	2.0	0.9	0.8	0.6	1.1	1.3	0.6	1.2	0.8	1.1
	1.0	0.8	1.7	1.6	1.0	0.8	1.1	0.6	2.5	1.5	1.5	2.5	1.5	1.5	0.6	1.3	0.6	0.6	1.3	1.2	1.4	2.4	0.8	1.4	1.0	0.5	0.3	0.4	1.0	0.7	1.6	1.1	
	1.4	0.7	1.2	1.3	0.9	1.0	1.4	1.4	0.9	1.1	1.1	1.2	0.6	0.7	0.9	1.0	1.0	1.3	1.9	1.7	1.0	1.9	0.6	1.5	0.6	1.4	0.5	0.4	0.6	0.8	1.1	1.4	
	1.4	1.2	0.8	0.8	0.5	0.5	1.3	1.0	1.0	1.3	1.1	0.4	0.8	0.5	0.9	1.7	0.2	0.8	1.0	1.4	1.4	1.1	0.9	0.5	0.6	1.0	0.4	0.6	0.6	1.3	1.6	1.0	
	0.8	1.3	0.7	2.1	0.7	0.5	0.8	1.4	1.4	2.0	1.0	0.3	0.6	0.8	0.7	1.4	1.0	0.6	0.8	0.8	1.6	1.3	0.7	0.6	0.5	1.2	0.5	0.3	0.8	0.5	0.9	1.6	1.0
	1.1	1.0	0.6	1.6	0.8	0.5	0.7	1.2	1.6	1.8	1.8	0.8	0.5	1.6	0.7	1.0	1.1	0.6	1.4	1.1	1.9	0.7	1.3	1.3	1.8	1.4	0.7	0.8	0.5	0.8	1.5	1.4	
	0.9	1.4	1.2	0.6	0.7	1.6	0.7	1.6	1.8	0.7	0.8	0.7	0.8	0.7	0.6	1.0	1.1	0.6	1.4	1.1	1.9	0.3	0.9	1.2	0.7	0.5	0.6	0.7	0.5	0.5	1.5	1.6	1.3
	1.3	1.7	1.0	1.3	0.8	0.8	0.9	1.1	1.4	0.9	0.9	0.6	0.6	0.8	0.8	0.6	0.5	1.3	0.0	1.7	1.6	2.0	1.0	1.0	1.1	0.3	0.6	0.7	0.8	0.6	1.5	1.1	0.8
	1.5	0.8	1.4	1.3	1.1	1.4	1.3	0.8	0.9	0.4	0.9	0.9	1.3	0.8	0.6	0.7	1.4	0.7	1.0	1.6	1.5	0.7	1.0	1.5	0.9	0.4	0.8	0.7	0.5	0.7	1.4	1.3	1.5
	0.9	1.2	0.6	0.0	0.8	1.4	0.0	1.1	1.3	1.3	0.9	0.9	0.9	0.7	0.6	0.5	1.9	1.2	0.0	0.9	0.0	0.0	0.5	0.9	1.5	0.5	0.3	0.5	0.5	0.5	1.4	0.7	1.8

ตารางที่ ข-4 อัตราการเจริญเติบโต (cm) ของต้นผักกาดหอมในวันที่ 12-13 มกราคม 2548 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดอย่างหยาบจากหญ้าทะเล เทียบกับ Blank

วันที่	crude <i>Enhalus acoroides</i>															crude <i>Halodule pinifolia</i>															blank																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
	10 ppm/plate					100 ppm/plate					1000 ppm/plate					10 ppm/plate					100 ppm/plate					1000 ppm/plate																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																								
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
	1.4	1.0	1.9	1.6	1.1	1.5	1.0	1.9	0.7	1.7	1.0	1.2	0.7	0.9	1.0	1.6	1.4	2.3	1.6	1.5	1.1	1.0	2.3	2.0	1.0	0.6	0.5	0.9	0.6	1.3		1.7	0.8	1.1	1.9	2.3	2.0	1.1	2.1	1.5	1.2	1.1	1.4	0.5	1.2	1.0	1.0	0.7	0.6	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	1.2	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3	1.9	1.0	1.0	0.7	1.0	1.6	1.4	1.0	1.1	1.5	0.5	0.8	0.9	1.4	1.3

ตารางที่ ข-5 อัตราการเจริญเติบโต (cm) ของต้นผักกาดหอมในวันที่ 14-15 มกราคม 2548 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดอย่างหยาบจากหญ้าทะเล เทียบกับ Blank

วันที่	crude <i>Enhalus acoroides</i>															crude <i>Halodule pinifolia</i>																				
	10 ppm/plate					100 ppm/plate					1000 ppm/plate					10 ppm/plate					100 ppm/plate					1000 ppm/plate					blank					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
14/1/2005	1.5	1.2	2.0	1.9	1.2	1.6	1.1	1.9	1.5	1.0	0.9	0.7	0.7	1.0	1.2	1.2	1.6	1.6	1.1	1.5	1.5	1.2	1.1	1.3	2.5	2.0	0.6	1.0	1.1	1.8	0.8	0.9	1.2	0.9	1.5	
	0.9	0.9	1.5	1.8	0.7	1.6	1.4	0.8	0.5	1.0	1.0	1.2	0.7	1.0	0.9	1.1	1.0	2.1	1.3	1.2	1.2	1.0	1.2	0.5	1.0	0.5	1.9	0.9	0.6	0.7	1.1	2.0	1.5	1.2	0.9	1.9
	1.2	1.4	1.1	1.0	1.0	1.0	0.9	1.1	1.1	2.0	1.4	0.8	0.7	0.9	0.9	0.0	1.9	2.5	1.1	1.2	1.0	0.5	0.8	1.1	1.6	0.5	1.6	0.5	1.2	0.7	0.9	0.9	1.0	1.5	1.8	0.8
	1.4	1.5	0.8	2.1	0.4	0.5	1.4	0.9	1.4	2.0	1.3	0.4	0.6	0.9	0.8	0.0	1.1	1.0	1.1	1.0	0.9	1.2	0.9	1.3	0.6	1.5	1.3	0.9	0.5	0.4	1.3	1.2	1.8	2.7	1.2	1.2
	1.3	1.4	0.7	1.9	0.8	0.6	1.3	1.3	3.0	1.0	0.9	0.4	0.9	0.5	0.6	0.0	1.5	1.6	0.9	1.0	0.5	1.5	1.3	2.0	1.5	0.7	1.0	0.6	0.8	1.0	0.8	1.1	0.6	0.9	1.5	1.5
	0.7	1.5	0.7	0.8	0.7	0.7	0.7	0.6	1.0	0.8	0.9	0.5	1.5	0.9	0.5	0.0	1.5	1.9	1.3	1.0	0.5	1.9	1.1	2.1	1.8	1.3	0.5	0.5	0.6	0.9	0.7	0.6	0.6	1.5	0.4	0.4
	1.0	0.8	2.1	1.6	0.7	1.3	0.9	2.1	1.1	0.6	1.1	1.4	0.5	0.9	0.6	0.0	0.7	1.6	0.6	1.0	0.6	1.8	0.6	2.1	1.5	1.2	0.5	1.1	0.5	0.9	1.4	0.5	1.1	2.1	0.5	0.5
	1.2	2.1	1.2	1.4	0.8	1.2	1.3	0.9	1.5	2.0	1.3	0.5	0.7	0.4	0.6	0.0	0.4	1.8	1.8	0.3	0.9	2.1	0.5	1.1	1.0	0.5	0.5	0.0	1.1	0.5	1.3	1.1	1.8	1.1	1.8	1.1
	1.4	1.1	1.5	1.0	0.8	1.3	0.3	1.6	2.2	1.7	2.5	0.5	0.7	0.0	0.8	0.0	1.9	1.8	1.1	1.0	0.8	1.4	0.7	0.8	1.0	0.7	0.3	0.6	1.0	1.1	1.6	0.7	1.4	1.8	1.3	1.3
15/1/2005	1.0	1.4	0.6	0.8	1.1	1.8	0.0	1.5	2.0	2.0	0.9	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	1.6	0.0	1.1	0.7	1.0	0.0	0.7	0.8	1.6	0.7	0.7	0.5	0.8	1.2	1.6	0.6	1.6	1.1	0.9	0.9
	1.4	1.0	2.0	1.9	1.1	1.6	0.9	2.0	1.6	0.9	0.8	1.4	0.5	1.3	0.6	1.5	1.5	1.6	1.3	1.8	1.4	1.5	2.6	1.2	2.0	1.6	1.0	1.2	1.8	0.6	1.4	1.0	1.7	2.2	2.2	
	1.1	1.6	1.0	1.0	1.0	1.5	1.5	0.8	2.9	0.8	1.0	0.4	0.6	0.6	0.7	1.2	1.4	2.8	1.4	1.1	0.9	1.6	1.4	1.0	1.5	0.7	0.4	0.6	0.6	0.4	1.1	0.6	2.1	1.7	1.1	
	1.2	1.5	0.5	2.2	0.9	0.4	1.2	1.2	0.9	2.0	1.4	0.5	0.8	0.6	0.8	1.2	1.2	2.5	0.0	2.0	1.1	1.3	1.0	0.8	2.0	0.8	0.8	1.1	0.7	1.0	0.6	1.7	1.4	1.0	2.0	
	0.9	0.9	1.5	2.0	0.9	1.7	1.4	1.2	1.1	0.8	1.4	0.6	1.6	0.8	0.6	1.1	1.1	1.1	0.0	0.7	0.6	1.4	1.6	0.5	0.5	2.3	0.8	0.6	0.8	0.5	0.5	1.4	1.7	0.6	2.6	
	1.4	1.5	0.8	1.8	0.4	1.6	0.8	0.8	1.6	0.8	1.0	0.4	0.9	1.0	0.8	1.1	1.1	0.0	0.0	1.5	0.7	1.6	2.0	0.6	0.6	1.2	1.0	0.5	0.8	1.3	1.5	0.6	0.7	1.5	1.1	
	1.2	0.8	0.7	0.6	0.9	0.5	0.9	2.0	0.3	2.0	0.9	0.8	0.7	1.0	0.4	1.2	1.4	1.9	0.0	0.6	0.9	1.9	2.2	1.0	1.7	1.2	0.5	1.3	1.1	1.0	0.6	2.0	1.6	1.3	1.7	
	0.9	1.4	1.3	0.8	1.0	1.4	0.9	0.9	1.1	1.8	1.1	1.2	0.7	1.0	0.9	1.0	0.8	1.9	0.0	1.2	0.8	2.6	2.4	1.3	1.9	0.4	1.3	0.9	0.9	0.9	0.7	1.6	1.0	0.0	2.8	
	1.4	1.1	1.2	1.2	0.9	0.7	1.3	1.5	1.4	1.6	1.1	0.9	0.7	0.6	1.1	1.1	1.9	1.7	0.0	1.6	0.9	2.0	0.7	1.2	1.4	0.4	0.5	0.3	0.8	1.0	1.3	0.8	1.7	1.0	2.0	
	1.2	1.3	2.0	1.5	0.8	1.8	0.3	2.1	2.0	2.1	2.5	0.0	1.0	0.8	0.9	0.3	1.1	2.0	0.0	1.9	1.1	1.7	1.1	1.0	1.8	0.3	0.5	0.4	0.9	1.2	1.3	1.0	1.7	1.3	2.0	
	0.0	2.0	0.7	0.8	0.8	0.8	0.0	0.5	2.1	1.1	0.9	0.0	0.0	0.4	0.0	1.0	1.2	2.0	0.0	1.8	0.7	0.0	1.0	1.0	1.2	0.6	0.5	0.0	0.7	1.3	1.2	1.6	1.7	1.0	1.1	

ภาคผนวก ค

การทดสอบการออกฤทธิ์ต่อเชื้อวัณโรค

การทดสอบการออกฤทธิ์ต่อเชื้อวัณโรค

วัณโรคเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญในประเทศไทยมาช้านาน การแพร่กระจายของโรคเอดส์ทำให้จำนวนผู้ป่วยวัณโรคมักเพิ่มขึ้น รวมทั้งยังมีความกังวลต่อปัญหาการดื้อยาเพิ่มขึ้นเนื่องจากได้ใช้ยาที่มีประสิทธิภาพในการรักษาดังแต่ต้นหมดแล้ว หากเชื้อดื้อยาก็จะไม่มียาสำรองที่มีประสิทธิภาพสูงเหลืออยู่อีก แม้ว่าอัตราการดื้อยาของเชื้อวัณโรคในประเทศไทยจะไม่สูงมากนัก แต่ในหลายประเทศโดยเฉพาะอย่างยิ่งในยุโรปตะวันออกมีอัตราการดื้อยาของเชื้อวัณโรคสูงมาก การกมราคายาอย่างกว้างขวางในยุคปัจจุบันย่อมทำให้มีโอกาสดื้อยาที่ดื้อเชื้อดื้อยาเหล่านี้เดินทางมาถึงประเทศไทยได้เสมอ อาจเป็นเพราะเหตุนี้ จึงมีผู้สนใจค้นคว้าเกี่ยวกับการดื้อยาของเชื้อวัณโรคในประเทศไทยมากมาย ตั้งแต่กลไกการดื้อยา การทดสอบการดื้อยา ตลอดจนการค้นคว้าหาวิธีใหม่ในการรักษาวัณโรค (ประสิทธิ์ ผลิตผลการพิมพ์, 2543) ซึ่งวิธีการทดสอบหาวิธีที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อวัณโรคมีหลายวิธีด้วยกัน ในที่นี้จะกล่าวถึงวิธี Microtitre Plate Alamar Blue Assay ซึ่งเป็นวิธีที่นำมาใช้ทดสอบสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากหญาทะเลและสาหร่ายทะเลที่ทำการศึกษาวิจัย

วิธี Microtitre Plate Alamar Blue Assay

หลักการ

Alamar Blue เป็นสารเคมีที่มีคุณสมบัติเป็น Growth Indicator ที่เป็น Oxidation-Reduction (REDOX) Indicator โดยมีคุณสมบัติแสดงออกทั้งเรืองแสง (Fluorescence) และการเปลี่ยนสี ดังนั้นจึงสามารถวัดได้ทั้งวิธี Fluorometric และ Colorimetric เมื่อเชื้ออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และมีการเจริญเติบโต จะเกิดภาวะ Reduction ขณะที่เชื้อไม่สามารถเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อจะอยู่ในสภาพ Oxidation เมื่อเติมสี Alamar Blue ซึ่งเป็น REDOX Indicator ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเจริญเติบโตของเชื้อ สีจะเปลี่ยนจาก Oxidize Form ไม่เรืองแสงสารสีฟ้า เป็น Reduction Form เรืองแสงสารสีชมพูชัดเจน สามารถใช้เครื่อง Fluorometer วัดปริมาณ Fluorescence ที่ออกมา หรือใช้ Colorimeter วัด Absorbance ของสี หรือการดูสีด้วยตาเปล่าได้

การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านวัณโรค เป็นการทดสอบว่ายาแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อวัณโรค หลังจากเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรค ในที่ที่มียาตามความเข้มข้นที่กำหนด ถ้าเชื้อวัณโรคไม่สามารถเจริญเติบโตหลังเพาะเลี้ยงประมาณ 7-10 วัน เมื่อเติม Alamar Blue ลงไปสีจะคงสภาพเป็น Oxidized Form เป็นสีฟ้าและไม่เรืองแสง ในขณะที่

เชื้อวัณโรคซึ่งเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มียา ถ้าสามารถเจริญเติบโตได้ เมื่อเติมสี Alamar Blue สีจะถูกเปลี่ยนเป็น Reduced Form เป็นสีชมพู และเรืองแสง

อุบัติการณ์การติดเชื้อวัณโรคในประเทศไทยเพิ่มขึ้นทุกปี โดยเฉพาะเมื่อมีการแพร่กระจายของโรคเอดส์ และพบว่าเชื้อวัณโรคที่เพาะได้จากผู้ป่วยเอดส์ มักมีอัตราการดื้อยาสูงกว่าปกติ ดังนั้นการให้บริการทดสอบความไวของเชื้อวัณโรคต่อยาที่ทำการรักษา จึงมีความจำเป็นเพิ่มขึ้น ปัจจุบันการทำการทดสอบความไวของเชื้อวัณโรคต่อยาที่ใช้รักษาก่อนข้างยุ่งยากและใช้เวลามากมากกว่า 1 เดือน จึงจะได้ผล และทำได้เฉพาะบางห้องปฏิบัติการเท่านั้น วิธีการทดสอบความไวของเชื้อวัณโรคต่อยาโดยวิธี Microtiter Plate อ่านการเจริญเติบโต โดยมี Alamar Blue เป็น Growth Indicator สามารถอ่านได้ว่าเชื้อวัณโรคถูกยับยั้งการเจริญเติบโต โดยยาที่ทดสอบหรือไม่ หลังจากบ่มเชื้อวัณโรคในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มียาอยู่ประมาณ 7-10 วัน แล้วดูการเปลี่ยนแปลงของสี Alamar Blue ดังกล่าว ซึ่งสะดวกเพราะสามารถเห็นได้ด้วยตาเปล่า วิธีการทำได้ไม่ยุ่งยากเหมาะสมสำหรับห้องปฏิบัติการทั่วไป

หมายเหตุ

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ส่งสารไปทดสอบการออกฤทธิ์ต่อเชื้อวัณโรค (Anti-Tuberculosis) ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) ทดสอบในหลอดทดลอง (*In Vitro*) ต่อเชื้อ Mycobacterium Tuberculosis H37Ra โดยวิธี Microplate Alamar Blue Assay (MABA)

การแปลผลการทดสอบ

ทดสอบที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 200 µg/ mL

รายงานผลเป็น Active แสดงค่า MIC จาก Two Fold Dilution Test

รายงานผลเป็น Inactive สารออกฤทธิ์ที่ความเข้มข้น > 200 µg/ mL

Control Drugs

1. Rifampicin (RMP) MIC = 0.0047 µg/ mL

2. Kanamycin (KM) MIC = 2.5 µg/ mL

3. Isoniazide (INH) MIC = 0.05 µg/ mL