สำนักหอสมุดกลาง_พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากผลของกำจัดต้น (*Zanthoxylum Limonella Alston*) ในด้านการเกษตรและเภสัชวิทยา

T 043886

นาย จรัล ล้อมรัตน์สิริ

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 43886
วัน, เดือน, ปี 17 ต.ค. 2545

.b.....
.i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี สาขาเคมีอุตสาหกรรม
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Study on the Agriculture and Biological Activity of *Zanthoxylum Limonella Alston*

Mr. Jarun Lomratsiri

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement

For the Degree of Bachelor of Science

Department of Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Lardkrabang

2001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากผลของกำจัดต้น(***Zanthoxylum limonella Alston***) ในด้านการเกษตรและเภสัชวิทยา

นักศึกษา นายจรัล ล้อมรัตน์สิริ

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.พัชนี เจริญยิ่ง

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

_____ **หัวหน้าภาควิชาเคมี**

(ผศ.ดร. สมศักดิ์ วรมงคลชัย)

คณะกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษ

_____ **ประธานกรรมการ**

(ผศ.ดร. อิทธิพล แจ้งชัด)

_____ **กรรมการ**

(ดร. วันฉัตร ชื่นชม)

_____ **กรรมการ**

(ดร. พัชนี เจริญยิ่ง)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากผลของกำจัดต้น ในด้านการเกษตรและเภสัชวิทยา
นักศึกษา	นายจรัล ล้อมรัตน์สิริ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.พัชนี เจริญยิ่ง
ภาควิชา	เคมี
ปีการศึกษา	2544

บทคัดย่อ

จากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากผลของกำจัดต้นด้วยตัวทำละลายเฮกเซน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และน้ำ พบว่าสารสกัดจากผลของกำจัดต้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหัวและผักกวางตุ้ง ซึ่งสารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์มจะให้ผลของการยับยั้งดีที่สุด เมื่อเทียบกับตัวทำละลายอินทรีย์ด้วยกัน และสารสกัดในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา 2 ชนิด คือ ***Colletotrichum gloeosporioides*** และ ***Phytophthora parasitica*** สารสกัดในชั้นเมทานอลจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา ***Colletotrichum gloeosporioides*** ดีที่สุดและสารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์มจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา ***Phytophthora parasitica*** ดีที่สุด จากการทดสอบทางเภสัชวินิจฉัย พบว่าสารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์มมีฤทธิ์ต่อต้านมาลาเรียและวัณโรคและเมื่อทำการแยกส่วนประกอบทางเคมีได้สารบริสุทธิ์ 1 ชนิด คือสารจำพวกอะซิโตฟีโนนชนิดใหม่ คือ 1-(2-hydroxy-4,6-dimethoxy phenyl)-ethanone ซึ่งมีปริมาณ 2.7 % โดยน้ำหนัก และจากการทดสอบทางเภสัชวินิจฉัยพบว่าสารบริสุทธิ์ชนิดนี้มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อ ***Plasmodium Falciparum*** ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคมาลาเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Study on the Agriculture and Biological Activity of *Zanthoxylum Limonella Alston* Fruit
Name	Mr. Jarun Lomratsiri 41052011
Special Project Advisor	Dr. Patchanee Charoenying
Department	Chemistry
Academic Year	2001

Abstract

In this research, we investigated the agriculture and biological activity of the crude extracted from ***Zanthoxylum Limonella Alston*** fruit in hexane chloroform methanol and water. The results found that the crude extracted inhibited seed germination and seedling growth of plant species, namely ***Raphanus sativus var. longipinnatus*** **L.,** and ***Brassica campestris var. chinenis*** **L..** The crude chloroform extracted has highly inhibited seed germination and seedling growth. In addition to, the crude organic extracted was tested for antifungal activity of fungi species, namely ***Colletotrichum gloeosporioides*** and ***Phytophthora parasitica.*** The crude chloroform extracted has high antifungal activity of ***Colletotrichum gloeosporioides.*** In contrast, the crude methanol extracted has highly antifungal activity of ***Phytophthora parasitica.*** Apart from antifungal activity, the crude extracted from chloroform shows antimalarial and antituberculous activity. The chemical constituent, 1-(2-hydroxy-4,6-dimethoxy phenyl)-ethanone was isolated from crude chloroform,. A new acetophenone shows the good biological activity against ***Plasmodium Falciparum***, which is the cause of Malarial.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากได้รับการดูแล เอาใจใส่ ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวก ของคณาจารย์ เจ้าหน้าที่และผู้ที่เกี่ยวข้อง

ขอขอบพระคุณ ดร.พัชนี เจริญยิ่ง ที่คอยเอาใจใส่ ดูแล ตลอดความช่วยเหลือในทุกด้านและเปิดโอกาสให้แสดงความคิดเห็นได้อย่างเต็มที่ในการทำโครงงานพิเศษฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.อิทธิพล แจ้งชัด และดร.วันฉัตร ชื่นชม อาจารย์คณะกรรมการตรวจสอบโครงงานพิเศษฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วิรัตน์ ภูวิวัฒน์ อาจารย์สาขาวิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร ที่ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในด้านต่างๆในการทดสอบด้านวัชพืช

ขอขอบพระคุณ คุณรัชดา จันทร์เพ็ญ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) ในด้านการทดสอบทางเภสัชวินิจฉัย

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่คณะวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกในการจัดหาอุปกรณ์ในการทดลอง และยามรักษาการณ์ที่คอยตรวจส่องดูแลยามค่ำคืน

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่สนับสนุนในการทำโครงงานพิเศษนี้และพี่ๆน้องๆที่คอยถามไถ่ถึงความเป็นไปของชีวิต ขอขอบคุณเพื่อนๆที่คอยเป็นห่วงและบทเรียนที่แสนแพงที่หาไม่ได้ในตำราเรียน

ขอขอบคุณกำลังใจจากเพื่อนสนิทและบุคคลต่างๆ ที่ทำให้โครงงานฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี และท้ายที่สุดขอขอบพระคุณความรู้ที่ครูบาอาจารย์ ได้ประสิทธิ์ประสาทมาพร้อมกับคุณธรรมประจำใจ

นายจรัล ล้อมรัตน์สิริ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญรูป	ฉ
สารบัญตาราง	ช
อักษรย่อ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	
2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับพืชเครื่องเทศและสมุนไพร	3
2.2 สารสำคัญที่พบในสมุนไพร	4
2.3 วิธีการสกัดและพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สำคัญจากพืชสมุนไพร	7
2.4 การแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโทรกราฟี	11
2.5 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับวัชพืช	15
2.6 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับสารเคมีกำจัดเชื้อรา	16
2.7 กำจัดต้น	17
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19
บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย	
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์	21
3.2 ขั้นตอนงานวิจัย	23
3.3 วิธีการทดลอง	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 ผลของการสกัดสารในแต่ละชั้นของตัวทำละลาย 30

4.2 ผลการแยกสารสกัดชั้นคลอโรฟอร์มด้วย Column Chromatography 30

4.3 ผลของการทดสอบทางเภสัชวินิจฉัยของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ 31

4.4 ผลการตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ 32

4.5 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช 39

4.6 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืช 50

บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

5.1 สรุปผลการวิจัย 54

5.2 วิจารณ์ผลการวิจัย 55

5.3 ข้อเสนอแนะ 56

เอกสารอ้างอิง 57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างแอลคาลอยด์บางชนิดที่พบในพืช	5
รูปที่ 2.2 แสดงโครงสร้างของ Cardiac glycoside บางชนิด	6
รูปที่ 2.3 แสดงโครงสร้างของแอนทราควิโนนบางชนิดที่พบในพืช	6
รูปที่ 2.4 Rotary Evaporator	10
รูปที่ 2.5 แสดง TLC Tank	13
รูปที่ 2.6 แสดงคอลัมน์โครมาโทรกราฟี	14
รูปที่ 2.7 ต้นกำจัดต้นหรือพริกหอม	17
รูปที่ 2.8 ผลและเมล็ดของกำจัดต้น	18
รูปที่ 4.1 แสดง ^{1}H-NMR Spectra ของสารบริสุทธิ์	35
รูปที่ 4.2 แสดง ^{13}C-NMR Spectra ของสารบริสุทธิ์	37
รูปที่ 4.3 แสดง Mass Spectra ของสารบริสุทธิ์	38
รูปที่ 4.4 ผลของสารสกัดด้วยน้ำต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัว	39
รูปที่ 4.5 ผลของสารสกัดด้วยน้ำต่อการงอกของเมล็ดผักกวางตุ้ง	42
รูปที่ 4.6 ผลของสารสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัว	44
รูปที่ 4.7 ผลของสารสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่อการงอกของเมล็ดผักกวางตุ้ง	47
รูปที่ 4.8 ผลการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* ของชั้นเฮกเซน	50
รูปที่ 4.9 ผลการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* ของชั้นคลอโรฟอร์ม	51
รูปที่ 4.10 ผลการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* ของชั้นเมทานอล	51
รูปที่ 4.11 ผลการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* ของชั้นน้ำ	52
รูปที่ 4.12 ผลการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora* ของชั้นเฮกเซน	52
รูปที่ 4.13 ผลการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora* ของชั้นคลอโรฟอร์ม	53
รูปที่ 4.14 ผลการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora* ของชั้นเมทานอล	53
รูปที่ 5.1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่สกัดได้ในชั้นคลอโรฟอร์ม	54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4.1 แสดงเปอร์เซนต์ผลผลิต (%yield) ของการสกัดในแต่ละชั้นของตัวทำละลาย 30

ตารางที่ 4.2 แสดงค่า EC_{50} ของการต่อต้านมาลาเรียของสารบริสุทธิ์ 31

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการทดสอบการต้านวัณโรคของสารบริสุทธิ์ 31

ตารางที่ 4.4 แสดงการวิเคราะห์โครงสร้างด้วย ^{1}H-NMR Spectra 32

ตารางที่ 4.5 แสดงการวิเคราะห์โครงสร้างด้วย ^{13}C-NMR Spectra 32

ตารางที่ 4.6 แสดงการวิเคราะห์โครงสร้างด้วย Mass Spectra 33

ตารางที่ 4.7 แสดง % การงอกของผักกาดหัวในชั้นน้ำ 40

ตารางที่ 4.8 แสดงความยาวของผักกาดหัวในชั้นน้ำ 41

ตารางที่ 4.9 แสดง % การงอกของผักกวางตุ้งในชั้นน้ำ 42

ตารางที่ 4.10 แสดงความยาวของผักกวางตุ้งในชั้นน้ำ 43

ตารางที่ 4.11 แสดง % การงอกของผักกาดหัวในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ 45

ตารางที่ 4.12 แสดงความยาวของผักกาดหัวในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ 46

ตารางที่ 4.13 แสดง % การงอกของผักกวางตุ้งในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ 48

ตารางที่ 4.14 แสดงความยาวของผักกวางตุ้งในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ 49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อักษรย่อ

Et	Ethyl group
EtOAc	Ethyl acetate
$CHCl_3$	Chloroform
Colletotrichum	*Colletotrichum gloeosporioides*
H	Hexane
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
GC	Gas Chromatography
M	Methanol
Me	Methyl group
MS	Mass Spectroscopy
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
PDA	Potato Dextrose Agar
Phytophthora	*Phytophthora parasitica*
TLC	Thin Layer Chromatography
UV	Ultraviolet
nm	Nanometer
ZL	*Zanthoxylum Limonella Alston*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

มนุษย์ได้รู้จักการนำเอาพืชเครื่องเทศและสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ตั้งแต่สมัยโบราณกาลแล้ว โดยเป็นส่วนหนึ่งของปัจจัยสี่ในรูปแบบของอาหาร ยารักษาโรค น้ำหอม และเครื่องสำอาง ซึ่งความต้องการพืชเครื่องเทศและสมุนไพรได้พัฒนาควบคู่ไปกับความเจริญรุ่งเรืองทางด้านวัฒนธรรม ความเป็นอยู่ สังคม และเศรษฐกิจ โดยเฉพาะอย่างยิ่งวิธีการเลือกใช้พืชเครื่องเทศและสมุนไพรมาใช้ในการรักษาโรคของบรรพบุรุษนั้นถือได้ว่าเป็นศาสตร์อันล้ำลึกและเป็นมรดกทางวัฒนธรรมที่มีคุณค่าอย่างยิ่ง

สำหรับในประเทศไทยได้มีการใช้พืชเครื่องเทศและสมุนไพรกันมานานแล้ว จะเห็นได้จากการใช้ยาสมุนไพรของไทยมีการใช้กันอย่างกว้างขวางในทุกครัวเรือนตั้งแต่ก่อนที่ระบบการแพทย์แผนปัจจุบันจะเข้ามาแพร่หลายในประเทศไทยดังเช่นทุกวันนี้ก็ยังมีการใช้ยาสมุนไพรไทยกันอยู่ ในปัจจุบันได้มีการศึกษาทางด้านสมุนไพรและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากธรรมชาติกันมากยิ่งขึ้นเพราะเป็นแนวทางหนึ่งในการรักษาโรคต่างๆที่การแพทย์แผนปัจจุบันยังไม่สามารถรักษาได้ซึ่งอาจจะใช้การรักษาควบคู่กันไปเพื่อให้ประสิทธิภาพในการรักษาดียิ่งขึ้น ในขณะเดียวกันก็มีการศึกษาถึงแนวทางในการนำสารเคมีที่ได้จากธรรมชาติมาใช้ในการควบคุมวัชพืชและเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคพืช โดยจะนำมาใช้แทนสารเคมีสังเคราะห์ที่ใช้กันอยู่ ซึ่งเป็นสาเหตุของสารเคมีตกค้างและปนเปื้อนต่อสิ่งแวดล้อมที่เป็นปัญหากันอยู่ในปัจจุบัน ดังนั้นการนำเอาสารเคมีที่ได้จากธรรมชาติมาใช้ในการควบคุมวัชพืชและเชื้อราจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการลดอันตรายจากการปนเปื้อนของสารเคมีสังเคราะห์ในผลผลิตทางการเกษตร และนอกจากนี้ยังช่วยลดปริมาณการนำเข้าของสารเคมีสังเคราะห์ซึ่งจะทำให้ประเทศทางด้านเกษตรกรรม เช่น ประเทศไทย ลดการเสียดุลทางการค้าได้อีกแนวทางหนึ่ง

พริกหอม หรือ กำจัดต้น (***Zanthoxylum Limonella Alston***) เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงใหญ่ ผลและเมล็ดใช้เป็นเครื่องเทศผสมกับเครื่องแกงของอาหารพื้นเมืองของภาคเหนือ โดยผลแห้งจะมีกลิ่นหอม ใช้ในการดับกลิ่นคาวของอาหาร และจากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าสารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์มจากผลและเมล็ดของกำจัดต้นสามารถต่อต้านเชื้อมาลาเรียและวัณโรคได้[1] ดังนั้นโครงงานพิเศษนี้ จึงมุ่งเน้นศึกษาหาส่วนประกอบทางเคมีที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีฤทธิ์ทางด้านเภสัชวิทยานั้นและนอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงฤทธิ์ของสารสกัดในด้านการเกษตรและเภสัชวิทยาในแง่ของการยังยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชและเชื้อราที่เป็นสาเหตุในการเกิดโรคพืชนั้น

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาถึงวิธีการสกัดสารจากผลกำจัดต้น
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากผลกำจัดต้นในการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชและเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคพืช
3. เพื่อศึกษาวิธีการแยกส่วนประกอบทางเคมีของผลกำจัดต้น
4. เพื่อศึกษาวิธีการหาโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากผลของกำจัดต้น

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

โครงงานพิเศษนี้จะมุ่งเน้นหาส่วนประกอบทางเคมีของกำจัดต้นในชั้นคลอโรฟอร์มที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยานั้น และนอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงฤทธิ์ของสารสกัดในชั้นต่างๆจากผลของกำจัดต้นในด้านการเกษตรและเภสัชวิทยาในแง่ของการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชและเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคพืช และเพื่อเป็นแนวทางเบื้องต้นในการศึกษาถึงรายละเอียดของส่วนประกอบทางเคมีที่ออกฤทธิ์ในโอกาสต่อไป

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงวิธีการเตรียมและการเก็บรักษาพืชเครื่องเทศและสมุนไพรเพื่อใช้ในการวินิจฉัยในด้านต่างๆ
2. ทราบถึงวิธีการสกัดสารทางด้านสมุนไพร เพื่อนำไปใช้ในการแยกสารที่สำคัญมาใช้ประโยชน์ทางด้านการเกษตรและเภสัชวิทยา
3. ทราบถึงวิธีการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชและเชื้อราจากสารที่สกัดได้
4. ทราบถึงวิธีการแยกสารให้บริสุทธิ์และการเก็บรักษาสารเพื่อนำไปวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างทางด้านเคมี
5. ทราบถึงวิธีการทดสอบการต่อต้านการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชจากสารที่สกัดได้
6. ทราบถึงวิธีการวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างด้วยเทคนิค FT-NMR และMS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสมุนไพรและเครื่องเทศ

2.1.1 ความหมาย[2]

สมุนไพร (Medical plants) ตามความหมายในพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถานได้ให้คำจำกัดความของคำว่า สมุนไพร ว่าหมายถึง พืชที่ใช้เป็นเครื่องทำยา ซึ่งหาได้ตามพื้นเมือง ส่วนพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2522 และความหมายในตำรับยาของไทย ให้ความหมายของยาสมุนไพรนั้นหมายถึง ยาที่ได้จากพฤกษชาติ สัตว์ แร่ธาตุ ซึ่งยังไม่ได้ทำผสมปรุงหรือแปรสภาพ เช่น พืชก็ยังคงสภาพส่วนที่ยังมีราก ลำต้น ใบ ดอก หรือผลอยู่ โดยยังไม่ได้ผ่านกระบวนการแปรรูปใดๆทั้งสิ้นแต่ความจริงแล้วสมุนไพรที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันมักถูกดัดแปลงให้เป็นรูปแบบที่แตกต่างกันเพื่อให้เหมาะสมกับการนำไปใช้ เช่น บดเป็นผง อัดเป็นเม็ด เป็นต้น

เครื่องเทศ (Spices) หมายถึง ของหอมฉุน และมีรสเผ็ดร้อนที่ได้จากต้นไม้ ใช้สำหรับทำยาและปรุงอาหาร ส่วนใหญ่เครื่องเทศจะเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้มาจากพืช ซึ่งนำไปใช้ประโยชน์ในการปรุงแต่งกลิ่นและรสของอาหาร ส่วนของพืชที่นำไปใช้เป็นเครื่องเทศจะมีหลายส่วน เช่น เปลือกอบเชย ผลพริกไทย เมล็ดลูกจันทน์ ลำต้นใต้ดินของขิงและข่า ซึ่งถ้านำเครื่องเทศใดมาปรุงเป็นยารักษาโรค จะเรียกเครื่องเทศนั้นว่า สมุนไพร

2.1.2 การเก็บเกี่ยวพืชสมุนไพร[3]

พืชสมุนไพร มีส่วนประกอบที่สำคัญ ได้แก่ ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล และเมล็ด สรรพคุณของพืชสมุนไพรที่ใช้ในการบำบัดโรคนั้นจะอยู่ขึ้นกับชนิดและปริมาณสารที่สำคัญในพืชสมุนไพรนั้น ตัวยาหรือสารเคมีที่สำคัญในพืชสมุนไพรจะมีมากหรือมีน้อยนั้นขึ้นกับปัจจัยหลายประการ ไม่ว่าจะเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บพืชสมุนไพร แหล่งเพาะปลูก อายุของพืชสมุนไพร สภาพแวดล้อม เป็นต้น

สำหรับในการพิจารณาการเก็บเกี่ยวส่วนประกอบของพืชสมุนไพรเพื่อใช้เป็นตัวยา จะมีหลักการทั่วๆไป ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ราก หรือส่วนที่เป็นหัวสะสมอาหาร จะเป็นส่วนที่มีการเก็บกักสารที่สำคัญในปริมาณค่อนข้างสูง ดังนั้นควรจะเก็บเกี่ยวในช่วงที่หยุดการเจริญเติบโต หรือเจริญเติบโตเต็มที่ สังเกตจากส่วนต่างๆของลำต้นจะหลุดร่วงหมด

2. ใบ ควรเก็บเกี่ยวในช่วงที่พืชนั้นมีการเจริญเติบโตมากที่สุด หรือในช่วงที่ดอกตูมเริ่มเบ่งบานหรือบานเต็มที่ พืชบางชนิดจะมีสารที่สำคัญอยู่ในใบ บางชนิดมีมากในใบอ่อน บางชนิดมีมากในใบแก่

3. เปลือกต้นและเปลือกราก ควรเก็บในช่วงปลายฤดูร้อนเข้าใกล้ต้นฤดูฝน เพราะจะเป็นช่วงที่มีการสะสมของตัวยามากที่สุด

4. ดอก พืชบางชนิดควรเก็บในช่วงที่ดอกเริ่มบาน เช่น ดอกกระเจี๊ยบ ดอกคำฝอย บางชนิดควรเก็บในช่วงดอกตูม เช่น กานพลู

5. ผลและเมล็ด การเก็บเกี่ยวควรเก็บเกี่ยวตามลักษณะที่นำไปใช้ประโยชน์ แต่ส่วนใหญ่จะเก็บในช่วงที่ผลแก่เต็มที่

2.2 สารสำคัญที่พบในสมุนไพร[4]

เนื่องจากสรรพคุณของพืชสมุนไพรในแต่ละชนิด จะขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารที่สำคัญในพืชสมุนไพรซึ่งเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันในแต่ละชนิดของพืชสมุนไพร ทั้งนี้ปริมาณสารจะมีมากหรือน้อยนั้นขึ้นกับชนิดของพืช สิ่งแวดล้อมที่เพาะปลูก ช่วงระยะเวลาที่เก็บเกี่ยวสมุนไพร เป็นต้น

สารประกอบทางเคมีที่พบในพืชสมุนไพร สามารถจำแนกได้ 2 ชนิดใหญ่ๆ ดังนี้

2.2.1 **สารปฐมภูมิ (Primary Metabolite)** เป็นสารที่พบในพืชเกือบทุกชนิด เพราะเป็นสารที่มีบทบาทที่สำคัญในขบวนการ Metabolism เช่น การสังเคราะห์แสง การสังเคราะห์โปรตีน การสังเคราะห์สารรงควัตถุ และไขมัน ซึ่งสารจำพวกนี้ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และรงควัตถุ เป็นต้น

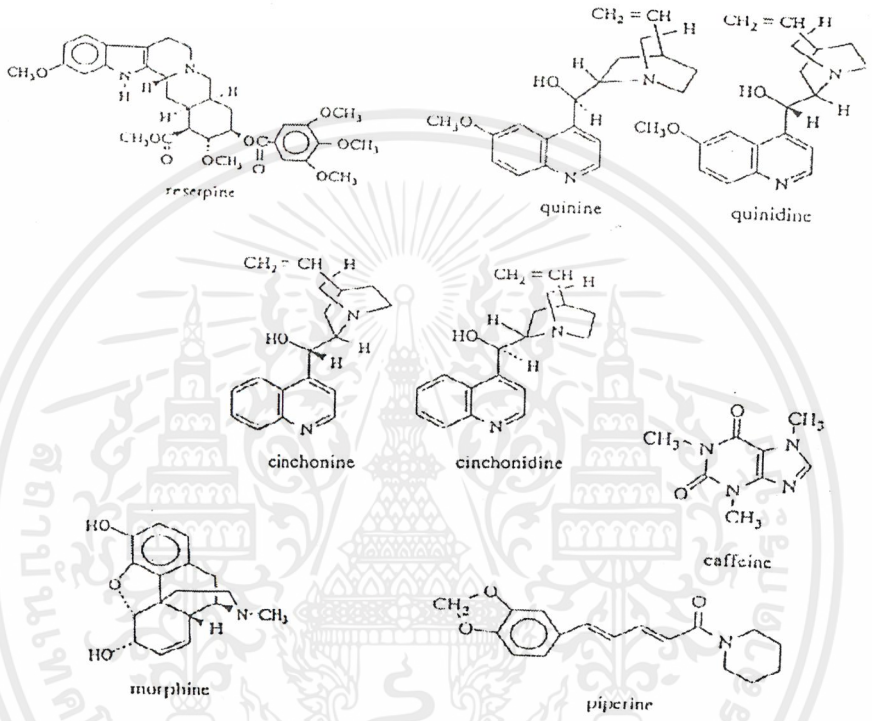
2.2.2 **สารทุติยภูมิ (Secondary Metabolite)** เป็นสารที่พืชใช้สังเคราะห์แตกต่างกันไปจากสารปฐมภูมิ โดยอาจเกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ (Biosynthesis) ในพืชต่างชนิดกันจะพบสารที่แตกต่างกัน ซึ่งสารเคมีที่มีสรรพคุณทางยาจะเป็นสารในกลุ่มนี้ ได้แก่

1.น้ำมันหอมระเหย (Essential Oil หรือ Volatile Oil) เป็นสารที่มีสมบัติเฉพาะตัว กล่าวคือเป็นสารที่มีกลิ่นเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายในอุณหภูมิปกติ พบมากในพืชเครื่องเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และสมุนไพร สรรพคุณทางยามักใช้เป็นยาขับลม ฆ่าเชื้อโรค เช่น น้ำมันหอมระเหยในพืชจำพวก กระเทียม ขิง ข่า ตะไคร้ มะกรูด ขมิ้น และพริกหอมเป็นต้น

2.แอลคาลอยด์ (Alkaloid) เป็นสารเคมีที่มีฤทธิ์เป็นเบส เพราะมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ มีรสขม ไม่ละลายน้ำ แต่ถ้าอยู่ในรูปเกลือจะละลายน้ำได้ สารในกลุ่มนี้จะเป็นสารที่มีผลทางยาต่อระบบต่างๆของร่างกาย เช่น Quinine จากเปลือกต้นซิงโคน่า จะมีสรรพคุณในการรักษาโรคมาลาเรีย เป็นต้น



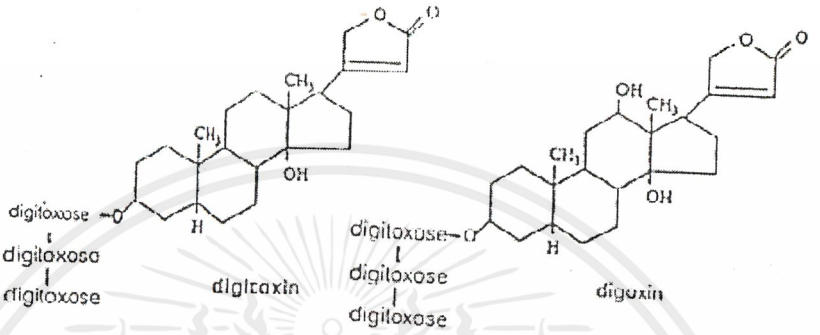
รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างแอลคาลอยด์บางชนิดที่พบในพืช

3.ไกลโคไซด์ (Glycoside) เป็นสารประกอบอีกชนิดหนึ่งที่พบมากในสมุนไพร และนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง ในโครงสร้างจะมีส่วนสำคัญอยู่ 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นน้ำตาล และส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาล (Aglycone) ซึ่งแบ่งตามฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา จะแบ่งได้ดังนี้

- **Flavonoid** เป็นสารที่เป็นรงควัตถุในส่วนต่างๆของพืช มีหลายชนิด ได้แก่สารที่มีสีแดง น้ำเงิน ม่วง เป็นสารจำพวก Anthocyanin

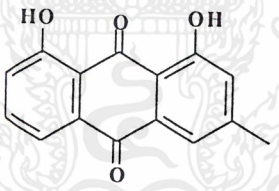
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- **Saponin** เป็นสารที่เมื่อแช่ย่ากับน้ำจะทำให้เกิดฟอง จึงสามารถใช้เป็นสารลดแรงตึงผิว และทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้ ในทางเภสัชวิทยาใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารจำพวก เสตียรอยด์
- **Cardiac Glycoside** เป็นสารที่ออกฤทธิ์ต่อระบบกล้ามเนื้อของหัวใจ และระบบการไหลเวียนของโลหิต เช่น Oleandroside จากต้นยี่โถ เป็นต้น



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของ Cardiac glycoside บางชนิด

- **Anthraquinone Glycoside** เป็นสารที่ออกฤทธิ์ในการระบาย (laxative) ยาฆ่าเชื้อ (antibiotic) และสีย้อม



Chrysophanol

รูปที่ 2.3 โครงสร้างของแอนทราควิโนนบางชนิดที่พบในพืช

- **Cyanogenetic Glycoside** เป็นสารที่เมื่อสลายตัวจะให้สารพิษจำพวกไซยาไนด์ เช่นสารที่ได้จากมันสำปะหลัง ผักเสี้ยนผี ต้นตำแย ฝักสะตอ เป็นต้น
- **Lactane Glycoside** เป็นสารที่มีกลิ่นหอม เช่น Coumarin จากเปลือกต้นชะลูด ใช้ผสมในเครื่องสำอางโดยเป็นส่วนผสมในครีมป้องกันการแพ้จากแสงแดด

4. Tannin เป็นสารที่พบในพืชทั่วๆไป มีรสฝาด มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน สามารถตกตะกอนโปรตีนได้ สรรพคุณทางยามีฤทธิ์ฝาดสมาน ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย บรรเทาอาการท้องร่วงได้ พบมากในใบฝรั่งและในกล้วยน้ำว้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. Gum เป็นสารเหนียวข้น ที่พืชขับออกมาเมื่อได้รับบาดแผล

6. Latex เป็นสารที่มีลักษณะคล้ายน้ำยางมีสีขาวข้นประกอบด้วยสารจำพวก แป้ง กัม(Gum) เรซิน (Resin) สารในกลุ่มนี้เมื่อรวมตัวกับสารบางชนิดจะเกิดเป็น Co-carcinogen

2.3 วิธีการสกัดสารและพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สำคัญจากพืชสมุนไพร[5]

การนำพืชสมุนไพรมาทำเป็นยาในปัจจุบัน จะพยายามสกัดสารสำคัญที่มีความสามารถในการต่อต้านหรือยับยั้งโรคที่น่าสนใจ โดยทำให้สารบริสุทธิ์ จากนั้นหาโครงสร้างของสารที่สำคัญนั้นและพยายามหาแนวทางในการสังเคราะห์สารที่มีฤทธิ์ดังกล่าว และมีการพัฒนากับอนุพันธ์ของสารที่สกัดได้ว่ามีสมบัติทางด้านเภสัชวิทยาด้วยหรือไม่ โดยจะมีขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

2.3.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

ในการเตรียมตัวอย่างพืชเป็นวิธีการที่สำคัญ โดยจะต้องคำนึงถึงสิ่งที่มีผลต่อความแตกต่างของสารสำคัญแต่ละชนิดในพืช ซึ่งได้แก่

1. ต้องไม่มีโรคพืช
2. ต้องไม่มีพืชชนิดอื่นผสมอยู่ เพราะหากมีพืชอื่นผสมอยู่จะทำให้การวินิจฉัยผิดพลาดได้
3. การตรวจสอบเอกลักษณ์จะต้องถูกต้อง
4. ความแตกต่างของสารสำคัญของพืช ในการเก็บเกี่ยวพืชแต่ละครั้ง ซึ่งเกิดจากสาเหตุหลายประการ เช่น ความแตกต่างในด้านของสายพันธ์ สภาพแวดล้อม พื้นที่เพาะปลูก อายุของพืช เป็นต้น
5. ผลของการเก็บรักษาและเตรียมพืช ควรมีความชื้นน้อยกว่า 5 % เพื่อลดการทำงานของเอนไซม์ที่จะไปย่อยสลายสารสำคัญในพืชแต่ก็ไม่ควรให้แห้งเกินไปเพราะอาจทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมุนไพรเสียไป

2.3.2 การเตรียมตัวอย่างของพืช มีวิธีดังต่อไปนี้

1. การทำสมุนไพรให้แห้ง

โดยทั่วไปแล้วการสกัดสารจากพืชจะให้ผลดี เมื่อทำการสกัดสารจากพืชสด โดยนำพืชสดมาต้มกับแอลกอฮอล์ เพื่อทำลายเอนไซม์เสียก่อนที่จะนำไปทำการสกัด หรือเก็บพืชสดมาแช่แอลกอฮอล์ในระหว่างที่ไม่ได้ทำการสกัด แต่เนื่องจากวิธีการเหล่านี้ไม่สะดวกและไม่เหมาะกับกระบวนการทางอุตสาหกรรม จึงจำเป็นจะต้องทำให้เป็นพืชแห้งก่อน โดยทำที่อุณหภูมิที่ต่ำเพื่อป้องกันการสลายตัวของสารสำคัญในพืชก่อนทำการสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีหลายวิธี เช่น

- Air drying เป็นการทำให้แห้งโดยอาศัยอากาศ อาจเป็นที่ร่มหรือผึ่งแดด
- Artificial heat เป็นการทำให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากแหล่งพลังงานอื่น เช่นไฟฟ้า การอบในตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิ โดยมีอากาศเข้าออก

2. **การแตกย่อยเนื้อเยื่อ** (Disintegration of Tissue) เป็นขบวนการแตกย่อยเนื้อเยื่อของพืชให้มีขนาดเล็กลง ซึ่งทำได้หลายวิธี

- การย่อยเชิงกล (Mechanical method) ได้แก่ การบดด้วยโกร่ง หรือเครื่องบดไฟฟ้า
- การย่อยด้วยเอนไซม์ (Enzyme disintegration) เป็นวิธีการย่อยเนื้อเยื่อโดยใช้เอนไซม์ชนิดต่างๆ เช่น เอนไซม์สำหรับย่อย pectin cellulose
- การย่อยโดยใช้สารเคมี (Chemical disintegration) เช่น การใช้ Dimethyl formamide ทำให้เซลล์ Chlorella แตกออก

2.3.3 การสกัดสารที่สำคัญจากพืช

การสกัดสารที่สำคัญจากพืชสมุนไพร สามารถทำได้หลายวิธี ขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่ต้องการสกัด สมบัติของสารในการทนทานต่อความร้อน ชนิดของตัวทำละลาย ซึ่งในแต่ละวิธีจะมีข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกัน ดังต่อไปนี้

1. **Maceration** เป็นขบวนการสกัดสารที่สำคัญจากพืช โดยวิธีการหมักพืชสมุนไพรกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น ขวดโหล หรือโถ เป็นเวลา 7 วัน หมั่นเขย่าหรือคนบ่อยๆ เมื่อครบกำหนดจึงรินเอาสารออก แล้วพยายามบีบเอาสารละลายออกจากกากให้มากที่สุด แล้วนำสารที่สกัดได้ไปกรอง ซึ่งวิธีนี้มีข้อดีตรงที่สารสกัดจะไม่โดนความร้อนที่จะทำให้สารสลายตัวก่อน แต่ก็มีข้อเสียคือจะสิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก และเป็นอันตรายหากตัวทำละลายเป็นสารที่เป็นพิษ เช่น Chloroform Carbontetrachloride เป็นต้น
2. **Percolation** เป็นขบวนการสกัดสารแบบต่อเนื่อง โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Percolator โดยนำพืชสมุนไพรมาหมักกับตัวทำละลายพอชื้น ทิ้งไว้เป็นเวลาหนึ่งชั่วโมง เมื่อพองตัวเต็มที่แล้วค่อยๆบรรจุผงยาทีละชั้นลงใน Percolator จากนั้นเติมตัวทำละลายลงไปให้ระดับอยู่สูงกว่าสมุนไพรประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงเริ่มไขออก แล้วคอยเติมตัวทำละลายให้อยู่เหนือสมุนไพรตามที่กำหนด อย่าให้แห้ง เก็บสารสกัดจนทำการสกัดสมบูรณ์แล้วบีบสารสกัดออกมาให้มากที่สุด แล้วนำไปกรอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. **Soxhlet Extractor** เป็นวิธีการสกัดสารแบบต่อเนื่องอีกวิธีหนึ่ง โดยใช้ตัวทำละลายซึ่งมีจุดเดือดต่ำกว่า มาทำการสกัดโดยให้ความร้อนเพื่อให้ตัวทำละลายในขวดก้นกลมระเหยขึ้นไปแล้วกลั่นตัวตกลงมา เมื่อถึงความสูงในระดับหนึ่งจะเกิดกาลักน้ำ สารสกัดในตัวทำละลายจะไหลกลับลงในขวดก้นกลมวนเวียนเรื่อยไปจนเกิดการสกัดอย่างสมบูรณ์ ข้อดีคือ ไม่สิ้นเปลืองตัวทำละลายเพราะมีการหมุนเวียนใช้ แต่มีข้อเสีย คือ มีการให้ความร้อน สารเคมีบางชนิดอาจเกิดการสลายตัวได้

4. **Liquid-Liquid Extraction** เป็นการสกัดสารจากสารละลายที่เป็นของเหลวลงในตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งไม่เกิดการผสมกับตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่ง ทำให้เกิดการแบ่งแยกชั้นเป็นสองเฟส คือ
   - Extract lighter คือ ตัวทำละลายที่ใช้สกัด โดยมีน้ำหนักที่เบากว่าตัวทำละลายที่ใช้สกัดสาร
   - Rafinate lighter คือ ตัวทำละลายที่ใช้สกัด โดยมีน้ำหนักที่หนักกว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสาร

การเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัด

ในการสกัดสารจะได้ผลดีหรือไม่นั้นขึ้นกลับการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมควรมีคุณสมบัติดังนี้

- เป็นตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารที่เราต้องการได้ในปริมาณที่มาก
- ไม่เป็นพิษ
- ไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป
- ราคาถูก

หลักเกณฑ์ที่ใช้ในการเลือกตัวทำละลาย

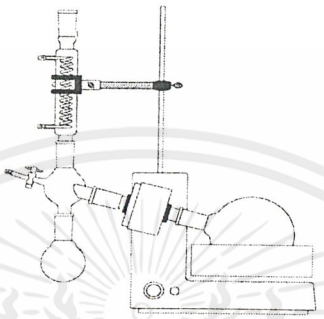
1. ความเป็นขั้วของตัวทำละลายและสารที่ต้องการสกัดควรมีขั้วที่ใกล้เคียงกัน
2. ต้องสามารถละลายสารที่ต้องการออกมาได้มากที่สุดและต้องไม่ละลายสารที่ไม่ต้องการออกมาหรือออกมาน้อยที่สุด
3. การละลายจะเกี่ยวข้องกับแรงต่อไปนี้
   - Dispersion force
   - Dipole-dipole force
   - H-Bonding

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 การทำสารสกัดให้เข้มข้น ทำได้หลายวิธี คือ

1. Free Evaporator คือการระเหยให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (water bath) หรือ Hot Plate ซึ่งบางครั้งอาจเป่าอากาศร้อนลงไปในสารสกัดเพื่อให้ระเหยได้รวดเร็วขึ้น

2. Distillation in vacuum เป็นวิธีการระเหยให้แห้งโดยการกลั่นตัวทำละลายออกมาที่อุณหภูมิต่ำ ในสภาวะที่ลดความดันเกือบเป็นสุญญากาศ เช่น Rotary Evaporator



รูปที่ 2.4 Rotary Evaporator

3. Ultra filtration เป็นการทำให้สารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้น โดยใช้เมมเบรน ซึ่งจะใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 5000

2.3.5 การแยกส่วนผสม

พืชสมุนไพรแต่ละชนิดจะมีสารเคมีหลากหลายชนิด ดังนั้นสารสกัดเบื้องต้นที่ได้จะเป็นสารผสมของสารเคมีหลายชนิด การที่จะทำให้สารสำคัญบริสุทธิ์ จึงต้องอาศัยวิธีการแยกโดยใช้เทคนิคและอุปกรณ์ต่างๆ ทำได้โดย

1. **วิธีทางเคมี (Chemical means)** โดยอาศัยคุณสมบัติและปฏิกิริยาทางเคมีที่แตกต่างกันทำให้แยกสารออกจากกันได้ เช่น การใช้ความเป็นกรด-ด่าง
2. **วิธีทางกายภาพ (Physical means)** เป็นการแยกสารโดยอาศัยคุณสมบัติทางฟิสิกส์ที่แตกต่างกัน ได้แก่
   - Distillation เป็นการกลั่นเพื่อแยกเอาสารที่ระเหยได้ออกจากสารที่ไม่ระเหย หรือแยกสารที่มีจุดเดือดที่แตกต่างกัน
   - Steam Distillation เป็นการแยกน้ำมันหอมระเหยด้วยการกลั่นด้วยไอน้ำ
   - Sublimation เช่น การแยกคาเฟอีนจากอัลคาลอยด์อื่นที่ไม่ระเหิดจากใบชา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Solvent Separation เป็นวิธีการแยกสารโดยอาศัยหลักการละลายในตัวทำละลายที่แตกต่างกันของสารแต่ละชนิด
- Solvent Precipitation เป็นวิธีการแยกสารโดยอาศัยหลักการละลายและการตกตะกอนในตัวทำละลายที่แตกต่างกันของสารแต่ละชนิด โดยนำสารสกัดละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสม แล้วเติมตัวทำละลายอีกชนิดที่ละลายได้น้อยกว่าลงไป เพื่อให้เกิดการตกตะกอน

2.3.6 การตรวจสอบเอกลักษณ์ (Identification)[6]

1. Preliminary Examination

- Physical State พิจารณาดูว่าสารอยู่ในสถานะใด ของแข็ง ของเหลว หรือก๊าซ
- Color พิจารณาดูสีของสาร โดยจะบ่งบอกถึงหมู่ของ Chromophore
- Odor พิจารณาถึงกลิ่นของสาร โดยที่สารที่มีกลิ่นมักจะมีน้ำหนักโมเลกุลที่น้อย เพราะระเหยได้ง่ายกว่าสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่มากกว่า

2. Ignitation Test พิจารณาการติดไฟของสาร ว่ามีการหลอมเหลวอย่างไร เถ้าที่เหลือจากการเผาไหม้เป็นอย่างไร

3. Physical Property ได้แก่ การหาคุณสมบัติต่างๆ ทางฟิสิกส์ เช่น จุดเดือด จุดเยือกแข็ง ความถ่วงจำเพาะ ดัชนีการหักเหของแสง (Refractive Index) น้ำหนักโมเลกุลจากเทคนิค MS

4. Chromatography โดยทำการเปรียบเทียบค่า Retention time กับสารที่ทราบแล้ว โดยเฉพาะเทคนิคทาง HPLC เริ่มเข้ามามีบทบาทอย่างยิ่งกับการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร

2.4 การแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโทรกราฟี

2.4.1 โครมาโทกราฟี (Chromatography)

เป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้ในการแยก การตรวจสอบเอกลักษณ์ของสาร มาตั้งแต่ศตวรรษที่ 17 โครมาโทกราฟีชนิดแรกที่ค้นพบ คือ Ion exchange Aristotle โดยใช้ดินในการทำให้น้ำทะเลบริสุทธิ์ หรือใช้ผงถ่านในการทำให้น้ำจากหัวบีทให้บริสุทธิ์ ซึ่ง Tswett (1901) เป็นคนแรกที่ใช้คำว่า Chromatography โดยได้ทำการแยกสีย้อมโปรตีน แต่ไม่เป็นที่นิยมนัก จนกระทั่งปี 1931 มีผู้ที่สามารถแยก Carotenoid ได้สำเร็จ จึงทำให้มีผู้สนใจและนำเทคนิคนี้มาแยกสารต่างๆตั้งแต่นั้นมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครมาโทกราฟีเป็นวิธีการแยกสารโดยอาศัยหลักการกระจายตัวของสารในระหว่างเฟส 2 เฟส ที่แตกต่างกันของสาร คือ Stationary phase และ Mobile phase สารจะเคลื่อนที่ไปบน Stationary phase ด้วยการพาของ Mobile phase ซึ่งสารแต่ละชนิดจะมีอัตราการเคลื่อนที่ที่แตกต่างกัน ขึ้นกับอันตรกิริยาระหว่างสารกับ Stationary phase และ Mobile phase จึงทำให้เกิดการแยกกันของสาร ซึ่งจะเกิดโดยกระบวนการต่อไปนี้

- การดูดซับที่ผิว
- การดูดซึมเข้าช่องว่างภายใน Stationary phase
- การกระจายตัว
- การระเหย

2.4.2 Mobile Phase อาจจะเป็นก๊าซ หรือของเหลว โดยอาจเรียกว่า solvent wash liquid developer หรือ eluent ก็ได้ สำหรับที่ใช้งานด้านโครมาโทกราฟีจะมีสองชนิด คือ

1. Isocratic เป็นการใช้ตัวทำละลายเดี่ยว

2.Gradient เป็นการใช้ตัวทำละลาย ซึ่งเป็นส่วนผสมของตัวทำละลายสองชนิดขึ้นไป เพื่อเปลี่ยนแปลงความเป็นขั้วของตัวทำละลายที่ใช้ตลอดเวลาในการทดลอง

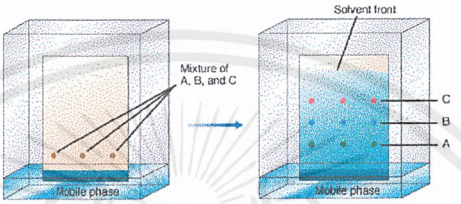
2.4.3 Stationary Phase มี 2 ชนิด คือเป็นของแข็ง หรือของเหลวที่เคลือบบนของแข็ง ดังเช่น

1. Silica Gel จะมีหมู่ Silanol (-SiOH) ทำหน้าที่เป็น active site เหมาะสำหรับการแยกสารที่เป็นกรด กลาง โดยอาศัยหลักการของ partition และ adsorption
2. อะลูมินา (Alumina) ใช้แยกสารที่เป็นด่างหรือนำมาผสมกับน้ำจะเป็นการ deactivate สามารถแยกสารจำพวกน้ำตาล หรือกรดอะมิโนได้
3. Diatomaceouse earth มักใช้เป็น Solid support โดยมากใช้แยกสารที่มีขั้ว
4. Cellulose และอนุพันธุ์ใช้กับสารที่ละลายน้ำและสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจน
5. Polyamide เป็นพอลิเมอร์ใช้แยกสารจำพวก Phenolic compound
6. Ion exchange resin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4 Thin Layer Chromatography (TLC)

เป็นการแยกสารโดยใช้ stationary phase ซึ่งเป็นแผ่นเคลือบบน support โดยอาจจะเป็น aluminum หรือ polyethylene เมื่อทำการ spot สารลงบน stationary phase แล้วจึงนำแผ่น TLC ไปใส่ใน Tank ซึ่งบรรจุ Mobile Phase ที่เหมาะสมให้เคลื่อนที่ผ่าน spot สาร จะทำให้เกิดการแยกกันโดยอาศัยหลักการของ partition และ adsorption



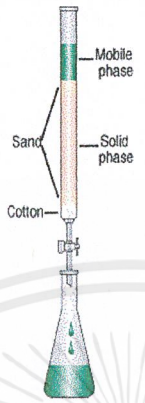
รูปที่ 2.5 แสดง TLC Tank

ประโยชน์ของ TLC ที่ใช้ในการศึกษาในด้านสารสกัดจากธรรมชาติ

1. ใช้ในการวิเคราะห์สารเบื้องต้นว่ามีกี่ชนิด โดยบางครั้งอาจบอกได้ว่าเป็นสารประเภทใด
2. ใช้เป็นวิธีการวิเคราะห์หาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการแยกใน Column Chromatography
3. ใช้ตรวจสอบในแต่ละ fraction ที่ได้จากการแยก เพื่อรวม fraction ที่เหมือนกัน
4. แยกสารบางชนิดที่มีปริมาณน้อยๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.5 Column Chromatography



รูปที่ 2.6 แสดงคอลัมน์โครมาโทรกราฟี

เป็นวิธีการแยกสาร โดยให้สารเคลื่อนที่ไปบน Stationary Phase ซึ่งบรรจุอยู่ในหลอดแก้วกลวง (Column) โดยความยาวของคอลัมน์จะมีผลต่อการแยก โดยใช้หลักการเดียวกันกับ TLC โดยใช้อัตราส่วนของ สารสกัด : adsorbent ประมาณ 1 : 30 หรืออาจมากกว่านี้ ขึ้นกับความเหมาะสมและคุณสมบัติของสารที่จะใช้แยก

2.4.6 Gas Chromatography

เป็นโครมาโทกราฟีที่ใช้ ก๊าซเป็น Mobile Phase สารที่ต้องการจะแยกจึงต้องเป็นก๊าซ เพื่อให้เกิดการกระจายตัวระหว่าง Mobile Phase กับ Stationary Phase ที่แตกต่างกัน จึงจะแยกออกจากกันได้ ซึ่งปัจจุบันใช้เป็นการตรวจสอบชนิด คุณภาพ และส่วนประกอบทางเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับวัชพืช[7]

2.5.1 ความหมายของวัชพืช

เป็นการยากที่จะระบุความหมายที่แน่นอนของวัชพืชเนื่องจากวัชพืชมีทั้งประโยชน์และโทษในตัวของมันเอง ซึ่งขึ้นกับว่าเราจะมองวัชพืชในด้านใด เช่น ถ้ามองวัชพืชพวกหญ้า ก็จะเป็นแหล่งอาหารปศุสัตว์ได้ แต่หากหญ้าเหล่านี้ขึ้นรวมปะปนกับพืชปลูกก็อาจทำความเสียหายให้กับพืชที่เพาะปลูกได้ เพราะฉะนั้น ความหมายของวัชพืชสำหรับการเพาะปลูกนั้น คือ พืชที่เราไม่ต้องการ พืชที่ขึ้นผิดที่ ไม่มีประโยชน์ ทำความเสียหายให้กับพืชที่เพาะปลูกและมีความสามารถที่จะแพร่พันธุ์ได้อย่างรวดเร็วและเป็นการยากที่จะป้องกันกำจัด ดังนั้นจะเห็นได้ว่าไม่ว่าจะเป็นพืชชั้นต่ำหรือชั้นสูงก็สามารถเป็นวัชพืชได้

ในบรรดาศัตรูพืชที่สำคัญและก่อให้เกิดปัญหามากที่สุดทางด้านเกษตรกรรมนั้น วัชพืชจัดเป็นศัตรูที่ทำความเสียหายร้ายแรงที่สุด ซึ่งนอกจากจะเป็นตัวแก่งแย่งปัจจัยต่างๆที่ใช้ในการเจริญเติบโตของพืชเพาะปลูกอันได้แก่ แร่ธาตุ สารอาหาร น้ำ และแสงแดดแล้ว ยังอาจเป็นแหล่งหลบซ่อนอาศัยของโรคแมลงและศัตรูพืชชนิดอื่นๆอีกด้วย การป้องกันกำจัดวัชพืชจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นที่จะต้องทำการปฏิบัติ ซึ่งมีด้วยกันหลายวิธี เช่น

- การควบคุมโดยวิธีกายภาพ (Physical method) ได้แก่ การใช้แรงงานขุด ตัด ถอน เอาวัชพืชออก อาจใช้แรงงานสัตว์หรือเครื่องจักรกลก็ได้ แต่วิธีนี้จะไม่ค่อยได้ผลกับวัชพืชที่มีส่วนขยายพันธุ์ใต้ดิน เช่น หัวหรือเหง้า ซึ่งต้องกำจัดบ่อยครั้ง ทำให้เสียเวลาและสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายและแรงงาน
- การควบคุมโดยวิธีการทางชีวภาพ (Biological method) ได้แก่ การใช้สิ่งมีชีวิตอื่นๆ เช่น สัตว์ พืช ตลอดจนโรคและวัตถุธรรมชาติมาเป็นตัวควบคุมวัชพืชและป้องกันกำจัดโดยใช้สารเคมี

จะเห็นได้ว่าการป้องกันกำจัดวัชพืชด้วยวิธีการใช้สารเคมี จะเป็นที่นิยมมากเพราะสะดวก ให้ผลได้เร็ว แต่ก็มีข้อเสียในเรื่องของการตกค้างของสารเคมีในพืชเพาะปลูก ซึ่งอาจจะทำให้ดินเสื่อมเร็ว และที่สำคัญอาจเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตที่บริโภคพืชเพาะปลูกนั้น ในปัจจุบัน จึงได้หาทางพัฒนาและสกัดสารเคมีที่ผลิตจากธรรมชาติมาใช้ในการควบคุมและกำจัดวัชพืช เพราะสารเคมีที่ผลิตจากธรรมชาติจะไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต ดังนั้นในการศึกษาจะหาสารสกัดจากธรรมชาติที่สามารถควบคุมวัชพืชในแต่ละชนิดนั้นได้ และที่สำคัญจะเป็นสารเคมีที่จะใช้ทดแทนต่อสารเคมีสังเคราะห์ ซึ่งนำเข้าทำให้เสียดุลทางการค้าและเป็นสาเหตุของปัญหาสิ่งแวดล้อมในปัจจุบันอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 สมบัติของวัชพืชที่ถูกจัดว่าเป็นวัชพืชร้ายแรง มีดังนี้

1. มีความสามารถในการเจริญเติบโตดีและรวดเร็ว
2. มีการขยายพันธุ์ แพร่พันธุ์อย่างรวดเร็ว ทำให้มีจำนวนมาก
3. มีความทนทานและปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมต่างๆได้ดี
4. มีความสามารถในการแย่งอาหารสูง
5. ยากต่อการควบคุมและกำจัด

2.5.3 ปัจจัยที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของวัชพืช

1. **ปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อม** (Environmental factors) ได้แก่

- แสงแดด
- อุณหภูมิ
- น้ำ
- ลมและอากาศ

2. **ปัจจัยทางดิน** (Edaphic factors) ดินเป็นที่ยึดเหนี่ยวของรากวัชพืช นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งของปัจจัยที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของวัชพืชอื่นๆอีกด้วย

3. **ปัจจัยทางสิ่งมีชีวิต** (Biotic factors) ทั้งมนุษย์ พืช สัตว์และสิ่งมีชีวิตอื่นๆจะมีผลต่อสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการอยู่รอดของวัชพืช

2.6 ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับสารเคมีกำจัดเชื้อรา

สารเคมีที่ใช้ป้องกันหรือกำจัดเชื้อรา มีชื่อเรียกว่า ฟังจิไซด์ (Fungicide) ซึ่งมาจากภาษาลาตินสองคำมารวมกัน คือ Fungus ที่แปลว่า เชื้อรา กับ Caedo ที่แปลว่า ฆ่า ดังนั้น ถ้าแปลตามทางอักษรศาสตร์จะหมายถึง สารหรือวิธีการใดก็ได้ที่สามารถฆ่าและกำจัดเชื้อราได้ ซึ่งอาจจะเกิดการเข้าใจผิดว่าการกระทำทางกลศาตร์ เช่น ความร้อน ก็เป็น Fungicide ด้วย แต่ในที่นี้คำว่า Fungicide จะหมายถึงเฉพาะสารเคมีเท่านั้นที่มีความสามารถฆ่าและกำจัดเชื้อราได้ โดยที่ไม่ได้จำกัดเฉพาะเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคในพืชเท่านั้น แต่จะหมายรวมถึงเชื้อราทุกชนิดรวมทั้งเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในคนด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.7 กำจัดต้น (*Zanthoxylum Limonella Alston*)[8]

รูปที่ 2.7 ต้นกำจัดต้นหรือพริกหอม

กำจัดต้น (*Zanthoxylum Limonella Alston*)

ชื่อพ้อง ***Zanthoxylum budrunga Wall.***

ชื่ออื่นๆ พริกหอม มะข่วง มะแข่น ลูกระมาศ หมักข่วง หมากมาด

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

เป็นไม้ยืนต้น มีหนามแหลมตามลำต้นและกิ่ง ใบประกอบแบบขนนก ปลายคี่ หรือคู่ เรียงสลับใบย่อย 5-8 คู่ ใบย่อยรูปวงรีหรือรูปไข่ ปลายแหลมมาก โคนแหลมและเรียว ขอบใบเรียบหรือหยักห่างๆ ช่อดอกเป็นแบบช่อแยกแขนง ขนาดใหญ่ ออกที่ยอดหรือตามง่ามใบใกล้ยอด ดอกเล็ก ผลค่อนข้างกลม ผิวขรุขระ มีกลิ่น เมล็ดเล็ก กลม ดำเป็นมัน

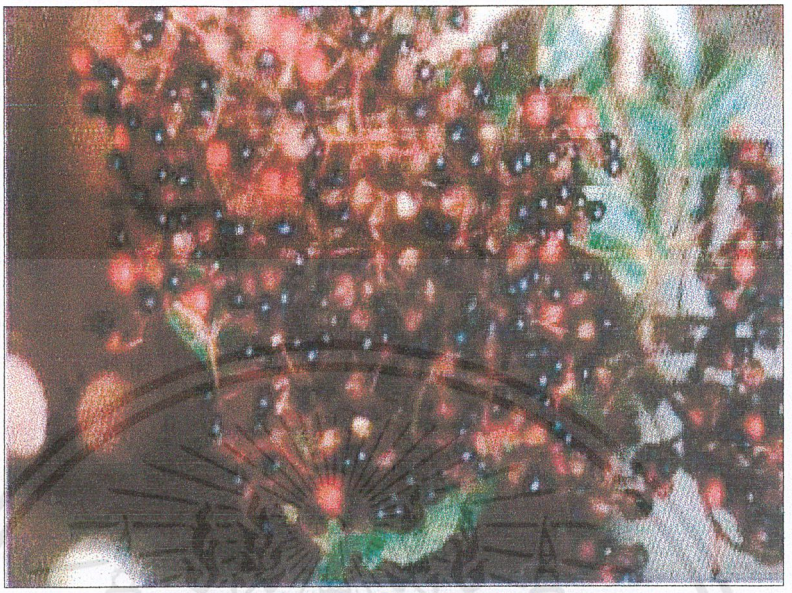
การขยายพันธุ์ ใช้เมล็ด

ฤดูการเก็บส่วนขยายพันธุ์ ตุลาคม ถึง พฤศจิกายน

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโต ตามป่าโปร่งและป่าเบญจพรรณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

43886



รูปที่ 2.8 ผลและเมล็ดของกำจัดต้น

การใช้ประโยชน์

ทางอาหาร **ใบอ่อน** รับประทานเป็นผักสดจิ้ม ร่วมกับน้ำพริกปลาร้า ลาบ และก้อย

ผลแห้ง เป็นเครื่องเทศ ใส่ในแกงต่างๆ

ทางยา **ใบ** แก้รำมะนาด แก้ปวดฟัน

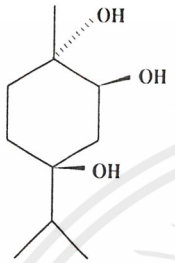
เมล็ด แก้ลมวิงเวียน บำรุงโลหิต บำรุงหัวใจ ขับลมในลำไส้ ขับปัสสาวะ ถอนพิษ แก้ฟกช้ำ แก้หนองใน

รากและเนื้อไม้ ขับลมในลำไส้ แก้ลมเบื้องบน หน้ามืด ตาลาย วิงเวียน

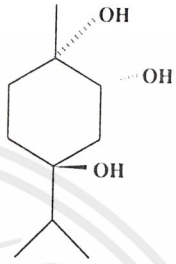
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี 1976 *R. K. Thappa,K. L. Dhar and C. K. Atal* ชาวอินเดียได้ทำการศึกษาผลของ ***Zanthoxylum budrunga*** ในส่วนของน้ำมันหอมระเหย พบว่าได้สารชนิดใหม่ คือ monoterpene triol ได้แก่ 1*S*,2*S*,4*S*-trihydroxy-*p*-menthane และ 1*S*,2*R*,4*S*-trihydroxy-*p*-menthane

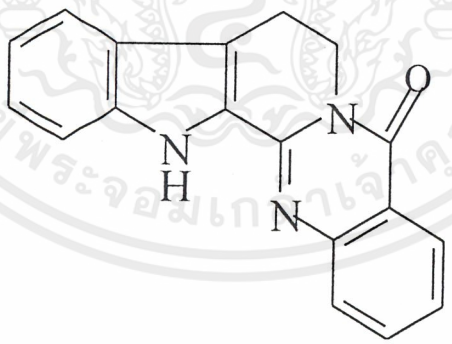


1*S*,2*S*,4*S*-trihydroxy-*p*-menthane



1*S*,2*R*,4*S*-trihydroxy-*p*-menthane

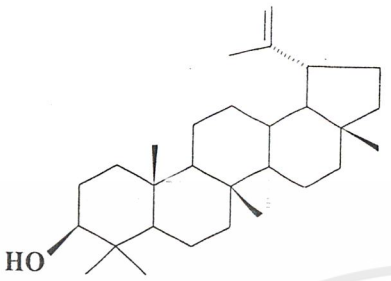
ในปี 1989 *H. Banerjee, S. Pal and N. Adityachudhury* ชาวอินเดียได้ทำการศึกษาส่วนของผลและเมล็ดของ ***Zanthoxylum budrunga*** พบสารประเภทอัลคาลอยด์ (Alkaloid) คือ rutaecarpine



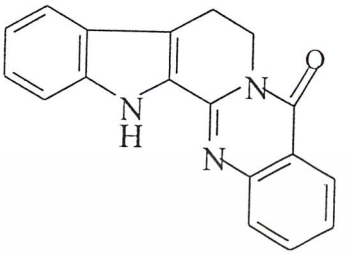
Rutaecarpine

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

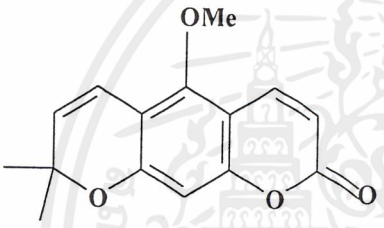
ในปี 1992 *S. Aim-On, R. Nijsiri* และคณะ ได้ศึกษาในส่วนเปลือกของกิ่งจากกำจัดต้น พบว่ามีสารประกอบ 5 ชนิด คือ lupeol rutaecarpine xanthoxyletin osthol และ scopoletin



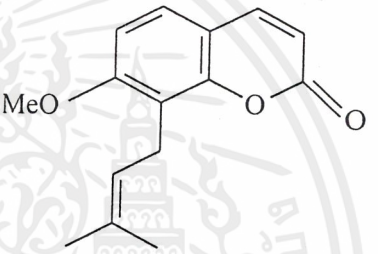
Lupeol



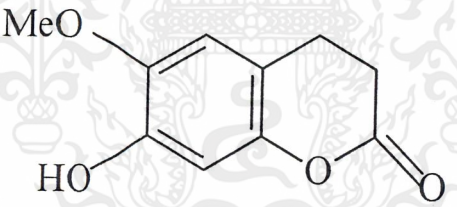
Rutaecarpine



Xanthoxyletin



Osthol



Scopoletin

ในปี 1999 *P. Mallikarjuna* และคณะ ชาวอินเดีย ได้ทำการศึกษาส่วนของลำต้นของกำจัดต้น ในเรื่อง Antimicrobial activity พบเบื้องต้นว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และเชื้อราได้หลายชนิด

ในปี 2000 *K. Sriwarom* ได้ศึกษาพบว่าสารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์มสามารถต่อต้านเชื้อมาลาเรียและวัณโรคได้

สำหรับในประเทศไทย ยังไม่มีการศึกษาถึงต้นไม้ชนิดนี้อย่างแพร่หลายและจากข้อมูลเบื้องต้นเชื่อว่าสามารถศึกษาเป็นแนวทางเพื่อพัฒนาใช้เป็นยารักษาโรคได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
การดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 สารเคมี

1. เฮกเซน (Hexane) เกรดการค้า
2. คลอโรฟอร์ม (Chloroform) เกรดการค้า
3. เมทานอล (Methanol) เกรดการค้า
4. เอทิล อะซิเตต (Ethyl Acetate) เกรดการค้า
5. ไดคลอโรมีเทน (Dichloromethane) เกรดการค้า
6. 2-บิวทานอล (2-butanol AR grade)
7. แอนนิซาลดีไฮด์ (Anisaldehyde AR grade)
8. แอบโซลูท เอทานอล (Absolute Ethanol)
9. อะซิโตน (Acetone AR grade)
10. กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Conc. Sulfuric Acid)
11. น้ำกลั่น (Distilled water)
12. ซิลิกาเจล เบอร์ 7729 (Silica gel 7729) ของ Merck
13. ซิลิกาเจล เบอร์ 7734 (Silica gel 7734) ของ Merck
14. แมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium Sulfate)
15. มันฝรั่ง
16. กลูโคส (Glucose)
17. วุ้น (Agar) ผลิตโดยห้างหุ้นส่วนจำกัด พัฒนาสินอินเตอร์ไพรส์

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. ขวดโหล
2. ขวดก้นกลม
3. ขวดรูปชมพู่
4. หลอดทดลอง
5. กระบอกตวง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ปิเปต
7. บีกเกอร์
8. หลอดหยด
9. แท่งแก้วคน
10. vial
11. แผ่นกระจกใส
12. กรวยกรอง
13. กระดาษกรอง
14. ช้อนตักสาร
15. Capillary tube
16. TLC Tank
17. TLC Plate (Silica Gel on Aluminium เบอร์ 5554)
18. Rotary Evaporator
19. Aspirator
20. ชุดปั๊ม
21. Hot Plate
22. Stand + Clamp
23. Column
24. ปากคีบ (Forcep)
25. FT-NMR Spectrometer 300 MHz ของ Bruker
26. เครื่องหาจุดหลอมเหลว
27. สายยาง
28. จานเพาะเชื้อ
29. เข็มเขี่ยเชื้อ
30. ตะเกียงแอลกอฮอลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 ขั้นตอนงานวิจัย

1. เตรียมตัวอย่างพืชโดยนำผลและเมล็ดของต้นพริกหอมมาผึ่งลมให้แห้งแล้วนำมาบดให้ละเอียด

2. นำผลและเมล็ดของต้นพริกหอมที่บดละเอียด มาทำการสกัดโดยแบ่งเป็น 2 ชุด คือ ชุดแรกสกัดด้วยน้ำ และชุดที่สองสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์โดยแช่ในตัวทำละลายจากขั้วต่ำไปยังขั้วที่สูงกว่า คือ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วันของแต่ละตัวทำละลาย

3. กรองแยกส่วนที่เป็นกากออกจากชั้นของตัวทำละลายและจากนั้นนำกากไปผึ่งให้แห้งแล้วนำไปแช่ในตัวทำละลายที่มีขั้วที่สูงกว่า

4. ทำสารสกัดในชั้นตัวทำละลายให้เข้มข้น โดยการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary Evaporator และเรียกส่วนนี้ว่า สารสกัดเบื้องต้น หรือ Crude Extraction

5. แบ่งสารสกัดเบื้องต้นส่งไปทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ดังต่อไปนี้

   5.1 ทดสอบการต่อต้านมาลาเรีย (Antimalarial)

   5.2 ทดสอบการต่อต้านวัณโรค (Antituberculous)

6.นำสารสกัดเบื้องต้นไปทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชและเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคพืช

7. หาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมด้วย เทคนิค Thin Layer Chromatography

8. แยกสารที่สกัดได้ให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิค Column Chromatography

9. วิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างของสารด้วยเทคนิค FT-NMR และ MS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วิธีการทดลอง การทดลองจะแบ่งเป็น 3 ตอน คือ

ตอนที่ 1 วิธีการเตรียมสารสกัดในแต่ละชั้นของตัวทำละลาย

3.31 การเตรียมสารสกัด Crude Extract แต่ละชั้นของตัวทำละลายที่มีขั้วต่างๆกัน

1.นำผลและเมล็ดของต้นพริกหอมมาบดให้ละเอียด ด้วยเครื่องบดไฟฟ้า (Blender) จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 2 กิโลกรัม แล้วนำมาแช่ในตัวทำละลายเฮกเซน ในภาชนะปิด เป็นเวลา 7 วัน โดยต้องหมั่นคนทุกวัน

2.กรองแยกกากออกจากสารสกัดในชั้นตัวทำละลายด้วยผ้าขาวบาง โดยบีบให้สารสกัดออกจากกากให้มากที่สุดแล้วนำกากที่ได้ไปผึ่งลมให้แห้งเพื่อใช้ในการสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วสูงกว่าในครั้งต่อไป

3.นำสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน มากรองเพื่อนำกากที่หลงเหลือออกด้วยกระดาษกรอง แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกเพื่อให้สารสกัดมีความเข้มข้นมากขึ้น ด้วยเครื่อง Rotary Evaporator ที่อุณหภูมิ ประมาณ 40 $^{\circ}C$ จนแห้งจะได้สารสกัดเข้มข้นในชั้นของเฮกเซน

4. กำหนดสัญลักษณ์เป็น ZL(H) แทนสารสกัดที่ได้จากชั้นเฮกเซน

5.นำกากที่แห้งมาทำการสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วสูงต่อไป ได้แก่ คลอโรฟอร์ม และเมทานอล ตามลำดับ ด้วยวิธีการเดียวกันกับตัวทำละลาย เฮกเซน

6.จะได้สารสกัดในแต่ละชั้นของตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกัน คือ เฮกเซน แทนด้วย ZL(H) คลอโรฟอร์ม แทนด้วย ZL($CHCl_3$) และเมทานอล แทนด้วย ZL(CH_3OH)

7. ชั่งน้ำหนักของสารสกัดในแต่ละชั้นให้แน่นอน เพื่อนำไปคำนวณ % yield

8.แบ่งสารสกัด Crude Extract ของแต่ละชั้นของตัวทำละลายส่งไปทดสอบฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชและเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 การหาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในแต่ละชั้นของตัวทำละลายด้วยเทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC) เพื่อใช้ในการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Column Chromatography

1. แบ่งสารสกัดที่สกัดมาได้ใส่ในขวด vial โดยละลายด้วยตัวทำละลายที่ใช้สกัด
2. เตรียมแผ่น TLC Plate ขนาด 2 x 5 cm โดยลากเส้น Solvent Front และทำการ Spot สารสกัดในขวด Vial ด้วยหลอด Capillary โดยทำการ Spot หลายๆครั้งให้เป็นจุดเดียวกัน ให้มีขนาดเล็กที่สุด
3. เตรียม TLC Tank เพื่อใช้เป็น Mobile Phase ที่เหมาะสมโดยเริ่มจากตัวทำละลายที่มีขั้วที่ต่ำก่อนคือ Dichloromethane แล้วค่อยๆเพิ่มขั้วทีละน้อย ด้วย Ethyl acetateในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน แล้วหยด 2-Butanol ลงไป 2-3 หยด เพื่อช่วยให้การสังเกตการแยกดีขึ้น
4. ปิด TLC Tank ด้วยกระจกนาฬิกา โดยมีกระดาษกรองวางไว้ข้างใน เพื่อใช้ในการสังเกต การอิ่มตัวด้วยตัวทำละลายภายใน TLC Tank
5. นำแผ่น TLC Plate ที่ทำการ Spot สารสกัด มาจุ่มลงใน TLC Tank แล้วปิดด้วยกระจกนาฬิกา ตั้งทิ้งไว้จนตัวทำละลายเคลื่อนที่ถึง Solvent Front ที่กำหนดไว้ แล้วให้รีบนำแผ่น TLC ออกมาผึ่งให้แห้ง
6. ทำการสังเกตด้วยตาเปล่าว่าสารสกัด มีการแยกอย่างไร แล้วทำการจดบันทึก
7. นำแผ่น TLC ที่ได้ไปทดสอบการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 nm สังเกตว่าสารสกัดมีการแยกอย่างไร แล้วทำการจดบันทึก
8. นำแผ่น TLC ที่ได้ไปย้อมด้วย Developing Solvent จากนั้นผึ่งให้แห้ง แล้วนำไปอุ่นให้ความร้อนที่เหมาะสมบน Hot Plate แล้วสังเกตการแยกของสารสกัดว่าเกิดการแยกอย่างไร และทำสัญลักษณ์บนจุดที่มีการเปลี่ยนแปลงสีของสารที่น่าสนใจ
9. นำข้อมูลที่ได้ในข้อ 6-8 มาพิจารณาว่าขั้วของตัวทำละลายที่ใช้แยกมีความเหมาะสมกับการแยกหรือไม่ ซึ่งอาจทำการปรับขั้วของตัวทำละลาย โดยการเพิ่มหรือลดขั้ว จนกว่าจะได้สภาวะขั้วที่เหมาะสมที่สุด เพื่อใช้ในการแยกสารสกัดด้วยเทคนิค Column Chromatography ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3 การแยกสารสกัดในแต่ละชั้นของตัวทำละลายด้วยเทคนิค Column Chromatography

1. ทำการติดตั้งอุปกรณ์ที่จะใช้ในการแยกสาร โดยใช้ Stand และ Clamp ยึดคอลัมน์ แล้วจัดคอลัมน์ให้ตั้งฉากกับพื้น
2. ทำการชั่ง Silica เบอร์ 7729 โดยประมาณ (ขึ้นกับปริมาณสารที่ทำการแยก) ใส่ในบีกเกอร์แล้วเติมด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำกว่า คือ Dichloromethane ทำการคนไปเรื่อยๆจน ไม่มีฟองอากาศ
3. ใช้สำลีอุดปลายคอลัมน์โดยกดด้วยแท่งแก้วยาวจากนั้นเติม Silica ที่แช่ในตัวทำละลายลงไปแล้วค่อยๆ เทลงไปพร้อมกับปล่อยให้ตัวทำละลายชะไหลออก
4. ใช้ลูกยางเคาะด้านข้างของคอลัมน์เบาๆ เพื่อให้การ Packed ตัวของ Silica ในคอลัมน์ดีขึ้น
5. ใช้ปั๊มเพื่อดันตัวทำละลายให้ไหลออกเร็วขึ้น และไล่ฟองอากาศพร้อมทั้งเคาะเบาๆจนกว่าผิวบนของ Silica จะเรียบ
6. เติมตัวทำละลายให้ชะผ่าน Silica พร้อมใช้ปั๊มช่วย จนกว่าจะไม่มีฟองอากาศ ระวังอย่าให้ Silica Gel แห้งเด็ดขาด
7. เมื่อผิวหน้าของ Silica เรียบให้ปิดผิวหน้าด้วย anh. $MgSO_4$
8. เตรียมสารสกัดที่จะทำการแยก โดยละลายใส่ในขวดก้นกลม ขนาด 50 ml แล้วเติม Silica Gel เบอร์ 7734 ลงไปให้คลุกเคล้ากัน ถ้ายังชุ่มด้วยตัวทำละลายให้นำไประเหยตัวทำละลายออก
9. เทสารสกัดที่คลุกเคล้ากับ Silica Gel ลงในคอลัมน์ให้หมด โดยไม่ต้องล้างขวดก้นกลมด้วยตัวทำละลาย
10. ทำการชะสารด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำสุด แล้วปล่อยให้สารไหลผ่านคอลัมน์
11. รอเก็บสารที่ไหลผ่านคอลัมน์ด้วยขวดรูปชมพู่ โดยทำการเก็บสารที่ถูกชะออกจากคอลัมน์ (Eluent) ครั้งละประมาณ 20 ml โดยทำหมายเลขไว้
12. ทำการเพิ่มขั้วสารทีละน้อยจนกว่าสารจะไหลออกจากคอลัมน์หมดและระวังอย่าให้คอลัมน์แห้ง
13. ทำการตรวจสอบสารที่ออกจากคอลัมน์ด้วยเทคนิค TLC โดยเทียบกับ Crude Extract ที่สกัดได้
14. พิจารณาผลของ TLC แล้วทำการรวมสารที่เหมือนกัน เพื่อนำไปแยกด้วยคอลัมน์ต่อจนกว่าจะได้สารที่บริสุทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15. เมื่อได้สารที่บริสุทธิ์แล้ว ให้ชั่งน้ำหนักที่แน่นอน เพื่อหา % yield
16. นำสารสกัดที่สกัดได้แยกจนเป็นสารบริสุทธิ์ไปตรวจหาโครงสร้างด้วยเทคนิค FT-NMR และ MS

ตอนที่ 2 วิธีการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช

3.3.4 การทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชโดยใช้สารสกัดในชั้นน้ำ

1. เตรียมสารสกัด Crude Extract ที่สกัดได้ในชั้นน้ำที่ความเข้มข้นต่างๆกันโดยอัตราส่วนของพืชแห้งต่อน้ำกลั่น คือ 1:30 1:60 1:90 1:120 และ 1:150 (น้ำหนักพืชแห้งต่อปริมาตร)
2. เตรียมจานเพาะเชื้อ โดยมีกระดาษที่ใช้ในการดูดซับสารที่สกัด วางรองไว้
3. ปิเปตสารประมาณ 5 มิลลิลิตรลงในจานเพาะเชื้อแล้วปิดด้วยกระจกนาฬิกาแล้วทำสัญลักษณ์ไว้
4. จากนั้นนำเมล็ดวัชพืชที่ต้องการทดสอบมาวางเรียงกันให้เต็มจานเพาะเชื้อ ทั้งนี้จะใช้เมล็ดผักกาดหัวและผักกวางตุ้งในการทดสอบ โดยเมล็ดที่ทำการทดสอบควรมีขนาดใกล้เคียงกัน โดยจะทำ 4 ซ้ำและใช้น้ำกลั่นเป็น Control
5. วางจานเพาะเชื้อที่ทำการทดสอบให้กระจายทั่วบริเวณหนึ่งแบบสุ่ม เพื่อให้ได้สภาพแวดล้อมที่เหมือนกันและห้ามเคลื่อนย้ายตลอดระยะเวลาขณะทำการทดลอง
6. นับจำนวนเมล็ดที่งอกเกิน 2 มิลลิเมตร ทุกวันเพื่อหาเปอร์เซนต์ในการงอก
7. เมื่อครบกำหนด 5 วัน ให้ทำการวัดส่วนหัวและส่วนรากเมล็ดที่งอก ในหน่วยเซนติเมตร
8. นำข้อมูลไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีการ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.5 การทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชโดยใช้สารสกัดในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์

1. เตรียมสารสกัดในแต่ละชั้น ได้แก่เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 2,500 และ 5,000 ppm เพื่อใช้ทดสอบกับวัชพืช
2. ทำการทดสอบเปอร์เซนต์ของอะซิโตนว่ามีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชหรือไม่แล้วเลือกเปอร์เซนต์ที่ละลายดีที่สุดและไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช ซึ่งพบว่าที่ 5 % Acetone ให้ผลดีที่สุด
3. เตรียมจานเพาะเชื้อ โดยมีกระดาษที่ใช้ในการดูดซับสารที่สกัด วางรองไว้
4. ปิเปตสารประมาณ 5 มิลลิลิตรในแต่ละความเข้มข้น ซึ่งทำการทดสอบ 4 ซ้ำ โดยมี Control 2 ชนิด คือ 5% Acetone และน้ำกลั่นเพื่อทำการเปรียบเทียบ
5. จากนั้นนำเมล็ดวัชพืชที่ต้องการทดสอบมาวางเรียงกันให้เต็มจานเพาะเชื้อ ทั้งนี้จะใช้เมล็ดผักกาดหัวและผักกวางตุ้งในการทดสอบเช่นกัน
6. วางจานเพาะเชื้อแบบสุ่ม (Random) และห้ามเคลื่อนย้ายตลอดการทดลอง
7. นับจำนวนเมล็ดที่รากงอกโผล่เกิน 2 มิลลิเมตร ทุกวันเพื่อหาเปอร์เซนต์ในการงอกแล้วเปรียบเทียบกับ Control
8. เมื่อครบกำหนด 5 วัน ให้ทำการวัดส่วนหัวและส่วนรากเมล็ดที่งอก ในหน่วยเซนติเมตร
9. เมื่อได้ข้อมูลครบนำไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธีการ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ตอนที่ 3 วิธีการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคพืช (Antifungal activity)

1. เตรียมสารสกัดในแต่ละชั้น ได้แก่เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 ppm เพื่อใช้ทดสอบกับเชื้อรา โดยใช้ 10 % Acetone ในการละลาย เพราะจากการศึกษาว่าอะซิโตนมีผลต่อการยับยั้งเชื้อราหรือไม่ พบว่าที่ 10 % Acetone ให้ผลดีที่สุดคือไม่มีผลต่อเชื้อราที่ทำการทดสอบ
2. เตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อรา คือ PDA (Potato Dextrose Agar) โดยใส่ขวดประมาณ 18 มิลลิลิตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (Autoclave) ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เตรียมอุปกรณ์สำหรับเขี่ยเชื้อรา โดยที่อุปกรณ์ทั้งหมด ต้องผ่านการฆ่าเชื้อ เช่น จานเพาะเชื้อ นำไปอบที่ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงก่อนนำมาใช้งาน สำหรับน้ำกลั่นที่ใช้จะต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเช่นกัน
4. เตรียมเชื้อราที่จะใช้ในการทดสอบ ซึ่งมีอยู่ 2 ชนิด คือ ***Phytophthora parasitica*** และ ***Colletotrichum gloeosporioides*** โดยทำการเตรียมก่อนล่วงหน้าเป็นระยะเวลา 5-7 วัน ก่อนที่จะทำการทดสอบ
5. วิธีการทดสอบ จะใช้ automicropipette ดูดสารสกัดมา 2 มิลลิลิตรใส่ในจานเพาะเชื้อที่แล้วจึงเทอาหาร PDA ลงไปผสม ทำการหมุนวนจานเพาะเชื้อเพื่อให้สารสกัดกระจายตัวทั่วจานเพาะเชื้อ
6. เมื่ออาหารแข็งตัว ให้ปลูกเชื้อลงไปตรงตำแหน่งตรงกลางของจานเพาะเชื้อ โดยที่เชื้อราที่จะทดสอบต้องเจาะด้วย cork borrer โดยเจาะที่ตรงขอบกึ่งกลางเพื่อให้เชื้อรามีความแก่ทางสรีระเท่ากัน
7. ทำการทดสอบเป็นจำนวน 10 ซ้ำ ซึ่งมี Control ที่เป็นอาหาร PDA เพียงอย่างเดียวไว้เป็นตัวเปรียบเทียบ
8. การตรวจวัดผล ให้วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 ถึง 10 วัน สังเกตสิ่งที่เกิดขึ้นแล้วเปรียบเทียบกับ Control
9. สำหรับสารสกัดในชั้นน้ำต้องทำการกรองจุลินทรีย์ออกไปก่อน แล้วนำไปฆ่าเชื้อแล้วจึงมาทดสอบ สำหรับสารสกัดในชั้นน้ำจะใช้ความเข้มข้น เป็น 1:10 เท่านั้นเพื่อดูแนวโน้มของการยับยั้งเชื้อรา

หมายเหตุ : ต้องระวังการปนเปื้อน (Contaminate) ของเชื้อราหรือแบคทีเรียตัวอื่น ดังนั้นอุปกรณ์ที่ใช้ทดสอบต้องผ่านการฆ่าเชื้อ (Aseptic) มาก่อนเสมอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 ผลของการสกัดสารในแต่ละชั้นของตัวทำละลาย

จากการสกัดสารของกำจัดต้นโดยใช้เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล เป็นตัวทำละลาย สามารถสกัดสารและคำนวณเปอร์เซนต์ผลผลิต (% yield) ได้ดังนี้

น้ำหนักผลและเมล็ดของกำจัดต้น = 1973.32 กรัม
น้ำหนักสารสกัดในชั้นเฮกเซน = 89.77 กรัม
น้ำหนักสารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์ม = 50.25 กรัม
น้ำหนักสารสกัดในชั้นเมทานอล = 109.15 กรัม

ตารางที่ 4.1 ตารางแสดงเปอร์เซนต์ผลผลิต (%yield) ของสารสกัดในแต่ละชั้นของตัวทำละลาย

สารสกัดในชั้นตัวทำละลาย	เปอร์เซนต์ผลผลิต (%yield)
Hexane	4.55
Chloroform	2.55
Methanol	5.53

4.2 ผลของการแยกสารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์มด้วยเทคนิค Column Chromatography

จากผลของการทดสอบเภสัชวิทยาในสภาวะจำลอง (*in vitro*) พบว่าสารสกัดจากชั้นคลอโรฟอร์ม สามารถต้านเชื้อพลาสโมเดียมฟัลซิปารัมที่เป็นสาเหตุของโรคมาลาเรีย โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 3.3 µg/ml และสามารถต้านวัณโรคโดยมีค่าการต้านวัณโรคเท่ากับ 200 µg/ml จึงมุ่งเน้นหาส่วนประกอบทางเคมีในชั้นของคลอโรฟอร์มที่มีฤทธิ์นั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการแยกสารสกัดสามารถแยกสารได้สารบริสุทธิ์ 1 ชนิด มีสมบัติดังนี้

1. มีจุดหลอมเหลวประมาณ 80.4 °C
2. มีค่า R_f เท่ากับ0.525 (ใช้ระบบตัวทำละลายคือ100%CH_2Cl_2+3หยดของ2-butanol)
3. น้ำหนักสารบริสุทธิ์ที่ได้ 0.5434 g หรือคิดเป็น % yield ได้เท่ากับ 2.717 %

4.3 ผลของการทดสอบทางเภสัชวินิจฉัยของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

4.3.1 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านมาลาเรีย

Testing : *In Vitro* antimalarial Activity against Plasmodium falciparum, K1 stain

Method : Microculture Radioisotope Technique

Test by : Antimalarial Screening Laboratory, BIOTEC

ตารางที่ 4.2 แสดงค่า EC_{50} จากการทดสอบการต่อต้านมาลาเรียของสารบริสุทธิ์

สาร	EC_{50} (µg/ml)
สารบริสุทธิ์ในชั้นคลอโรฟอร์ม	3.79

4.3.2 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านวัณโรค

Testing : *In Vitro* antituberculous Activity against Mycobacterium tuberculosis H 37 Ra

Method : Microplate Alamar Blue Assay (MABA)

Test by : Antituberculous Screening Laboratory, BIOTEC

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการทดสอบการต้านวัณโรคของสารบริสุทธิ์

สาร	Results against TB at 200 µg/ml
สารบริสุทธิ์ในชั้นคลอโรฟอร์ม	Inactive

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการตรวจสอบโครงสร้างทางเคมีของสารบริสุทธิ์

4.4.1 ผลจากนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ (FT-NMR)

^{1}H-NMR แสดงดังรูปที่ 4.1

ตารางที่ 4.4 แสดงการวิเคราะห์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์จาก ^{1}H-NMR Spectra

Chemical shift (δ)	Type of peak	Number of proton	Function group
14.00	Singlet	1	Phenolic proton ที่เกิด H-bond
5.90,6.10	Doublet	2	Proton ของวง Benzene ที่มีหมู่แทนที่ 4 หมู่
3.85	Doublet	6	หมู่ methoxy 2 หมู่ที่เกาะกับวง Benzene
2.60	Singlet	3	หมู่ methyl ketone ($-CO-CH_3$)

^{13}C-NMR แสดงดังรูปที่ 4.2

ตารางที่ 4.5 แสดงการวิเคราะห์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์จาก ^{13}C-NMR Spectra

Chemical shift (δ) / ppm	Function group
203.15	Carbonyl group ของ Ketone ที่ไม่อิ่มตัว
167.59,166.11,162.92,105.99	Carbon ของวงเบนซีนที่แทนที่ด้วย H
90.71,93.50	Carbon ของวงเบนซีนที่ไม่แทนที่ด้วย H
55.53	หมู่ metoxy 2 หมู่ที่เกาะกับเบนซีน
32.91	หมู่ methyl ที่ติดกับ หมู่ Carbonyl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 ผลจากแมสสเปคโตรเมทรี (Mass Spectrometry)

แสดงดังรูปที่ 4.3

ตารางที่ 4.6 แสดงการวิเคราะห์โครงสร้างของสารบริสุทธิ์จาก Mass Spectra

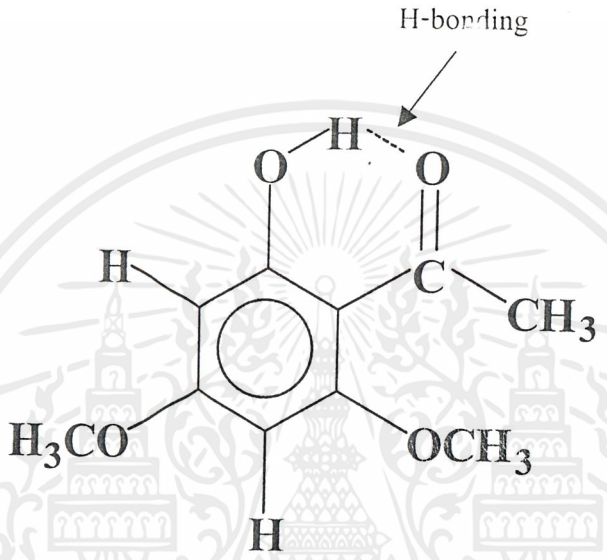
m/z	ผลการวิเคราะห์
196	สารมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 196 g / mol
181	หมู่ methyl ของ ketone หลุด
138,123,95	เป็นการยืนยันหมู่ methoxy 2 หมู่

จากการพิจารณาข้อมูลทางสเปกโตรสโคปี พบว่า สารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากชั้นคลอโรฟอร์ม มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 196 g / mol และเมื่อพิจารณาจากเทคนิคทาง NMR พบว่าสารบริสุทธิ์ที่แยกได้เป็นสารประเภทอนุพันธ์ของอะซิโตฟีโนน (Acetophenone) เพราะเนื่องจากพีคที่เกิดขึ้นโดยพิจารณาประกอบกันระหว่าง ^{1}H-NMR และ ^{13}C-NMR ทำให้ทราบว่ามีหมู่ methyl ketone เป็นองค์ประกอบ และมีหมู่ไฮดรอกซิลที่ทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจน (H-bonding) ได้

สำหรับหมู่ methoxy 2 หมู่ ที่เกาะกับวงเบนซีนจะเกาะในตำแหน่งของ ortho และ para position โดยพิจารณาจาก H ที่เกาะกับวงเบนซีนมีค่า coupling constant เท่ากับ 2 Hz ทำให้ยืนยันว่าตำแหน่งของ H จะต้องเป็นตำแหน่งที่เป็น meta position ระหว่างกันและ fragment ion ที่เกิดขึ้นจากแมสสเปกตรัมเป็นการยืนยันว่า หมู่ methoxy 2 หมู่ ต้องอยู่ในตำแหน่งที่เป็น ortho และ para position ของอะซิโตฟีโนน เพราะค่าปริมาณสัมพัทธ์มีค่าต่ำ

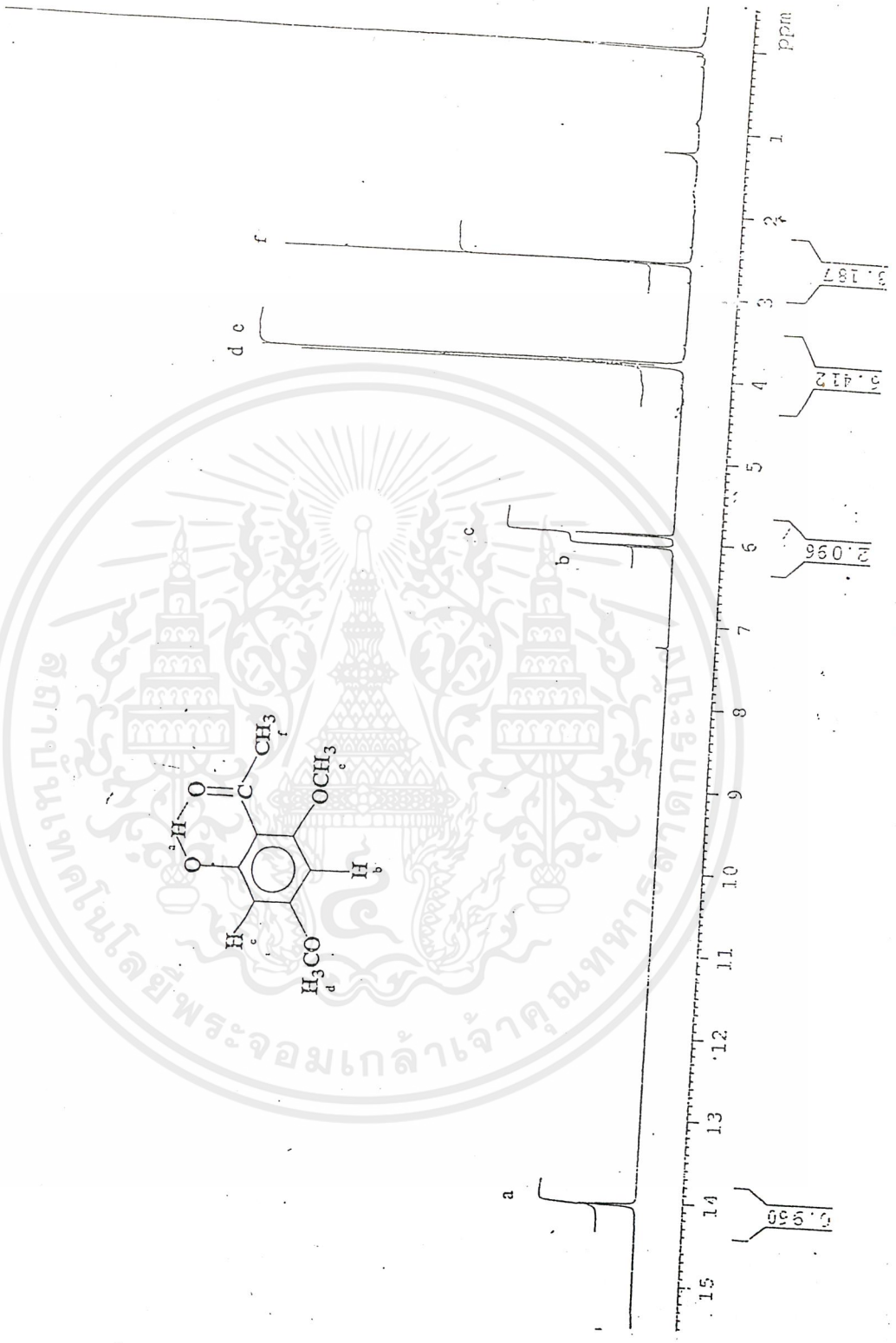
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากข้อมูลทาง Spectroscopy ทั้งหมดทำให้สามารถระบุโครงสร้างที่เป็นไปได้ของสารบริสุทธิ์ได้ ดังนี้



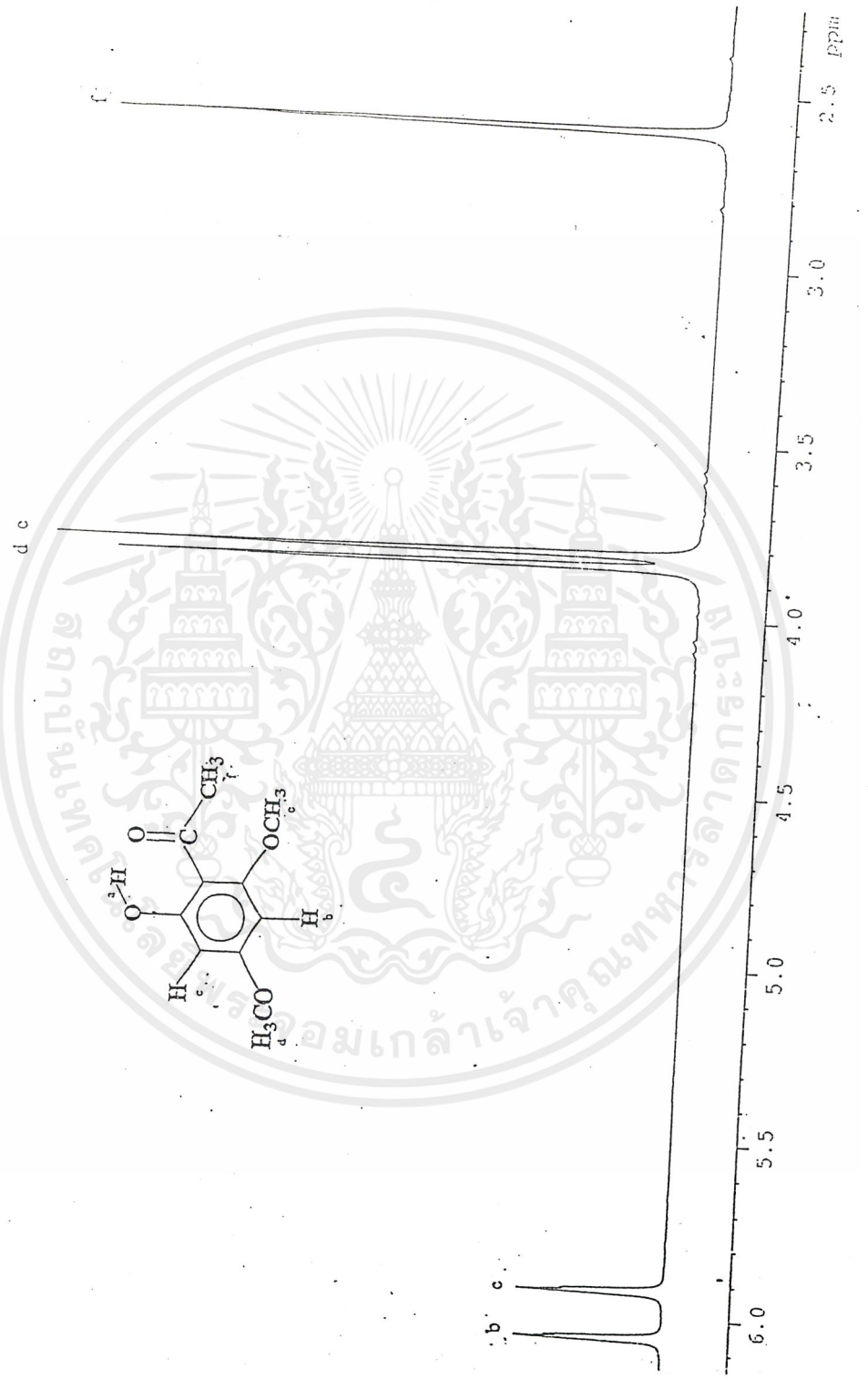
1-(2-hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-ethanone

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

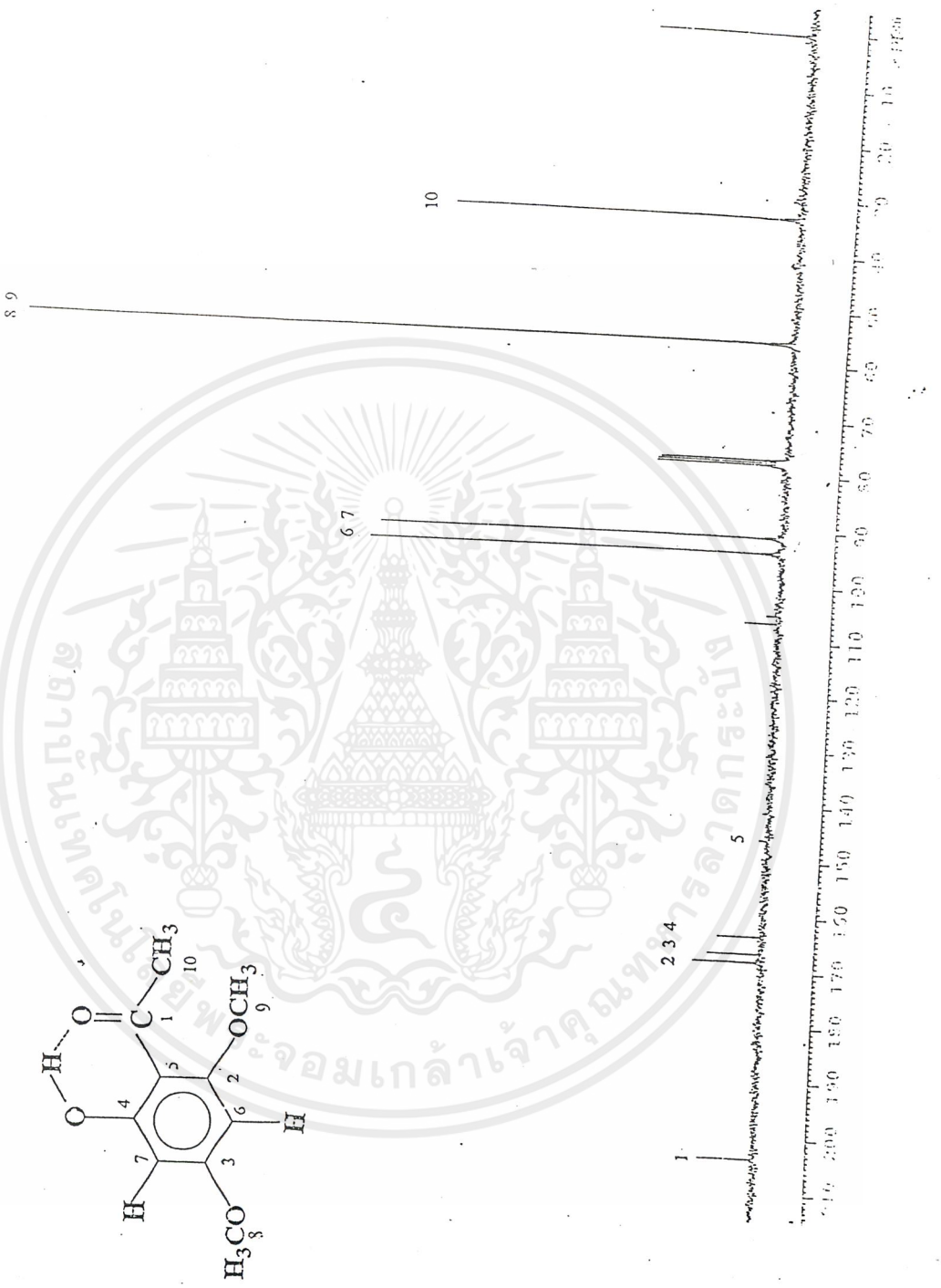


รูปที่ 4.1 แสดง ^{1}H-NMR Spectra ของสารบริสุทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

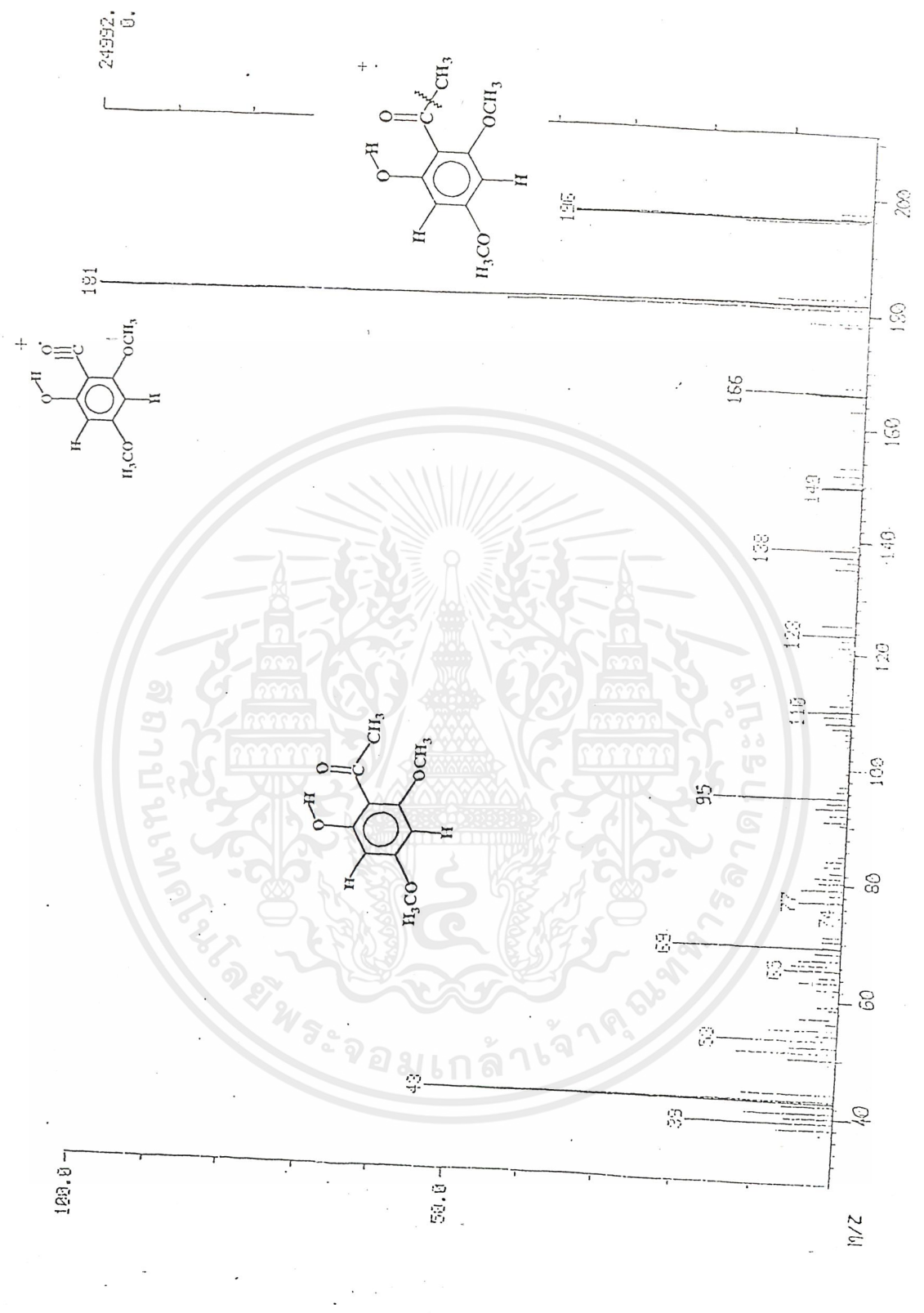


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดง ^{13}C-NMR Spectra ของสารบริสุทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 แสดง Mass Spectra ของสารบริสุทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืช

ตัวแทนวัชพืชที่ใช้ทดสอบ มี 2 ชนิด คือ ผักกาดหัว (*Raphanus sativus var.longipinnatus* L.) และผักกวางตุ้ง (*Brassica campestris var.chinensis* L.)

ผลของการทดสอบฤทธิ์ทางด้านการเกษตรในด้านการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืช พบว่า สารสกัดในชั้นน้ำเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งดีขึ้น ในขณะเดียวกันสารสกัดในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ก็สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืชได้ ซึ่งสารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์มจะให้ผลของการยับยั้งดีที่สุด

4.5.1 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชในชั้นน้ำ

รูปที่ 4.4 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากผลกำจัดต้นต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัวหลังเพาะ 5 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักกาดหัวในชั้นน้ำ

ความเข้มข้นสารสกัด (น้ำหนัก : ปริมาตร)	เปอร์เซ็นต์การงอก (%) [v]				
	ระยะเวลา (วัน)				
	1	2	3	4	5
น้ำกลั่น	88.75 a	96.25 a	96.25 a	96.25 a	96.25 a
1: 30	0 c	7.5 d	12.5 d	21.25 d	33.75 d
1: 60	1.25 bc	18.75 cd	32.5 c	37.5 c	55 c
1: 90	2.5 bc	32.5 bc	45 bc	52.5 b	68.75 b
1: 120	3.75 bc	40 b	58.75 b	66.25 b	75 b
1: 150	8.75 b	43.75 b	52.5 b	57.5 b	66.25 bc

หมายเหตุ [v] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงความยาวของผักกาดหัวในชั้นน้ำ

ความเข้มข้นสารสกัด (น้ำหนัก : ปริมาตร)	ความยาว (เซนติเมตร)[v]		
	ราก	ลำต้น	รวม
น้ำกลั่น	6.1 a	4.6 a	10.7 a
1: 30	1.7 c	1.71 c	3.47 d
1: 60	2.36 bc	2.47 bc	4.83 cd
1: 90	2.74 bc	2.85 b	5.59 c
1: 120	2.95 bc	3.26 b	6.21 bc
1: 150	3.65 b	4.35 a	8.00 b

หมายเหตุ[v] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.5 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากผลกำจัดต้นต่อการงอกของเมล็ดผักกวางตุ้งหลังเพาะ 5 วัน

ตารางที่ 4.9 แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักกวางตุ้งในชั้นน้ำ

ความเข้มข้นสารสกัด (น้ำหนัก : ปริมาตร)	เปอร์เซ็นต์การงอก (%) [v] ระยะเวลา (วัน)				
	1	2	3	4	5
น้ำกลั่น	74 a	85 a	85 a	87 a	87 a
1:30	2 c	49 b	50 b	52 b	53 b
1:60	4 c	64 b	66 ab	67 b	68 b
1:90	15 b	67 ab	67 ab	69 b	69 b
1:120	20 b	66 ab	66 ab	66 b	66 b
1:150	22 b	50 b	50 b	51 b	51 b

หมายเหตุ [v] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

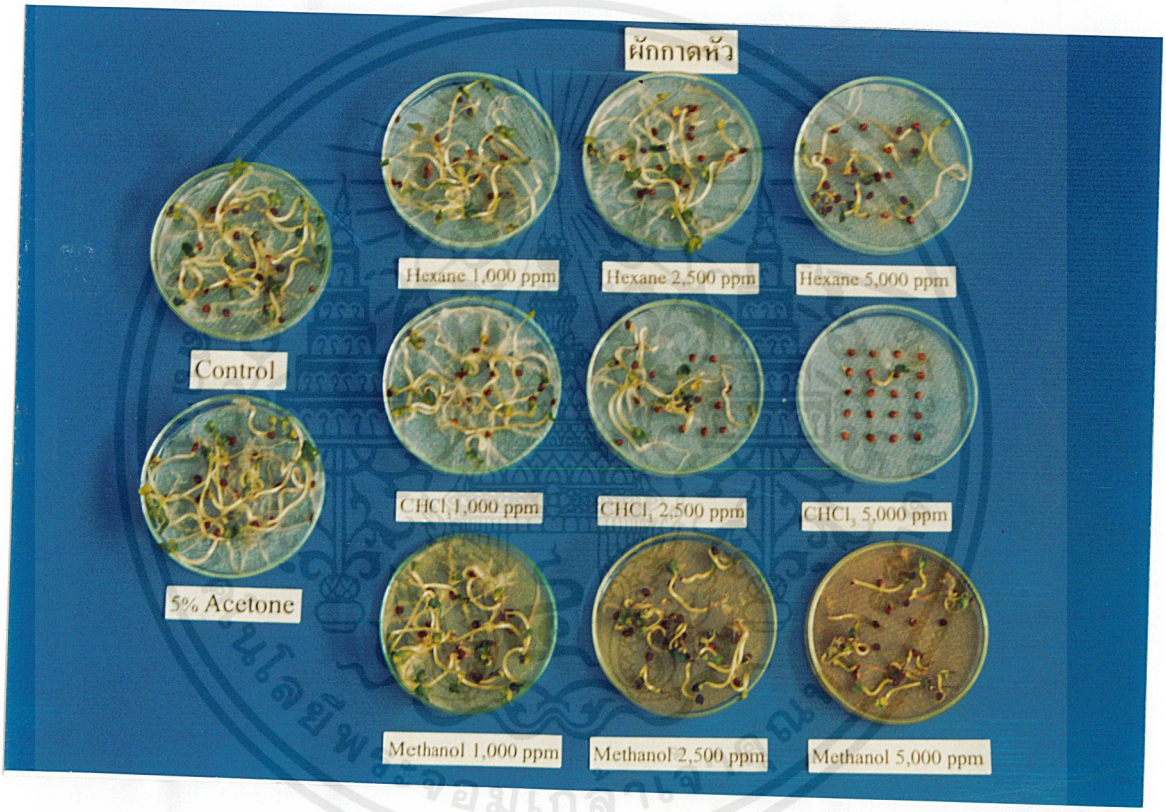
ตารางที่ 4.10 แสดงความยาวของผักกวางตุ้งในชั้นน้ำ

ความเข้มข้นสารสกัด (น้ำหนักต่อปริมาตร)	ความยาว (เซนติเมตร)[v]		
	ราก	ลำต้น	รวม
น้ำกลั่น	4.65 a	2.81 ab	7.46 a
1: 30	1.67 c	1.74 c	3.41 c
1: 60	1.94 c	1.84 bc	3.78 c
1: 90	2.44 bc	2.12 abc	4.56 bc
1: 120	3.36 b	3.14 a	6.5 ab
1: 150	2.28 c	2.37 abc	4.65 bc

หมายเหตุ : [v] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.2 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชในตัวทำละลายอินทรีย์



รูปที่ 4.6 ผลของสารสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัวหลังเพาะ5 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักกาดหัวในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์

ความเข้มข้นสารสกัด (ppm)	เปอร์เซ็นต์การงอก (%) [v]				
	ระยะเวลา (วัน)				
	1	2	3	4	5
Control	86.25 a	93.75 a	95 a	97.5 a	97.5 a
5% Acetone	75 b	92.5 a	97.5 a	98.75 a	98.75 a
เฮกเซน 1,000	17.5 d	45 c	71.25 b	75 b	83.75 abc
เฮกเซน 2,500	7.5 ef	26.25 d	60 c	68.75 bc	80 bc
เฮกเซน 5,000	1.25 f	10 e	42.5 d	47.5 d	60 d
คลอโรฟอร์ม 1,000	16.25 de	48.75 c	73.75 b	78.75 b	88.75 ab
คลอโรฟอร์ม 2,500	5 f	8.75 e	41.25 d	60 c	71.25 cd
คลอโรฟอร์ม 5,000	0 f	0 e	6.25 e	15 e	22.5 e
เมทานอล 1,000	66.25 b	88.75 a	96.25 a	98.75 a	98.75 a
เมทานอล 2,500	32.5 c	67.5 b	90 a	92.5 a	92.5 ab
เมทานอล 5,000	15 de	37.5 c	71.25 b	76.25 b	76.25 bc

หมายเหตุ : [v] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT ($p \leq 0.05$)

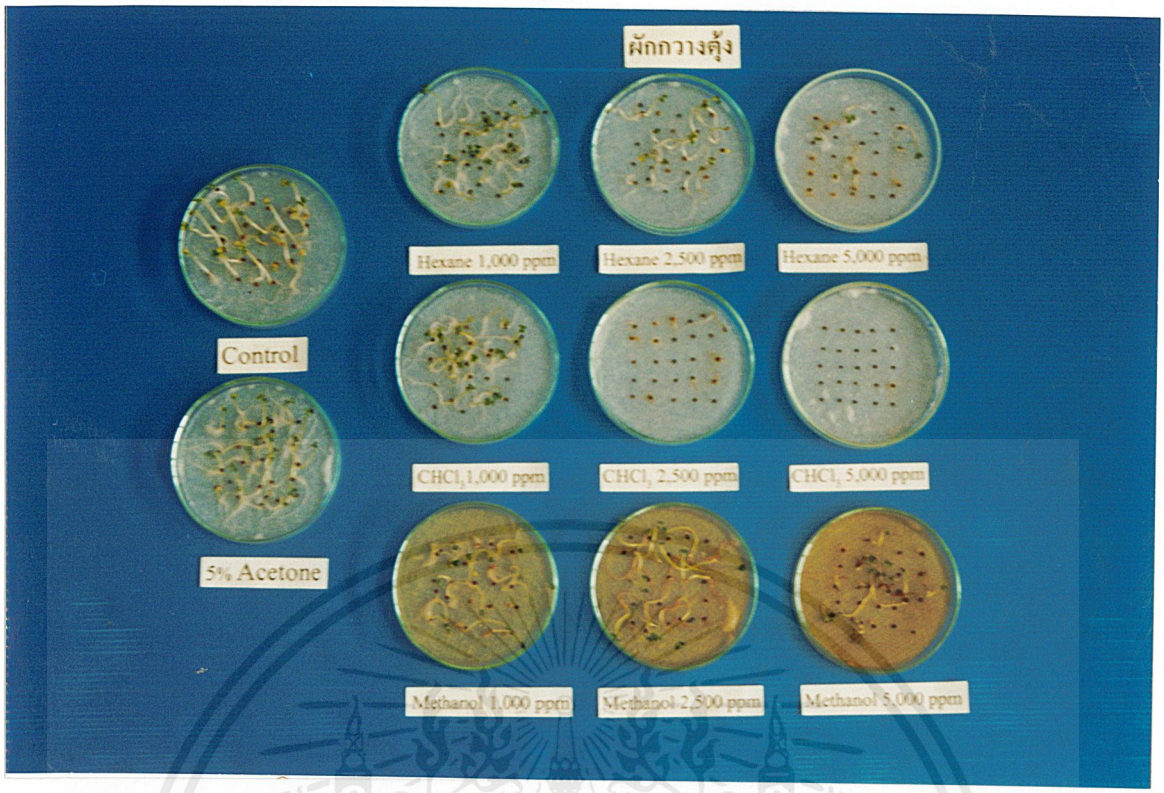
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 แสดงความยาวของผักกาดหัวในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์

ความเข้มข้นสารสกัด (ppm)	ความยาว (เซนติเมตร)[v]		
	ราก	ลำต้น	รวม
Control	6.7 a	4.21 abc	10.91 a
5% Acetone	6.3 a	4.61 a	10.99 a
เฮกเซน 1,000	5.07 ab	4.4 ab	10.07 ab
เฮกเซน 2,500	4.75 b	4.3 ab	9.05 b
เฮกเซน 5,000	2.42 cd	3.06 d	5.49 ef
คลอโรฟอร์ม 1,000	4.94 b	4.21 abc	9.15 b
คลอโรฟอร์ม 2,500	3.24 c	3.85 bc	7.09 cd
คลอโรฟอร์ม 5,000	1.4 d	2.74 d	4.14 f
เมทานอล 1,000	3.37 c	4.15 abc	7.52 c
เมทานอล 2,500	2.34 cd	3.64 c	5.98 de
เมทานอล 5,000	1.35 d	3.05 d	4.41 f

หมายเหตุ : [v]ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 ผลของสารสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่อการงอกของเมล็ดผักกวางตุ้งหลังเพาะ 5 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักกวางตุ้งในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์

ความเข้มข้นสารสกัด (ppm)	เปอร์เซ็นต์การงอก (%) [v]				
	ระยะเวลา (วัน)				
	1	2	3	4	5
Control	68 a	75 a	75 a	76 a	76 a
5% Acetone	58 a	73 a	75 a	76 a	76 a
เฮกเซน 1,000	38 b	63 abc	67 a	68 a	70 a
เฮกเซน 2,500	14 de	50 bcd	64 a	64 a	66 ab
เฮกเซน 5,000	6 ef	30 d	44 bc	45 b	49 bc
คลอโรฟอร์ม 1,000	22 cd	69 ab	73 a	74 a	76 a
คลอโรฟอร์ม 2,500	4 ef	32 d	40 c	44 b	47 c
คลอโรฟอร์ม 5,000	0 f	2 e	6 d	7 c	7 d
เมทานอล 1,000	40 b	68 ab	69 a	76 a	77 a
เมทานอล 2,500	31 bc	60 abc	72 a	73 a	74 a
เมทานอล 5,000	20 cd	47 cd	58 ab	60 a	65 ab

หมายเหตุ : [v] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.14 แสดงความยาวของผักกวางตุ้งในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์

ความเข้มข้นสารสกัด (ppm)	ความยาว (เซนติเมตร)[v]		
	ราก	ลำต้น	รวม
Control	4.31 a	3.18 a	7.49 a
5% Acetone	3.43 abc	2.94 ab	6.37 ab
เฮกเซน 1,000	3.15 bc	2.4 abc	5.55 bcd
เฮกเซน 2,500	3.68 ab	2.32 abcd	6.0 abc
เฮกเซน 5,000	2.06 de	1.37 d	3.43 e
คลอโรฟอร์ม 1,000	3.3 abc	2.43 abc	5.73 bcd
คลอโรฟอร์ม 2,500	2.46 cd	1.62 cd	4.08 de
คลอโรฟอร์ม 5,000	0.8 f	0 e	0.8 f
เมทานอล 1,000	1.63 def	2.89 ab	4.52 de
เมทานอล 2,500	1.32 ef	2.01 bcd	3.33 e
เมทานอล 5,000	1.28 ef	2.02 bcd	3.30 e

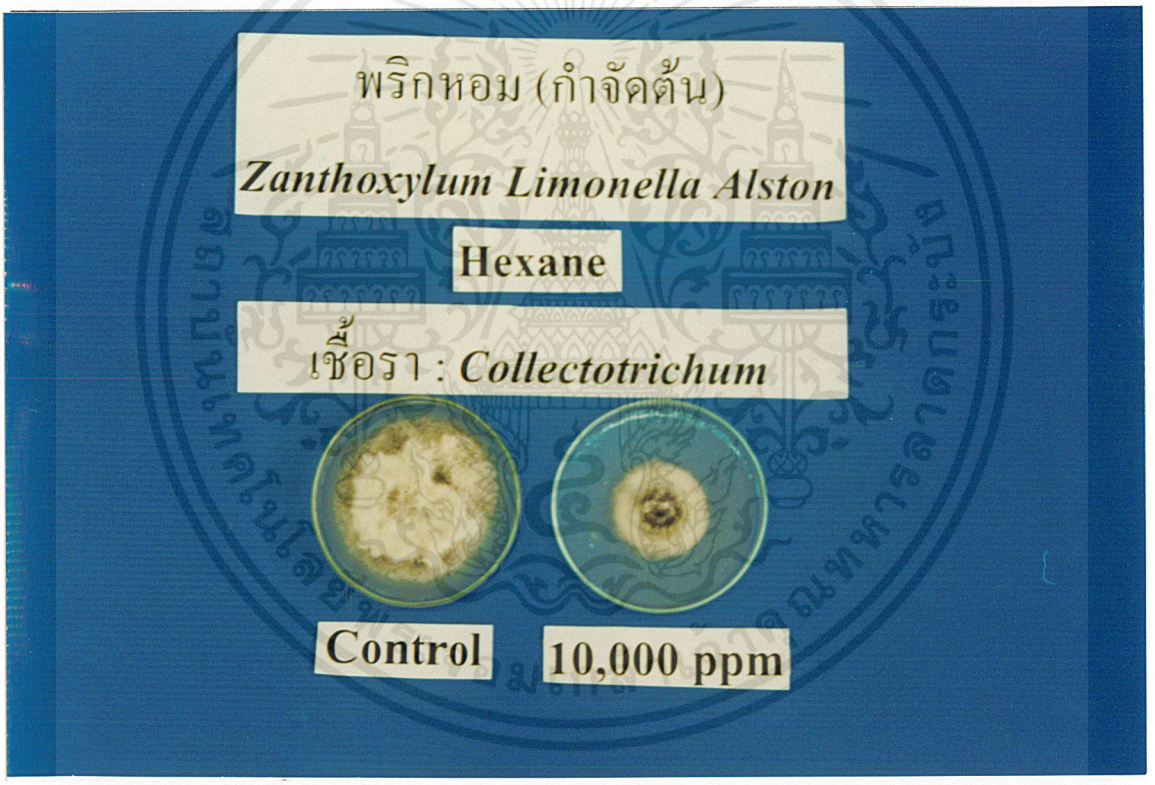
หมายเหตุ : [v] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืช

เชื้อราที่ใช้ในการทดสอบ มี 2 ชนิด คือ ***Phytophthora parasitica*** และ ***Colletotrichum gloeosporioides*** ซึ่งเป็นเชื้อราที่เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคในพืชที่สำคัญ

สารสกัดในชั้นน้ำไม่สามารถยับยั้งเชื้อราชนิด ***Colletotrichum*** ได้ในขณะที่สารสกัดในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์มีแนวโน้มในการยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิด โดยที่สารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์มจะให้ผลการยับยั้งเชื้อราชนิด ***Phytophthora*** ดีที่สุด ส่วนสารสกัดในชั้นเมทานอลจะให้ผลการยับยั้งเชื้อรา ***Colletotrichum*** ดีที่สุด



รูปที่ 4.8 แสดงการยับยั้งเชื้อรา ***Colletotrichum gloeosporioides*** ของสารสกัดชั้น Hexane

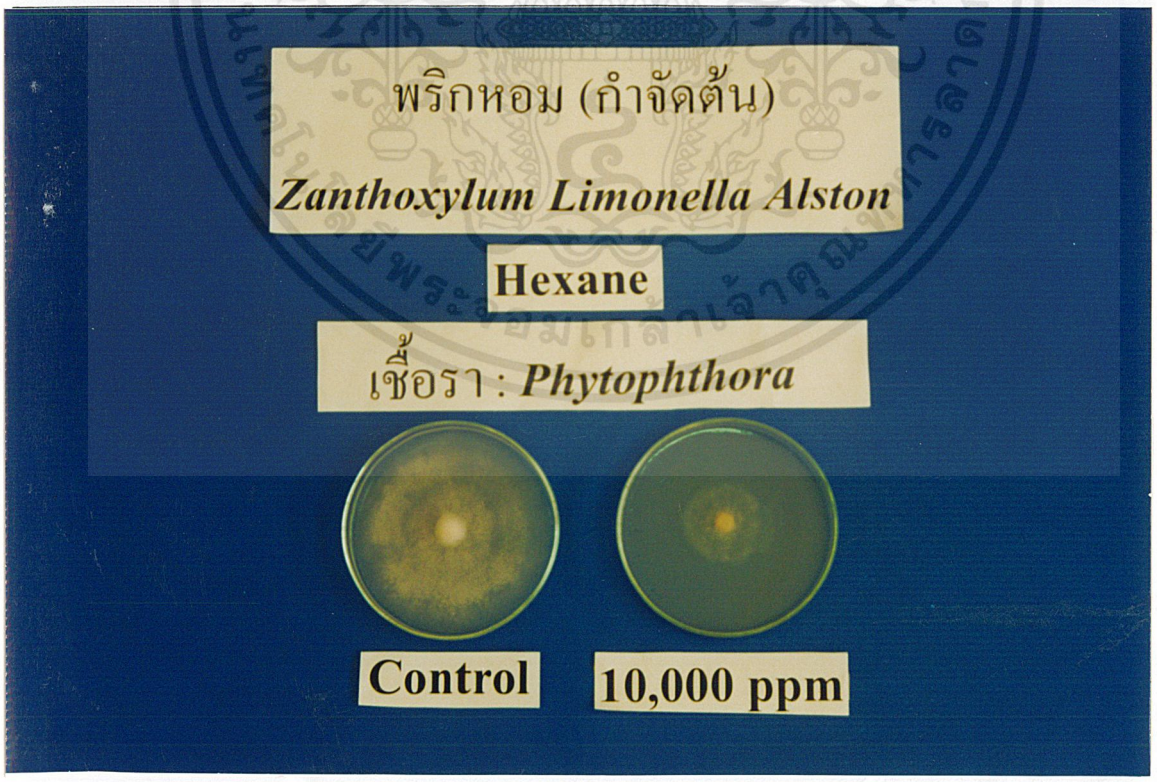
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.9 แสดงการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของสารสกัดชั้น Chloroform

รูปที่ 4.10 แสดงการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของสารสกัดชั้น Methanol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.11 แสดงการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของสารสกัดชั้นน้ำ



รูปที่ 4.12 แสดงการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ของสารสกัดชั้น Hexane

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.13 แสดงการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ของสารสกัดชั้น Chloroform

รูปที่ 4.14 แสดงการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ของสารสกัดชั้น Methanol

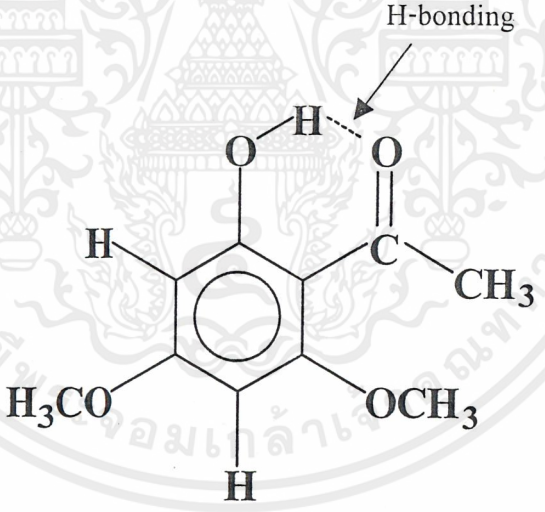
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

5.1 สรุปผลการวิจัย

1.สารสกัดเบื้องต้น (Crude Extract) ที่สกัดได้จากผลและเมล็ดของกำจัดต้นในตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล มีปริมาณเท่ากับ 4.55% 2.55% และ5.53% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับน้ำหนักพืชตัวอย่าง

2.สามารถแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดชั้นคลอโรฟอร์ม ได้สารจำพวกอะซิโตฟิโนนชนิดใหม่ คือ 1-(2-hydroxy-4,6-dimethoxyphenyl)-ethanone มีปริมาณประมาณ 2.7 % โดยน้ำหนัก มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว มีกลิ่นเฉพาะตัว จุดหลอมเหลวประมาณ 80.4 ^{0} C มีค่าเท่ากับ 0.525 (ใช้ระบบตัวทำละลายคือ 100 % CH_2Cl_2+3หยดของ 2-butanol) จากการวิเคราะห์หาโครงสร้างทางเคมีด้วย FT-NMR และMS พบว่ามีโครงสร้างดังนี้



รูปที่ 5.1 แสดงโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกจากสารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์ม

3. จากการทดสอบทางเภสัชวินิจฉัยในสภาวะจำลอง (*in vitro*) พบว่าสารบริสุทธิ์ที่แยกได้ในชั้นคลอโรฟอร์มสามารถต้านเชื้อ ***Plasmodium falciparum*** ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคมาลาเรีย โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 3.79 μg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.จากการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากผลและเมล็ดของกำจัดต้นในด้านการเกษตรและเภสัชวิทยา พบว่า

4.1 สารสกัดในชั้นน้ำจากผลของกำจัดต้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของผักกาดหัวและผักกวางตุ้งได้และการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชดียิ่งขึ้น

4.2 สารสกัดในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดมีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชได้ โดยที่สารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์มจะสามารถยับยั้งได้ดีที่สุด และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตจะเพิ่มขึ้น

4.3 สารสกัดในชั้นน้ำไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคพืชชนิด *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ ขณะที่สารสกัดในชั้นตัวทำละลายอินทรีย์มีแนวโน้มยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้โดยที่สารสกัดในชั้นเมทานอลจะให้ผลการยับยั้งเชื้อราได้ดีที่สุด

4.4 สารสกัดในตัวทำละลายอินทรีย์มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราชนิด *Phytophthora parasitica* ที่เป็นสาเหตุของโรคพืช เช่นในยางพารา ส้มและทุเรียน ได้ซึ่งสารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์มจะให้ผลการยับยั้งที่ดีที่สุด

5.2 วิจารณ์ผลการวิจัย

1.ในการเตรียมคอลัมน์จะต้องใช้เวลาและความชำนาญสูง เพื่อให้ประสิทธิภาพในการแยกสารดีที่สุด และขณะทำการแยกควรใช้เวลาสั้นที่สุด เพื่อป้องกันไม่ให้สารติดในซิลิกานานเกินไปเพราะจะทำให้สารเกิดการสลายตัวได้

2.ในการทดสอบกับวัชพืชจะต้องทำการวัดเปอร์เซนต์การงอกของเมล็ดทุกวัน และวันสุดท้ายต้องทำการวัดความยาวรากและลำต้น โดยต้องวัดผลให้เสร็จภายในวันเดียวกัน เพื่อป้องกันความผิดพลาดที่อาจจะเกิดขึ้นได้

3.ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคในพืชนั้น อุปกรณ์และเครื่องมือทุกชนิดจะต้องผ่านการฆ่าเชื้อ (Aseptic) ก่อน เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลชีพชนิดอื่นและเชื้อราที่ทดสอบแล้วจะต้องนำไปฆ่าด้วยหม้อนึ่งความดัน (Autoclave)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3 ข้อเสนอแนะ

1.ควรทำการศึกษาต่อโดยการแยกสารให้บริสุทธิ์แล้วนำมาทดสอบกับวัชพืชและเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคพืชนั้น

2.ในการแยกสารควรใช้ HPLC เข้ามาช่วยเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพในการแยกที่ดีขึ้นและทำได้ในปริมาณที่มาก

3.ควรศึกษาถึงวิธีการแยกน้ำมันหอมระเหยกับสารสกัดในชั้นเฮกเซน เนื่องจากมีกลิ่นหอม และนำไปวิเคราะห์หาโครงสร้างด้วยเทคนิคสมัยใหม่ เช่น GC-MS

4.ควรศึกษาถึงแนวทางในการสังเคราะห์สารบริสุทธิ์ที่แยกได้ เพื่อใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆทั้งด้านการเกษตรและเภสัชวิทยา

5.ควรทำการศึกษากับเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคพืชชนิดอื่นๆ โดยทำการศึกษาละเอียดมากกว่านี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1. กฤษณ์ ศรีวะรมย์ , ***การศึกษาส่วนประกอบทางเคมีในผลและเมล็ดของกำจัดต้น*** , โครงงานพิเศษ ภาควิชาเคมี สาขาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง , ปีการศึกษา 2543.
2. รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ , ***พืชเครื่องเทศและสมุนไพร*** , พิมพ์ครั้งที่ 1 , หน้า 1- 23 สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ , กรุงเทพ , 2540.
3. รศ.ดร.นันทวัน บุญยประภัศร , อรนุช โชคชัยเจริญพร , ***สมุนไพรพื้นบ้าน เล่ม 1*** , กรุงเทพ, 2539.
4. รศ.ดร.ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิตย์ , ***เอกลักษณ์สมุนไพร*** , ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล , 2538.
5. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย , ***ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่ม 1*** , คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
6. รศ.ดร.อ้อมบุญ ล้วนรัตน์ , ***การสกัดและตรวจสอบสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ*** ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล , 2536.
7. รศ.ดร.พรชัย เหลืองอาภาพงศ์ , ***สารกำจัดวัชพืช*** , ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ , 2531.
8. บุญรอด ชาติยานนท์ , ***ผลของสารสกัดจากใบประยงค์ต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชบางชนิด*** , วิทยานิพนธ์ สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง , ปีการศึกษา 2544.
9. สมุนไพรวัดป่าศรีถาวร , ***เฉลิมพระเกียรติ ๕๐ ปี ครองราชย์*** , ๙ มิถุนายน ๒๕๓๙.
10. S. Aim-On, R. Nijsiri, L. Gorden, Lange and Michael, G.Organ; " Constituents of The Stem Bark of Zanthoxylum Limonella"; ***J.Sci.Soc.Thailand***, 18 (1992) 181-185.
11. H. Banerjee, S. Pal, N. Adityachaudhury; " Occurrence of rutaecarpine in Zanthoxlum budrunga"; ***Planta Med***, 1989;55(4):403.
12. R.K. Thappa, K.L. Dhar, C.K. Atal; " A new monoterpine triol from Zanthoxylum budrunga"; ***Phytochemistry***, 1976;15:1568-9.
13. P. Mallikarjuna, V.U.M. Rao, T. Satyanarayana; " Antimicrobial activity of Zanthoxylum limonell stem";***Indian Drugs*** , 1999, 36/7 (476-478).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้