สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของดาวเรือง

Study on Biological Activities of *Tagetes erecta* Linn.

T117289

นายรัฐตะวัน พูลรมย์
นางสาวสาวิกา หมานมา
นางสาวสุภาวิณี สุขโสม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตราหมู่.....
เลขทะเบียน 117289
วัน,เดือน,ปี 20 ก.ค. 2554

b 12331229
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2553

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Study on Biological Activities of *Tagetes erecta* Linn.

Mr. RATTAWAN POONROM

Ms. SAWIKA MANMA

Ms. SUPAVINEE SUKSOM

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIRMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

IN INDUSTRAIL CHEMISTRY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของดาวเรือง

Study on Biological Activities of *Tagetes erecta* Linn.

ชื่อนักศึกษา นายรัฐตะวัน พูลรมย์

นางสาวสาวิกา หมานมา

นางสาวสุภาวิณี สุขโสม

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา เคมีอุตสาหกรรม

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2553

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ดร.อำนาจ เพิ่มทรัพย์สกุล	
ดร.มนตรี ทองคำ	
ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของดาวเรือง
ชื่อนักศึกษา	นายรัฐตะวัน พูลรมย์
	นางสาวสาวิกา หมานมา
	นางสาวสุภาวิณี สุขโสม
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา	2553
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของดาวเรือง โดยศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ การต้านเชื้อจุลินทรีย์ และอัลลีโลพาทีของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากส่วนของดอก ใบ และเมล็ด สารสกัดจากดอกแสดงผลการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด มีค่า EC_{50} เท่ากับ 9.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงสุดเท่ากับ 39.86 mg GAE/g dw สารสกัดจากใบและเมล็ดแสดงผลการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก (7 ชนิด) แบคทีเรียแกรมลบ (4 ชนิด) และเชื้อรา (4 ชนิด) และสารสกัดจากใบยังแสดงฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน นอกจากนี้ สารสกัดชั้นเมทานอลจากใบถูกนำมาสกัดแบบแบ่งส่วนได้สารสกัดชั้นที่มีฤทธิ์กลาง (NE) และ สารสกัดชั้นที่มีฤทธิ์เป็นกรด (AE) แล้วนำสารสกัดทั้ง 2 ส่วน ไปทดสอบฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลที่ระดับความเข้มข้น 500 1000 2000 และ 4000 ppm โดยใช้น้ำกลั่นเป็นกรรมวิธีควบคุม จากการทดลองพบว่า สารสกัดชั้น AE สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีนได้ดีที่สุด เมื่อนำสารสกัดชั้น NE มาแยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีสามารถแยกได้ 9 ส่วนย่อย ในขณะที่สารสกัดชั้น AE สามารถแยกได้ 7 ส่วนย่อย ซึ่งนำแต่ละส่วนย่อยไปทดสอบฤทธิ์ทางอัลลีโลพาที ที่ระดับความเข้มข้น 250, 500, 1000, และ 2000 ppm พบว่าสารส่วนย่อยที่ 5 และ 6 จากสารสกัดชั้น NE สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีนได้ที่สุด และสารส่วนย่อยที่ 2 จากสารสกัดชั้น AE สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของผักโขมจีนได้ดีที่สุด

คำสำคัญ : ดาวเรือง การต้านอนุมูลอิสระ การต้านเชื้อจุลินทรีย์ อัลลีโลพาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Study on Biological Activities of *Tagetes erecta* Linn.
Students	Mr. Rattawan Poonrom
	Ms. Sawika Manma
	Ms. Supavinee Suksom
Degree	Bachelor of Science
Major Program	Industrail Chemistry
Academic Year	2010
Advisor	Assf. Prof. Dr. Patchanee Charoenying

ABSTRACT

The objective of this study was to assess the biological activity of *Tagetes erecta* L.. Crude methanol extracts from the flower, leaf, and seed of *T. erecta* were investigated for their antioxidant, antimicrobial and allelopathic activities. The extract form flower showed the strongest antioxidant activity with EC_{50} value of 9.5 $\mu g\ mL^{-1}$ and the highest total phenolic value of 39.86 mg GAE/g dw. The extract from leaf and seed exhibited antimicrobial against Gram-positive bacteria (7 species) Gram-negative bacteria (4 species) and fungal (4 species) using disc diffusion method. The extract from leaf also displayed allelopathic activity against *Amaranthus tricolor*. Furthermore, the crude methanol extract from the leaf using solvent partitioning technique was studied. The allelopathic activty was tested against *A. tricolor* on seed germination and seedling growth. Crude methanol extract was separated to 2 fractions of neutral compound fraction (NE) and acidic compound fraction (AE). Bioassays of these 2 fractions were compared with crude methanol fraction at the concentrations of 500, 1000, 2000 and 4000 ppm. The distilled water was as control. The results showed that AE fraction was the highest inhibitory effect on seed germination and seedling growth of *A. tricolor* seed. In addition, the NE fraction was separated by chromatographic technique into 9 fractions while the AE fraction was separated into 7 fractions. Each fraction was tested at concentrations of 250, 500, 1000, and 2000 ppm. The distilled water was also as control. The results showed that fraction F5 and F6 from the NE fraction had the highest inhibitory effect to *A. tricolor*. Fraction F2, which was separated from the AE fraction, exhibited the greatest allelopathic activity among the fractions.

Keywords : *Tagetes erecta* L.. antioxidant antimicrobial allelopathic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ความสำเร็จที่เกิดขึ้นในโครงงานพิเศษในครั้งนี้ เนื่องจากการได้รับความกรุณา ความเมตตา การเอาใจใส่ ตลอดระยะเวลาของการทำโครงงานพิเศษ ของอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง ที่คอยให้ความรู้ ให้คำแนะนำ คอยอบรมสั่งสอน และอยู่เคียงข้างพวกเรามาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณท่านคณะกรรมการ ดร.อำนาจ เพิ่มทรัพย์สกุล และ ดร.มนตรี ทองคำ ที่สละเวลามาเป็นคณะกรรมการในการสอบ และยังคอยให้การสนับสนุน เสนอแนะ และช่วยแก้ไขข้อผิดพลาด ทำให้โครงงานนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ พี่ปราณี บุญวัฒน์ ที่ให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวกเสมอมา

และท้ายสุดขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ เพื่อนๆ และผู้ให้การสนับสนุนทุกท่าน ที่คอยเป็นกำลังใจให้ จนทำให้โครงงานพิเศษชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

นายรัฐตะวัน พูลรมย์
นางสาวสาวิกา หมานมา
นางสาวสุภาวิณี สุขโสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญรูป	VII
คำย่อและสัญลักษณ์	IV
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ความสำคัญของสมุนไพร	3
2.2 สารสำคัญในสมุนไพร	4
2.3 การสกัดสารจากพืช	5
2.4 การแยกสารโดยเทคนิคโครมาโทรกราฟี	13
2.5 สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	16
2.6 สารที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์	17
2.7 อัลลีโลพาที	18
2.8 ดาวเรือง	22
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	26
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	29
3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	29
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	29
3.3 แหล่งของพืชที่ใช้ในการทดลอง	30
3.4 สภาวะที่ใช้ในการทดลอง	30
3.5 การเตรียมสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 การสกัดชั้นสกัดหยาบเมทานอลด้วยวิธี Solvent Partitioning Extraction 31
3.7 การจัดกลุ่มสารของสารสกัดหยาบโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี 32
3.8 วิธีการเตรียมคอลัมน์และแยกสารโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี 34
3.9 การแยกส่วนย่อยจากชั้นสารสกัดหยาบโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี 34
3.10 การหาปริมาณของสารประกอบฟีนอล 35
3.11 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 35
3.12 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ 36
3.13 การทดสอบฤทธิ์ทางอัลลีโลพาที 37
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล 39
4.1 สารสกัดหยาบจากดาวเรือง 39
4.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 39
4.3 การต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ 41
4.4 การศึกษาฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีของสารสกัดจากดาวเรือง 43
4.5 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรสโกปี 53
บทที่ 5 สรุปผลวิจัย 70
5.1 สารสกัดหยาบจากดาวเรือง 70
5.2 การต่อต้านอนุมูลอิสระ 70
5.3 การต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ 71
5.4 อัลลีโลพาที 71
เอกสารอ้างอิง 72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดาวเรือง 40

ตารางที่ 4.2 แสดงประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบกับDPPH 40

ตารางที่ 4.3 แสดงการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้สารสกัดชั้นเมทานอล จากดาวเรือง 41

ตารางที่ 4.4 น้ำหนักของสารสกัดส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดหยาบชั้น NE 47

ตารางที่ 4.5 น้ำหนักของสารสกัดส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดหยาบชั้น AE 50

ตารางที่ 4.6 แสดงไอออนส่วนย่อยของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากดอกดาวเรือง 56

ตารางที่ 4.7 แสดงไอออนส่วนย่อยของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากเมล็ดดาวเรือง 59

ตารางที่ 4.8 แสดงไอออนส่วนย่อยของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากใบดาวเรือง 62

ตารางที่ 4.9 แสดงไอออนส่วนย่อยของสารสกัดหยาบชั้น NE จากใบดาวเรือง 66

ตารางที่ 4.10 แสดงไอออนส่วนย่อยของสารสกัดหยาบชั้น AE จากใบดาวเรือง 69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.8 ดาวเรือง 22

รูปที่ 4.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวต้นผักโขมจีนกับความเข้มข้นของ
สารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดาวเรือง 43

รูปที่ 4.2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวรากผักโขมจีนกับความเข้มข้นของ
สารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดาวเรือง 44

รูปที่ 4.3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขม กับความเข้มข้น
ของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดาวเรือง 44

รูปที่ 4.4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวต้นผักโขมจีนกับความเข้มข้น
ของสารสกัดชั้น NE และ AE ของใบดาวเรือง 45

รูปที่ 4.5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวรากผักโขมจีน กับความเข้มข้น
ของสารสกัดชั้น NE และAE ของใบดาวเรือง 45

รูปที่ 4.6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีน กับความเข้มข้น
ของสารสกัดชั้น AE และ NE 46

รูปที่ 4.7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวความยาวต้นผักโขมจีน กับความเข้มข้น
ของส่วนย่อย ชั้นNE (F1-F9) 47

รูปที่ 4.8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวความยาวรากผักโขมจีน
กับความเข้มข้นของส่วนย่อยชั้น NE (F1-F9) 48

รูปที่ 4.9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีน
กับส่วนย่อยชั้น NE (F1-F9) ที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm 48

รูปที่ 4.10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีน
กับส่วนย่อยชั้น NE(F1- F9) ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm 49

รูปที่ 4.11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีน
กับส่วนย่อยชั้น NE (F1-F9) ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm 49

รูปที่ 4.12 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีน
กับส่วนย่อยชั้น NE (F1-F9) ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm 50

รูปที่ 4.13 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวต้นผักโขมจีน กับความเข้มข้น
ของส่วนย่อยชั้น AE (F1-F7) 51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.14 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวรากผักโขมจีน กับความเข้มข้น
ของส่วนย่อยชั้น AE (F1-F7) 51
รูปที่ 4.15 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีน
กับส่วนย่อยชั้น AE (F1-F7) ที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm 52
รูปที่ 4.16 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีน
กับส่วนย่อยชั้น AE (F1-F7) ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm 52
รูปที่ 4.17 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีน
กับส่วนย่อยชั้น AE (F1-F7) ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm 53
รูปที่ 4.18 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีน
กับส่วนย่อยชั้น AE (F1-F7) ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm 53
รูปที่ 4.19 โครงสร้างสารสำคัญจากชั้นสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากดอกดาวเรือง 55
รูปที่ 4.20 โครงสร้างสารสำคัญจากชั้นสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากเมล็ดดาวเรือง 58
รูปที่ 4.21 โครงสร้างสารสำคัญจากชั้นสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากใบดาวเรือง 61
รูปที่ 4.22 โครงสร้างสารสำคัญจากชั้นสารสกัดหยาบชั้น NE จากใบดาวเรือง 66
รูปที่ 4.23 โครงสร้างสารสำคัญจากชั้นสารสกัดหยาบชั้น AE จากใบดาวเรือง 68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อและสัญลักษณ์

cm	เซนติเมตร
RT	Retention time
m/z	มวลต่อประจุ
MW	น้ำหนักโมเลกุล
ppm	ส่วนในล้านส่วน (part per million)
$\mu g / cm^2$	ไมโครกรัมต่อตารางเซนติเมตร
g /kg	กรัมต่อกิโลกรัม
mg/ml	มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
mg GAE/g dw	มิลลิกรัมเทียบเท่ากรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง
EC_{50}	50% effective concentration
%	เปอร์เซ็นต์
α	แอลฟ่า
β	เบต้า
m	meta
p	para
BHT	2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol
DPPH	Diphenylpicrylhydrazyl
MIC	Minimum inhibitory concentration
NE	ชั้นสารที่มีฤทธิ์เป็นกลาง
AE	ชั้นสารที่มีฤทธิ์เป็นกรด
F	สารส่วนย่อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ

สมุนไพร ตามความหมายของพระราชบัญญัติยา หมายถึงยาที่ได้จากพืช สัตว์ และแร่ธาตุ ซึ่งยังมิได้ผสมหรือแปรสภาพ เช่น พืชที่ยังคงเป็นราก ลำต้น ใบ ดอก หรือผล มนุษย์ในสมัยโบราณได้เสาะแสวงหาพืชเพื่อนำมาใช้เป็นอาหาร เชื้อเพลิง เครื่องนุ่งห่ม ที่พักอาศัยและใช้เป็นยาป้องกันบำบัดรักษาโรค พืชจึงเป็นเครื่องสนองความต้องการในการดำรงชีวิต [1] ปัจจุบันประเทศไทยได้มีการค้นพบสารต่างๆ หลายชนิดจากสารสกัดทางธรรมชาติ ซึ่งสารสกัดทางธรรมชาติเหล่านั้นมีประโยชน์มากและมีการใช้กันอย่างกว้างขวางทั้งในและต่างประเทศ เพื่อการควบคุมคุณภาพให้ทัดเทียมยาจากสมุนไพรของต่างประเทศและยาแผนปัจจุบัน การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพรจึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญขั้นตอนหนึ่งของการควบคุมคุณภาพ โดยสารสำคัญที่แยกออกมาได้สามารถใช้เป็นสารมาตรฐาน จากความก้าวหน้าของเทคนิคการแยกสาร จึงได้มีผู้ทำการทดลองนำสารสกัดจากธรรมชาติต่างๆมาสกัด เพื่อหาประโยชน์จากสารธรรมชาติ ทำให้ผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นอย่างแพร่หลาย ไม่ว่าจะเป็นยาเวชสำอาง เครื่องสำอาง หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร อาทิเช่น ใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidation) ซึ่งปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นสาเหตุให้เกิดอนุมูลอิสระ (Free radical) ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมีส่วนเกี่ยวข้องที่ทำให้เกิดโรคต่างๆ ได้หลายชนิด เช่น โรคมะเร็ง เนื้องอก การเกิดริ้วรอยก่อนวัย เป็นต้น ตัวอย่างสารที่มีฤทธิ์ในการช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระเช่น วิตามินซี วิตามินอี เบตาแคโรทีน แคโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ เป็นต้น นอกจากเป็นสารต้านอนุมูลอิสระแล้วยังใช้เป็นสารต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งพืชสมุนไพรที่ใช้ต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ ฟ้าทะลายโจร บัวบก มังคุด ไพร เป็นต้น และที่สำคัญที่สุดคือมีการนำมาใช้ในด้านการเกษตรอย่างหลากหลาย ทั้งทำปุ๋ย ทำยาฆ่าแมลง ยากำจัดวัชพืช ซึ่งการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพร เป็นการลดการใช้สารเคมีที่อาจเป็นอันตรายแก่ผู้ใช้ได้ และยังเป็นการลดต้นทุนจากการนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชด้วย

ความสนใจในงานวิจัยนี้คือการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของดาวเรือง (*Tagetes erecta* Linn.) ต้นไม้พื้นบ้านซึ่งคนไทยคุ้นเคยกันดีโดยเฉพาะส่วนของดอกดาวเรือง จากความสวยและโดดเด่นของดอกดาวเรืองคนไทยจึงนิยมนำมาใช้ร้อยเป็นมาลัยถวายพระหรือเป็นมาลัยสวมคอเมื่อยุคการเลือกตั้งมาถึง เมื่อคำนึงถึงประโยชน์ในด้านลึกต่อมนุษยชาติ กลุ่มผู้วิจัยจึงให้ความสนใจศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของดาวเรืองซึ่งประกอบด้วยการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) การต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial) และผลทางอัลลีโลพาที (Allelopathy) โดยเลือกศึกษาส่วนต่างๆ ของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการใช้

ดาวเรืองได้แก่ ดอก ใบและ เมล็ด จากนั้นนำมาสกัดโดยประยุกต์ใช้เทคนิคพื้นฐานทางเคมีอินทรีย์ แยกสารสำคัญจากสารสกัดหยาบโดยใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี และนำไปสู่การศึกษาโครงสร้างของสารสำคัญโดยเทคนิคทางสเปกโทรสโกปีต่อไปในอนาคต

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ของดาวเรือง
2. เพื่อศึกษาหาฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial) ของดาวเรือง
3. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของดาวเรืองที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ (Allelopathy)

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. นำส่วนประกอบของดาวเรือง ได้แก่ ดอก ใบ และเมล็ด มาทำการสกัดโดยแช่ในน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมในที่นี้คือ เมทานอล
2. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบได้แก่ การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) การต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial) และฤทธิ์ทางอัลลีโลพาที (Allelopathy)
3. ทำการสกัดสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลด้วยวิธีการสกัดแบบแบ่งส่วน (Solvent Partitioning Extraction)
4. แยกสารส่วนย่อยจากสารสกัดหยาบโดยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี
5. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสารส่วนย่อย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบเทคนิคในการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรในธรรมชาติ
2. ทราบเทคนิคการแยกสารโดยเทคนิคโครมาโทรกราฟี
3. ทราบถึงการสะสมของสารชีวภาพในส่วนต่างๆ ของดาวเรือง

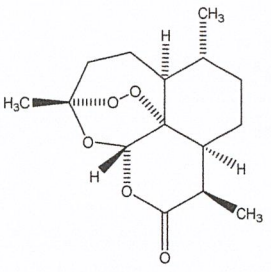
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความสำคัญของสมุนไพร [2]

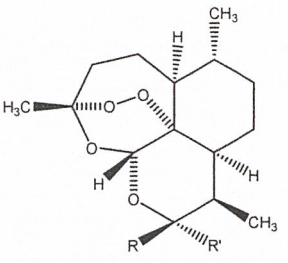
สมุนไพรเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีประวัติควบคู่มากับชีวิตความเป็นอยู่ของมวลมนุษยชาติมาช้านาน โดยใช้สมุนไพรในการบำบัดรักษาโรคมาแต่โบราณ ปัจจุบันทั่วโลกหันมาให้ความสำคัญกับพืชสมุนไพรเป็นอย่างมากทั้งด้านอุตสาหกรรมยา อาหาร และเครื่องสำอาง เมื่อมนุษย์เริ่มประจักษ์ถึงอันตรายจากฤทธิ์ข้างเคียงและความเป็นพิษของสิ่งสังเคราะห์หรือยาแผนปัจจุบันกันมากขึ้น ประกอบกับมีการค้นคว้ายาตัวใหม่จากพืชสมุนไพรต่างๆ เช่น อนุพันธุ์อาเทมิซินิน (Artemisinin derivative) ได้แก่ Artemether **1** และ Artesunate **2** เป็นสารพวกแล็กโทนจากต้นชิงเฮา (*Artemisia annua* L.) ใช้เป็นยาต้านมาลาเรียที่ออกฤทธิ์รวดเร็วและมีความเป็นพิษต่ำ หรือสารในกลุ่ม Pyrethrin **3** ที่สกัดได้จากดอกไพรีทรัม (*Pyrethrum cinerariifolium* Trev.) ใช้เป็นยาฆ่าแมลงทั้งประเภทเคี้ยวและดูด รวมทั้งแมลงรบกวนภายในบ้านเช่น มด ยุง แมลงวัน เป็นต้น Pyrethrinจะสลายตัวได้ง่าย ทำให้ไม่มีพิษเหมือนยาฆ่าแมลงแบบสังเคราะห์ หรือ Plaunotol **4** เป็นสารจำพวก Diterpene alcohol แยกได้จากใบเปล้าน้อย (*Croton sublylatus* Kurz.) ใช้รักษาแผลในกระเพาะอาหาร และลำไส้ และพบว่าโรคซึ่งเป็นสาเหตุการตายของมนุษย์ที่สำคัญ ได้แก่ โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ ซึ่งมีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระ (Free radical) ที่เกิดขึ้นในร่างกายเข้าไปทำลายสารชีวโมเลกุลที่สำคัญ เช่น ชั้นไขมันในเซลล์เมมเบรน โปรตีนในเนื้อเยื่อ เอนไซม์ รวมทั้งดีเอ็นเอเป็นผลให้เกิดความผิดปกติในร่างกาย สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) เช่น Phenol จะให้อนุมูลอิสระที่มีความเสถียร ซึ่งสามารถหยุดยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ เป็นที่ทราบกันดีว่าวิตามินบางชนิดเช่น วิตามินซี วิตามินอี และสารที่พบในพืชเช่น β-Carotene **52** และ Chlorophyll นั้นมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ส่วนสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นองค์ประกอบในพืชสมุนไพรนั้นพบว่ามักเป็นสารประกอบฟีโนลิก (Phenolic compound) โดยเฉพาะสารในกลุ่ม Flavonoids เช่น Rutin **76** และสารในกลุ่มของ Phenolic acids เช่น Caffeic acids **5** และ Gallic acids **6** เป็นต้น สารต้านอนุมูลอิสระสามารถสกัดแยกได้จากพืชหลายชนิด เช่น เมล็ดที่มีน้ำมัน ธัญพืช ผัก ผลไม้ และส่วนต่างๆของพืชสมุนไพร เช่น ใบ เปลือก และราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



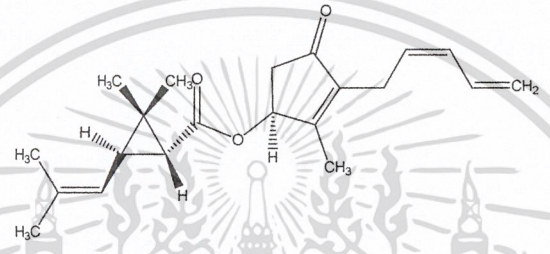
Artemether **1**

(R=H,R=OCH_3)

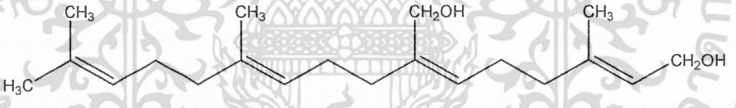


Artesunate **2**

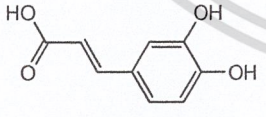
(R=H, R'=$OCO(CH_2)CO_2Na$)



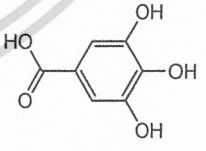
Pyrethrin **3**



Plaunotol **4**



Caffeic acid **5**



Gallic acid **6**

2.2 สารสำคัญในสมุนไพร [3]

พืชสมุนไพรแต่ละชนิด แต่ละส่วน เช่น ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล และ เมล็ด ประกอบด้วยสารสำคัญหรือตัวยาที่แตกต่างกันออกไป สารเหล่านี้จะเป็นตัวกำหนดสรรพคุณของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมุนไพร ชนิด และปริมาณของสารสำคัญจะขึ้นอยู่กับพันธุ์ของพืช สภาวะแวดล้อมที่ปลูก และช่วงเวลาที่เก็บเกี่ยวพืชสมุนไพร ตัวยาสำคัญในพืชสมุนไพรจำแนกได้เป็น 2 พวกใหญ่ คือ

1. สารปฐมภูมิ (primary Metabolite) เป็นสารที่มีอยู่ในพืชชั้นสูงทั่วไป พบในพืชเกือบทุกชนิด เป็นผลิตผลที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) เช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน เม็ดสี (pigments) และเกลืออนินทรีย์ (inorganic salts) เป็นต้น

2. สารทุติยภูมิ (secondary Metabolite) เป็นสารประกอบที่มีลักษณะค่อนข้างพิเศษ พบต่างกันในพืชแต่ละชนิด คาดว่าสารเหล่านี้เกิดมาจากขบวนการชีวสังเคราะห์(biosynthesis) ในพืช สารประเภทนี้ได้แก่ กลุ่มแอลคาลอยด์ กลุ่มกลัยโคไซด์ น้ำมันหอมระเหย เป็นต้น ส่วนใหญ่สารจำพวกทุติยภูมิจะมีสรรพคุณทางยาหรือออกฤทธิ์เป็นสารพิษที่เห็นได้ชัดเจน

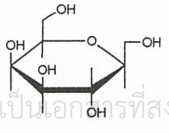
สารธรรมชาติจากพืชหลากหลายชนิด ทั้งพืชปลูก วัชพืช และพันธุ์ไม้ในป่าธรรมชาติได้ถูกนำมาทดสอบและพบว่ามีสมบัติในการเป็นสารป้องกันและกำจัดวัชพืช สารที่พบส่วนใหญ่ได้แก่

1. ไขมัน (Lipids) เป็น biomolecule ที่ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว มีโครงสร้างที่หลากหลายโดยส่วนมากจะมีโครงสร้างเป็นไฮโดรคาร์บอนขนาดใหญ่

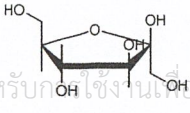
Omega-3 polyunsaturated Fatty acids **7**

Omega-6 polyunsaturated Fatty acids **8**

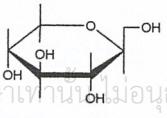
2. คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrates) น้ำตาลหรือคาร์โบไฮเดรตเป็นผลิตภัณฑ์หลักของการสังเคราะห์แสงของพืช เป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของพืช จะสะสมอยู่ในรูปของแข็งและเกิดการรวมตัวเป็นโครงสร้างขนาดใหญ่อยู่ในรูปเซลลูโลส (cellulose) ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ของพืช สุดท้ายแล้วจะรวมกันอยู่ในรูปกลัยโคไซด์ ซึ่งจะมีหลายชนิดตามหมู่ฟังก์ชันที่มาเกาะอยู่ เช่น แอลกอฮอลิค กลัยโคไซด์ จะมีหมู่ไฮดรอกซิล และฟีโนลิก กลัยโคไซด์ จะมีสารประกอบฟีโนลิก



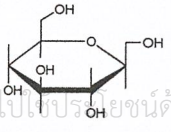
ß-D-Galactose **9**



ß-D-Fructose **10**



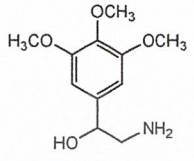
ß-D-Xylose **11**



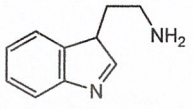
ß-D-Glucose **12**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

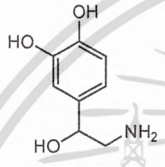
3. เอมีน กรดอะมิโน และ โปรตีน (Amines Amino Acids และ Proteins) เป็นสารประกอบที่มีไนโตรเจนอยู่ในสายโซ่ โดยเอมีนจะอยู่ในรูปของเบส ส่วนอะมิโนแอซิดจะเป็นไดโพลาร์ (dipolar) โดยสภาวะความเป็นกรด – เบสจะขึ้นกับสภาพแวดล้อม



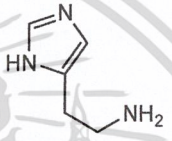
Mescaline **13**



Serotonin **14**

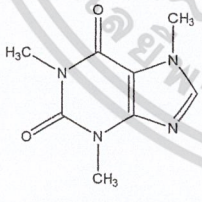


Noradrenaline **15**

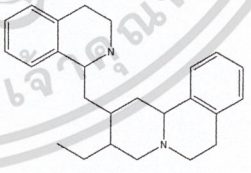


Histamine **16**

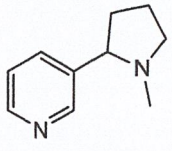
4. แอลคาลอยด์ (Alkaloids) เป็นสารประกอบที่มีไนโตรเจนอยู่ในโครงสร้าง โดยไนโตรเจนจะอยู่ในวง แอลคาลอยด์ได้มาจากกรดอะมิโน (amino acids) และเทอร์ปีน (terpene) แอลคาลอยด์มีสมบัติเป็นยา เช่น Quinine **24** Caffeine **17** Emetane **18** Nicotin **19** และ Morphine **20**



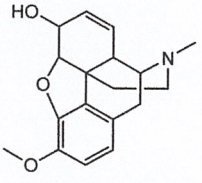
Caffeine **17**



Emetane **18**



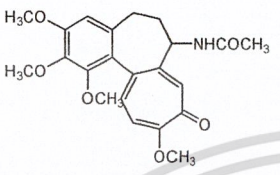
Nicotine **19**



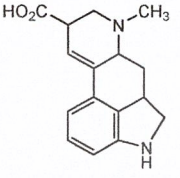
Morphine **20**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

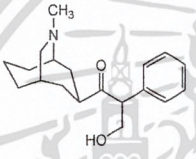
5. นิวคลีโอไซด์ นิวคลีโอไทด์ และกรดนิวคลีอิก (Nucleosides Nucleotides และ Nucleic acids) เป็นสารที่ทำหน้าที่รับและส่งข้อมูลของระบบพันธุกรรมของเซลล์ เนื้อเยื่อ และอวัยวะต่างๆ ซึ่งก็คือ DNA และ RNA ซึ่งจะเป็นสารโมเลกุลใหญ่ที่เกิดจากการรวมตัวของสารโมเลกุลเล็กๆ ที่แตกต่างกัน เช่น Adenine Thymine Uracil Cytosine และ Guanine



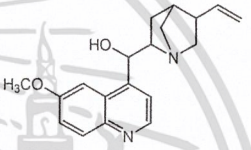
Colchicine **21**



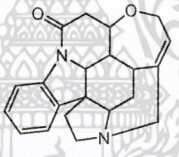
Lysergic Acid **22**



Atropine **23**



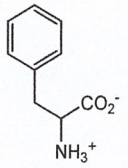
Quinine **24**



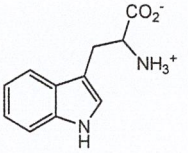
Strychnine **25**

6. อะโรมาติก (Aromatics) จะแบ่งออกได้สองชนิดดังนี้

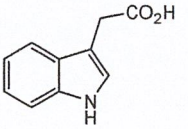
6.1 Non-Phenolic Aromatics เป็นสารประกอบอะโรมาติกที่ไม่มีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ในโครงสร้าง แต่จะมีหมู่ฟังก์ชันอื่น เช่น หมู่เอมีน และหมู่คาร์บอกซิลอยู่ในโครงสร้าง



Phenylalanine **26**



Trytophan **27**

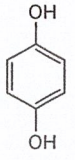


(Indole-3-acetic) acid **28**

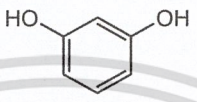
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.2 Phenols เป็นสารประกอบอะโรมาติกที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ในโครงสร้าง ซึ่งเป็นสารส่วนใหญ่ที่พบในพืชสมุนไพร สามารถแบ่งออกได้อีกดังนี้

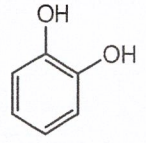
6.2.1 Simple Phenols เป็นสารมอนอเมอร์ของสารประกอบพอลิเมอริก พอลิฟีนอล (Polymeric polyphenols) และกรดซึ่งสร้างจากเนื้อเยื่อของพืช ประกอบด้วย Lignin Melanin Flavolan และ Tannins โดยทั่วไปแล้วจะไม่ค่อยพบฟีนอลอิสระในพืช



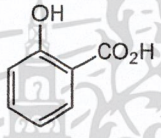
Hydroquinone **29**



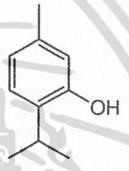
Resorcinol **30**



Catechol **31**

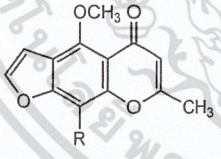


Salicylic Acid **32**



Thymol **33**

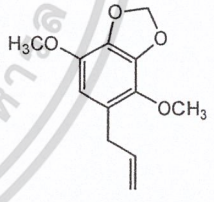
6.2.2 Phenol Ethers ส่วนใหญ่แล้วจะอยู่ในรูปเมทิลอีเธอร์ (-OCH_3)



Khelin: R=OCH_3 **34**

Visnagin: R=H

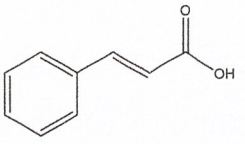
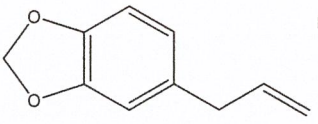
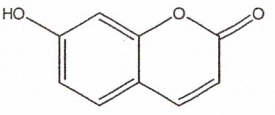
trans-Anethole **35**



Apiol **36**

6.2.3 Phenylpropanoid เป็นสารประกอบที่มีสายโซ่คาร์บอนที่ประกอบด้วยคาร์บอน 3 อะตอมต่ออยู่กับโมเลกุลของสารประกอบฟีนิล เช่น Cinnamic acid **37** Safrole **38** และ Umbelliferone **39**

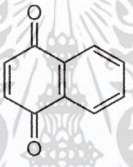
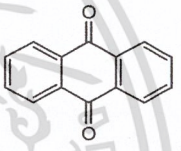
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cinnamic acid **37** Safrole **38** Umbelliferone **39**

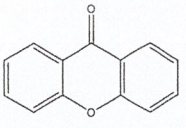
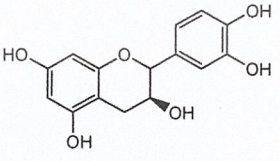
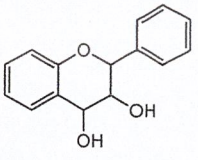
6.2.4 Tannins จะพบในพืชที่มีท่อประกอบไปด้วยสารประกอบฟีโนลิกหลายชนิด เกิดปฏิกิริยากับโปรตีนได้เป็นพอลิเมอร์ร่วม (copolymer) ที่ไม่ละลายน้ำ แทนนินจะมีรสขม

6.2.5 Quinones เป็นสารที่มีสีเข้ม สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ที่พบทั่วไป ได้แก่ Benzoquinone **40** Naphthoquinone **41** และ Anthroquinone **42**

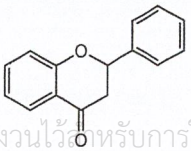
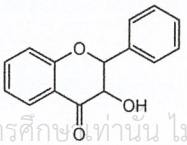
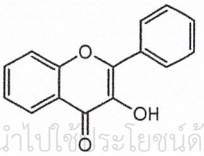



Benzoquinone **40** Naphthoquinone **41** Anthroquinone **42**

6.2.6 Flavanoids โครงสร้างประกอบด้วยวงเบนซีน (benzene) 2 วง โดยจะมีสายโซ่คาร์บอน 3 อะตอมเชื่อมต่อวงเบนซีนทั้งสอง เป็นสารประกอบที่ละลายน้ำได้ มีสีสด เป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป เช่น Xanthones **43** Catechines **44** Luecoanthocyanidins **45** Flavanones **46** Flavanonols **47** Flavonols **48** Chalcones **49** Aurones**50** และ Isoflavones **51** โดยทั่วไป Flavanones **46** และ Flavanonols **47** จะพบอยู่ในรูปกลัยโคไซด์ ส่วน Flavones **75** และ Flavonols **48** จะพบในรูปฟีโนลิก

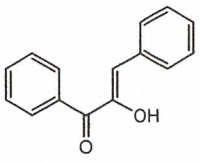




Xanthones **43** Catechins **44** Leucoanthocyanidins **45**

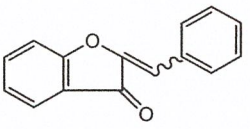




Flavanones **46** Flavanonols **47** Flavonols **48**

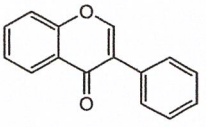
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Chalcones **49**



Aurones **50**



Isoflavones **51**

2.3 การสกัดสารจากพืช [2]

การสกัด (Extraction) หมายถึงการแยกสิ่งที่ต้องการออกจากสิ่งที่ไม่ต้องการ การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรคือการแยกองค์ประกอบทางเคมีออกจากกากสมุนไพร หรือจากองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ ที่ไม่ต้องการ สารสกัดพืชสมุนไพร (Herbal extracts) เป็นวัตถุดิบสำคัญที่ใช้สำหรับเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายรูปแบบ เพื่อลดปัญหาของการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์สามารถปรับแต่งองค์ประกอบทางเคมีได้ และเนื่องจากกากสมุนไพรจะถูกแยกออกในระหว่างการเตรียมสารสกัด ปริมาณของสารสกัดจึงมีขนาดที่ลดลงกว่าการใช้สมุนไพรทั้งหมด ส่งผลให้ผู้บริโภคให้ความร่วมมือในการใช้ผลิตภัณฑ์มากขึ้น

การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปการสกัดเบื้องต้นไม่ว่าจะสกัดด้วยวิธีการใดหรือใช้ตัวทำละลายใด จะได้องค์ประกอบเป็นของผสมหรือของสกัดอย่างหยาบ (Crude extract) ซึ่งเป็นสิ่งที่สกัดออกมาจากสมุนไพรโดยน้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย (Solvent) สารสกัดอย่างหยาบนี้เป็นของผสมขององค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรซึ่งจะมีทั้งองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ซึ่งมักเรียกว่า สารสำคัญ (Active constituent) และองค์ประกอบที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ซึ่งเรียกว่า สารเฉื่อย (Inert substances) ชนิดและสัดส่วนขององค์ประกอบในสารสกัดจะแปรเปลี่ยนไปตามสภาพของสมุนไพรที่ใช้และสภาวะที่ใช้ในการสกัด วัตถุประสงค์ของการสกัดพืชสมุนไพร คือ

- เพื่อสกัดแยกเอาสาระสำคัญออกจากสมุนไพร
- เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นของสารสำคัญสูง
- เพื่อลดขนาด (dose) ของการใช้สมุนไพรให้อยู่ในปริมาณที่เหมาะสม

2.3.1 น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย

ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการเตรียมการสกัด ได้แก่ น้ำ (water) แอลกอฮอล์ (alcohol) หรือสารละลายผสมของสารละลายทั้ง 2 ชนิดนี้ นอกจากนี้อาจใช้กรด ด่าง เติมลงในน้ำยาสกัดเพื่อปรับความเป็นกรด-ด่างของน้ำยาสกัดให้เหมาะสมยิ่งขึ้น

1. น้ำ (water) จัดเป็นตัวทำละลายที่ดี หาง่ายและราคาถูก แต่การใช้น้ำอย่างเดียวเป็นตัวทำละลายในการสกัดพืชสมุนไพรมีข้อเสียหลายประการ คือ สามารถละลายองค์ประกอบที่ไม่ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกมาได้มาก เช่นเดียวกับสารสำคัญที่ต้องการ สารเฉื่อยที่ละลายออกมากับน้ำ เช่น น้ำตาล แป้ง ล้วนเป็นอาหารที่ดีของเชื้อจุลินทรีย์ จึงทำให้เกิดการบูดเสียของสารสกัดเนื่องจากจุลินทรีย์ได้ นอกจากนี้น้ำระเหยได้ที่อุณหภูมิสูง ถ้าต้องการทำให้สารสกัดในน้ำเข้มข้นจะต้องใช้อุณหภูมิสูงในการระเหยไล่น้ำออกไป ซึ่งอาจจะเกิดความเสียหายกับสารสำคัญได้ ดังนั้นจึงไม่ค่อยนิยมใช้น้ำเดี่ยวๆเป็นน้ำยาสกัด แต่ใช้ร่วมกับตัวทำละลายอื่นๆ เช่น แอลกอฮอล์หรือกรด

2. แอลกอฮอล์ (alcohol) จัดเป็นตัวทำละลายที่ดีมากเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำ แอลกอฮอล์มีข้อดีกว่าดังนี้

- มีความจำเพาะ (selectivity) ในการละลายมากกว่าน้ำ
- มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
- หากต้องการทำให้สารสกัดเข้มข้นจะระเหยได้ง่าย

3. น้ำยาผสมแอลกอฮอล์ (hydroalcoholic mixture) เป็นน้ำยาสกัดที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากสามารถละลายสาระสำคัญในพืชสมุนไพรได้ใกล้เคียงกับแอลกอฮอล์แต่ราคาถูกกว่า และยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้อีกด้วย นอกจากนี้การใช้น้ำยาผสมแอลกอฮอล์ยังช่วยป้องกันการแยกตัวของสารต่างๆในการสกัดเมื่อตั้งทิ้งไว้ซึ่งมักเกิดขึ้นในกรณีที่ใช้น้ำอย่างเดียวในการสกัด

หลักการเบื้องต้นของการสกัดคือ Solid-liquid extraction มีทฤษฎีพื้นฐานคือการละลาย คุณสมบัติเบื้องต้นของการละลายคือความมีขั้ว (Polarity) ตัวถูกละลาย (Solute) จะละลายได้ดีที่สุดในตัวทำละลาย ตามหลักการที่เรียกว่า **Like Dissolve Like** และนอกจากตัวถูกละลายที่มีขั้วใกล้เคียงกันแล้ว ตัวทำละลายยังสามารถละลายตัวถูกละลายที่มีขั้วต่ำกว่าได้ด้วย ยกเว้นน้ำซึ่งจะละลายได้เฉพาะตัวถูกละลายที่มีขั้วสูงเท่านั้น

ในกระบวนการเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรมีองค์ประกอบต่างๆที่เกี่ยวข้องคือ สารเคมีที่ต้องการสกัดซึ่งบรรจุอยู่ภายในชิ้นส่วนของสมุนไพร ตัวทำละลาย และวิธีการสกัด ดังนั้นสามารถจำแนกปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดตามองค์ประกอบเหล่านี้ได้คือ

1. ปัจจัยจากสารเคมีที่ต้องการสกัด ได้แก่ ความมีขั้ว และความเป็นกรดด่าง

2. ปัจจัยจากตัวทำละลาย ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย ควรเลือกตัวทำละลายที่สามารถละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดีที่สุด แต่ละลายสารที่ไม่ต้องการน้อยที่สุด ปัจจัยอื่นๆจากตัวทำละลาย ได้แก่ ความเป็นกรดด่าง และปริมาณที่ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ปัจจัยจากชิ้นส่วนของสมุนไพร ได้แก่ ขนาดของชิ้นส่วน โดยทั่วไปชิ้นส่วนขนาดเล็กจะทำให้สกัดได้ดีกว่าชิ้นส่วนขนาดใหญ่ ใช้สมุนไพรสดหรือแห้ง หากเป็นสมุนไพรสด จะสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำไม่ได้

4. ปัจจัยจากวิธีสกัด เทคนิคการสกัดที่สำคัญได้แก่ การหมัก (Maceration) การตุ๋น (Digestion) การชะสกัด (Percolation) การสกัดแบบต่อเนื่อง (Soxhlet extraction) และการสกัดแบบไหลสวนทาง (Counter-current extraction) แต่ละเทคนิคจะมีปัจจัยต่างๆที่เกี่ยวข้องแตกต่างกันไป เช่น ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด อุณหภูมิที่ใช้ เป็นต้น สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมสารสกัดจะขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการเตรียมสารสกัด เช่น เพื่อการศึกษาวิจัย เพื่อการวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบสมุนไพร หรือเพื่อการนำสารสกัดไปใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์

ตามเภสัชตำรับของยุโรป (European Pharmacopoeia) สามารถแบ่งสารสกัดสมุนไพรตามรูปแบบทางกายภาพได้ดังนี้

1. Liquid extract หรือ Fluid extract คือการสกัดในรูปแบบของเหลวที่มีตัวทำละลายคือน้ำหรือเอทานอลในเปอร์เซ็นต์ที่เหมาะสม โดยมีสัดส่วนของปริมาตรตัวทำละลายต่อน้ำหนักสมุนไพรเท่ากับ 1:1

2. ทิงเจอร์ (Tincture) คือสารสกัดในรูปแบบของเหลวเช่นเดียวกับ liquid extract แต่สัดส่วนของปริมาตรตัวทำละลายต่อน้ำหนักสมุนไพร เท่ากับ 10 : 1 หรือ 20 : 1

3. Soft extract หรือ Semi-solid extract คือสารสกัดในรูปแบบกึ่งของแข็ง เตรียมจาก liquid extracts ที่ระเหยตัวทำละลายออกจนเข้มข้น มักมีน้ำมันหรือน้ำมันชันเป็นองค์ประกอบทางเคมี

4. Dry extract หรือ Powder extract คือสารสกัดในรูปแบบแห้ง มักมีลักษณะเป็นผงแห้ง มีความชื้นต่ำกว่า 5% อาจผสม excipients เช่น maltodextrose silicon dioxide เพื่อช่วยในการสกัดที่เป็นผงแห้ง

สารสกัดที่เตรียมได้และไม่มีการปรับแต่งองค์ประกอบทางเคมีจะเรียกว่า สารสกัดหยาบ (Crude extract) หากมีขั้นตอนการทำให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้นด้วยเทคนิคต่าง ๆ เช่นขั้นตอนการเพิ่มความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ การกำจัดสารที่เป็นพิษหรือกำจัดสารที่มีปัญหาในการเตรียมตำรับยา เรียกสารสกัดนี้ว่า สารสกัดบริสุทธิ์ (Refined extract หรือ Purified extract) สารสกัดจากพืชสมุนไพรชนิดเดียวกัน แต่หากมีความแตกต่างกันของพืชวัตถุดิบ หรือกระบวนการเตรียมสารสกัด จะมีผลต่อคุณสมบัติของสารสกัดนั้น เช่นมีองค์ประกอบทางเคมีต่างกันซึ่งจะส่งผลถึงการแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพ ความคงตัว เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 การทำให้สารสกัดเข้มข้น (Concentration)

สารสกัดอย่างหยาบที่ได้จะมีปริมาณมากและเจือจาง ทำให้นำไปแยกองค์ประกอบได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นด้วยวิธีต่างๆกันดังนี้

1 การระเหย (Free evaporation) เป็นการนำตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัด โดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (water bath) หรือแผ่นความร้อน (hot plate) วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้เนื่องจากอุณภูมิสูงเกินไป และหากใช้สารละลายอินทรีย์ (organic solvent) ในการสกัด การระเหยโดยให้ความร้อนโดยตรงบนแผ่นความร้อน อาจเกิดอันตรายได้ง่าย นอกจากนี้ควรคำนึงถึงอุณหภูมิที่จะทำให้เกิดการสลายตัวของสาระสำคัญ เมื่อใช้ความร้อน

2 การกลั่นในภาวะสุญญากาศ (Distillation in *vacuo*) จัดเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดโดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ พร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า โรตารีอีวาโพเรเตอร์ (Rotary evaporator)

3 การทำให้แห้ง (Drying) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดจนแห้งได้สารสกัดออกมาในสภาพของแข็ง มีหลายวิธีเช่น การใช้ความเย็น (lyophilizer หรือ freeze dryer) หรือการใช้ความร้อน (spray dryer) ฯลฯ

4 อัลตราฟิลเทรชั่น (Ultrafiltration) เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (membrane) ใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 5,000

2.4 การแยกสารโดยเทคนิคโครมาโทรกราฟี

โครมาโทกราฟี (chromatography) เป็นการแยกสารผสม ซึ่งวิธีการนี้จะมีเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (stationary phase) กับ เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) โดยที่สารในเฟสอยู่กับที่จะทำหน้าที่ดูดซับ (adsorb) สารผสมด้วยแรงไฟฟ้าสถิตย์ สารที่ใช้ทำเฟสอยู่กับที่จึงมีลักษณะเป็นผงละเอียดมีพื้นที่ผิวมากเช่นอลูมินา (alumina, Al_2O_3) ซิลิกาเจล(silica gel, SiO_2) หรืออาจจะใช้วัสดุที่สามารถดูดซับได้ดี เช่น ชอล์ก กระดาษ ซึ่งสารที่ทำหน้าที่ดูดซับในเฟสอยู่กับที่ เช่น น้ำ ส่วนเฟสเคลื่อนที่จะทำหน้าที่ชะ (elute) เอาสารผสมออกจากเฟสอยู่กับที่ให้เคลื่อนที่ไปด้วย การจะเคลื่อนที่ได้มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับแรงดึงดูดระหว่างสารในสารผสมกับตัวดูดซับในเฟสอยู่กับที่ ดังนั้นสารที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่จึงได้แก่ พวกตัวทำละลาย เช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เบนซีน ฯลฯ การทำโครมาโทกราฟีสามารถทำได้หลายวิธีจะแตกต่างกันที่เฟสอยู่กับที่ว่า อยู่ในลักษณะใด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1 การแบ่งชนิดของโครมาโทกราฟี

1. Adsorption Chromatography (Liquid-Solid Chormatography, LSC) มี adsorbent เป็นของแข็งมีรูพรุนบรรจุอยู่ในคอลัมน์หรือเคลือบอยู่บนเพลต ส่วนเฟสเคลื่อนที่เป็นของเหลว มีหลักการแยกคือ มีการดูดซับบริเวณระหว่างของแข็งและของเหลว ความแรงของการดูดซับขึ้นกับความแตกต่างของสภาพขั้วและตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชัน โดยสารที่มีขั้วสูงจะถูกหน่วงเหนี่ยวอยู่บนเฟสอยู่กับที่นานคือ ถูกชะล้างออกมาช้ากว่าสารที่มีขั้วต่ำ ทำให้มีการแยกเกิดขึ้น และสามารถคาดคะเน retention time ซึ่งคือ ระยะเวลาที่เฟสเคลื่อนที่พาสารตัวอย่างให้เคลื่อนผ่านเฟสอยู่กับที่ โดยดูจากความแรงของความมีขั้วของหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุลของสาร ดังนั้นวิธีนี้จึงเหมาะสมสำหรับการแยกสารประกอบที่มีขั้ว

2. Partition Chromatography (Liquid-Liquid Chromatography, LLC) มีเฟสอยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่เป็นของเหลว โดยเฟสอยู่กับที่จะกระจายเป็นฟิล์มบางๆบนผิวของตัวพยุงที่เฉื่อยต่อปฏิกิริยาเคมี (Inter support) เป็นอนุภาคของแข็งที่มีรูพรุนหรือไม่มีรูพรุนก็ได้ เฟสทั้งสองเป็นของเหลวที่มีสภาพขั้วแตกต่างกันมาก มีหลักการแยกคือ โมเลกุลของสารตัวอย่างจะกระจายตัวของมันเอง ระหว่างเฟสทั้งสองที่ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ถ้าเป็นนอร์มอลเฟสโครมาโทกราฟี เฟสอยู่กับที่จะมีขั้ว ต้องเลือกเฟสเคลื่อนที่ไม่มีขั้ว สารตัวอย่างที่ต้องการแยกหากมีขั้วจะถูกยึดกับเฟสอยู่กับที่ ถ้าเป็นรีเวอร์สเฟสโครมาโทกราฟีเฟสอยู่กับที่ไม่มีขั้วเฟสเคลื่อนที่จะต้องมีขั้ว สารประกอบในสารละลายตัวอย่างที่ต้องการแยกหากมีขั้วจะชอบเฟสเคลื่อนที่มันจึงถูกชะออกมาอย่างรวดเร็ว ข้อดีของพาร์ทิชันโครมาโทกราฟี คือ สามารถแยกแบนของสารที่คล้ายกันออกจากกันได้

3. Ion-Exchange Chromatography (IEC) เป็นการแยกสารโดยอาศัยความแรงของประจุของสารตัวอย่างที่จะจับกับกลุ่มไอออนที่อยู่บนพื้นผิวของเฟสอยู่กับที่ซึ่งมีประจุต่างกับสารตัวอย่าง สารใดจับกับกลุ่มไอออนได้ดีจะถูกชะล้างออกมาทีหลัง วิธีนี้ใช้แยกสารประกอบที่แตกตัวเป็นไอออนได้ เฟสอยู่กับที่เป็นเรซิน เฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ มี Counter ion ที่มีประจุตรงข้ามกับประจุไอออนของอนุภาค แต่ประจุเหมือนกับไอออนของสารตัวอย่าง ion-exchange chromatography แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ cation exchange chromatography และ anion exchange chromatography

4. Size Exclusion Chromatography (SEC) แยกสารโดยอาศัยความแตกต่างของขนาดโมเลกุลของสาร วัสดุบรรจุในคอลัมน์เป็นอนุภาคของพวกพอลิเมอร์ที่มีรูพรุนสม่ำเสมอ โมเลกุลของสารและเฟสเคลื่อนที่จะแพร่กระจายเข้าไปในรูพรุนนี้ได้ สารที่มีรูพรุนขนาดเล็กจะเข้าไปในรูพรุนได้ทั้งหมด ส่วนโมเลกุลขนาดใหญ่เข้าไปไม่ได้เลย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 ประเภทของโครมาโทกราฟี

โครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ (Column chromatography) ทำได้โดยการบรรจุสารที่เป็นเฟสอยู่กับที่ เช่น อลูมินาหรือซิลิกาเจลไว้ในคอลัมน์ แล้วเทสารผสมที่เป็นสารละลายของเหลวลงสู่คอลัมน์ สารผสมจะผ่านคอลัมน์ช้าๆ โดยตัวทำละลายซึ่งเป็นเฟสเคลื่อนที่เป็นผู้พาไป สารในเฟสอยู่กับที่จะดูดซับสารในสารผสมไว้ส่วนประกอบใดของสารผสมที่ถูกดูดซับได้ดีจะเคลื่อนที่ช้า ส่วนที่ถูกดูดซับไม่ดีจะเคลื่อนที่ได้เร็วทำให้สารผสมแยกจากกันได้

โครมาโทกราฟีแบบชั้นบาง (Thin layer chromatography) เป็นโครมาโทกราฟีแบบระนาบ (Plane chromatography) โดยทำเฟสอยู่กับที่ให้มีลักษณะเป็นครีมข้น แล้วเคลือบบนแผ่นกระจกให้ความหนาของการเคลือบเท่ากันตลอดแล้วนำไปอบให้แห้ง หยดสารละลายของสารผสมที่ต้องการแยกบนแผ่นที่เคลือบเฟสอยู่กับที่นี้ไว้ แล้วนำไปจุ่มในภาชนะที่บรรจุตัวทำละลายที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ไว้ โดยให้ระดับของตัวทำละลายต้องอยู่ต่ำกว่าระดับของจุดที่หยดสารผสมไว้ ตัวทำละลายจะซึมไปตามเฟสอยู่กับที่ด้วยการซึมตามรูเล็กเหมือนกับน้ำที่ซึมไปในกระดาษหรือผ้าเมื่อซึมถึงจุดที่หยดสารผสมไว้ ตัวทำละลายจะชะเอาองค์ประกอบในสารผสมนั้นไปด้วยอัตราเร็วที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพมีขั้ว (Polarity) ของสารที่เป็นองค์ประกอบกับสารที่เป็นตัวทำละลาย ถ้าตัวทำละลายเป็นโมเลกุลมีขั้ว (Polar molecules) จะชะเอาสารในสารผสมที่เป็นสารมีขั้วไปด้วยได้เร็ว ส่วนสารที่ไม่มีขั้วในสารผสมจะถูกชะพาไปได้ช้า สารผสมก็จะแยกออกจากกัน

โครมาโทกราฟีแบบกระดาษ (paper chromatography) เป็นโครมาโทกราฟีแบบระนาบอีกแบบหนึ่ง มีวิธีการและหลักการเหมือนกับโครมาโทกราฟีแบบชั้นบาง แตกต่างกันที่เฟสอยู่กับที่ใช้กระดาษที่สามารถดูดซับได้แทนกระจกที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล

โครมาโทกราฟีแบบแก๊ส (gas chromatography, GC) ใช้สำหรับแยกสารผสมที่เป็นแก๊ส โดยมีเฟสเคลื่อนที่เป็นแก๊สเช่นกันแต่ไม่ทำปฏิกิริยากับสารผสม เช่น ฮีเลียม จะทำหน้าที่เป็นตัวพา (Carrier) สารผสม ส่วนเฟสอยู่กับที่อาจจะเป็นของแข็งหรือของเหลวที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ เมื่อทั้งตัวพาและสารผสมเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์นี้ เฟสอยู่กับที่ในคอลัมน์จะดึงดูดด้วยแรงดึงดูดไฟฟ้าสถิตย์ตามความเป็นขั้วของสารกับโมเลกุลในสารผสมทำให้องค์ประกอบในสารผสมถูกพาไปด้วยอัตราเร็วที่ต่างกันสารผสมก็จะแยกออกจากกัน ปัจจุบันเทคนิคของโครมาโทกราฟีได้ถูกพัฒนาให้สามารถทำงานได้รวดเร็ว และใช้แยกสารตัวอย่างได้ครั้งละหลายสารตัวอย่าง เช่น Gas - Liquid Chromatography (GLC) และ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เป็นต้น

2.4.3 หลักการของโครมาโทกราฟี

โครมาโทกราฟี อาศัยหลักการละลายของสารในตัวทำละลาย และการถูกดูดซับโดยตัวดูดซับ โดยสารที่ต้องการนำมาแยกโดยวิธีนี้จะมีสมบัติการละลายในตัวทำละลายได้ไม่เท่ากัน และตัวถูกดูดซับโดยตัวดูดซับได้ไม่เท่ากัน ทำให้สารเคลื่อนที่ได้ไม่เท่ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4 วิธีการทำโครมาโทกราฟี

นำสารที่ต้องการแยกมาละลายในตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้วให้เคลื่อนที่ไปบนตัวดูดซับ การเคลื่อนที่ของสารบนตัวดูดซับขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของสารแต่ละชนิดในตัวทำละลาย และความสามารถในการดูดซับที่มีต่อสารนั้น กล่าวคือ สารที่ละลายในตัวทำละลายได้ดี และถูกดูดซับน้อยจะถูกเคลื่อนที่ออกมาก่อน ส่วนสารที่ละลายได้น้อยและถูกดูดซับได้ดี จะเคลื่อนที่ออกมาทีหลัง ถ้าใช้ตัวดูดซับมาก ๆ จะสามารถแยกสารออกจากกันได้

2.4.5 การเลือกตัวทำละลายและตัวดูดซับ

1. ตัวทำละลายและสารที่ต้องการแยกจะต้องมีการละลายไม่เท่ากัน
2. ควรเลือกตัวดูดซับที่มีการดูดซับสารได้ไม่เท่ากัน
3. ถ้าต้องการแยกสารที่ผสมกันหลายชนิด อาจต้องใช้ตัวทำละลายหลายชนิดหรือใช้ตัวทำละลายผสม
4. ตัวทำละลายที่นิยมใช้ ได้แก่ เฮกเซน ไซโคลเฮกเซน เบนซีน อะซีโตน คลอโรฟอร์ม และเอทานอล
5. ตัวดูดซับที่นิยมใช้ ได้แก่ อะลูมินาเจล (Al_2O_3) และซิลิกาเจล (SiO_2)

2.4.6 ข้อดีของโครมาโทกราฟี

1. สามารถแยกสารที่มีปริมาณน้อยได้
2. สามารถแยกได้ทั้งสารที่มีสี และไม่มีสี
3. สามารถใช้ได้ทั้งปริมาณวิเคราะห์ (บอกได้ว่าสารที่แยกออกมา มีปริมาณเท่าใด) และคุณภาพวิเคราะห์ (บอกได้ว่าสารนั้นเป็นสารชนิดใด)
4. สามารถแยกสารผสมออกจากกันได้
5. สามารถแยกสารออกจากกระดาษกรองหรือตัวดูดซับโดยสกัดด้วยตัวทำละลาย

2.5 สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

อนุมูลอิสระ (Free radical) คือโมเลกุลหรืออนุภาคที่ไม่เสถียรเนื่องจากรับหรือขาดอิเล็กตรอนไป 1 ตัว ทำให้โมเลกุลนั้นไม่เสถียร สำหรับร่างกายของคนเรานั้นความไม่เสถียรของอนุมูลอิสระถือว่าเป็นอันตรายเพราะอนุมูลอิสระที่ไม่เสถียรนี้จะไปดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นทำให้เกิดอนุมูลอิสระที่ไม่เสถียรขึ้นเป็นทอดๆ เว้นแต่ว่าจะมาเจอกันเองแล้วรวมตัวกันเป็นโมเลกุลที่เสถียรขึ้น

แหล่งที่มาของอนุมูลอิสระที่สร้างปัญหาให้กับร่างกายคนเรามี 2 แหล่งคือ

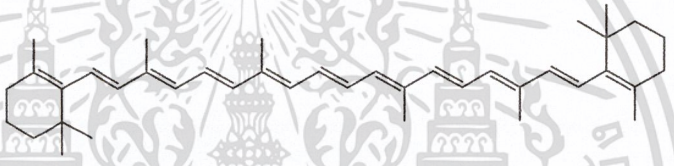
1. แหล่งภายในร่างกาย ได้แก่ ออกซิเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2. แหล่งภายนอกร่างกาย ได้แก่ มลพิษในอากาศ โอโซน ไนตรัสออกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ ฝุ่น ควันบุหรี่ อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่ม หรืออากาศที่มีธาตุเหล็กมากกว่าปกติ แสงแดด ความร้อน รังสีแกมมา และยาบางชนิด เช่น Paracetamol และ Penicillamine เป็นต้น

แต่อย่างไรก็ตามอนุมูลอิสระที่เป็นอันตรายต่อร่างกายคนเราเหล่านี้สามารถถูกกำจัดไปได้ด้วยสารบางชนิดที่เรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ โดยสารต้านอนุมูลอิสระนี้จะไปจับกับอนุมูลอิสระที่เป็นตัวเจ้าปัญหา แล้วเกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่เสถียรกว่า ส่งผลให้หยุดวงจรการเกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ๆขึ้นมาอีกเพราะมันจะรวมกันเองกลายเป็นโมเลกุลที่เสถียร ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระได้แก่ แคโรทินอยด์ เป็นสารที่ให้สีส้มและสีเหลืองที่พบในพืช ในพืชผักใบสีเขียวเข้มหลายชนิดมีแคโรทินอยด์สูง คลอโรฟิลล์ เป็นสารสีเขียวที่พบในพืช และ ฟลาโวนอยด์ เป็นสารกลุ่มพอลีฟีนอลที่พบได้ในผักและผลไม้



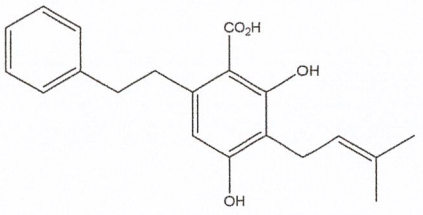
β-Carotene **52**

2.6 สารที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial)

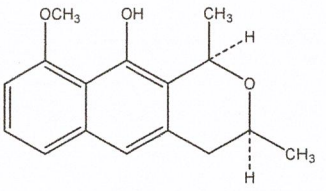
โดยทั่วไปโรคติดเชื้อหมายถึงโรคที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งรวมถึงเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และเชื้อไวรัส ได้มีการใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติโดยเฉพาะอย่างยิ่งจากพืชชั้นสูงในการรักษาโรคติดเชื้อมาแต่โบราณ แต่ความก้าวหน้าครั้งสำคัญในการรักษาโรคติดเชื้อได้แก่ การค้นพบยาปฏิชีวนะ (Antibiotic) ชนิดแรกคือเพนิซิลลิน อย่างไรก็ตาม ยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันเป็นยาต้านเชื้อแบคทีเรีย ในขณะที่ยาต้านเชื้อราและเชื้อไวรัสยังมีจำนวนจำกัด ดังนั้นจึงมีความพยายามในการค้นหายาใหม่ๆที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราและไวรัส จากสารสกัดจากธรรมชาติ ได้แก่ สารจำพวก polyene ที่มีโครงสร้างซับซ้อนทั้งสิ้น โครงสร้างดังกล่าวมีความสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา โดยสารเหล่านี้จะออกฤทธิ์โดยการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์เช่น Amorfruitin A **53** Karwinaphthol A **54** และ Flemiflavoanone D **55** ตัวอย่างของสารอีกกลุ่มหนึ่งซึ่งมีฤทธิ์ต้านเชื้อราได้แก่ แอลคาลอยด์จำพวก Phenanthroquinolizidineg เช่น Cryptopleurine **56** และ Julandine **57**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

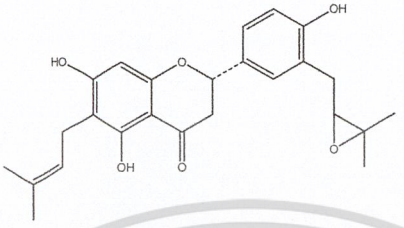
117289



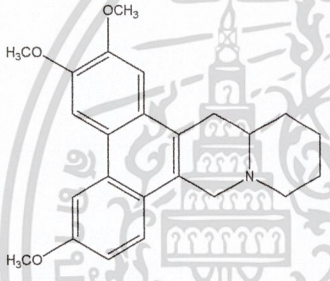
Amorfruitin A **53**



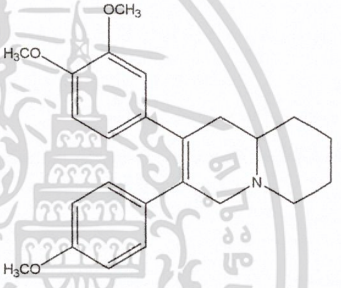
Karwinaphthol A **54**



Flemiflavoanone D **55**



Cryptopleurine **56**



Julandine **57**

2.7 อัลลีโลพาที (Allelopathy) [6, 7]

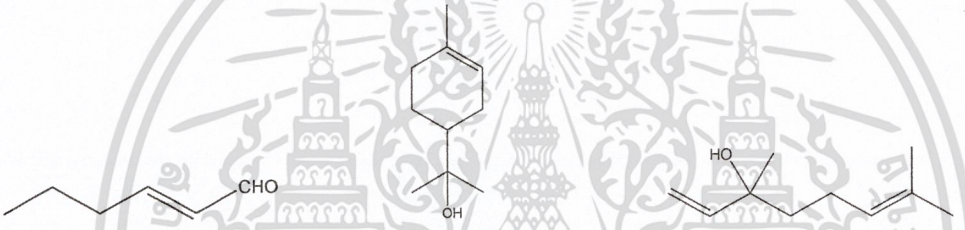
ในงานวิจัยนี้ กลุ่มผู้วิจัยสนใจศึกษาฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีของดาวเรือง โดยเน้นศึกษาการสะสมของสารอัลลีโลพาที (Allelochemicals) ปรากฏการณ์อัลลีโลพาที เป็นปฏิกิริยาทางชีวเคมีของพืชและจุลินทรีย์ มีผลทั้งในด้านการยับยั้งและการกระตุ้นปฏิกิริยาทางเคมี ทำให้เกิดผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืชและจุลินทรีย์ พืชแต่ละชนิดจะผลิตและปลดปล่อยสารไม่เหมือนกันปรากฏการณ์อัลลีโลพาทีสามารถพบได้ทั่วไปโดยเฉพาะระบบนิเวศการเกษตร จัดเป็นระบบนิเวศที่มีการศึกษาถึงผลทางอัลลีโลพาทีกันอย่างกว้างขวางไม่ว่าจะเป็นอัลลีโลพาทีต่อพืชปลูก วัชพืช และจุลินทรีย์ เพื่อที่จะเป็นแนวทางในการจัดการระบบการเกษตร ช่วยให้ได้ผลิตผลมากขึ้น ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม และนำไปสู่การพัฒนาทางด้านการเกษตรแบบยั่งยืนต่อไป

2.7.1 การปลดปล่อยสารอัลลีโลพาที

การปลดปล่อยสารอัลลีโลพาทีจากพืชออกสู่สิ่งแวดล้อมมีหลายทาง ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

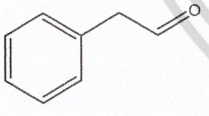
1. การระเหย (Volatilization) สารอัลลีโลพาทีที่พืชสร้างขึ้นจะระเหยออกมาจากส่วนต่างๆ ของพืชสู่บรรยากาศ แล้วไปมีผลกระทบต่อพืชอื่นๆ และแมลงด้วย เช่น สารกลุ่มเทอร์พีน (terpene) และสารเทอร์พีนอยด์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชได้หลายชนิด นอกจากนี้ยังพบสารระเหยจากมะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) ซึ่งเมื่อนำมาแยกด้วยวิธี gas chromatography พบสารประกอบ ที่เป็นพิษต่อพืช เช่น *trans*-2-hexenal **58** α-Terpineol **59** linalool **60** Phenyl acetaldehyde **61** Methylsalicylic acid **62** และ Tetradecanoic acid **63** ซึ่งมีผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดผักกาดหอม (*Lactuca sativa*) และทำให้การเจริญเติบโตขององุ่นลดลงเมื่อขึ้นใกล้ต้นมะเขือเทศ จากการศึกษาพืชกลุ่ม Otacanthus พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากพืชกลุ่มนี้ประกอบด้วยสารจำพวก monoterpenoids และ sesquiterpenoids ซึ่งอยู่ในกลุ่มสาร terpenoid ที่จัดเป็นกลุ่มของสารอัลลีโลพาทีในพืช



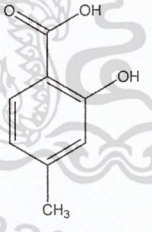
trans-2-hexenal **58**

α-Terpineol **59**

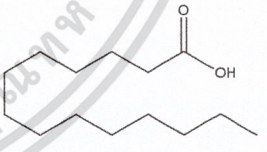
Linalool **60**



Phenylacetaldehyde **61**



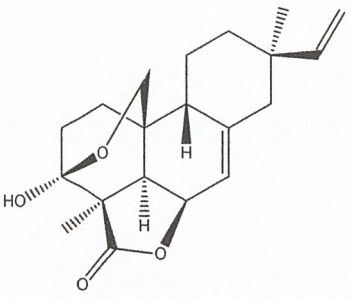
Methylsalicylic acid **62**



Tetradecanoic acid **63**

2. การปลดปล่อยทางราก (Exudation from roots) พืชสามารถปลดปล่อยสารอัลลีโลพาทีออกจากรากสู่สิ่งแวดล้อม สารที่ถูกปลดปล่อยออกมาทางรากอาจไปมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่น เช่น ข้าว (*Oryza sativa*) สามารถปลดปล่อยสาร Momilactone B **64** ออกมาทางรากและส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของรากและลำต้นของเมล็ด cress นอกจากนี้สาร Momilactone B **64** ยังส่งผลกระทบต่อพืชที่อยู่ใกล้เคียงอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Momilactone B **64**

3. การชะล้าง (Leaching) เกิดจากการชะล้างโดยหมอก น้ำฝนหรือน้ำค้าง ทำให้สารที่ละลายน้ำได้จากส่วนของต้นพืชละลายลงดิน การชะล้างเกิดได้จากหลายส่วน เช่น ใบสด รากหรือแม้กระทั่งส่วนของซากที่อยู่ในดิน เช่น น้ำชะล้างจากใบ *Chenopodium murale* ที่สะสมอยู่บริเวณดินมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้นข้าว

4. การสลายตัวของซากพืช (Decay of plant material, Decomposition of plant residue) เป็นการปลดปล่อยสารออกจากส่วนต่างๆ ของพืชที่ร่วงหล่นลงบนพื้นดิน หรือทับถมในดินจนเกิดการเน่าเปื่อยตามธรรมชาติหรือถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในดินในสภาพที่มีออกซิเจนทำให้มีการปลดปล่อย สารอัลลีโลพาทีออกมาหลายชนิด ทำให้เกิดผลกระทบต่อพืชชนิดอื่นทั้งทางตรงและทางอ้อม เช่น การสลายตัวของราก alfalfa มีผลทำให้การเจริญเติบโตของเมล็ดหญ้าคาลดลง

2.7.2 การสังเคราะห์สารอัลลีโลพาทีในส่วนต่าง ๆ ของพืช

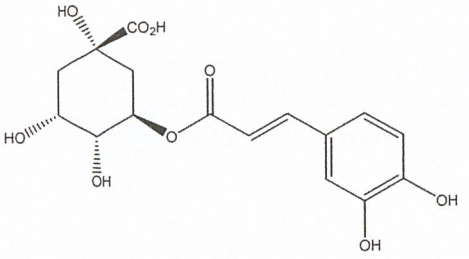
จากการรายงานการศึกษาทางอัลลีโลพาทีพบว่า สารอัลลีโลพาทีสามารถสร้างขึ้นได้ในทุกส่วนของพืชไม่ว่าจะเป็นส่วนของราก ลำต้น ใบ ดอก ผล และเมล็ด โดยส่วนใหญ่พบว่ามีการศึกษาอัลลีโลพาทีจากส่วนใบมากกว่าส่วนอื่น ๆ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากส่วนใบเป็นแหล่งสะสมอาหารและเป็นศูนย์กลางของกระบวนการสังเคราะห์สารต่าง ๆ นอกจากนี้ใบยังเป็นส่วนที่มีปริมาณมากง่ายต่อการเก็บมาทดสอบอีกด้วย

2.7.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการปลดปล่อยสารอัลลีโลพาทีของพืช

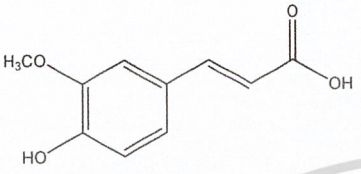
สารอัลลีโลพาทีที่พืชปลดปล่อยออกมาจะมีปริมาณมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการดังนี้

1. คุณภาพและปริมาณแสง เช่น ความเข้มของแสงอัลตราไวโอเลตและแสงในช่วงที่ตาสามารถมองเห็นมีผลต่อปริมาณสาร Chlorogenic acid **65** จากต้นทานตะวัน และเมื่อให้แสงที่ช่วงความยาวคลื่นในช่วงสีแดงแก่มันฝรั่งพบว่าสารประกอบ Ferulic **66** และ*p*-Coumaric acid **67** จะเพิ่มขึ้นมากกว่าปกติ

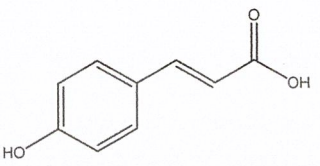
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Chlorogenic acid **65**

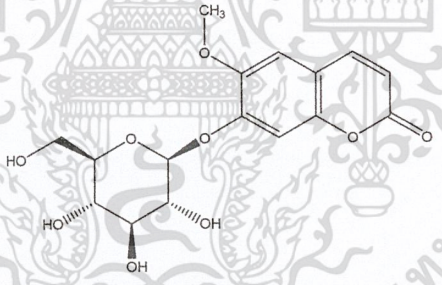


Ferulic **66**



p-Coumaric acid **67**

2. การขาดธาตุอาหาร มีผลต่อการปลดปล่อยสารอัลลีโลพาทีออกสู่สิ่งแวดล้อมมากขึ้นซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของธาตุอาหารที่พืชขาด เช่น ทานตะวันที่ขาดธาตุโบรอนจะมีการปลดปล่อยสาร Caffeic acid **5** และ Chlorogenic acid **65** มากกว่าต้นที่ไม่ขาดธาตุโบรอน ถึง 10 เท่า ในขณะที่ต้นยาสูบที่ขาดธาตุไนโตรเจนมีการปลดปล่อยสาร Scopolin **68** ออกมามากกว่าต้นที่ไม่ขาดธาตุไนโตรเจนถึง 5 เท่า

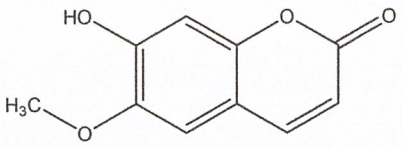


Scopolin **68**

3. การขาดน้ำ เมื่อพืชขาดน้ำจะทำให้เกิดความเครียดอย่างรุนแรงทำให้ปลดปล่อยสารอัลลีโลพาทีออกมามากกว่าปกติ เช่น ต้นทานตะวันเมื่อขาดน้ำจะมีการปลดปล่อยสาร Chlorogenic acid **65** ออกมามากกว่าต้นที่ไม่ขาดน้ำ

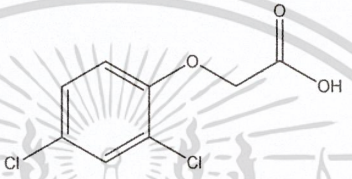
4. อุณหภูมิ ต้นโอ๊คที่อยู่ในสภาพอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะผลิตสาร Scopoletin **69** ได้มากกว่าต้นที่อยู่ในสภาพอุณหภูมิ 19 องศาเซลเซียสถึง 5.5 เท่า ในขณะที่ต้นยาสูบที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 8-9 องศาเซลเซียส จะมีปริมาณสาร Chlorogenic acid **65** ในใบและลำต้นมากกว่าต้นที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียสถึง 3 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Scopoletin **69**

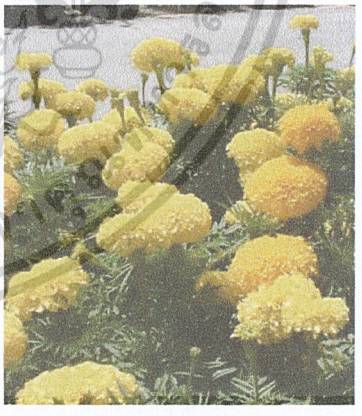
5. สารเคมีที่พืชได้รับ เช่น การใช้สาร 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid **70** กับต้นยาสูบ มีผลทำให้เกิดการสะสมของสาร Scopolin **68** ในใบ 31 เท่าของต้นยาสูบที่ไม่ได้รับ 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid



2,4-Dichlorophenoxyacetic acid **70**

6. อายุของพืช จากการศึกษาพบว่าพืชที่อายุมากจะมีสารอัลลีโลพาทีมากกว่าพืชที่มีอายุน้อย

2.8 ดาวเรือง



ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Tagetes erecta* Linn.

วงศ์ : COMPOSITAE

ชื่อสามัญ : African marigold

ชื่ออื่น ๆ : คำปู้จู้หลวง (ภาคเหนือ)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

ต้น เป็นพรรณไม้ล้มลุก ลำต้นเป็นทรงพุ่มข้อนข้างทนทาน ลำต้นสูงประมาณ 3-4 ฟุต ส่วนพรรณไม้ปลีกย่อยนั้นจะสูงประมาณ1-3ฟุต

ใบ ลักษณะใบเป็นฝอยเหมือนดาวกระจาย มีสีเขียว ใบเป็นรูปหอก ปลายแหลม ออกเรียงกันเป็นคู่ๆตรงข้ามกันใบดก

ดอก ดาวเรืองนี้แบ่งออกเป็นพรรณย่อยอยู่หลายพรรณ ซึ่งในแต่ละพรรณนั้นจะมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะของดอกที่ต่างกันมีทั้งกลีบซ้อนและไม่ซ้อน และสีก็มีหลายสีเช่น เหลือง ส้ม ขาวนวล เหลืองแต้มแดง แสด ดาวเรืองเป็นดาวเดี่ยว รูปทรงดอกเป็นวงกลมดอกจะดก เวลาออกดอกจะเหลืองเต็มต้นดูสวยงาม

การขยายพันธุ์ : เป็นไม้กลางแจ้ง ที่ชอบแสงแดด ปลูกง่ายทนกับดินทุกสภาพไม่ต้องรดน้ำบ่อยนักขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

ประโยชน์ : ใบ เป็นยาเย็น ใช้ทาแผลเนาเปื่อย ฝีต่าง ๆ น้ำคั้นจาใบ้ใช้หยอด แก้เจ็บหูดอก แก้ริดสีดวงทวาร เป็นยาฟอกเลือด ขับลม ละลายเสมหะ ไอ หลมดลมอักเสบ ปรุงกับตับไก่เป็นยาบำรุงสายตา ดอกแห้งบดเป็นผงผสมกับอาหารไก่ ช่วยให้ไข่แดงสีเข้มขึ้น ดอกสดเป็นอาหารและทำดอกไม้ประดิษฐ์

อื่น ๆ : มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศเม็กซิโก

สรรพคุณ :

ดอก น้ำที่กลั่นจากดอกแก้อาการอักเสบของตาและชงแก้ไข้ขับเหงื่อ แก้พุพอง หรือนำมาต้มเป็นยาแก้โรคหัด แก้ไข้ทรพิษ หรือถ้ามีอาการปวดฟกช้ำ ให้เอาดอกมาทาถูตรงบริเวณนั้นถ้าแมลงกัดต่อยก็ทาได้

ใบ นำมาตากแห้งแล้วบดเป็นผงใช้เป็นยานัตถุ์ได้ หรือกินเป็นอาหาร แก้โรคต่อมน้ำเหลืองในเด็กและถ้าเกิดอาการท้องผูกให้นำใบคั้นเอาน้ำทานซึ่งจะมีรสเผ็ดร้อน

ต้น นำมาชงกินเป็นยาแก้โรคดีซ่าน แผลเรื้อรัง แก้เส้นเลือดพอง เป็นยาขมเจริญอาหารขับเหงื่อขับพยาธิและแก้คลื่นเหียนอาเจียน

2.8.1 ชนิดของดอกดาวเรือง[11]

ดอกดาวเรืองที่พบเห็นและปลูกอยู่ในปัจจุบันมี 5 ชนิด คือ

1. *Tagetes erecta* เรียกกันโดยทั่วไปว่า American marigolds หรือ African marigoldหรือ Friendship marigolds ซึ่งเป็นชนิดต้นสูง กลีบดอกซ้อน ขนาดดอกใหญ่

2. *Tagetes erecta* มีชื่อเรียกโดยทั่วไปว่า French marigolds เป็นชนิดต้นเตี้ย

3. *Triploid marigolds* เป็นลูกผสมที่เกิดจาก *Tagetes erecta* กับ *Tagete patula* ซึ่งดอกจะบานเร็วและทนทานกว่า

4. *Tagetes tenuifolia pumila* หรือ *Tegates signata pamila* หรือเรียกสั้นๆว่า Signet marigolds มีพุ่มต้นเตี้ย กลีบดอกชั้นเดียว ขนาดดอกเล็ก

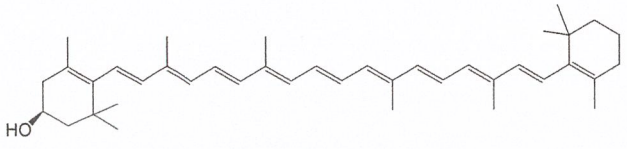
5. *Tagetes filifolia* หรือ Foliage marigolds มีลักษณะใบที่สวยงาม พุ่มต้นแน่น

2.8.2 ลักษณะโครงสร้างของสารให้สีในดอกดาวเรือง

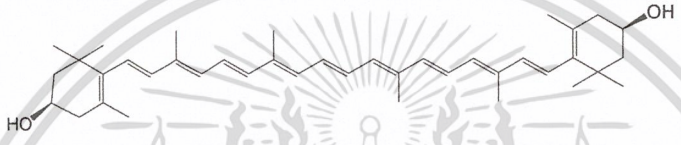
ในกลีบดอกดาวเรืองมีสารให้สีที่เรียกว่า Xanthophyll **71** ซึ่งเป็นเม็ดสีในกลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

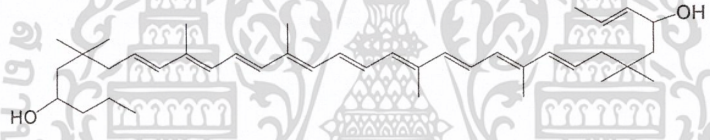
Carotenoid อยู่จำนวนมากซึ่งมีองค์ประกอบย่อยเป็นสารจำพวก Zeaxanthin **72** Lutein **73** Lutein ester **74** นอกจากนี้สารให้สีที่สกัดได้จากกลีบดอกดาวเรืองยังประกอบด้วยเม็ดสีในกลุ่ม Flavonoid เช่น Flavones **75** และ Rutin **76** สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารให้สีที่พบในกลีบดอกดาวเรืองแสดงดังรูป



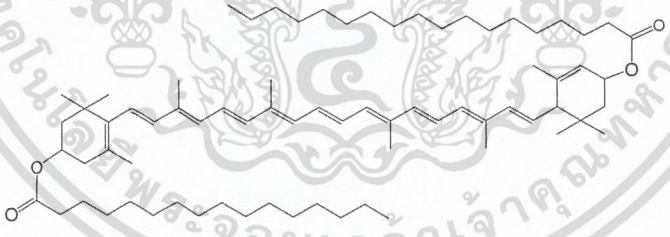
Xanthophyll **71**



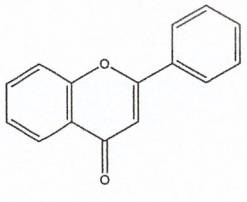
Zeaxanthin **72**



Lutein **73**

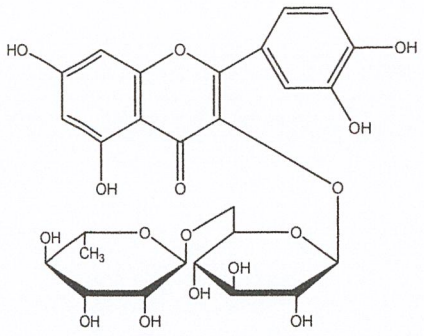


Lutein ester **74**



Flavones **75**

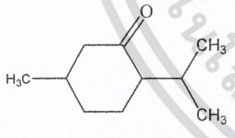
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



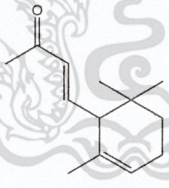
Rutin **76**

2.8.3 ลักษณะโครงสร้างของน้ำมันหอมระเหยในดอกดาวเรือง[7]

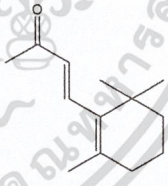
เป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้น มักมีกลิ่นหอมระเหยง่าย โดยพืชจะมีเซลล์พิเศษต่อมน้ำมันหรือท่อเพื่อสร้างและกักเก็บน้ำมันหอมระเหย น้ำมันหอมระเหยพบได้ตามส่วนต่างๆ ของพืช ได้แก่ ราก ลำต้น ใบ ดอก ผล เมล็ด กลิ่นของน้ำมันหอมระเหยในส่วนของดอกไม้ มีบทบาทสำคัญในการช่วยดึงดูดแมลงมาผสมเกสร แต่สำหรับน้ำมันหอมระเหยในส่วนอื่นๆของพืชเชื่อว่ามีผลในการป้องกันตนเองจากศัตรูภายนอกที่จะมาทำลายพืชนั้นๆ รวมทั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคพืช สูตรโครงสร้างทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยในดอกดาวเรืองแสดงดังรูป



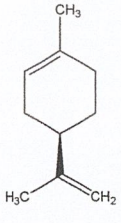
Isomentone **77**



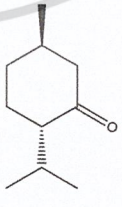
α-Ionone **78**



β-Ionone **79**

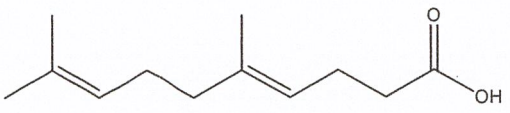


Carvone **80**



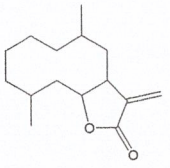
Mentone **81**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

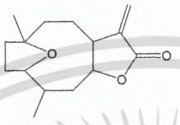


Geranylacetone **82**

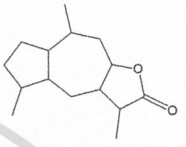
อนุพันธุ์ของ Sesquiterpene lactones



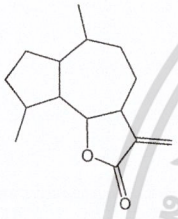
Germacranolides **83**



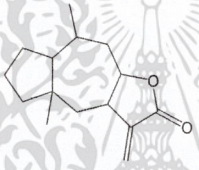
Heliangolides **84**



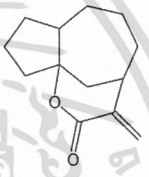
Guaianolides **85**



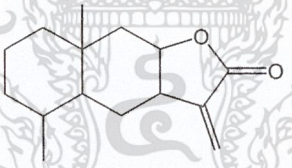
Guaianolides **86**



Pseudoguaianolides **87**



Hypocretenolides **88**

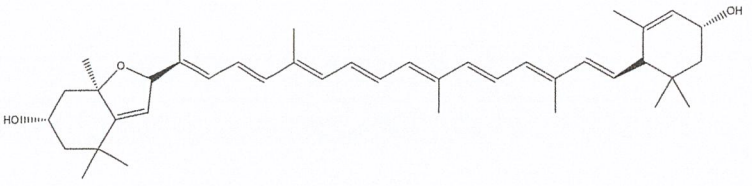


Eudesmanolides **89**

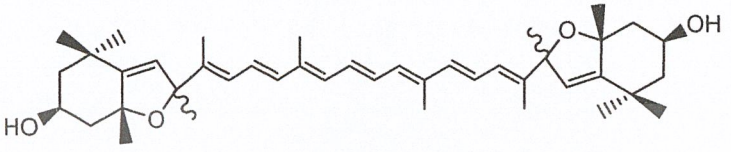
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Eszter และคณะ [10] ศึกษาองค์ประกอบของแคโรทีนอยด์ (Carotenoid)ใน *Calendula officinalis* L. พบว่า ในกลีบดอกและเกสรของดอกดาวเรืองจะมีแคโรทีนอยด์หลักๆ คือ Flavoxanthin **90** และ Auroxanthin **91** ในขณะที่ลำต้นและใบ จะพบ Lutein **73** และ β-carotene **52** เป็นองค์ประกอบหลัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Flavoxanthin **90**

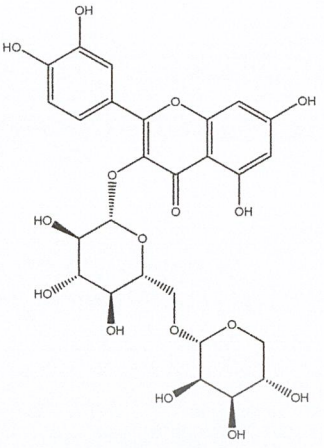


Auroxanthin **91**

Chanthana และคณะ [11] ได้ทำการสกัดสารให้สีจากกลับดอกดาวเรืองเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านการย้อมผ้าฝ้าย โดยศึกษาสภาวะของกลีบดอกดาวเรืองและระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารให้สีจากกลีบดอกดาวเรืองแห้งด้วยสารละลายเอททนอล 95 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการย้อมสีผ้าฝ้าย เพื่อให้มีสีที่สวยงาม และมีความคงทนของสีที่ดีได้แก่ ความเข้มข้นของสารให้สี สารยึดติด และอัตราส่วนน้ำหนักผ้าต่อสารละลายสีย้อม พบว่าปัจจัยมราสำคัญที่สุดคือ การให้สารยึดติด ซึ่งทำให้ผ้าฝ้ายย้อมสีมีสีเหลืองออกแดงที่สดใส และมีความคงทนของสีที่ดีกว่าการไม่ใช้สารยึดติด การเพิ่มความเข้มข้นของสารให้สีมีผลทำให้ผ้าฝ้ายมีสีเหลืองออกแดงที่เข้ม และมีความสดใสเพิ่มมากขึ้นแต่อัตราส่วนน้ำหนักผ้าต่อสารละลายสีย้อมไม่มีผลต่อการย้อมสีผ้าฝ้าย

Yris และคณะ [12] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดจาก *C. officinalis* ที่ผลของการต่อต้านรังสี UV B ที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันบนผิว ประเมินผลโดยการลดลงของระดับกลูต้าไทโอนและการหลั่งของเอนไซม์เมททาลโลโปรตินเนส ผลที่ได้คือ พบสารสกัดต่อไปนี้ในสารสกัดจากดอกดาวเรือง สารในกลุ่ม Polyphenol Flavonoid Lutine **73** และ Narcissin **92** และการประเมินผลของการต่อต้านอนุมูลอิสระ แสดงให้เห็นว่าปริมาณรังสีที่ได้รับขึ้นอยู่กับผลของการต่อต้านของสารสกัดจากดอกดาวเรืองในรังสีต่างๆ การทดลองความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytoxicity) พบว่าสารสกัดจากดอกดาวเรืองไม่มีผลในการป้องกันการแบ่งตัวและทำลายเซลล์ ที่ความเข้มข้น 15 mg/ml อย่างไรก็ตามที่ความเข้นข้น 30 mg/ml แสดงผลต่อความเป็นพิษออกมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Narcissin **92**

Nikkon และคณะ [13] ทำการศึกษาเกี่ยวกับการออกฤทธิ์เป็นยาฆ่าแมลงของดอกดาวเรืองที่ต่อต้านมอดแป้ง ซึ่งเป็นสัตว์ที่ไปทำลายผลิตภัณฑ์ที่เก็บไว้ จากส่วนประกอบในสารสกัดของดอกดาวเรืองพบว่าส่วนของคลอโรฟอร์มแสดงความเป็นพิษสูงต่อต้านได้ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของมอดแป้ง ตามมาด้วยส่วนของปิโตรเลียมอีเทอร์ สารสกัดเอทานอล ผลที่วัดได้ของชั้นคลอโรฟอร์มในการยับยั้งมอดแป้งตัวอ่อนระยะที่1 2 3 4 5 และ 6 คือ 11.64 14.23 19.26 29.02 36.66 และ 59.51 μg / cm^2 (72 ชั่วโมง) ตามลำดับ และสำหรับตัวเต็มวัยวัดค่าได้ 65.93 μg / cm^2 (72 ชั่วโมง) ในการทดลองนี้ไม่ปรากฏอัตราการตายของมอดแป้ง

Pratheest และคณะ [14] ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับเสถียรภาพ และลักษณะคุณสมบัติของแซนโทรฟิลจากดอกดาวเรือง สรุปว่าดอกดาวเรืองเป็นต้นกำเนิดของแอนตี้ออกซิแดนซ์พวกลูทีนตามธรรมชาติ สีธรรมชาติและแซนโทรฟิลถูกนำมาเป็นทางเลือกในการนำมาใช้สังเคราะห์สีผสมอาหาร เนื่องจากมันไม่มีพิษทำการแยกโดยวิธีโครมาโตกราฟีของโอเลโอเรซินบริสุทธิ์และไม่บริสุทธิ์และสารประกอบหลักที่ได้คือ ทรานลูทีนดอกไม้ที่ถูกเก็บรักษาอย่างดีจะมีปริมาณของ Xanthophyll **71** ผสมอยู่มากกว่า 109.19 g /kg ตัวอย่างดอกไม้ที่ไม่ได้ถูกเก็บรักษาจะมีปริมาณ Xanthophyll **71** 54.87 g /kg การให้ความสัมคัญการเก็บรักษาดอกไม้จะทำให้มีความเสถียรและจำนวนของ Xanthophyll **71** เพิ่มขึ้นและผลที่ได้ตามมาคือได้ เอทิลีนไดคลอไรด์ที่บริสุทธิ์

Changfu และคณะ [15] ได้ทำการทดลองเกี่ยวกับกฎการควบคุมการเกิดสีของแคโรทีนอยด์ในดอกไม้ แคโรทีนอยด์เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของพืชที่เติบโตโดยวิธีปกติ และพืชที่ถูกพัฒนา ยังมีหน้าที่เปลี่ยนจากสีแดงและสีเหลืองที่เห็นในดอกไม้และผลไม้ ความหลากหลายนี้ช่วยในการผสมเกสรและกระตุ้นสัตว์กินพืชให้ช่วยเผยแพร่เมล็ดพันธุ์ และมนุษย์เองยังได้ประโยชน์ในด้านสุนทรียภาพของดอกไม้ และในทางอุตสาหกรรมยังนำไปใช้พัฒนาสินค้าใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. เมทานอล	เกรดการค้า	Zen Point
2. เอทิลแอซิเตต	เกรดการค้า	Zen Point
3. ไดคลอโรมีเทน	เกรดการค้า	Zen Point
4. เฮกเซน	เกรดการค้า	Zen Point
5. Absolute Ethanol	เกรดวิเคราะห์	CARLO ERBA regent
6. แอนนิซัลดีไฮด์	เกรดวิเคราะห์	PANREA SINTESIS
7. แอนไฮดรัสโซเดียมซัลเฟต	เกรดวิเคราะห์	Fisher Scientific
8. กรดซัลฟูริก	เกรดวิเคราะห์	Fisher Scientific
9. สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตอิ่มตัว		
10. สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 N		
11. สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น		
12. สารละลายอิ่มตัวโซเดียมคลอไรด์		
13. ซิลิกาเจล ขนาด 0.02-0.06 มิลลิเมตร	Scharlau GE0048	
14. ซิลิกาเจล ขนาด 0.06-0.2 มิลลิเมตร	CARLO ERBA reagent	
15. น้ำกลั่น		

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. ขวดโหลสำหรับแช่พืช
2. ขวดก้นกลมรูปชมพู่ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
3. บีกเกอร์
4. กรวยแยก
5. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 250 และ 50 มิลลิลิตร
6. หลอดทดลอง
7. ช้อนตักสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. กรวยแก้ว

9. กระดาษกรอง Whatman

10. แผ่นทินเลเยอร์โครมาโทรกราฟี (TLC aluminium sheets, silica gel F_{254} MERCK)

11. แท่งแม่เหล็กและแท่งปั่นกวน

12. หลอดหยดสาร

13. กระบอกตวงขนาด 10 และ 100 มิลลิลิตร

14. เครื่องบดละเอียด

15. คอลัมน์

16. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง Denver Instrument Company รุ่น TC-254

17. เครื่องระเหยสุญญากาศ BüCHI รุ่น Rotavapor R-114

18. กระดาษยูนิเวอร์ซัลอินดิเคเตอร์ (MERCK)

19. สำลี

20. กระดาษฟอล์ย

21. จานเพาะเมล็ด (Petri dish) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร

22. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรมิเตอร์ (GC: Agilent Technologies Nodel 6890N, MS: Agilent Technologies Model 7683)

3.3 แหล่งของพืชที่ใช้ในการทดลอง

พืชทดสอบ : ดาวเรือง (*Tagetes erecta* Linn.) ประกอบด้วยกลีบดอก ใบ และเมล็ด เก็บจากแปลงเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ ระยะเวลาการปลูก 45 วัน

พืชทดสอบ : ผักโขมจีน (*Amaranthus tricolor* Linn.) ตรา งอบทอง บริษัท ที เอส เอ จำกัด มีอัตราการงอก เท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์

3.4 สภาวะที่ใช้ในการทดลอง

ตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการทำโครมาโทกราฟี ได้แก่ เฮกเซน เอทิลแอซิเตต และเมทานอล กลั่นที่อุณหภูมิจุดเดือดของตัวทำละลายแต่ละชนิด ก่อนนำมาใช้ในการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแยกจัดกลุ่มสารสำคัญ และการแยกสารให้บริสุทธิ์ ทำโดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี ใช้ตัวดูดซับคือ ซิลิกาเจล ของScharlau GE 0048 ขนาด 0.02-0.06 มิลลิเมตร และใช้ซิลิกาเจล ขนาด 0.06-0.2 มิลลิเมตร สำหรับคลุกสารสกัดหยาบก่อนการทำคอลัมน์โครมาโทกราฟี ส่วนทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (TLC) เป็นซิลิกาเจล 60 F_{254} บนแผ่นอะลูมิเนียม จุดของสารสำคัญพิสูจน์ด้วยการดูดแสงอัลตราไวโอเลต (254 และ 366 นาโนเมตร) และใช้รีเอเจนต์แอนนิซัลดีไอด์ป้ายบนแผ่น TLC แล้วนำไปให้ความร้อนบนแผ่นนำความร้อน (hot plate) ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

3.5 การเตรียมสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล

1. นำส่วนประกอบของพืชที่บดละเอียด แช่ด้วยเมทานอล เป็นเวลา 7 วันที่อุณหภูมิห้อง และทำการคนของผสมทุกวัน

2. กรองสารที่ทำการสกัดด้วยเมทานอล และทำการระเหยเมทานอลด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

3. นำสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ และฤทธิ์ทางอัลลีโลพาที

4. นำสารสกัดชั้นเมทานอลมาทำการสกัดแบบแบ่งส่วน (Solvent Partitioning Extraction)

3.6 การสกัดชั้นสกัดหยาบเมทานอลด้วยวิธี Solvent Partitioning Extraction

1. ชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล (Crude methanol extract : ME fraction) ที่ได้นำมาสกัดแยกสารด้วยวิธี Solvent Partitioning Extraction ตามขั้นตอนในแผนภาพที่ 3.1

2. ชั่งน้ำหนัก ME มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ปรับสารละลายให้มี pH เท่ากับ 3สกัดด้วยเอทิลแอซิเตต แยกสารได้เป็น 2 ชั้น คือ ชั้นเอทิล แอซิเตต (neutral and acidic compounds) และชั้นน้ำ ปรับสารละลายชั้นน้ำ (aqueous fraction : AQ) ให้มี pH เท่ากับ 7

3. นำชั้นเอทิล แอซิเตต จากข้อ 3 มาสกัดด้วยสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตอิ่มตัวแยกสารได้เป็น 2 ชั้น คือ ชั้นเอทิล แอซิเตต (neutral compounds : NE) และชั้นน้ำ ปรับสารละลายชั้นน้ำ (acidic compounds)ให้มี pH เท่ากับ 3

4. นำชั้นน้ำ (acidic compounds) จากข้อ 4 มาสกัดด้วยเอทิล แอซิเตต แยกสารได้เป็น 2 ชั้น คือชั้นเอทล แอซิเตต (acidic fraction : AE) และชั้นน้ำ

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. จากวิธีการสกัดข้อ 3-5 จะได้สารสกัดหยาบ 3 ส่วนคือ สารสกัดหยาบชั้นน้ำ (aqueous fraction : AQ) สารสกัดหยาบที่มีคุณสมบัติเป็นกลาง (neutral compounds extract : NE) และสารสกัดหยาบที่มีคุณสมบัติเป็นกรด (acidic fraction extract : AE)

3.7 การจัดกลุ่มสารของสารสกัดหยาบโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี

1. แบ่งสารสกัดหยาบชั้นที่ออกฤทธิ์ดีที่สุดมาหาระบบตัวทำละลายด้วยเทคนิค TLC (Thin Layer Chromatography) โดยสังเกตจากการแยกของสารชัดเจนที่สุด และเก็บสารสกัดหยาบนี้ไว้สำหรับเปรียบเทียบจุดบนแผ่น TLC ของสารส่วนย่อยในการแยกโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟฟีต่อไป

2. ทำการตัดแผ่น TLC ขนาด 2 เซนติเมตร ทำการขีดเส้นจากปลายขอบบนและขอบล่างของแผ่น TLC (เพื่อจะได้หาระยะทางที่ตัวทำละลายพาสารที่ต้องการแยกได้) จากนั้นทำการจุดสารที่ได้จากสารสกัดหยาบที่แยกได้จากการระเหยตัวทำละลายออกแล้วแบ่งออกมาใส่ในขวดเก็บสาร และทำการจุดสารลงบนแผ่น TLC

3. เตรียม TLC แทงค์ (TLC chamber) โดยทำให้ตัวทำละลายในแทงค์อิ่มตัว

4. ทำการทดสอบอัตราส่วนของสารละลายที่ความเข้มข้นต่างๆโดยเริ่มจากสารละลายที่มีขั้วต่างกันในอัตราส่วน 10 : 90 จากนั้นวางแผ่น TLC ลงใน TLC แทงค์ ตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งตัวทำละลายเคลื่อนที่มาถึงเส้นที่กำหนดไว้ จากการแยกสารที่เกิดขึ้น จะเห็นได้จากถ้าสามารถแยกได้ดีจะเป็นจุดที่ชัดเจน ถ้าไม่เป็นก็ให้ทำการเพิ่มหรือลดอัตราส่วนของตัวทำละลาย ในอัตราส่วนที่เหมาะเพื่อที่จะได้อัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกสาร

5. นำแผ่น TLC มาทดสอบการดูดกลืนแสงอัตราไวโอเลต ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร จากนั้นทำการวงจุดที่เห็นเป็นสารเรืองแสง

6. ป้ายสารที่ทำให้เกิดสีเฉพาะตัว (anisaldehyde reagent) ให้ทั่วแผ่น TLC แล้วนำไปวางบนแผ่นให้ความร้อน (Hot plate) ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีในบริเวณที่ได้วงไว้ ทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลง

7. เมื่อได้อัตราส่วนของตัวทำละลายที่เหมาะแล้ว จะนำมาใช้ในการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี (Column chromatography)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผนภาพที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการสกัดชั้นเมทานอลด้วยวิธี Solvent Partitioning Extraction [8]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.8 วิธีการเตรียมคอลัมน์และแยกสารโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

1. เตรียมคอลัมน์แบบ Slurryโดยใช้ซิลิกาเจล 60 ขนาด 0.02-0.06 มิลลิเมตร ทำให้เป็นของเหลวข้นในตัวทำละลาย

2. ใช้สำลีที่ชุ่มด้วยตัวทำสารละลายอุดที่ปลายคอลัมน์ เทซิลิกาเจลที่เตรียมไว้ลงในคอลัมน์

3. ทำการปรับผิวหน้าของซิลิกาเจลให้เรียบและแน่นทำการป้องกันผิวของซิลิกาเจลโดยใส่แมกนีเซียมซัลเฟต (Anhydrous $MgSO_4$) ที่บดละเอียด

4. ชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบ แล้วละลายด้วยตัวทำละลายลงไปเล็กน้อย จากนั้นใส่ซิลิกาเจลที่มีขนาดเท่ากับ 0.06-0.2 มิลลิเมตร คนให้เข้ากัน แล้วระเหยตัวทำละลายออกให้หมดแล้วเทลงในคอลัมน์

5. ใช้ตัวทำละลายชะคอลัมน์จากนั้นทำการเพิ่มขั้วของตัวทำละลายทีละน้อยอย่างต่อเนื่องเพื่อให้สารที่ต้องการออกจากคอลัมน์

6. เก็บสารที่ออกจากคอลัมน์ตรวจสอบสารด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี พร้อมทำการตรวจสอบด้วยแสงอัลตราไวโอเลต ที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และทดสอบด้วย anisaldehyde reagent

7. รวมสารส่วนย่อยที่อยู่ในกลุ่มเดียวกันระเหยเอาตัวทำละลายออก ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

3.9 การแยกส่วนย่อยจากชั้นสารสกัดหยาบโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี

1. เตรียมคอลัมน์ตามวิธีในหัวข้อที่ 3.8

2. นำสารสกัดหยาบที่ผสมกับซิลิกาเจลลงในคอลัมน์โดยไม่ต้องทำการกลั้วขวดก้นกลมใช้ตัวทำละลายเฮกเซนประมาณ 700 มิลลิลิตร เป็นตัวชะ จากนั้นทำการเพิ่มขั้วของตัวทำละลายทีละน้อยอย่างต่อเนื่องด้วยเอทิล แอซิเตต เพื่อให้สารที่ต้องการออกจากคอลัมน์เมื่อสารที่ถูกชะอยู่ห่างจากปลายคอลัมน์ประมาณ 5 เซนติเมตร ให้ทำการเก็บสารละลายที่ออกจากคอลัมน์

3. เก็บสารที่ออกจากคอลัมน์ด้วยขวดรูปชมพู่ ขนาด 100 มิลลิลิตร เก็บปริมาตร 20 มิลลิลิตร จากนั้นจดหมายเลขพร้อมกับทำการตรวจสอบสารในแต่ละขวดด้วยเทคนิค TLC โดยทำการเพิ่มขั้วของสารละลายและทำการตรวจสอบด้วยการส่องด้วยแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร และ anisaldehyde reagent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. เมื่อสารที่ต้องการแยกออกมาให้ทำการจดบันทึก เมื่อสารเริ่มออกจากขวดที่เท่าใด และจำนวนเท่าใด รวมกลุ่มสารย่อยด้วยแผ่น TLC ถ้าสารออกมาเหมือนกันให้ทำการรวมสารละลายที่แยกออกมาได้เข้าด้วยกันแล้วทดสอบด้วย TLC อีกครั้งจึงระเหยตัวทำละลายออก

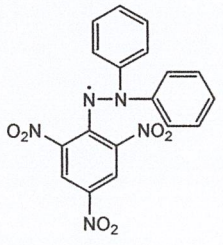
5. การแยกสารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี จะดำเนินกรรมวิธีตามหัวข้อ 3.7 และ 3.8

3.10 การหาปริมาณของสารประกอบฟีนอล

ปริมาณสารประกอบฟีนอลจากสารสกัดหยาบ สามารถวัดได้โดยการใช้ Folin-Ciocalteu's reagent ตามวิธีของ Javanmardi และคณะ [16] ทำโดยนำสารสกัดที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 50 ไมโครลิตร (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) ผสมกับ Folin-Ciocalteu's reagent (ของผสมระหว่าง phosphomolybdate และ phosphotungstate) ที่เจือจาง 10 เท่า ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลายNa_2CO_3 (7.5%, น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที วัดค่าความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ปริมาณสารประกอบฟีนอล รายงานเป็นมิลลิกรัมที่เทียบเท่ากับกรดแกลลิคต่อน้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบ 1 กรัม

3.11 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [17]

การศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการรวมตัวกับ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่เสถียรที่อยู่ในสารละลาย (นิยมใช้ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระมาก เพราะใช้งานง่าย) โดยในการทดสอบนี้จะให้สารละลาย DPPH มีสีม่วงเข้ม ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในระยะเวลาที่กำหนด ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จะแปรผันกับความเข้มข้นของ DPPH



Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) **93**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การลดลงของความเข้มข้นของ DPPH สังเกตจากสีของสารละลายที่จางลงบ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ ขั้นตอนการทดสอบมีดังนี้

1. นำสารที่สกัดได้จำนวน 100 ไมโครลิตร ใส่ DPPH จำนวน 2.9 มิลลิลิตร ซึ่งเตรียมจาก DPPH 4.5 มิลลิลิตร ในสารละลายเอทานอล 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้อุณหภูมิ 30 องสาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

2. ทำการวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ผลของปฏิกิริยากับ DPPH จะเปรียบเทียบกันระหว่างสารละลายที่มีสารตัวอย่างอยู่ และสารละลายที่ไม่มีสารตัวอย่าง (Blank)

3. พลอตกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์ของ DPPH ที่เหลืออยู่กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน เพื่อหาค่า EC 50 (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

3.12 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในงานวิจัยนี้ดัดแปลงมาจากวิธีของ Bauer และคณะ[18] โดยมีวิธีการทดสอบดังนี้ คือ นำจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่เก็บไว้บน Trypticase Soy Agar เพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Brain Heart Infusion Broth บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำจุลินทรีย์ที่บ่มเพาะได้มาปรับความขุ่นที่ 660 นาโนเมตร เพื่อให้ได้ความขุ่นเทียบเท่ากับความขุ่นของ McFarland เบอร์ 0.5 ซึ่งเทียบเท่ากับจำนวนแบคทีเรีย 10^5-10^6 เซลล์ต่อมิลลิเมตร แล้วจึงนำจุลินทรีย์ที่เตรียมได้ไปเพาะลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Mueller Hinton Agar อยู่โดยการขีดลงบนหน้าวุ้นให้ทั่ว 3 ครั้ง ทำให้ได้จานอาหารเลี้ยงเชื้อที่จุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ บนหน้าวุ้น หลังจากนั้นนำแผ่นดิสก์ขนาด 0.6 มิลลิเมตร ที่มีสารสกัดความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งละลายด้วย DMSO (dimethyl sulfoxide) เจือจางลง 2 เท่า ตามลำดับ วางบนผิววุ้นที่มีจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ บ่มทิ้งไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง ในกรณีทดสอบกับแบคทีเรียใช้ Vancomycin และ Oxacilin เป็นตัวยาเปรียบเทียบ และในกรณีทดสอบกับยีสต์ใช้ Amphotericin B เป็นตัวยาเปรียบเทียบ ในแต่ละชุดการทดลองจะใช้ DMSO เป็นวิธีการเปรียบเทียบ

การอ่านผล ถ้าพบclear zone รอบแผ่นดิสก์มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 2 มิลลิเมตร แต่น้อยกว่า 5 มิลลิเมตร แสดงว่า สารทดสอบมีผลต่อเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่ทดสอบในระดับอ่อน (weak) ถ้าพบ clear zone รอบแผ่นดิสก์มากกว่าหรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตร แต่น้อยกว่า 8 มิลลิเมตร แสดงว่าสารทดสอบมีผลต่อเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่ทดสอบในระดับปานกลาง (moderate) และถ้า clear zone รอบแผ่นดิสก์มากกว่าหรือเท่ากับ 8 มิลลิเมตร แสดงว่า สารทดสอบมีผลต่อเชื้อจุลินทรีย์ชนิดที่ทดสอบในระดับดี (good)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.13 การทดสอบฤทธิ์ทางอัลลีโลพาที [9]

3.13.1 การเตรียมและการทดสอบฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีของสารสกัดชั้นน้ำ

1. นำส่วนต่างๆของดาวเรือง ได้แก่ กลีบดอก ใบ และเมล็ด ที่อบแห้งนำมาบดให้ละเอียด

2. ทำการสกัดด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน ดาวเรือง 5 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำกลั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ปิดปากขวดด้วยพาราฟิล์มให้สนิท

3. นำขวดรูปชมพู่ไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

4. หลังจากนั้นนำสารสกัดมากรองด้วยผ้าขาวบางและสำลี ตามลำดับ

5. เจือจางสารสกัดด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 2.5 1.25 และ 0.625 เปอร์เซ็นต์ โดยมีน้ำกลั่นเป็นกรรมวิธีควบคุม (control)

6. นำสารสกัดแต่ละความเข้มข้นมาทดสอบการงอกเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขม ในจานเพาะเมล็ดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ที่รองพื้นด้วยกระดาษ

7. ใส่สารสกัด ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ต่อ 1 จาน จากนั้นวางเมล็ดพืชทดสอบ 10 เมล็ดต่อ 1 จาน

8. บันทึกจำนวนเมล็ดที่งอกเมื่อ 7 วันหลังปลูก วัดความยาวต้นและราก โดยกำหนดให้เมล็ดที่มีแรดิเคิล(radical) แทงออกมาจากเปลือกหุ้มเมล็ดอย่างน้อย 2 มิลลิเมตร นับว่างอก

9. วัดความยาวต้นและรากเฉพาะต้นกล้าที่มีชีวิตหลังปลูก 7 วัน

10. วิเคราะห์ผลการทดลองโดย เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ LSD

3.13.2 วิธีการทดสอบฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีของสารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

1. นำสารสกัดหยาบมาเจือจางด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 4,000 ppm แล้วเจือจางสารสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ให้มีความเข้มข้น 2,000 1,000 และ 500 ppm

2. นำสารสกัดแต่ละความเข้มข้นมาทดสอบการงอกเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขม ในจานเพาะเมล็ดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ที่รองพื้นด้วยกระดาษเพาะเมล็ด

3. จากนั้นวางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อให้ตัวทำละลายระเหยออกจนหมด จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงในจานเพาะเมล็ดปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร

4. นำสารสกัดแต่ละความเข้มข้นมาทดสอบการงอกเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขม ในจานเพาะเมล็ดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร ที่รองพื้นด้วยกระดาษ โดยมีน้ำกลั่นเป็นกรรมวิธีควบคุม (control)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ใส่สารสกัด ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ต่อ 1 จาน จากนั้นวางเมล็ดพืชทดสอบ 10 เมล็ดต่อ 1 จาน

6. บันทึกจำนวนเมล็ดที่งอกเมื่อ 7 วันหลังปลูก วัดความยาวต้นและราก โดยกำหนดให้เมล็ดที่มีแรดิคัล (radical) แทงออกมาจากเปลือกหุ้มเมล็ดอย่างน้อย 2 มิลลิเมตร นับว่างอก

7. วัดความยาวต้นและรากเฉพาะต้นกล้าที่มีชีวิตหลังปลูก 7 วัน

8. วิเคราะห์ผลการทดลองโดย เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ LSD

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 สารสกัดหยาบจากดาวเรือง

ทำการสกัดส่วนต่างๆ ของดาวเรือง ได้แก่ ดอก ใบ และเมล็ดด้วยเมทานอล จากนั้นระเหยเมทานอลออกจนแห้ง จะได้สารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของส่วนดอก ใบ และเมล็ด สามารถคำนวณเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดหยาบเพื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักของดาวเรืองแห้งได้ดังนี้

น้ำหนักแห้งของดอก	20.02	กรัม (100%)
น้ำหนักของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดอก	12.85	กรัม (64.18%)
น้ำหนักแห้งของเมล็ด	20.10	กรัม (100%)
น้ำหนักของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของเมล็ด	12.19	กรัม (60.64%)
น้ำหนักแห้งของใบ	453.46	กรัม (100%)
น้ำหนักของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของใบ	52.47	กรัม (11.57%)

สารสกัดหยาบเมทานอลถูกนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ การต้านอนุมูลอิสระ การต้านเชื้อจุลินทรีย์ และอัลลีโลพาที ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาเน้นศึกษาฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีของใบดาวเรือง โดยนำชั้นสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลมาสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบแบ่งส่วน (Solvent Partitioning Extraction) เพื่อจัดกลุ่มของสารองค์ประกอบด้วยคุณสมบัติความเป็นกลาง (NE fraction) และความเป็นกรด (AE fraction) สามารถคำนวณเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดหยาบเพื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลได้ดังนี้

น้ำหนักของสารสกัดชั้น NE	14.03	กรัม (3.09%)
น้ำหนักของสารสกัดชั้น AE	9.36	กรัม (2.06%)

4.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

จากการนำสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของส่วนต่างๆ ของดาวเรืองทดสอบการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าส่วนของดอกดาวเรืองออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1 ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากดาวเรือง

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีประสิทธิภาพและมีคุณสมบัติเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันมากกว่าสารธรรมชาติในกลุ่มอื่นๆ การศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในดาวเรืองจึงเป็นการทดสอบในขั้นตอนแรกที่สนใจ โดยการทดสอบจะเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิค จากการทดสอบพบว่าสารสกัดยาบชั้นเมทานอลของดอกดาวเรืองมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลมากที่สุด เท่ากับ 39.886 mg GAE/g dw รองลงมาคือสารสกัดหยาบของเมล็ดและใบดาวเรือง ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดาวเรือง

สารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดาวเรือง	ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก (mg GAE/g dw)
ดอก	39.886
ใบ	8.943
เมล็ด	13.738

4.2.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันในสารสกัดจากดาวเรืองกับ DPPH

สารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากดาวเรืองถูกนำมาทดสอบกับ Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบต่อการต้านอนุมูลอิสระโดยศึกษาการรวมตัวกับ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิระที่เสถียรในสารละลายที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จากการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบของดอกดาวเรืองมีการลดลงของความเข้มข้นของ DPPH จากสารละลายสีม่วงเป็นสีจางลง และมีค่า EC_{50} เท่ากับ 9.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT (2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol) มีค่าเท่ากับ 6.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบกับDPPH

สารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดาวเรือง	EC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
ดอก	9.5
ใบ	Inactive
เมล็ด	29.0

BHT มีค่า EC_{50} เท่ากับ 6.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์

ผลการทดสอบการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้สารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดอก ใบ และเมล็ดดาวเรือง โดยวิธีDisk diffusion method ดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้สารสกัดชั้นเมทานอลจากดาวเรือง

หมายเลข	เชื้อจุลินทรีย์	clear zone (มิลลิเมตร)			MIC (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)		
		ดอก	ใบ	เมล็ด	ดอก	ใบ	เมล็ด
1	*S. millerli* group	**18**	**8**	**8**	>500	>500	>500
2	*S. pneumoniae*	<8	<8	<8	>500	>500	>500
3	*S. mutans* 27175	<8	<8	<8	>500	>500	>500
4	*S. coag* negative	**14**	<8	<8	>500	>500	>500
5	*C. diptheriae*	<8	<8	<8	>500	>500	>500
6	*S. aureus* (MRSA)	<8	13	12	>500	**250**	**250**
7	*S. aureus* 25923	<8	<8	<8	>500	>500	>500
8	*B. subtilis* 26633	<8	<8	<8	>500	>500	>500
9	*B. pertussis*	<8	<8	<8	>500	>500	>500
10	*S. sobrinus*	**9**	**14**	**14**	>500	**125**	**125**
11	*V. cholerae*	**8**	<8	<8	>500	>500	>500
12	*V. parahaemolyticus*	**18**	<8	<8	>500	>500	>500
13	*S. aureus* (MRSA) 20625	**11**	**16**	**15**	>500	**62.5**	**62.5**
14	*S. aureus* (MRSA) 20626	**23**	**19**	**20**	>500	**31.5**	**31.5**
15	*S. aureus* (MRSA) 20627	**23**	**14**	<8	>500	**125**	>500
16	*S. aureus* (MRSA) 20628	**8**	**13**	**15**	>500	**125**	**125**
17	*S. aureus* (MRSA) 20630	**23**	<8	<8	>500	>500	>500
18	*S. aureus* (MRSA) 20631	<8	**15**	**15**	>500	**62.5**	**62.5**
19	*S. aureus* (MRSA) 20632	<8	**18**	**15**	>500	**31.125**	**62.5**
20	*S. aureus* (MRSA) 20633	**12**	**15**	**15**	>500	**62.5**	**62.5**
21	*S. aureus* (MRSA) 20634	**8**	**14**	**10**	>500	**31.25**	**125**
22	*S. aureus* (MRSA) 20635	**12**	**15**	**15**	>500	**62.5**	**62.5**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ) แสดงการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้สารสกัดชั้น เมทานอล จากดาวเรือง

หมายเลข	เชื้อจุลินทรีย์	clear zone (มิลลิเมตร)			MIC (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)		
		ดอก	ใบ	เมล็ด	ดอก	ใบ	เมล็ด
23	*S. aureus* (MRSA) 20636	**15**	**18**	**18**	>500	**15.6**	**15.6**
24	*S. aureus* (MRSA) 20650	**11**	**14**	**14**	>500	**125**	**250**
25	*S. aureus* (MRSA) 20651	**10**	**15**	**16**	>500	**125**	**62.5**
26	*S. aureus* (MRSA) 20652	**11**	**16**	**16**	>500	**125**	**125**
27	*S. aureus* (MRSA) 20653	**8**	**18**	**17**	>500	**62.5**	**62.5**
28	*S. aureus* (MRSA) 20654	**8**	**11**	**11**	>500	**500**	**250**
29	*S. aureus* (VRSA) 20622	<8	**11**	**11**	>500	**500**	**250**
30	*S. aureus* (VRSA) 20623	**8**	**14**	**13**	>500	**125**	**250**
31	*S. aureus* (VRSA) 20624	**8**	**13**	**13**	>500	**250**	**250**
32	*S. aureus* (VRSA) 20683	**11**	**15**	**15**	>500	**125**	**125**
33	*E. faecalis* (VRE) 4737	<8	<8	<8	>500	>500	>500
34	*C. albicans*	<8	<8	<8	>500	>500	>500
35	*C. krucei*	<8	<8	<8	>500	>500	>500
36	*C. tropicalis*	**10**	**8**	**8**	>500	>500	>500

B = *Bacillus* V = *Vibrio* S = *Streptococcus* E = *Enterococcus*

C = *Candida*

ค่า MIC เทียบกับยา Vancomycin แสดงค่า MIC 4 และ 8 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

จากตารางที่ 4.3 จะเห็นว่าใบและเมล็ดดาวเรืองสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus aureus* ได้ดี มีค่า MIC (Minimum inhibitory concentration) น้อยกว่า 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แบคทีเรียชนิดนี้ย้อมติดสีแกรมบวก (gram positive bacteria) มีรูปร่างเป็นทรงกลม (cocus) อยู่รวมกันเป็นพวงคล้ายพวงองุ่น เจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ แต่เจริญได้ดีกว่าในสภาวะที่มีอากาศ เป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ นอกจากนั้นยังพบว่าใบและเมล็ดดาวเรืองสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. sobrinus* มีค่า MIC 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แบคทีเรียชนิดนี้ย้อมติดสีแกรมลบ (gram negative bacteria) มีบทบาทสำคัญในการทำให้ฟันผุ มันจะสลายน้ำตาลซูโครสให้กลายเป็นกรดแลกติก สภาพความเป็นกรดที่เกิดขึ้นในปากโดยกระบวนการนี้เป็นสาเหตุให้เกิดการทำลายสารเคลือบฟันนำไปสู่ฟันผุในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

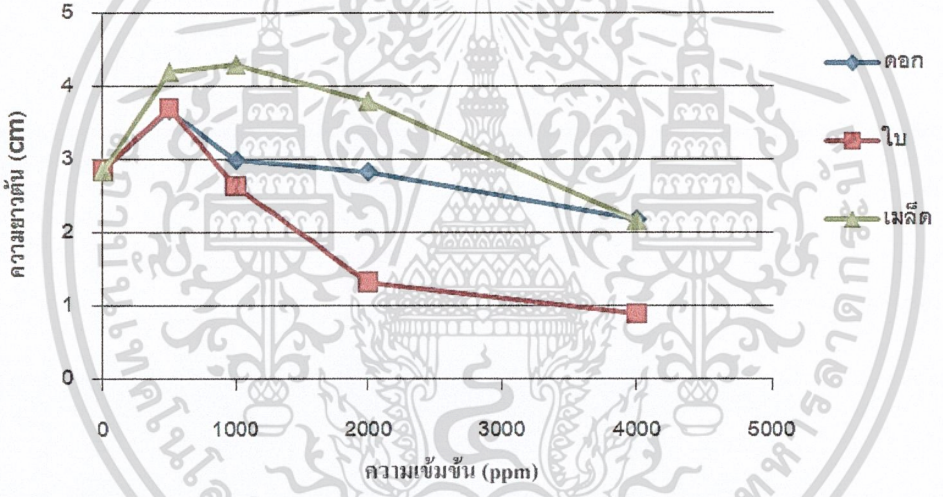
4.4 การศึกษาฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีของสารสกัดจากดาวเรือง

4.4.1 การทดสอบฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีในสารสกัดชั้นน้ำ

ผลจากการนำสารสกัดชั้นน้ำของดอก ใบ และเมล็ดดาวเรือง มาใช้ในการปลูกผักโขมจีน พบว่า ผักโขมจีนทั้งหมดมีราขึ้น จึงไม่สามารถวิเคราะห์ผลได้จากสารสกัดชั้นน้ำของดาวเรือง

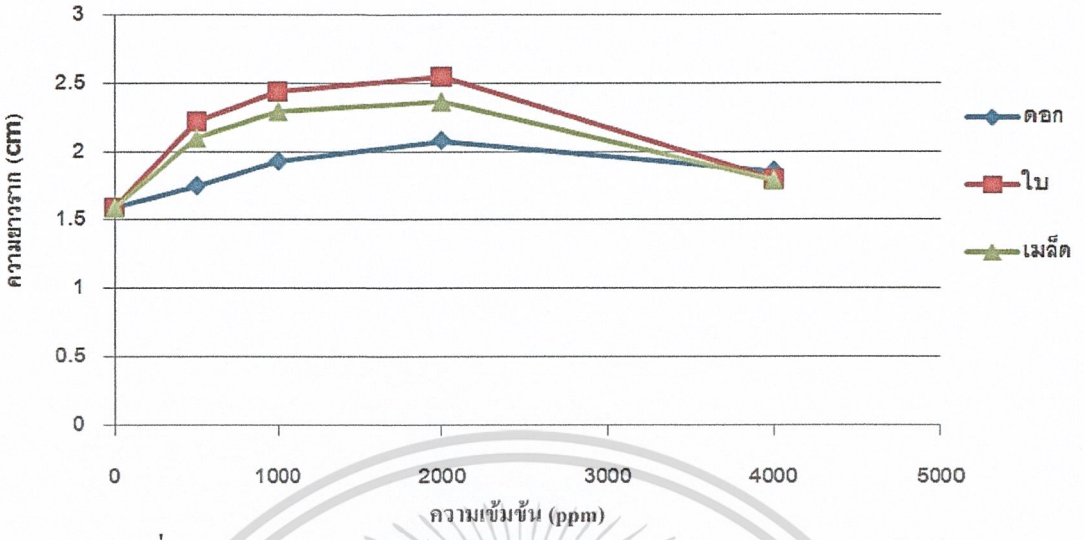
4.4.2 การทดสอบฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีในสารสกัดชั้นเมทานอล ชั้น NE และชั้น AE

จากการทดสอบฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีของดาวเรือง โดยนำสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดอก ใบ และเมล็ดดาวเรือง พบว่าในส่วนของใบดาวเรืองมีผลยับยั้งความยาวส่วนต้นของต้นกล้าผักโขมจีนที่ระดับความเข้มข้นความเข้มข้น 2000 และ 4000 ppm (รูปที่ 4.1) แต่ไม่ยับยั้งความยาวส่วนรากของต้นกล้าผักโขมจีน (รูปที่ 4.2) เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น



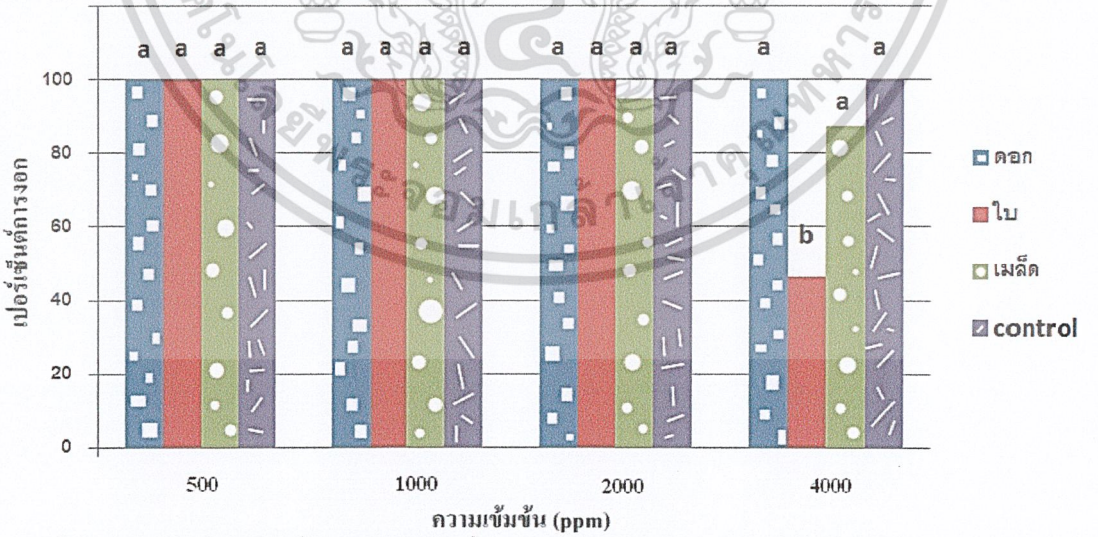
รูปที่ 4.1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวต้นผักโขมจีนกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดาวเรือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวรากผักโขมจีนกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดาวเรือง

จากการหาเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักโขมจีนจากสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดาวเรือง พบว่าที่ระดับความเข้มข้นความเข้มข้น 500 1000 และ 2000 ppm เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักโขมจีนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และที่ระดับความเข้มข้น 4000 ppm ใบดาวเรืองสามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ดีที่สุด คือ 55 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.3) เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

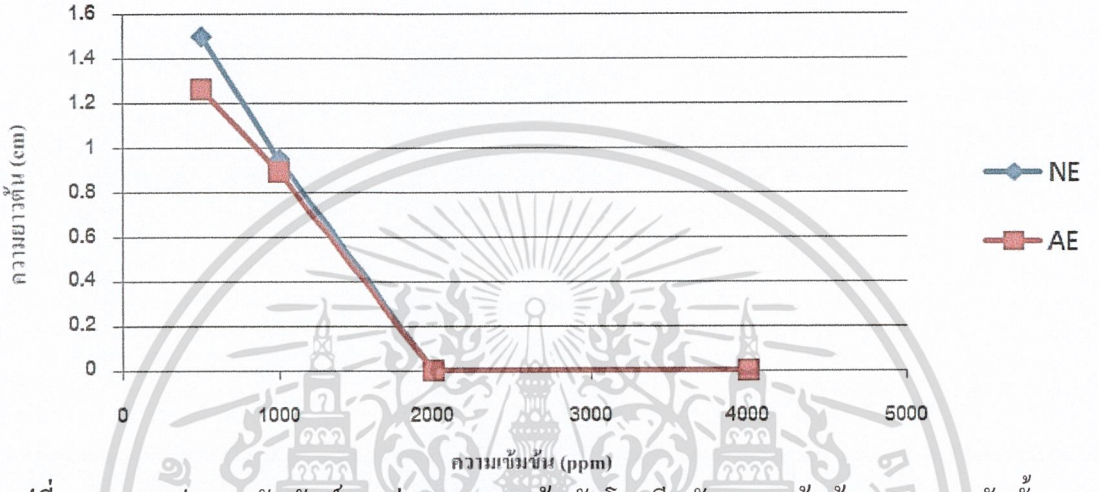


ค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยวัดผลที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละแผนภูมิ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

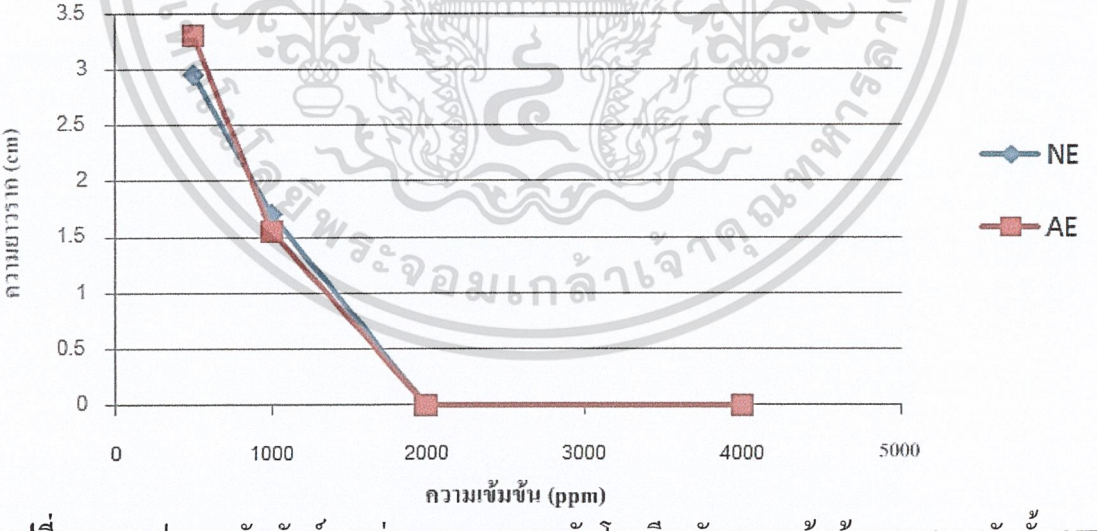
รูปที่ 4.3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขม กับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดาวเรือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำสารสกัดชั้นเมทานอลมาสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบแบ่งส่วน และเมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ทางอัลลีโลพาที ในด้านการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมจีนในชั้นสารสกัด NE และ AE พบว่า สารสกัดทั้งสองชั้นสามารถยับยั้งความยาวต้นและความยาวรากของต้นกล้าผักโขมจีน ที่ระดับความเข้มข้น 2000 และ 4000 ppm (รูปที่ 4.4 และ รูปที่ 4.5) เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น จึงนำชั้น NE และ AE ไปแยกสารส่วนย่อยโดยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี



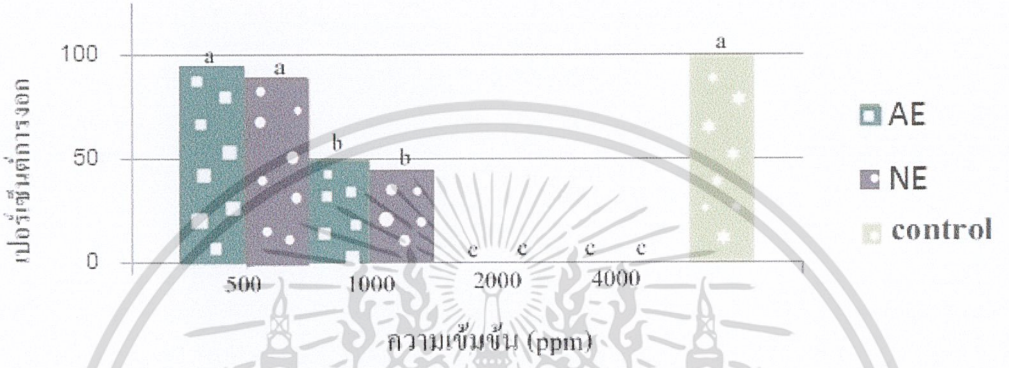
รูปที่ 4.4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวต้นผักโขมจีนกับความเข้มข้นของสารสกัดชั้น NE และ AE ของใบดาวเรือง



รูปที่ 4.5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวรากผักโขมจีน กับความเข้มข้นของสารสกัดชั้น NE และAE ของใบดาวเรือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการหาเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักโขมจีนจากสารสกัดชั้น AE และ NE ของใบดาวเรือง พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักโขมจีนจากสารสกัดชั้น AE และ NE ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และที่ความเข้มข้น 2000 และ 4000 สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ดีที่สุด คือ100 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.6)



ค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยวัดผลที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละแผนภูมิ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

รูปที่ 4.6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีน
กับความเข้มข้นของสารสกัดชั้น AE และ NE

4.4.3. การทดสอบฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีในส่วนย่อยของชั้น NE

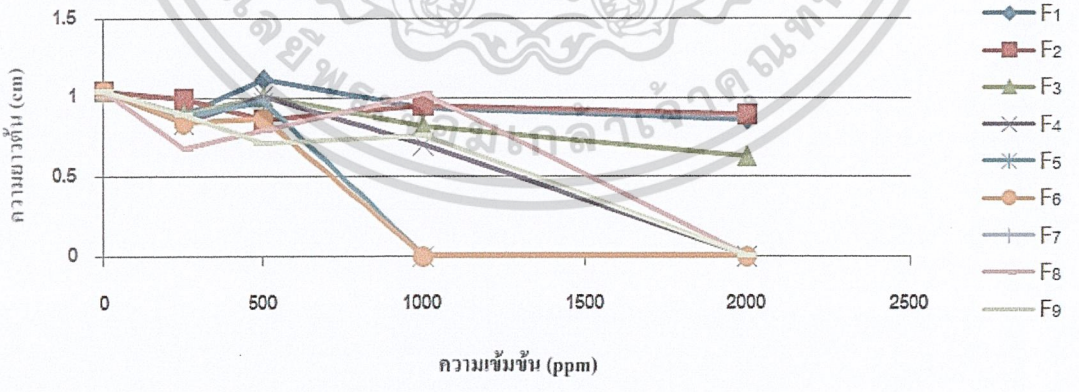
จากการนำสารสกัดหยาบชั้น NE มาแยกสารส่วนย่อยด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี โดยใช้เฮกเซนและเพิ่มความมีขั้วของตัวชะสารด้วยเอทิล แอซิเตต เมื่อจัดกลุ่มสารด้วยเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟีโดยพิจารณาจากการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร และการเกิดสีเฉพาะตัวของสารแต่ละชนิดที่เป็นองค์ประกอบเมื่อทำปฏิกิริยากับ anisaldehyde reagent จากเทคนิคทั้งสองนี้ทำให้สามารถจัดกลุ่มสารส่วนย่อยได้ทั้งหมด 9 ส่วนย่อย คิดเป็นน้ำหนักและเปอร์เซ็นต์เทียบกับสารสกัดหยาบ ดังแสดงผลตารางที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 น้ำหนักของสารสกัดส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดหยาบชั้น NE 14.03 กรัม (100%)

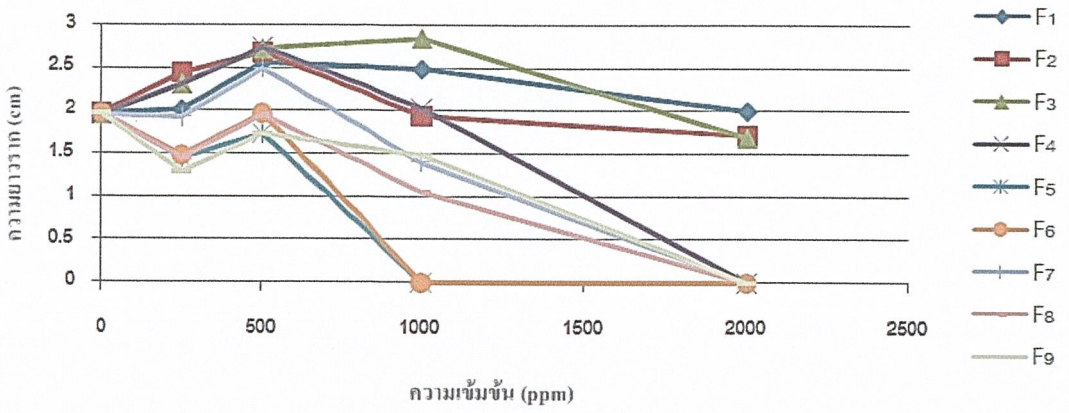
สารสกัดส่วนย่อย	น้ำหนัก (กรัม)	เปอร์เซ็นต์
F1	1.128	8.039
F2	0.153	1.090
F3	0.177	1.261
F4	0.482	3.435
F5	0.511	3.642
F6	6.030	42.97
F7	2.135	15.21
F8	0.585	4.169
F9	0.124	0.884
รวม	11.914	80.700

เมื่อนำสารสกัดส่วนย่อย F1-F9 ไปทดสอบฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีโดยใช้ผักโขมจีน พบว่าสารส่วนย่อย F5 และ F6 มีผลยับยั้งความยาวต้นและความยาวรากของต้นกล้าผักโขมจีนที่ระดับความเข้มข้น 1000 และ2000 ppm ดังแสดงในรูปที่ 4.7 และ 4.8 ซึ่งสารส่วนย่อย F5 ถูกชะออกจากคอลัมน์ในอัตราส่วนระหว่างเฮกเซนต่อเอทิล แอซิเตต (50 : 50) และ F6 ถูกชะออกจากคอลัมน์ในอัตราส่วนระหว่างเฮกเซนต่อเอทิลแอซิเตต (40 : 60 และ 35 : 65)



รูปที่ 4.7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวความยาวต้นผักโขมจีน กับความเข้มข้นของส่วนย่อยชั้นNE (F1-F9)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวความยาวรากผักโขมจีน กับความเข้มข้นของส่วนย่อยชั้น NE (F1-F9)

จากการหาเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีนจากสารส่วนย่อยชั้น NE (F1-F9) ที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm พบว่าส่วนย่อยที่สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ดีที่สุดคือ ส่วนย่อยที่ 4 5 6 7 8 และ 9 ซึ่งยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.9)

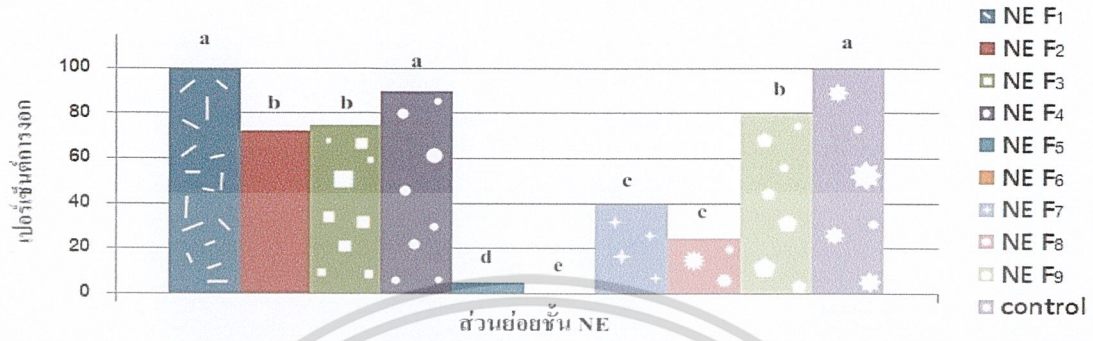
ค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยวัดผลที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละแผนภูมิ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

รูปที่ 4.9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีน กับส่วนย่อยชั้น NE (F1-F9) ที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm

ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm พบว่าส่วนย่อยที่สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ดีที่สุดคือ ส่วนย่อยที่ 6 สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.10) ที่ความเข้มข้น 500 ppm พบว่าส่วนย่อยที่สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ดีที่สุดคือ ส่วนย่อยที่ 1 และ 3 สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ 7.5 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.11) และ

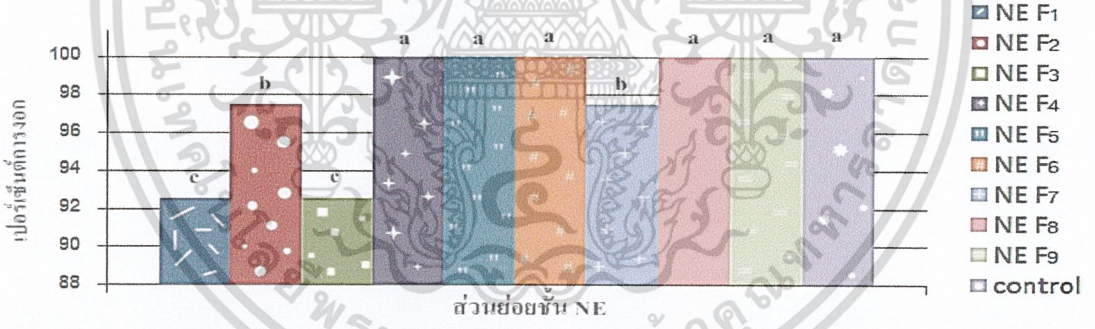
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ความเข้มข้น 250 ppm พบว่าส่วนย่อยที่สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ดีที่สุดคือ ส่วนย่อยที่ 2 สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ 14 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.12)



ค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยวัดผลที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละแผนภูมิ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

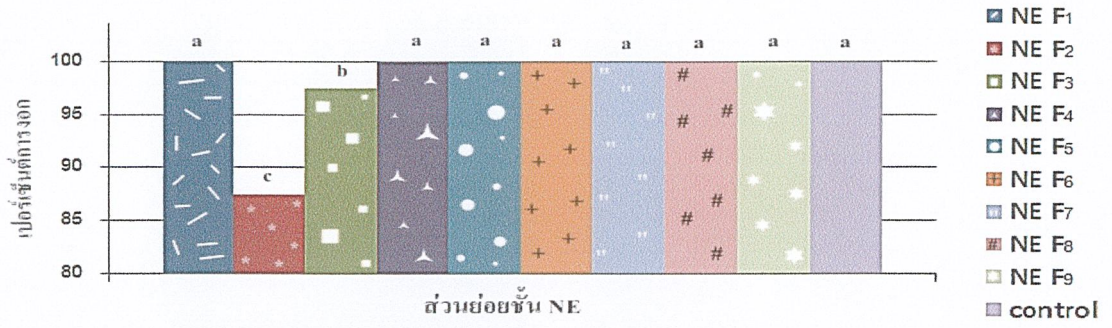
รูปที่ 4.10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีนกับส่วนย่อยชั้น NE (F1- F9) ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm



ค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยวัดผลที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละแผนภูมิ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

รูปที่ 4.11 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีน กับส่วนย่อยชั้น NE (F1-F9) ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยวัดผลที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละแผนภูมิ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

รูปที่ 4.12 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีนกับส่วนย่อยชั้น NE (F1-F9) ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm

4.4.4. การทดสอบฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีในส่วนย่อยของชั้น AE

จากการนำสารสกัดหยาบชั้น AE มาแยกด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี โดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีชั้น NE สามารถจัดกลุ่มสารส่วนย่อยได้ทั้งหมด 7 ส่วน คิดเป็นน้ำหนักและเปอร์เซ็นต์เทียบกับสารสกัดหยาบ ดังแสดงผลตารางที่ 4.5

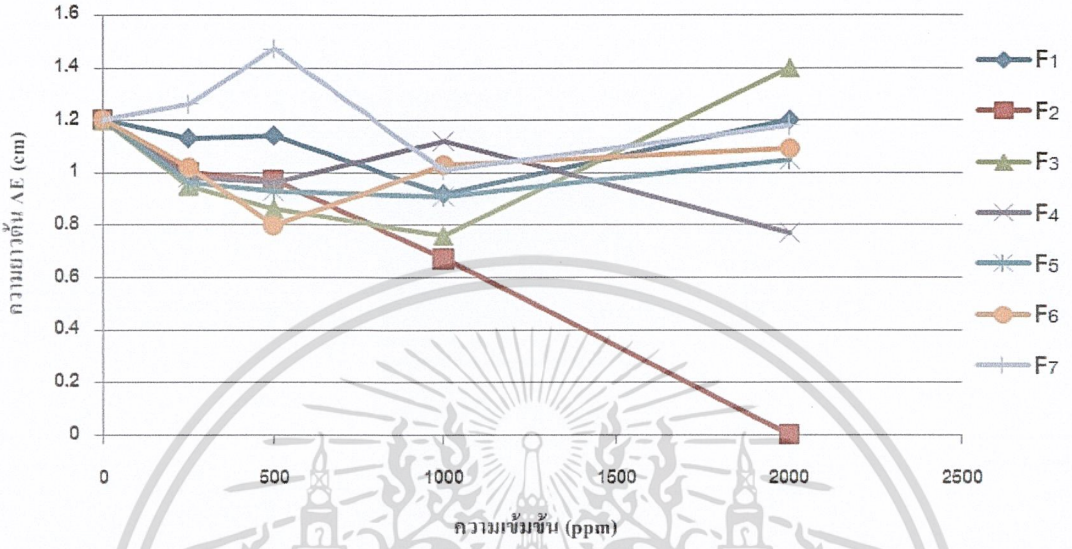
ตารางที่ 4.5 น้ำหนักของสารสกัดส่วนย่อยที่แยกได้จากสารสกัดหยาบชั้น AE 9.36 (100%)

สารสกัดส่วนย่อย	น้ำหนัก (กรัม)	เปอร์เซนต์
F1	0.3769	4.027
F2	0.4801	5.129
F3	0.6255	6.683
F4	0.1596	1.705
F5	0.3611	3.858
F6	0.9162	9.788
F7	2.0337	21.720
รวม	4.9531	52.91

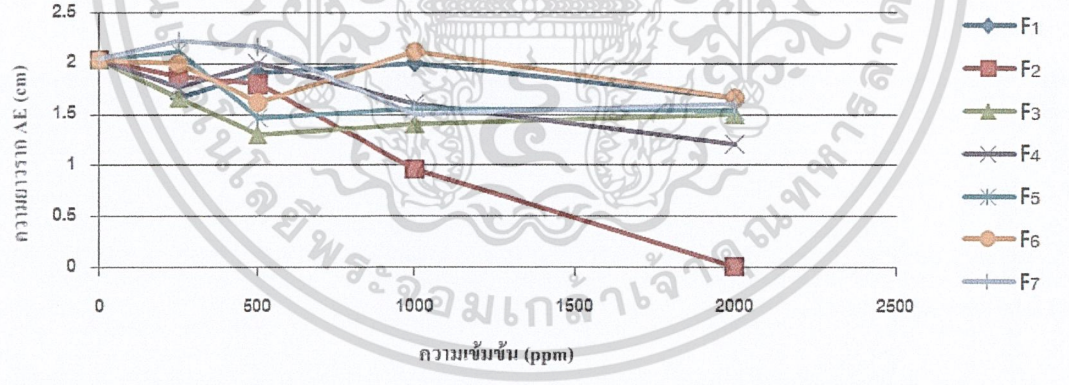
เมื่อนำสารสกัดส่วนย่อย F1-F7 ไปทดสอบฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีโดยใช้ผักโขมจีน พบว่าสารส่วนย่อย F2 มีผลยับยั้งความยาวต้นและความยาวรากของต้นกล้าผักโขมจีนได้ดีที่สุด ที่ความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้น 2000 ppm ดังแสดงในรูปที่ 4.13 และ 4.14 ซึ่งสารส่วนย่อย F2 ถูกชะออกจากคอลัมน์ในอัตราส่วนระหว่างเอกเซนต่อเอทิลแอซิเตต (80 : 20 75 : 25 และ 70 : 30)



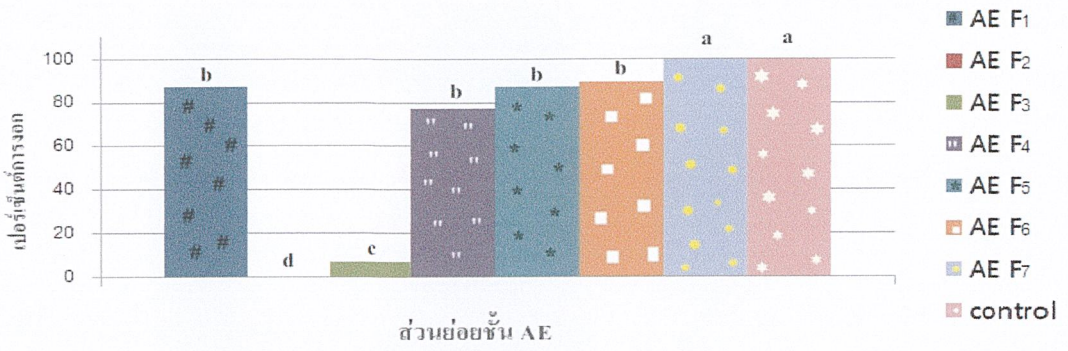
รูปที่ 4.13 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวต้นผักโขมจีน กับความเข้มข้นของส่วนย่อยชั้น AE (F1-F7)



รูปที่ 4.14 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความยาวรากผักโขมจีน กับความเข้มข้นของส่วนย่อยชั้น AE (F1-F7)

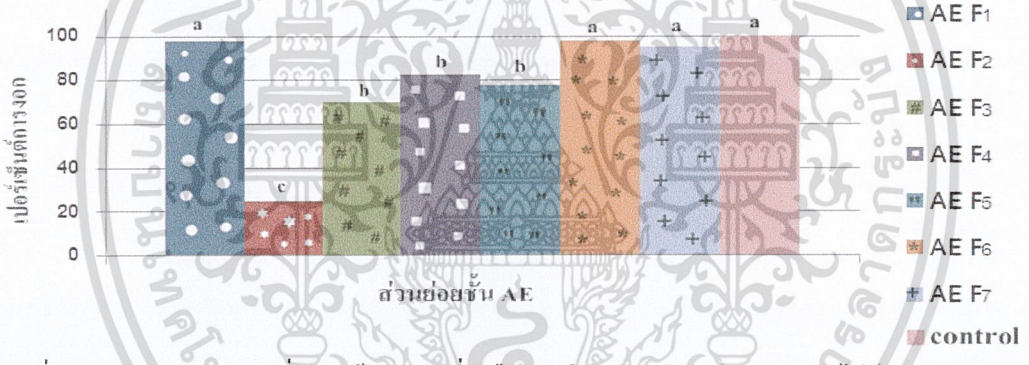
จากการหาเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีนจากสารส่วนย่อยชั้นAE (F1-F7) สารส่วนย่อย F2 ที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ดีที่สุด โดยยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้อย่างสมบูรณ์ (รูปที่ 4.15) และที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ 75 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.16)

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยวัดผลที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละแผนภูมิ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

รูปที่ 4.15 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีนกับส่วนย่อยชั้น AE (F1-F7) ที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm

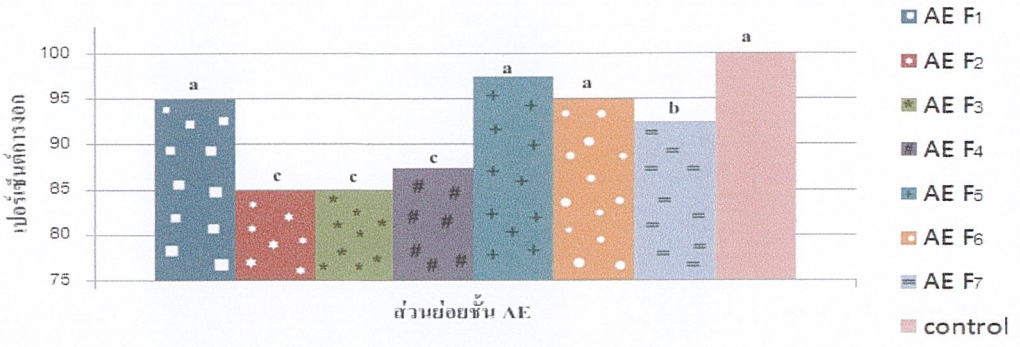


ค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยวัดผลที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละแผนภูมิ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

รูปที่ 4.16 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีน กับส่วนย่อยชั้น AE (F1-F7) ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm

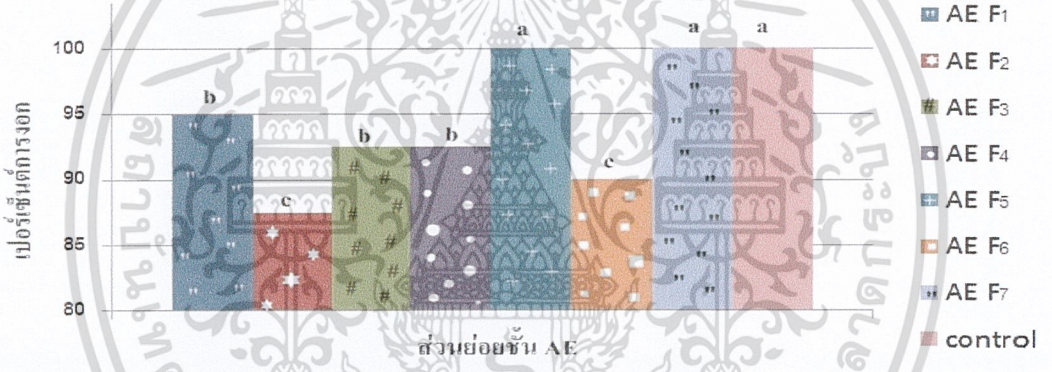
ที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 250 ppm พบว่าส่วนย่อย F2 และ F3 สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ 15 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 4.17 และ 4.18)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยวัดผลที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละแผนภูมิ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

รูปที่ 4.17 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีนกับส่วนย่อยชั้น AE (F1-F7) ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm



ค่าเฉลี่ยของแต่ละหน่วยวัดผลที่กำกับด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละแผนภูมิ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

รูปที่ 4.18 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การงอกของผักโขมจีนกับส่วนย่อยชั้น AE (F1-F7) ที่ระดับความเข้มข้น 250 ppm

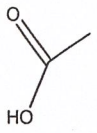
4.5 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรสโกปี (GC-MS)

4.5.1 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรสโกปีจากดอกดาวเรือง

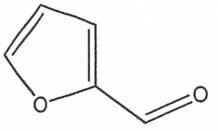
จากการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรสโกปี พบสารสำคัญจากสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดอกดาวเรืองคือ Acetic acid **94** Furfural **95** 1,1-Di-isobutylhydrazine **96** 5-Methyl-2-furfural **97** 4-Cyclopentene-1,3-dione **98** 2-Furanmethanol **99** 2-Methylpent-1-en-3-ol **100** Glycerol **101** 2,6-Dimethoxyphenol **102** 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydropyran-4-one **103** Methyl myristate **104** Methyl palmitate **105** Methyl stearate **106** Methyl-8,11-

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ลบข้อความนี้ออก

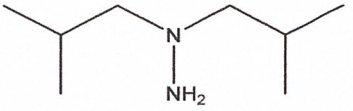
octadecadienoate **107** 5-(Hydroxymethyl)furan-2-carbaldyhyde **108** Methyl linolenate **109** Tetradecanoic acid **110** และ Hexadecanoic acid **111** มีโครงสร้างแสดงดังรูปที่ 4.19



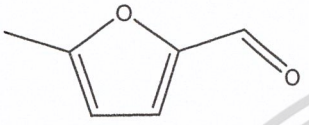
Acetic acid **94**



Furfural **95**

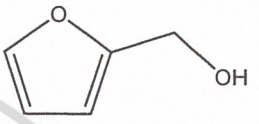


1,1-Di-isobutylhydrazine **96**

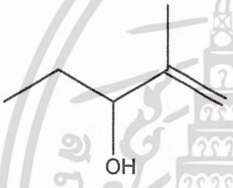


5-Methyl-2-furfural **97**

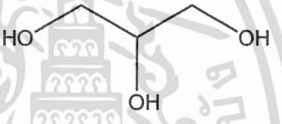
4-Cyclopentene-1,3-dione **98**



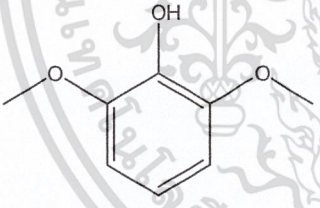
2-Furanmethanol **99**



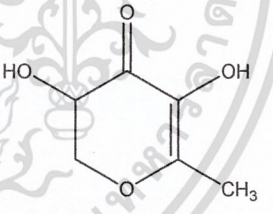
2-Methylpent-1-en-3-ol **100**



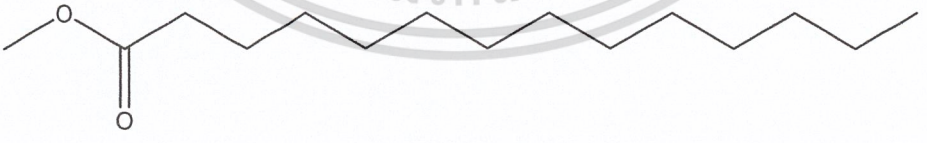
Glycerol **101**



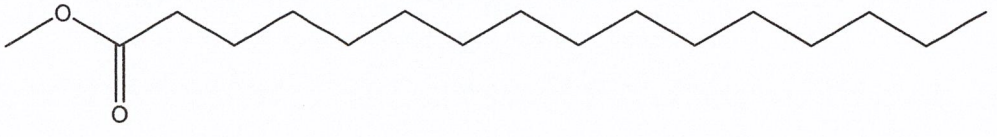
2,6-Dimethoxyphenol **102**



3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydropyran-4-one **103**

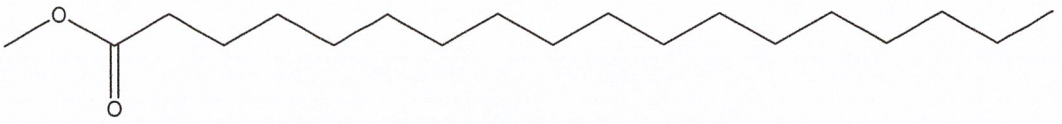


Methyl myristate **104**

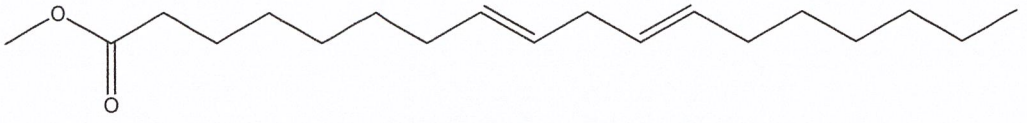


Methyl palmitate **105**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Methyl stearate **106**



Methyl-8,11-octadecadienoate **107**

5-(Hydroxymethyl)furan-2-carbaldyhyde **108**

Methyl linolenate **109**

Tetradecanoic acid **110**

Hexadecanoic acid **111**

รูปที่ 4.19 โครงสร้างสารสำคัญจากชั้นสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากดอกดาวเรือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงไอออนส่วนย่อยของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากดอกดาวเรือง

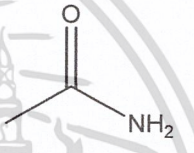
Compounds	RT (นาที)	Formula	MW	Fragment ion(m/z)
Acetic acid **94**	9.447	$C_2H_4O_2$	60	60, 43, 31
Furfural **95**	9.646	$C_5H_4O_2$	96	96, 81, 67, 51, 39
1,1-Di-isobutylhydrazine **96**	10.353	$C_8H_{18}N_2$	144	144, 126, 111, 101, 84, 73, 55, 43, 32
5-Methyl-2-furfural **97**	11.038	$C_6H_6O_2$	110	110, 95, 81, 69, 53, 43, 32
4-Cyclopentene-1,3-dione **98**	11.205	$C_5H_4O_2$	96	96, 85, 68, 54, 42, 31
2-Furanmethanol**99**	12.009	$C_5H_6O_2$	98	98, 81, 69, 53, 41
2-Methylpent-1-penten-3-ol **100**	13.800	$C_6H_{12}O$	100	100, 84, 71, 57, 43, 31
Methyl myristate **104**	15.759	$C_{15}H_{30}O_2$	242	242, 211, 199, 185, 143, 129, 112, 98, 87, 74, 55, 43, 31
Methyl palmitate **105**	18.128	$C_{17}H_{34}O_2$	270	270, 239, 227, 199, 185, 143, 129, 97, 87, 74, 55, 43, 31
2,6-Dimethoxyphenol **102**	18.932	$C_8H_{10}O_3$	154	154, 139, 125, 111, 96, 79, 65, 51, 39
3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydropyran-4-one **103**	19.099	$C_6H_8O_4$	144	144, 115, 101, 85, 72, 55, 43, 31
Glycerol **101**	19.752	$C_3H_8O_3$	61	61, 43, 31
Methyl stearate **106**	21.775	$C_{19}H_{38}O_2$	298	298, 281, 267, 255, 241, 227, 213, 199, 185, 171, 157, 143, 129, 115, 101, 87, 74, 55, 43, 31
Methyl-8,11-octadecadienoate **107**	23.200	$C_{19}H_{34}O_2$	294	294, 263, 234, 220, 192, 178, 164, 150, 136, 123, 109, 95, 81, 67, 55, 41
5-(Hydroxymethyl)furan-2-carbaldyhyde **108**	23.405	$C_6H_6O_3$	126	126, 109, 97, 81, 69, 53, 41, 31
Methyl linolenate **109**	24.511	$C_{19}H_{32}O_2$	292	292, 261, 236, 223, 191, 178, 163, 149, 135, 121, 108, 95, 79, 67, 55, 41
Tetradecanoic acid **110**	27.408	$C_{14}H_{28}O_2$	228	228, 199, 185, 171, 157, 143, 129, 110, 97, 85, 73, 60, 43, 31
Hexadecanoic acid**111**	34.029	$C_{16}H_{30}O_2$	256	256, 239, 227, 199, 185, 171, 157, 143, 129, 115, 97, 83, 73, 60, 43, 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

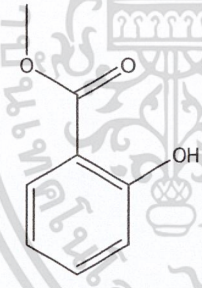
4.5.2 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรสโกปีจากเมล็ดดาวเรือง

จากการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรสโกปี พบสารสำคัญจากสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของเมล็ดดาวเรืองคือ Acetic acid **94** 5-Methyl-2-furfural **97** 3,7,7-Trimethylbicyclo[4.1.0]hept-3-ene **112** Acetamide **113** Methyl salicylate **114** 1,1-Dimethylallyl alcohol **115** 4a-Methyl-*trans*-2-decalinone **116** 2-Methoxy-4-vinylphenol **117** Methyl palmitate **105** 2,6-Dimethoxyphenol **102** 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydropyran-4-one**103** 2,4-Di-*tert*-butylphenol **118** Glycerol **101** 4-Vinylphenol **119** Methyl stearate **106** Methyl oleate **120** Methyl-8,11-octadecadienoate **107** 5-Hydroxymethyl-2-furancarboxaldehyde **108** DL-Proline,5-oxo-methylester **121** และ Cetylic acid **122**

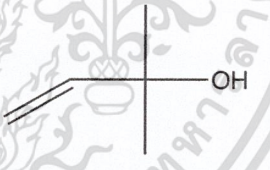
3,7,7-Trimethylbicyclo[4.1.0]hept-3-ene **112**



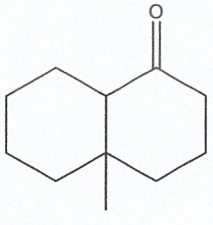
Acetamide **113**



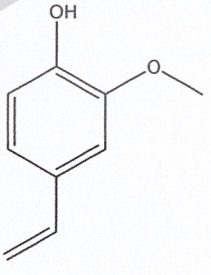
Methyl salicylate **114**



1,1-Dimethylallyl alcohol **115**

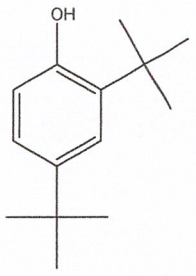


4a-Methyl-*trans*-2-decalinone **116**

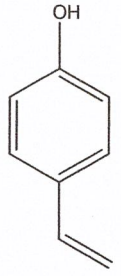


2-Methoxy-4-vinylphenol **117**

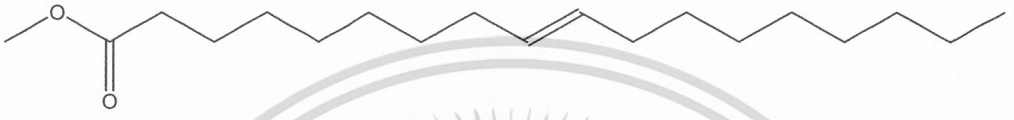
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



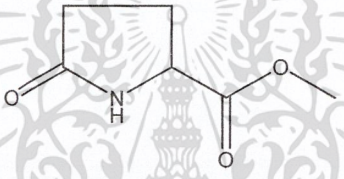
2,4-Di-*tert*-butylphenol **118**



4-Vinylphenol **119**



Methyl oleate **120**



DL-Proline,5-oxo-methylester **121**

Cetylic acid **122**

รูปที่ 4.20 โครงสร้างสารสำคัญจากชั้นสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากเมล็ดดาวเรือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 แสดงไอออนส่วนย่อยของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากเมล็ดดาวเรือง

Compounds	RT (นาที)	Formula	MW	Fragment ion(m/z)
Acetic acid**94**	9.468	$C_2H_4O_2$	60	60, 43, 31
5-Methyl-2-furfural**97**	11.033	$C_6H_6O_2$	110	110, 95, 81, 69, 53, 39
3,7,7-Trimethylbicyclo[4.1.0]hept-3-ene**112**	13.024	$C_{10}H_{14}O$	150	150, 135, 122, 107, 91, 79, 66, 53, 39
Acetamide**113**	13.213	C_2H_5NO	84	84, 71, 59, 44, 32
Methyl salicylate**114**	13.455	$C_7H_8O_3$	152	152, 139, 120, 103, 92, 81, 65, 45, 32
1,1-Dimethylallyl alcohol**115**	13.787	$C_5H_{10}O$	86	86, 84, 71, 57, 43, 31
4a-Methyl-*trans*-2-decalinone**116**	15.873	$C_{11}H_{18}O$	166	166, 151, 137, 123, 105, 95, 83, 69, 55, 41, 30
2-Methoxy-4-vinylphenol**117**	17.939	$C_9H_{10}O_2$	150	150, 135, 121, 107, 89, 77, 63, 51, 39
Methyl palmitate**105**	18.117	$C_{17}H_{34}O_2$	270	270, 239, 227, 213, 199, 185, 171, 157, 143, 129, 115, 101, 87, 74, 55, 43, 32
2,6-Dimethoxyphenol**102**	18.916	$C_8H_{10}O_3$	154	154, 139, 125, 111, 96, 81, 65, 51, 39
3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydropyran-4-one**103**	19.072	$C_6H_8O_4$	144	144, 126, 115, 101, 85, 72, 55, 43, 31
2,4-Di-*tert*-butylphenol**118**	19.520	$C_{14}H_{22}O$	206	206, 191, 175, 163, 147, 128, 115, 103, 91, 74, 57, 41, 30
Glycerol**101**	19.763	$C_3H_8O_3$	92	92, 74, 61, 43, 31
4-Vinylphenol**119**	21.166	C_8H_8O	120	120, 105, 91, 77, 65, 51, 39
Methyl stearate**106**	21.759	$C_{19}H_{38}O_2$	298	298, 281, 267, 255, 241, 227, 213, 199, 185, 171, 157, 143, 129, 115, 101, 87, 74, 55, 43, 32
Methyl oleate**120**	22.218	$C_{19}H_{36}O_2$	296	296, 278, 264, 246, 231, 220, 207, 194, 180, 166, 152, 138, 123, 111, 97, 83, 69, 55, 41

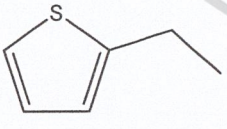
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 (ต่อ) แสดงไอออนส่วนย่อยของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากเมล็ดดาวเรือง

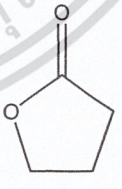
Compounds	RT (นาที)	Formula	MW	Fragment ion(m/z)
Methyl-8,11-octadecadienoate**107**	23.194	$C_{19}H_{34}O_2$	294	294, 281, 263, 251, 234, 220, 207, 192, 178, 164, 150, 135, 123, 109, 95, 81, 67, 55, 41
5-Hydroxymethyl-2-furancarboxaldehyde**108**	23.367	$C_6H_6O_3$	126	126, 109, 97, 81, 69, 53, 41
Glycerol**101**	19.763	$C_3H_8O_3$	92	92,74,61,43,31
Methyl-8,11-octadecadienoate**107**	23.194	$C_{19}H_{34}O_2$	294	294,263,251,234,220,207, 192,178,164,150,135,123, 109,95,81,67,55,41
DL-Proline,5-oxo-methylester**121**	25.434	$C_6H_9O_3N$	143	143,117,105,84,69,56,41
Cetylic acid**122**	34.088	$C_{16}H_{32}O_2$	256	256,213,199,185,171,157, 143,129,115,97,85,73,60,43

4.5.3 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรสโกปีจากใบดาวเรือง

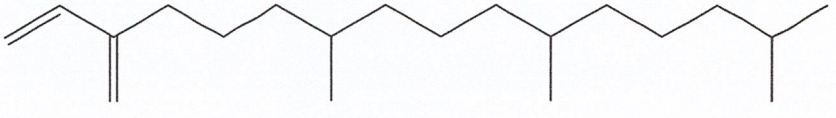
จากการวิเคราะห์ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรสโกปี พบสารสำคัญจากสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของใบดาวเรืองคือ Acetic acid **94** 2-Ethylthiophene **123** Butyrolactone **124** Neophytadiene **125** Furaneol **126** Butyrolactam **127** 6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone **128** Methyl palmitate **105** 2,6-Dimethoxyphenol **102** Glycerol **101** 4-Vinylphenol **119** Methyl-9,12,15-octadecatrienoate **129** N,N-Dimethylcyclohexylamine **130** และ Palmitinic acid **131**



2-Ethylthiophene **123**

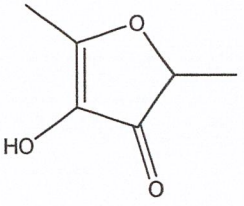


Butyrolactone **124**

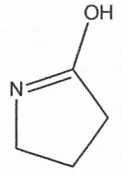


Neophytadiene **125**

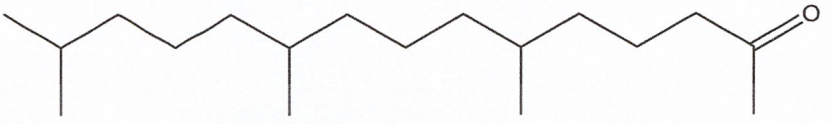
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Furaneol **126**



Butyrolactam **127**



6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone **128**

Methyl-9,12,15-octadecatrienoate **129**

N,N-Dimethylcyclohexylamine **130**

Palmitinic acid **131**

รูปที่ 4.21 โครงสร้างสารสำคัญจากชั้นสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากใบดาวเรือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

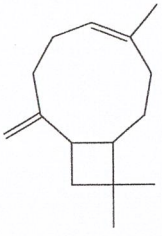
ตารางที่ 4.8 แสดงไอออนส่วนย่อยของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากใบดาวเรือง

Compounds	RT (นาที)	Formula	MW	Fragment ion(m/z)
Acetic acid **94**	9.473	$C_2H_4O_2$	60	60,43,31
2-Ethylthiophene **123**	11.211	C_6H_8S	122	122,97,78,63,43
Butyrolactone **124**	11.799	$C_4H_6O_2$	86	86,71,56,42,31
Neophytadiene **125**	14.842	$C_{20}H_{38}$	278	278,263,249,236,222,208,193,179,165,151,137,123,109,95,82,68,57,43,32
Furaneol **126**	16.078	$C_6H_8O_3$	128	128,102,85,71,57,43,31
Butyrolactam **127**	16.283	C_4H_6NO	85	85,71,56,41
6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone **128**	16.973	$C_{18}H_{36}O$	268	268,250,236,225,210,194,179,167,156,137,124,109,97,85,71,58,43,32
Methyl palmitate **105**	18.122	$C_{17}H_{34}O_2$	270	270,252,239,227,213,199,185,171,157,143,129,115,101,87,74,55,43,32
2,6-Dimethoxyphenol **102**	18.916	$C_8H_{10}O_3$	154	154,139,123,111,96,85,74,55,43,32
Glycerol **101**	19.806	$C_3H_8O_3$	92	92,74,61,43,31
4-Vinylphenol **119**	21.187	C_8H_8O	120	120,91,65,51,39
Methyl-9,12,15-octadecatrienoate **129**	24.511	$C_{19}H_{32}O_2$	292	292,261,236,223,191,179,163,149,135,121,108,95,79,67,55,41
N,N-Dimethylcyclohexylamine **130**	25.455	$C_8H_{16}N$	127	127,111,95,84,71,56,41
Palmitinic acid **131**	34.077	$C_{16}H_{32}O_2$	156	156,213,199,185,171,157,143,129,115,97,85,73,60,43

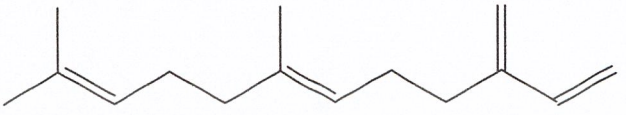
พบสารสำคัญจากสารสกัดชั้น NE ของใบดาวเรืองคือ Caryophyllene **132** *trans*-β-Farnesene **133** Bicyclo[3.1.0]hexane,6-isopropylidene-1-methy l**134** α-Humalene **135** 1,8-Menthadiene-4-ol **136** α- Terpineol **137** Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene,2,6-dimethyl-6(4-methyl-3-pentenyl) **138** Piperitone **139** E,E-alpha-Farnesene **140** *cis*-Geraniol **141** Methyl dodecanoate **142** *tert*-Butylbenzene **143** *p*-Meth-1-en-9-yl acetate **144** *trans*-Carveol **145** *p*-Cymen-8-ol **146** Neophytadiene Piperitenone **147** *m*-Ethyl cumene **148** Phytol **149** Caryophyllene oxide **150** *trans*-Nerolidol **151** 6,10,14-trimethyl-2-Pentadecanone **152** Spathulenol **153** Methyl palmitate **154** Methyl palmitoleate **105** Isophytpl **155** Methyl stearate **106** Methyl oleate **120**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

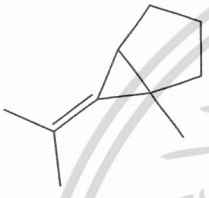
Methyl linolenate **109** 3-Hydroxymethyl-6-(methylethyl)-2-cyclohexenone **156** และ Dioctyl adipate **157**



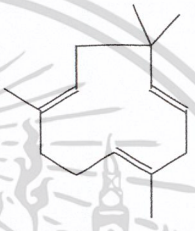
Caryophyllene **132**



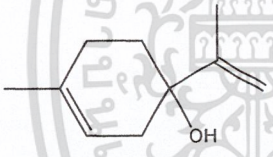
trans-β-Farnesene **133**



Bicyclo[3.1.0]hexane,6-isopropylidene-1-methyl **134**

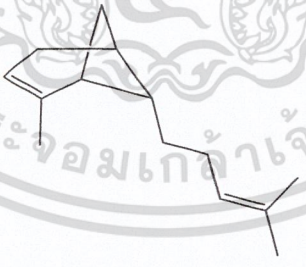


α-Humalene **135**

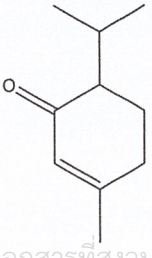


1,8-Menthadiene-4-ol **136**

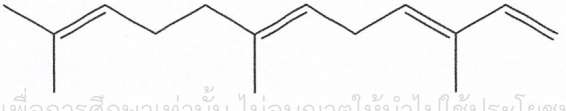
α- Terpineol **137**



Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene,2,6-dimethyl-6(4-methyl-3-pentenyl) **138**

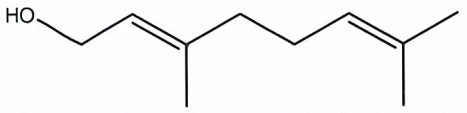


Piperitone **139**

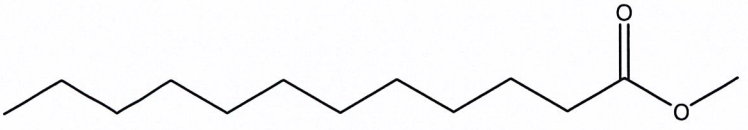


E,E-alpha-Farnesene **140**

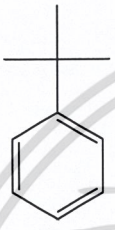
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



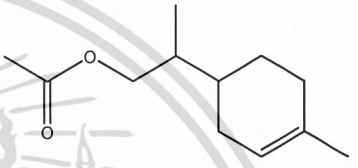
cis-Geraniol **141**



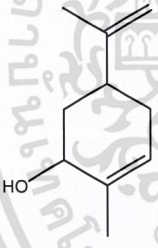
Methyl dodecanoate **142**



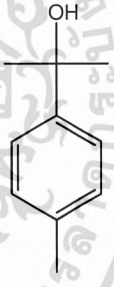
tert-Butylbenzene **143**



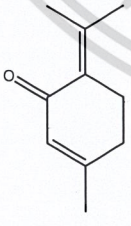
p-Meth-1-en-9-yl acetate **144**



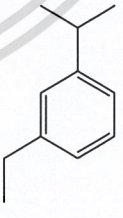
trans-Carveol **145**



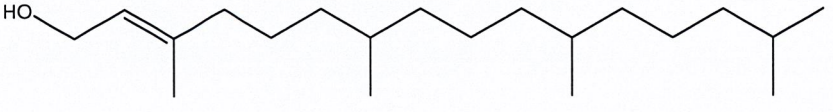
p-Cymen-8-ol **146**



Piperitenone **147**

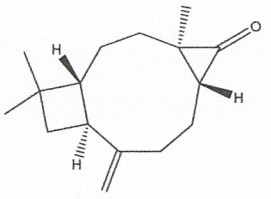


m-Ethyl cumene **148**

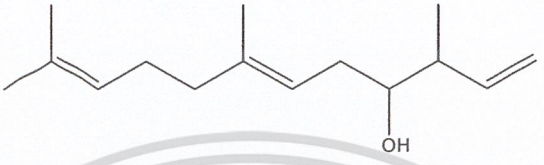


Phytol **149**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

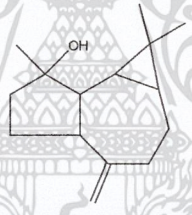


Caryophyllene oxide **150**



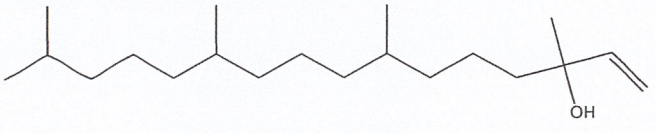
trans-Nerolidol **151**

6,10,14-trimethyl-2-Pentadecanone **152**



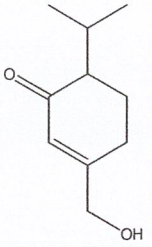
Spathulenol **153**

Methyl palmitoleate **154**

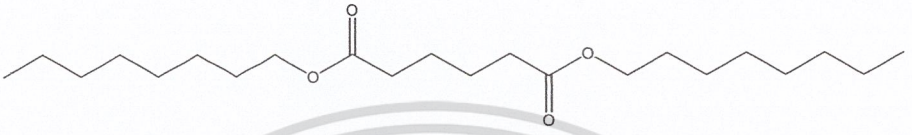


Isophytpl **155**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



3-Hydroxymethyl-6-(methylethyl)-2-cyclohexenone **156**



Dioctyl adipate **157**

รูปที่ 4.22 โครงสร้างสารสำคัญจากชั้นสารสกัดหยาบชั้น NE จากใบดาวเรือง

ตารางที่ 4.9 แสดงไอออนส่วนย่อยของสารสกัดหยาบชั้น NE จากใบดาวเรือง

Compounds	RT (min)	Formula	MW	Fragment ion(m/z)
Caryophyllene **132**	11.013	$C_{15}H_{24}$	204	204, 189, 175, 161, 154, 147, 143, 137, 133, 128, 120, 115, 109, 105, 93, 84, 79, 69, 65, 55, 51
trans-β-Farnesene **133**	11.666	$C_{15}H_{24}$	204	204, 161, 133, 120, 107, 93, 79, 69
Bicyclo[3.1.0]hexane,6-isopropylidene-1-methyl **134**	11.733	$C_{10}H_{16}$	136	136, 121, 107, 93, 82, 79, 73, 70, 67, 61, 58, 55
α-Humalene **135**	11.869	$C_{15}H_{24}$	204	204, 189, 162, 147, 133, 121, 111, 107, 103, 93. 87, 80, 73, 67, 61, 55
1,8-Menthadiene-4-ol **136**	11.998	$C_{10}H_{16}O$	152	152, 137, 134, 126, 123, 119, 109, 97, 91, 84, 80, 77, 69, 65, 55, 51
α-Terpineol **137**	12.112	$C_{10}H_{18}O$	154	154, 139, 136, 121, 115, 111, 107, 103, 96, 93, 87, 81, 77, 71, 67, 65 59, 55, 52
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene,2,6-dimethyl-6(4-methyl-3-pentenyl) **138**	12.345	$C_{15}H_{24}$	204	204, 189, 161, 148, 133, 119, 107, 93, 79, 69, 55
Piperitone **139**	12.558	$C_{10}H_{16}O$	152	152, 137, 133, 124, 119, 115, 110, 107, 103, 95, 91, 82, 79, 70, 67, 63, 57, 54, 51
E,E-α-Farnesene **140**	12.615	$C_{15}H_{24}$	204	204, 189, 161, 147, 137, 133, 123, 119, 115, 107, 103, 93, 83, 79, 69, 65, 55, 51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 (ต่อ) แสดงไอออนส่วนย่อยของสารสกัดหยาบชั้น NE จากใบดาวเรือง

Compounds	RT (min)	Formula	MW	Fragment ion(m/z)
cis-Geraniol **141**	12.724	$C_{10}H_{18}O$	154	154, 136, 121, 111, 107, 97, 93, 85, 81, 77, 73, 69, 65, 61, 57, 53
Methyl dodecanoate **142**	13.226	$C_{13}H_{26}O_2$	214	214, 183, 171, 143, 133, 129, 109, 105, 101, 97, 91, 87, 82, 74, 69, 59, 55
tert-Butylbenzene **143**	13.330	$C_{10}H_{14}$	134	134, 119, 115, 109, 105, 101, 95, 91, 88, 85, 82, 79, 73, 70, 67, 63, 59, 55, 51
p-Meth-1-en-9-yl acetate **144**	13.511	$C_{12}H_{20}O_2$	196	196, 136, 121, 107, 94, 79, 67, 55
p-Cymen-8-ol **146**	13.770	$C_{10}H_{14}O$	150	150, 135, 119, 105, 91, 77, 65, 51
Neophytadiene **125**	14.501	$C_{20}H_{38}$	278	278, 263, 249, 236, 222, 208, 193, 179, 165, 151, 137, 133, 102, 95, 82, 68, 57
Piperitenone **147**	14.708	$C_{10}H_{14}O$	150	150, 135, 121, 115, 107, 91, 85, 79, 73, 67, 59, 53
Phytol **149**	14.797	$C_{20}H_{40}O$	278	278, 263, 249, 232, 207, 193, 177, 165, 151, 137, 123, 109, 95, 81. 68, 57, 51
m-Ethyl cumene **148**	15.268	$C_{11}H_{16}$	148	148, 133, 127, 119, 105, 91, 82, 77, 69, 63, 57, 51
Caryophyllene oxide **150**	15.356	$C_{15}H_{24}O$	220	220, 205, 192, 187, 177, 166, 161, 149, 140, 135, 127, 121, 115, 109, 103, 98, 93, 85, 79, 69, 63, 55, 50
trans-Nerolidol **151**	15.688	$C_{13}H_{22}O$	194	194,189,179,161,148,136,121, 107, 98,93,81,69,55
6,10,14-trimethyl-2-Pentadecanone **152**	16.569	$C_{18}H_{36}O$	268	268, 250, 210, 179, 165, 151, 137, 124, 109, 95, 85, 71, 58
Spathulenol **153**	16.693	$C_{15}H_{24}O$	220	220, 205, 187, 177, 164, 159, 153, 147, 136, 131, 125, 119, 110, 105, 97, 91, 85, 79, 74, 69, 61, 55
Methyl palmitate **105**	17.636	$C_{17}H_{34}O_2$	270	270, 255, 239, 227, 219, 213, 199, 191, 185, 177, 171, 163, 157, 149, 143, 135, 129, 121, 109, 103, 97, 87, 81, 74, 67, 61, 55
Methyl palmitoleate **154**	18.362	$C_{17}H_{32}O_2$	267	268, 236, 218, 194, 165, 152, 143, 137, 129, 123, 114, 107, 96, 83, 74, 67, 55
Isophytol **155**	18.538	$C_{20}H_{40}O$	296	167, 151, 137, 123, 109, 103, 97, 89, 83, 71, 61, 55
Methyl stearate **106**	21.015	$C_{19}H_{38}O_2$	298	298, 267, 255, 241, 227, 213, 199, 185, 171, 152, 143, 129, 121, 111, 97, 87, 74, 67, 55

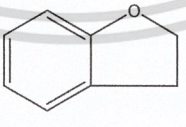
เอกสารนี้สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 (ต่อ) แสดงไอออนส่วนย่อยของสารสกัดหยาบชั้น NE จากใบดาวเรือง

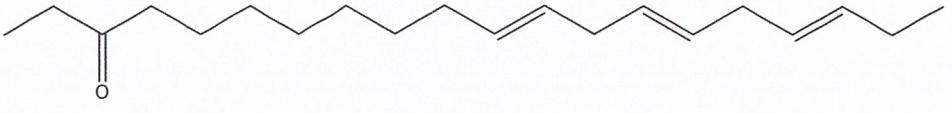
Compounds	RT (min)	Formula	MW	Fragment ion(m/z)
Methyl oleate **120**	21.482	$C_{19}H_{36}O_2$	296	296, 264, 253, 246, 235, 222, 208, 194, 180, 172, 166, 152, 139, 129, 123, 111, 105, 97, 91, 83, 75, 69, 55
Methyl linolenate **109**	22.834	$C_{19}H_{32}O_2$	292	292, 236, 191, 173, 163, 149, 143, 135, 129, 121, 115, 108, 101, 95, 87, 79, 73, 67, 55
3-Hydroxymethyl-6-(methylethyl)-2-cyclohexenone **156**	27.016	$C_{10}H_{16}O_2$	168	168, 153, 140, 135, 126, 121, 117, 111, 107, 98, 93, 89, 85, 81, 77, 70, 65, 59, 55, 51
Dioctyl adipate **157**	29.835	$C_{22}H_{42}O_4$	370	370, 341, 313, 284, 259, 241, 212, 199, 189, 173, 157, 147, 129, 112, 101, 91, 83, 70, 57

พบสารสำคัญจากสารสกัดชั้น AE ของใบดาวเรืองคือ Piperitone **139** *p*-Cymen-8-ol **146** Neophytadiene **125** Piperitenone **147** 6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone **128** Methyl palmitate **105** Ethyl palmitate **158** 2,3-Dihydro-benzofuran **159** Methyl stearate **106** Methyl oleate **120** Methyl linoleate **109** Methyl-9,2,15-octadecatrienoate **160** Phytol **149** และ Palmitic acid

Ethyl palmitate **158**



2,3-Dihydro-benzofuran **159**



Methyl-9,2,15-octadecatrienoate **160**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.23 โครงสร้างสารสำคัญจากชั้นสารสกัดหยาบชั้น AE จากใบดาวเรือง

ตารางที่ 4.10 แสดงไอออนส่วนย่อยของสารสกัดหยาบชั้น AE จากใบดาวเรือง

Compounds	RT (นาที)	Formula	MW	Fragment ion(m/z)
Piperitone **139**	12.558	$C_{10}H_{16}O$	152	152, 137, 133, 124, 117, 110, 95, 89, 82, 77, 73, 70, 67, 61, 54, 51
p-Cymen-8-ol **146**	13.770	$C_{10}H_{14}O$	150	150, 135, 119, 115, 105, 91, 87, 77, 73, 70, 65, 62, 59, 51
Neophytadiene **125**	14.485	$C_{20}H_{38}$	278	278, 263, 249, 222, 208, 193, 179, 166, 151, 137, 123, 109, 95, 82, 68, 57
6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone **128**	16.563	$C_{18}H_{36}O$	268	268, 250, 210, 194, 165, 138, 133, 123, 109, 103, 95, 85, 79, 71, 58
Methyl palmitate **105**	17.626	$C_{16}H_{32}O_2$	256	256, 239, 227, 213, 199, 185, 171, 157, 143, 135, 129, 123, 115, 109, 103, 97, 87, 81, 74, 67, 61, 55
Ethyl palmitate **158**	18.108	$C_{18}H_{36}O_2$	284	284, 255, 239, 213, 157, 143, 137, 129, 123, 115, 109, 101, 95, 88, 79, 73, 67, 61, 55
2,3-Dihydro-benzofuran **159**	20.424	C_8H_8O	120	120, 101, 94, 91, 87, 73, 65, 59, 55, 51
Methyl stearate **106**	21.005	$C_{19}H_{38}O_2$	298	298, 269, 255, 241, 207, 199, 143, 129, 121, 108, 98, 87, 81, 74, 55
Methyl oleate **120**	21.466	$C_{19}H_{36}O_2$	264	264, 222, 207, 180, 165, 153, 147, 137, 129, 123, 117, 110, 103, 96, 89, 83, 75, 69, 55
Methyl linoleate **109**	22.466	$C_{19}H_{34}O_2$	294	294, 263, 164, 149, 135, 123, 117, 109, 103, 95, 87, 81, 73, 67, 55
Methyl-9,2,15-octadecatrienoate **129**	23.808	$C_{19}H_{32}O_2$	292	292, 261, 236, 173, 163, 157, 149, 141, 135, 121, 115, 108, 101, 95, 87, 79, 73, 67, 55
Phytol **149**	24.793	$C_{20}H_{40}O$	296	296, 256, 196, 181, 137, 131, 123, 111, 97, 89, 81, 71, 65, 57
Palmitic acid	32.950	$C_{16}H_{32}O_2$	256	256, 238, 227, 213, 199, 185, 171, 157, 97, 87, 73, 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย

5.1 สารสกัดหยาบจากดาวเรือง

ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของดาวเรืองได้แก่ การต้านอนุมูลอิสระ การต้านเชื้อจุลินทรีย์ และอัลลีโลพาที โดยนำส่วนต่างๆ ของดาวเรือง ได้แก่ กลีบดอก เมล็ด และใบ มาสกัดด้วยเมทานอล ผลการทดลองสามารถเตรียมสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดอก เมล็ด และใบ เท่ากับ 64.18 60.64 และ 11.57 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับน้ำหนักใบแห้ง และเพื่อศึกษาฤทธิ์ทางอัลลีโลพาที ได้ทำการสกัดใบด้วยวิธีการสกัดแบบแบ่งส่วน (Solvent Partitioning Extraction) ได้สารสกัดหยาบ 3 ชั้น คือชั้นเมทานอล NE และ AE ซึ่งแต่ละชั้นมีน้ำหนักเท่ากับ 52.47 14.03 และ 9.36 กรัม ตามลำดับ คิดเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดหยาบเมื่อเทียบกับน้ำหนักของใบดาวเรืองได้เท่ากับ 11.57 3.09 และ 2.06 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

5.2 การต่อต้านอนุมูลอิสระ

จากการนำส่วนต่างๆของดาวเรืองที่สกัดด้วยเมทานอลไปทดสอบการต่อต้านอนุมูลอิสระ พบว่าส่วนของดอกดาวเรืองออกฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด

5.2.1 ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากดาวเรือง

ปริมาณความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลในสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดอก ใบ และเมล็ดดาวเรือง มีค่าเท่ากับ 39.886 8.943 และ13.738 mg GAE/g dw ตามลำดับ พบว่าดอกมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดคือ 39.886 mg GAE/g dw

5.2.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากดาวเรืองกับ DPPH

จากการศึกษาประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดอกและเมล็ดดาวเรือง ที่ EC_{50} มีค่าเท่ากับ 9.5 และ 29 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT พบว่าดอก มีประสิทธิภาพในการต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าส่วนอื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3 การต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์

การทดสอบการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้สารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดอก ใบ และเมล็ดดาวเรือง พบว่าที่บริเวณ clear zone มากกว่าหรือเท่ากับ 8 มิลลิเมตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ในระดับดี เมื่อนำไปหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ หรือค่า MIC (Minimum inhibitory concentration) พบว่าใบและเมล็ดดาวเรืองสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้ดี ซึ่งมีค่า MIC น้อยกว่า 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. sobrinus* ซึ่งมีค่า MIC 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

5.4 อัลลีโลพาที

จากการทดสอบฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีของดาวเรืองโดยใช้สารสกัดหยาบชั้นเมทานอลของดอก ใบ และเมล็ดดาวเรือง พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 2000 และ 4000 ppm ใบดาวเรืองสามารถยับยั้งความยาวต้นผักโขมจีนได้ดีที่สุด และที่ระดับความเข้มข้น 4000 ppm ใบดาวเรืองสามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้ดีที่สุด คือ 55 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำสารสกัดชั้นเมทานอลมาสกัดโดยวิธีการสกัดแบบแบ่งส่วน (Solvent Partitioning Extraction) ได้สารสกัดหยาบชั้น NE และ AE นำสารสกัดแต่ละชั้นไปแยกสาร โดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี สามารถจัดกลุ่มสารสกัดชั้น NE ได้ 9 ส่วนย่อย และพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm สารส่วนย่อย F5 และ F6 มีผลยับยั้งความยาวต้นและความยาวรากของต้นกล้าผักโขมจีนได้ดีที่สุด และที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้อย่างสมบูรณ์ ส่วนสารสกัดชั้น AE สามารถแยกสารส่วนย่อยได้ 7 ส่วนย่อย ที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm พบว่าสารส่วนย่อย F2 มีผลยับยั้งความยาวต้นและความยาวรากของต้นกล้าผักโขมจีนได้ดีที่สุด และสามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมจีนได้อย่างสมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1. นิจศิริ เรืองรังสี. 2534. **พืชสมุนไพร.** กรุงเทพ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.
2. รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. **การตรวจสอบและการสกัดแยกสาระสำคัญจากสมุนไพร.** กรุงเทพ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรมหาวิทยาลัย
3. วันดี กฤษณพันธ์. 2536. **ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ.** กรุงเทพ: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
4. สมเพียร เกษมทรัพย์. 2522. **การปลูกดอกไม้.** กรุงเทพ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
5. กิจติศักดิ์ ยศอินทร์. 2550. **น้ำมันหอมระเหย.** สำนักเทคโนโลยีชุมชน กรมวิทยาศาสตร์บริการ
6. กาญจนา หลงสะ. 2551. **การศึกษาศักยภาพทางอัลลีโลพาทีในผักแขยง (*Limnophila aromatica*) และบลูฮาวาย (*Otacanthus azureus*).** ปริญญานิพนธ์ สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
7. ยิ่งยง เมฆลอย. 2548. **ผลทางอัลลีโลพาทีของประยงค์ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชบางชนิด.** วิทยานิพนธ์ สาขาวิชาพืชสวน สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
8. ณัฐสันต์ วัชรสินธุ์. 2548. **การศึกษาศักยภาพทางอัลลีโลพาทีของใบพุทธชาติก้านแดง,** โครงงานพิเศษ สาขาเคมีอุตสาหกรรม วิทยาศาสตร์บัณฑิต สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
9. ธนัชสัณห์ พูนไพบูลย์พิพัฒน์ จำรูญ เล้าสินวัฒนา พัชนี เจริญยิ่ง สมชาย หวังวิบูลย์กิจ และสุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2551. **ผลทางอัลลีโลพาทีของสาหร่าย 10 ชนิด**, ว. วิทย์. กษ. 39(3) (พิเศษ) : 484-487 (2551)
10. E. Bako´, J. Deli and G. To´th. 2002. **HPLC study on the carotenoid composition of Calendula products**, Journal of biochemical and biophysical Methods, 53, pp. 241–250.
11. จันทนา เทศเจริญ สุ วงศ์ชัยกุล และอรกนก บุญธรรมติระวุฒิ. 2545. **การสกัดสารให้สีจากกลีบดอกดาวเรืองเพื่อประยุกต์ใช้ในการย้อมผ้า.** โครงงานพิเศษ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
12. Y. Maria Fonseca, C. Dias Catini, F. T.M.C. Vicentini, A. Nomizo, R. F. Gerlach, M. J. V. Fonseca. 2009. **Protective effect of *Calendula officinalis* extract against UVB-induced oxidative stress in skin: Evaluation of reduced glutathione levels and**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

matrixmetalloproteinase secretion, Journal of Ethnopharmacology. 127 (2010), pp. 596–601.

13. F. Nikkon, M. R. Habib, M. R. Karim, Z. Ferdousi, M. M. Rahman and M. E. Haque (2009) **Insecticidal Activity of Flower of *Tagetes erecta L.* against Tribolium castaneum (Herbst)**, Research Journal of Agriculture and Biological Science, 5(5): pp. 748-753.
14. V.B. Pratheesh, N. Benny and C.H. Sujatha. 2009. **Isolation, Stabilization and Characterization of Xanthophyll from Marigold Flower *Tagetes Erecta-L***, Modern Applied Science, 3:pp. 9-28
15. C. Zhu, C. Bai, G. Sanahuja, D. Yuan, G. Farr , S. Naqvi, L. Shi, T. Capell and P. Christou. 2010. **The regulation of carotenoid pigmentation in flowers**, Archives of Biochemistry and Biophysics, 504, pp. 132-141
16. J. Javanmardi, C. Stushnoff, E. Locke and J.M. Vivanco. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum accessions*. **Food Chemistry**, 83, pp. 547-550.
17. B. Williams, W. Cuvelier and C.Berset. 1995. **Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity**, Food Science Technology, 28, pp. 25-30.
18. A. W. Bauer, W. M. M. Kirby, J. C. Sherris and M. Truck. **Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method**, American Journal Clinical Pathology, Vol. 45, pp. 493-496, 1966.
19. http://www.phytochemicals.info/phytochemicals

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้