

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมตัวอย่างและการสกัดสารธรรมชาติ

ในเปลือกมังคุด ใบสด ลำต้น ผลและรากของพืชข้าว ถ้างน้ำให้สะอาด อบแห้งที่ 50 °C และบดเป็นผงละเอียด ทำการสกัดหยาบโดยซึ่งผงสมุนไพรผสมกับตัวทำละลาย ทำการบ่ม และแยกเอาสารสกัดและกากออกจากกัน จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออกจนได้สารสกัดแห้ง

3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากพืชสมุนไพร

3.2.1 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

เชื้อ *Escherichia coli*, และ *Staphylococcus aureus*.

3.2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ด้วยวิธี Agar diffusion method

นำสารสกัดไปทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ โดยใช้ความเข้มข้นของเชื้อ ทำการเชื้อโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงไว้ 1 วัน เลี้ยงเชื้อใส่ในอาหาร นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสม แล้วนำเชื้อมาเจือจางจากนั้นเกลี่ยบนอาหารแข็ง แล้วนำตัวอย่างสารสกัดสมุนไพรความเข้มข้นต่างๆ หยดบนกระดาศกรองปราศจากเชื้อ แล้ววางแผ่นกระดาศกรองดังกล่าวบนจานเพาะเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ข้างต้น จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสม แล้ววัดเส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibitory zone ที่เกิดขึ้น

3.3 การนำสารสกัดที่ออกฤทธิ์มาย้อมบนผ้าพิมพ์

นำสารสกัดผสมกับสีย้อมแล้วนำไปพิมพ์บนผ้าเส้นใยธรรมชาติด้วยเครื่องพิมพ์ผ้าอัตโนมัติแล้วตัดผ้าดังกล่าวมาทำทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

3.4 การแยกสารออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยคอลัมโครมาโทกราฟี

นำส่วนสกัดหยาบที่มีผลต้านเชื้อแบคทีเรียมาแยกลำดับส่วนด้วยคอลัมโครมาโทกราฟีจากนั้นนำแต่ละแฟรกชันมาทำทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียอีกรอบหนึ่งดังขั้นตอน 3.2.2