# การคัดเลือกสมุนไพรไทยที่มีกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และสมบัติทางพฤกษเคมีบางประการเพื่อการประยุกต์ใช้

# SCREENING OF THAI MEDICINAL PLANTS FOR THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITIES AND SOME PHYTOCHEMICAL PROPERTIES FOR APPLICATION

นางสาวธนวรรณ บุบผาสวรรค์
นางสาวนันธภรณ์ ตะมะพุฒ
นางสาวยุวภา สีมาขันธ์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2555

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# SCREENING OF THAI MEDICINAL PLANTS FOR THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITIES AND SOME PHYTOCHEMICAL PROPERTIES FOR APPLICATION

THANAWAN BUBPASAWAN
NUNTHAPORN TAMAPUT
YUWAPA SRIMAKHAN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2012

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **หัวข้อโครงงานพิเศษ** | การคัดเลือกสมุนไพรไทยที่มีกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และสมบัติทางพฤกษเคมีบางประการเพื่อการประยุกต์ใช้<br>Screening of Thai medicinal plants for their antimicrobial activities and some phytochemical properties for application |
| **ชื่อนักศึกษา** | นางสาวธนวรรณ บุบผาสวรรค์ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 52051063<br>นางสาวนันธภรณ์ ตะมะพุฒ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 52051070<br>นางสาวยุวภา สีมาขันธ์ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 52051101 |
| **ปริญญา** | วิทยาศาสตรบัณฑิต |
| **สาขาวิชา** | จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ |

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2555

| คณะกรรมการสอบ | | ลายมือชื่อ |
|---|---|---|
| กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา | รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ | [illegible] |
| ประธานกรรมการ | ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ | วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ |
| กรรมการ | ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล | สุทธิจิต ศรีวัชรกุล |

.........................................

ประธานสาขาวิชา

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **หัวข้อโครงงานพิเศษ** | การคัดเลือกสมุนไพรไทยที่มีกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และสมบัติทางพฤกษเคมีบางประการเพื่อการประยุกต์ใช้ |
| **ชื่อนักศึกษา** | นางสาวธนวรรณ บุบผาสวรรค์ |
| | นางสาวนันธภรณ์ ตะมะพุฒ |
| | นางสาวยุวภา สีมาขันธ์ |
| **ปริญญา** | วิทยาศาสตรบัณฑิต |
| **สาขาวิชา** | จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม |
| **ปีการศึกษา** | พ.ศ. 2555 |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ |

## บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ได้นำสารสกัดจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 34 ชนิดซึ่งสกัดด้วยเมทานอลมาศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และสมบัติทางพฤกษเคมีบางประการ เช่น สมบัติการต้านอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สมุนไพรไทยที่มีประสิทธิภาพในการต้านจุลินทรีย์ได้ดีที่สุดจากทั้งหมด 34 ชนิดคือ ว่านน้ำ (*Acorus calamus*) ชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata*) หญ้าฝรั่น (*Crocus sativus*) บัวหลวงแดง (*Nymphaea lotus*) และมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*) เชื้อยีสต์ที่มีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากสมุนไพรไทยมากที่สุดคือ *Rhodotorula glutinis* โดยถูกยับยั้งด้วยสารสกัดจากบัวหลวงแดงได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 0.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และ *Schizosaccharomyces pombe* ซึ่งถูกยับยั้งการเจริญได้ดีโดยสารสกัดจากสมุนไพรไทยได้ค่อนข้างหลากหลายชนิด ได้แก่ สารสกัดจากว่านน้ำ ชุมเห็ดเทศ หัสคุณเทศ (*Holarrhena curtisii*) เปราะหอม (*Kaempferia galanga*) และบัวหลวงแดง (ค่า MIC เท่ากับ 0.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และในการศึกษากิจกรรมในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ผลปรากฏว่าสารสกัดจากกระชายดำ (*Kaempferia parviflora*) ดอกบัวสัตตบงกช (*Nelumbo nucifera*) รากระย่อม (*Rauvolfia serpentina*) และบัวบก (*Centella asiatica*) มีกิจกรรมในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้มากกว่าร้อยละ 70 สำหรับสารสกัดจากสมอไทย (*Terminalia chebula*) สมุลแว้ง (*Cinnamomum bejolghota*) สีเสียดเทศ (*Uncaria gambir*) และมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH ได้ดีที่สุดโดยมีค่า $EC_{50}$ เท่ากับ 387.23 ถึง 490.47 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) และมีความสามารถในการรีดิวซ์ที่ดีที่สุดซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 774.41 ถึง 656.19 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัดทดสอบโดยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งหมดสูงที่สุดคือสารสกัดจากสีเสียดเทศและสมุลแว้ง โดยสารสกัดจากสีเสียดเทศมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 771.59 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และ 2,292.43 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด ส่วนสมุลแว้งมีสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 501.25 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และ 1,317.61 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ

**คำสำคัญ:** สมุนไพรไทย จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเสียของไวน์ อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **Title** | Screening of Thai medicinal plants for their antimicrobial activities and some phytochemical properties for application |
| **Students** | Miss Thanawan Bubpasawan |
| | Miss Nunthaporn Tamaput |
| | Miss Yuwapa Srimakhan |
| **Degree** | Bachelor of Science |
| **Major** | Industrial Microbiology |
| **Academic Year** | 2012 |
| **Advisor** | Associate Professor Dr. Suree Nanasombat |

# ABSTRACT

In this study, 34 methanolic crude extracts of Thai medicinal plants were tested for their antimicrobial activities and some phytochemical properties, such as anti-acetylcholinesterase and antioxidant activities, and analyzed for their total phenolic and total flavonoid contents. The plant extracts of *Acorus calamus*, *Cassia alata*, *Crocus sativus*, *Nymphaea lotus* and *Phyllanthus emblica* showed strong antimicrobial activity against spoilage yeast, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria tested. Two most susceptible yeast strains to the plant extracts were *Rhodotorula glutinis* (inhibited by *N. lotus* extract with the MIC of 0.64 mg/ml) and *Schizosaccharomyces pombe* (inhibited by some plant extracts such as *A. calamus*, *C. alata*, *Holarrhena curtisii, Kaempferia galangal* and *N. lotus* with the MIC of 0.64 mg/ml). The study of anti-acetylcholinesterase activity revealed that the extracts of *Kaempferia parviflora*, *Nelumbo nucifera*, *Rauvolfia serpentina* and *Centella asiatica* exhibited strong acetylcholinesterase inhibitory activity (>70 % inhibition). The extracts of *Terminalia chebula*, *Cinnamomum bejolghota*, *Uncaria gambir* and *P. emblica* had the strongest antioxidant activity with the $EC_{50}$ of 387.23 - 490.47 µg extract/mg DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) by DPPH radical scavenging activity method and reducing capacity of 774.41 - 656.19 mmol Fe(II)/g by FRAP (Ferric reducing antioxidant power) method. The extract of *U. gambir* had the highest total phenolic and total flavonoid contents (771.59 mgGAE/g and 2,292.43 mgQE/g, respectively), followed by *C. bejolghota* extract (501.25 mgGAE/g and 1,317.61 mgQE/g, respectively).

**Keywords:** Thai medicinal plant, Spoilage microorganism in wine, Acetylcholinesterase, Antioxidant activity

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ ที่ให้คำแนะนำตลอดจนได้ทำการถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์ในการปฏิบัติงานที่ดีแก่ผู้จัดทำ ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษ ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ และดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการสอบโครงงานพิเศษ รวมทั้งคำแนะนำ ตรวจสอบ ชี้แนะในการแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมืออุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการต่างๆ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาให้ใช้สถานที่เพื่อปฏิบัติงานวิจัยและอำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงาน

ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาของผู้จัดทำที่เป็นกำลังใจและให้คำปรึกษาในการทำโครงงานพิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนและพี่ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่อง ให้ข้อคิดเห็น กำลังใจและมิตรภาพที่ดีตลอดมา

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า โครงงานพิเศษฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้ในโครงงานพิเศษนี้

นางสาวธนวรรณ บุบผาสวรรค์
นางสาวนันธภรณ์ ตะมะพุฒ
นางสาวยุวภา สีมาขันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

| | หน้า |
|---|---|
| **บทคัดย่อภาษาไทย** | I |
| **บทคัดย่อภาษาอังกฤษ** | III |
| **กิตติกรรมประกาศ** | IV |
| **สารบัญ** | V |
| **สารบัญรูป** | IX |
| **สารบัญตาราง** | XI |
| **บทที่ 1 บทนำ** | 1 |
| 1.1 ที่มาและความสำคัญ | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ของการทดลอง | 3 |
| 1.3 ขอบเขตของการทดลอง | 3 |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 3 |
| **บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** | 4 |
| 2.1 สมุนไพร (Herbal) | 4 |
| 2.2 สมุนไพรไทยที่ใช้ในการวิจัย | 4 |
| 2.2.1 ชุมเห็ดเทศ | 5 |
| 2.2.2 เทียนข้าวเปลือก | 5 |
| 2.2.3 บัวบก | 6 |
| 2.2.4 บัวหลวงแดง | 7 |
| 2.2.5 เปราะหอม | 7 |
| 2.2.6 แปะก๊วย | 8 |
| 2.2.7 ผักแพว | 9 |
| 2.2.8 ไพล | 9 |
| 2.2.9 มะขามป้อม | 10 |
| 2.2.10 ลำดวน | 11 |
| 2.2.11 ว่านน้ำ | 11 |
| 2.2.12 สมอไทย | 12 |
| 2.2.13 สมุลแว้ง | 13 |
| 2.2.14 สีเสียดเทศ | 13 |
| 2.2.15 หญ้าฝรั่น | 14 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า


2.3 สมุนไพรไทยที่มีคุณสมบัติต้านโรคอัลไซเมอร์ 14
2.4 สารยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส 15
2.4.1 อัลคาลอยด์ (alkaloid) 15
2.4.2 เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) และสารพฤกษเคมี (phytochemical) อื่นๆ 17
2.4.3 ไฟโต-โอเอสโตรเจน (Phyto-oestrogens) 17
2.5 หลักการสกัดและวิเคราะห์สารจากสมุนไพร 21
2.5.1 หลักการสกัดและแยกสารสำคัญจากสมุนไพร 21
2.5.2 สารสำคัญจากสมุนไพร 21
2.6 อนุมูลอิสระ (Free radical) 24
2.6.1 แหล่งของอนุมูลอิสระ (Sources of free radical) 24
2.6.1.1 ปัจจัยภายในร่างกาย 24
2.6.1.2 ปัจจัยภายนอกร่างกาย 26
2.6.2 อนุมูลอิสระแรงสูงที่สำคัญของร่างกาย 27
2.6.3 ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) 28
2.7 สารต้านออกซิเดชัน (Antioxidant) 29
2.7.1 สารต้านอนุมูลอิสระ 30
2.7.1.1 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants) 30
2.7.1.2 สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants) 34
2.8 วิธีการวิเคราะห์ทางพฤกษเคมีของสมุนไพรไทย 36
2.8.1 การวิเคราะห์กิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase inhibition assay) 36
2.8.2 วิธีวิเคราะห์ด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometric assay) 36
2.8.3 วิธีการวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ 37
2.8.3.1 วิธี DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical 37
2.8.3.2 วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) 38
2.9 จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเสียของไวน์ 38
2.9.1 จุลชีววิทยาขององุ่นแห้งและองุ่นที่ถูกทำให้เสียหาย 38
2.9.2 แหล่งที่มาของยีสต์ที่ทำให้เน่าเสียในอุตสาหกรรมไวน์ 39



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.9.3 แบคทีเรียกรดแลคติกในไวน์และการหมักมาโลแลคติก 41
2.10 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ 42
2.10.1 เชื้อแบคทีเรีย 42
2.10.1.1 แบคทีเรียกรดแอซิติก 42
2.10.1.2 แบคทีเรียกรดแลคติก 42
2.10.2 เชื้อยีสต์ 44
**บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง** 48
3.1 อุปกรณ์ 48
3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง 48
3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง 48
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง 48
3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 50
3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง 50
3.2 วิธีการทดลอง 51
3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรไทยและการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ 51
3.2.1.1 การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรไทยด้วยเมทานอล 51
3.2.1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ 51
3.2.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย 52
3.2.2.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method) 52
3.2.2.2 การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar dilution 53
3.2.3 การศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย 53
3.2.3.1 การวิเคราะห์หาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดจากสมุนไพรไทย 53
3.2.3.2 การศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย 54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากสมุนไพรไทย 56

3.2.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดจากสมุนไพรไทย 56

**บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์** 58

4.1 สมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย 58

4.1.1 การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method) 58

4.1.2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution) 64

4.2 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากสมุนไพรไทย 70

4.2.1 สมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส 70

4.2.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ 70

4.2.2.1 ความสามารถในการกำจัด 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazy (DPPH) radical 70

4.2.2.2 Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay 71

4.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากสมุนไพรไทย 72

4.2.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 72

4.2.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 72

**บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ** 82

**เอกสารอ้างอิง** 84

**ภาคผนวก** 95

**ภาคผนวก ก. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ** 96

**ภาคผนวก ข. การเตรียมสารละลาย** 98

**ภาคผนวก ค. การคำนวณ** 115

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป

| รูปที่ | หน้า |
|---|---|
| 2.1 ชุมเห็ดเทศ | 5 |
| 2.2 เทียนข้าวเปลือก | 5 |
| 2.3 บัวบก | 6 |
| 2.4 บัวหลวงแดง | 7 |
| 2.5 เปราะหอม | 7 |
| 2.6 แปะก๊วย | 8 |
| 2.7 ผักแพว | 9 |
| 2.8 ไพล | 9 |
| 2.9 มะขามป้อม | 10 |
| 2.10 ลำดวน | 11 |
| 2.11 ว่านน้ำ | 11 |
| 2.12 สมอไทย | 12 |
| 2.13 สมุลแว้ง | 13 |
| 2.14 สีเสียดเทศ | 13 |
| 2.15 หญ้าฝรั่น | 14 |
| 2.16 การทำงานของเอนไซม์ไลโพออกซีจีเนสในปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมัน | 25 |
| 2.17 โครงสร้างทางเคมีของแอลฟา-แคโรทีน (α-carotene) และเบต้า-แคโรทีน (β-carotene) | 31 |
| 2.18 โครงสร้างทางเคมีของเบต้า-คริบโทแซนทิน (β-cryptoxanthin) และลูทีน (lutein) | 32 |
| 2.19 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกชนิดต่างๆ | 34 |
| 2.20 โครงสร้างทางเคมีของกรดแกลลิก | 35 |
| 2.21 โครงสร้างทางเคมีของโทรล็อกซ์ | 35 |
| 2.22 โครงสร้างทางเคมีของอีดีทีเอ | 36 |
| 2.23 การทำงานของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส | 36 |
| 2.24 โครงสร้างทางเคมีของอนุมูล DPPH | 37 |
| 2.25 เชื้อ *Acetobacter aceti* | 42 |
| 2.26 เชื้อ *Lactobacillus casei* | 43 |
| 2.27 เชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* | 43 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป (ต่อ)


| รูปที่ | หน้า |
|---|---|
| 2.28 เชื้อ *Candida lipolytica* | 44 |
| 2.29 เชื้อ *Debaryomyces hansenii* | 44 |
| 2.30 เชื้อ *Pichia membranaefaciens* | 45 |
| 2.31 เชื้อ *Rhodotorula glutinis* | 45 |
| 2.32 เชื้อ *Hanseniaspora uvarum* | 46 |
| 2.33 เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* | 46 |
| 2.34 เชื้อ *Schizosaccharomyces pombe* | 47 |
| 2.35 เชื้อ *Zygosaccharomyces rouxii* | 47 |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

**ตารางที่** **หน้า**


2.1 พืชบางชนิดและสารประกอบที่แยกได้พร้อมทั้งกิจกรรมที่ตรงกับปัญหาความสัมพันธ์ในการรักษาความผิดปกติในการรับรู้รวมถึงโรคอัลไซเมอร์ 18

2.2 อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง 29

2.3 เชื้อที่ปนเปื้อนในไวน์และความสำคัญ 40

3.1 สมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง 49

4.1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method) 60

4.2 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่ความเข้มข้นต่ำสุดด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution) 69

4.3 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย 73



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ที่มาและความสำคัญ

จุลินทรีย์โดยเฉพาะยีสต์ แบคทีเรียกรดแลคติกและแบคทีเรียกรดแอซิติกมีบทบาทในการเสียของเครื่องดื่มหลายชนิด เช่น เครื่องดื่มที่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (carbonated soft drinks) น้ำผักและน้ำผลไม้ (Lawlor และคณะ, 2009) และไวน์ (Stewart และคณะ, 2007) เครื่องดื่มที่เสียโดยยีสต์จะมีการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพและคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส อันเป็นผลเนื่องมาจากกิจกรรมของยีสต์ เช่น การเกิดแก๊สปริมาณมากในเครื่องดื่มที่มีกรดทั้งชนิดที่เติมน้ำตาลและไม่เติมน้ำตาล ซึ่งอาจจะทำให้ภาชนะบรรจุเสียรูปร่างหรือขยายตัวและทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการตกตะกอน ขุ่น หรือเกิดฟิล์มที่ผิวหน้า เกิดกลิ่นรสผิดปกติจากกลิ่นหมักของแอลกอฮอล์ คาร์บอนไดออกไซด์และเอสเทอร์ (Loureiro และ Querol, 1999) ส่วนการเสียโดยแบคทีเรียในเครื่องดื่ม (เช่น ไวน์) โดยแบคทีเรียกรดแลคติก เช่น *Lactobacillus* และแบคทีเรียกรดแอซิติก เช่น *Acetobacter* จะทำให้เกิดการผลิตสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นรสผิดปกติ (Costello และ Henschke, 2002; Bartowsky และ Henschke, 2008)

ดังนั้นเพื่อป้องกันการเน่าเสียของอาหารประเภทเครื่องดื่ม จึงมีความจำเป็นที่จะต้องควบคุมการเจริญของยีสต์ แบคทีเรียกรดแลคติกและแบคทีเรียกรดแอซิติกที่ปนเปื้อนในเครื่องดื่ม ถึงแม้ว่าวิธีการที่ใช้ในการถนอมอาหารบางวิธี เช่น การใช้สารเคมีสามารถใช้ในการป้องกันการเสียของอาหารประเภทเครื่องดื่มและยืดอายุในการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีอาจทำให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพ ผู้บริโภคในปัจจุบันจึงมีความต้องการผลิตภัณฑ์อาหารที่ปราศจากสารเคมีกันเสียกันมากขึ้น และเป็นอาหารที่มีความปลอดภัยในด้านจุลินทรีย์ จึงทำให้เกิดความต้องการสารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติ เช่น สารต้านจุลินทรีย์จากพืชสมุนไพร สำหรับพืชสมุนไพรไทยยังมีรายงานน้อยเกี่ยวกับกิจกรรมการต้านการเจริญของยีสต์ แบคทีเรียกรดแลคติกและแบคทีเรียกรดแอซิติกที่ทำให้เครื่องดื่มเน่าเสีย ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาสมบัติของสมุนไพรไทยในการต้านจุลินทรีย์เหล่านี้

โรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's Disease) เป็นโรคสมองเสื่อม (dementia) ชนิดหนึ่งที่พบได้บ่อยมากที่สุดในกลุ่มประชากรผู้สูงอายุ โดยผู้สูงอายุ 1 คนในทุกๆ 8 คนของประชากรที่มีอายุมากกว่า 65 ปี คาดว่าป่วยเป็นโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งร้อยละ 40 - 50 ของผู้ป่วยที่มีอายุผ่าน 85 ปีไปแล้วอาจเป็นโรคอัลไซเมอร์ (Swerdlow, 2011) ประชากรผู้สูงอายุที่เป็นโรคสมองเสื่อมมีอยู่ทั่วโลก องค์การอนามัยโลกได้คาดการณ์ว่าอัตราการเกิดโรคสมองเสื่อมจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างมากทั้งในประเทศที่ยังพัฒนาไม่มากและในประเทศที่กำลังพัฒนา ในปี ค.ศ. 2025 คาดว่าประเทศที่กำลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พัฒนาจะมีประชากรผู้สูงอายุ (อายุ 60 ปีและมากกว่า 60 ปีขึ้นไป) จำนวนประมาณ 3 ใน 4 ของประชากรทั้งหมด (1.2 พันล้านคน) และเมื่อถึงปี ค.ศ. 2040 ประมาณร้อยละ 71 ของผู้ป่วยโรคสมองเสื่อมจำนวน 81.1 ล้านคนจะอยู่ในประเทศที่กำลังพัฒนา และจะมีผู้ป่วยโรคสมองเสื่อมรายใหม่ประมาณ 4.6 ล้านคนเพิ่มขึ้นในทุกๆปี โดยการเพิ่มขึ้นของผู้ป่วยโรคสมองเสื่อมสูงที่สุดพบว่าอยู่ในประเทศจีนและแถบบริเวณเอเชียใต้ (Kalaria และคณะ, 2008) ในกรณีของโรคอัลไซเมอร์ผู้ป่วยจะมีอาการเสื่อมของหน้าที่การรับรู้และสูญเสียความทรงจำเป็นหลัก (Desgranges, 1998) โรคอัลไซเมอร์เป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมของระบบประสาท มีผลต่อสมองในบริเวณหลักๆ ซึ่งรวมไปถึงระบบส่วนนอก (cortex) และขอบ (limbic) ซึ่งมีผลทำให้เกิดการสูญเสียความทรงจำและสูญเสียอย่างน้อยหนึ่งในหน้าที่ที่เกี่ยวกับการรับรู้อื่นๆ โรคอัลไซเมอร์มักจะเริ่มมีอาการคล้ายกับการสูญเสียความทรงจำในระยะสั้นและตามด้วยการเสื่อมหน้าที่ในด้านการรับรู้ การเรียนรู้และความเข้าใจ รวมทั้งมีอารมณ์แปรปรวน (Whitehouse, 1998) มีรายงานว่าสมองของผู้ป่วยที่เป็นโรคอัลไซเมอร์ขาดสารที่ชื่อว่าอะซิทิลโคลีน (acetylcholine) ซึ่งเป็นหนึ่งในสารสื่อประสาท (neurotransmitter) ของระบบประสาทส่วนกลางที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเรียนรู้และความสนใจที่เพิ่มขึ้น (White และคณะ, 1977) ตลอดระยะเวลาที่ผ่านมาหนึ่งในสาเหตุของการเกิดโรคอัลไซเมอร์ที่มีการรายงานมากที่สุดคือการขาดดุลของสมอง (brain deficit) ในระบบโคลิเนอร์จิก (cholinergic system) ซึ่งเป็นระบบของปลายประสาทที่ให้สารอะซิทิลโคลีน (Hollander และคณะ, 2005) ดังนั้นการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่จะไปทำให้เกิดการไฮโดรลิซิสของสารอะซิทิลโคลีนที่ช่องว่างโคลิเนอร์จิก (cholinergic synapse) จึงใช้เป็นเป้าหมายในการรักษาอาการของโรคอัลไซเมอร์เพื่อเพิ่มการสื่อสัญญาณของโคลิเนอร์จิค (cholinergic transmission) อย่างไรก็ตามในปัจจุบันมียาสังเคราะห์ 4 ชนิดที่ได้รับการรับรองให้ใช้ในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ได้แล้ว เช่น ยาทาครีน (tacrine) ยาโดนีพีซิล (donepezil) ยาไรวาสติกมีน (rivastigmine) และยามีแมนทีน (memantine) (Anekonda และ Reddy, 2005) แต่มีรายงานว่ายาสังเคราะห์เหล่านี้มีจำกัดและทำให้เกิดผลข้างเคียงมากในผู้ป่วยบางราย สำหรับยาที่ได้จากพืชสมุนไพรซึ่งได้มีการใช้ในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ส่วนใหญ่เป็นสารอัลคาลอยด์ (alkaloids) เช่น ไฟโซสติกมีน (Physostigmine) แยกได้จาก *Physostigma venenosom* กาแลนทามีน (Galantamine) แยกได้จาก *Galanthus nivalis* และฮิวเปอร์ซีน เอ (Huperzine A) แยกได้จาก *Huperzia serrata* (Howes และคณะ, 2003) เมื่อหลายปีที่ผ่านมานักวิจัยหลายท่านได้ศึกษากิจกรรมในการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของพืชสมุนไพรในหลายๆประเทศ (Mukherjee และคณะ, 2007; Vinutha และคณะ, 2007; Ingkaninan และคณะ, 2003) แต่ก็ยังมีสมุนไพรหลายชนิดที่ยังไม่เคยมีผู้ศึกษาเกี่ยวกับกิจกรรมการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

เมื่อเร็วๆนี้มีหลักฐานซึ่งชี้ให้เห็นว่าอนุมูลอิสระของออกซิเจน (reactive oxygen species) เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคอัลไซเมอร์ ซึ่งได้ให้ข้อมูลว่าคุณลักษณะบางประการในเซลล์ของการเกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคนี้อาจเป็นสาเหตุหรือเป็นผลของสภาวะเครียดจากกระบวนการออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในร่างกาย (oxidative stress) (Zhu และคณะ, 2004) ซึ่ง oxidative stress เป็นปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาและดำเนินต่อไปของโรคอัลไซเมอร์รวมทั้งการเกิดโรคสมองเสื่อมอื่นๆ ได้มีข้อมูลจากงานวิจัยจำนวนมากที่ชี้ให้เห็นว่าความเสียหายที่เกิดขึ้นจากการเกิดสภาวะเครียดจากกระบวนการออกซิเดชันโดยเฉพาะ neuronal lipids โปรตีนและกรดนิวคลีอิกได้เกิดขึ้นอย่างมากในสมองของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ (Lyras และคณะ, 1998; Markesbery และ Carney, 1999) และได้มีรายงานไว้ก่อนหน้านี้ว่าสารสำคัญหลายชนิดที่แยกได้จากพืชสามารถยับยั้งได้ทั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสและขณะเดียวกันสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ด้วย เช่น สารอัลคาลอยด์ สเตอรอยด์ (steroids) ไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoids) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ที่พบในดอกบัวสัตตบงกช (Mukherjee และคณะ, 2008) สารฟีนอลิกไกลโคไซด์ (phenolic glycosides) และสารฟลาโวนอลไกลโคไซด์ (flavonol glycosides) ในกระชายดำ (Azuma และคณะ, 2008) อนุพันธ์ของฟลาโวน (flavones derivatives) เซสควิเทอร์พีน (sesquiterpenes) กรดไตรเทอร์พีนิก (triterpenic acids) ในบัวบก (Brinkhaus และคณะ, 2000)

ดังนั้นถ้าหากสามารถค้นหาพืชสมุนไพรไทยที่มีสมบัติหลายประการร่วมกันได้ โดยเฉพาะสมบัติการต้านกิจกรรมของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก็จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการที่จะคัดเลือกพืชสมุนไพรไทยที่มีกิจกรรมที่หลากหลายมาประยุกต์ใช้ในการผลิตเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่ช่วยป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์ ช่วยต้านอนุมูลอิสระซึ่งจะช่วยชะลอความชราและป้องกันการเกิดโรคร้ายแรงต่างๆ ที่มีสาเหตุมาจากสภาวะเครียดจากการเกิดออกซิเดชันในร่างกาย (oxidative stress) และพืชสมุนไพรดังกล่าวยังช่วยป้องกันการเสื่อมเสียของเครื่องดื่มอีกด้วย

**1.2 วัตถุประสงค์ของการทดลอง**

1. เพื่อศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสมุนไพรไทย
2. เพื่อศึกษาสมบัติด้านพฤกษเคมีบางประการของสมุนไพรไทย

**1.3 ขอบเขตของการทดลอง**

ในโครงงานพิเศษนี้จะทำการศึกษากิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและกิจกรรมทางพฤกษเคมีอื่นๆของสมุนไพรไทยหลายชนิดเพื่อคัดเลือกสมุนไพรไทยที่มีกิจกรรมดังกล่าวที่สูงมาเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้เพื่อการผลิตเครื่องดื่มสมุนไพรไทย

**1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

ทำให้ทราบถึงชนิดของสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่มีสมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้เครื่องดื่มเสีย และสมบัติทางด้านพฤกษเคมี เช่น สมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2
# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 สมุนไพร (Herbal)

ความหมายของสมุนไพรตามพระราชบัญญัติยา สมุนไพรหมายถึงยาที่ได้จากพืช สัตว์ และแร่ธาตุ ซึ่งยังมิได้ผสมหรือแปรสภาพ เช่น พืชก็ยังเป็นส่วนของราก ลำต้น ใบ ดอก ผล และอื่นๆ มนุษย์ในสมัยโบราณได้เสาะหาพืชเพื่อนำมาใช้เป็นอาหาร เชื้อเพลิง เครื่องนุ่งห่ม ที่พักอาศัยและใช้เป็นยาป้องกันบำบัดรักษาโรค พืชจึงเป็นเครื่องสนองความต้องการในการดำรงชีวิตเพื่อความอยู่รอดของมนุษย์ (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

นักวิทยาศาสตร์ปัจจุบันเชื่อว่าการที่มนุษย์รู้ว่าต้นไม้ชนิดใดที่มีสรรพคุณสามารถรักษาโรคได้นั้น มาจากการเรียนรู้ด้วยประสบการณ์และการทดลองอันยาวนานสืบต่อกันมาแต่สมัยโบราณ บางครั้งอาจอาศัยการสังเกตจากลักษณะของพืชว่ามีลักษณะเหมือนกับอวัยวะใดก็ใช้รักษาอวัยวะนั้นๆได้ (The signature doctrine) หรือสังเกตจากสีหรือรสชาติของพืช เช่น สีแดงรักษาโรคเกี่ยวกับพืช หรือรสขมรักษาโรคเกี่ยวกับน้ำดี เป็นต้น (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

จัดได้ว่าสมุนไพรเป็นส่วนหนึ่งในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ซึ่งกระทรวงสาธารณสุขได้ดำเนินโครงการสมุนไพรกับสาธารณสุขมูลฐาน โดยเน้นการนำสมุนไพรมาใช้บำบัดรักษาโรคในสถานบริการสาธารณสุขของรัฐมากขึ้นและยังส่งเสริมให้ปลูกพืชสมุนไพรเพื่อใช้ภายในหมู่บ้านเป็นการสนับสนุนให้มีการใช้พืชสมุนไพรมากยิ่งขึ้น อันเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถช่วยให้ประเทศชาติประหยัดเงินตราในการสั่งซื้อยาสำเร็จรูปจากต่างประเทศได้ปีละเป็นจำนวนมาก การเก็บพืชสมุนไพรในช่วงเวลาหรือสถานที่ปลูกที่ต่างกัน อาจจะให้ผลในการรักษาแตกต่างกันได้ โดยจากการศึกษาพบว่าการที่รักษาด้วยพืชสมุนไพรไม่ได้ผลในบางครั้ง อาจเนื่องมาจากสมุนไพรที่ใช้แตกต่างกันตามพันธุ์ (genetic) ท้องที่ (environment) และฤดูกาลที่เก็บ (ontogeny) (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

## 2.2 สมุนไพรไทยที่ใช้ในการวิจัย

สมุนไพรไทยทั้งหมดจำนวน 33 ชนิดที่ใช้ในการศึกษาได้ทำการเก็บรวบรวมมาจากตลาดทั่วไปของจังหวัดกรุงเทพมหานคร โดยสมุนไพรเหล่านี้เป็นสมุนไพรที่ใช้ในทางการแพทย์แผนไทยมาตั้งแต่อดีต ซึ่งสมุนไพรไทยแต่ละชนิดยังมีฤทธิ์ในการรักษาโรคต่างๆได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.2.1 ชุมเห็ดเทศ**

**รูปที่ 2.1** ชุมเห็ดเทศ

**ที่มา:** http://www.google.co.th/search (16 ก.พ. 2556)

ชุมเห็ดเทศมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Cassia alata* (L.) Roxb. อยู่ในวงศ์ Caesalpiniaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มสูงประมาณ 3 เมตร ใบประกอบเป็นแบบขนนกขนาดใหญ่ส่วนใบย่อยเป็นรูปขอบขนาน ดอกช่อสีเหลืองชูตั้ง ฝักยาวราว 4 นิ้ว เมื่อแก่จะแตกออกขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด เกิดตามที่ราบลุ่มริมน้ำทั่วไป โดยสรรพคุณของชุมเห็ดเทศมีดังนี้ ส่วนของใบจะมีรสเบื่อเอียนนำมาบดผสมกับกระเทียมหรือน้ำปูนใสช่วยทาแก้กลากเกลื้อนได้ และถ้านำมาดองสุราหรือปิ้งไฟชงเป็นน้ำดื่มช่วยในเรื่องเป็นยาระบายและสมานธาตุ นอกจากนี้ดอกมีรสเอียนใช้เป็นยาระบาย ฝักมีรสเอียนเบื่อใช้แก้พยาธิ เป็นยาระบาย ช่วยขับพยาธิตัวตืด พยาธิไส้เดือน ต้นมีรสเบื่อเอียนช่วยขับพยาธิในท้องส่วนของต้น รากและใบมีรสเบื่อเอียนช่วยแก้กระษัยเส้น ทำให้หัวใจปกติ แก้ท้องผูก และขับปัสสาวะ นอกจากนี้ในใบยังมีสารประกอบฟีนอลคือแอนทราควิโนน (anthraquinone) เช่น อัลโล-อีโมดิน (aloe-emodin) คริสโซฟานอล (chrysophanol) อีโมดิน (emodin) เชน (rhein) และแทนนิน (tannin) (วุฒิ, 2550)

**2.2.2 เทียนข้าวเปลือก**

**รูปที่ 2.2** เทียนข้าวเปลือก

**ที่มา:** http://www.google.co.th/search? (16 ก.พ. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เทียนข้าวเปลือกมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Foeniculum vulgare* Mill. โดยจัดอยู่ในวงศ์ Umbelliferae เทียนข้าวเปลือกมีลักษณะเป็นพืชจำพวกต้นขนาดเล็กสูง 2-5 ฟุต ลำต้นตรง ใบเล็กฝอยหอม มีดอกช่อคล้ายดอกผักชีล้อม เมล็ดสีเหลืองคล้ายข้าวเปลือกแต่มีขนาดเล็กกว่าเล็กน้อย ชาวฮินดูนำมาใช้อมเคี้ยวและกินกับหมากเป็นพืชดั้งเดิมแถบเมดิเตอร์เรเนียน มักปลูกในประเทศฝรั่งเศส อิตาลี กรีก จีน และอินเดีย โดยสรรพคุณของเทียนข้าวเปลือกมีดังนี้ เมล็ดมีรสหวานเผ็ด ช่วยบำรุงกำลัง ช่วยขับผายลม แก้เส้นศูนย์กลางท้องพิการ แก้ชีพจรอ่อน และแก้นอนสะดุ้งได้ (วุฒิ, 2550)

**2.2.3 บัวบก**

**รูปที่ 2.3** บัวบก

**ที่มา:** http://www.manager.co.th/Family/ViewNews. (16 ก.พ. 2556)

บัวบกมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Centella asiatica* (L.) Urban. จัดอยู่ในวงศ์ Umbelliferae ใบบัวบกถือว่าเป็นยาอายุรเวทที่เก่าแก่ ซึ่งจะใช้เป็นสมุนไพรที่ช่วยเสริมสร้างหรือฟื้นฟูระบบประสาทและหน่วยความจำ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าบัวบกช่วยให้อายุยืนนาน ความจำดีและคงความเป็นหนุ่มสาว ตัวอย่างเช่น ยาสูตร Ayurvedic ซึ่งประกอบด้วยสมุนไพร 4 ชนิดรวมทั้งบัวบกช่วยชะลอความแก่ ปกป้องโรคสมองเสื่อมและถ้าใช้ร่วมกับนมจะช่วยปรับปรุงความทรงจำ บัวบกมีน้ำมันหอมระเหยเป็นส่วนประกอบร้อยละ 1 ซึ่งประกอบด้วยสารโมโนเทอร์พีน (monoterpenes) และสารเซสควิเทอร์พีน (sesquiterpenes) ซึ่งเป็นสารสกัดที่ได้จากใบบัวบก สารโมโนเทอร์พีนนี้ที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยของบัวบกได้แก่ สารบอร์นิลอะซิเตรต (bornyl acetate) แอลฟา-ไพนีน (α-pinene) เบต้า- ไพนีน (β-pinene) และแกรมมา-ไพนีน (γ-terpinene) ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าสารเหล่านี้ช่วยยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสและยังพบสารอัลคาลอยด์ (alkaloid) หลายชนิดที่แยกได้จากบัวบกรวมถึงสารไฮโดรโคไทลีน (hydrocotylin) แต่ยังไม่เคยมีผู้ที่ทดสอบในการต้านเอนไซม์ อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสเหล่านี้ (วุฒิ, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.2.4 บัวหลวงแดง**

**รูปที่ 2.4** บัวหลวงแดง

**ที่มา:** http://www.google.co.th/search?hl=th&q=บัวหลวงแดง (16 ก.พ. 2556)

บัวหลวงแดงมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Nymphaea lotus* Linn อยู่ในวงศ์ Nymphaeaceae ลักษณะเป็นบัวขนาดใหญ่ มีก้านดอกแข็ง ผิวเป็นหนามคมเล็กๆตลอด ใบทรงกลมโตผิวเรียบมีนวลขาวเคลือบตลอดหน้าใบ ก้านใบแข็งชูขึ้นเหนือน้ำ ดอกบานแล้วไม่หุบ รูปดอกทรงพุ่มกลีบดอกรูปกลมรีปลายแหลมก้านชูเกสรตัวผู้เล็กเป็นฝอย เมล็ดกลมโตไม่มีหัวเหมือนบัวสาย โดยมีสรรพคุณดังนี้ ดอกและเกสรตัวผู้ช่วยขับปัสสาวะ ขับเสมหะ บำรุงหัวใจ เกสรนำไปปรุงเป็นยาหอม ชูกำลัง ทำให้ชื่นใจ ใช้เป็นยาสงบประสาท เหง้าและเมล็ดมีรสหวานเย็นออกมันเล็กน้อย ช่วยบำรุงกำลัง แก้ร้อนในกระหายน้ำ แก้เสมหะ แก้พุพอง เมล็ดอ่อนและแก่ซึ่งนำเมล็ดมารับประทานเป็นอาหาร และใช้ทำเป็นแป้งได้ดี เหง้าบัวหลวงใช้ปรุงเป็นอาหารได้ทั้งคาวหวาน สำหรับส่วนไส้ของเมล็ดแก้เส้นโลหิตตีบในหัวใจ ยางจากก้านใบและก้านดอกแก้โรคท้องเดินและรากแก้เสมหะ นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารสำคัญต่างๆ เช่น ดอกและเมล็ดมีสารอัลคาลอยด์และเบต้า-ซิโตสเตอรอล (beta-sitosterol) (วุฒิ, 2550)

**2.2.5 เปราะหอม**

**รูปที่ 2.5** เปราะหอม

**ที่มา:** http://www.google.co.th/search (16 ก.พ. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปราะหอมมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Kaempferia galanga* Linn. อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae ลักษณะเป็นไม้ลงหัวใบอ่อนม้วนเป็นกระบอกออกมา แล้วแผ่ราบบนหน้าดิน ต้นหนึ่งมักมี 1-2 ใบ ทรงกลม โตยาวประมาณ 3-4 นิ้ว หน้าใบเขียวทรงกลม เปราะหอมขาวท้องใบเป็นสีขาว มีกลิ่นหอม หัวกลมเหมือนกระชาย ใบงอกงามในหน้าฝน เกิดตามที่ลุ่มชื้นแฉะในบริเวณป่าดงดิบและป่าเบญจพรรณทั่วไป โดยสรรพคุณมีดังนี้ ดอกมีรสหอมร้อนช่วยแก้เด็กนอนสะดุ้งผวา ร้องไห้ตาเหลือก ต้นมีรสเผ็ดขมช่วยขับเลือดเน่าสตรี และหัวมีรสเผ็ดขมช่วยแก้โลหิตซึ่งเจือด้วยลมพิษ ใช้สุมศีรษะเด็กแก้หวัดขัดจมูก แล้วยังรับประทานขับลมในลำไส้ แก้เสมหะ และแก้ลงท้อง (วุฒิ, 2550)

**2.2.6 แปะก๊วย**

**รูปที่ 2.6** แปะก๊วย

**ที่มา:** http://xn--22c0b2abjp4cfrd5cbg8bws5k5f.blogspot.com (16 ก.พ. 2556)

แปะก๊วยมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Ginkgo biloba* L. จัดอยู่ในวงศ์ Ginkgoaceae เป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ ผลัดใบ ใบรูปร่างคล้ายพัด ปลายใบเว้าลึก คนจีนใช้เมล็ดแปะก๊วยปรุงเป็นอาหารมานานหลายพันปี และใช้เป็นยาแก้โรคหอบหืด สารสำคัญที่พบตาม Commission E monograph ของประเทศเยอรมันกำหนดให้สารสกัดจากใบแปะก๊วยที่มีการควบคุมคุณภาพเป็นสารสกัดที่สกัดจากใบแห้งด้วยอะซิโตนและน้ำ มีอัตราส่วนของผงใบต่อสารสกัดเท่ากับ 35-67 : 1 ในสารสกัดต้องมีสารฟลาโวนไกลโคไซด์ (flavones glycosides) ร้อยละ 22-27 และเทอร์พีนแลคโตน (terpene lactones) ร้อยละ 5-7 กลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากใบแปะก๊วยคือเพิ่มการไหลเวียนของหลอดเลือดในสมองและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันว่าอนุมูลอิสระเป็นปัจจัยหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับโรคชราภาพและโรคอัลไซเมอร์ และอีกกลไกหนึ่งคือออกฤทธิ์ต้าน platelet-aggregating factor (PAF) ซึ่งเป็นสารที่เมื่อมีปริมาณสูงจะมีผลเสียต่อเซลล์ประสาทและทำให้การไหลเวียนโลหิตในระบบประสาทส่วนกลางไม่ดี (Howes และคณะ, 2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.2.7 ผักแพว**

**รูปที่ 2.7** ผักแพว

**ที่มา:** http://www.google.co.th/search? (16 ก.พ. 2556)

ผักแพวมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Polygonum odoratum* Lour. จัดอยู่ในวงศ์ Polygonaceae มีลักษณะเป็นพืชล้มลุก ลำต้นตั้งตรง หรือแผ่อยู่บนดิน ชอบดินชื้น ลำต้นมีลักษณะเล็กแตกกิ่งได้ ใบเรียวคล้ายใบไผ่แต่บางกว่า ออกดอกเมื่อต้นแก่และตายไป เมล็ดงอกยากจึงนิยมหักกิ่งไปปักชำ ในทุกส่วนของผักแพวจะมีน้ำมันหอมระเหยที่มีกลิ่นหอมฉุนและรสเผ็ดเล็กน้อย สามารถช่วยดับกลิ่นคาวของเนื้อสัตว์ได้ คนอีสานจึงนิยมกินผักแพวเป็นผักสดแกล้มกับน้ำพริก ใส่เป็นเครื่องเคียงหรือนำมาปรุงร่วมกับอาหารจานเผ็ดประเภทลาบ ก้อย ต้มเผ็ด เป็นต้น และนอกจากนี้ผักแพวยังมีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพรช่วยขับลม แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ และให้คุณค่าทางโภชนาการเพราะอุดมไปด้วยฟอสฟอรัส แคลเซียม วิตามินเอและวิตามินซี มีไฟเบอร์สูงจึงช่วยให้ขับถ่ายได้คล่อง นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนอื่นๆ ของผักแพวสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้เช่นกัน โดยดอกใช้ขับเหงื่อ รักษาโรคปอด ส่วนรากแก้โรคกระเพาะอาหาร ปวดกระดูก ปวดข้อ เป็นต้น ใบผักแพวยังสามารถนำมาคั้นแล้วผสมแอลกอฮอล์ทาแก้กลากเกลื้อนได้อีกด้วย (วุฒิ, 2550)

**2.2.8 ไพล**

**รูปที่ 2.8** ไพล

**ที่มา:** http://www.unitynature.com (16 ก.พ. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไพลมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Zingiber cassumunar* Roxb. จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae เป็นพืชที่มีเหง้า ใบขึ้นมาจากเหง้าที่อยู่ใต้ดิน เป็นพืชที่มีอายุยืนอยู่ได้หลายปีเมื่อถึงฤดูแล้งจะโทรมไปพักหนึ่งต่อเมื่อฝนเริ่มตกจึงงอกเป็นต้นขึ้นมาใหม่ ใบยาวรูปร่างของใบคล้ายคลึงกับใบกล้วยแต่มีขนาดเล็กกว่ามาก กลีบดอกสีขาวนวล ผลค่อนข้างกลมมีขนาดเล็กประกอบด้วยเมล็ดจำนวนมาก เหง้าฉ่ำน้ำมีสีเหลือง กลิ่นฉุนคล้ายการบูร ส่วนที่นิยมนำมาใช้คือเหง้า เมื่อนำเหง้ามากลั่นด้วยไอน้ำให้น้ำมันหอมระเหยสีเหลืองอ่อน สารหลักที่พบในน้ำมันหอมระเหยคือ tertiary alcohol terpinen-4-ol สารอื่นๆที่พบคือแอลฟาและเบต้าไพนีน เป็นต้น นอกจากนี้เหง้ายังมีเอนไซม์ไดแอสเทส (diastase) ซึ่งมีฤทธิ์เหมือนแอลฟา-อะไมเลส (alpha-amylase) และยังมีการนำเหง้ามาใช้เป็นยาขับลม แก้โรคท้องเสียและลำไส้อักเสบในบางครั้งใช้แทนขิง (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

**2.2.9 มะขามป้อม**

**รูปที่ 2.9** มะขามป้อม

**ที่มา:** http://www.thaihof.org/knowledge/article/detail/ (16 ก.พ. 2556)

มะขามป้อมมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Phyllanthus emblica* L. จัดอยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง สูงประมาณ 8-12 เมตร ขึ้นประปรายเป็นหมู่ตามป่าเบญจพรรณแล้ง ป่าเต็งรัง และป่าดิบเขาทั่วๆไป เปลือกค่อนข้างเรียบเกลี้ยงสีเทาอมน้ำตาลอ่อน ลอกออกเป็นแผ่นได้ เนื้อไม้มีสีแดงอมน้ำตาล ใบเป็นใบประกอบแบบขนนก ลักษณะใบรูปขอบขนานหรือรูปขอบขนานแกมรูปไข่ ปลายใบแหลม ขอบใบเรียบ โคนใบเฉียง ขนาดใบเล็ก ใบมีสีเขียวเข้ม ก้านใบสั้นมาก ดอกออกเป็นช่อแบบแยกแขนง ช่อดอกสั้น มีดอกย่อยประมาณ 5-6 ดอก ดอกมีสีขาวหรือสีเหลืองนวล ไม่มีกลีบดอก มีกลิ่นหอม ผลมีลักษณะกลมเกลี้ยง ผลอ่อนมีสีเขียว เนื้อหนา รสฝาด เปรี้ยว ขมอมหวาน ผลแก่สีเขียวอมเหลือง เมล็ดมีเปลือกหุ้มเมล็ดแข็งสีน้ำตาล ส่วนที่นิยมนำมาใช้ได้แก่ ใบ เปลือกต้น ผลอ่อน ผลแก่ ผลแห้ง ดอกและเมล็ด เป็นต้น พบว่าในมะขามป้อมมีวิตามินซีสูงมาก การที่เนื้อมะขามป้อมแก้ไอ ขับเสมหะได้เพราะในเนื้อมีกรดอินทรีย์ และนอกจากนี้ส่วนต่างๆของมะขามป้อมยังมีประโยชน์มากมาย เช่น ใบมีรสฝาดขมใช้ต้มน้ำอาบลดไข้ เป็นยาแก้ตัวบวมน้ำ แก้แผลผื่นคัน และผิวหนังอักเสบ เปลือกลำต้นมีรสฝาดขมนำมาบดเป็นผงโรยแก้บาดแผลเลือดออก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผลฟกช้ำ หรือนำมาต้มเป็นยาแก้โรคบิด สมานแผล ผลมีรสเปรี้ยวฝาดขมแก้ไข้ แก้ลม แก้โรคตา บำรุงธาตุ ดอกมีรสหอมเย็น ใช้เป็นยาระบาย และเมล็ดบดเป็นผงต้มน้ำร้อนดื่มเป็นยาแก้ไข้ โรคเบาหวาน โรคหลอดลมอักเสบ แก้อาการคลื่นไส้อาเจียน (โชติอนันต์ และ กลุ่มสมุนไพรแผนไทย, 2551)

**2.2.10 ลำดวน**

**รูปที่ 2.10** ลำดวน

**ที่มา:** https://www.google.co.th/search?q=ดอกลำดวน&hl=th&tbm? (16 ก.พ. 2556)

ลำดวนมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Melodorum fruticosum* Lour. อยู่ในวงศ์ Annonaceae มีลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดย่อมสูง 3-8 เมตร เปลือกเรียบสีน้ำตาล ใบเรียวรูปหอก ปลายและโคนแหลม ดอกเดี่ยวออกที่ง่ามใบ กลีบคล้ายกลีบของดอกบัวหลวงแต่มีลักษณะเล็กและหนามีสีเหลืองนวล ประกอบด้วย 3 กลีบทรงกลมปลายแหลมไม่เรียว กลิ่นหอม เกิดตามป่าเต็งรังและป่าโปร่ง โดยมีสรรพคุณดังนี้ ดอกมีรสหอมเย็นแก้ลมวิงเวียง บำรุงหัวใจ บำรุงโลหิต ชูกำลัง และแก้ไข้ (วุฒิ, 2550)

**2.2.11 ว่านน้ำ**

**รูปที่ 2.11** ว่านน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

**ที่มา:** http://www.laddagardenshop.com.aspx (16 ก.พ. 2556)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ว่านน้ำชื่อวิทยาศาสตร์ *Acorus calamus* Linn. อยู่ในวงศ์ Araceae ลักษณะเป็นพืชล้มลุกจำพวกเหง้า ใบเล็กเรียวขอบขนานยาว ปลายแหลมสูง 1-2 เมตร ไม่มีก้านใบ ออกจากเหง้าใต้ดิน ดอกเล็กอัดกันเป็นช่อแท่ง รูปหอกกลมสีเหลืองอมเขียว ผลสุกสีแดง มักขึ้นตามริมน้ำหรือที่ชื้นแฉะทั่วไป โดยว่านน้ำมีสรรพคุณที่ใช้ในการรักษาอาการต่างๆมากมายได้แก่ ใบมีรสเผ็ดร้อนเล็กน้อย แก้ปวดกล้ามเนื้อ แก้ปวดตามข้อ และแก้ปวดศีรษะ เหง้ามีรสหอมร้อนสามารถนำมาต้มรับประทานแก้บิด แก้ปวดท้อง แก้ท้องขึ้นอืดเฟ้อ แน่นจุกเสียด ขับลมในกระเพาะและลำไส้ ขับเสมหะ แก้ไอ ช่วยระงับประสาท แก้แผลฝีหนอง แก้ปวดตามข้อ แก้ปวดฟัน ช่วยขับพยาธิ และแก้ชักได้ ถ้านำมาต้มดื่มหรือเคี้ยวช่วยแก้หวัด แก้หลอดลมอักเสบ อมแก้ไอ และนำมารับประทานแก้หอบหืด บำรุงหัวใจ นอกจากนี้นำมาเผาเป็นถ่านแล้วรับประทานสามารถช่วยแก้พิษสลอดได้ (วุฒิ, 2550)

**2.2.12 สมอไทย**

**รูปที่ 2.12** สมอไทย

**ที่มา:** http://www.rakbankerd.com/view.php (16 ก.พ. 2556)

สมอไทยมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Terminalia chebula* Retz. จัดอยู่ในวงศ์ Combretaceae เป็นไม้ยืนต้นพบอยู่ทั่วๆไปในเขตร้อน ดอกมีสีเหลืองและมีกลิ่นหอม ผลรูปไข่สีเหลือง เมล็ดเดี่ยวและแข็ง ผลที่ไม่สุกมีสีดำ ผลสุกสีน้ำตาลมีรอยย่นตามยาว ไม่มีกลิ่น รสฝาด เมื่อชิมจะขมเล็กน้อยในตอนแรกและจะหวานในตอนหลัง ส่วนที่นิยมใช้คือผลอ่อน และยังพบว่าสารสำคัญที่พบในลูกสมอไทย ได้แก่ กรดแกลลิก (gallic acid) กรดชีบูลิก (chebulic acid) กรดชีบูลินิก (chebulinic acid) กรดชีบูลาจิก (chebulagic acid) โคริลาจิน (corilagin) เทอชีบิน (terchebin) กลูโคแกลลิน (glucogallin) กรดเอลลาจิก (ellagic acid) เซนโนไซด์เอ (sennoside A) ชีบูลิน (chebulin) แทนนิน (tannase) และคาเทคอล (catechol) เป็นต้น นอกจากนี้ประโยชน์ของผลอ่อนจะมีฤทธิ์เป็นยาระบาย ในผลแก่จะมีฤทธิ์เป็นยาฝาดสมานสามารถทำเป็นยาชงใช้อมกลั้วคอแก้เจ็บคอ (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.2.13 สมุลแว้ง**

**รูปที่ 2.13** สมุลแว้ง

**ที่มา:** http://www.google.co.th/search (16 ก.พ. 2556)

สมุลแว้งมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Cinnamomum bejolghota* (Ham.) Sweet จัดอยู่ในวงศ์ Lauraceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ ใบเป็นรูปหอกหัวท้ายแหลมคล้ายอบเชย เปลือกต้นหนาและมีกลิ่นหอมร้อน อีกชนิดหนึ่งเปลือกต้นบางคล้ายเปลือกต้นสนมีกลิ่นหอมร้อนเช่นกัน เกิดตามป่าดงดิบเขา ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด โดยสรรพคุณมีดังนี้ มีรสหอมร้อน ช่วยแก้ลมวิงเวียน ใจสั่น แก้พิษหวัด แก้กำเดา ขับลมในลำไส้ และแก้ธาตุพิการ (วุฒิ, 2550)

**2.2.14 สีเสียดเทศ**

**รูปที่ 2.14** สีเสียดเทศ

**ที่มา:** http://www.google.co.th/imgres?imgurl (16 ก.พ. 2556)

สีเสียดเทศมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Uncaria gambir* (Hunter) Roxb. จัดอยู่ในวงศ์ Rubiaceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้น เนื้อแข็ง ใบเดี่ยวรูปหอกปลายและโคนแหลม ขอบยัก ผิวเรียบ สีเขียวเข้ม ก้านใบมีหนามแหลมเหมือนเขาควาย ดอกเป็นกระจุกรวมกันเป็นช่อกลม ใช้ใบและกิ่งก้านมาต้มเคี่ยวแล้วเอายางทำเป็นก้อน เป็นสีน้ำตาลอ่อน ผิวไม่เรียบมัน นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ทำให้ความดันเลือดต่ำและฆ่าเชื้อโรค โดยสรรพคุณของสีเสียดเทศมีดังนี้ สีเสียดเทศมีรสฝาดนำมาบดเป็นผงหรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้มรับประทานช่วยแก้ท้องร่วง แก้บิดมูกเลือด แก้อติสาร ทาสมานแผล ช่วยห้ามเลือดกำเดา นอกจากนี้สามารถนำมาใส่แผลริดสีดวง แผลเน่าเปื่อย ทำเป็นยาอมและยาบ้วนปากได้ (วุฒิ, 2550)

### 2.2.15 หญ้าฝรั่น

**รูปที่ 2.15** หญ้าฝรั่น

**ที่มา:** https://sites.google.com/site/kanlayaneekotakoon (16 ก.พ. 2556)

หญ้าฝรั่นมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Crocus sativus* L. จัดอยู่ในวงศ์ Lridaceae เป็นพืชที่มีลำต้นใต้ดินเป็นหัวที่เรียกว่า corm เป็นพืชที่มีอายุได้หลายปี ดอกโผล่ขึ้นมาจากดิน การเก็บดอกมาใช้จะเก็บเมื่อดอกเริ่มบาน โดยหญ้าฝรั่นเป็นเครื่องเทศที่มีราคาแพงมากที่สุดชนิดหนึ่ง ประเทศที่ปลูกหญ้าฝรั่นเพื่อขายเป็นสินค้า ได้แก่ สเปน ฝรั่งเศส ตุรกี เยอรมนี อิหร่าน และอินเดีย (นิจศิริ และพยอม, 2534)

ส่วนที่นิยมนำมาใช้ได้แก่ ราก ต้น ดอก และเกสรตัวเมีย เป็นต้น สารสำคัญที่พบในหญ้าฝรั่นจะประกอบด้วยสารโครซิน (crocin) ร้อยละ 2 ซึ่งเป็นสารที่ทำให้หญ้าฝรั่นมีสี และมีสารพิโครโครซิน (picrocrocin) ร้อยละ 2 ทำให้หญ้าฝรั่นมีรสขมและกลิ่นหอม นอกจากนี้ส่วนต่างๆของหญ้าฝรั่นยังมีประโยชน์มากมาย เช่น รากแก้ไข้ แก้บิด บำรุงกระเพาะอาหาร บำรุงธาตุ ขับปัสสาวะ ต้นบำรุงหัวใจ แก้อ่อนเพลีย เป็นยาบำรุงโลหิต ดอกแก้ไข้ ชูกำลัง แก้เส้นกระตุก เกสรตัวเมียเป็นยาขับเหงื่อ ใช้แต่งกลิ่นและสีในอาหารหรือเครื่องดื่มและเหล้า รวมทั้งลูกกวาดและขนมหวาน เป็นต้น ทั้งต้นใช้เป็นยาระงับความเจ็บปวด ยาขับเหงื่อ ขับระดู แก้อาการเกร็ง และขับเสมหะ (เสริมสิริ และคณะ, 2541)

## 2.3 สมุนไพรที่มีสมบัติต้านโรคอัลไซเมอร์

สาเหตุของโรคสมองเสื่อม (dementia) มีมากมายรวมทั้งโรค Lewy body disease, Pick's disease, Cerebrovascular disease และโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) โดยรูปแบบของโรคสมองเสื่อมที่พบบ่อยมากที่สุดก็คือโรคอัลไซเมอร์ เป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทซึ่งเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาด้านสุขภาพที่สำคัญของประชากรสูงวัย ซึ่งพบประมาณร้อยละ 50-60 ของจำนวนผู้ป่วยที่เป็นโรคสมองเสื่อมทั้งหมดซึ่งมีอายุมากกว่า 65 ปี (Howes และคณะ, 2003)

ลักษณะอาการหลักๆของโรคอัลไซเมอร์เกี่ยวข้องกับการสูญเสียความทรงจำ หน้าที่การรับรู้ มีปัญหาเรื่องการใช้ภาษา ซึมเศร้า มีปัญหาด้านพฤติกรรม รวมถึงความกระวนกระวาย อารมณ์แปรปรวน และในระยะหลังไม่สามารถรับความเป็นจริงได้หรือประสาทหลอนในที่สุด (Howes และคณะ, 2003)

ลักษณะของโรคอัลไซเมอร์เกิดขึ้นในระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system) เกิดจากการสร้าง senile plaque และ neurofibrillary tangle กระบวนการ oxidative การอักเสบ และการรบกวนสารสื่อประสาท จุลกายวิภาควิทยาเกี่ยวกับระบบประสาทมีความสัมพันธ์กับการสูญเสียความทรงจำจากการขาดสาร โคลีน (cholinergic) ที่สัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคอัลไซเมอร์ (Howes และคณะ, 2003)

ดังนั้นจึงมีความมุ่งมั่นที่จะฟื้นฟูหน้าที่ของสาร โคลีน (cholinergic function) โดยใช้ยาในการรักษาอาการของโรคอัลไซเมอร์ การเพิ่มระดับหน้าที่ของสาร โคลีนจะรวมไปถึงการกระตุ้น cholinergic receptors (เช่น การกระตุ้น nicotinic receptor โดย nicotine) หรือทำโดยการให้มีสารอะซิทิลโคลีน (acetylcholine, ACh) ที่ถูกปล่อยออกให้เพียงพอในร่อง neuronal synaptic ซึ่งอาจเกิดขึ้นโดยการยับยั้งการไฮโดรลิซีสของอะซิทิลโคลีน โดยเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (acetylcholinesterase, AChE) โดยการใช้ตัวยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Howes และคณะ, 2003)

ในอดีตกว่า 10 ปีที่ผ่านมา ได้มีการจดลิขสิทธิ์ตัวยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสำหรับใช้ทางคลินิกในการบรรเทาอาการในระยะเริ่มแรกของโรคอัลไซเมอร์ แต่เป็นเพียงการทำให้การดำเนินของโรคช้าลงเท่านั้นไม่ได้มีผลในด้านการปรับปรุงอย่างถาวร ตัวอย่างยาสังเคราะห์ที่จดลิขสิทธิ์ ได้แก่ ทาครีน (tacrine) เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสตัวแรกที่จดลิขสิทธิ์ แต่การใช้สารนี้เป็นประจำถูกจำกัดเพราะเกี่ยวข้องกับผลของการทำให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ตับ และยังมีตัวยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสตัวอื่นๆ ได้แก่ โดนีพีซิล (donepezil) ไรวาสติกมีน (rivastigmine) และกาแลนทามีน (galanthamine) (Howes และคณะ, 2003)

## 2.4 สารยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส

### 2.4.1 อัลคาลอยด์ (alkaloids)

**ก) ไฟโซสติกมีน (Physostigmine)**

ไฟโซสติกมีนได้มาจาก *Physostigma venenosum* ที่เป็นพืชที่ใช้กันดั้งเดิมในแอฟริกาโดยใช้เป็นยาพิษในพิธีกรรมทางศาสนาสำหรับตัดสินว่าผู้ต้องหาเป็นผู้ที่กระทำความผิดหรือเป็นผู้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บริสุทธิ์ในคดีอาชญากรรม การรักษาด้วยอินโดลอัลคาลอยด์ไฟโซสติกมิน (indole alkaloid physostigmine) ซึ่งเป็นตัวยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสที่แยกได้จากพืช *P. venenosum* ได้ถูกพิสูจน์แล้วว่าสามารถช่วยปรับปรุงหน้าที่การรับรู้ในการศึกษาทดลองมากมายในสัตว์ทดลอง (in vivo) ตัวอย่างเช่น มีการรายงานว่าสารนี้สามารถช่วยให้หนูต่อต้านความเสียหายในการรับรู้ที่มีสาเหตุจากการขาดออกซิเจน ซึ่งสามารถปรับปรุงการเรียนรู้ในหนูและต่อต้านความเสียหายของหน้าที่การรับรู้ในหนูซึ่งเกิดจากยาระงับประสาทได้ (Howes และคณะ, 2003)

**ข) กาแลนทามีน (Galanthamine)**

กาแลนทามีนได้มาจาก *Galanthus nivalis* ที่เป็นพืชใช้กันมากแต่เดิมในบัลกาเรียและตุรกีใช้สำหรับการรักษาโรคประสาท สารกาแลนทามีนเป็น amaryllidaceae alkaloid ที่ได้จากพืช *Galanthus nivalis* L. (และ *Narcissus* spp. และสมุนไพรจีน คือ *Lycorus radiate*) มีการรายงานว่าสารนี้เลือกที่จะจับกับเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสมากกว่าเอนไซม์บิวทิลโคลีนเอสเทอเรส (butylcholinesterase) ซึ่งจะให้ oral bioavailability อย่างสมบูรณ์ สารนี้จดลิขสิทธิ์แล้วในยุโรปสำหรับใช้รักษาโรคอัลไซเมอร์ และมีฤทธิ์ต้านได้ดี โดยช่วยปรับปรุงหน้าที่การรับรู้ได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้รักษากับผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ในหลายๆศูนย์การทดลองที่มีการควบคุมแบบสุ่ม (multicentre randomized controlled trials) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ากาแลนทามีนช่วยกระตุ้น nicotinic receptors ซึ่งอาจช่วยส่งเสริมหน้าที่ของโคลีนและช่วยปรับปรุงความทรงจำ (Howes และคณะ, 2003)

**ค) ฮิวเปอร์ซีน เอ (Huperzine A)**

ฮิวเปอร์ซีน เอ ได้จาก *Huperzia serrata* เป็นพืชที่นำมาใช้เป็นยาจีน (Traditional Chinese Medicine หรือ TCM) สำหรับช่วยส่งเสริมการไหลเวียน (circulation) รักษาอาการไข้ ต่อต้านการอักเสบและช่วยบรรเทาอาการปวด และใช้ในสูตรยาตามใบสั่งยา Qian Ceng Ta (เตรียมได้จาก *H. serrata*) ซึ่งเป็นยาจีนสำหรับช่วยบรรเทาปัญหาการสูญเสียความทรงจำ สารฮิวเปอร์ซีน เอ ซึ่งแยกได้จากมอสต์ *H. serrata* เป็นไลโคโพเดียม อัลคาลอยด์ (lycopodium alkaloid) ที่สัมพันธ์กันกับควิโนไลซิดิน (quinolizidines) และสามารถยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสกับการทดลองในหลอดทดลอง (*in vitro*) และในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) ได้ นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าฮิวเปอร์ซีน เอ สามารถปรับปรุงกระบวนการรักษาความทรงจำในหนูทั้งแก่และอ่อนที่สูญเสียการรับรู้ได้ และมีรายงานว่าฮิวเปอร์ซีน เอ สามารถช่วยปรับปรุงความทรงจำและพฤติกรรมของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ได้อย่างมีนัยสำคัญ และมีการรายงานว่าสารนี้มีความจำเพาะกับเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสมากกว่าบิวทิลโคลีนเอสเทอเรส และมีความเป็นพิษน้อยกว่า โดยตัวยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสังเคราะห์ เช่น โดนีพีซิล และทาครีน (Howes และคณะ, 2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.4.2 เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) และสารพฤกษเคมี (phytochemical) อื่นๆ**

ได้มีการศึกษาถึงผลของน้ำมันหอมระเหยมากมายและสารโมโนเทอร์พีน (monoterpene) ที่เป็นสารประกอบในน้ำมันหอมระเหยที่มีต่อเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส นอกจากนี้พบว่ามีกิจกรรมยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสอย่างอ่อนๆ ตัวอย่างเช่น น้ำมันหอมระเหยจากสะระแหน่ (*Melissa officinalis*) และโรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis*) ที่มีการรายงานว่าสามารถยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสจากเม็ดเลือดแดงในหลอดทดลองได้ (Howes และคณะ, 2003)

สารโมโนเทอร์พีนชนิดอื่นซึ่งมีรายงานว่า ยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ รวมถึงสารบอร์นิล อะซิเตต (bornyl acetate) จีรานิออล (geraniol) และลิโมนีน (limonene) สามารถยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสจากปลาไหลไฟฟ้าได้ สารแกมมา-เทอร์พินีน (γ-terpinene) เป็นตัวยับยั้งของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสจากเม็ดเลือดแดงของคนและของโค กระบือ และสารแอลฟา-พินีน (α-pinene) ซึ่งสามารถยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสจากเม็ดเลือดแดงของคน โดยมีฤทธิ์ยับยั้งมากกว่าสารแกมมา-เทอร์พินีน อย่างไรก็ตามสารโมโนเทอร์พีนเหล่านี้เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสที่อ่อนเมื่อเปรียบเทียบกับไฟโซสติกมีนที่เป็นสารอัลคาลอยด์ สารซิทรัล (citral) ก็มีการรายงานว่าสามารถยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสจากปลาไหลไฟฟ้าได้ และสารจีรานิออล (geraniol) ลินาโลออล (linalool) เป็นตัวยับยั้งอย่างอ่อนๆ ของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสจากเม็ดเลือดแดงของคน สารไดเซสควิเทอร์พีนกอสซิปอล (disesquiterpene gossypol) เป็น reversible inhibitor ของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสจากปลาไหลไฟฟ้า (Howes และคณะ, 2003)

**2.4.3 ไฟโต - โอเอสโตรเจน (Phyto-oestrogens)**

ไฟโต-โอเอสโตรเจน (เช่น soy isoflavones) ได้มีการรายงานว่าสารนี้สามารถช่วยในการปรับปรุงหน้าที่การรับรู้ (จากการศึกษาในสัตว์และมนุษย์) และยังพบว่าอาจจะสามารถป้องกันการพัฒนาของโรคอัลไซเมอร์ได้ รูปแบบการทำงาน (mode of action) ของสารไฟโต-โอเอสโตรเจนเพื่อที่จะอธิบายสิ่งที่สังเกตได้นั้นยังไม่เป็นที่กระจ่างชัด โดยสารนี้อาจจะทำงานคล้ายกับ oestrogen replacement therapy (ORT) หรือทำงานโดยผ่านทางกลไกที่หลากหลาย และอาจจะเป็นทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสมในการป้องกันโรคอัลไซเมอร์ (Howes และคณะ, 2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 2.1** พืชบางชนิดและสารประกอบที่แยกได้พร้อมทั้งกิจกรรมที่ตรงกับปัญหาความสัมพันธ์ในการรักษาความผิดปกติในการรับรู้ รวมถึงโรคอัลไซเมอร์

| พืช | สารประกอบที่แยกได้ | ผลกระทบจากการใช้แบบพื้นบ้าน เภสัชศาสตร์ และทางคลินิก |
|---|---|---|
| *Angelica archangelica* L. (เหง้าโกฐหัวบัว) | สารออกฤทธิ์ยังไม่เป็นที่ทราบ | - พืชชนิดนี้ได้เคยมีการใช้ในตำรับยาจีนสำหรับรักษาโรคทางสมอง<br>- สารสกัดหยาบจากแอลกอฮอล์ของพืชนี้สามารถแทนที่การจับของไนโคทิน (nicotine) กับ nicotine receptors โดยขึ้นอยู่กับความเข้มข้น และสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในหลอดทดลองได้<br>- พืชดังกล่าวมีการรายงานว่าสามารถเพิ่มการไหลเวียนของเลือดในซีรีบรัมได้ |
| *Artemisia absinthium* L. (วอร์มวู๊ด) | สารประกอบที่ทำหน้าที่สำหรับแทนที่ในการจับกับ nicotine receptors ยังไม่เป็นที่ทราบ | - พืชชนิดนี้ใช้กันมาแต่เดิมในยาของชนชาวยุโรป โดยใช้เป็นยาฟื้นฟูสุขภาพที่สูญเสียกำลังหรือหน้าที่การรับรู้เสื่อม<br>- สารสกัดหยาบจากแอลกอฮอล์ของพืชนี้สามารถแทนที่การจับของไนโคทินกับ nicotine receptors โดยขึ้นกับความเข้มข้น |
| *Bacopa monniera* Wettst. (พรมมิ) | สารประกอบที่เกี่ยวข้องกับการมีกิจกรรมที่จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม แต่กิจกรรมของสารนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากสาร bacosides A และ B (saponins) | - พืชนี้ใช้ในยา Ayurvedic เพื่อปรับปรุงความทรงจำและความคิด มีรายงานพบว่าสารสกัดพืชตัวนี้ทำให้การเรียนรู้ง่ายขึ้น และมีผลในการต้านอนุมูลอิสระใน frontal cortex ของหนู ซึ่งเป็น striatum และ hippocampus ทั้ง bacosides A และ B มีการรายงานว่าสามารถยับยั้งผลกระทบของโรคความจำเสื่อมจากยาระงับประสาท(scopolamine) ในสัตว์ประเภทกัดแทะได้<br>- พืชนี้สามารถปรับปรุงความทรงจำในหนูที่ได้รับ anticonvulsant phenytoin และสามารถปรับปรุงการแสดงออกของหนูในหลายๆสถานการณ์การเรียนรู้ได้ |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 2.1** พืชบางชนิดและสารประกอบที่แยกได้พร้อมทั้งกิจกรรมที่ตรงกับปัญหาความสัมพันธ์ในการรักษาความผิดปกติในการรับรู้ รวมถึงโรคอัลไซเมอร์ (ต่อ)

| **พืช** | **สารประกอบที่แยกได้** | **ผลกระทบจากการใช้แบบพื้นบ้าน เภสัชศาสตร์ และทางคลินิก** |
|---|---|---|
| *Biota orientalis* Endl. (สนหางสิงห์) | สารออกฤทธิ์ในพืชชนิดนี้ยังไม่เป็นที่ทราบ | - พืชนี้ใช้ในตำรับยาจีนดั้งเดิม สำหรับรักษาโรคนอนไม่หลับและโรคความจำเสื่อม ใบสั่งยาสมุนไพรนี้ประกอบด้วย *Biota orientalis*, *Pahax ginseng* และ *Schisandra chinensis* ที่สามารถปรับปรุงการบันทึกความทรงจำอย่างมั่นคงในหนู<br>- สารสกัดจากเมล็ดของพืชนี้สามารถช่วยบรรเทาการสูญเสียความทรงจำที่ถูกชักนำโดย amygdale และ basal forebrain lesions ในหนู |
| *Codohopsis pilulosa* | สารออกฤทธิ์ยังไม่เป็นที่ทราบ | - ในตำรับยาจีน รากของพืชนี้ใช้สำหรับรักษาความผิดปกติที่หลากหลาย รวมถึงโรคความจำเสื่อม และมีความเชื่อว่าสามารถกระตุ้นการไหลเวียนของเลือดและเพิ่มความมีชีวิตชีวา<br>- สารสกัดจากพืชนี้ ช่วยลดความเสียหายของความทรงจำในสัตว์ทดลอง และแสดงให้เห็นถึงผลกระทบของ nootropic |
| *Coptis chinensis* Franch. | berberine,jatrorrhizine และ palmatine (อัลคาลอยด์) | - พืชชนิดนี้ใช้ในตำรับยาจีนสำหรับการรักษาอาการในหลายๆสภาวะ<br>- สารสกัดที่ทำการสกัดจากเมทานอลของพืชนี้ทั้ง jatrorrhizine และberberine เป็นตัวยับยั้งของ moncamine oxidase ซึ่งชี้ให้เห็นถึงกิจกรรมที่มีศักยภาพในการต้านอาการ depress<br>- พืชชนิดนี้รวมทั้งสาร berberine และ palmatine เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 2.1** พืชบางชนิดและสารประกอบที่แยกได้พร้อมทั้งกิจกรรมที่ตรงกับปัญหาความสัมพันธ์ในการรักษาความผิดปกติในการรับรู้ รวมถึงโรคอัลไซเมอร์ (ต่อ)

| พืช | สารประกอบที่แยกได้ | ผลกระทบจากการใช้แบบพื้นบ้าน เภสัชศาสตร์ และทางคลินิก |
|---|---|---|
| *Coptis chinensis* Franch. | berberine,jatrorrhizine และ palmatine (อัลคาลอยด์) | - พืชชนิดนี้สามารถปรับปรุงการสูญเสียความทรงจำและการเรียนรู้ในหนู มีรายงานว่ามีกิจกรรมการต้านการอักเสบและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ |
| *Crocus sativas* L. (หญ้าฝรั่น) | crocin (carotenoid) | - พืชชนิดนี้ใช้ในตำรับยาจีนเพื่อรักษาความผิดปกติของระบบประสาท<br>- สารสกัดจากพืชนี้และสาร crocin สามารถปรับปรุงความเสียหายด้านพฤติกรรมการเรียนรู้ในหนูที่ถูกชักนำโดยเอทานอล<br>- พืชชนิดนี้ระงับกระบวนการ apoptosis ของ neuronally differentiated PC-12 cells ที่ถูกชักนำโดย TNF- α ในหลอดทดลองได้ |
| *Evodia rutaecarpa* Hook.f. & Thoms (หวูจูยหวีทัง) | dehydroevodiamine และ rutaecarpine (อัลคาลอยด์) และ limonin (nor-triterpenoid) | - พืชชนิดนี้ใช้ในตำรับยาจีนดั้งเดิมสำหรับการรักษาผลกระทบเกี่ยวกับหัวใจและอาการปวด<br>- สาร rutaecarpine สามารถยับยั้งกิจกรรมของ cox-z ในหลอดทดลอง และสาร rutaecarpine และสาร limonin สามารถต้านการอักเสบในสัตว์ทดลองได้<br>- พืชชนิดนี้และสารdehydro-evodiamine สามารถยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในหลอดทดลองได้ และยังสามารถช่วยให้การสูญเสียความทรงจำในหนูที่ถูกชักนำโดย scopolamine กลับคืนมา<br>- สาร dehydroevodiamine เป็นสารที่ช่วยเพิ่มการไหลเวียนของเลือดในซีรีบรัมได้ในสัตว์ทดลอง |

**ที่มา:** Howes และคณะ (2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.5 หลักการสกัดและวิเคราะห์สารจากสมุนไพร**

**2.5.1 หลักการสกัดและการแยกสารสำคัญจากสมุนไพร**

การสกัดสารสำคัญจากพืชสามารถทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่ต้องการสกัด สมบัติในการทนต่อความร้อนของสารและชนิดของตัวทำละลายที่ใช้รวมถึงวิธีการสกัดที่เหมาะสม ซึ่งมีความสำคัญอย่างมากต่อการคงอยู่ของสารที่มีอยู่ในพืช พืชที่จะนำมาทำการสกัดจะต้องทำการตรวจเอกลักษณ์ เพื่อให้ได้พืชถูกต้องตามชนิดที่ต้องการ และตรวจสอบว่าไม่มีพืชชนิดอื่นหรือสารอื่นเจือปน นอกจากนี้ควรทำความสะอาดพืชเพื่อให้ปราศจากสิ่งแปลกปลอม ไม่มีเชื้อจุลินทรีย์หรือโรคพืชที่ติดมา (พิมพร, 2547)

พืชที่นำมาทำการสกัดจะต้องทำให้แห้งก่อนเพื่อรักษาคุณภาพพืชให้ดีที่สุด ป้องกันการเน่าเสียอันเนื่องมาจากจุลินทรีย์และช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่มีอยู่ในพืชสด การทำให้แห้งควรใช้วิธีที่เร็วและใช้อุณหภูมิต่ำ เพราะอุณหภูมิที่สูงจะทำให้สารสำคัญเกิดการสลายตัวหรือเปลี่ยนแปลงได้ หลังจากนั้นทำการย่อยพืชที่แห้งแล้วให้มีขนาดเล็กลงเพื่อทำลายผนังเซลล์พืชและเพิ่มพื้นที่ผิวที่จะสัมผัสกับสารที่ใช้ในการสกัดทำให้สารสกัดได้ผลดียิ่งขึ้น แล้วนำไปทำการสกัดแบบลำดับขั้ว ซึ่งเป็นเทคนิคในการแยกสารออกจากกันตามคุณสมบัติความมีขั้ว (polarity) ที่ต่างกันโดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกันในการสกัด โดยเริ่มสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำแล้วเรียงลำดับขั้วสูงขึ้นเรื่อยๆ หลักการคือสารที่มีขั้วต่ำจะถูกสกัดออกมาตามตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำ และสารที่มีขั้วสูงจะถูกสกัดออกมากับตัวทำละลายที่มีขั้วสูง สิ่งที่ได้จากการสกัดอยู่ในรูปของสารสกัดหยาบ (crude extract) ซึ่งเป็นสารผสมขององค์ประกอบทางเคมีของพืชที่มีทั้งองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเรียกว่าสารสำคัญ (active constituents) และองค์ประกอบที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเรียกว่าสารเฉื่อย (inert substances) โดยจะมีสัดส่วนของสารทั้งสองชนิดแตกต่างกันตามพืชที่ใช้ ตัวทำละลายที่ใช้สกัดและสภาวะที่ใช้ในการสกัด สารสกัดหยาบจะมีปริมาตรมากและเจือจางจึงจำเป็นต้องนำมาทำให้เข้มข้นด้วยวิธีการระเหยในสภาวะสุญญากาศและอุณหภูมิที่ต่ำ เพื่อลดปริมาตรและสะดวกต่อการนำไปใช้งานต่อไป (รัตนา, 2547)

**2.5.2 สารสำคัญจากสมุนไพร**

สารสำคัญจากพืชก็คือสารเคมีที่แยกได้จากสมุนไพร นักวิทยาศาสตร์ได้จำแนกออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ที่มีความแตกต่างกันดังนี้ กลุ่มแรกคือ primary metabolite เป็นสารที่พบได้ในพืชทุกชนิด เป็นผลผลิตที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช (photosynthesis) ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโนและไขมัน ส่วนกลุ่มที่สองคือ secondary metabolite พบในพืชแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป เป็นผลผลิตที่ได้จากกระบวนการทางชีวะสังเคราะห์ของพืช (biosynthesis) เช่น สารประกอบอัลคาลอยด์ ไกลโคไซด์ แทนนิน เป็นต้น โดยสารในกลุ่มพวก secondary metabolite จะมีสารเริ่มต้นเป็นกรดอะมิโน กรดอะซิเตรต เมวาโลเนท (mevalonate) และอื่นๆ ซึ่งจะมีเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้เพื่อประโยชน์ในทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในพืชแต่ละชนิดเข้ามาเกี่ยวข้องเพื่อเปลี่ยนให้ได้เป็นสารประเภท secondary metabolite ที่แตกต่างกันออกไปในพืชแต่ละชนิดในที่สุด ทั้งนี้สาเหตุที่แท้จริงในการสร้างสาร secondary metabolite ของพืชยังไม่ทราบแน่ชัดแต่พบว่าอาจเกิดจากการพยายามปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปของพืช จากการศึกษาสารในกลุ่ม primary metabolite และกลุ่ม secondary metabolite ของพืช สามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคได้ จำแนกออกเป็น 9 กลุ่มใหญ่ ดังนี้ (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

**ก) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate)**

คาร์โบไฮเดรตเป็นสารที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจนและออกซิเจน โดยส่วนใหญ่จะมีอัตราส่วนของไฮโดรเจนต่อออกซิเจนเท่ากับ 2 ต่อ 1 และมักอยู่ในรูปของโพลีไฮดรอกซีอัลดีไฮด์ (polyhydroxy aldehyde) หรือคีโตน (ketone) ในปัจจุบันกลุ่มของคาร์โบไฮเดรตที่ใช้ในทางยา นิยมใช้ในรูปของฟรักโตส (fructose) กลูโคส (glucose) แลคโตส (lactose) ซูโครส (sucrose) เดกซ์เตรน (dextran) แป้ง (starch) วุ้น (agar) แพกติน (pectin) และอื่นๆอีกมากมาย (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

**ข) อัลคาลอยด์ (alkaloid)**

อัลคาลอยด์เป็นสารอินทรีย์ซึ่งมีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ (organic nitrogen compound) พบในพืชชั้นสูงเป็นส่วนใหญ่ คุณสมบัติของอัลคาลอยด์มีรสขม ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) มักออกฤทธิ์ต่อระบบต่างๆของร่างกาย โดยหน้าที่ของอัลคาลอยด์ ได้แก่ เป็นสารที่มีพิษ เพื่อป้องกันไม่ให้แมลงหรือสัตว์มารบกวนหรือทำลาย เป็นผลที่ได้จากกระบวนการทำลายพิษ (detoxification) ของสารที่เป็นอันตรายต่อพืช เป็นตัวช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (growth regulator) ช่วยรักษาดุลของไอออนในพืช (maintain ionic balance) เป็นต้น พบได้ในส่วนต่างๆของพืช เช่น ในเมล็ด (หมาก) ในผล (พริกไทย) ในใบ (ลำโพง) ในเปลือก (ซิงโคนา) ในเหง้า (ดองดึง) ในราก (ระย่อม) และยังพบได้ในราที่ขึ้นบนพืช (ergot) เป็นต้น (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

**ค) ไกลโคไซด์ (glycoside)**

ไกลโคไซด์เป็นสารอินทรีย์ที่ประกอบด้วยส่วนที่เป็น aglycone (genin) กับส่วนที่เป็นน้ำตาล ดังนั้นเมื่อถูกย่อยด้วยกรดหรือเอนไซม์จะได้ผลผลิตเป็นสองอย่างนี้ ส่งผลให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารประกอบกลุ่มนี้กว้างขวางแตกต่างกันออกไป โดยส่วนที่เป็นน้ำตาลจะไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาแต่จะเป็นส่วนช่วยทำให้การละลายและดูดซึมเข้าสู่ร่างกายดีขึ้น ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาจึงแบ่งตามโครงสร้างของ aglycone เช่น cardiac glycoside จะมีฤทธิ์ต่อระบบกล้ามเนื้อหัวใจและระบบการไหลเวียนของโลหิต แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ (anthraquinone glycoside) ใช้เป็นยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระบาย ยาฆ่าเชื้อ และสีย้อม ซาโพนินไกลโคไซด์ (saponin glycoside) เมื่อเขย่ากับน้ำจะได้ฟองคล้ายสบู่ มักใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตยาประเภทสเตอรอยด์ (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

**ง) น้ำมันระเหย (volatile oil)**

น้ำมันระเหยเป็นน้ำมันที่ได้จากพืชโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) หรือการบีบ (expression) มีกลิ่นรสเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายในอุณหภูมิธรรมดา เบากว่าน้ำ ประโยชน์ทางด้านยานอกจากใช้เป็นตัวแต่งกลิ่นแล้ว ส่วนใหญ่จะใช้ในทางขับลม (carminative) ฆ่าเชื้อ (antibacterial and antifungal) รวมถึงนำมาใช้ทาถูนวด (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

**จ) ไขมัน (lipid)**

ไขมันเป็นสารที่ไม่ละลายน้ำแต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เมื่อนำไขมันมาต้มกับด่างจะได้สบู่ ถ้าเป็นของแข็งที่อุณหภูมิห้องเรียกว่าไขมัน ถ้าเป็นของเหลวเรียกว่าน้ำมันมักอยู่ในรูปอาหารสะสมของพืช ประโยชน์ในทางยาจะใช้เตรียมขี้ผึ้งหรือใช้เป็นยาระบาย เช่น น้ำมันละหุ่ง ยารักษาโรคผิวหนัง เช่น น้ำมันกระเบา (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

**ฉ) เรซิน (resin)**

เรซินเป็นสารอินทรีย์หรือสารผสมประเภทโพลีเมอร์ รูปร่างไม่แน่นอน มีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่สลับซับซ้อน ไม่ละลายน้ำ ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เมื่อต้มกับด่างจะได้สบู่ โดยพืชจะสร้างเรซินอยู่เป็นปกติหรือเกิดการสร้างเมื่อเป็นโรคหรือมีแผลเกิดขึ้น (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

**ช) วิตามิน (vitamin)**

วิตามินเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีอยู่เล็กน้อยในอาหารตามธรรมชาติ สามารถเข้าสู่ร่างกายจากอาหารหรือแหล่งอื่นเพื่อให้มีหน้าที่เฉพาะทางกายภาพ หรือเพื่อส่งเสริมการเติบโต โดยวิตามินแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด ได้แก่ วิตามินชนิดที่ละลายได้ในไขมันจะมีการสะสมในร่างกายได้โดยจะละลายอยู่ในไขมัน เช่น วิตามิน A, D, E และ K ส่วนวิตามินชนิดที่สามารถละลายได้ในน้ำจะสามารถกำจัดออกโดยทางปัสสาวะไม่เก็บสะสมไว้ในร่างกาย (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

**ซ) สเตอรอยด์ (steroid)**

สเตอรอยด์เป็นสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างเป็นแบบเตตระไซคลิกเทอร์พีนอยด์ (tetracyclic-terpenoid) ในทางการแพทย์มีการใช้สเตอรอยด์พวกฮอร์โมนเพศเป็นยามานานแล้ว (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

**ฌ) ยาปฏิชีวนะ (antibiotic)**

ยาปฏิชีวนะเป็นผลิตผลทางเคมีที่ได้จากสิ่งมีชีวิต เช่น แบคทีเรียและรา รวมทั้งพืชชั้นสูงก็พบว่ามีสารที่มีฤทธิ์เป็นยาปฏิชีวนะเช่นเดียวกัน (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.6 อนุมูลอิสระ (Free radical)**

อนุมูลอิสระคืออะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็คตรอนไม่เป็นคู่อยู่ในวงอิเล็คตรอนวงนอกสุด (outer orbital) เนื่องจากการมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยว (unpaired electron) อยู่ในวงโคจรของโมเลกุล ทำให้ไม่เสถียร ทำให้อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมาก โดยอนุมูลอิสระจะไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดมาใหม่นี้จะไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไปเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ต่อกันไปเรื่อยๆ (Halliwell, 1999)

อนุมูลอิสระมีผลต่อการทำลายส่วนประกอบสำคัญของเซลล์รอบๆบริเวณนั้น ไม่ว่าจะเป็นโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรตหรือดีเอ็นเอ ทำให้สารชีวโมเลกุลเหล่านี้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและเสียหน้าที่การทำงาน ดังนั้นในสภาวะที่มีการสร้างอนุมูลอิสระเป็นจำนวนมากจะก่อให้เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ซึ่งเป็นกลไกสำคัญที่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพต่างๆได้ เช่นโรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคอัลไซเมอร์ ไขข้ออักเสบ และต้อกระจก (Ames และคณะ, 1993)

ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีพจะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจนเกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา การเกิดอนุมูลอิสระเหล่านี้มีสาเหตุมาจากปัจจัยทั้งภายในและภายนอกร่างกายดังนี้

**2.6.1 แหล่งของอนุมูลอิสระ (Sources of free radical)**

**2.6.1.1 ปัจจัยภายในร่างกาย** ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตจะมีปฏิกิริยามากมายที่เกี่ยวข้องกับทั้งการสร้างและการสลายโมเลกุลของสารที่เรียกว่ากระบวนการเมทาบอลิซึมซึ่งถือเป็นสาเหตุหลักอย่างหนึ่งที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ตัวอย่างปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ได้แก่

**ก) ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเอง (auto-oxidation)** เช่น การเกิดออกซิเดชันของไขมันซึ่งแบ่งออกเป็น 3 ระยะ คือ

1) ระยะเหนี่ยวนำเริ่มต้น (initiation) เป็นระยะที่กรดไขมันแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระโดยมีแสงและอุณหภูมิเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังสมการ

$$\mathrm{RH + initiator} \xrightarrow[\mathrm{T}]{\mathrm{light}} \mathrm{\dot{R} + \dot{H}}$$

2) ระยะเพิ่มจำนวน (propagation) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซี (peroxy radical) (2.1) แล้วทำปฏิกิริยาต่อกับกรดไขมันเกิดเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) และอนุมูลอิสระ (2.2) ซึ่งถ้ามีแสงและความร้อนเป็นตัวเร่งก็จะเกิดปฏิกิริยาต่อทำให้อนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นแล้วอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนใหม่ได้ต่อเนื่องไปเรื่อยๆ ดังสมการ

$$\mathrm{R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet}} \qquad (2.1)$$

$$\mathrm{ROO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\bullet}} \qquad (2.2)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) ระยะสิ้นสุด (Termination) เป็นระยะที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นรวมตัวกันกลายเป็นโมเลกุลที่เสถียร ดังสมการ

$$\dot{R} + \dot{R} \longrightarrow RR$$

$$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \longrightarrow ROOR + O_2$$

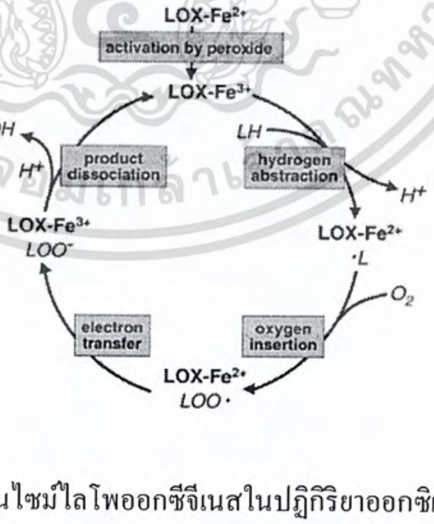
**ข) ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง** (Halliwell และคณะ, 1995) การทำงานของเอนไซม์ สำคัญ 2 ชนิดที่มีผลกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระภายในร่างกาย ได้แก่

1) เอนไซม์แซนธีนออกซิเดส (xanthine oxidase: XO) ทำหน้าที่สำคัญในกระบวนการสลายเบสพิวรีน (purine) โดยเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนไฮโพแซนธีน (hypoxanthine) เป็นแซนธีน (xanthine) และแซนธีนเป็นกรดยูริก (uric acid) พร้อมๆ กับเคลื่อนย้ายอิเล็คตรอนให้ออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ($O^{2\bullet-}$) ดังสมการ

$$\text{hypoxanthine} + O_2 + H_2O \xrightarrow{XO} \text{xanthine} + H_2O_2 + O_2^{\bullet-}$$

$$\text{xanthine} + O_2 + H_2O \xrightarrow{XO} \text{uric acid} + H_2O_2 + O_2^{\bullet-}$$

2) เอนไซม์ไลโพออกซีจีเนส (lipoxygenase: LOX) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (polyunsaturated fatty acid) ภายในโมเลกุลของเอนไซม์นี้มีเหล็ก ($Fe^{2+}$) เป็นส่วนประกอบอยู่ทำหน้าที่ดึงอะตอมไฮโดรเจนจากกรดไขมันและเติมออกซิเจนให้กับกรดไขมันเกิดเป็นไฮโดรเพอรอกไซด์ ซึ่งจะสลายตัวเป็นอนุมูลของกรดไขมันต่อไปดังรูป




**รูปที่ 2.16** การทำงานของเอนไซม์ไลโพออกซีจีเนสในปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมัน (O Donnell และคณะ, 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ค) กระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมของเม็ดเลือดขาว**

ในขั้นตอนการทำลายสิ่งแปลกปลอมโดยเฉพาะเชื้อโรคที่ถูกกลืนกินเข้ามาภายในร่างกาย เซลล์เม็ดเลือดขาวจะมีการดึงโมเลกุลออกซิเจน ($O^{-2}$) มาใช้เป็นจำนวนมากเพื่อผลิตเป็นอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ($O^{2\bullet-}$) โดยการทำงานของเอนไซม์ NADPH ออกซิเดส (NADPH oxidase) ที่อยู่บนเยื่อบุชั้นนอก (outer membrane) ของเม็ดเลือดขาว ดังสมการ (Konstan และ Beress, 1993)

$$2O_2 + NADPH \longrightarrow 2\overset{\bullet-}{O_2} + NADP^+ + H^+$$

นอกจากนี้ในเม็ดสี (granule) ของเม็ดเลือดขาวยังมีเอนไซม์ไมอีโลเปอร์ออกซิเดส (myeloperoxidase) ทำให้เกิดอนุมูลไฮโปคลอรัส (hypochlorus, $HOCl^{\bullet}$) ซึ่งเป็นสารที่ทำลายจุลชีพได้ ดังสมการ

$$H_2O_2 + Cl^- \longrightarrow HO\overset{\bullet}{Cl} + OH^-$$

**ง) โลหะทรานสิชัน (transition metal)**

โลหะทรานสิชัน 2 ชนิดคือ เหล็ก ($Fe^{2+}$) และ ทองแดง ($Cu^{2+}$) ที่มีอยู่ทั่วไปในร่างกายสามารถเร่งการสร้างอนุมูลไฮดรอกซิลจากซูปเปอร์ออกไซด์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, $H_2O_2$) ในปฏิกิริยาเฟนตอน (Fenton's reaction) ดังสมการ (Halliwell, 1999)

$$H_2O_2 + O^{2\bullet-} + Fe^{2+} + / Cu^{2+} \longrightarrow \overset{\bullet}{OH} + OH^- + O_2$$

**2.6.1.2 ปัจจัยภายนอกร่างกาย**

**ก) ยารักษาโรค** ยารักษาโรคบางชนิดที่รับประทานเข้าไปในร่างกายสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งยาในกลุ่มต้านจุลชีพและต้านมะเร็ง ได้แก่ บลีโอไมซิน (bleomycin) แอนทราไซคลินส์ (antracyclines) และเมโธทรีเสต (methotrexate) เนื่องจากมีฤทธิ์เสริมปฏิกิริยาออกซิเดชัน (pro-oxidation) (Voest และคณะ, 1994)

**ข) รังสี** การใช้รังสีรักษาโรค เช่น รังสีเอกซ์ (x-ray), รังสีแกมมา (γ-ray) อาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายจากการถ่ายทอดพลังงานให้กับน้ำ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์ แล้วก่อให้เกิด ปฏิกิริยาขั้นต่อไป (secondary reaction) กับออกซิเจนที่ละลายอยู่ในเซลล์นั้นได้อนุมูลอิสระเกิดขึ้น (Halliwell และคณะ, 1995)

**ค) ควันบุหรี่** ในควันบุหรี่มีส่วนประกอบของไนตริกออกไซด์ (NO) ไนโตรเจนออกไซด์ ($NO_2$) และเพอรอกซีไนไตรท์ ($ONOO^-$) รวมทั้งสารมลพิษได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ($SO_2$) และคาร์บอนเตรตตะคลอ ไรด์ ($CCl_4$) ซึ่งจะถูกกำจัดออกจากร่างกายได้โดยการทำงานของเอนไซม์ไซโทโครม P-450 ไฮดรอกซีเจส (cytochrome P-450 hydroxylase) ที่มีอยู่มากในเซลล์ตับและพบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ ... การค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้บ้างในเซลล์ปอดและลำไส้เล็ก ทำให้เป็นสาเหตุของการสร้างอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ภายในเซลล์ดังกล่าว (Bast และคณะ, 1991)

**ง) โอโซน** โอโซนไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระแต่จัดเป็นสารออกซิไดส์แรงสูงซึ่งสามารถเปลี่ยนรูปเป็นอนุมูลไฮดรอกซิลได้จากการกระตุ้นของคลื่นแสง (Valacchi และคณะ, 2004)

**2.6.2 อนุมูลอิสระแรงสูงที่สำคัญของร่างกาย**

**ก) อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์** ($O^{2\bullet-}$)

อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์เป็นอนุมูลอิสระที่พบได้ภายในเซลล์ทั่วไป โดยส่วนใหญ่เกิดขึ้นระหว่างการขนส่งอิเล็คตรอนจากโมเลกุลของออกซิเจนไปยังโมเลกุลของน้ำภายในไมโตคอนเดรีย (mitochondria) อนุมูลนี้จะไม่เข้าทำปฏิกิริยาทำลายเซลล์โดยตรงแต่เมื่อทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$) โดยมีเหล็กหรือทองแดงช่วยเร่งในปฏิกิริยาเฟนตอนจะได้เป็นอนุมูลไฮดรอกซิล (OH) ซึ่งเป็นสารออกซิไดซ์ที่มีความว่องไวสูง นอกจากนี้สิ่งมีชีวิตยังสามารถสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$) จากซูเปอร์ออกไซด์ ($O^{2-}$) ได้โดยตรงจากปฏิกิริยา dismutation ของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) (Halliwell, 1999) ดังสมการ

$$O_2^{\bullet-} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ได้ถึงแม้ไม่เป็นอนุมูลอิสระและจัดเป็นสารออกซิไดซ์ที่ไม่ทำปฏิกิริยาทำลายเซลล์แต่เป็นสารตั้งต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลไฮดรอกซิลและยังมีรายงานว่าเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างอนุมูลไฮโปคลอรัส (HOCl) ของเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิล (neutrophill) ที่ถูกกระตุ้นด้วยจุลชีพอีกด้วยจากเอนไซม์ไมอีโลเปอร์ออกซิเดส (myeloperoxidase) ที่เก็บอยู่ในถุงไลโซโซม (lysosome) (Halliwell, 1999) ดังสมการ

$$H_2O_2 + Cl^- \xrightarrow{myeolperoxidase} HOCl^{\bullet} + OH^-$$

อนุมูลชนิดนี้สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ดีและสามารถสร้างอนุมูลไฮดรอกซิลได้เมื่อมีโลหะทรานสิชันอยู่ด้วยดังสมการ

$$HOCl^{\bullet} + O_2^{\bullet-} \longrightarrow OH^{\bullet} + Cl^- + O_2$$
$$HOCl^{\bullet} + Fe^{2+} \longrightarrow OH^{\bullet} + Cl^- + Fe^{3+}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ข) อนุมูลไฮดรอกซิล ($OH^{\cdot}$)**

อนุมูลไฮดรอกซิลจัดเป็นสารออกซิไดซ์แรงสูงที่มีความว่องไวสูงสุดสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารต่างๆ ที่อยู่รอบข้างในทันทีที่ถูกสร้างขึ้น ดังนั้นอนุมูลนี้จึงเป็นอนุมูลที่อันตรายต่อสารชีวโมเลกุลในสิ่งมีชีวิตมากกว่าอนุมูลชนิดอื่นๆ อนุมูลไฮดรอกซิลสร้างขึ้นจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$) ที่มีโลหะทรานสิชันอยู่ในระบบโดยเหล็ก ($Fe^{2+}$) จะทำลายพันธะที่ยึดเหนี่ยวระหว่างออกซิเจนของสารเปอร์ไซด์ได้เป็นอนุมูลไฮดรอกซิล ($OH^{\cdot}$) และไฮดรอกไซด์ไอออน (hydroxide ion, $OH^-$) ในปฏิกิริยา Fenton (Halliwell, 1999) ดังสมการ

$$Fe^{2+} + O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + O_2^{\cdot}$$

$$2O_2^{\cdot} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

$$Fe^{2+} + O_2^{\cdot} + 2H^+ \longrightarrow Fe^{3+} + H_2O_2$$

Fenton's reaction $\quad Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + OH^{\bullet} + OH^-$

**ค) อนุมูลไนตริกออกไซด์ ($NO^{\cdot}$)**

อนุมูลไนตริกออกไซด์เป็นอนุมูลอิสระขนาดเล็กที่เป็นพิษกับเซลล์ปอดสามารถรวมตัวกับโลหะทรานสิชัน หรือโปรตีนที่มีโลหะชนิดนี้เป็นองค์ประกอบ (metalloprotein) อนุมูลไนตริกออกไซด์สามารถเข้าจับกับฮีโมโกลบิน(hemoglobin)ได้เร็วกว่าโมเลกุลออกซิเจนจนอาจเกิดการขัดขวางกระบวนการขนส่งก๊าซออกซิเจนขึ้น นอกจากนี้ยังทำปฏิกิริยากับอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ได้อย่างรวดเร็วเกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซิไนตริก ($ONOO^{\cdot}$) ที่มีความว่องไวสูง (Halliwell, 1999)

**2.6.3 ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation)**

หมายถึงปฏิกิริยาที่โมเลกุลหรืออะตอมมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากวงโคจรให้กับโมเลกุลที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอนเรียกสารที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนว่า ตัวรีดิวซ์ (Reducing agent) และเรียกสารที่ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนนี้ว่า ตัวออกซิไดซ์ (oxidizing agent) โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันมักจะเกี่ยวข้องกับออกซิเจน นอกจากนี้ปฏิกิริยาออกซิเดชันยังหมายถึงการเสียไฮโดรเจนอะตอมออกจากโมเลกุลอีกด้วย ปฏิกิริยาออกซิเดชันและอนุมูลอิสระนั้นมีความเกี่ยวข้องเนื่องจากปฏิกิริยานี้ทำให้เกิดอนุมูลอิสระของสารต่างๆได้มากมายหลายชนิด และอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารอื่นๆเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไป (Bast และคณะ, 1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 2.2** อนุมูลอิสระและสารที่เกี่ยวข้อง

| **อนุมูลอิสระ** | **สารที่เกี่ยวข้อง** |
|---|---|
| **อนุมูลอิสระของออกซิเจน (Reactive oxygen species, ROS)** | |
| อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide anion, $O_2^{\cdot-}$) | |
| อนุมูลไฮดรอกซิล (Hydroxyl, $HO^{\cdot}$) | $H_2O_2$, Ozone ($O_3$) |
| อนุมูลไฮโดรเปอร์ออกซิล (Hydroperoxyl, $HO_2^{\cdot}$) | Hypobromousacid(HOBr) |
| อนุมูลเปอร์ออกซิล (Peroxyl, $RO_2^{\cdot}$) | Hypochlorous acid (HOCl) |
| อนุมูลอัลคอกซิล (Alkoxyl, $RO^{\cdot}$) | Singlet oxygen ($O_2{}^1g$) |
| อนุมูลคาร์บอเนต (Carbonate, $CO_3^{\cdot-}$) | Organic peroxides (ROOH) |
| อนุมูลคาร์บอนไดออกไซด์ (Carbon dioxide, $CO_2^{\cdot-}$) | Peroxynitrite ($ONOO^-$) |
| | Peroynitrous acid (ONOOH) |
| **อนุมูลของไนโตรเจน (Reactive nitrogen species, RNS)** | |
| อนุมูลไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide, $NO^{\cdot}$) | Nitrous acid ($HNO_2$) |
| อนุมูลไนโตรเจนไดออกไซด์ | Nitrosyl cation ($NO^+$) |
| (Nitrogen dioxide, $NO_2^{\cdot-}$) | Nitroxyl anion ($NO^-$) |
| | Dinitrogen tetroxide ($N_2O_4$) |
| | Dinitrogen trioxide ($N_2O_3$) |
| | Peroxynitrite ($ONOO^-$) |
| | Peroynitrous acid (ONOOH) |
| | Hypochlorous acid (HOCl) |
| **อนุมูลของคลอรีน (Reactive chlorine species, RCS)** | |
| คลอรีน (Atomic chlorine, $Cl^{\cdot}$) | Chloramines |
| แก๊สคลอรีน (Chlorine gas, $C_{12}$) | |
| **อื่นๆ** | |
| อนุมูลไทอิล (Thiyl radical, $RS^{\cdot}$) | |

**ที่มา:** โอภา และคณะ (2549)

### 2.7 สารต้านออกซิเดชัน (Antioxidant)

สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) คือสารที่ทำหน้าที่ยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือสารที่สามารถขจัดอนุมูลอิสระออกจากร่างกาย ร่างกายมีระบบต้านออกซิเดชัน แบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ ประเภทแรกป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ ได้แก่ เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) กลูตาไทโธนเปอร์ออกซิเดรส (glutathione peroxidase) คะตะเลสเปอร์ออกซิเดส (catalase peroxidase) ไซโตโครมซีเปอร์ออกซิเดส (cytochrome C peroxidase) ทองแดง สังกะสี ซีเลเนียม และโปรตีนซึ่งมีทองแดงอยู่ในโมเลกุล (ceruloplasmin) ส่วนอีกประเภทหนึ่งคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารต้านออกซิเดชัน ในกลุ่มที่ทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่นี้ได้แก่ วิตามินอี เบต้า-แคโรทีน วิตามินซี ยูบิควิโนน (ubiquinone) กรดยูริก (uric acid) บิลิรูบิน ( bilirubin) อัลบูมิน (albumin) กลุ่มของซัลฟ์ไฮดริล (sulfhydryl groups) ในกรดอะมิโนซิสเทอีน (cysteine) ซึ่งมีอยู่ในโปรตีน เช่น เนื้อสัตว์ นอกจากวิธีนี้ยังมีสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ที่เป็นสารต้านออกซิเดชันที่น่าสนใจอีกด้วย (มลศิริ, 2540)

สารต้านออกซิเดชัน สามารถแบ่งตามกลไกการยับยั้งได้เป็น 3 ชนิด ดังนี้

ก) Preventive antioxidant ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ

ข) Scavenging antioxidant ทำลายหรือยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น

ค) Chain breaking antioxidant ทำให้ลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระสิ้นสุดลง

**2.7.1 สารต้านอนุมูลอิสระ**

ปัจจุบันสารต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ได้มาจากพืชผัก เครื่องเทศ องุ่น และสมุนไพรได้รับความสนใจและศึกษากันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากกระแสเรื่องความปลอดภัยของสารสกัดจากธรรมชาติ สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งตามแหล่งที่มาได้ 2 ชนิด (โอภา และคณะ, 2549) ได้แก่

**2.7.1.1 สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants)**

สารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจและมีการค้นคว้าอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากความเชื่อมั่นว่ามีความปลอดภัยในการบริโภคมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้พบได้ทั้งในจุลชีพ สัตว์และพืช เช่น

**ก) วิตามินเอ**

ในธรรมชาติวิตามินเอจะพบเฉพาะในสัตว์เท่านั้น แต่ในพืชจะมีสารประกอบแคโรทีนอยด์ที่สามารถเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ จัดเป็นตัวให้ (Precursor) ของวิตามินเอ เรียกว่าโปรวิตามินเอมักพบในพืชผัก ใบเขียว ผักและผลไม้ที่มีสีเหลืองหรือสีส้มแดง (โอภา และคณะ, 2549)

**ข) วิตามินซี**

วิตามินซีมีชื่อทางเคมีว่ากรดแอสคอร์บิค (Ascorbic acid) เป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำจะสลายตัวเมื่อถูกความร้อนหรือทิ้งไว้ในอากาศที่มีความชื้น วิตามินซีมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยจะเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl) และอนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxyl) (มลศิริ, 2540) นอกจากนี้ยังทำหน้าที่เป็นตัวส่งเสริมประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชันของวิตามินอีด้วย (โอภา และคณะ, 2549)

**ค) ซิลิเนียม ทองแดง และสังกะสี**

ซิลิเนียม ทองแดง และสังกะสีเป็นสารต้านออกซิเดชันทางอ้อม เนื่องจากเป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน มีการศึกษาวิจัยที่แสดงว่าการใช้ซิลิเนียมและวิตามินอีร่วมกันช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการป้องกันการเกิดโรคมะเร็งบางชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งพบได้ในอาหารตามธรรมชาติ เนื่องจากสารต้านออกซิเดชันมีหน้าที่หลายอย่าง เช่น ทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ (reducing agent) เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระจับกับไอออนโลหะที่เร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยหน้าที่ต่างๆเหล่านี้ จึงทำให้มีผลต่อการชะลอหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่และทำให้เป็นสารที่มีความเสถียร หรือเป็นสารที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันอีกต่อไป หรือเป็นสารที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ (non-radical product) (โอภา และคณะ, 2549)

**ง) แคโรทีนอยด์ (carotenoid)**

แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่พบทั่วไปในธรรมชาติ จะถูกสังเคราะห์ขึ้นในคลอโรพลาสต์ของพืช และพบมากในผักและผลไม้สุก โครงสร้างพื้นฐานของแคโรทีนอยด์ประกอบด้วยโครงสร้างหลักที่เรียกว่า เตตระเทอร์ปีนสเกเลตอน (tetraterpene skeleton) ซึ่งอาจมีวงแหวนที่บริเวณปลายด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านของโมเลกุลวงแหวนนี้อาจเป็นวงแหวนห้าหรือหกเหลี่ยมก็ได้ แคโรทีนอยด์สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ตามองค์ประกอบของโครงสร้างในโมเลกุลดังนี้ (โอภา และคณะ, 2549)

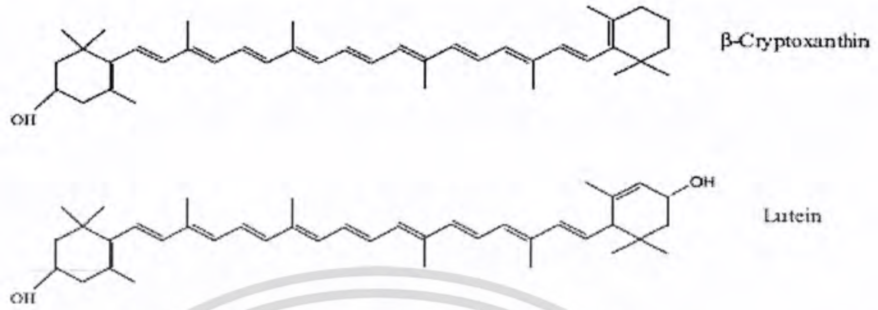
แคโรทีน (Carotene) เป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจนเท่านั้น เช่น เบต้า-แคโรทีน (β-carotene) แอลฟา-แคโรทีน (α-carotene) แกมม่า-แคโรทีน (γ-carotene) ไลโคปีน (lycopene) เป็นต้น และซึ่ง เบต้า-แคโรทีน เป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ การเปลี่ยนรูปจากเบต้า-แคโรทีนไปเป็นวิตามินเอโดยการแตกพันธะคู่ที่ตำแหน่งกึ่งกลางของโมเลกุล โดยเอนไซม์แคโรทีนดีออกซิจิเนส (carotene deoxygenase) เมื่อเบต้า-แคโรทีนสามารถดักจับอนุมูลอิสระเข้าไว้ในโมเลกุลแล้วโมเลกุลของเบต้า-แคโรทีนจะอยู่ในลักษณะที่มีความเสถียร

**รูปที่ 2.17** โครงสร้างทางเคมีของแอลฟา-แคโรทีน (α-carotene) และเบต้า-แคโรทีน (β-carotene)

**ที่มา:** http://www.foodnetworksolution.com (12 ส.ค. 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ออกโซแคโรทีนอยด์ (oxocarotenoid) หรือ แซนโทฟีล (xanthophyll) เป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลบริเวณวงแหวนประกอบด้วยกลุ่มอื่นนอกเหนือจากคาร์บอนและไฮโดรเจน เช่น เบต้า-คริบโทแซนทิน (β-cryptoxanthin) และลูทีน (lutein) (โอภา และคณะ, 2549)




**รูปที่ 2.18** โครงสร้างทางเคมีของเบต้า-คริบโทแซนทิน (β-cryptoxanthin) และลูทีน (lutein)
**ที่มา:** http://www.foodnetworksolution.com (12 ส.ค. 2555)

**จ) สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)**

สารประกอบฟีโนลิกเป็นสารที่พบได้ในพืชทั่วไป มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่หรือมากกว่านั้น สามารถละลายน้ำได้ ที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycosides) และพบได้ในส่วนของช่องว่างภายในเซลล์ (cell vacuole) สารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด มีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ซึ่งกลุ่มใหญ่ที่พบมากที่สุดจะเป็นสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ นอกจากนี้ยังมีสารประกอบสำคัญต่าง ๆ เช่น สารประกอบฟีนอลิกอย่างง่าย (simple monocyclic phenol) ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenyl propanoid) ฟีนอลิกควิโนน (phenolic quinine) และโพลีฟีนอลิก (polyphenolic) ซึ่งได้แก่พวกลิกนิน (lignin) แทนนิน (tannin) เป็นต้น รวมทั้งยังพบว่ามีสารประกอบที่มีกลุ่มฟีนอล (phenolic unit) รวมอยู่ในโมเลกุลของอัลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น (อัญชนา, 2544)

พบว่าสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และแทนนิน เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระที่สำคัญคืออนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxyl) และยังทำหน้าที่ทั้งเป็นสารให้อิเล็กตรอนหรือเป็นตัวให้ไฮโดรเจนและกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟ ด้วยหน้าที่ต่างๆจึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญชนิดหนึ่งในพืชทั่วไป (Rice-Evans และคณะ, 1996)

**ฉ) ฟลาโวนอยด์ (ไบโอฟลาโวนอยด์)**

ฟลาโวนอยด์ เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากชนิดหนึ่ง จะพบมากในพืชผักและผลไม้ มีหน้าที่สองอย่าง คือ เป็นรงควัตถุทำหน้าที่กรองแสงที่มีความยาวคลื่นที่จำเพาะเจาะจง และทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยไปกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในเซลล์พืชออกไป ความสามารถของการต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับโครงสร้างและคุณสมบัติของฟลาโวนอยด์ นอกจากนี้ยังสามารถช่วยลดการอักเสบ ช่วยให้หลอดเลือดแข็งตัว ทำให้การไหลเวียนเลือดดีขึ้น ต่อต้านแบคทีเรียและไวรัส ลดโคเลสเตอรอล และช่วยเสริมการทำงานของวิตามินซี พบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ส้ม พริกไทย และ พวกเบอร์รี่ต่างๆ เป็นต้น (Rice-Evans และคณะ, 1996)

ฟลาโวนอยด์แบ่งได้เป็น 5 ประเภทใหญ่ๆ คือ

**ก) แอนโธไซยานิดิน (anthocyanidin) แอนโธคลอร์ส (anthochlors) และออโรนัส (auronus)**

แอนโธไซยานิดิน เป็นรงควัตถุในพืชให้สีน้ำเงินแดง (red-blue) คือ ให้สีช่วงสีแดงถึงสีน้ำเงินขึ้นกับชนิดของพืช พบในบลูเบอร์รี่ เชอรี่ องุ่นแดง หัวหอม กะหล่ำปลี เป็นต้น แอนโธคลอร์ส เป็นรงควัตถุที่ให้สีเหลือง พบมากในดอกไม้ (Rice-Evans และคณะ, 1996)

**ข) ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อย (minor flavonoid)**

ฟลาโวนอยด์ที่พบน้อยในธรรมชาติ ได้แก่ ฟลาโวโนน (flavonones) ฟลาวา-3-ออล (flava-3-ols) ไดไฮโดรฟลาโวน (dihydroflavone) และไดไฮโดรชาลโคน (dihydrochalcones) กลุ่มนี้พบในพืชตระกูลส้ม (citrus) ได้แก่ ส้ม องุ่น แต่จะพบในส่วนที่เป็นน้ำ (Rice-Evans และคณะ, 1996)

**ค) ฟลาโวน (flavone) และฟลาโวนอล (flavonols)**

ฟลาโวนและฟลาโวนอลเป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดของสารฟลาโวนอยด์ พบในบลูเบอร์รี่ เชอรี่หวาน บล็อกคอลี่ หัวหอม ชาดำ ชาเขียว ไวน์แดง มันฝรั่ง มะเขือเทศ แครอท ผักขม ส้ม ลูกแพร แอปเปิ้ลและองุ่น เป็นต้น (Rice-Evans และคณะ, 1996)

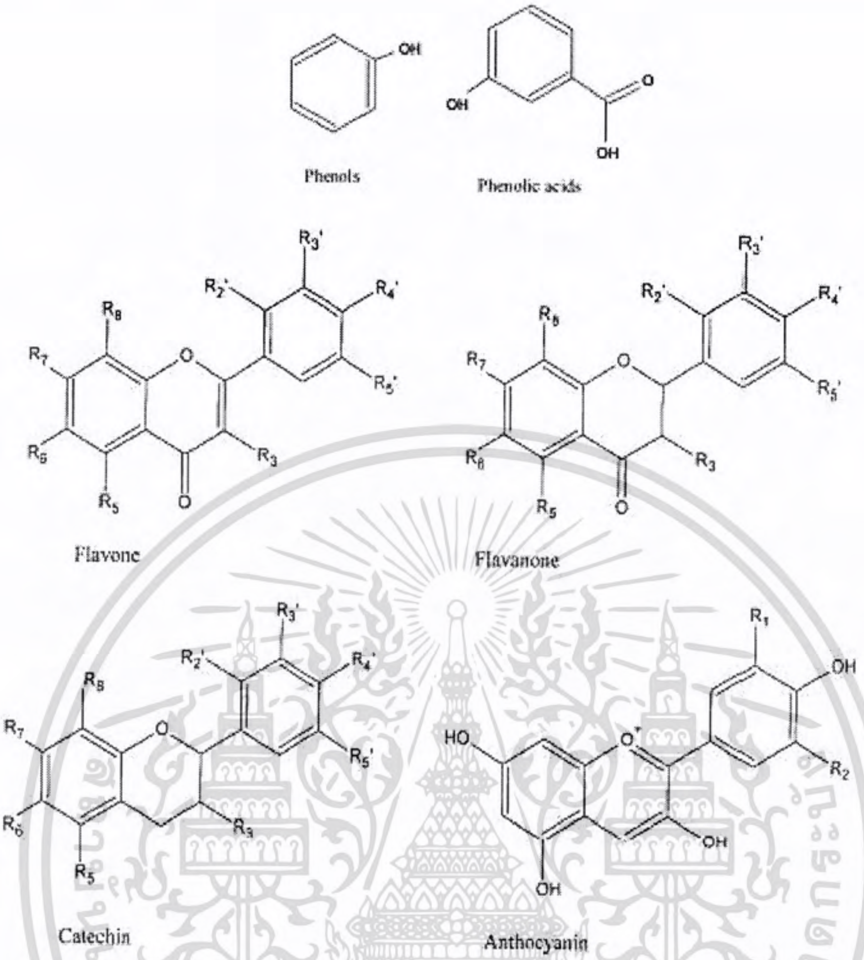
**ง) ไอโซฟลาโวนอยด์ (isoflavonoid)**

ไอโซฟลาโวนอยด์พบมากในพืชตระกูลถั่ว (*Leguminosae*; Legume) พวกนี้สามารถเปลี่ยนเป็นไอโซฟลาโวน (isoflavone) เทอโรคาร์แปนส์ (terocarpans) ไอโซฟลาวาน (isoflavans) และโรทีนอยด์ (rotenoid) ได้ โดยส่วนใหญ่แล้วจะรวมไปถึงเจนีสทีน (genistein) ไบโอชานิน เอ (biochanin a) และไดด์ซีน (daidzein) (Rice-Evans และคณะ, 1996)

**จ) แทนนิน (tannin)**

แทนนินหรือโปรแอนโธไซยานิดิน เป็นสารประเภทโพลีฟีนอล แทนนินสามารถเพิ่มค่าการต้านออกซิเดชัน เนื่องจากสามารถจับกับโปรตีนได้ แทนนินพบได้ทั้งไปในถุงหุ้มเล็กๆของพืชโดยการเกิดในเองจิโอสเปิร์มโดยเฉพาะในเนื้อเยื่อของไม้ โดยสารนี้สามารถเกิดปฏิกิริยาทางเคมีกับโปรตีนมีโครงสร้างโค- พอลิเมอร์ที่เสถียร ในระดับอุตสาหกรรมสารแทนนินจะเป็นสารเริ่มต้นของพืช เนื่องจากมีความสามารถในการเชื่อมขวางด้วยโปรตีนที่สามารถเปลี่ยนผิวของสัตว์กลายเป็นผิวหนัง (Rice-Evans และคณะ, 1996)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 2.19** โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกชนิดต่างๆ

**ที่มา:** http://www.foodnetworksolution.com (12 ส.ค. 2555)

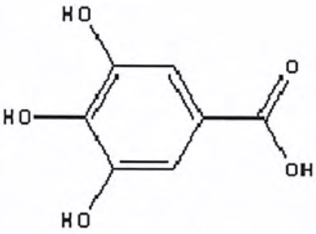
**2.7.1.2. สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants)**

สารต้านออกซิเดชันที่พัฒนาสังเคราะห์ขึ้นส่วนใหญ่จะออกแบบให้มีโมเลกุลขนาดเล็กและใช้โครงสร้างของสารต้านออกซิเดชันที่มีในธรรมชาตินำมาดัดแปลงให้มีคุณสมบัติทางเคมีและมีฤทธิ์ที่ดีขึ้น (โอภา และคณะ, 2549) เช่น

**ก) กรดแกลลิก (gallic acid)**

กรดแกลลิก หรือ 3, 4, 5-hydroxybenzoic acid เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีสูตรโมเลกุลทางเคมีคือ $C_7H_6O_5$ เป็นส่วนประกอบของแทนนิน พบมากในองุ่น ใบชา เปลือกไม้โอ๊ค และพืชอื่นๆ โดยทั่วไปจะใช้เกี่ยวกับอุตสาหกรรมทางยา คุณสมบัติของกรดแกลลิก คือ สามารถยับยั้งเชื้อรา เชื้อไวรัส และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ดี (โอภา และคณะ, 2549)

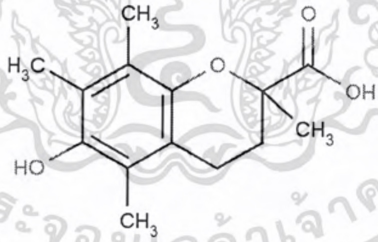
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 2.20** โครงสร้างทางเคมีของกรดแกลลิก
**ที่มา:** http://www.mdidea.com (12 ส.ค. 2555)

**ข) โทรล็อกซ์ (trolox)**

โทรล็อกซ์ หรือ 6-hydroxy-2, 5, 7, 8- tetramethylchroman-2-carboxylic acid มีสูตรโมเลกุลทางเคมีคือ $C1_4H_{18}O_4$ เป็นอนุพันธ์ของวิตามินอีที่ดัดแปลงโครงสร้าง โดยการเปลี่ยนสายอัลเคนเป็นหมู่คาร์บอกซิลิก มีสูตรโครงสร้างทำให้มีความสามารถละลายได้ดีในน้ำ แต่เนื่องจากความสามารถในการละลายน้ำได้ดีจึงทำให้การออกฤทธิ์เร็วกว่าวิตามินอี โดยวิตามินต้องใช้เวลานานเป็นชั่วโมงหรือเป็นวัน ในขณะที่โทรล็อกซ์จะออกฤทธิ์เกือบทันทีในวิธีการตรวจสอบหลายวิธี ในการวิจัยนิยมใช้โทรล็อกซ์เป็นสารมาตรฐานในการตรวจสอบกิจกรรมต้านออกซิเดชัน (โอภา และคณะ, 2549)

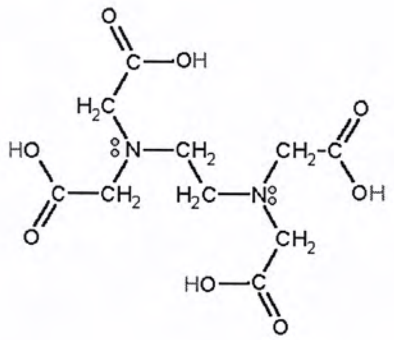



**รูปที่ 2.21** โครงสร้างทางเคมีของโทรล็อกซ์
**ที่มา:** http://www.chemnet.com/ (12 ส.ค. 2555)

**ค) อีดีทีเอ (EDTA)**

อีดีทีเอ หรือ Ethylenediaminetetraacetic acid มีสูตรโมเลกุลทางเคมีคือ $C_{10}H_{16}N_2O_8$ มีคุณสมบัติเป็นสารคีเลต โดยการจับกับธาตุโลหะที่มีประจุ เช่น ตะกั่ว เหล็ก สังกะสี แคดเมียม แมงกานีส และทองแดง ซึ่งประโยชน์ทางการแพทย์สามารถนำมาใช้กำจัดไอออนของโลหะต่างๆ (โอภา และคณะ, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



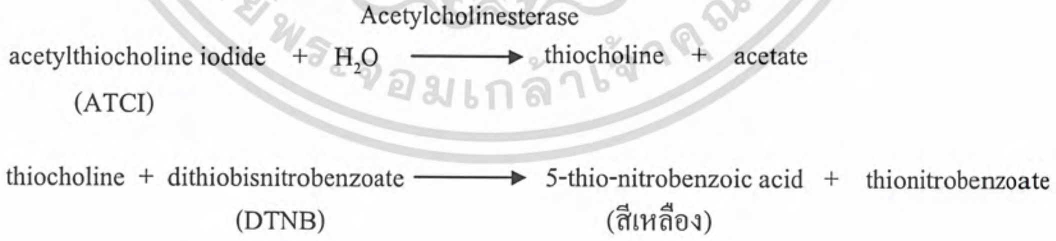
**รูปที่ 2.22** โครงสร้างทางเคมีของอีดีทีเอ

**ที่มา:** http://www.chm.bris.ac.uk (12 ส.ค. 2555)

**2.8 วิธีการวิเคราะห์ทางพฤกษเคมีของสมุนไพรไทย**

**2.8.1 การวิเคราะห์กิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase inhibition assay)**

เอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase) เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system) และระบบประสาทรอบนอก (peripheral nervous system) รวมถึงตัวรับอะซิทิลโคลีน (acetylcholine receptor) ในการสื่อสารของการกระทำที่เกิดขึ้นข้ามระหว่างเส้นประสาท-เส้นประสาท และช่องว่างระหว่างเซลล์ประสาทของกล้ามเนื้อร่วมประสาท (neuromuscular synapses) การทำงานของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสคือการไฮโดรลิซิสสารสื่อประสาทที่ชื่อว่าอะซิทิลโคลีน (acetylcholine) ดังปฏิกิริยา (Atta-ur-Rahman และ Choudhary, 2001)




**รูปที่ 2.23** การทำงานของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส

**2.8.2 วิธีการวิเคราะห์ด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometric assay)**

หลักการของวิธีนี้ คือการวัดค่าอัตราการผลิตของสารไทโอโคลีน (thiocholine) ขณะที่สารอะซิทิลไทโอโคลีนไอโอไดด์ (acetylthiocholine iodide) ถูกไฮโดรไลซ์ ในการไฮโดรลิซิส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของอะซิทิลไทโอโคลีนไอโอไดด์โดยเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสเกิดขึ้นไปพร้อมกันกับการเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องระหว่างไทโอโคลีน thiocholine) ที่เกิดขึ้นกับสาร dithiobisnitrobenzoate (DTNB) โดยจะให้สารละลายสีเหลืองของ 5-thio-nitrobenzoic acid (Atta-ur-Rahman และ Choudhary, 2001)

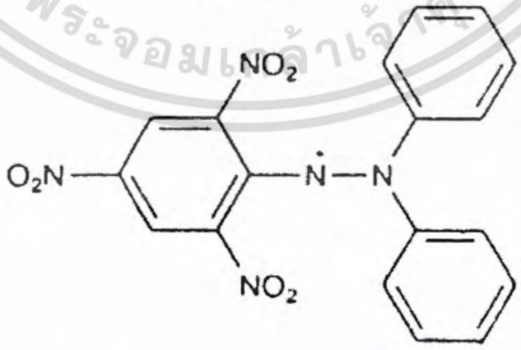
เนื่องจากบทบาทสำคัญของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในระบบประสาท จึงทำให้มีความสนใจในการที่จะออกแบบและค้นหาสารยับยั้งเอนไซม์ชนิดนี้กันมาก สารยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสบางตัวเป็นที่ทราบกันดีว่ามีประโยชน์สำหรับการรักษาโรคอัลไซเมอร์ โรคสมองเสื่อมจากการชรา (senile dementia) ภาวะกล้ามเนื้อขาดการประสานงาน (ataxia) และช่วยปรับปรุงความทรงจำในระยะยาวด้วยการเพิ่มกิจกรรมของโคลิเนอร์จิก (cholinergic) (Atta-ur-Rahman และ Choudhary, 2001)

**2.8.3 วิธีการวัดความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ**

**2.8.3.1 วิธี DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical**

อนุมูล DPPH$^{\cdot}$ เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วง อยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้ว โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลเหมือนกับกรณีอนุมูล ABTS$^{+\cdot}$ การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยวิธีให้ไฮโดรเจนอะตอม การวัดทำโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) วัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารต้านออกซิเดชันลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517นาโนเมตร และ DPPH radical ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง (scavenging activity) สารละลายของ DPPH$^{\cdot}$ มีสีม่วงในเอทานอล และเมื่อได้รับ H จะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง ตามสมการดังนี้ (Halliwell, 1999)

| | | | |
|---|---|---|---|
| DPPH$^{\cdot}$ | + RH | $\longrightarrow$ | DPPH-H + R• |
| สีม่วง | ตัวอย่างทดสอบ | | สีเหลือง |




**รูปที่ 2.24** โครงสร้างทางเคมีของอนุมูล DPPH

**ที่มา:** http://www.chm.bris.ac.uk (12 ส.ค. 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้ง่าย นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ (Halliwell, 1999)

ข้อเสียของวิธีนี้คือ อนุมูล DPPH˙ มีความคงตัวไม่ไวต่อการทำปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้ (Halliwell, 1999)

**2.8.3.2 วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)**

ความสามารถของการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันของสารที่ต้องการทดสอบ สามารถใช้ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้ วิธีนี้เป็นการศึกษาความสามารถในการรีดิวซ์ หรือให้อิเล็กตรอนของสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบแก่สารอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้นภายในระบบ โดยสารที่ต้องการทดสอบจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระแล้วทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัว อีกทั้งยังสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระอีกด้วย โดยอาศัยจากการวัดปฏิกิริยา reduction ของ $Fe^{3+}(CN^-)_6$ ไปเป็น $Fe^{2+}(CN^-)_6$ ซึ่งจะทำให้มีสีน้ำเงินที่เข้มขึ้น สามารถตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 nm ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นแสดงถึง ความสามารถในการรีดิวซ์ที่มากขึ้น (Halliwell, 1999)

## 2.9 จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเสียของไวน์

### 2.9.1 จุลชีววิทยาขององุ่นแห้งและองุ่นที่ถูกทำให้เสียหาย

องุ่นที่เกิดการเสียหายอาจเป็นผลมาจากสาเหตุที่แตกต่างกัน ดังนี้ 1) การเพิ่มขึ้นของปริมาตรองุ่นเนื่องจากเถาของต้นองุ่นมีการดูดซับน้ำฝนอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อช่อองุ่นค่อนข้างแน่นและมีผิวบาง 2) อุบัติเหตุทางอุตุนิยมวิทยา ได้แก่ ลูกเห็บและฝนตกหนัก 3) ถูกโจมตีโดยแมลงหวี่ ผึ้ง ตัวต่อ ผีเสื้อ และนก 4) ถูกโจมตีโดยเชื้อราโรคพืช เช่น โรคราน้ำค้าง (downy) โรคราแป้ง (powdery mildews) และโรคเน่าเทาองุ่น (noble, grey rot) องุ่นที่ติดเชื้อราแป้งมีปริมาณจุลินทรีย์ (ยีสต์ แบคทีเรียกรดแลคติกและแบคทีเรียกรดแอซิติก) และสารประกอบระเหยได้ เช่น เอทานอล (ethanol) เอทิลแอซิเตต (ethylacetate) และกรดแอซิติก (acetic acid) มากกว่าองุ่นที่เปรี้ยว ในบรรดายีสต์พบว่า *Dekkera* และ *Kloeckera* ในปริมาณที่มีนัยสำคัญถูกตรวจพบ ซึ่งอาจถูกทำให้แพร่กระจายโดยแมลงที่ถูกดึงดูดให้มาเกาะที่องุ่นติดเชื้อจากการปล่อยสารระเหยขององุ่นที่สุกแล้ว (Loureiro และ Malfeito-Ferreira, 2003)

การเน่าเสียขององุ่นมีหลายประเภท แม้ว่าส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากเชื้อราชนิด *Botrytis cinerea* องุ่นที่ติดเชื้อ *B. cinerea* มักจะพบ *Kloeckera apiculata* และ *Candida stellata* ซึ่งดูเหมือนว่าจะได้รับการสนับสนุนเมื่อเทียบกับประชากรยีสต์ที่พบในองุ่นปกติ และนอกจากนี้ยังมีนักวิจัยได้แสดงให้เห็นถึงการมีอยู่ของ *Hanseniaspora osmophila* และเชื้อ *Candida* ที่ไม่สามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพาะเลี้ยงให้เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ นอกเหนือจาก *Saccharomyces, Hanseniaspora, Pichia, Metschnikowi, Kluyveromyces* และ *Candida* (Loureiro และ Malfeito-Ferreira, 2003)

องุ่นสามารถได้รับผลกระทบจากโรคเน่าอีกและแบคทีเรียที่ผลิตกรดแอซิติกมีบทบาทเด่นในที่ซึ่งแทบจะไม่ตรวจพบเชื้อราเลย ชนิดของยีสต์ที่มีการรายงานบ่อยที่สุด ซึ่งเป็นเหตุทำให้องุ่นเน่าเสีย โดยจะมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว คือ *H. uvarum* และชนิดที่ขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorph) ได้แก่ *K. apiculate*, *C. stellata, Metshnikowia pulcherima*, *Candida krusei*, *Pichia membranifacien*, *Saccharomyces vini*, *Saccharomyces cratacgensis* และ *Candida steatolytica* ส่วนยีสต์มักพบเป็นครั้งคราว ได้แก่ *Zygosaccharomyces* spp. ซึ่งสามารถตรวจพบจำนวนมากได้ซึ่งอยู่ร่วมกับยีสต์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียชนิดอื่นได้ เช่น *Brettanomyces* spp. การมีส่วนร่วมของแบคทีเรียที่สร้างกรดแอซิติกต่อการเกิดโรคเน่าชนิดนี้ดูเหมือนว่าจะเป็นที่ทราบกันดี และหลายๆ การศึกษาเกี่ยวกับการเน่าเสียของผลไม้จำพวกเบอร์รี่ได้ยืนยันการมีกรดแอซิติกในระดับสูงถึง 40 กรัมต่อลิตร และเอทิลแอซิเตรด และตรวจพบ *Gluconobacter* spp. รวมทั้ง *Acetobacter* spp. (Loureiro และ Malfeito-Ferreira, 2003)

**2.9.2 แหล่งที่มาของยีสต์ที่ทำให้เน่าเสียในอุตสาหกรรมไวน์**

สิ่งแวดล้อมของการผลิตไวน์อาจแบ่งออกเป็น 2 แหล่ง คือไร่องุ่น (vineyard) ซึ่งเป็นระบบนิเวศตามธรรมชาติซึ่งได้รับอิทธิพลจากการปฏิบัติที่ทำกันมาตั้งแต่เดิมและ โรงหมักไวน์ (winery) ซึ่งเป็นสิ่งแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับการหมักองุ่น การเก็บรักษาและบ่มไว้ รวมทั้งในกระบวนการบรรจุขวด (Loureiro และ Malfeito-Ferreira, 2003)

ไร่องุ่น (vineyard) โดยทั่วไปข้อมูลเกี่ยวกับการมีอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ใน ไร่องุ่น และบนผิวของผลองุ่นสามารถสรุปได้ดังนี้ 1) องุ่นที่สุกเต็มที่จะมีเชื้อจุลินทรีย์ประมาณ $10^3$- $10^5$ CFU ต่อกรัม ส่วนใหญ่ประกอบด้วย ยีสต์ เชื้อรา แบคทีเรียกรดแลคติก และแบคทีเรียกรดแอซิติก 2) แหล่งของยีสต์และจุลินทรีย์ที่มีลักษณะคล้ายยีสต์ มักจะมาจากส่วนของต้นองุ่นทั้งหมด อากาศ ดิน และสัตว์ที่เป็นพาหะในไร่องุ่น 3) แมลงที่เป็นพาหะหลัก ๆ ในการนำเชื้อยีสต์ 4) การสะสมของเชื้อยีสต์ตามผลองุ่นขึ้นอยู่กับความมากน้อยของความสุกของพวงองุ่น 5) การเกิดขึ้นและการเจริญของจุลินทรีย์บนผิวองุ่นได้รับอิทธิพลมาจากน้ำฝน 6) ยีสต์ส่วนใหญ่จะอยู่อาศัยบนผิวองุ่นบริเวณที่อาจมีน้ำองุ่นเล็ดลอดออกมาฝังอยู่ที่ผิวนอกของผลองุ่นทีถูกเคลือบด้วยชั้นแว็กซ์ (waxy layer) ซึ่งมีผลต่อการเกาะติดของเซลล์จุลินทรีย์ (oxidative basidiomycetes yeast) ที่มักพบ ได้แก่ *Sporobolomyces*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula* และ *Filobasidium* ส่วนใหญ่แพร่กระจายอยู่ในสิ่งแวดล้อมของไร่องุ่น เช่น ดิน เปลือก ใบ และผลองุ่น รวมทั้ง *Aureobasidium pullulans* ซึ่งดูเหมือนว่าจะเป็นเชื้อประจำที่พบตามผิวองุ่น นอกจากนี้ apiculate yeast เช่น *Hanseniaspora* และ *Klueckera* spp. และ oxidative yeast ที่ส่วนใหญ่เป็น *Candida*, *Pichia* และ *Kluyveromyces* spp. พบเจริญเด่นอยู่ตามผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องุ่นที่สุกแล้ว 7) ยีสต์ที่ใช้ในการผลิตไวน์หลักๆ คือ *S. cerevisiae* เกือบจะไม่พบซึ่งขัดแย้งกับข้อมูลที่เคยมีผู้รายการไว้ก่อนหน้านี้ (Loureiro และ Malfeito-Ferreira, 2003)

โรงหมักไวน์ (winery) เมื่อพิจารณาจากสิ่งแวดล้อมในการผลิตไวน์มี 2 ส่วนที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ส่วนที่หนึ่งคือบริเวณที่ทำการผลิตไวน์และการเก็บรักษาไวน์ ส่วนที่สองคือบริเวณที่ทำการบรรจุขวด บริเวณที่ทำการผลิตและเก็บรักษาไวน์ ยีสต์ที่พบจะแตกต่างกัน ยีสต์ที่พบตามผลองุ่น คือ *S. cerevisiae* ในสัดส่วนที่สูง นอกจากนี้ยังมีจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่พบในไวน์และพื้นผิวของอุปกรณ์ที่สัมผัสกับน้ำองุ่นเช่น ผนังของถัง เครื่องบด พื้นหรือท่อต่างๆในโรงงาน เชื้อยีสต์ที่พบได้แก่ *P. anomala*, *P. membranifaciens*, *Candida* spp. และ *Cryptococcus* spp. เชื้อที่มักพบเช่น *Rhodotolula* spp., *A. pullalans*, *Trichosporon cutaneum*, *Debaryomyces hansenii*, *K. apiculate*, *M. pulcherrima* และ *T. rosei* จุลินทรีย์บางชนิดที่มักจะพบปนเปื้อนบ่อยเป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนอย่างแท้จริง เช่น *Rhodotorula* spp., *Cryptococcus* spp., *D. hansenii* และ *A. pullulans* ดังนั้นเชื้อเหล่านี้จึงมีโอกาสน้อยมากที่จะเจริญในไวน์ (Loureiro และ Malfeito-Ferreira, 2003)

จุลินทรีย์บางสายพันธุ์สามารถเจริญดีในไวน์ โดยเมทาบอลิซึมของการเจริญในสภาพมีอากาศอย่างสมบูรณ์หรือเมทาบอลิซึมของการหมักอย่างอ่อน เช่น *P. membranifaciens*, *P. anomala* และ *Candida* spp. ซึ่งทราบกันดีสำหรับจุลินทรีย์เหล่านี้ ทำให้เกิดชั้นฟิล์มบนผิวของไวน์ที่บรรจุในถังใหญ่ (bulk wines) โดยปริมาณซัลไฟต์ที่เติมไม่เพียงพอที่จะช่วยป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ดังกล่าว (Loureiro และ Malfeito-Ferreira, 2003)

**ตารางที่ 2.3** เชื้อที่ปนเปื้อนในไวน์และความสำคัญ

| กลุ่มของยีสต์ | ชนิด | การเกิด | ความสำคัญ |
|---|---|---|---|
| กลุ่ม 1 | *S. cerevisiae* | bottled wines | - ทำให้เสียโดยการตกตะกอน ขุ่น |
| | | bottled sweet wines | - ทำให้เสียโดยการหมักซ้ำ |
| | | จุกไม้คอร์ก (corks) | - การปนเปื้อนของฟิล์มซิลิโคน |
| | *S. ludwigii* | ไวน์บรรจุขวด | - ทำให้เสียโดยการตกตะกอน หรือขุ่น |
| | *K. apiculata* | น้ำองุ่น | - ทำให้เสียโดยการสร้าง เอทิลแอซิเตรด |
| กลุ่มที่ 2 | *Z. bailii* | ไวน์บรรจุขวด | - ทำให้เสียโดยการตกตะกอน ขุ่น |
| | | อุปกรณ์ทำไวน์ | - ทำให้เกิดการปนเปื้อน |
| | *Z. rouxii* | น้ำองุ่นเข้มข้น | - ทำให้เกิดการปนเปื้อน |
| | *T. delbrueckii* | น้ำองุ่นที่ผ่านการเอา | - ทำให้เกิดการปนเปื้อน |
| | *D. bruxellensis* | ไวน์ที่บรรจุในถังใหญ่, | - ทำให้เสียเพราะมีการสร้าง 4-เอซิลฟีนอล |
| | | ถังบาเรล (barrel) | - ทำให้เสียโดยทำให้เกิดความขุ่น |
| กลุ่มที่ 3 | *P. membranificiens* | ไวน์ที่บรรจุขวด | - ทำให้เสียโดยการตกตะกอน |
| | *Rhodotorula* spp. | อุปกรณ์ทำไวน์ | - ทำให้เกิดการปนเปื้อน |
| | *Trichosporon* spp. | อุปกรณ์ทำไวน์ | - ทำให้เกิดการปนเปื้อน |

**ที่มา:** Loureino และ Malfeito-Ferreira (2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ลิขสิทธิ์ห้ามเปลี่ยนแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.9.3 แบคทีเรียกรดแลคติกในไวน์และการหมักมาโลแลคติก**

จุลินทรีย์ที่สำคัญในการทำไวน์ ส่วนใหญ่เป็นยีสต์กับแบคทีเรียกรดแลคติก ยีสต์เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ ในขณะที่แบคทีเรียกรดแลคติกทำให้เกิดกระบวนการหมักมาโลแลคติก (malolactic fermentation) ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมซึ่งเกิดขึ้นภายใต้สภาวะที่เหมาะสมหลังจากการหมักแอลกอฮอล์ แบคทีเรียกรดแลคติกอาจพบได้ในระหว่างขั้นตอนต่างๆ ของการทำไวน์ แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถแยกได้จาก เถา ใบ องุ่น อุปกรณ์ในโรงผลิตไวน์ ถังหมัก เป็นต้น ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้ที่พบในกระบวนการแรกของการผลิตไวน์ (น้ำหมักที่จุดเริ่มต้นของการหมัก) โดยทั่วไปเป็น homofermentative ชนิดต่าง ๆ กัน โดยชนิดของจุลินทรีย์ที่ได้พบมากที่สุด ได้แก่เชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus hilgardii*, *Leuconostoc mesenteroides* และ *Pediococcus damnosus* โดยเชื้อแบคทีเรีย *Oenococus oeni* และ *Lactobacillus brevis* จะพบได้น้อย การเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียเกิดขึ้นระหว่างในช่วงสุดท้ายของการหมักแอลกอฮอล์ และจุดเริ่มต้นของการหมักมาโลแลคติกในระหว่างขั้นตอนนี้ปัจจัยที่มีอิทธิพลมากที่สุดได้แก่ พีเอชของอาหาร ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ อุณหภูมิและความเข้มข้นของเอทานอล อย่างไรก็ตามสภาวะที่เหมาะของไวน์แต่ละชนิด ส่วนใหญ่คือปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่สามารถส่งผลกระทบต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก (*O. oeni*) เป็นแบคทีเรียชนิดที่พบมากในช่วงสุดท้ายของการหมักแอลกอฮอล์ เป็นแบคทีเรียที่ปรับตัวได้ดีที่สุดในการเจริญในสภาวะที่จะเจริญได้ยาก เช่น ในอาหารที่ใช้ในการหมัก (pH ต่ำและเอทานอลที่มีความเข้มข้นสูง) ดังนั้นจึงเป็นสายพันธุ์หลักของการหมักมาโลแลคติกในไวน์ ส่วนใหญ่อย่างไรก็ตามมีเชื้อ *Pediococcus* และ *Lactobacillus* บางสายพันธุ์ ที่สามารถอยู่รอดในระยะนี้ของกระบวนการผลิตไวน์ ถ้ามีการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียกรดแลคติกเกิดขึ้นในช่วงเวลาที่ไม่ถูกต้องระหว่างการทำไวน์ อาจทำให้คุณภาพของไวน์และการยอมรับลดลงหลังจากการหมักมาโลแลคติก การอยู่รอดของแบคทีเรียขึ้นอยู่กับสภาวะของอาหารที่ใช้ในการหมักโดยเฉพาะค่าพีเอช ความเข้มข้นของเอทานอลและความเข้มข้นของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ดังนั้นการปฏิบัติที่มักจะทำกันเพื่อขจัดแบคทีเรียกรดแลคติกก็คือการเติมสารซัลไฟต์ หลังที่กรดมาลิกในไวน์ได้ถูกทำให้สลายไประดับของกำมะถันที่ทำให้กิจกรรมของแบคทีเรียกรดแลคติกช้าลงอยู่ระหว่าง 10 และ 30 มิลลิกรัมต่อลิตรของซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระ ในกรณีของไวน์ที่มี pH ระหว่าง 3.2 และ 3.6 และความเข้มข้นของกำมะถันระหว่าง 30-50 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับไวน์ที่มี pH 3.5-3.7 สำหรับไวน์ที่มี pH สูง ซึ่งมักเป็นไวน์ในบริเวณที่ได้รับการเตือนปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระที่จะต้องมีในไวน์นี้ใกล้เคียง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (Loureiro และ Malfeito-Ferreira, 2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.10 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ**

**2.10.1 เชื้อแบคทีเรีย**

**2.10.1.1 แบคทีเรียกรดแอซิติก**

**ก) *Acetobacter aceti***

*Acetobacter aceti* จัดอยู่ในสกุล *Acetobacter* เป็นแบคทีเรียรูปท่อน แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ เจริญในที่มีอากาศ (aerobic bacteria) เคลื่อนที่ได้โดยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบเซลล์ เป็นแบคทีเรียที่ไม่ทำให้เกิดโรค ใช้ในการหมักโดยออกซิไดซ์เอธิลแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดแอซิติกใช้ผลิตน้ำส้มสายชู แต่เป็นเชื้อที่ทำให้เครื่องดื่มแอลกอฮอล์เสีย (บุษกร, 2547)

**รูปที่ 2.25** เชื้อ *Acetobacter aceti*

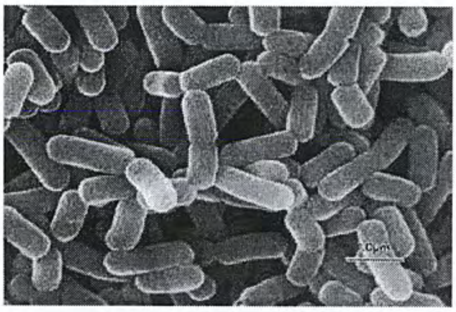
**ที่มา:** http://www.vcharkarn.com/varticle/44073 (7 มี.ค. 2556)

**2.10.1.2 แบคทีเรียกรดแลคติก**

**ก) *Lactobacillus***

แบคทีเรียสกุล *Lactobacillus* เป็นแบคทีเรียรูปท่อนส่วนใหญ่รูปท่อนยาว ไม่สร้างสปอร์ ติดสีแกรมบวกและเปลี่ยนเป็นแกรมลบเมื่อมีอายุมากขึ้น หรือมีกรดมากขึ้น ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส มีลักษณะเด่นคือต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตเล็กน้อย (microaerophile) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 30 - 40 องศาเซลเซียส ชอบกรด พีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตต่ำกว่าหรือเท่ากับ 5.5 - 5.8 พบได้ในธรรมชาติโดยเฉพาะในสัตว์และผลิตภัณฑ์ธัญพืชเป็นเชื้อก่อโรคในลำไส้นก ตัวอย่างเช่น *L. plantarum* ทำให้ผลิตภัณฑ์มะเขือเทศเน่าเสีย *L. brevis* ทำให้ไวน์ขุ่นและทำให้กะหล่ำปลีดองมีรสเปรี้ยวเกินไป เนื่องจากเกิดการสร้างกรดแลคติกและกรดแอซิติก สำหรับ *Lactobacillus* ที่มีประโยชน์ เช่น ก่อให้เกิดอาหารหมักที่มีรสเปรี้ยว เช่น แหนม ผักกาดดอง และนมเปรี้ยว เป็นต้น ตัวอย่างเชื้อที่มีประโยชน์ เช่น *L. casei* มีบทบาทในการหมักยาคูลท์ *L. acidophilus* มีบทบาทในการหมักนมเปรี้ยวชนิดต่างๆ และ *L. delbrueckii* ใช้ในการผลิตกรด (บุษกร, 2552)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

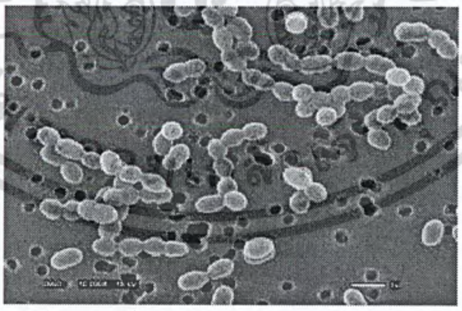


**รูปที่ 2.26** เชื้อ *Lactobacillus casei*

**ที่มา:** http://www.sciencephoto.com/image/12123/530wm/B2201567-Lactobacillus_curvatus-SPL.jpg (7 มี.ค. 2556)

**ข) *Leuconostoc***

แบคทีเรียสกุล *Leuconostoc* อยู่ในกลุ่มเดียวกับแบคทีเรียกรดแลคติก เป็นแบคทีเรียรูปกลม ติดสีแกรมบวก ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส ไม่เคลื่อนที่และไม่สร้างสปอร์ เจริญเติบโตในอาหารที่มีส่วนประกอบของซูโครส เป็นเชื้อที่มีการหมักน้ำตาลแบบเฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ สามารถเจริญเติบโตได้ในที่มีและไม่มีออกซิเจน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 20 - 30 องศาเซลเซียส พบได้ทั่วไปในพืช สัตว์และอาหารหลายชนิด เช่น น้ำอ้อย ทำให้ไส้กรอกบวม ประโยชน์ของ *Leuconostoc* เช่น *L. mesenteroides* มีบทบาทในการหมักอิดลีและโดซาซึ่งเป็นขนมแป้งหมักของประเทศอินเดียที่มีลักษณะคล้ายแพนเค้ก โดยเชื้อนี้ทำให้อาหารหมักมีรสเปรี้ยว *L. cremoris* ช่วยทำให้เกิดกลิ่นที่ดีแก่บัตเตอร์มิลค์ (บุษกร, 2552)



**รูปที่ 2.27** เชื้อ *Leuconostoc mesenteroides*

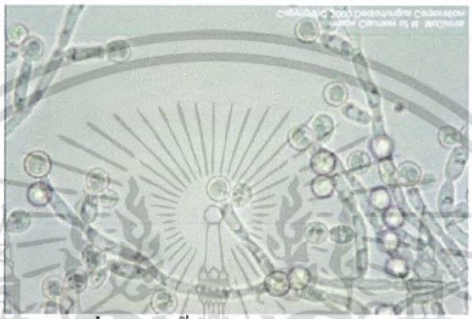
**ที่มา:** http://genome.jgi-psf.org/leume/leume.home.html (7 มี.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.10.2 เชื้อยีสต์**

**ก) *Candida lipolytica***

*Candida lipolytica* อยู่ในสกุล *Candida* เซลล์มีรูปร่างกลม รูปไข่ รูปทรงกระบอก สืบพันธุ์ด้วยการแตกหน่อแบบ multipolar budding สามารถสร้างซูโดไมซีเลียม (pseudomycelium) ซึ่งจะมีการสร้างบลาสโตสปอร์ (blastospores) ซึ่งเป็นสปอร์ที่เกิดจากการแบ่งตัวของซูโดไมซีเลียมและยังมีการสร้างคลาไมโดสปอร์เรส (chlamydospores) ไม่มีการสร้างแอสโคสปอร์ (ascospores) ไม่มีเม็ดสีแคโรทีนอยด์จึงทำให้เห็นการสร้างสีของเซลล์ได้ (วราวุฒิ, 2538)



**รูปที่ 2.28** เชื้อ *Candida lipolytica*

**ที่มา:** http://www.doctorfungus.org/aboutdrf/legal (14 มี.ค. 2555)

**ข) *Debaryomyces hansenii***

*Debaryomyces hansenii* เซลล์มีหลายรูปร่าง สืบพันธุ์โดยการสร้างแอสโคสปอร์บางครั้งเพิ่มจำนวนโดยการแตกหน่อรอบเซลล์หรืออาจแตกหน่อแบบเรียงตัวต่อๆกัน พบว่าหน่อจะไม่หลุดออกจากกันจนดูคล้ายกับเส้นใยเรียกว่าเส้นใยเทียมหรือซูโดไมซีเลียม แหล่งที่พบเชื้อนี้คืออาหารที่มีเกลือเข้มข้น 24 เปอร์เซ็นต์และมี $A_w$ ต่ำกว่า 0.65 เช่น ซีอิ้ว หรืออาจพบเชื้อนี้ในน้ำส้มและโยเกิร์ต (บุษกร, 2552)

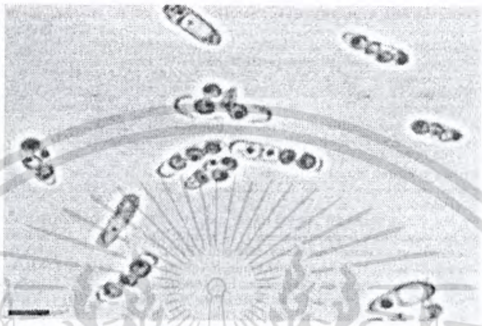
**รูปที่ 2.29** เชื้อ *Debaryomyces hansenii*

**ที่มา:** http://evodisku.multiply.com/journal/item/82/GIST (14 มี.ค. 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ค) *Pichia membranaefaciens***

*Pichia membranaefaciens* มีการสืบพันธุ์ 2 แบบ คือแบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ และแบบอาศัยเพศโดยการสร้างแอสโคสปอร์ รูปหมวก บทบาทในอาหารคือทำให้เกิดฝ้าบริเวณผิวอาหารหมัก (บุษกร, 2552) เป็นยีสต์ที่ก่อให้เกิดปัญหาในการผลิตเบียร์และไวน์ เพราะจะสร้างฝ้า (pellicle) ขึ้นที่ผิวของน้ำหมัก ยีสต์สายพันธุ์นี้สามารถใช้เอทานอลเป็นแหล่งคาร์บอนได้ และยังสามารถเจริญได้ในน้ำเกลือที่มีความเข้มข้นต่ำ 10 เปอร์เซ็นต์ (วราวุฒิ, 2538)

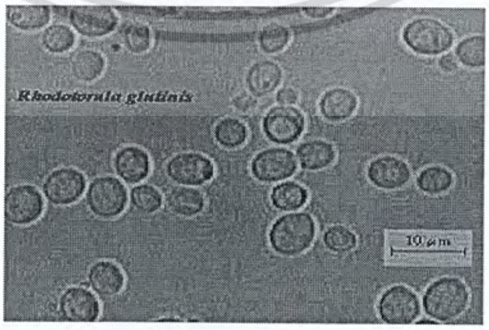


**รูปที่ 2.30** เชื้อ *Pichia membranaefaciens*

**ที่มา** : http://genome.jgi-psf.org/Picme1/Picme1.home.html (14 มี.ค. 2555)

**ง) *Rhodotorula glutinis***

*Rhodotorula glutinis* เซลล์มีรูปร่างกลม รูปไข่หรือทรงยาว สืบพันธุ์โดย multilateral budding ไม่มีการสร้างแอสโคสปอร์ มีการสร้างสีแดงหรือเหลืองจากเม็ดสีแคโรทีนอยด์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อมอล์ (malt agar) โดยเชื้อ *R. glutinis* นี้ใช้ในการผลิตไขมัน (วราวุฒิ, 2538) บทบาทของเชื้อนี้ในอาหาร คือทำให้อาหารมีสีชมพูหรือสีแดงเติบโตบนผิวหน้าอาหารหมัก ปลา เนื้อหมู กุ้งและเนื้อ (บุษกร, 2552)



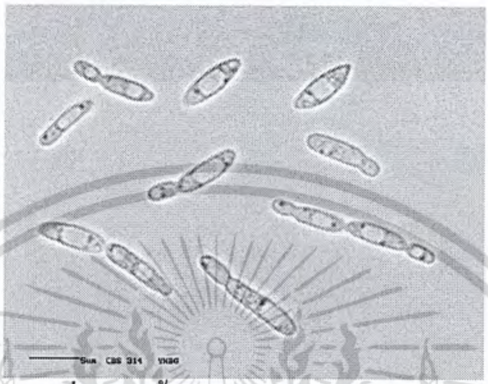

**รูปที่ 2.31** เชื้อ *Rhodotorula glutinis*

**ที่มา:** http://www.google.co.th/imgres?um=1&hl (14 มี.ค. 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**จ) *Hanseniaspora uvarum***

*Hanseniaspora uvarum* เซลล์มีรูปร่างกลม ทรงแบนคล้ายไข่ ทรงกระบอก หรือทรงยาว สืบพันธุ์โดยการแตกหน่อซึ่งจะเกิดขึ้นตรงฐานลักษณะแคบๆตรงส่วนใดของเซลล์ก็ได้ มีการสร้างสปอร์รูปหมวก จำนวน 2-4 สปอร์หรือสามารถเพิ่มจำนวนโดยการแตกหน่อรอบเซลล์หน่อที่แตกออกมาอาจเรียงตัวต่อกันเป็นสายยาวคล้ายเส้นใยเทียม (บุษกร, 2552)

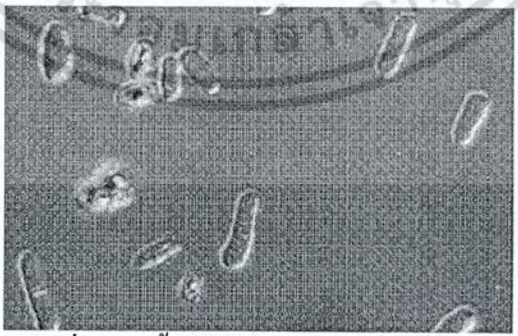


**รูปที่ 2.32** เชื้อ *Hanseniaspora uvarum*

**ที่มา:** http://terroirists.files.wordpress.com/2010/09/hansen.jpg (14 มี.ค. 2555)

**ฉ) *Saccharomyces cerevisiae***

*Saccharomyces cerevisiae* มีรูปร่างกลม ทรงกระบอก หรือทรงยาว มีการสืบพันธุ์ 2 แบบ คือแบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อรอบเซลล์ และแบบอาศัยเพศโดยการสร้างแอสโคสปอร์รูปกลมหรือรูปไข่ โดยจะใช้เชื้อ *S. cerevisiae* ในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น เบียร์ ไวน์ เชื้อนี้สามารถทำให้อาหาร เช่น น้ำหวาน น้ำผึ้งกลิ่นแอลกอฮอล์ แตงกวาดองเน่า และผลไม้แห้งเน่าเสีย (บุษกร, 2552)



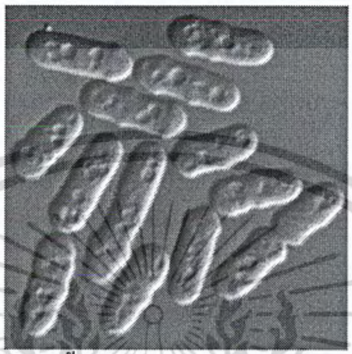
**รูปที่ 2.33** เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

**ที่มา:** http://www.biology.science.cmu.ac.th/Mycology/Kingdom_Fungi/Phylum_ascomycota.htm (14 มี.ค. 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ช) *Schizosaccharomyces pombe***

*Schizosaccharomyces pombe* มีรูปร่างกลมจนถึงทรงกระบอก แตกต่างจากยีสต์ชนิดอื่นตรงที่ไม่มีการแตกหน่อแต่มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน ชอบเติบโตในที่มีน้ำตาลเข้มข้นสูง จึงทำให้น้ำผึ้ง ผลไม้แห้ง ลูกเกดเน่าเสีย ยีสต์สายพันธุ์นี้ถูกแยกออกมาได้จากน้ำตาลและกากน้ำตาลที่ทำมาจากอ้อย ยีสต์สายพันธุ์นี้ใช้ในการผลิตอุตสาหกรรมการผลิตแอลกอฮอล์ (วราวุฒิ, 2538)

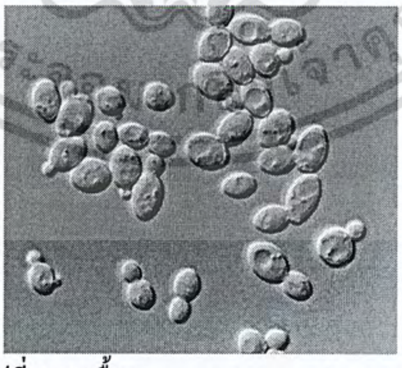


**รูปที่ 2.34** เชื้อ *Schizosaccharomyces pombe*

**ที่มา:** http://www.cdb.riken.go.jp/jp/04_news/annual_reports/2003/WebHelp/Yeast.htm (14 มี.ค. 2555)

**ซ) *Zygosaccharomyces rouxii***

*Zygosaccharomyces rouxii* มีการสืบพันธุ์โดยการแตกหน่อหลายขั้ว เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการหมักน้ำตาล บางชนิดของเชื้อสกุลนี้สามารถเติบโตได้ที่มี $A_w$ 0.62 และมีพีเอช 1.8 (บุษกร, 2552)



**รูปที่ 2.35** เชื้อ *Zygosaccharomyces rouxii*

**ที่มา:** http://www.ncyc.co.uk/print-photo-ncyc-CBS710.html (14 มี.ค. 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3
# อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

## 3.1 อุปกรณ์

### 3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

สมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ สมุนไพรแห้งจำนวน 27 ชนิด ได้แก่ ว่านน้ำ ว่านกลีบแรด โกฐเขมา ชุมเห็ดเทศ สมุลแว้ง อัญชัน หญ้าฝรั่น เถาวัลย์เปรียง เทียนข้าวเปลือก ว่านร่อนทอง แปะก๊วย หัสคุณเทศ รากหญ้าคา เปราะหอม กระชายดำ พุมเรียง ลำดวน บัวสัตตบงกช บัวหลวงแดง หญ้าหนวดแมว มะขามป้อม รากระย่อม โกฐกระดูก สมอไทย สีเสียดเทศ ไพล และขิง ซื้อจากร้านยาไทยฮั่วจั่น และสมุนไพรสดจำนวน 7 ชนิด ได้แก่ ใบและผลพิลังกาสา บัวบก กล้วยไม้พันธุ์หวาย มะลิ ผักแพว และถั่วพูซื้อจากตลาดในกรุงเทพมหานคร โดยนำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงก่อนนำไปสกัด (ตารางที่ 3.1)

### 3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Acetobacter aceti* TISTR 102, *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 453 และ *Lactobacillus plantarum* TISTR 050 ได้มาจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย *Lactobacillus casei* ssp. *casei* BCC 4308 ได้มาจากศูนย์เก็บรักษาเชื้อของศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (Biotec Culture Collection)

เชื้อยีสต์ที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Candida lipolytica* TISTR 5655, *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155, *Pichia membranaefaciens* TISTR 5093, *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159, *Zygosaccharomyces rouxii* TISTR 5044, *Hanseniaspora uvarum* TISTR 5153, *Schizosaccharomyces pombe* TISTR 5205 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ได้มาจากศูนย์จุลินทรีย์สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

### 3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ Yeast Malt Agar/Yeast Malt Broth (YMA/YMB, pH 6.8 ± 2, Difco) Glucose Yeast Extract Agar/Glucose Yeast Extract Broth (GYEA/GYEB, pH 6.8 ± 2, Difco) และ de Man Rogosa and Sharpe (MRS, pH 6.8 ± 2, Difco) (สูตรอาหารดูในภาคผนวก ก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 3.1** สมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง

| **ชื่อวิทยาศาสตร์** | **ชื่อสามัญ** | **วงศ์** | **ส่วนของพืชที่ใช้** | **สรรพคุณ** |
|---|---|---|---|---|
| *Acorus calamus* Linn. | ว่านน้ำ | Araceae | แก่น | แก้บิด แก้ปวดท้อง |
| *Angiopteris evecta* Hoffm. | ว่านกลีบแรด | Marattlaceae | แก่น | แก้พิษไข้ แก้อาเจียน |
| *Ardisia polycephala* Wall. | พิลังกาสา (ผล) | Myrsinaceae | ผล | แก้ท้องเสีย |
| *Ardisia polycephala* Wall. | พิลังกาสา (ใบ) | Myrsinaceae | ใบ | แก้ตับพิการ |
| *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. | โกฐเขมา | Compositae | เหง้า | บำรุงโลหิต แก้สะอึก |
| *Cassia alata* (L.) Roxb. | ชุมเห็ดเทศ | Caesalpiniaceae | แก่น | แก้ท้องผูก ขับปัสสาวะ |
| *Centella asiatica* (L.) Urban. | บัวบก | Umbelliferae | ใบ | แก้ช้ำใน บำรุงหัวใจ |
| *Cinnamomum bejolghota* (Ham.) Sweet | สมุลแว้ง | Lauraceae | เปลือก | แก้ลมวิงเวียน แก้พิษหวัด |
| *Clitoria ternatea* L. | อัญชัน | Leguminosae | ดอก | บำรุงดวงตา ขับปัสสาวะ |
| *Crocus sativus* L. | หญ้าฝรั่น | Lridaceae | เกสร | บำรุงธาตุ บำรุงโลหิต |
| *Dendrobium sonia* | กล้วยไม้ | Orchidaceae | ดอก | กระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย |
| *Derris scandens* Benth. | เถาวัลย์เปรียง | Papilioneae | แก่น | แก้เส้นเอ็นคอด |
| *Foeniculum vulgare* Mill. | เทียนข้าวเปลือก | Umbelliferae | เมล็ด | แก้ทางเดินปัสสาวะ แก้นิ่ว |
| *Globba malaccensis* Ridl. | ว่านร่อนทอง | Zingiberaceae | เหง้า | แก้ท้องเสีย แก้พิษฝี |
| *Ginkgo biloba* L. | แปะก๊วย | Ginkgoaceae | ใบ | เป็นยาอายุวัฒนะ |
| *Holarrhena curtisii* King & Gamble. | หัสคุณเทศ | Apocynaceae | แก่น | ขับลมในลำไส้ให้กระจาย |
| *Imperata cylindrica* Beauv. | รากหญ้าคา | Poaceae | ราก | แก้ตับอักเสบ แก้ร้อนใน |
| *Jasminum sambac* (L.) Aiton. | มะลิ | Oleaceae | ดอก | แก้ร้อนใน กระหายน้ำ |
| *Kaempferia galanga* Linn. | เปราะหอม | Zingiberaceae | เหง้า | แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ แก้หวัด |
| *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker. | กระชายดำ | Zingiberaceae | เหง้า | แก้ปากเปื่อย ขับระดูขาว |
| Lepisanthes *fruticosa* (Roxb.) Leenh. | พุมเรียง | Sapindaceae | แก่น | แก้ไข้เหนือ แก้ไข้สันนิบาต |
| *Melodorum fruticosum* Lour. | ลำดวน | Annonaceae | ดอก | แก้ไข้ แก้ลม บำรุงหัวใจ |
| *Nelumbo nucifera* Gaertn. | บัวสัตตบงกช | Nelumbonaceae | ดอก | บำรุงครรภ์ แก้ไข้ |
| *Nymphaea lotus* Linn. | บัวหลวงแดง | Nymphaeaceae | ดอก | บำรุงครรภ์ แก้ไข้ |
| *Orthosiphon aristatus* (Blume) Mig. | หญ้าหนวดแมว | Lamiaceae | ต้น | ขับปัสสาวะ ขับนิ่ว |
| *Phyllanthus emblica* L. | มะขามป้อม | Euphorbiaceae | ผล | แก้ไข้เจือลม แก้เสมหะ |
| *Polygonum odoratum* Lour. | ผักแพว | Polygonaceae | ใบ | ขับลม เจริญอาหาร |
| *Psophocarpus tetragonolobus* Linn. | ถั่วพู | Zingiberaceae | ฝัก | แก้อ่อนเพลีย บำรุงหัวใจ |
| *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. | รากระย่อม | Apocynaceae | ราก | แก้ปวดศีรษะ ช่วยย่อยอาหาร |
| *Saussurea lappa* Clark | โกฐกระดูก | Compositae | ราก | แก้ลมวิงเวียน แก้โลหิตจาง |
| *Terminalia chebula* Retz. | สมอไทย | Combretaceae | ผล | แก้ลมจุกเสียด |
| *Uncaria gambir* (Hunter) Roxb. | สีเสียดเทศ | Rubiaceae | ลำต้น | แก้ท้องร่วง แก้บิดมูกเลือด |
| *Zingiber cassumunar* Roxb. | ไพล | Zingiberaceae | เหง้า | ขับประจำเดือน ฝนทาแก้เคล็ด |
| *Zingiber officinale* Roscoe. | ขิง | Zingiberaceae | เหง้า | แก้ปวดท้อง แก้จุกเสียด |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง**

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เมทานอล (Methanol, Avantor Performance Materials, Inc., USD) ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide, Carlo Erba, USD) แอมโฟเทอริซินบี (Amphotericin B, Biolab, ประเทศไทย) เพนนิซิลินจี (Penicillin G, General Drugs House Co., Ltd., ประเทศไทย) อะซิทิลไทโอโคลีน ไอโอไดด์ (Acetylthiocholine iodide, Fluka, Sigma-Aldrich, UK) อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสชนิดV-S จากปลาไหลไฟฟ้า (Acetylcholinesterase from Electrophorum electricus (electric eel), C2888, Sigma, Sigma-Aldrich Co, USA) 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB, Sigma, Sigma-Aldrich, USA) กาแลนทามีน (Galanthamine, Sigma, Sigma-Aldrich Co., USA) 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma, Sigma-Aldrich, Germany) กรดแกลลิก (Gallic acid, Fluka, Sigma-Aldrich, Spain) อลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium chloride, Ajax Finechem Pty ltd, Australia) โพแทสเซียมอะซิเตต (Potassium acetate, Ajax Finechem, Australia) ควอซิทิน (Quercetin, Sigma-Aldrich, Germany) Tris-HCl (Vivantis, Technologies Sdn. Bhd., Malrysia) DMSO (Dimethylsulfoxide, Cario Erba, USA) โฟลิน-ซิโอคาลทู รีเอเจนต์ (Folin-Ciocalteu's reagent, VWR international S. A. S, France) เฟอริกคลอไรด์ (Ferric chloride, Panreac, E. U.) กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid, Carlo Erba, USA) โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate anhydrous, Ajax Finechem, Australia) โซเดียมฟอสเฟต (Sodium phosphate monobasic, Ajax Finechem, Australia) แคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate, Merck, Germany) โซเดียมไนไตรต์ (Sodium nitrite, Ajax Finechem, Australia) 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ, Fluka, Sigma-Alrich, Switzerland) Bovine serum albumin (BSA, Calbiochem, EMD chemical, Inc., San Diego, USA)

**3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง**

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เครื่องบด (blender, National, MX 795N, Philippine) เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator, Heidolph, Germany) ตู้อบลมร้อน (Memmert, UFE 600, Germany) ตู้บ่มเชื้อ (Memmert, INP 600, Germany) ตู้เย็น (SANYO, SR-F383, ประเทศไทย) ตู้เขี่ยเชื้อ (BossTech, VT 90, ประเทศไทย) หม้อนึ่งความดัน (TOMY, ES-315, Japan) เครื่องเขย่า (shaker, GALLENKAMP, Japan) เครื่องผสม (vortex mixer, VORTEX GENIE 2, G560E, USA) เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Japan) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge, FALCON, 6/300, Germany) กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.2 วิธีการทดลอง**

**3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรไทยและการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์**

**3.2.1.1 การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรไทยด้วยเมทานอล**

การสกัดสมุนไพรไทยทำได้โดยนำสมุนไพรแห้งแต่ละชนิด ได้แก่ ว่านน้ำ ว่านกลีบแรด พิลังกาสา โกฐเขมา ชุมเห็ดเทศ บัวบก สมุลแว้ง อัญชัน หญ้าฝรั่น กล้วยไม้ เถาวัลย์เปรียง เทียนข้าวเปลือก ว่านร่อนทอง แปะก๊วย หัสคุณเทศ รากหญ้าคา มะลิ เปราะหอม กระชายดำ พุมเรียง ลำดวน บัวสัตตบงกช บัวหลวงแดง หญ้าหนวดแมว มะขามป้อม ผักแพว ถั่วพู รากระย่อม โกฐกระดูก สมอไทย สีเสียดเทศ ไพล และขิงมาบดให้เป็นผงละเอียด เมื่อได้ผงสมุนไพรไทยแต่ละชนิดแล้ว ชั่งผงสมุนไพรแต่ละชนิดปริมาณ 20 กรัมใส่ลงในฟลาสก์และเติมเมทานอลปริมาตร 200 มิลลิลิตรลงไป จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมากรองผ่านกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 และนำของเหลวที่ได้ไประเหยเมทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศจะได้สารสกัดหยาบเข้มข้นประมาณ 5 มิลลิลิตร นำสารสกัดหยาบที่ได้ใส่ขวดสีชาและปิดปากขวดด้วยอลูมิเนียมฟรอยด์ที่เจาะรู และตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควัน จนกระทั่งเมทานอลระเหยออกหมดจะได้สารสกัดแห้ง เก็บสารสกัดแห้งที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ เมื่อจะวิเคราะห์เตรียม stock solution ของสารสกัดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยนำสารสกัดแห้งมาเจือจางด้วยสารละลาย Dimethyl sulfoxide (DMSO) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (วิธีเตรียมดูในภาคผนวก ข)

**3.2.1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียและยีสต์**

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียทำได้โดยเขี่ยเชื้อแบคทีเรียจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ *Acetobacter aceti* TISTR 102, *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 453, *Lactobacillus plantarum* TISTR 050 และ *Lactobacillus casei* ssp. *casei* BCC 4308 จากหลอด stock culture ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหาร agar slant ใหม่ (เฉพาะเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 ถ่ายเชื้อลงในอาหาร GYEA ส่วนเชื้อแบคทีเรียอีก 3 ชนิดถ่ายเชื้อลงใน MRS agar) และนำ *Acetobacter aceti* TISTR 102 ไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกอีก 3 ชนิด บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อได้เชื้อทุกชนิดที่ต้องการใช้ทดสอบแล้ว ถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารแข็ง 1 ลูปเต็มลงในหลอดอาหารเหลว สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 ถ่ายลงในอาหารเหลว GYEB ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ส่วนเชื้อ *Lactobacillus plantarum* TISTR 050, *Lactobacillus casei* ssp. *casei* BCC 4308 และ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 453 ถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนการเตรียมเชื้อยีสต์จำนวน 8 ชนิด ได้แก่ *Candida lipolytica* TISTR 5655, *Debaryomyces hansenii* TISTR 5155, *Pichia membranaefaciens* TISTR 5093, *Rhodotorula glutinis* TISTR 5159, *Zygosaccharomyces rouxii*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TISTR 5044, *Hanseniaspora uvarum* TISTR 5153, *Schizosaccharomyces pombe* TISTR 5205 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ถ่ายเชื้อลงในอาหาร YMA slant จำนวน 2 ครั้ง เช่นเดียวกับเชื้อแบคทีเรีย แต่นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เมื่อได้เชื้อยีสต์แต่ละชนิดแล้วให้ถ่ายเชื้อยีสต์แต่ละชนิดลงในหลอดอาหาร YMB ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ที่เจริญในอาหารเหลวทุกหลอดไปปั่นเหวี่ยงครั้งที่ 1 ที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้เซลล์จุลินทรีย์ตกตะกอน และเทส่วนใส (supernatant) ทิ้งไป เหลือเฉพาะตะกอนเซลล์ (cell pellet) ที่ก้นหลอด จากนั้นล้างเซลล์โดยเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตรเท่ากับอาหารเหลวเดิม (5 มิลลิลิตร) นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงครั้งที่ 2 ที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้ง (เป็นการล้างเซลล์ครั้งที่ 1) จากนั้นทำการล้างเซลล์ด้วยวิธีการเดียวกันนี้อีก 1 ครั้ง แล้วนำตะกอนเซลล์ที่ได้มาทำให้อยู่ในรูปของสารแขวนลอยเซลล์ โดยเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันปรับความขุ่นด้วย McFarland standard เชื้อแบคทีเรียจะปรับความขุ่นให้เท่ากับความขุ่นของ McFarland standard เบอร์ 0.5 (จะได้ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ $10^7$ CFU ต่อมิลลิลิตร) ส่วนเชื้อยีสต์จะปรับความขุ่นให้เท่ากับความขุ่นของ McFarland standard เบอร์ 5 (จะได้ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ $10^8$ CFU ต่อมิลลิลิตร)

**3.2.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย**

**3.2.2.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method)**

ทำการทดลองด้วยวิธีการของ Meléndez และ Capriles (2006) และ Hussain และคณะ (2008) ดังนี้ ปิเปตสารแขวนลอยของเซลล์จุลินทรีย์แต่ละชนิดปริมาตร 100 ไมโครลิตร (ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ $10^7$ และ $10^8$ CFU ต่อมิลลิลิตรสำหรับเชื้อแบคทีเรียและเชื้อยีสต์ตามลำดับ) ลงบนผิวหน้าอาหาร MRS สำหรับแบคทีเรียกรดแลคติก อาหาร GYEA สำหรับเชื้อ *Acetobacter aceti* และอาหาร YMA สำหรับยีสต์ แล้วเกลี่ยด้วยไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ จากนั้นคีบแผ่นกระดาษกรองปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรไปวางบนผิวหน้าของวุ้น หยดสารสกัดปริมาตร 15 ไมโครลิตรลงบนกระดาษกรอง สำหรับชุดควบคุมเชิงลบ (Negative control) ใช้สารละลาย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 15 ไมโครลิตรหยดลงบนแผ่นกระดาษกรอง ส่วนชุดควบคุมเชิงบวก (Positive control) จะใช้เพนนิซิลินจีที่ความเข้มข้น 100 ยูนิตต่อมิลลิกรัมสำหรับเชื้อแบคทีเรียและใช้แอมโฟเทอริซินบีที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสำหรับเชื้อยีสต์ แล้วนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงสำหรับแบคทีเรียกรดแลคติก ยกเว้นเชื้อ *Acetobacter aceti* นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และส่วนเชื้อยีสต์บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง กิจกรรมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หาค่าได้จากการวัดความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (inhibition zone) ในหน่วยมิลลิเมตร

**3.2.2.2 การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar dilution**

ทำการทดลองด้วยวิธีการของ Collins และคณะ (2001) และ Kumar และคณะ (2006) ดังนี้ ทำการเจือจางสารสกัดให้ได้ความเข้มข้นระดับต่างๆจาก stock solution ของสารสกัดพืชสมุนไพรแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยปิเปตสารสกัดที่แต่ละระดับความเข้มข้นปริมาตรต่างๆลงในหลอดทดลองที่ปราศจากเชื้อ และปิเปตน้ำกลั่นปลอดเชื้อลงไปปริมาตรระดับต่างๆ โดยปริมาตรของสารสกัดรวมกับน้ำกลั่นได้เท่ากับ 250 ไมโครลิตร (ภาคผนวก ข) จากนั้นปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 4,750 ไมโครลิตรที่มีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสลงไป สำหรับเชื้อยีสต์จะใช้อาหาร YMA แบคทีเรียกรดแลคติกจะใช้อาหาร MRS และเชื้อ *Acetobacter aceti* จะใช้อาหาร GYEA จากนั้นเขย่าให้เข้ากันดี แล้วนำมาเอียงเพื่อให้ได้หลอดอาหารที่มีผิวหน้าเอียงซึ่งจะได้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดระดับต่างๆได้แก่ 10, 7, 5.12, 2.56, 1.28, และ 0.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้สารละลาย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10 เป็นชุดควบคุมเชิงลบ สำหรับชุดควบคุมเชิงบวกจะใช้ยาเพนนิซิลินจีที่ระดับความเข้มข้น $10^6$, $10^5$, $10^4$, $10^3$, $10^2$ และ 10 ยูนิตต่อมิลลิลิตรสำหรับเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด และยาแอมโฟเทอริซินบีที่ระดับความเข้มข้น 10, 5, 2.5 และ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสำหรับเชื้อยีสต์ทั้งหมด จากนั้นทำการถ่ายเชื้อจากสารแขวนลอยของเซลล์จุลินทรีย์แต่ละชนิดลากลงบนผิวหน้าอาหารที่มีความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละระดับลงไป 1 loop ด้วยเทคนิค simple streak นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงสำหรับเชื้อแบคทีเรีย ยกเว้นเชื้อ *Acetobacter aceti* จะบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และสำหรับเชื้อยีสต์บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจผลการทดลอง โดยตรวจดูการเจริญของเชื้อที่แต่ละระดับความเข้มข้นของสารสกัด รายงานผลเป็นค่า MIC (minimum inhibitory concentration) ซึ่งก็คือระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้

**3.2.3 การศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย**

**3.2.3.1 การวิเคราะห์หาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดจากสมุนไพรไทย**

ในการศึกษาสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดจากสมุนไพรไทยได้ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Ellman's colorimetric ของ Ellman และคณะ (1961) และ Jang และคณะ (2008) ที่ดัดแปลงเล็กน้อยซึ่งทำได้โดยเติมสารละลายชนิดต่างๆลงในหลอดทดลอง ดังนี้ 1) เอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase) ความเข้มข้น 0.025 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 240 ไมโครลิตร 2) สารสกัดจากสมุนไพรชนิดต่างๆที่ความเข้มข้น 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อ

ปริมาตร 120 µl

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตร (เจือจางด้วยเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 จาก stock solution ของสารสกัดที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 120 ไมโครลิตร 3) สารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลต่อลิตร (pH 8.0) ปริมาตร 2,160 ไมโครลิตร จากนั้นเขย่าให้เข้ากันและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที เมื่อครบเวลานำมาเติมสารละลาย 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB) ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 240 ไมโครลิตร และสารละลายอะซิทิลไทโอโคลีนไอโอไดด์ (ATCI) ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลต่อลิตร ปริมาตร 240 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร และนำสารกาแลนทามีนบริสุทธิ์ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกับสารสกัดจากพืชมาทดสอบด้วยเพื่อเปรียบเทียบตัวอย่างสารสกัด สำหรับชุดควบคุม (control) ทำการทดสอบเช่นเดียวกับตัวอย่างแต่ใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนตัวอย่างสารสกัด ส่วน Blank จะใช้สารละลาย Tris-HCl buffer แทนเอนไซม์และใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัด

นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างและชุดควบคุมมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสดังสมการ (วิธีการคำนวณดูในภาคผนวก ค)

$$\text{\% การยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัด และ $A_{\text{ควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

#### 3.2.3.2 การศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

**ก) การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลไม้พื้นบ้านด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay**

การวิเคราะห์หาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระวิธีนี้ทำตามวิธีการของ Brand-Williams และคณะ (1995) โดยนำตัวอย่างของสารสกัดแต่ละชนิดมาทำการเจือจางด้วยเมทานอลให้ได้ความเข้มข้น 5 ระดับ ได้แก่ 1,000, 500, 100, 10 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารสกัดแต่ละชนิดปริมาตร 75 ไมโครลิตรมาผสมกับสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อลิตร (ในเมทานอล) ปริมาตร 2.925 มิลลิลิตรในหลอดทดลองแต่ละหลอด และใช้เมทานอลเป็น Blank แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยทันทีด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรพร้อมบันทึกค่าการดูดกลืนแสง (0 นาที) จากนั้นนำไปเก็บในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตรพร้อมทั้งบันทึกค่าการดูดกลืนแสง (30 นาที)

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของ DPPH ทำได้โดยเตรียมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015265 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานแสดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของ DPPH และหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่เวลา 0 นาทีและที่เวลา 30 นาทีไปคำนวณหาความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลืออยู่ (% $DPPH^{\cdot}_{REM}$) จากปฏิกิริยาในหลอดทดลองแต่ละหลอด (ของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น) จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของ DPPH ดังกล่าวข้างต้น การหาความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลือ (%$DPPH^{\cdot}_{REM}$) คำนวณได้โดยใช้สมการดังนี้

$$[\%DPPH^{\cdot}_{REM}] \quad = \quad ([DPPH^{\cdot}]_{T} / [DPPH^{\cdot}]_{T=0}) \times 100$$

โดย $[DPPH^{\cdot}]_{T}$ หมายถึงความเข้มข้นของ $DPPH^{\cdot}$ ที่เวลาใดๆ และ $[DPPH^{\cdot}]_{T=0}$ หมายถึงความเข้มข้นของ $DPPH^{\cdot}$ ที่เวลา 0 นาที จากนั้นเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ DPPH ที่เหลืออยู่ของสารสกัดแต่ละชนิด ณ เวลา 30 นาทีกับอัตราส่วนของความเข้มข้นของสารสกัดต่อความเข้มข้นของ DPPH (ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH) หาสมการเส้นตรงจากกราฟเพื่อคำนวณหา $EC_{50}$ (Effective concentration) ของสารสกัดแต่ละชนิด และค่า AE (Antiradical efficiency) ซึ่งเท่ากับ $1/EC_{50}$

**ข) การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP)**

การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธีนี้ทำตามวิธีการของ Lado และคณะ (2004) โดยทำการเตรียมสารละลายที่ใช้สำหรับเตรียม FRAP reagent ซึ่งประกอบด้วย 1) acetate buffer (pH 3.6) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ 2) สารละลาย 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ในกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ และ 3) สารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

จากนั้นทำการเตรียม FRAP reagent โดยปิเปต ดังนี้ 1) acetate buffer ปริมาตร 25 มิลลิลิตร 2) สารละลาย TPTZ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และ 3) สารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร จะได้ FRAP reagent จากนั้นทำการทดลองโดยปิเปตสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมกับตัวอย่างสารสกัดแต่ละชนิดที่ต้องการทดสอบที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 5 นาที แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร โดยใช้ FRAP reagent เป็น Blank

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของ FRAP ทำได้โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานของเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 6, 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร นำมาสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาตรฐานของเฟอรัสซัลเฟต และหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน นำค่าที่วัดได้ไปคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดโดยมีหน่วยเป็นมิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด (mmol Fe(II)/g extract) (วิธีการคำนวณดูในภาคผนวก ค)

**3.2.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากสมุนไพรไทย**

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะวิเคราะห์ด้วยวิธีของ Singleton และคณะ (1999) โดยทำการเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรแล้วปิเปตสารสกัดนี้ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่น ultra-pure ปริมาตร 6 มิลลิลิตรลงไป และนำมาเติมสาร Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำมาเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น ultra-pure ปริมาตร 1.9 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg gallic acid equivalents (GAE)/g extract) (วิธีการคำนวณดูในภาคผนวก ค)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆแทนสารสกัดจากสมุนไพร ส่วน Blank เป็นเมทานอลแทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรของสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างที่วิเคราะห์

**3.2.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดจากสมุนไพรไทย**

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดจากสมุนไพรไทย ทำตามวิธีการของ Kathirvel และ Sujatha (2012) นำสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรต์ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร จากนั้นทิ้งไว้5 นาที เติมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร หลังจากนั้นทิ้งไว้อีก 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันดี จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยาวคลื่น 510 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของควอซิทินแล้วรายงานผลการทดลองในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด (mg quercetin equivalents (QE)/g extract) (วิธีการคำนวณดูในภาคผนวก ค)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของควอซิทินที่ความเข้มข้น 12.5-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (1000, 500, 250, 125, 100, 50, 25 และ 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ทำการทดลองเช่นเดียวกับตัวอย่างจนกระทั่งนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง แล้วสร้างกราฟมาตรฐานของควอซิทินแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณควอซิทินกับค่าการดูดกลืนแสง และหาสมการเส้นตรงเพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4
# ผลการทดลองและวิจารณ์

## 4.1 สมบัติการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย

### 4.1.1 การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method)

จากผลการศึกษาสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 34 ชนิด ด้วยเทคนิค Disc diffusion (ตารางที่ 4.1) พบว่าสารสกัดจากหญ้าฝรั่นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้มากชนิดที่สุดคือยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ถึง 11 ชนิดในจำนวนทั้งหมด 12 ชนิดที่ทดสอบ ส่วนสารสกัดจากสมุนไพรที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ค่อนข้างหลายชนิดรองลงมาคือ เปราะหอมและว่านน้ำ (ยับยั้งได้ 7 ชนิด) และชุมเห็ดเทศ (ยับยั้งได้ 6 ชนิด) ส่วนสารสกัดหยาบจากสมุนไพรอื่นๆที่เหลือก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้บ้าง (2-3 ชนิด) ยกเว้นสารสกัดหยาบจากถั่วพู ส่วนสารสกัดหยาบจากเถาวัลย์เปรียง ดอกบัวสัตตบงกช ดอกบัวหลวงแดง มะขามป้อม ดอกลำดวน ว่านกลีบแรด สมอไทย สมุลแว้งและหัสคุณเทศไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

สารสกัดหยาบจากหญ้าฝรั่นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้กว้างมากที่สุดคือสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ทั้ง 8 ชนิดที่ใช้ในการทดสอบ รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากเปราะหอมสามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ได้ 6 ชนิด และสารสกัดจากว่านน้ำสามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ได้ 5 ชนิด ส่วนสมุนไพรอื่นๆที่สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ได้รองลงมา 4 ชนิดคือสารสกัดหยาบจากสมอไทยซึ่งมีความกว้างของเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งค่อนข้างกว้าง สารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้ 3 ชนิด ได้แก่ โกฐกระดูก โกฐเขมา ขิง ชุมเห็ดเทศ บัวหลวงแดง พุมเรียง มะขามป้อม รากระย่อม รากหญ้าคา ว่านกลีบแรด หัสคุณเทศและหญ้าหนวดแมว สารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ได้ 2 ชนิด ได้แก่ กล้วยไม้ เถาวัลย์เปรียง เทียนข้าวเปลือก บัวบก ดอกบัวสัตตบงกช ใบพิลังกาสา แปะก๊วย ผักแพว มะลิ ลำดวน ลูกพิลังกาสา ว่านร่อนทอง สมุลแว้ง สีเสียดเทศและอัญชัน และสารสกัดหยาบจากกระชายดำและไพลสามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ได้เพียง 1 ชนิด ส่วนสารสกัดหยาบจากถั่วพูไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อยีสต์

เชื้อยีสต์ที่มีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสมุนไพรส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ในการทดสอบมากที่สุด คือ *Schizosaccharomyces pombe* และ *Rhodotorula glutinis* ซึ่งถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยได้หลายชนิดมากที่สุด โดย *S. pombe* ถูกยับยั้งโดยสมุนไพรไทย 31 ชนิดจากทั้งหมด 34 ชนิด ยกเว้นสารสกัดหยาบจากถั่วพู ไพลและอัญชันที่ไม่ยับยั้งเชื้อนี้ (โซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 5.67 ถึง 23.22 มิลลิเมตร) และ *R. glutinis* ถูกยับยั้งโดยสมุนไพรไทย 29 ชนิดจากทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

34 ชนิด ยกเว้นสารสกัดหยาบจากกระชายดำ ถั่วพู บัวบก ไพล และมะลิที่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อนี้ได้ (โซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 6.93 ถึง 24.56 มิลลิเมตร) เชื้อ *R. glutinis* ถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศได้ดีที่สุด (โซนการยับยั้ง 24.56 มิลลิเมตร) สมุนไพรที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อนี้ได้ดีรองลงมา (โซนการยับยั้ง 13.11 ถึง 14.78 มิลลิเมตร) ได้แก่ ผักแพว ดอกบัวสัตตบงกช สีเสียดเทศและกล้วยไม้ ส่วนสมุนไพรชนิดอื่นๆที่สามารถยับยั้งเชื้อนี้ได้บ้าง สารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศยับยั้งการเจริญของ *S. pombe* ได้ดีที่สุด (โซนการยับยั้ง 23.22 มิลลิเมตร) รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบจากบัวหลวงแดงและมะขามป้อม (โซนการยับยั้ง 20.83 และ 20.44 มิลลิเมตรตามลำดับ) สีเสียดเทศและสมอไทย (โซนการยับยั้ง 17 มิลลิเมตร) ส่วนสมุนไพรไทยอื่นๆที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อนี้ได้ค่อนข้างดี ได้แก่ ว่านกลีบแรด ใบพิลังกาสา ผักแพว หัสคุณเทศ สมุลแว้งและกล้วยไม้ (11.11 ถึง 13.33 มิลลิเมตร) ส่วน *Candida lipolytica* สามารถถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากขิง บัวบก บัวหลวงแดง เปราะหอม ไพล มะขามป้อม มะลิ ว่านน้ำ สมอไทย หัสคุณเทศ หญ้าฝรั่น หญ้าหนวดแมวและอัญชัน (โซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 6.67 ถึง 1.67 มิลลิเมตร) และ *Debaryomyces hansenii* ถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากเปราะหอมและหญ้าฝรั่น (โซนการยับยั้งเท่ากับ 7.78 และ 12.67 มิลลิเมตรตามลำดับ) ส่วนเชื้อ *Pichia membranaefaciens* สามารถถูกยับยั้งได้โดยว่านน้ำและหญ้าฝรั่นเท่านั้น (โซนการยับยั้ง เท่ากับ 7 และ 6.33 มิลลิเมตรตามลำดับ) เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* สามารถถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากเปราะหอม พุมเรียง ว่านน้ำและหญ้าฝรั่นได้ สารสกัดหยาบจากโกฐกระดูก โกฐเขมา ชุมเห็ดเทศ เปราะหอม รากหญ้าคา ว่านกลีบแรด สมอไทยและหญ้าฝรั่นสามารถยับยั้งเชื้อ *Zygosaccharomyces rouxii* ได้ โดยเฉพาะสารสกัดจากว่านกลีบแรดและโกฐเขมา (โซนการยับยั้ง 12.33 และ 11.44 มิลลิเมตรตามลำดับ)

สำหรับสมบัติการต้านการเจริญของแบคทีเรียพบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยจำนวน 17 ชนิดจาก 34 ชนิดที่ทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Acetobacter aceti* ได้เช่น กระชายดำ กล้วยไม้ โกฐกระดูก โกฐเขมา ขิง ถั่วพู เทียนข้าวเปลือก บัวบก แปะก๊วย เปราะหอม ผักแพว พุมเรียง มะลิ รากหญ้าคา หญ้าฝรั่น หญ้าหนวดแมวและอัญชัน (โซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 6.87 ถึง 15.56 มิลลิเมตร) โดยเฉพาะสารสกัดหยาบจากหญ้าฝรั่นสามารถยับยั้งเชื้อ *A. aceti* ได้ดีที่สุดเพราะมีโซนการยับยั้งกว้างมากที่สุด (15.56 มิลลิเมตร) เชื้อ *Lactobacillus casei* ถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศ ลูกพิลังกาสา ว่านน้ำ ว่านร่อนทองและหญ้าฝรั่น (โซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 7 ถึง 16.67 มิลลิเมตร) สารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศ มะลิ รากระย่อม ว่านน้ำและหญ้าฝรั่นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ได้ (โซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 7.5 ถึง 19.11 มิลลิเมตร) และเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* สามารถถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศ ใบพิลังกาสา ไพล รากระย่อมและสีเสียดเทศได้ (โซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 7.56 ถึง 15.5 มิลลิเมตร) ชุมเห็ดเทศและหญ้าฝรั่นเป็นสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้มากชนิดที่สุดคิดเป็น 3 ชนิดใน 4 ชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.1** สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method)

| ชนิดของจุลินทรีย์ | เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ว่านน้ำ | ว่านกลีบแรด | พิลังกาสา (ผล) | พิลังกาสา (ใบ) | โกฐเขมา | ชุมเห็ดเทศ | บัวบก | สมุลแว้ง | อัญชัน |
| เชื้อยีสต์ | | | | | | | | | |
| *Candida lipolytica* | 8.11 ± 0.69 | - | - | - | - | - | 6.67 ± 0.33 | - | 8.45 ± 0.19 |
| *Debaryomyces hansenii* | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Hanseniaspora uvarum* | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Pichia membranaefaciens* | 7.00 ± 0.00 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Rhodotorula glutinis* | 9.89 ± 1.07 | 8.56 ± 0.19 | 8.44 ± 0.38 | 11.22 ± 1.17 | 7.06 ± 0.25 | 24.56 ± 0.19 | - | 7.44 ± 0.19 | 9.33 ± 1.15 |
| *Saccharomyces cerevisiae* | 7.67 ± 0.00 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Schizosaccharomyces pombe* | 8 .56 ± 0.51 | 13.33 ± 0.58 | 10.22 ± 1.07 | 11.89 ± 1.02 | 8.33 ± 1.53 | 23.22 ± 0.69 | 7.00 ± 0.00 | 11.22 ± 1.58 | - |
| *Zygosaccharomyces rouxii* | - | 12.33 ± 0.33 | - | - | 11.44 ± 2.55 | 6.94 ± 0.35 | - | - | - |
| เชื้อแบคทีเรีย | | | | | | | | | |
| *Acetobacter aceti* | - | - | - | - | 8.00 ± 0.00 | - | 9.61 ± 0.35 | - | 7.67 ± 0.29 |
| *Lactobacillus casei* | 9.50 ± 0.17 | - | 9.50 ± 0.00 | - | - | 16.67 ± 0.29 | - | - | - |
| *Lactobacillus plantarum* | 9.78 ± 2.04 | - | - | - | - | 19.11 ± 0.19 | - | - | - |
| *Leuconostoc mesenteroides* | - | - | - | 7.56 ± 0.19 | - | 13.00 ± 0.00 | - | - | - |

[a]ค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ; [b]ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส < 6 มม.)

หมายเหตุ : สารสกัดทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/ml ยาปฏิชีวนะ Amphotericin B ใช้ที่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml และ Penicillin G ใช้ที่ความเข้มข้น 100 U/ml

**ตารางที่ 4.1** สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method) (ต่อ)

| **ชนิดของจุลินทรีย์** | **เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน** | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | หญ้าฝรั่น | กล้วยไม้ | เถาวัลย์เปรียง | เทียนข้าวเปลือก | ว่านร่อนทอง | แปะก๊วย | หัสคุณเทศ | รากหญ้าคา | มะลิ |
| เชื้อยีสต์ | | | | | | | | | |
| *Candida lipolytica* | 6.99 ± 0.02 | - | - | -[b] | - | - | 6.69 ± 0.31 | - | 7.00 ± 0.00 |
| *Debaryomyces hansenii* | 12.67± 0.58 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Hanseniaspora uvarum* | 14.78 ± 0.84 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Pichia membranaefaciens* | 6.33 ± 0.38 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Rhodotorula glutinis* | 7.00 ± 0.00 | 13.11 ± 0.69 | 7.22 ± 0.38 | 6.93 ± 0.07 | 7.56 ± 0.51 | 9.56 ± 1.84 | 8.44 ± 0.19 | 9.11 ± 1.02 | - |
| *Saccharomyces cerevisiae* | 8.89 ± 0.19 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Schizosaccharomyces pombe* | 7.00 ± 0.00 | 11.11 ± 0.19 | 10.00 ± 0.00 | 7.11 ± 0.19 | 7.00 ± 0.00 | 10.27 ± 0.06 | 11.67 ± 0.58 | 8.11 ± 1.35 | 7.89 ± 0.84 |
| *Zygosaccharomyces rouxii* | 7.94 ± 0.35 | - | - | - | - | - | - | 7.44 ± 0.38 | |
| เชื้อแบคทีเรีย | | | | | | | | | |
| *Acetobacter aceti* | 15.56 ± 0.19 | 9.39 ± 0.35 | - | 9.00 ± 0.00 | - | 8.00 ± 0.00 | - | 9.11 ± 1.02 | 8.72 ± 0.25 |
| *Lactobacillus casei* | 8.56 ± 0.39 | - | - | - | 7.00 ± 0.00 | - | - | - | - |
| *Lactobacillus plantarum* | 7.50 ± 0.17 | - | - | - | - | - | - | - | 11.17 ± 0.19 |
| *Leuconostoc mesenteroides* | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

[a]ค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ; [b]ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส < 6 มม.)

**หมายเหตุ** : สารสกัดทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/ml ยาปฏิชีวนะ Amphotericin B ใช้ที่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml และ Penicillin G ใช้ที่ความเข้มข้น 100 U/ml

**ตารางที่ 4.1** สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method) (ต่อ)

| ชนิดของจุลินทรีย์ | เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | เปราะหอม | กระชายดำ | พุมเรียง | ลำดวน | บัวสัตตบงกช | บัวหลวงแดง | หญ้าหนวดแมว | มะขามป้อม | ผักแพว |
| เชื้อยีสต์ | | | | | | | | | |
| *Candida lipolytica* | 7.78 ± 1.95 | - | - | - | - | 12.67 ± 2.03 | 6.86 ± 0.10 | 7.37 ± 0.84 | - |
| *Debaryomyces hansenii* | 7.78 ± 0.19 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Hanseniaspora uvarum* | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Pichia membranaefaciens* | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Rhodotorula glutinis* | 7.44 ± 0.19 | - | 7.89 ± 1.02 | 10.11 ± 2.72 | 13.78 ± 2.14 | 10.89 ± 1.17 | 7.21 ± 0.39 | 7.44 ± 0.19 | 14.78 ± 0.51 |
| *Saccharomyces cerevisiae* | 7.89 ± 0.51 | - | 8.22 ± 0.96 | - | - | - | - | - | - |
| *Schizosaccharomyces pombe* | 7.42 ± 0.63 | 8.00 ± 1.00 | 9.22 ± 0.38 | 10.47 ± 0.06 | 10.53 ± 0.06 | 20.83 ± 2.93 | 8.11 ± 0.19 | 20.44 ± 3.34 | 11.83 ± 0.76 |
| *Zygosaccharomyces rouxii* | 7.67 ± 1.00 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| เชื้อแบคทีเรีย | | | | | | | | | |
| *Acetobacter aceti* | 7.22 ± 0.19 | 9.50 ± 0.00 | 8.06 ± 0.92 | - | - | - | 9.00 ± 0.00 | - | 8.00 ± 0.00 |
| *Lactobacillus casei* | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Lactobacillus plantarum* | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| *Leuconostoc mesenteroides* | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

[a]ค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ; [b]ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส < 6 มม.)

**หมายเหตุ** : สารสกัดทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/ml ยาปฏิชีวนะ Amphotericin B ใช้ที่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml และ Penicillin G ใช้ที่ความเข้มข้น 100 U/ml

**ตารางที่ 4.1** สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method) (ต่อ)

| ชนิดของจุลินทรีย์ | เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ถั่วพู | รากระย่อม | โกฐกระดูก | สมอไทย | สีเสียดเทศ | ไพล | ขิง | Amphotericin B | Penicillin G |
| **เชื้อยีสต์** | | | | | | | | | |
| *Candida lipolytica* | - | - | - | 9.78 ± 0.19 | - | 7.19 ± 0.41 | 6.98 ± 0.04 | 12.33 ± 0.58 | - |
| *Debaryomyces hansenii* | - | - | - | - | - | - | - | 10.00 ± 0.00 | - |
| *Hanseniaspora uvarum* | - | 9.44 ± 0.84 | - | - | - | - | - | 12.33 ± 0.58 | - |
| *Pichia membranaefaciens* | - | - | - | - | - | - | - | 10.33 ± 0.58 | - |
| *Rhodotorula glutinis* | - | 7.22 ± 0.19 | 9.11 ± 2.27 | 10.44 ± 0.38 | 13.44 ± 0.51 | - | 7.00 ± 0.00 | 14.00 ± 0.00 | 11.00 ± 0.00 |
| *Saccharomyces cerevisiae* | - | - | - | - | - | - | - | 10.00 ± 0.00 | - |
| *Schizosaccharomyces pombe* | - | 10.18 ± 0.13 | 8.75 ± 0.58 | 17.00 ± 1.00 | 17.11 ± 0.19 | - | 7.00 ± 1.00 | 10.00 ± 0.00 | 7.00 ± 0.00 |
| *Zygosaccharomyces rouxii* | - | - | 7.97 ± 0.35 | 7.89 ± 0.69 | - | - | - | 14.33 ± 1.15 | - |
| **เชื้อแบคทีเรีย** | | | | | | | | | |
| *Acetobacter aceti* | 6.87 ± 0.38 | - | 7.00 ± 0.00 | - | - | - | 9.61 ± 0.10 | 9.00 ± 0.00 | - |
| *Lactobacillus casei* | - | - | - | - | - | - | - | 10.00 ± 0.00 | - |
| *Lactobacillus plantarum* | - | 9.61 ± 0.09 | - | - | - | - | - | 9.00 ± 0.00 | 14.00 ± 0.00 |
| *Leuconostoc mesenteroides* | - | 15.50 ± 0.17 | - | - | 10.56 ± 0.19 | 10.50 ± 0.00 | - | 8.00 ± 0.00 | 18.00 ± 0.00 |

[a]ค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ; [b]ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส < 6 มม.)

หมายเหตุ : สารสกัดทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/ml ยาปฏิชีวนะ Amphotericin B ใช้ที่ความเข้มข้น 2.5 mg/ml และ Penicillin G ใช้ที่ความเข้มข้น 100 U/ml

**4.1.2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)**

จากผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์จำนวน 12 ชนิดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธี Agar dilution (ตารางที่ 4.2) พบว่าสารสกัดหยาบจากว่านน้ำ ชุมเห็ดเทศ หญ้าฝรั่น บัวหลวงแดงและมะขามป้อมสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ได้มากชนิดกว่าสารสกัดหยาบจากบัวบก อัญชัน หัสคุณเทศ เปราะหอม ลำดวน ผักแพว รากระย่อม สมอไทย สีเสียดเทศและขิง สารสกัดจากว่านน้ำมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้กว้างที่สุด ส่วนสารสกัดหยาบจากดอกบัวสัตตบงกช พุมเรียง สมุลแว้ง แปะก๊วย หญ้าหนวดแมว รากหญ้าคา กระชายดำ กล้วยไม้ เทียนข้าวเปลือก ใบพิลังกาสาและลูกพิลังกาสายับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้ไม่ดี (ค่า MIC มากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

เชื้อยีสต์ที่มีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสมุนไพรไทยส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ในการทดสอบมากที่สุดคือ *R. glutinis* และ *S. pombe* ซึ่งสามารถถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรได้หลายชนิดมากที่สุด (สารสกัด 5 ชนิด) โดยเชื้อ *R. glutinis* ถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากบัวหลวงแดงได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 0.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากว่านน้ำ ชุมเห็ดเทศและมะขามป้อม (ค่า MIC เท่ากับ 1.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และผักแพวสามารถยับยั้งเชื้อนี้ได้ค่อนข้างดีเช่นกัน (ค่า MIC เท่ากับ 7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนเชื้อ *S. pombe* ถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากว่านน้ำ ชุมเห็ดเทศ หัสคุณเทศ เปราะหอมและบัวหลวงแดงได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 0.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือมะขามป้อม (ค่า MIC เท่ากับ 1.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และสารสกัดหยาบจากสีเสียดเทศและลำดวนสามารถยับยั้งเชื้อนี้ได้ค่อนข้างดี (ค่า MIC เท่ากับ 5.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และเชื้อยีสต์ที่มีความไวต่อการถูกยับยั้งรองลงมาคือ *H. uvarum* และ *Z. rouxii* ซึ่งถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากหญ้าฝรั่นและว่านน้ำได้ค่อนข้างดี ส่วน *C. lipolytica*, *D. hansenii*, *S. cerevisiae* และ *P. membranaefaciens* ค่อนข้างต้านทานต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากสมุนไพรส่วนใหญ่ (ค่า MIC เท่ากับ 10 ถึงมากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับผลการตรวจสอบของยาเพนนิซิลินจีและยาแอมโฟเทอริซินบีที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกพบว่ายาแอมโฟเทอริซินบีให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้ดี (ค่า MIC อยู่ในช่วง 0.005 ถึง 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งเชื้อ *Debaryomyces hansenii*, *Hanseniaspora uvarum* และ *Zygosaccharomyces rouxii* ถูกยับยั้งโดยยาแอมโฟเทอริซินบีได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม) และยาเพนนิซิลินจีให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดี (ค่า MIC เท่ากับ 31.25 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) และเชื้อ *A. aceti* ต้านทานต่อการถูกยับยั้งโดยเพนนิซิลินจี (ค่า MIC เท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

ในกรณีของสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย พบว่าเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดที่นำมาทดสอบมีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสมุนไพรไทยต่างกัน สารสกัดหยาบจากหญ้าฝรั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถยับยั้งเชื้อ *A. aceti* ได้มากที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 5.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ชนิดที่นำมาทดสอบต้านทานต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากสมุนไพรไทยส่วนใหญ่ที่ทดสอบ ยกเว้นสารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศและว่านน้ำ โดย *L. casei* ไวต่อการถูกยับยั้งด้วยสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ (ค่า MIC เท่ากับ 2.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) *L. plantarum* ไวต่อการถูกยับยั้งการเจริญโดยสารสกัดจากว่านน้ำ (ค่า MIC เท่ากับ 5.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และ *Leuconostoc mesenteroides* ไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศ (ค่า MIC เท่ากับ 7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สำหรับผลการตรวจสอบของยาเพนนิซิลินจีและยาแอมโฟเทอริซินบีที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกพบว่ายาเพนนิซิลินจี ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดี (ค่า MIC อยู่ในช่วง 31.25 ถึง 250 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) โดย *L. casei, L. plantarum* และ *Leuconostoc mesenteroides* ไวต่อการถูกยับยั้งโดยยาเพนนิซิลินจีมากกว่า *A. aceti* และยาแอมโฟเทอริซินบีให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ไม่ดีนัก (ค่า MIC มากกว่า 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดหยาบของว่านน้ำ (*Acorus calamus*) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และเชื้อแบคทีเรียได้ดี โดยผลงานวิจัยนี้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของนักวิจัยท่านอื่น เช่น Lee (2007) ได้รายงานว่าสารสกัดจากเหง้าของพืชสกุลเดียวกับว่านน้ำ (*Acorus gramineus*) ที่สกัดด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้น 2000 มิลลิกรัมต่อลิตร มีกิจกรรมการต้านการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora infestars* และ *Rhizoctonia solani* ได้ดี นอกจากนี้ Grosvenor และคณะ (1995) ยังได้รายงานว่าสารสกัดหยาบจากว่านน้ำสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้ การที่สารสกัดจากว่านน้ำนี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี คาดว่าเป็นผลมาจากการที่มีสารสำคัญที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เป็นส่วนประกอบในว่านน้ำ ดังการรายงานของ Lee (2007) ซึ่งได้แยกและจำแนกชนิดของสารที่เป็นส่วนประกอบในสารสกัดจากเหง้าของพืชสกุลเดียวกับว่านน้ำ (*Acorus calamus*, *Acorus gramineus*) พบว่าประกอบด้วยสาร α-amorpene (1.33%), α-asarone (17.70%), cis-asarone (7.29%), asaronaldehyde (5.35%), borneol (2.18%), δ-cadinene (2.56%), calarene (1.64%), camphene (0.73%), camphor (3.63%), elemicin (1.98%), euasarone (12.70%), α-gurjunene (1.21%), 1, 2, 4 methenoazulene (0.82%), methyleugenol (34.18%), methyl isoeugenol (4.90%) และ α-muurolene (0.76%) และมีรายงานว่าสาร β-asarone ที่เป็นส่วนประกอบในว่านน้ำสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้ ดังรายงานการวิจัยของ Rajput และ Karuppayil (2013) ซึ่งได้พบว่าสารสกัดจากเหง้าของว่านน้ำในส่วนที่สกัดด้วยเฮกเซน และสาร β-asarone ที่แยกได้จากส่วนที่สกัดด้วยเฮกเซนนี้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* ได้ซึ่งมีค่า MIC เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และแบคทีเรียได้ดี ผลการทดลองนี้ได้สอดคล้องกับผลการศึกษาของนักวิจัยหลายท่าน เช่น จากการรายงานของ Somchit และคณะ (2003) ได้ทำการศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบและลำต้นของชุมเห็ดเทศที่ทำการสกัดด้วยเมทานอลและน้ำ พบว่าสารสกัดจากลำต้นของชุมเห็ดเทศที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* ได้ดีโดยความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ในการทดสอบคือ 15 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร มีโซนในการยับยั้งการเจริญเท่ากับ 10.2 และ12.3 มิลลิเมตรตามลำดับ สำหรับการรายงานของ Ibrahim และ Osman (1995) ได้ทำการศึกษากิจกรรมการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศจากประเทศมาเลเซีย พบว่าสารสกัดจากพืชชนิดนี้มีกิจกรรมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ dermatophytic fungi ได้หลายชนิดได้แก่เชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*, *Trichophyton mentagrophytes* var. *mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum* โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญ (MIC) ของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่ค่า MIC ในการยับยั้งการเจริญของ *Microsporum canis* เท่ากับ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนอกจากนี้สารสกัดจากชุมเห็ดเทศยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Khan และคณะ (2001) โดยได้ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบ ดอก ลำต้นและรากของชุมเห็ดเทศ โดยทำการเปรียบเทียบตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด พบว่าสารสกัดจากดอกชุมเห็ดเทศที่สกัดด้วย dichloromethane มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด เชื้อ *Bacillus coagulans*, *Lactobacillus casei*, *Staphylococcus epidermidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Salmonella typhi* และ *Trichomonas vaginalis* ถูกยับยั้งได้ดีที่สุดซึ่งมีโซนในการยับยั้งเท่ากับ 20 มิลลิเมตร และจากการรายงานของ Pesewu และคณะ (2008) พบว่าสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศสามารถยับยั้งการเจริญของ *Streptococcus pyogenes* UELSHB 333, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Proteus vulgaris* UELSHB 241 ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 50, 50 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ การที่สารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์สูงอาจเป็นเพราะสารสำคัญที่มีอยู่ในใบชุมเห็ดเทศที่มีสมบัติช่วยในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ จากการรายงานของ Rahman และคณะ (2008) พบว่าสารประกอบฟลาโวนอยด์จากใบชุมเห็ดเทศ ได้แก่ 2,5,7,4′-tetrehydroxy isoflavone และ 3,5,7,4′- tetrehydroxy isoflavone สามารถยับยั้งเชื้อราได้หลายชนิด โดยเฉพาะเชื้อราที่ก่อโรคในคน สัตว์และพืช

ในการทดลองสารสกัดหยาบจากบัวหลวงแดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและยีสต์ได้ดี ซึ่งจากผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของนักวิจัยหลายท่าน เช่น จากการรายงานของ Yisa (2009) ได้พบว่าสารสกัดจากบัวหลวงแดงที่สกัดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus* species โดยมีโซนในการยับยั้งการเจริญเท่ากับ 16.7, 14.3 และ 15.6 มิลลิเมตรตามลำดับ และมีค่า MIC เท่ากับร้อยละ 60,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

50 และ 60 ปริมาตรต่อปริมาตรตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดจากบัวหลวงแดงยังสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคชนิดอื่นๆได้เช่นกัน เช่น จากการรายงานของ Saadabi และ Moglad (2012) พบว่าสารสกัดจากบัวหลวงแดงทั้งต้นที่ทำการสกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ดีโดยมีโซนในการยับยั้งการเจริญอยู่ในช่วง 20-22 มิลลิเมตร นอกจากนี้ Akinjogunla และคณะ (2009) ยังได้พบว่าสารสกัดจากใบบัวหลวงแดงมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) และ Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) ที่แยกได้จากตัวอย่างปัสสาวะและบาดแผล โดยสารสกัดจากใบบัวหลวงแดงที่ทำการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นระหว่าง 5-80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีโซนในการยับยั้งการเจริญของ MRSA อยู่ในช่วง 8-26 มิลลิเมตร และสำหรับการยับยั้งการเจริญของ VRSA มีโซนในการยับยั้งการเจริญเท่ากับ 8-27 มิลลิเมตร และมีค่า MIC อยู่ในช่วง 5-15 และ 10-30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสำหรับ MRSA และ VRSA ตามลำดับ จากการที่สารสกัดจากบัวหลวงแดงมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีอาจเพราะมีสารสำคัญที่ช่วยส่งเสริมกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ โดยมีการรายงานของ Akinjogunla และคณะ (2010) พบว่าในสารสกัดของใบบัวหลวงแดงมีสารสำคัญ ได้แก่ แทนนิน ฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ แอนทราควิโนน ซาโปนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (cardiac glycosides) และฟีนอลิก

จากการศึกษาผลปรากฏว่าสารสกัดหยาบจากหญ้าฝรั่นมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และแบคทีเรียได้ดี ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของนักวิจัยหลายท่าน เช่น จากการรายงานของ Sengul และคณะ (2009) พบว่าสารสกัดจากหญ้าฝรั่นที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดที่ทำการสกัดด้วยน้ำ โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans* ATCC 1223, *Saccharomyces boulardii* 6128, *Saccharomyces cereviciae* 6541 และ *Cladosporium herbarum* ได้ โดยมีโซนในการยับยั้งการเจริญเท่ากับ 2, 4, 5 และ 9 มิลลิเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดจากหญ้าฝรั่นยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ดีเช่นกัน โดยสามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* 6230, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 และ *Escherichia coli* 1328 ได้ดีซึ่งมีโซนในการยับยั้งในการเจริญเท่ากับ 5, 6, 7 และ 10 มิลลิเมตรตามลำดับ นอกจากนี้ Raj และคณะ (2012) ได้ศึกษาสมบัติการต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากหญ้าฝรั่นพบว่าสารสกัดจากหญ้าฝรั่นที่ทำการสกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดจากหญ้าฝรั่นที่สกัดด้วย diethyl ether และ ethyl acetate โดยเฉพาะสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทุกชนิดที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli* และ *Shigella sonnei* จากการที่หญ้าฝรั่นมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์สูงอาจเป็นเพราะสารสำคัญที่มีอยู่ในหญ้าฝรั่นที่มีสมบัติช่วยใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ห้ามมิให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ มีรายงานว่าสารซาฟรานาล (safranal) และโครซิน (crocin) ซึ่งเป็นสารประกอบหลักในหญ้าฝรั่นสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้หลายชนิด แบคทีเรียที่ไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารซาฟรานาลมากที่สุดคือ *Salmonella* Typhimurium strain LT2 ซึ่งมีค่า $MIC_{90}$ (ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถลดค่าความขุ่น ($A_{620}$) ลงร้อยละ 90) เท่ากับ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนแบคทีเรียที่ไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารโครซินมากที่สุด คือ *S. aureus* และ *S. Typhimurium* strain LT2 (Pintado และคณะ, 2011)

นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบจากมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* Linn.) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้โดยเฉพาะ *Schizosaccharomyces pombe* ซึ่งไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากมะขามป้อมมากที่สุด นักวิจัยท่านอื่นได้รายงานถึงสมบัติการต้านการเจริญของยีสต์และเชื้อราไว้ เช่น ผลงานวิจัยของ Liu และคณะ (2009) ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบของมะขามป้อมที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ ราและแบคทีเรีย เช่น *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Aspergillus niger* และ *Staphylococcus aureus* ได้ซึ่งมีค่า MIC อยู่ในช่วง 2.5-3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับการรายงานของ Mayachiew และ Devahastin (2008) ซึ่งได้ค้นพบว่าสารสกัดหยาบของมะขามป้อมมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 13.97 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC เท่ากับ 13.97 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สมบัติการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากมะขามป้อมอาจเป็นผลมาจากการที่มะขามป้อมประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิดได้แก่ Kaempferol 3-β-D-glucopyranoside เคมเฟอรอล (Kaempferol) ควอซิทิน (quercetin) ไอโซคอริลาจิน (isocorilagin) และเจอรานิอิน (geraniin) อีกทั้งสารประกอบระเหยได้ เช่น เบต้า-บอร์โบนีน (β-bourbonene) เทอราโคเซน (teracosane) กรดปาล์มิติก (palmitic acid) ไทมอล (thymol) เบต้า-คาร์โยฟิลลีน (β-caryophyllene) และอัลดีเคน (undecane) (Liu และคณะ, 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.2** สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่ความเข้มข้นต่ำสุดด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)

| **ชนิดของจุลินทรีย์** | **ค่า minimum inhibitory concentration (mg/ml)** | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ว่านน้ำ | ชุมเห็ดเทศ | บัวบก | หญ้าฝรั่น | บัวหลวงแดง | มะขามป้อม | ผักแพว | รากระย่อม | สมอไทย | สีเสียดเทศ | ขิง | Amphotericin B | Penicillin G[a] |
| เชื้อยีสต์ | | | | | | | | | | | | | |
| *Candida lipolytica* | 1.28 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | 0.04 | > 4000 |
| *Debaryomyces hansenii* | 5.12 | 10 | >10 | 10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | 0.005 | > 4000 |
| *Hanseniaspora uvarum* | 7 | 10 | >10 | 2.56 | 10 | 10 | >10 | >10 | >10 | 10 | >10 | 0.005 | > 4000 |
| *Pichia membranaefaciens* | 0.64 | >10 | >10 | 10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | 0.01 | > 4000 |
| *Rhodotorula glutinis* | 1.28 | 1.28 | >10 | >10 | 0.64 | 1.28 | 7 | >10 | 10 | >10 | >10 | 0.04 | > 4000 |
| *Saccharomyces cerevisiae* | 0.64 | >10 | >10 | >10 | 10 | 10 | 10 | 10 | >10 | >10 | >10 | 0.02 | > 4000 |
| *Schizosaccharomyces pombe* | 0.64 | 0.64 | >10 | >10 | 0.64 | 1.28 | >10 | >10 | >10 | 5.12 | 10 | 0.04 | > 4000 |
| *Zygosaccharomyces rouxii* | 5.12 | >10 | >10 | 7 | 10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | 0.005 | > 4000 |
| เชื้อแบคทีเรีย | | | | | | | | | | | | | |
| *Acetobacter aceti* | >10 | >10 | >10 | 5.12 | 10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >0.1 | 250 |
| *Lactobacillus casei* | 10 | 2.56 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | 10 | >10 | >10 | >10 | >0.1 | 31.25 |
| *Lactobacillus plantarum* | 5.12 | >10 | 10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >0.1 | 31.25 |
| *Leuconostoc mesenteroides* | >10 | 7 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >10 | >0.1 | 31.25 |

[a]ความเข้มข้นของ Penicillin G มีหน่วยเป็นยูนิตต่อมิลลิลิตร

**4.2 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากสมุนไพรไทย**

**4.2.1 สมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส**

จากการศึกษาสมบัติการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 34 ชนิดซึ่งมีสาร Acetylthiocholine iodide (ATCI) เป็นสารตั้งต้น ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับน้ำแล้วถูกไฮโดรไลซ์เกิดเป็นสาร thiocholine ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับสาร 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB) แล้วเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ 5-thio-nitrobenzoic acid ที่มีสีเหลือง โดยเทียบผลการทดลองที่ได้กับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (Positive control) คือยากาแลนทามีน พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้สูงได้แก่ กระชายดำ ดอกบัวสัตตบงกช รากระย่อม และบัวบก (ตารางที่ 4.3) โดยสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด (ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์ชนิดนี้สูงซึ่งมีค่าร้อยละของการยับยั้ง (มากกว่าร้อยละ 70) เท่ากับ 89.35, 75.25, 74.50 และ 72.15 ส่วนสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ค่อนข้างสูง คือ สมุลแว้ง (ร้อยละ 61.41) และชนิดที่มีกิจกรรมการยับยั้งปานกลาง (มากกว่าร้อยละ 40) ได้แก่ พุมเรียง ชุมเห็ดเทศ ถั่วพู มะขามป้อม เปราะหอม ลูกพิลังกาสา บัวหลวงแดงและสีเสียดเทศซึ่งกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อยู่ในช่วงร้อยละ 53.85 ถึง 43.18 ส่วนสารสกัดจากสมุนไพรไทยชนิดอื่นๆมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้เช่นกันแต่ค่อนข้างต่ำ สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์คือกาแลนทามีนพบว่ามีกิจกรรมในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสเท่ากับร้อยละ 78.54 โดยสารสกัดจากกระชายดำมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ดีกว่ากาแลนทามีนที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก

**4.2.2 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ**

**4.2.2.1 ความสามารถในการกำจัด 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical**

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสมุนไพรไทย โดยทำการศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 34 ชนิดด้วยวิธีการหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลของ DPPH เทียบกับสารมาตรฐานคือแอลฟา-โทโคเฟอรอล ซึ่งจะแสดงในรูปของค่า $EC_{50}$ ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัดที่จำเป็นต้องใช้ในการลดความเข้มข้นของอนุมูล DPPH เริ่มต้นไปร้อยละ 50 นั่นหมายถึงถ้าค่า $EC_{50}$ ยิ่งต่ำแสดงว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดนั้นยิ่งสูง จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ดีมากได้แก่ สมอไทย สมุลแว้ง สีเสียดเทศและมะขามป้อมซึ่งมีค่า $EC_{50}$ อยู่ในช่วง 387.23 ถึง 490.47 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH (ตารางที่ 4.3) ซึ่งใกล้เคียงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของวิตามินอี (479.57) ส่วนสารสกัดที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ค่อนข้างสูงได้แก่ ลำดวน ดอกบัวสัตตบงกช ผักแพว ลูกพิลังกาสา บัวหลวงแดง ใบพิลังกาสา ขิง เทียนข้าวเปลือก บัวบกและพุมเรียง ซึ่งมีค่า $EC_{50}$ อยู่ในช่วง 895.29 ถึง 1,935.39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH และสารสกัดที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ระดับปานกลางได้แก่ หญ้าหนวดแมว หัสคุณเทศ มะลิ ชุมเห็ดเทศ ว่านกลีบแรด รากระย่อม เปราะหอม เถาวัลย์เปรียงและแปะก๊วย ($EC_{50}$ เท่ากับ 2,215.89 ถึง 6,124.09 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH) และสารสกัดที่สามารถกำจัดอนุมูล DPPH ได้ค่อนข้างต่ำ ได้แก่ กระชายดำ ถั่วพู โกฐเขมา ไพล กล้วยไม้ โกฐกระดูก รากหญ้าคา อัญชัน ว่านร่อนทอง ว่านน้ำและหญ้าฝรั่น ซึ่งมีค่า $EC_{50}$ อยู่ในช่วง 10,005.01 ถึง 62,125.45 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH

**4.2.2.2 Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay**

จากการศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสมุนไพรไทย โดยทำการศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 34 ชนิดด้วยวิธี FRAP method ซึ่งเป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอริก ($Fe^{3+}$-TPTZ) ให้เปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอรัส ($Fe^{2+}$-TPTZ) ซึ่งมีสีน้ำเงิน ซึ่งเกิดจากอะตอมของเหล็กในสาร $Fe^{3+}$-TPTZ จะถูกรีดิวซ์ให้ได้เป็น $Fe^{2+}$-TPTZ เทียบกับสารมาตรฐานคือแอลฟา-โทโคเฟอรอล นั่นหมายถึงถ้าค่าความสามารถในการรีดิวซ์ยิ่งสูง แสดงว่ากิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดก็จะยิ่งมากเช่นกัน จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ได้ดีที่สุด ได้แก่ สีเสียดเทศ มะขามป้อม สมุลแว้งและสมอไทย ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์อยู่ระหว่าง 774.41 ถึง 656.19 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด (ตารางที่ 4.3) ซึ่งสอดคล้องกับกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH สารสกัดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ค่อนข้างสูงรองลงมา ได้แก่ บัวหลวงแดง (636.83 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือหญ้าหนวดแมว ขิง ผักแพว ลำดวน ใบพิลังกาสา พุมเรียงและดอกบัวสัตตบงกช ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์อยู่ระหว่าง 365.49 ถึง 189.58 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด และสารสกัดที่มีความสามารถในการรีดิวซ์ค่อนข้างต่ำ ได้แก่ ลูกพิลังกาสา เทียนข้าวเปลือก รากระย่อม หัสคุณเทศ กระชายดำ ว่านน้ำ ชุมเห็ดเทศ ว่านกลีบแรด ไพล บัวบก มะลิ แปะก๊วย โกฐกระดูก กล้วยไม้ เถาวัลย์เปรียง โกฐเขมา รากหญ้าคา เปราะหอม ถั่วพู ว่านร่อนทอง หญ้าฝรั่นและอัญชัน ซึ่งมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์อยู่ระหว่าง 163.13 ถึง 8.67 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกคือแอลฟา-โทโคเฟอรอลซึ่งเป็นสารที่มีสมบัติในการรีดิวซ์ได้สูง โดยมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 713.77 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด แต่สารมาตรฐานแอลฟา-โทโคเฟอรอลมีกิจกรรมการรีดิวซ์เป็นรองสารสกัดจากสีเสียดเทศและมะขามป้อมที่มีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 774.41 และ 740.28 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟลาโว-นอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากสมุนไพรไทย**

**4.2.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด**

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 34 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ได้แก่ สีเสียดเทศ (771.59 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือสมุลแว้ง มะขามป้อมและบัวหลวงแดง ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 501.25, 405.06 และ 312.42 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) ส่วนสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างมากรองลงมา ได้แก่ สมอไทย ลำดวนและผักแพวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 163.58, 117.22 และ 108.33 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากสมุนไพรชนิดอื่นๆพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเช่นกันแต่พบในปริมาณค่อนข้างน้อย สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกคือแอลฟา-โทโคเฟอรอลซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 136.95 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด โดยจะพบว่าสารสกัดจากสีเสียดเทศ สมุลแว้ง มะขามป้อม บัวหลวงแดง และสมอไทยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสารมาตรฐานแอลฟา-โทโคเฟอรอล

**4.2.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด**

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 34 ชนิด พบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด ได้แก่ สีเสียดเทศ (2,292.43 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือสมุลแว้ง ลำดวน ชุมเห็ดเทศ หัสคุณเทศและผักแพว ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 1,317.61, 323.48, 242.41, 225.70 และ 220.87 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) ส่วนสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างมากได้แก่ พุมเรียง เทียนข้าวเปลือก บัวบก ขิง บัวหลวงแดง มะขามป้อม ใบพิลังกาสาและดอกบัวสัตตบงกชมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 196.70, 168.98, 151.85, 147.75, 125.16, 119.00, 115.83 และ 114.41 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากสมุนไพรชนิดอื่นๆพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเช่นกันแต่พบในปริมาณค่อนข้างน้อย สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวกคือแอลฟา-โทโคเฟอรอลซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 1,015.84 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด โดยจะพบว่าสารสกัดจากสีเสียดเทศ และสมุลแว้งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าสารมาตรฐานแอลฟา-โทโคเฟอรอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.3** สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

| ชื่อวิทยาศาสตร์ | ชื่อไทย | AChE inhibition (%) ± SD | | Antioxidant activity | | | Total Phenolic content (mg GAE/g extract) ± SD | Total Flavonoid content (mg QE/g extract) ± SD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | DPPH assay | | FRAP assay | | |
| | | 1 mg/ml | 0.1 mg/ml | $EC_{50}$ (µg extract/ mg DPPH) ± SD | AE ($\times 10^{-3}$) ± SD | (mmol Fe(II)/ g extract) ± SD | | |
| *Acorus calamus* Linn. | ว่านน้ำ | 23.17 ± 0.72 | 17.55 ± 0.96 | 42,218.57 ± 0.57 | 0.02 ± 0.61 | 123.07 ± 2.42 | 20.90 ± 2.62 | 37.45 ± 0.24 |
| *Angiopteris evecta* Hoffm. | ว่านกลีบแรด | 26.12 ± 1.47 | 18.95 ± 1.88 | 4,581.61 ± 0.59 | 0.22 ± 0.63 | 96.44 ± 2.36 | 42.03 ± 0.45 | 93.29 ± 0.36 |
| *Ardisia polycephala* Wall. | พิลังกาสา (ผล) | 46.26 ± 0.46 | 22.51 ± 2.09 | 1,501.64 ± 1.63 | 0.67 ± 1.61 | 163.13 ± 1.71 | 38.22 ± 1.77 | 72.69 ± 0.35 |
| *Ardisia polycephala* Wall. | พิลังกาสา (ใบ) | 35.37 ± 1.12 | 32.54 ± 0.48 | 1,680.61 ± 1.09 | 0.60 ± 1.01 | 224.18 ± 2.69 | 82.29 ± 2.60 | 115.83 ± 0.94 |
| *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. | โกฐเขมา | 27.70 ± 0.16 | 22.66 ± 2.37 | 10,361.36 ± 1.01 | 0.10 ± 1.04 | 51.95 ± 2.81 | 29.83 ± 2.46 | 32.92 ± 0.25 |
| *Cassia alata* (L.) Roxb. | ชุมเห็ดเทศ | 49.92 ± 1.85 | 25.43 ± 0.48 | 3,934.82 ± 0.52 | 0.25 ± 0.51 | 109.27 ± 2.75 | 80.40 ± 1.79 | 242.41 ± 0.81 |
| *Centella asiatica* (L.) Urban. | บัวบก | 72.15 ± 2.08 | 34.65 ± 0.48 | 1,926.68 ± 0.22 | 0.52 ± 0.21 | 76.04 ± 2.83 | 46.08 ± 0.85 | 151.85 ± 0.61 |
| *Cinnamomum bejolghota* (Ham.) Sweet | สมุลแว้ง | 61.41 ± 2.07 | 15.50 ± 2.67 | 457.82 ± 0.63 | 2.18 ± 0.67 | 657.69 ± 1.81 | 501.25 ± 2.59 | 1,317.61 ± 0.66 |
| *Clitoria ternatea* L. | อัญชัน | 25.55 ± 0.72 | 23.79 ± 1.85 | 29,874.11 ± 1.78 | 0.03 ± 1.67 | 8.67 ± 2.90 | 24.91 ± 2.74 | 24.80 ± 0.24 |
| *Crocus sativus* L. | หญ้าฝรั่น | 29.21 ± 1.94 | 21.64 ± 0.97 | 62,125.45 ± 1.05 | 0.02 ± 1.07 | 14.06 ± 1.69 | 8.14 ± 0.25 | 74.41 ± 0.34 |
| *Dendrobium sonia* | กล้วยไม้ | 22.32 ± 0.48 | 3.90 ± 1.89 | 18,549.01 ± 1.63 | 0.05 ± 1.62 | 55.12 ± 1.28 | 27.13 ± 1.28 | 41.55 ± 0.14 |
| *Derris scandens* Benth. | เถาวัลย์เปรียง | 11.11 ± 0.43 | 6.82 ± 0.73 | 5,456.02 ± 2.25 | 0.18 ± 2.21 | 52.49 ± 2.23 | 85.23 ± 1.23 | 30.97 ± 0.20 |
| *Foeniculum vulgare* Mill. | เทียนข้าวเปลือก | 30.51 ± 1.44 | 25.56 ± 1.54 | 1,731.79 ± 0.96 | 0.58 ± 0.98 | 156.03 ± 2.06 | 75.28 ± 3.13 | 168.98 ± 0.51 |
| *Globba malaccensis* Ridl. | ว่านร่อนทอง | 22.10 ± 0.18 | 3.92 ± 0.92 | 36,564.12 ± 0.46 | 0.03 ± 0.54 | 14.65 ± 2.82 | 4.64 ± 0.42 | 25.38 ± 0.31 |
| *Ginkgo biloba* L. | แปะก๊วย | 32.73 ± 1.35 | 17.68 ± 1.26 | 6,124.09 ± 0.91 | 0.16 ± 0.92 | 64.86 ± 2.83 | 49.63 ± 2.35 | 50.32 ± 0.17 |
| *Holarrhena curtisii* King & Gamble. | หัสคุณเทศ | 35.98 ± 5.47 | 25.08 ± 1.50 | 2,731.75 ± 0.33 | 0.37 ± 0.31 | 128.30 ± 1.91 | 75.78 ± 2.13 | 225.70 ± 0.73 |
| *Imperata cylindrica* Beauv. | รากหญ้าคา | 25.30 ± 2.15 | 19.87 ± 0.92 | 19,913.66 ± 1.10 | 0.05 ± 1.11 | 45.10 ± 2.39 | 22.66 ± 2.54 | 5.53 ± 0.16 |
| *Jasminum sambac* (L.) Aiton. | มะลิ | 29.60 ± 1.46 | 7.84 ± 2.47 | 3,736.93 ± 1.55 | 0.27 ± 1.64 | 68.51 ± 2.08 | 57.26 ± 3.40 | 75.81 ± 0.62 |

**หมายเหตุ :** Galanthamine เป็นชุดควบคุมเชิงบวกสำหรับกิจกรรม AChE inhibition และ α – Tocopherol เป็นชุดควบคุมเชิงบวกสำหรับกิจกรรมที่เหลืออื่นๆ

**ตารางที่ 4.3** สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย (ต่อ)

| ชื่อวิทยาศาสตร์ | ชื่อไทย | AChE inhibition (%) ± SD | | Antioxidant activity | | | Total Phenolic content (mg GAE/g extract) ± SD | Total Flavonoid content (mg QE/g extract) ± SD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 mg/ml | 0.1 mg/ml | DPPH assay | | FRAP assay | | |
| | | | | $EC_{50}$ (µg extract/ mg DPPH) ± SD | AE ($\times10^{-3}$) ± SD | (mmol Fe(II)/ g extract) ± SD | | |
| *Kaempferia galanga* Linn. | เปราะหอม | 46.77 ± 2.04 | 38.33 ± 2.88 | 5,245.92 ± 2.31 | 0.19 ± 2.41 | 37.14 ± 1.87 | 5.30 ± 0.90 | 9.87 ± 0.02 |
| *Kaempferia parviflora* Wall. Ex Baker. | กระชายดำ | 89.35 ± 0.49 | 49.92 ± 2.85 | 10,005.01 ± 1.20 | 0.10 ± 1.21 | 126.47 ± 2.72 | 24.62 ± 2.79 | 17.20 ± 0.18 |
| *Lepisanthes fruticosa* (Roxb.) Leenh. | พุมเรียง | 53.85 ± 0.14 | 23.00 ± 2.89 | 1,935.39 ± 0.01 | 0.52 ± 0.04 | 214.83 ± 2.56 | 79.50 ± 3.02 | 196.70 ± 0.81 |
| *Melodorum fruticosum* Lour. | ลำดวน | 28.96 ± 1.61 | 24.70 ± 1.44 | 895.29 ± 2.38 | 1.12 ± 2.31 | 244.37 ± 2.96 | 117.22 ± 1.87 | 323.48 ± 0.31 |
| *Nelumbo nucifera* Gaertn. | บัวสัตตบงกช | 75.25 ± 2.60 | 43.79 ± 2.41 | 1,109.99 ± 0.57 | 0.90 ± 0.60 | 189.58 ± 2.87 | 93.01 ± 3.04 | 114.41 ± 0.31 |
| *Nymphaea lotus* Linn. | บัวหลวงแดง | 45.58 ± 1.41 | 30.16 ± 2.33 | 1,591.40 ± 0.80 | 0.63 ± 0.81 | 636.83 ± 2.64 | 312.42 ± 3.38 | 125.16 ± 0.17 |
| *Orthosiphon aristatus* (Blume) Mig. | หญ้าหนวดแมว | 21.12 ± 2.37 | 13.06 ± 1.46 | 2,215.89 ± 1.56 | 0.45 ± 1.64 | 365.49 ± 2.60 | 94.12 ± 2.97 | 90.72 ± 0.19 |
| *Phyllanthus emblica* L. | มะขามป้อม | 47.97 ± 0.35 | 21.47 ± 1.74 | 490.47 ± 0.42 | 2.04 ± 0.41 | 740.28 ± 2.12 | 405.06 ± 3.22 | 119.00 ± 0.15 |
| *Polygonum odoratum* Lour. | ผักแพว | 22.42 ± 0.13 | 19.76 ± 1.68 | 1,223.80 ± 2.71 | 0.82 ± 2.75 | 262.00 ± 1.56 | 108.33 ± 0.95 | 220.87 ± 0.88 |
| *Psophocarpus tetragonolobus* Linn. | ถั่วพู | 49.51 ± 0.45 | 18.52 ± 1.05 | 10,315.36 ± 1.27 | 0.10 ± 1.21 | 20.74 ± 2.36 | 17.50 ± 3.05 | 64.79 ± 0.24 |
| *Rauvolfia serpentina* (L.) Benth. | ราก ระย่อม | 74.50 ± 0.33 | 40.47 ± 0.79 | 4,969.19 ± 0.65 | 0.20 ± 0.69 | 149.54 ± 1.62 | 75.78 ± 1.35 | 49.90 ± 0.32 |
| *Saussurea lappa* Clark | โกฐกระดูก | 23.02 ± 1.89 | 3.58 ± 1.44 | 19,522.59 ± 0.53 | 0.05 ± 0.57 | 64.00 ± 1.69 | 24.71 ± 1.61 | 61.64 ± 0.54 |
| *Terminalia chebula* Retz. | สมอไทย | 27.68 ± 2.01 | 22.15 ± 1.44 | 387.23 ± 0.83 | 2.58 ± 0.81 | 656.19 ± 2.11 | 163.58 ± 2.45 | 64.79 ± 0.35 |
| *Uncaria gambir* (Hunter) Roxb. | สีเสียดเทศ | 43.18 ± 1.63 | 36.15 ± 0.92 | 478.71 ± 0.51 | 2.09 ± 0.61 | 774.41 ± 1.86 | 771.59 ± 2.21 | 2,292.43 ± 2.00 |
| *Zingiber cassumunar* Roxb. | ไพล | 34.48 ± 0.23 | 25.73 ± 0.92 | 11,649.64 ± 0.87 | 0.09 ± 0.82 | 87.01 ± 1.61 | 20.53 ± 1.90 | 45.97 ± 0.32 |
| *Zingiber officinale* Roscoe. | ขิง | 30.64 ± 0.49 | 12.84 ± 0.40 | 1,715.44 ± 1.15 | 0.58 ± 1.65 | 266.59 ± 2.82 | 74.34 ± 2.37 | 147.75 ± 0.51 |
| Galanthamine | กาแลนทามีน | 78.54 ± 1.33 | 47.71 ± 1.70 | - | - | - | - | - |
| α – Tocopherol | วิตามินอี | - | - | 479.57 ± 0.87 | 2.09 ± 0.81 | 713.77 ± 2.48 | 136.95 ± 1.89 | 1,015.84 ± 4.63 |

**หมายเหตุ :** Galanthamine เป็นชุดควบคุมเชิงบวกสำหรับกิจกรรม AChE inhibition และ α – Tocopherol เป็นชุดควบคุมเชิงบวกสำหรับกิจกรรมที่เหลืออื่นๆ

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดพบว่ามีผลการทดลองที่สอดคล้องกัน โดยสารสกัดจากสีเสียดเทศมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด และรองลงมาคือสารสกัดจากสมุลแว้ง

ในการทดลองนี้กระชายดำมีสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสูงที่สุด ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Tappayuthpijarn และคณะ (2011) ซึ่งได้คัดเลือกสมุนไพรไทยจำนวน 25 ชนิด พบว่าสารสกัดจากเหง้าของกระชายดำที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีกิจกรรมในการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสค่อนข้างสูงเช่นกัน มีการยับยั้งร้อยละ 64.08 การที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นผลมาจากการที่เหง้าของกระชายดำประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (Tewtrakul และคณะ, 2009) ฟีนอลิก ไกลโคไซด์ (phenolic glycosides) และฟลาโวนอล ไกลโคไซด์ (flavonol glycosides) (Azuma และคณะ, 2008)

สารสกัดจากกลีบดอกบัวสัตตบงกชมีสมบัติการต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสูง (การยับยั้งร้อยละ 75.25) อย่างไรก็ตาม Ingkaninan และคณะ (2003) ได้รายงานว่าสารสกัดจากดอกบัวสัตตบงกช (0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มีการยับยั้งเพียงร้อยละ 23.77 ซึ่งเป็นไปได้ที่สารสกัดจากดอกบัวสัตตบงกชอาจช่วยในการปรับปรุงความทรงจำ ดังรายงานการวิจัยของ Yang และคณะ (2008) ซึ่งได้พบว่าสารสกัดจากเหง้าของต้นบัวสัตตบงกชที่สกัดด้วยเมทานอล มีผลในการปรับปรุงหน้าที่ความทรงจำและการสร้างเนื้อเยื่อประสาท (neurogenesis) ใน dentate gyrus ได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ในการทดลองนี้ยังพบว่าสารสกัดจากดอกบัวสัตตบงกชมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง รวมทั้งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดปริมาณมากถึง 114.41 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัดและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดปริมาณสูงถึง 93.01 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งนักวิจัยหลายท่านได้รายงานว่าส่วนต่างๆของสัตตบงกช เช่น เหง้า เมล็ดและเกสรดอกมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นเดียวกัน (Hu และ Skibsted, 2002; Jung และคณะ, 2003; Rai และคณะ, 2006) การที่สารสกัดจากดอกบัวสัตตบงกชมีสมบัติต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสูงอาจเป็นเพราะสารสกัดจากดอกบัวสัตตบงกชประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิด ซึ่งได้มีผู้ที่เคยแยกสารสำคัญได้จากหลายๆส่วนของต้นสัตตบงกช โดยสารกลุ่มที่สำคัญที่พบ ได้แก่ อัลคาลอยด์ สเตอรอยด์ (steroids) ไตรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoids) ฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ (glycosides) และโพลีฟีนอล (polyphenols) (Mukherjee และคณะ, 2008)

สารสกัดจากรากระย่อมมีกิจกรรมในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ค่อนข้างสูงและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระได้ปานกลาง เช่นเดียวกับการรายงานของ Nair และคณะ (2012) ซึ่งได้พบว่าสารสกัดจากใบของระย่อมที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH สูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 93.1 ซึ่งสูงกว่ากิจกรรมการต้านอนุมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DPPH ของ BHT (ร้อยละ 85) และ *Rauvolfia* ชนิดอื่นๆ และสารสกัดจากใบของระย่อม (*Rauvolfia serpentine*) ยังมีสารประกอบฟีนอลิกค่อนข้างสูงที่สุดในบรรดาพืชในสกุล *Rauvolfia* ทั้ง 5 ชนิดที่นำมาวิเคราะห์ โดยพบว่าใบของระย่อมมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 44.91 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัม และสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 20.58 มิลลิกรัมต่อกรัมของควอซิทิน การที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะสมบัติของสารสำคัญที่เป็นส่วนประกอบในระย่อม ได้มีรายงานการค้นพบสารอินโดลอัลคาลอยด์ (indole alkaloids) จากพืชในสกุล *Rauvolfia* (Batista และคณะ, 1996; Hu และคณะ, 2006) พืชสกุลนี้มีความสำคัญในทางการแพทย์ เพราะประกอบด้วย N-containing indole alkaloids ในส่วนของราก Wachsmuth และ Matusch (2002) ได้พบว่าในสารสกัดของรากระย่อมที่สกัดด้วยเมทานอลมีแอนไฮโดรเนียมเบส (anhydronium bases) 5 ชนิดเป็นส่วนประกอบสำคัญ ได้แก่ 3,4,5,6-tetradehydroyohimbine, 3,4,5,6-tetradehydro-(z)-geissoschizol, 3,4,5,6-tetradehydrogeissuschizol, 3,4,5,6-tetradehydrogeissuschizine-17-O-β-D-glucopyranoside และเซอเพนทีน (serpentine) ซึ่งเป็นแอนไฮโดรเนียมเบสที่เป็นที่รู้จักดี

จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากบัวบกมีสมบัติต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสูง พืชสมุนไพรชนิดนี้ได้เคยมีรายงานไว้ก่อนหน้านี้แล้วว่ามีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (Vinutha และคณะ, 2007) กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (Sumazian และคณะ, 2010) และกิจกรรมการต้านการอักเสบ (Somchit และคณะ, 2004) การมีกิจกรรมต่างๆเหล่านี้อาจเป็นผลมาจากการที่ใบบัวบกประกอบด้วยสารสำคัญหลายกลุ่ม ได้แก่ น้ำมันหอมระเหย (ร้อยละ 0.1) อนุพันธ์ของฟลาโวน (flavone derivatives) เซสควิเทอร์พีน (sesquiterpenes) ไตรเทอร์พีนิกสเตอรอยด์ (triterpenic steroids) กรดไตรเทอร์พีนิก (triterpenic acids เช่น asiatic acid, 6-hydroxy asiatic acid และ betulinic acid) และ triterpenic acid sugar esters เช่น asiaticoside, braminoside และอื่นๆ (Brinkhaus และคณะ, 2000) และจากการวิเคราะห์โดย Günther และ Wagner (1996) ได้วิเคราะห์หาส่วนประกอบของยาที่ทำจากบัวบก พบว่าตัวอย่างยาส่วนใหญ่ที่นำมาวิเคราะห์มีปริมาณเอเซียติโคไซด์ (asiaticoside) เฉลี่ยประมาณร้อยละ 0.3 และมีสารมาดิคาสโซไซด์ (madecassoside) ประมาณร้อยละ 1.5-2 และมีปริมาณสารไตรเทอร์พีนทั้งหมด (total triterpene) ร้อยละ 3 บัวบกเป็นพืชที่มีการใช้แล้วในตำรับยาโบราณเพื่อช่วยในการส่งเสริมการทำงานของระบบประสาทและความจำ เอเซียติโคไซด์เป็นสารเทอร์พีนอยด์หลักชนิดหนึ่งที่เป็นส่วนประกอบในบัวบก ซึ่งได้มีการใช้เป็นสารช่วยส่งเสริมการรับรู้ โดยใช้ในการรักษาอาการของโรคสมองเสื่อม (De Souza และคณะ, 1992) ยิ่งไปกว่านั้น Nasir และคณะ (2012) ยังได้รายงานว่ากรดเอเซียติกมีผลช่วยยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส และได้มีหลักฐานสนับสนุนว่าสารสกัดจากใบบัวบกสามารถช่วยปรับปรุงความทรงจำได้ จากการวิจัยของ Rao และคณะ (2005) ซึ่งได้ทดลองให้หนูพันธุ์ Swiss albino (Swiss albino mice) ที่มีอายุ 3 เดือนได้รับสารสกัดจากใบบัวบกที่สกัดด้วยน้ำโดยการฉีดเข้าทางปาก ผลของการที่ให้หนูรับประทานสารสกัดจากใบบัวบกพบว่ามีผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในฮิปโปแคมปัส (hippocampus) ซึ่งก็คือส่วนนูนในพื้นของ interior horn ข้างสมองในส่วนของฮิปโปแคมปัสเป็นศูนย์กลางในการประสานงานที่จำเป็นซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับกฎข้อบังคับของกิจกรรมการวินิจฉัยและการรวมข้อมูลเข้าด้วยกัน (Squire, 1992) ซึ่งสรุปได้ว่าสารสกัดจากใบบัวบกจะช่วยส่งเสริมการทำงานของสมองในหนูที่มีอายุน้อยได้ นอกจากนี้ในการทดลองครั้งนี้ยังพบว่าสารสกัดจากใบบัวบกมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระได้ค่อนข้างสูง และประกอบด้วยปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกค่อนข้างสูงเช่นกัน ซึ่งผลการทดลองในครั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Maisuthisakul และคณะ (2008) ซึ่งได้พบว่าสารสกัดจากใบบัวบกมีค่า AE (antiradical efficiency) ของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (antiradical activity) เท่ากับ 0.7 มิลลิกรัมของ DPPH ต่อไมโครกรัมของสารสกัด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 12.4 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสารสกัด และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 10.6 มิลลิกรัมของรูทีนต่อกรัมน้ำหนักแห้งของสารสกัด

จากการทดลองสารสกัดจากเปราะหอมมีคุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสค่อนข้างดี ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการมีสารประกอบที่สำคัญในเปราะหอม จากการรายงานของ Huang และคณะ (2008) พบว่าสารประกอบออกฤทธิ์ที่มีกลิ่นหอมที่พบในสารสกัดจากเหง้าของเปราะหอมที่วิเคราะห์ด้วย SPME-GC-MS ประกอบด้วย ethyl-trans-*p*-methoxycinnamate, ethyl cinnamate, pentadecane และ 3-carene Chanwitheesuk และคณะ (2005) ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดจากรากของเปราะหอมที่สกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณวิตามินซีร้อยละ 5.37 มิลลิกรัม วิตามินอีร้อยละ 0.0035 มิลลิกรัม สารประกอบแคโรทีนทั้งหมด (total carotenes) ร้อยละ 1.91 มิลลิกรัม (mg%) สารประกอบแซนโทฟิลล์ทั้งหมด (total xanthophylls) ร้อยละ 1.59 มิลลิกรัม สารแทนนิน (tannins) ร้อยละ 4.48 มิลลิกรัม และจากการทดลองของ Surveswaran และคณะ (2007) พบว่าสารสกัดจากเหง้าของเปราะหอมมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์ (ferric reducing antioxidant power) เท่ากับ 0.87 ไมโครโมลโทรล็อกซ์ต่อกรัมของน้ำหนักแห้งและมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 0.41 กรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาถึงชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในเปราะหอมด้วยวิธี HPLC-DAD ทำให้ทราบถึงชนิดของสารประกอบหลักที่พบในเปราะหอมได้แก่ น้ำมันที่ระเหยได้ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิก (phenolic volatile oils) ฟลาโวนอล (flavonols เช่น kaempferol) และกรดฟีนอลิก (เช่น hydroxybenzoic acids) นอกจากนี้ Othman และคณะ (2006) ได้ทำการจำแนกชนิดของสารประกอบในสารสกัดจากเหง้าของเปราะหอมแห้ง (*Kaempferia galangal* L.) ซึ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) ด้วยวิธี GC-MS ทั้งหมด 4 fractions พบว่ามีสารประกอบหลายชนิดแต่สารประกอบที่พบในปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากที่สุดก็คือ ethyl cinnamate ซึ่งพบปริมาณสูงสุดประมาณร้อยละ 59.59 ใน fraction ที่ 3 ซึ่งเป็นสารประกอบออกฤทธิ์ที่มีกิจกรรมในการทำให้ความดันในหลอดโลหิตลดลง

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าสารสกัดจากสมุลแว้งมีสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ปานกลาง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Chaiyana และ Okonogi (2012) ซึ่งได้ศึกษากิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของน้ำมันหอมระเหยจากใบสมุลแว้งที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรพบว่าสมุลแว้งมีกิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสปริมาณมากกว่าร้อยละ 25 และจากการทดลองในครั้งนี้ยังพบว่าสารสกัดจากสมุลแว้งมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงมาก ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่พบว่ามีค่าสูงที่สุด อย่างไรก็ตามสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณองค์ประกอบในสารสกัดจากสมุลแว้งยังไม่เคยมีการรายงานไว้ก่อนหน้านี้ แต่มีการรายงานของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของพืชในสกุล *Cinnamomum* ชนิดอื่น ซึ่งพบว่ามีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นเดียวกันได้แก่ Chua และคณะ (2008) พบว่าสารสกัดหยาบจาก *Cinnamomum osmophloeum* ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 มีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH โดยมีค่า $EC_{50}$ เท่ากับ 7.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 313.4 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัม นอกจากนี้ Prasad และคณะ (2009) ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและระบุชนิดของสารฟลาโวนอยด์ที่พบด้วยวิธี HPLC-DAD พบว่าสารสกัดจากใบของ *Cinnamomum* 5 สายพันธุ์มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 568.1-2738.4 ไมโครกรัมควอซิทินต่อกรัมและสารฟลาโวนอยด์ที่พบได้แก่ ควอซิทินและเคมเฟอรอล (kaempferol) รวมถึง Chang และคณะ (2001) ได้วิเคราะห์หาส่วนประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากใบของ *C. osmophloeum* ที่กลั่นด้วยน้ำโดยทำการวิเคราะห์ GC พบว่าองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยในพืชสายพันธุ์นี้ได้แก่ สาร 1,8-ซินีออล (1,8-cineol) เบนซัลดีไฮด์ (benzaldehyde) ลินาโลออล (linalool) และซินนามาลดีไฮด์ (cinnamaldehyde) เป็นต้น

จากการศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดจากสมอไทยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH ที่ดีที่สุดและมีความสามารถในการรีดิวซ์ที่ดี ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Surveswaran และคณะ (2007) ที่พบว่าสารสกัดจากลูกสมอ (*Terminalia chebula*) ของประเทศอินเดียซึ่งสกัดด้วยเมทานอลมีกิจกรรมในการต้านอนุมูล DPPH เท่ากับ 679.69 มิลลิโมลโทรล็อกซ์ต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้งและมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เท่ากับ 85.60 ไมโครโมลของโทรล็อกซ์ต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ซึ่งในการทดลองนี้ยังได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของลูกสมอพบว่าในลูกสมอไทยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 35.63 กรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง และได้นำสารสกัดจากลูกสมอไปวิเคราะห์หาชนิดของสารประกอบฟีนอลิกชนิดหลักๆที่เป็นส่วนประกอบสำคัญด้วยวิธี HPLC-DAD (diode-array detector) ผลปรากฏว่ามีสารอีลาจิแทนนิน (ellagitannins) แกลโลแทน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิน (gallotannins) เช่นสารพูนิคาลาจิน (punicalagin) ชีบูลานิน (chebulanin) และกรดชีบูลาจิก (chebulagic acid) กรดอีลาจิก (ellagic acid) กรดชีบูลิก (chebulic acid) และกรดแกลลิกในระดับสูง และเช่นเดียวกัน Pfundstein และคณะ (2010) ได้จำแนกชนิดของสารโพลีฟีนอลในสารสกัดจากลูกสมอของประเทศอียิปต์ที่สกัดด้วยเมทานอลโดยใช้วิธี HPLC-ESI-MS พบว่าประกอบด้วยกรดชีบูลิกและอีลาจิแทนนิน ปริมาณทั้งหมด 61.8 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง โดยมีกรดชีบูลาจิกเป็นส่วนประกอบที่มีมากที่สุดถึง 24.2 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง สารที่มีปริมาณรองลงมาจากมากไปหาน้อย ได้แก่ เมทิลนีโอชีบูลิเนท (methyl neochebulinate) กรดชีบูลิก กรดชีบูลานิน และเมทิลนีโอชีบูลาเกท (methyl neochebulagate) ซึ่งพบสารประกอบทั้ง 3 ชนิดในปริมาณ 7.1-9.0 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักแห้ง

จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากสีเสียดเทศมีกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีมากทั้ง DPPH assay และ FRAP assay นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากสีเสียดเทศมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดในจำนวนสมุนไพรไทยทั้งหมดที่นำมาทดสอบ ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Kassim และคณะ (2011) ที่พบว่าสารสกัดจากสีเสียดเทศที่ทำการสกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 99.25 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมและมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 70.94 มิลลิกรัมคาเทชินต่อกรัม และยังพบว่าสารสกัดจากสีเสียดเทศมีสมบัติการต้านอนุมูล DPPH ที่สูงโดยมีการยับยั้งร้อยละ 85.98 ที่ความเข้มข้น 50 ppm จากการที่สีเสียดเทศมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่สูงอาจเนื่องมาจากในสารสกัดจากสีเสียดเทศมีสารประกอบที่สำคัญหลายชนิด Kassim และคณะ (2011) ได้จำแนกชนิดของสารฟลาโวนอยด์ที่เป็นส่วนประกอบในสารสกัดจากสีเสียดเทศพบว่าสารประกอบดังกล่าวน่าจะเป็น (-)-gallocatechin และ (-)-epigallocatechin และอื่นๆ นอกจากนี้ Anggraini และคณะ (2011) ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณคาเทชินในสารสกัดจากสีเสียดเทศ (*Uncaria gambir*) 4 สายพันธุ์จากเกาะสุมาตราประเทศอินโดนีเซียโดยวิธี HPLC ปรากฏว่าสารประกอบหลักที่พบในสารสกัดจากสีเสียดเทศคือคาเทชิน (catechin) โดยปริมาณคาเทชินที่พบในสารสกัดจากสีเสียดเทศทั้ง 4 สายพันธุ์อยู่ในช่วง 99.4 - 108 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรรวมทั้งยังมีปริมาณอีพิคาเทชิน (epicatechin) อยู่ในช่วง 0.49 - 0.80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและกรดคาเฟอิก (caffeic acid) เท่ากับ 0.98 - 0.99 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์ที่สอดคล้องกับความเข้มข้นของคาเทชินที่มีในสารสกัด และ Diyabalanage และคณะ (1996) ได้แยกสารประกอบอัลคาลอยด์จากเปลือกไม้ของพืชสกุลเดียวกับสีเสียดเทศคือ *Uncaria elliptica* พบว่าสารดังกล่าวคือ ajmalicine, formosamine, isomitraphylline และ mitraphylline

สารสกัดจากมะขามป้อมมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ที่สูงและมีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ที่ดีที่สอดคล้องกับการรายงานของ Liu และคณะ (2008a) ซึ่งได้ทำการศึกษากิจกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลของมะขามป้อมที่สกัดด้วยเมทานอลที่เก็บตัวอย่างจาก 6 จังหวัดในประเทศจีน พบว่าสารสกัดจากผลของมะขามป้อมทั้ง 6 ตัวอย่าง ส่วนใหญ่มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระได้ค่อนข้างสูง ($EC_{50}$ อยู่ในช่วง 11.23 - 28.39 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ยกเว้นสารสกัดจากมะขามป้อมจากจังหวัด Liuzhou ($EC_{50}$ เท่ากับ 45.44 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งมีกิจกรรมต้านอนุมูล DPPH ได้ต่ำกว่ากิจกรรมของ BHA ($EC_{50}$ เท่ากับ 33.30ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และยังพบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 81.5-120.9 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์อยู่ในช่วง 20.3-38.7 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมสารสกัด กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่สูงของสารสกัดจากมะขามป้อมอาจเป็นผลมาจากกิจกรรมของสารสำคัญที่เป็นส่วนประกอบในมะขามป้อม Liu และคณะ (2008b) ได้ทำการแยกและจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิก 6 ชนิดจากสารสกัดจากมะขามป้อม สารประกอบดังกล่าวได้แก่ geraniin, quercetin 3-β-D-glucopyranoside, kaempferol 3-β-D-glucopyranoside, isocorilagin ควอซิทินและเคมเฟอรอล และนอกจากนี้ได้ทำการศึกษากิจกรรมการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกบริสุทธิ์ที่แยกได้จากมะขามป้อมดังกล่าวโดยใช้วิธี lipid peroxidation และวิธี DPPH ในการวิเคราะห์พบว่าสารประกอบบริสุทธิ์นี้มีกิจกรรมในการต้านออกซิเดชันและกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระสูง จากการทดลองของ Mayachiew และ Devahastin (2008) ได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารสกัดจากมะขามป้อมด้วยวิธี HPLC พบว่าในสารสกัดจากผลของมะขามป้อมประกอบด้วยกรดแอสคอบิก (ascorbic acid) ประมาณร้อยละ 11.21 และยิ่งไปกว่านั้นยังมีสารประกอบฟีนอลิกปริมาณสูง (290 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด) และมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงโดยมี antioxidant activity เท่ากับร้อยละ 86.4 โดยวิธี β-carotene bleaching

ในการทดลองสารสกัดจากดอกลำดวนมีกิจกรรมการต้านอนุมูล DPPH ค่อนข้างสูงและมีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ที่ดี โดยสอดคล้องกันกับการรายงานของ Pripdeevech และ Chukeatirote (2010) ซึ่งพบว่าสารสกัดจากดอกลำดวนที่สกัดด้วยเมทานอลมีกิจกรรมในการต้านอนุมูล DPPH ที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 เท่ากับ 194.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและเมื่อวิเคราะห์ถึงองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากดอกลำดวนโดยวิธีวิเคราะห์ GC-MS พบว่าประกอบด้วยสารในกลุ่มโมโนเทอร์พีน (monoterpenes) และเซสควิเทอร์พีน (sesquiterpene) ในสัดส่วนที่สูงโดยพบว่ามีสารประกอบถึง 88 ชนิด สารประกอบหลักๆที่มีในปริมาณมากได้แก่ 1-phenyl butanone (ร้อยละ 20.52) linalool (ร้อยละ 9.27) benzyl alcohol (ร้อยละ 8.75) α-cadinol (ร้อยละ 5.04) เป็นต้น Chaichantipyuth และคณะ (2001) ได้แยก oxidized heptanes 3 ชนิดจากสารสกัดจากดอกลำดวน พบว่าเป็น 7-benzoyloxy-6-oxo-2,4z-heptadiene-I,4-olide, [7-benzoyloxy-4-hydroxy-I-methoxy-2*E*,4z-heptadiene-1,6-dione] และ 7-benzoyloxy-6-oxo-2,4*E*-heptadiene-1,4-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

olide ซึ่ง 2 สารแรกมีกิจกรรมการต่อต้านความเป็นพิษ (cytotoxicity) ของเซลล์เนื้องอกของมนุษย์ในระดับปานกลาง ส่วนสารประกอบที่ 3 ไม่ออกฤทธิ์

นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากดอกบัวหลวงแดงมีกิจกรรมในการต้านอนุมูล DPPH ที่สูง และมีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ที่ค่อนข้างดี การที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นผลมาจากสารสำคัญที่พบในบัวหลวงแดง ดังการรายงานของ Daboor และ Haroon (2013) ซึ่งได้พบว่าสารสกัดจากรากของบัวหลวงแดง (*Nymphaea lotus*) มีปริมาณสารสำคัญหลายชนิดต่างๆดังนี้ สารประกอบฟีนอลเท่ากับ 2.58 กรัมต่อ 100 กรัม สารประกอบฟลาโวนอยด์และสารเรซิน (resin) ปริมาณเล็กน้อย สารแทนนินปริมาณมาก และสารสเตอรอล (sterols) ปานกลาง นอกจากนี้พบว่ายังมีการรายงานว่าในสารสกัดจากใบของบัวหลวงแดงมีสารอัลคาลอยด์ (alkaloids) และแทนนินรวมไปถึงสารซาโปนิน (saponins) ซึ่งพบในปริมาณปานกลาง (Yisa, 2009) อย่างไรก็ตามได้มีการรายงานเกี่ยวกับส่วนประกอบของสารสำคัญที่แยกได้จากส่วนของดอกของพืชที่อยู่ในสายพันธุ์เดียวกับบัวหลวงแดงนั่นก็คือ *Nymphaea caerulea* ได้แก่ 2s,3s,4s-trihydroxypentanoic acid 2 ชนิด, myricetin 3-*O*-(3"-*O*-acetyl) α-L-rhamnoside, myricetin 3-*O*- α-L-rhamnoside, myricetin 3-*O*-β-o-glucoside, quercetin 3-*O*-(3"-*O*-acetyl)-α-L-rhamnoside, quercetin 3-*O*-α-L-rhamnoside, quercetin 3-*O*-β-D-glucoside, (s)-naringenin 5-*O*-β-o-glucoside, isosalipurposide และ gallic acid ซึ่งพบว่าสารสำคัญเหล่านี้มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระได้ (Agnihotri และคณะ, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5
# สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยจำนวน 34 ชนิดด้วยเทคนิค Disc diffusion method และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยเทคนิค Agar dilution ผลปรากฏว่าสารสกัดจากว่านน้ำ ชุมเห็ดเทศ หญ้าฝรั่น บัวหลวงแดงและมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้หลากหลายชนิดมากที่สุด ส่วนใหญ่ค่า MIC น้อยกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเชื้อยีสต์ที่ไวต่อการถูกยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดคือ *Shizosaccharomyces pombe* ด้วยสารสกัดจากว่านน้ำ ชุมเห็ดเทศ บัวหลวงแดงและมะขามป้อม (ค่า MIC อยู่ในช่วง 0.64-1.28 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และแบคทีเรียกลุ่มแลคติกที่ไวต่อการถูกยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดคือ *Lactobacillus casei* โดยถูกยับยั้งด้วยสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ (ค่า MIC เท่ากับ 2.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วน *Acetobacter aceti* ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดจากหญ้าฝรั่นได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 5.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สำหรับการศึกษาด้านพฤกษเคมี ได้แก่ สมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ผลปรากฏว่าสารสกัดจากกระชายดำ ดอกบัวสัตตบงกช รากระย่อม และบัวบกมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ดี (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งมากกว่าร้อยละ 70) และสารสกัดจากสมุลแว้ง พุมเรียง ชุมเห็ดเทศ ถั่วพู มะขามป้อม เปราะหอม ลูกพิลังกาสา บัวหลวงแดงและสีเสียดเทศมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้ปานกลาง (เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วงร้อยละ 43.18-61.41) ส่วนสมุนไพรไทยที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้ดี ได้แก่ สารสกัดจากสมอไทย สมุลแว้ง สีเสียดเทศและมะขามป้อม ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูล DPPH (มีค่า $EC_{50}$ อยู่ในช่วง 387.23-490.47 ไมโครกรัมของสารสกัดต่อมิลลิกรัมของ DPPH) และเป็นสารรีดิวซ์ที่ดีในการทดลองด้วยวิธี Ferric reducing antioxidation power (FRAP) assay (มีค่าอยู่ในช่วง 774.41-656.19 มิลลิโมลของเหล็กเฟอรัสต่อกรัมของสารสกัด) นอกจากนี้สมุนไพรเหล่านี้ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในปริมาณที่สูง ได้แก่ สารสกัดจากสีเสียดเทศ สมุลแว้ง มะขามป้อมและบัวหลวงแดงซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 771.59, 501.25, 405.06 และ 312.42 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ และสำหรับสารสกัดที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณที่สูงได้แก่ สีเสียดเทศ สมุลแว้ง ลำดวนและชุมเห็ดเทศมีค่าเท่ากับ 2,292.43, 1,317.61, 323.48 และ 242.41 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองนี้มีข้อเสนอแนะในการนำสมุนไพรไทยที่มีกิจกรรมในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสและมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ เช่น สีเสียดเทศ สมุลแว้ง มะขามป้อม ลำดวน กระชายดำ ดอกบัวสัตตบงกช รากระย่อม สมอไทยและบัวบกไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพ เช่น น้ำสมุนไพรพาสเจอร์ไรส์และไวน์สมุนไพร เพื่อป้องกันการเกิดโรคสมองเสื่อมโดยเฉพาะโรคอัลไซเมอร์และโรคร้ายแรงอื่นๆที่มีสาเหตุมาจากการเกิดของอนุมูลอิสระ เช่น โรคหัวใจและโรคความดันโลหิตสูง นอกจากนี้สมุนไพรเหล่านี้ยังมีสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้น้ำผลไม้และไวน์เน่าเสียได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง


โชติอนันต์ และ กลุ่มสมุนไพรแผนไทย. (2551). สมุนไพรไทยสำหรับงานสาธารณสุขมูลฐาน. (พิมพ์ครั้งที่1). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ดวงกมล, หน้า 340-350.

นิจศิริ เรืองรังษี และ พยอม ตันติวัฒน์. (2534). พืชสมุนไพร. (พิมพ์ครั้งที่1). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, หน้า 210-220.

บุษกร อุตรภิชาติ. (2552). จุลชีววิทยาทางอาหาร. (พิมพ์ครั้งที่ 4). สงขลา: บริษัทนำศิลป์โฆษณา จำกัด, หน้า 200-351.

บุษกร อุตรภิชาติ. (2547). จุลชีววิทยาทางอาหาร. (พิมพ์ครั้งที่ 2). สงขลา: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยทักษิณ, หน้า 400-451.

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ. (2547). เครื่องสำอางธรรมชาติผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนัง. ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, หน้า 22-27.

มลศิริ วีโรทัย. (2540). ส่วนประกอบของอาหารเพื่อสุขภาพชนิดใหม่ๆ. วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, 13(2), หน้า 67-75.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2547). การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. (พิมพ์ครั้งที่1). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์แห่งมหาวิทยาลัย, หน้า 220-230.

วราวุฒิ ครูส่ง. (2538). จุลชีววิทยาในการแปรรูปอาหาร. (พิมพ์ครั้งที่1). กรุงเทพฯ: โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮ้าส์, หน้า 54-76.

วุฒิ วุฒิธรรมราช. (2550). สารานุกรมสมุนไพรไทยรวมหลักเภสัชกรรมไทย. (พิมพ์ครั้งที่1). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, หน้า 23-54.

เสริมสิริ วินิจฉัยกุล และคณะ. (2541). ไม้พื้นบ้าน. (พิมพ์ครั้งที่2). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์เภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, หน้า 100-354.

อัญชนา เจนวิถีสุข. (2544). การตรวจหาและบ่งชี้ชนิดสารต้านอนุมูลอิสระจากผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทย. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

โอภา วัชรคุปต์ ปรีชา บุญจูง จันทนา บุณยะรัตน์ และ มาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. (2549). สารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพฯ: พี.เอส.พริ้นท์, หน้า 34-59.

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.foodnetworksolution.com (12 ส.ค. 2555)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.mdidea.com (12 ส.ค. 2555)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.chemnet.com/ (12 ส.ค. 2555)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.chm.bris.ac.uk (12 ส.ค. 2555)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.chm.bris.ac.uk (12 ส.ค. 2555)


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่อนุญาตให้ใช้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.google.co.th/search (16 ก.พ. 2556)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.google.co.th/search? (16 ก.พ. 2556)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.manager.co.th/Family/ViewNews. (16 ก.พ. 2556)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.google.co.th/search?hl=th&q=บัวหลวงแดง (16 ก.พ. 2556)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://xn--22c0b2abjp4cfrd5cbg8bws5k5f.blogspot.com (16 ก.พ. 2556)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.unitynature.com (16 ก.พ. 2556)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.thaihof.org/knowledge/article/detail/ (16 ก.พ. 2556)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://www.google.co.th/ดอกลำดวน&hl=th&tbm (16 ก.พ. 2556)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.laddagardenshop.com.aspx (16 ก.พ. 2556)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.rakbankerd.com/view.php (16 ก.พ. 2556)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.google.co.th/search (16 ก.พ. 2556)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.google.co.th/imgres?imgurl (16 ก.พ. 2556)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: https://sites.google.com/site/kanlayaneekotakoon (16 ก.พ. 2556)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.vcharkarn.com/varticle/44073 (7 มี.ค. 2556)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.sciencephoto.com/image/12123/530wm/B2201567-Lactobacillus_curvatus-SPL.jpg (7 มี.ค. 2556)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://genome.jgi-psf.org/leume/leume.home.html (7 มี.ค. 2556)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.doctorfungus.org/aboutdrf/legal (14 มี.ค. 2555)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://evodisku.multiply.com/journal/item/82/GIST (14 มี.ค. 2555)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://genome.jgi-psf.org/Picme1/Picme1.home.html (14 มี.ค. 2555)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.google.co.th/imgres?um=1&hl (14 มี.ค. 2555)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://terroirists.files.wordpress.com/2010/09/hansen.jpg (14 มี.ค. 2555)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.biology.science.cmu.ac.th/Fungi.htm (14 มี.ค. 2555)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.cdb.riken.go.jp/news/reports/2003/Yeast.htm (14 มี.ค. 2555)

[ออนไลน์]. สืบค้นจาก: http://www.ncyc.co.uk/print-photo-ncyc-CBS710.html (14 มี.ค. 2555)

Agnihotri, V. K., ElSohly, H. N., Khan, S. I., Smillie, T. J., Khan, I. A., & Walker, L. A. (2008). Antioxidant constituents of *Nymphaea caerulea* flowers. *Phytochemistry*, *69*, 2061-2066.

Akinjogunla, O. J., Adegoke, A. A., Udokang, I. P., & Adebayo-Tayo, B. C. (2009). Antibacterial potential of *Nymphace lotus* (Nymphaeaceae) against wound pathogens. *Journal of Medicinal Plants Research*, *3*, 138-141.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Akinjogunla, O. J., Yah, C. S., Eghafona, N. O., & Ogbemodia, F. O. (2010). Antibacterial activity of leave extracts of *Nymphace lotus* (Nymphaeaceae) on Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from clinical samples. *Annals of Biological Research*, *1*, 174-184.

Ames, B. N., Shigenaga, M. K., & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *90*, 7915-7922.

Anekonda, T. S., & Reddy, P. H. (2005). Can herbs provide a new generation of drugs for treating Alzheimer's disease ?. *Brain Research Review*, *50*, 361-376.

Anggraini, T., Tai, A., Yoshino, T., & Itani, T. (2011). Antioxidative activity and catechin content of four kinds of *Uncaria gambir* extracts from West Sumatra, Indonesia. *African Journal of Biochemistry Research*, *5*, 33-38.

Atta-ur-Rahman., & Choudhary, M. I. (2001). Bioactive natural products as a potential source of new pharmacophores. A theory of memory. *Pure and Applied Chemistry*, *73*, 555–560.

Azuma, T., Tanaka, Y., & Kikuzaki, H. (2008). Phenolic glycosides from *Kaempferia parviflora. Phytochemistry*, *69*, 2743-2748.

Bartowsky, E. J., & Henschke, P. A. (2008). Acetic acid bacteria spoilage of bottled red wine. *International Journal of Food Microbiology*, *125*, 60-70.

Bast, A., Haeren, G., & Doelmen, C. (1991). Oxidants and antioxidants: state of art. *American Journal of Medicine*, *91*, 2-13.

Batista, C. V. F., Schripsema, J., Verpoorte, R., Rech, S. B., & Henriques, A. T. (1996). Indole alkaloids from *Rauvolfia sellowii. Phytochemistry*, *41*, 969-973.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Bersert, E. C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittle Wissenschaft and Technologie*, *28*, 25-30.

Brinkhaus, B., Lindner, M., Schuppan, D., & Hahn, E. G. (2000). Chemical, pharmacological and clinical profile of the East Asian medicinal plant *Centella asiatica. Phytomedicine*, *7*, 427-448.

Chaichantipyuth, C., Tiyaworanan, S., Mekaroonreung, S., Ngamrojnavanich, N., Roengsumran, S., Puthong, S., Petsom, A., & Ishikawa, T. (2001). Oxidized heptanes from flowers of *Melodorum fruticosum. Phytochemistry*, *58*, 1311-1315.

Chaiyana, W., & Okonogi, S. (2012). Inhibition of cholinesterase by essential oil from food plant. *Phytomedicine*, *19*, 836-839.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chang, S. T., Chen, P. F., & Chang, S. C. (2001). Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of Ethnopharmacology, 77*, 123-127.

Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., & Rakariyatham, N. (2005). Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand. *Food Chemistry, 92*, 491-497.

Chua, M. T., Tung, Y. T., & Chang, S. T. (2008). Antioxidant activities of ethanolic extracts from the twigs of *Cinnamomum osmophloeum*. *Bioresource Technology*, *99*, 1918-1925.

Collins, C. H., Lyne, P. M., & Grange, J. M. (2001). *Collins and Lyne's microbiological method.*, 7<sup>th</sup>ed. New York: Oxford University Press, Inc.

Costello, P. J., & Henschke, P. A. (2002). Mousy off-flavor of wine: precursors and biosynthesis of the causative N-heterocycle 2-ethytetrchydropyridine, 2-acetylterahdropyridine, and 2-acetyl-1-pyrroline by *Lactobacillus hilgardii* DSM 20176. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50*, 7079-7087.

Daboor, S. M., & Haroon, A. M. (2013). *In vitro*: Antimicrobial potential and phytochemical screening of some Egyptian aquatic plants. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 1-7.

Dastmalchi, K., Dorman, H. J. D., Laakso, I., & Hiltunen, R. (2007). Chemical composition and antioxidant activity of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extracts. *LWT-Food Science and Technology*, *40*, 1655-1663.

Desgranges, B., Baron, J-C., Sayette, V., Petit-Taboue', M-C., Benali, K., Landeau, B., Lechevalier, B., & Fustache, F. (1998). The neural substrates of memory systems impairment in Alzheimer's disease A PET study of resting brain glucose utilization. *Brain: A Journal of Neurology*, *121*, 611-631.

De Souza, N. D., Shah, V., Desai, P. D., Inamdar, P. K., D'Sa, A., Ammonaman-chi, R., Dohadwalla, A. N., Lakdawala, A. D., Mandrekar, S. S., & Blum-bach, J. (1992). 2, 3, 23-Trihydroxy-urs-12-ene and its derivatives, processes for their preparation and their use. *European Patent*, *3*, 83–171.

Diyabalanage, T. K. K., Kumarihamy, B. M. M., Wannigama, G. P., Jayasinghe, L., Merlini, L., & Scaglioni, L. (1996). Alkaloids of *Uncaria elliptica*. *Phytochemistry*, *45*, 1731-1732.

Eldeen, I. M. S., Elgorashi, E. E., & Van Staden, J. (2005). Antibacterial, anti-inflammatory, anti-cholinesterase and mutagenic effects of extracts obtained from some trees used in South African traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, *102*, 457-464.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimeter determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology, 7*, 88-95.

Grosvenor, P. W., Supriono, A., & Gray, D. O. (1995). Medicinal plants from Riau Province, Sumatra, Indonesia. Part 2: antibacterial and antifungal activity. *Journal of Ethnopharmacology*, *45*, 97-111.

Günther, B., & Wagner, H. (1996). Quantitative determination of triterpenes in extracts and phytopreparations of *Centella asiatica* (L.) Urban. *Phytomedicine*, *3*, 59-65.

Halliwell, B. (1999). Antioxidant defense mechanism: from the beginning to the end. *Society for Free Radical Biology and Medicine*, *31*, 261-272.

Halliwell, B. (1995). The characterization of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, *33*, 601-617.

Hussain, A. I., Anwar, F., Sherazi, R., & Przybylski, R. (2008). Chemical composition, Antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, *108*, 986-995.

Hollander, E., Mohs, R. C., & Davis, K. L. (2005). Can herbs provide a new generation of drugs for treating Alzheimer's disease?. *Brain Research Reviews*, *50*, 361-376.

Howes, M-J. R., & Houghton, P. J. (2003). Plants used in Chinese and Indian traditional medicine for improvement of memory and cognitive function. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *75*, 513–527.

Hu, M., & Skibsted, L. H. (2002). Antioxidative capacity of rhizome extract and rhizome knot extract of edible lotus (*Nelumbo nucifera*). *Food Chemistry*, *76*, 327-333.

Hu, X. J., He, H. P., Zhou, H., Di, Y. T., Yang, X. W., Hao, X. J., & Kong, L. Y. (2006). New Indole alkaloids from *Rauvolfia yunnanensis*. *Helvetica Chimica Acta*, *89*, 1344-1350.

Huang, L., Yagura, T., & Chen, S. (2008). Sedative activity of hexane extract of *Kaempferia galangal* L. and its active compound. *Journal of Ethnopharmacology*, *120*, 123-125.

Ibrahim, D., & Osman, H. (1995). Antimicrobial activity of *Cassia alata* from Malaysia. *Journal of Ethnopharmacology*, *45*, 151-156.

Ingkaninan, K., Temkitthawon, P., & Chuenchom, K. (2003). Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. *Journal of Ethnopharmacology*, *89*, 261-264.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Jang, E. E., Mcdougall, D. E., Pollon, D., Herbert, M., & Russell, P. (2008). Integrative mixed methods data analytic strategies in research on school success in challenging circumstances. *Mixed Methods Research*, *2*, 221-276.

Jung, H. A., Kim, J. E., Chung, H. Y., & Chol, J. S. (2003). Antioxidant Principles of *Nelumbo nucifera* stamen. *Archives of Pharmacal Research*, *26*, 279-285.

Kalaria, R. N., Maestre, G. E., Arizaga, R., Friedland, R. P., Galasko, D., Hall, K., Luchsinger, J. A., Ogunniyi, A., Perry, E. K., Potocnik, F., Prince, M., Stewart, R., Wimo, A., Zhang, Z. X., & Antuono. P. (2008). Alzheimer's disease and vascular dementia in developing countries: prevalence, management, and risk factors. *The Lancet Neurology*, *7*, 812-826.

Kassim, M. J., Hussin, M. H., Achmad, A., Dahon, N. H., Suan, T. K., & Hamdan, H. S. (2011). Determination of total phenol, condensed tannin and flavonoid contents and antioxidant activity of *Uncaria gambir* extracts. *Majalah Farmasi Indonesia*, *22*, 50-59.

Kathirvel, A., & Sujatha, V. (2012). *In vitro* assessment of antioxidant and antibacterial properties of *Terminalia chebula* Retz. Leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *2*, 788-795.

Khan, M. R., Kihara, M., & Omoloso, A. D. (2001). Antimicrobial activity of *Cassia alata*. *Fitoterapia*, *72*, 561-564.

Konstan, M. W., & Beress, A. (1993). A new procedure for the isolation of anti-HIV compounds (polysaccharides and polyphenols) from the marine alga *Fucus vesiculosus*. *Journal of Natural Products*, *56*, 478-488.

Kumar, S., Stohlgren, T. J., & Chong, G. W. (2006). Spatial heterogeneity influences native and nonnative plant species richness. *Ecology*, *87*, 3186-3199.

Lado, C., Then, M., Varga, I., Szóke, E., & Szentmihályi, K. (2004). Antioxidant property of volatile oils determined by the ferric reducing ability. *Biosciences*, *59*, 354-358.

Lawlor, K. A., Schuman, J. D., Simpson, P. G., & Taormina, P. J. (2009). Microbiological spoilage of beverages. In W. H. Srer, & M. P. Doyle (Eds.), *Compendium of microbiological spoilage of food and beverages* (pp. 245-284). New York: Springer Science Business media, LLC.

Lee, H. S. (2007). Fungicidal property of active component derived from *Acorus gramineus* rhizome against phytopathogenic fungi. *Bioresource Technology*, *98*, 1324-1328.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Liu, X., Zhao, M., Wang, J., Yang, B., & Jiang, Y. (2008a). Antioxidant activity of methanolic extract of emblica fruit (*Phyllanthus emblica* L.) from six regions in China. *Journal of Food Composition and Analysis, 21*, 219-228.

Liu, X., Cui, C., Zhao, M., Wang, J., Luo, W., Yang, B., & Jiang, Y. (2008b). Identification of phenolics in the fruit of emblica (*Phyllanthus emblica* L.) and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, *109*, 909-915.

Liu, X., Zhao, M., Wang, J., & Luo, W. (2009). Antimicrobial and antioxidant activity of *Emblica* extracts obtained by supercritical carbon dioxide extraction and methanol extraction. *Food Biochemistry*, *33*, 307-330.

Loureiro, V., & Malfeito-Ferreira, M. (2003). Spoilage yeasts in the wine industry. *International Journal of Food Microbiology*, *86*, 23–50.

Loureiro, V., & Querol, A. (1999). The prevalence and control of spoilage yeast in food and beverages. *Trend in Food Science & Technology*, *10*, 356-365.

Lyras, L., Perry, R. H., Perry, P. G., Ince, P. G., Jenner, P., & Halliwell, B. (1998). Oxidative damage to proteins, lipids and antioxidant enzyme regions from patients with dementia with Lewy bodies. *Journal of Neurochemistry*, *71*, 302-312.

Maisuthisakul, P., Pasuk, S., & Ritthiruangdej, P. (2008). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, *21*, 229-240.

Markesbery, W. R., & Carney, J. M. (1999). Oxidative alterations in Alzheimer's disease. *Brain Pathology*, *9*, 133-146.

Mayachiew, P., & Devahastin, S. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *Food Science and Technology*, *41*, 1153-1159.

Meléndez, P. A., & Capriles, V. A. (2006). Antibacterial properties of tropical plants from Ruerto Rico. *Phytomedine*, *13*, 272-276.

Mukherjee, P. K., Kumar, V., Mal, M., & Houghton, P. J. (2007). Acetylcholinesterase inhibitors from plants. *Phytomedicine*, *14*, 289-300.

Mukherjee, P. K., Mukherjee, D., Maji, A. K., Rai, S., & Heinrich, M. (2008). The sacred lotus (*Nelumbo nucifera*) - phytochemical and therapeutic profile. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *61*, 407-422.


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nair, V. D., Panneerselvam, R., & Gopi, R. (2012). Studies on methanolic extract of *Rauvolfia* species from Southern Western Ghats of India-*In vitro* antioxidant properties, characterization of nutrients and phytochemicals. *Industrial Crops and Products, 39*, 17-25.

O'Donnell, E., Vereker, E., & Lynch, M. A. (2000). Age-related impairment in LTP is accompanied by enhanced activity of stress-activated protein kinases: analysis of underlying mechanisms. *European Journal of Neuroscience, 12*, 345-352.

Othman, R., Ibrahim, H., Mohd, M. A., Mustafa, M. R., & Awang, K. (2006). Bioassay-guided isolation of a vasorelaxant active compound from *Kaempferia galangal* L. *Phytomedicine, 13*, 61-66.

Pesewu, G. A., Cutter, R. R., & Humber, D. P. (2008). Antimicrobial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA. *Journal of Ethnopharmacology, 116*, 102-111.

Pfundstein, B., Desouky, S. K., Hull, W. E., Haubner, R., Erben, G., & Owen, R. W. (2010). Polyphenolic compounds in the fruits of Egyptian medicinal plants (*Terminalia bellerica, Terminalia chebula* and *Terminalia horrida*): characterization, quantitation and determination of antioxidant capacities. *Phytomedicine, 71*, 1132-1148.

Pintado, C., Miguel, A. D., Acevedo, O., Nozal, L., & Novella, J. L. (2011). Bactericidal effect of food control. *Phytomedicine, 22*, 634-642.

Pourmorad, F., Hosseinimher, S. J., & Shahabimajd, N. (2006). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology, 5*, 1142-1145.

Prasad, K. N., Yang, B., Dong, X., Jiang, G., Zhang, H., Xie, H., & Jiang, Y. (2009). Flavonoid contents and antioxidant activities from *Cinnamomum* species. *Innovative Food Science and Emerging Technologies, 10*, 627-632.

Pripdeevech, P., & Chukeatirote, E. (2010). Chemical compositions, antifungal and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Melodorum fruticosum* L. flowers. *Food and Chemical Toxicology, 48*, 2754-2758.

Rahman, M. S., Ali, M. Y., & Ali, M. U. (2008). In vitro screening of two flavonoid compounds isolated from *Cassia alata* L. leaves for fungicidal activities. *African Journal of Biotechnology, 16*, 139-142.


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rai, S., Wahile, A., Mukherjee, K., Saha, B. P., & Mukherjee, P. K. (2006). Antioxidant activity of *Nelumbo nucifera* (sacred lotus) seeds. *Journal of Ethnopharmacology, 104*, 322-327.

Raj, M. S., Devi, K. S., & Thomas, A. (2012). Antibacterial property of *Crocus sativas* L. *Journal of Herbal Science, 2*, 10-16.

Rajput, S. B., & Karuppayil, S. M. (2013). β-asarone, an active principle of *Acorus gramineus* rhizome, inhibits morphogenesis, biofilm formation and ergosterol biosynthesis in *Candida albicans*. *Phytomedicine, 20*, 139-142.

Rao, S. B., Chetana, M., & Devi, P. U. (2005). *Centella asiatica* treatment during postnatal period enhances learning and memory in mice. *Physiology & Behavior, 86*, 449-457.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure antioxidant activity relationship of flavonoid and phenolic acid. *Free Radical Biology and Medicine, 20*, 953-956.

Saadabi, A. M. A., & Moglad, E. H. (2012). Experimental evaluation of certain Sudanese plants used in Folkloric medicine for their antibacterial activity (In-Vitro Tests). *Journal of Applied Science Research, 7*, 253-256.

Sengul, M., Yildiiz, H., Gungor, N., Cetin, B., Eser, Z., & Eroisli, S. (2009). Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. *Journal of Herbal Science, 2*, 10-16

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventor, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocateu reagent. *Methods in Enzymology, 299*, 152-178.

Somchit, M. N., Reezal, I., Nur, I. E., & Mutalib, A. R. (2003). In vitro antimicrobial activity of ethanol and water extracts of *Cassia alata*. *Journal of Ethnopharmacology, 84*, 1-4.

Somchit, M. N., Sulaiman, M. R., Zuraimi, A., Samsuddin, L., Somchit, N., Israf, D. A., & Moin, S. (2004). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Centella asiatica*. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology, 36*, 377-380.

Squire, L. R. (1992). Memory and hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys and humans. *Psychological Review, 99*, 195-231.

Stewart, C. M., Goh, E. L. C., Hocking, A. D., Buckle, K. A., & Fleet, G. H. (2007). Baroprotective effect of increased solute concentrations on yeast and moulds during high pressure processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies, 8*, 535–542.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sumazian, Y., Syahida, A., Hakiman, M., & Maziah, M. (2010). Antioxidant activities, flavonoids, ascorbic acid and phenolic contents of Malaysian vegetables. *Journal of Medicinal Plants Research, 4*, 881-890.

Surveswaran, S., Cai, Y. Z., Corke, H., & Sun, M. (2007). Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry, 102*, 938-953.

Swerdlow, R. H. (2011). Brain aging, Alzheimer's disease, and mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta, 1812*, 1630-1639.

Tappayuthpijarn, P., Itharat, A., & Makchuchit, S. (2011). Acetylcholinesterase inhibitory activity of Thai traditional Nootropic remedy and its herbal ingredients. *Journal of the Medical Association of Thailand, 94*, 183-189.

Tewtrakul, S., Subhadhirasakul, S., Karalai, C., Ponglimanont, C., & Cheenpracha, S. (2009). Anti-inflammatory effects of compounds from *Kaempferia parviflora* and *Boesenbergia pandurata*. *Food Chemistry, 115*, 534-538.

Valacchi, G., Pagnin, E., Corbacho, A. M., Olano, E., Davis, P. A., Packer, L., & Cross, C. E. (2004). In vivo ozone exposure induces antioxidant stress-related responses in murine lung and skin. *Free Radical Biology and Medicine, 36*, 673-681.

Vinutha, B., Prashanth, D., Salma, K., Sreeja, S. L., Pratili, D., Padmaja, R., Radhika, S., Amit, A., Venkateshwarlu, K., & Deepak, M. (2007). Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology, 109*, 359-363.

Voest, E. E., Vreugdenhil, G., & Marx, J. (1994). Iron-chelating agents in non-iron overload conditions. *Annals of Internal Medicine, 120*, 490-499.

Wachsmuth, O., & Matusch, R. (2002). Anhydronium bases from *Rauvolfia serpentina*. *Phytochemistry, 61*, 705-709.

White, P., Goodhardt, M. J., Keet, J. P., Hiley, C. R., Carrasco, L. H., Williams, I. E. I., & Bowen, D. M. (1977). Neocortical cholinergic neurons in elderly people. *The Lancet, 309*, 668-671.

Whitehouse, P. J. (1998). The cholinergic deficit in Alzheimer's disease. *The Journal of Clinical Psychiatry, 59*, 19-22.

Yang, W. M., Shim, K. J., Choi, M. J., & Park, S. Y. (2008). Novel effects of *Nelumbo nucifera* rhizome extract on memory and neurogenesis in the dentate gyrus of the rat hippocampus. *Neuroscience Letters, 443*, 104-107.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yenjai, C., Prasanphen, K., Daodee, S., Wongpanich, V., & Kittakoop, P. (2004). Bioactive flavonoids from *Kaempferia parviflora*. *Fitoterapia*, *75*, 89-92.

Yisa, J. (2009). Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Scoparia dulcis* and *Nymphaea lotus*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, *3*, 3975-3979.

Zheng, L., Bae, Y. M., Jung, K. S., Heu, L., & Lee, S. Y. (2013). Antimicrobial activity of natural antimicrobial substances against spoilage bacteria isolated from fresh produce. *Food Control*, *32*, 665-675.

Zhu, X., Raina, A. K., Lee, H. G., Casadesus, G., Smith, M. A., & Perry, G. (2004). Oxidative stress signaling in Alzheimer's disease. *Brain Research*, *1000*, 32-39.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ก

## สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

**1. Yeast Malt Agar (YMA)**

ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| Yeast Extract | 3 | กรัม |
| Malt Extract | 5 | กรัม |
| Peptone | 5 | กรัม |
| Agar | 20 | กรัม |
| Distilled water | 1,000 | มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับพีเอชเป็น 5.5 จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

หมายเหตุ: อาหาร YMB เตรียมโดยใช้ส่วนประกอบเช่นเดียวกับ YMA แต่ไม่เติม Agar

**2. Glucose Yeast Extract Agar (GYEA)**

ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| Glucose | 100 | กรัม |
| Yeast Extract | 10 | กรัม |
| $CaCO_3$ | 10 | กรัม |
| Agar | 20 | กรัม |
| Distilled water | 1,000 | มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

**3. Glucose Yeast Extract Broth (GYEB)**

ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| Glucose | 100 | กรัม |
| Yeast Extract | 10 | กรัม |
| Distilled water | 1,000 | มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4. MRS Medium (MRS)**

ประกอบด้วย

| | | |
|---|---|---|
| Peptone | 10 | กรัม |
| Beef Extract | 10 | กรัม |
| Yeast Extract | 5 | กรัม |
| Glucose | 20 | กรัม |
| Tween 80 | 1 | มิลลิลิตร |
| $K_2HPO_4$ | 2 | กรัม |
| Sodium acetate | 5 | กรัม |
| Tri-ammonium citrate | 2 | กรัม |
| $MgSO_4.7H_2O$ | 0.2 | กรัม |
| Agar | 15 | กรัม |
| Distilled water | 1,000 | มิลลิลิตร |

ในการทดลองใช้อาหารสำเร็จรูป โดยละลายอาหารสำเร็จรูปในน้ำกลั่น จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

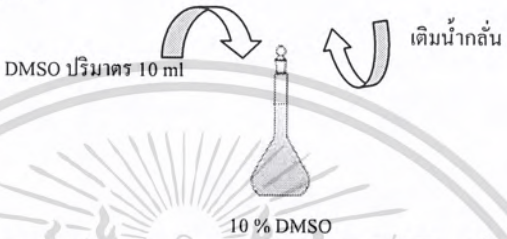
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ข

## การเตรียมสารละลาย

**1. การเตรียม 10 % DMSO (v/v)**

ทำการเตรียมสารละลาย Dimethyl sulfoxide (DMSO) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปิเปตสารละลาย DMSO ปริมาตร 10 มิลลิลิตรลงในขวดปรับปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ทำได้ดังนี้




**รูป** การเตรียมสารละลาย Dimethyl sulfoxide (DMSO) ความเข้มข้นร้อยละ 10

**2. วิธีเตรียม Stock solution ของสารสกัด**

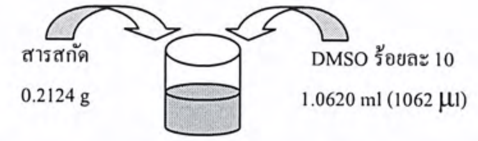
Stock solution ของสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบต้องทำการเตรียมทั้งหมด 3 ระดับได้แก่ ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการศึกษาสมบัติการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ส่วนการศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีบางประการจะใช้สารสกัดความเข้มข้น 1 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

การเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำได้โดยการชั่งสารสกัด 0.2000 กรัม แล้วเติมสารละลาย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10 ลงไป 1 มิลลิลิตร ซึ่งการชั่งสารสกัดให้ได้ 0.2000 กรัมนั้นเป็นไปได้ยาก จึงทำได้ ดังนี้

จากสารสกัดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กล่าวได้ว่าในสารละลาย 10%DMSO ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีสารสกัดอยู่ 0.2000 กรัม

| | | |
|---|---|---|
| หรือ ชั่งสารสกัด 0.2000 กรัม จะเติมสารละลาย 10%DMSO ปริมาตร | 1 | มิลลิลิตร |
| ถ้า ชั่งสารสกัด 0.2124 กรัม จะเติมสารละลาย 10%DMSO ปริมาตร | $\frac{1 \times 0.2124}{0.2000}$ | มิลลิลิตร |
| = | 1.0620 | มิลลิลิตร |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูป** ตัวอย่างการเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

การเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำได้โดยการชั่งสารสกัด 0.0010 กรัม แล้วเติมสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ลงไป 1 มิลลิลิตร ซึ่งการชั่งสารสกัดให้ได้ 0.0010 กรัมนั้นเป็นไปได้ยาก และได้ปริมาตรน้อยมากจึงทำได้ ดังนี้

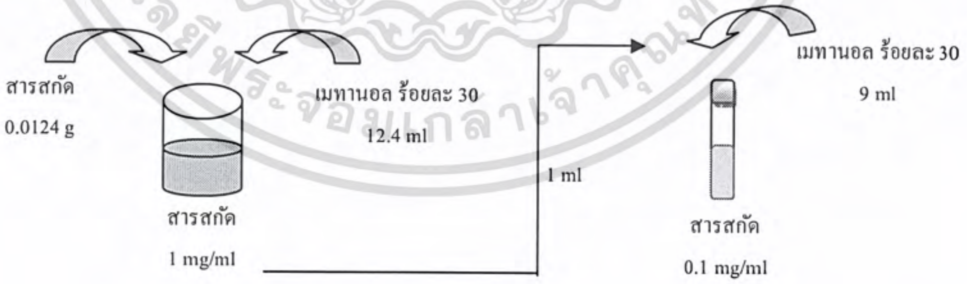
จากสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร กล่าวได้ว่าในสารละลาย 30% methanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีสารสกัดอยู่ 0.0010 กรัม

หรือ ชั่งสารสกัด 0.0010 กรัม จะเติมสารละลาย 30%methanol ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

ถ้า ชั่งสารสกัด 0.0124 กรัม จะเติมสารละลาย 30%methanol ปริมาตร $\frac{1 \times 0.0124}{0.0010}$ มิลลิลิตร

$= 12.4$ มิลลิลิตร

ดังนั้นในการเตรียมตัวอย่างสารสกัดความเข้มข้น 1 mg/ml วิธีที่ง่ายที่สุดคือวางขวดใส่ตัวอย่างบนเครื่องชั่งแล้ว tare น้ำหนักภาชนะให้เป็น 0.0000 จากนั้นตักตัวอย่างด้วยช้อนตักสารที่สะอาดใส่ลงในขวดใส่ตัวอย่างปริมาณเพียงเล็กน้อย แล้วจดน้ำหนักที่ชั่งได้ (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) แล้วคูณตัวเลขของน้ำหนักตัวอย่างด้วย 1000 จะได้ปริมาตรของสารลาย 30% methanol ที่ต้องเติมลงไปเพื่อให้ได้ความเข้มข้น 1 mg/ml จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน



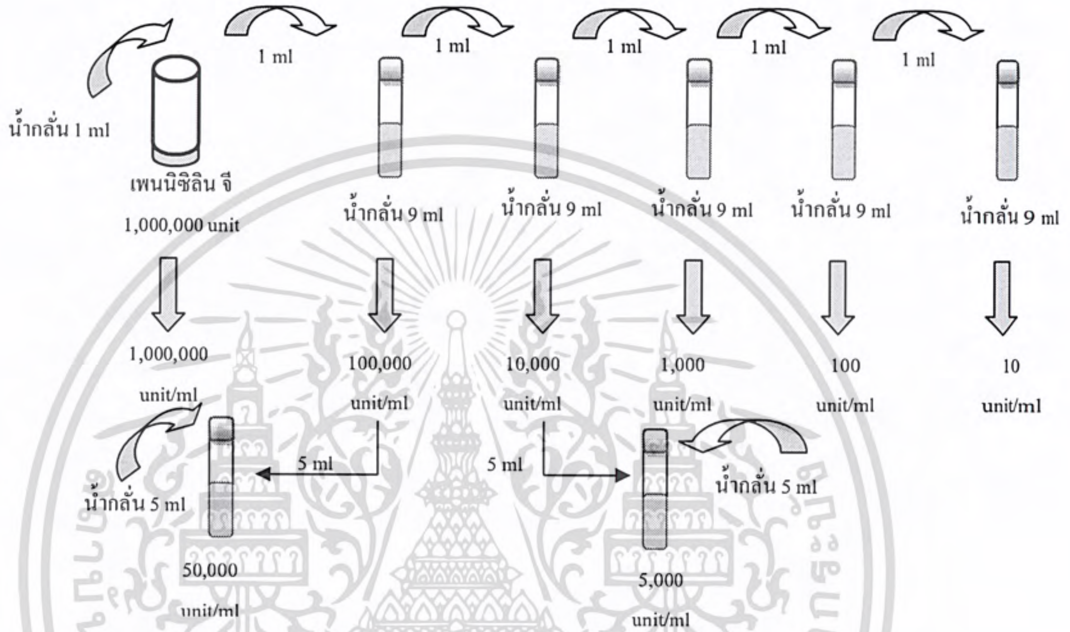

**รูป** ตัวอย่างการเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 1 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3. วิธีเตรียม Agar dilution**

**3.1 การเตรียม Stock solution ของยาที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (Positive control) สำหรับเชื้อจุลินทรีย์**

**ยาเพนนิซิลิน จี**

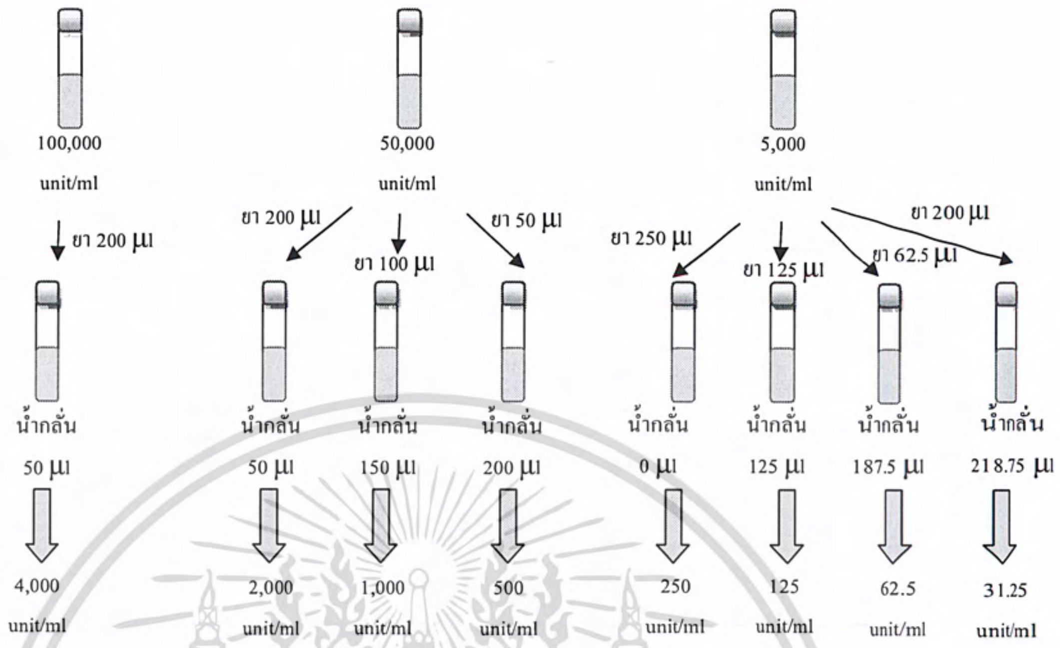



**รูป** การเตรียม Stock solution **ของยาเพนนิซิลินจี**

**ตาราง** การทำความเจือจางของยาเพนนิซิลินจีที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับทำ Agar dilution

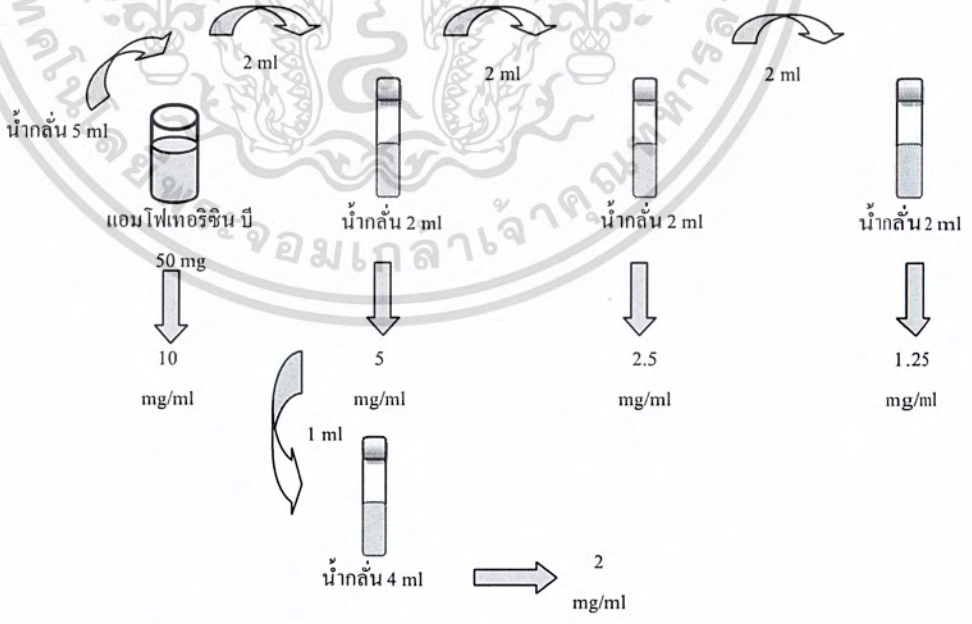
| ความเข้มข้นของยา (unit/ml) | ปริมาตรของยา (ไมโครลิตร) | ปริมาตรของน้ำกลั่น (ไมโครลิตร) | ความเข้มข้นของยาที่ได้ในหลอด (unit/ml) | ความเข้มข้นสุดท้ายของยาในอาหาร(unit/ml) |
|---|---|---|---|---|
| 100,000 | 200 | 50 | 80,000 | 4,000 |
| 50,000 | 200 | 50 | 40,000 | 2,000 |
| 50,000 | 100 | 150 | 20,000 | 1,000 |
| 50,000 | 50 | 200 | 10,000 | 500 |
| 5,000 | 250 | 0 | 5,000 | 250 |
| 5,000 | 125 | 125 | 2,500 | 125 |
| 5,000 | 62.5 | 187.5 | 1,250 | 62.5 |
| 5,000 | 31.25 | 218.75 | 625 | 31.25 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูป** การทำความเจือจางของยาเพนนิซิลินจีที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับทำ Agar dilution

**ยาแอมโฟเทอริซิน บี**

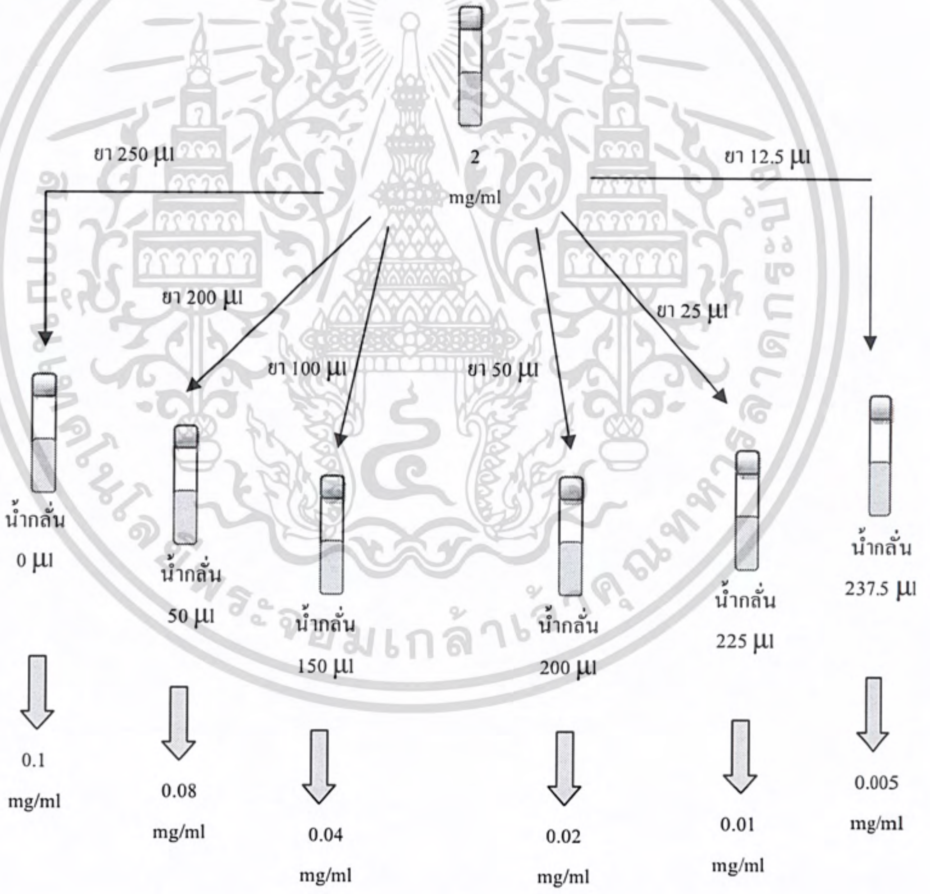



**รูป** การเตรียม Stock solution ของยาแอมโฟเทอริซินบี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง การทำความเจือจางของยาแอมโฟเทอริซินบีที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับทำ Agar dilution

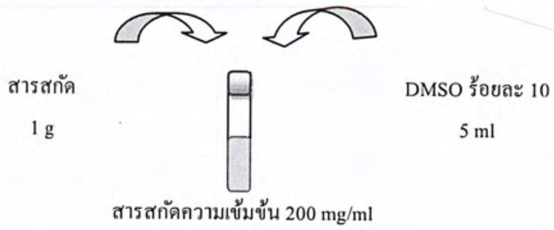
| ความเข้มข้นของยา (mg/ml) | ปริมาตรของยา (ไมโครลิตร) | ปริมาตรของน้ำกลั่น (ไมโครลิตร) | ความเข้มข้นของยาที่ได้ในหลอด (mg/ml) | ความเข้มข้นสุดท้ายของยาในอาหาร(mg/ml) |
|---|---|---|---|---|
| 2 | 250 | 0 | 2 | 0.1 |
| 2 | 200 | 50 | 1.6 | 0.08 |
| 2 | 100 | 150 | 0.8 | 0.04 |
| 2 | 50 | 200 | 0.4 | 0.02 |
| 2 | 25 | 225 | 0.2 | 0.01 |
| 2 | 12.5 | 237.5 | 0.1 | 0.005 |




**รูป** การทำความเจือจางของยาแอมโฟเทอริซินบีที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับทำ Agar dilution

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

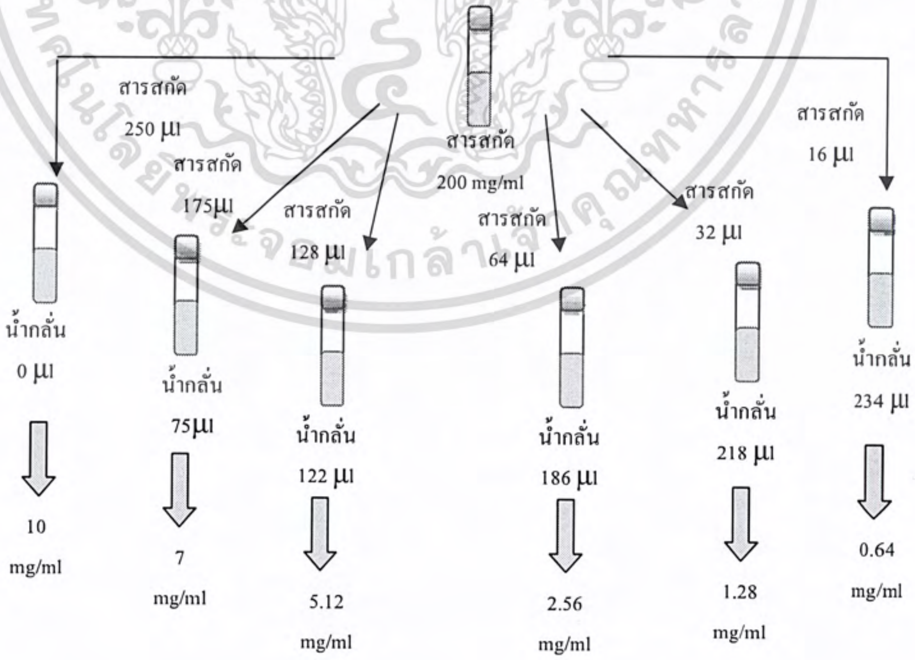
### 3.2 การเตรียม Stock solution ของสารสกัดที่ใช้ทดสอบ




**รูป** การเตรียม Stock solution ของสารสกัดที่ใช้ทดสอบ

**ตาราง** การทำความเจือจางของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับการเตรียม Stock solution

| ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/ml) | ปริมาตรของสารสกัด (ไมโครลิตร) | ปริมาตรของน้ำกลั่น (ไมโครลิตร) | ความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้ในหลอด (mg/ml) | ปริมาตรอาหาร (ไมโครลิตร) | ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดในอาหาร(mg/ml) |
|---|---|---|---|---|---|
| 200 | 250 | 0 | 200 | 4,750 | 10 |
| 200 | 175 | 75 | 140 | 4,750 | 7 |
| 200 | 128 | 122 | 102.4 | 4,750 | 5.12 |
| 200 | 64 | 186 | 51.2 | 4,750 | 2.56 |
| 200 | 32 | 218 | 25.6 | 4,750 | 1.28 |
| 200 | 16 | 234 | 12.8 | 4,750 | 0.64 |




**รูป** การทำความเจือจางของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับการเตรียม Stock solution

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาคุณสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดจากสมุนไพรไทย**

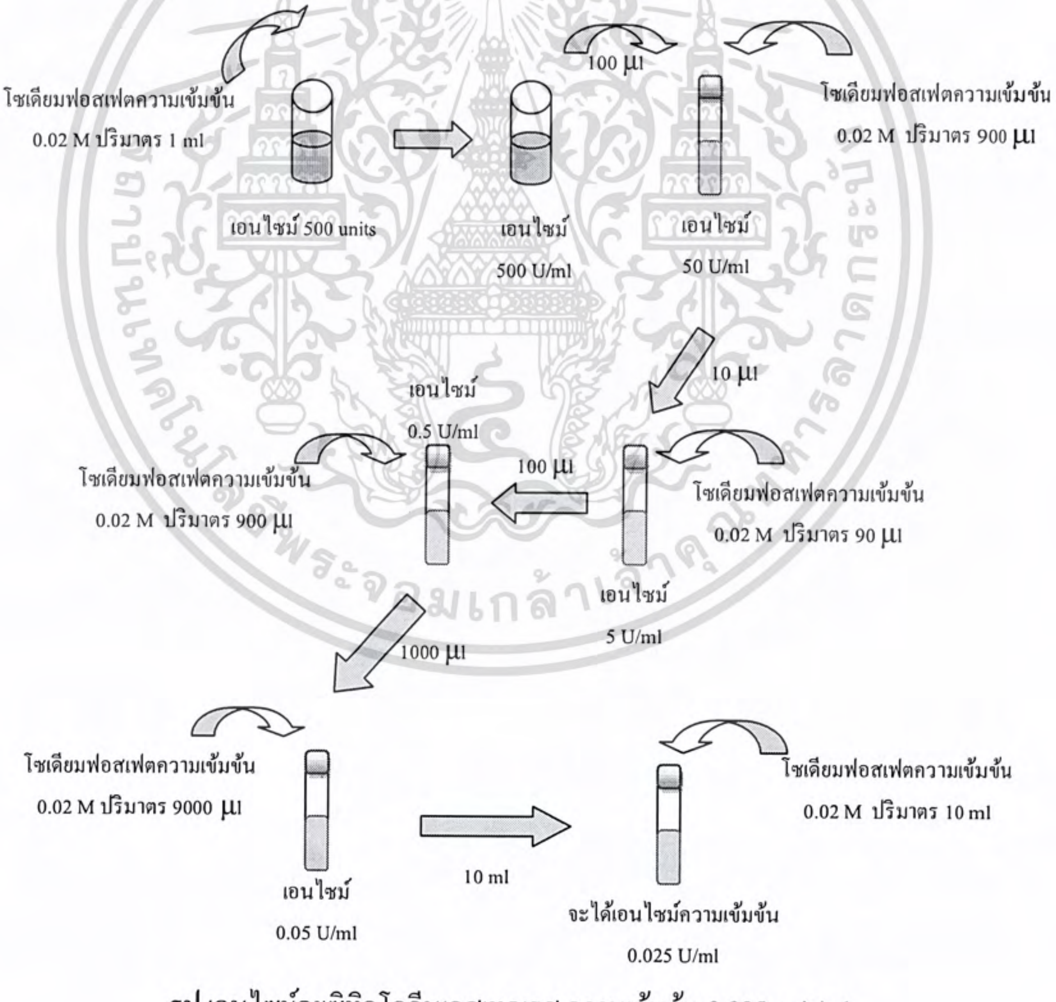
**4.1 สารละลายเมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 30**

ทำการเตรียมสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตรโดยปริมาตร (methanol 30% v/v)

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| จากในสารละลาย ปริมาตร | 100 | ml | จะใช้เมทานอล ปริมาตร | 30 | ml |
| ถ้าเตรียมสารละลาย ปริมาตร | 1000 | ml | จะใช้เมทานอล ปริมาตร | 300 | ml |

เพราะฉะนั้น ทำการตวงเมทานอลปริมาตร 300 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปปริมาตร 700 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเมทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 1, 000 มิลลิลิตร

**4.2 เอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ความเข้มข้น 0.025 unit/ml**




**รูป** เอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ความเข้มข้น 0.025 unit/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.3 สารละลายโซเดียมฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.02 M**

Stock solution 1

- ทำการชั่ง $Na_2HPO_4$.anhydrous (Sodium phosphate dibasic anhydrous) 28.4 กรัม
- เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

Stock solution 2

- ทำการชั่ง $NaH_2PO_4.H_2O$, monohydrate 27.6 กรัม
- เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

จากนั้นทำการเจือจาง Stock solution 1 และ Stock solution 2 ให้ได้ระดับความเจือจางเป็น 1:10 ดังนี้

การเจือจาง Stock solution 1 ทำได้ ดังนี้ (pH เท่ากับ 8.2)

- ปิเปต Stock solution 1 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
- เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 450 มิลลิลิตร

การเจือจาง Stock solution 2 ทำได้ ดังนี้ (pH เท่ากับ 5.6)

- ปิเปต Stock solution 2 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร
- เติมน้ำกลั่น ปริมาตร 90 มิลลิลิตร

จากนั้นทำการปรับ pH ให้ได้ 7.0 โดยทำการเติม Stock solution 2 ที่เจือจางแล้วปริมาตร 65 มิลลิลิตรลงใน Stock solution 1 ที่เจือจางแล้ว จะได้ สารละลายโซเดียมฟอสเฟต ความเข้มข้น 0.02 M ที่มี pH เท่ากับ 7.0

**4.4 สารละลาย Tris-HCl buffer, pH 8 ความเข้มข้น 0.05 M**

ทำการเตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.05 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร คิดดังนี้

จาก มวลโมเลกุลของ Tris-HCl เท่ากับ 121.14 กรัมต่อโมล ต้องการเตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer ที่มีความเข้มข้น 0.05 M หรือ 0.05 โมลต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมล ต้องใช้ Tris-HCl เท่ากับ 121.14 กรัมต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 0.05 โมล ต้องใช้ Tris-HCl เท่ากับ 6.057 กรัมต่อลิตร

สารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ต้องชั่ง Tris-HCl เท่ากับ 6.057 กรัม ถ้าจะเตรียมสารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.05 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่ง Tris-HCl เท่ากับ 0.6057 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพราะฉะนั้น ทำการชั่ง Tris-HCl 0.6057 กรัมแล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้นี้ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.05 M ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปปรับ pH ให้ได้ 8 ด้วยเครื่อง pH meter

**4.5 สารละลาย 5,5'-Dithiobis[2-nitrobenzoic acid] (DTNB) ความเข้มข้น 0.3 mM**

ทำการเตรียมสารละลาย DTNB ความเข้มข้น 0.3 mM ปริมาตร 100 มิลลิลิตร คิดดังนี้

จาก มวลโมเลกุลของสาร DTNB เท่ากับ 396.35 กรัมต่อโมล ต้องการเตรียมสารละลาย DTNB ที่มีความเข้มข้น 0.3 mM หรือ 0.3 มิลลิโมลต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมล ต้องใช้ DTNB เท่ากับ 396.35 กรัมต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น $0.3\times10^{-3}$ โมล ต้องใช้ DTNB เท่ากับ 0.1189 กรัมต่อลิตร

สารละลาย DTNB ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ต้องชั่ง DTNB เท่ากับ 0.1189 กรัม ถ้าจะเตรียมสารละลาย DTNB ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่ง DTNB เท่ากับ 0.0119 กรัม

เพราะฉะนั้น ทำการชั่ง DTNB เท่ากับ 0.0119 กรัมแล้วเติมโซเดียมฟอสเฟตความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้นี้ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยโซเดียมฟอสเฟตความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย DTNB ความเข้มข้น 0.3 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

**4.6 สารละลายโซเดียมฟอสเฟต บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 100 mM**

ทำการเตรียมโซเดียมฟอสเฟต บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 100 mM ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร คิดดังนี้

จากมวลโมเลกุลของ $NaH_2PO_4.2H_2O$ เท่ากับ 156.01 กรัมต่อโมล ต้องการเตรียมสารละลายโซเดียมฟอสเฟต บัฟเฟอร์ ที่มีความเข้มข้น 100 mM หรือ 100 มิลลิโมลต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมล ต้องใช้ $NaH_2PO_4.2H_2O$ เท่ากับ 156.01 กรัมต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น $100\times10^{-3}$ โมล ต้องใช้ $NaH_2PO_4.2H_2O$ เท่ากับ 15.60 กรัมต่อลิตร

สารละลายโซเดียมฟอสเฟต บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ต้องชั่ง $NaH_2PO_4.2H_2O$ เท่ากับ 15.60 กรัม

เพราะฉะนั้น ทำการชั่ง $NaH_2PO_4.2H_2O$ เท่ากับ 15.60 กรัมแล้วเติมน้ำกลั่นลงไปปริมาตร 750 มิลลิลิตรจากนั้นปรับ pH ให้ได้ 7 ด้วย pH meter ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 100 mM และเทสารละลายที่ได้นี้ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร จะได้สารละลายโซเดียมฟอสเฟต บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.7 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 100 mM**

ทำการเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 100 mM ปริมาตร 100 มิลลิลิตร คิดดังนี้

จาก มวลโมเลกุลของ NaOH เท่ากับ 40 กรัมต่อโมล ต้องการเตรียมสารละลาย NaOH ที่มีความเข้มข้น 100 mM หรือ 100 มิลลิโมลต่อลิตร

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| เตรียมสารละลายความเข้มข้น | 1 | โมล ต้องใช้ NaOH เท่ากับ | 40 | กรัมต่อลิตร |
| เตรียมสารละลายความเข้มข้น | $100 \times 10^{-3}$ | โมล ต้องใช้ NaOH เท่ากับ | 4 | กรัมต่อลิตร |

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ต้องชั่ง NaOH เท่ากับ 4 กรัม ถ้าจะเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่ง NaOH เท่ากับ 0.4 กรัม

เพราะฉะนั้น ทำการชั่ง NaOH เท่ากับ 0.4 กรัมแล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้นี้ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 100 mM ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

**4.8 สารละลาย Acetylthiocholine iodide (ATCI) ความเข้มข้น 1.8 mM**

ทำการเตรียมสารละลาย ATCI ความเข้มข้น 1.8 mM ปริมาตร 100 มิลลิลิตร คิดดังนี้

จาก มวลโมเลกุลของ ATCI เท่ากับ 289.18 กรัมต่อโมล ต้องการเตรียมสารละลาย ATCI ที่มีความเข้มข้น 1.8 mM หรือ 1.8 มิลลิโมลต่อลิตร

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| เตรียมสารละลายความเข้มข้น | 1 | โมล ต้องใช้ ATCI เท่ากับ | 289.18 | กรัมต่อลิตร |
| เตรียมสารละลายความเข้มข้น | $1.8 \times 10^{-3}$ | โมล ต้องใช้ ATCI เท่ากับ | 0.5210 | กรัมต่อลิตร |

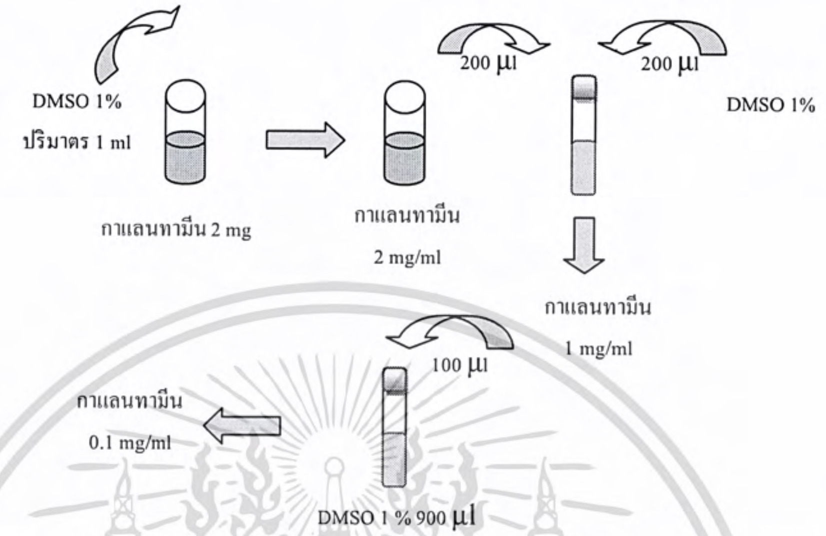
สารละลาย ATCI ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ต้องชั่ง ATCI เท่ากับ 0.5210 กรัม ถ้าจะเตรียมสารละลาย ATCI ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลาร์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต้องชั่ง ATCI เท่ากับ 0.0521 กรัม

เพราะฉะนั้น ทำการชั่ง ATCI เท่ากับ 0.0521 กรัมแล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้นี้ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย ATCI ความเข้มข้น 1.8 มิลลิโมลาร์ปริมาตร 100 มิลลิลิตรเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.9 กาแลนทามีน (Galanthamine)**

ทำการเตรียมยากาแลนทามีนให้ได้ความเข้มข้น 1 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนี้

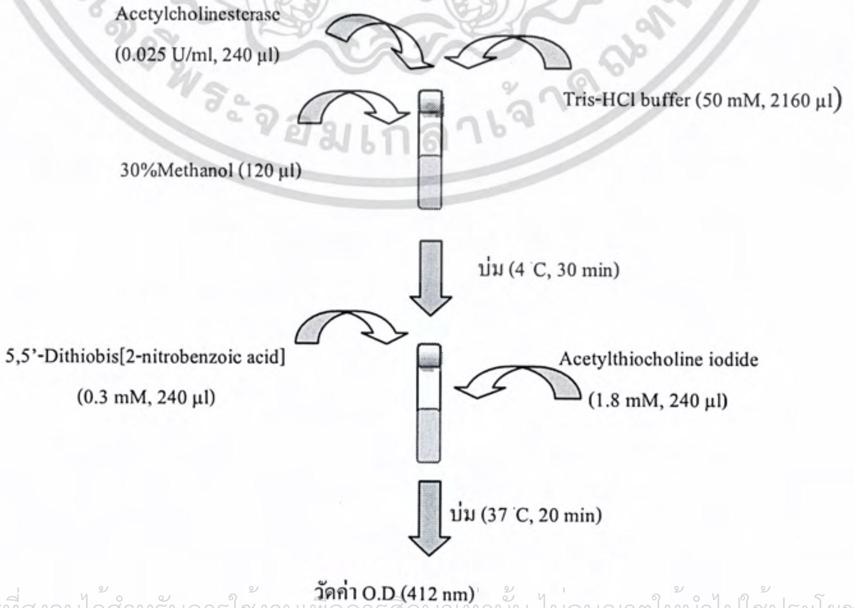



**รูป** การเตรียมยากาแลนทามีนให้ได้ความเข้มข้น 1 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**4.10 การเตรียมหลอดควบคุม (control) และ blank สำหรับการวิเคราะห์หาคุณสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดจากสมุนไพรไทย**

**<u>หลอดควบคุม (control)</u>**

สำหรับหลอดควบคุม (control) จะใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัด ซึ่งจะใช้ในปริมาตรเท่ากัน ดังนี้

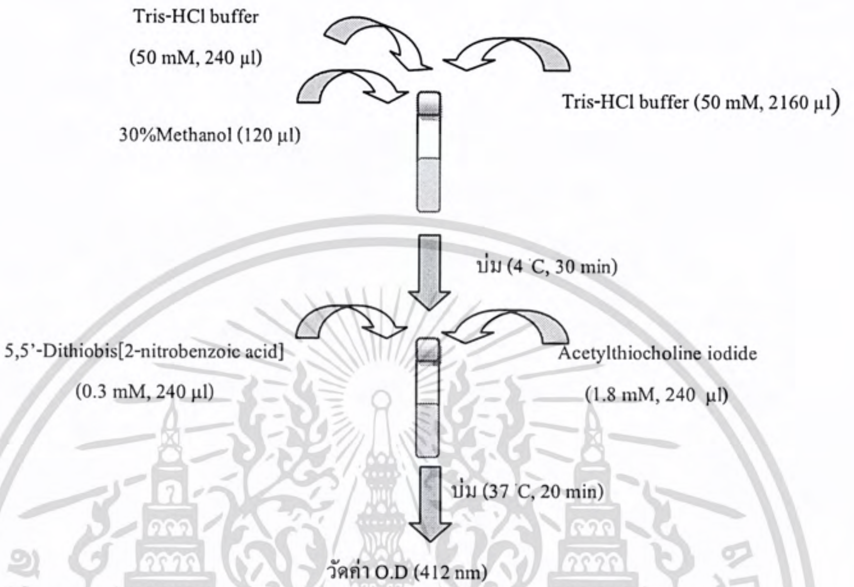



**รูป** การเตรียมหลอดควบคุม (control)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>**หลอด Blank**</u>

สำหรับหลอด Blank จะใช้ Tris-HCl buffer แทนเอนไซม์ และใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัด ดังนี้




รูป การเตรียมหลอด Blank

**5. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากสมุนไพรไทย**

**5.1 สารละลายโซเดียมไนไตรด์ความเข้มข้นร้อยละ 5**

ทำการเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 น้ำหนักโดยปริมาตร ($NaNO_2$ 30% w/v) คิดดังนี้

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| จากในสารละลาย ปริมาตร | 100 | ml | จะใช้โซเดียมไนไตรด์ เท่ากับ | 5 | g |
| ถ้าเตรียมสารละลาย ปริมาตร | 250 | ml | จะใช้โซเดียมไนไตรด์ เท่ากับ | 12.5 | g |

เพราะฉะนั้น ทำการชั่งโซเดียมไนไตรด์ เท่ากับ 12.5 กรัมแล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้นี้ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 250 มิลลิลิตร จะได้สารละลายโซเดียมไนไตรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**5.2 สารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10**

ทำการเตรียมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 น้ำหนักโดยปริมาตร ($AlCl_3$) คิดดังนี้

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| จากในสารละลาย ปริมาตร | 100 | ml | จะใช้อลูมิเนียมคลอไรด์ เท่ากับ | 10 | g |
| ถ้าเตรียมสารละลาย ปริมาตร | 250 | ml | จะใช้อลูมิเนียมคลอไรด์ เท่ากับ | 25 | g |

เพราะฉะนั้น เพราะฉะนั้น ทำการชั่งอลูมิเนียมคลอไรด์ เท่ากับ 25 กรัมแล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้นี้ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 250 มิลลิลิตร จะได้สารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

**5.3 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 M**

ทำการเตรียมสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 M ปริมาตร 250 มิลลิลิตร คิดดังนี้

จากมวลโมเลกุลของ โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 M เท่ากับ 39 กรัมต่อโมล

ดังนั้น การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมล ปริมาตร 0.25 ลิตร ต้องใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ เท่ากับ 39 x 0.25 = 9.75 กรัม

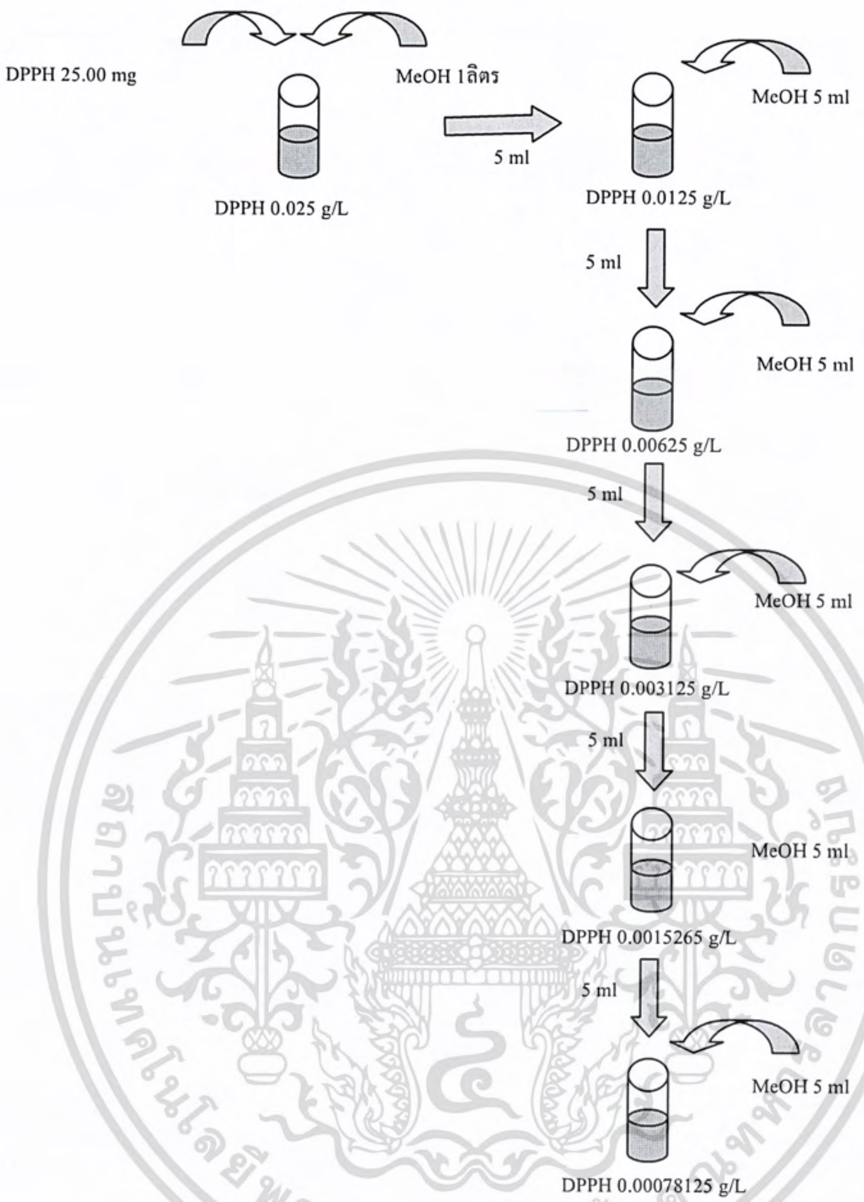
เพราะฉะนั้น ทำการชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น เท่ากับ 9.75 กรัมแล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้นี้ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 250 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

**6. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน**

**6.1 สารละลายมาตรฐาน DPPH (2, 2-diphenyl -1- picrylhydrazyl)**

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลาย DPPH ทำได้โดยเตรียมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.003125, 0.0015265 และ 0.00078125 กรัมต่อลิตร ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




รูป การเตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH (2, 2-diphenyl -1- picrylhydrazyl)

**6.2 สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)**

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต ทำได้โดยเตรียมสารละลายเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 6, 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร โดยทำการเตรียมสารละลายเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 6 mM ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร คิดดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

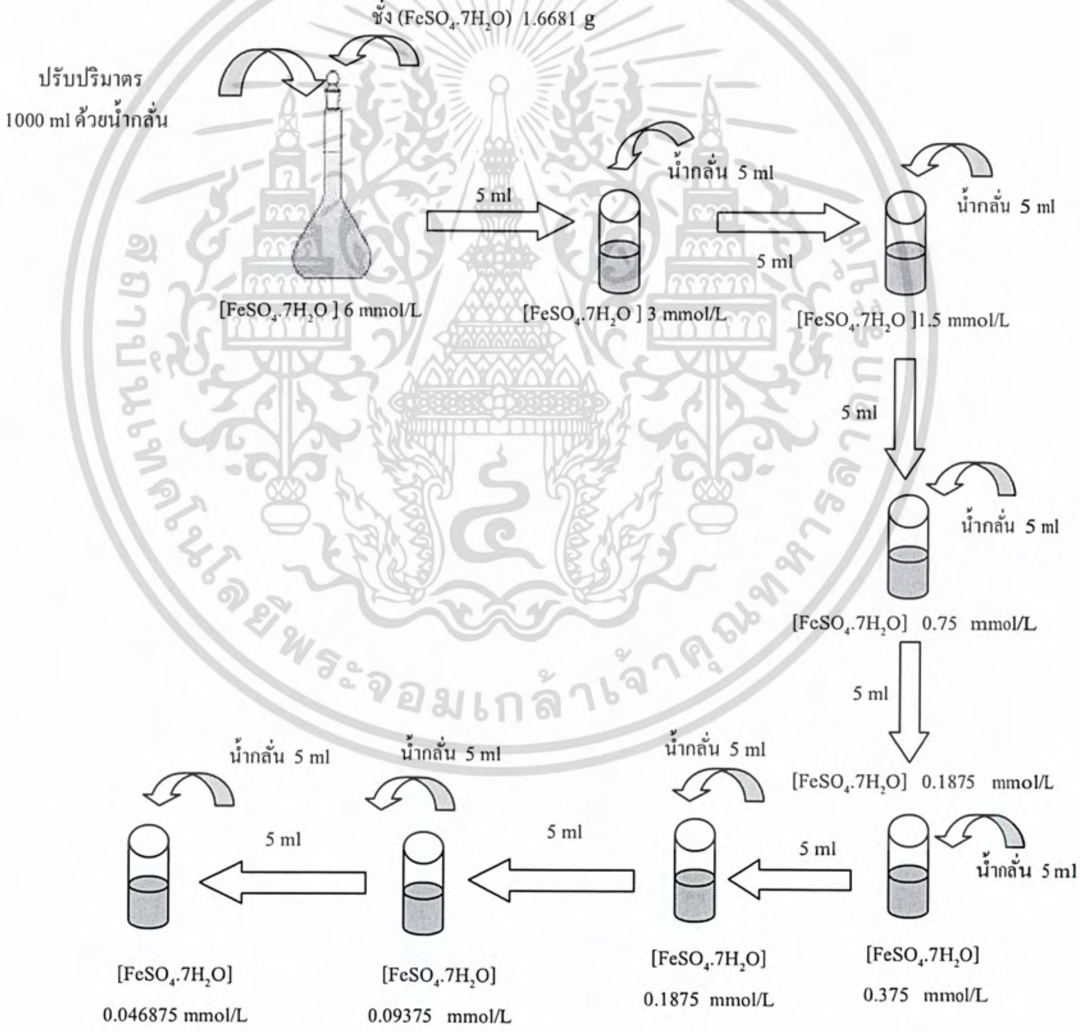
จาก มวลโมเลกุลของ $FeSO_4.7H_2O$ เท่ากับ 278.01 กรัมต่อโมล ต้องการเตรียมสารละลาย $FeSO_4.7H_2O$ ที่มีความเข้มข้น 6 mM หรือ 6 มิลลิโมลต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น 1 โมล ต้องใช้ $FeSO_4.7H_2O$ เท่ากับ 278.01 กรัมต่อลิตร

เตรียมสารละลายความเข้มข้น $6x10^{-3}$ โมล ต้องใช้ $FeSO_4.7H_2O$ เท่ากับ 1.6681 กรัมต่อลิตร

สารละลาย $FeSO_4.7H_2O$ ความเข้มข้น 6 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ต้องชั่ง $FeSO_4.7H_2O$ เท่ากับ 1.6681 กรัม

เพราะฉะนั้น ทำการชั่ง $FeSO_4.7H_2O$ เท่ากับ 1.6681 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย $FeSO_4.7H_2O$ ความเข้มข้น 6 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

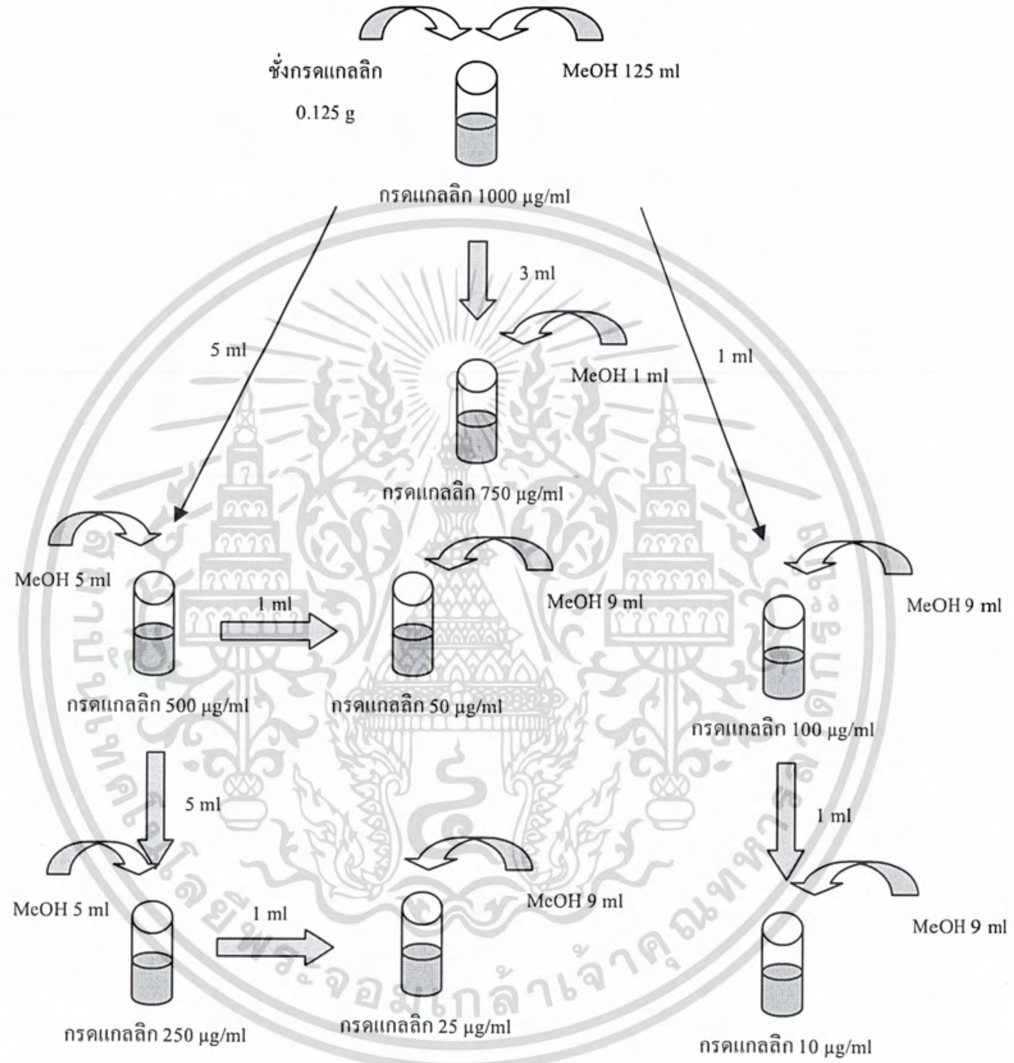



**รูป** การเตรียมสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**6.3 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก**

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนี้

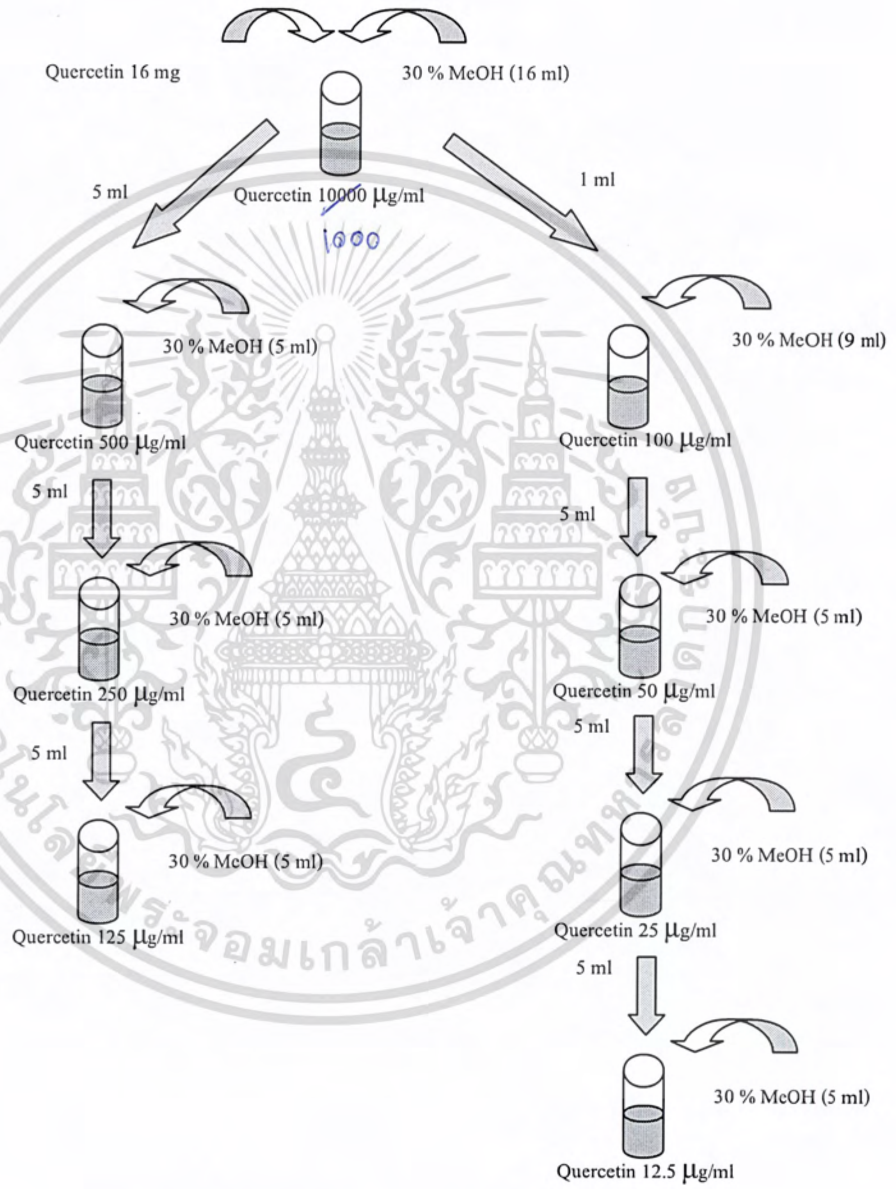



**รูป** การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**6.4 สารละลายมาตรฐานควอซิทิน**

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายควอซิทิน ที่ความเข้มข้น 1000, 500, 250, 125, 100, 50, 25 และ 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการเตรียม ดังนี้




**รูป** การเตรียมสารละลายมาตรฐานควอซิทิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ค

## การคำนวณ

**1. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาคุณสมบัติการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของสารสกัดจากสมุนไพรไทย**

**ตัวอย่าง** การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของกาแลนทามีน (Galanthamine) คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตรของหลอดควบคุมและหลอดกาแลนทามีนแทนค่าลงในสูตรหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ดังนี้

| หลอด | $O.D_{412}$ |
|---|---|
| ควบคุม (control) | 0.153 |
| กาแลนทามีน (ความเข้มข้น 1 mg/ml) | 0.032 |
| Blank | 0 |

**สูตรการคำนวณ**

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ AChE} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

เมื่อ $A_{\text{ตัวอย่าง}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหรือตัวอย่าง

$A_{\text{ควบคุม}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม (control)

**แทนค่าลงในสูตร**

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ AChE} = 100 \times (A_{\text{ควบคุม}} - A_{\text{ตัวอย่าง}}) / A_{\text{ควบคุม}}$$

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ AChE} = 100 \times (0.153 - 0.032) / 0.153$$

$$\% \text{ การยับยั้งเอนไซม์ AChE} = 79.08$$

**เพราะฉะนั้น** กาแลนทามีนมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส เท่ากับ 79.08

**2. การคำนวณสำหรับวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay**

ในการเตรียมกราฟมาตรฐานของสารเฟอรัสซัลเฟตทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดจากสมุนไพรไทย ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตเข้มข้น 6 มิลลิโมลต่อลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 6 มิลลิโมลต่อลิตร อยู่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟต เท่ากับ

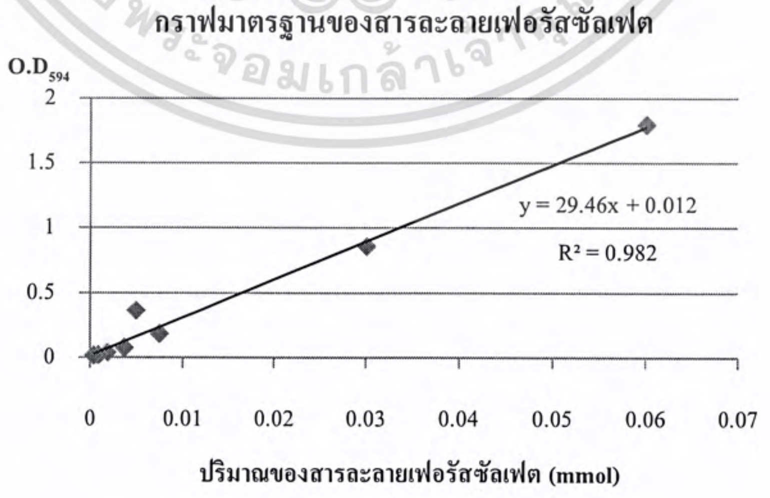
$$\frac{6\ \text{mmol} \times 100\ \mu l}{1000\ \mu l} = 0.06\ \text{mmol}$$

<u>สารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตความเข้มข้น 3 มิลลิโมลต่อลิตร อยู่ในปริมาตร 100 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟต เท่ากับ

$$\frac{3\ \text{mmol} \times 100\ \mu l}{1000\ \mu l} = 0.03\ \text{mmol}$$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานเฟอรัสซัลเฟตที่ความเข้มข้น 6, 3, 1.5, 0.75, 0.375, 0.1875, 0.09375 และ 0.046875 มิลลิโมลต่อลิตร ใช้ในการทดลองปริมาตร 100 ไมโครลิตร จะมีเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตอยู่ในหลอด เท่ากับ 0.06, 0.03, 0.005, 0.0075, 0.00375, 0.001879, 0.0009375 และ 0.0004688 มิลลิโมลตามลำดับ ทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของเฟอรัสซัลเฟตในหน่วยมิลลิโมล ได้ดังนี้




รูป กราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอรัสซัลเฟต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตัวอย่าง** การคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารสกัดจากสีเสียดเทศคิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตรของสีเสียดเทศแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ดังนี้

สารสกัดจากสีเสียดเทศ มีค่า $\mathbf{O.D_{594}}$ เท่ากับ 2.289

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของเฟอรัสซัลเฟต

$$y = 29.46x + 0.012$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารเฟอรัสซัลเฟต (มิลลิโมล)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 594 นาโนเมตร

แทนค่า

$$y = 29.467x + 0.0129$$

$$2.289 = 29.467x + 0.0129$$

$$x = \frac{2.289 - 0.0129}{29.467}$$

$$x = 0.077242 \quad \text{มิลลิโมล/0.1 มิลลิกรัมสารสกัด}$$

หมายเหตุ: ในการทดลองได้ใช้สารสกัดจากสมุนไพรไทยที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในปริมาตร 0.1 มิลลิกรัม (100 ไมโครลิตร) เพราะฉะนั้นในหลอดจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัด เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ดังนั้นค่าที่คำนวณได้ข้างต้นจึงมีหน่วยเป็นมิลลิโมลของเฟอรัสซัลเฟตต่อ 0.1 กรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณสาร Fe (II) ในหลอดสารสกัด 0.1 mg เทียบเท่ากับมีปริมาณ Fe (II) ในหลอดสารเฟอรัสซัลเฟตมาตรฐาน เท่ากับ 0.077242 mmol

ถ้าปริมาณสาร Fe (II) ในหลอดสารสกัด 1000 mg เทียบเท่ากับมีปริมาณ Fe (II) ในหลอดสารเฟอรัสซัลเฟตมาตรฐาน เท่ากับ $\frac{0.077242 \times 1000}{0.1}$ mmol = 772.42 mmol

**เพราะฉะนั้น** สารสกัดจากสีเสียดเทศมีค่าความสมารถในการรีดิวซ์ (reducing power) เท่ากับ 772.42 มิลลิโมลของ Fe (II) ต่อกรัมของสารสกัด

**3. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัด**

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารละลายมาตรฐานที่ใช้ คือกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดจากสมุนไพรไทย ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานของกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก ดังนี้

เอกสารนี้...ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ

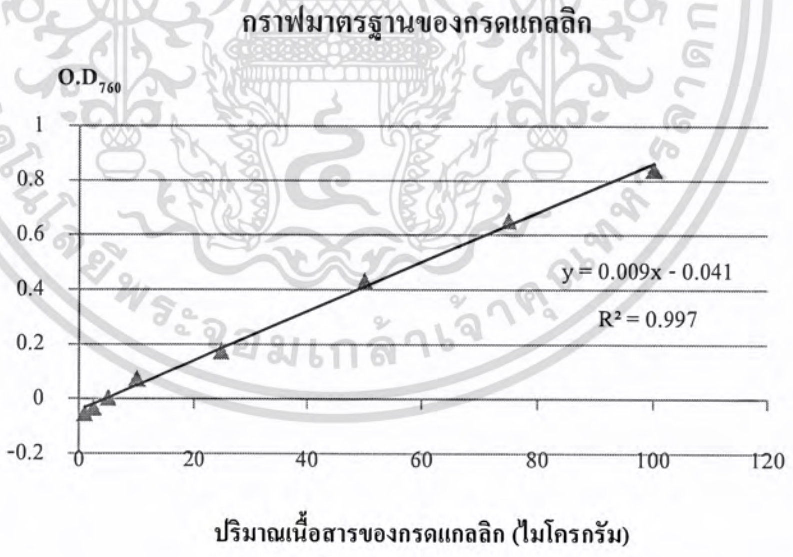
$$\frac{1000\ \mu g \times 0.1\ ml}{1\ ml} = 100\ \mu g$$

<u>สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ

$$\frac{750\ \mu g \times 0.1\ ml}{1\ ml} = 75\ \mu g$$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ในการทดลองปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกอยู่ในหลอด เท่ากับ 100, 75, 50, 25, 10, 5, 2.5 และ 1 ไมโครกรัมตามลำดับ ทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม ได้ดังนี้




**รูป** กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร และปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตัวอย่าง** การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากสีเสียดเทศคิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรของสีเสียดเทศแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ดังนี้

สารสกัดจากสีเสียดเทศ มีค่า $\mathbf{O.D}_{760}$ เท่ากับ 0.672

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

$$y = 0.009x - 0.041$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

แทนค่า

$$y = 0.009x - 0.041$$

$$0.672 = 0.009x - 0.041$$

$$x = \frac{0.672 + 0.041}{0.009}$$

$$x = 79.2222$$ ไมโครกรัมของกรดแกลลิก

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดจากสมุนไพรไทยที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัด เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยไมโครกรัมของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัด 0.1 mg เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ 79.2222 μg

ถ้าสารสกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ $\frac{79.2222 \times 1}{0.1}$ μg

$= 792.22$ μg

ถ้าสารสกัด 1000 mg เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ $\frac{792.22 \times 1000}{1000}$

$= 792.22$ mg

**เพราะฉะนั้น** สารสกัดจากสีเสียดเทศมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 792.22 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

**4. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัด**

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สารละลายมาตรฐานที่ใช้ คือ **สารควอซิทิน ที่ความเข้มข้น 1000, 500, 250, 125, 100, 50, 25 และ 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร**

เอกสารนี้เป็นการเผยแพร่ให้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดจากสมุนไพรไทย ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานของควอซิทินที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของควอซิทินดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานควอซิทินความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานควอซิทินความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 250 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารของควอซิทิน เท่ากับ

$$\frac{1000\ \mu g \times 0.25\ ml}{1\ ml} = 250\ \mu g$$

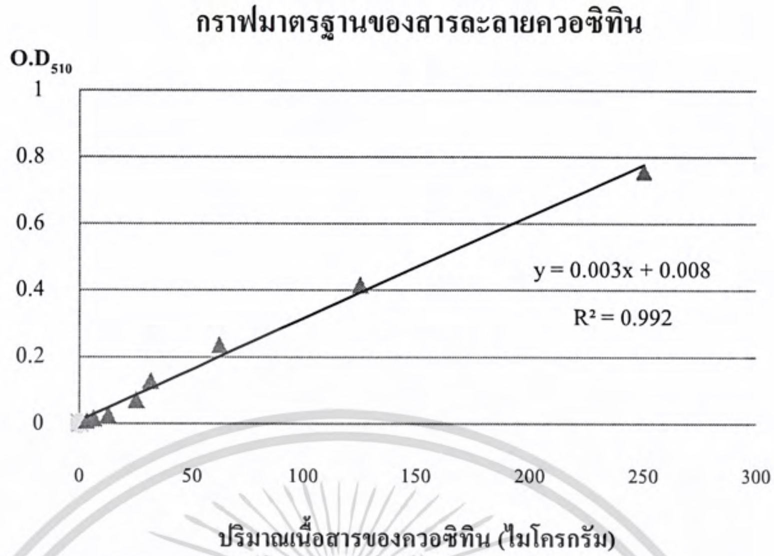
<u>สารละลายมาตรฐานควอซิทินความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานควอซิทินความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 250 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดนี้จะมีเนื้อสารของควอซิทิน เท่ากับ

$$\frac{500\ \mu g \times 0.25\ ml}{1\ ml} = 125\ \mu g$$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้น 1000, 500, 250, 125, 100, 50, 25 และ 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ในการทดลองปริมาตร 250 ไมโครลิตรจะมีเนื้อสารของควอซิทินอยู่ในหลอด เท่ากับ 250, 125, 62.5, 31.25, 25, 12.5, 6.25 และ 3.125 ไมโครกรัมตามลำดับ ทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของควอซิทินในหน่วยไมโครกรัม ได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูป** กราฟมาตรฐานของสารละลายควอซิทินสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรและปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน (ไมโครกรัม)

**ตัวอย่าง** การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากสีเสียดเทศคิดได้ โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของสีเสียดเทศแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของควอซิทิน ดังนี้

สารสกัดจากสีเสียดเทศ มีค่า **$O.D_{510}$** เท่ากับ 1.792

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของควอซิทิน

$$y = 0.0031x - 0.0084$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

แทนค่า

$$y = 0.0031x - 0.0084$$

$$1.792 = 0.0031x - 0.0084$$

$$x = \frac{1.792 + 0.0084}{0.0031}$$

$$x = 575.3548$$ ไมโครกรัมของควอซิทิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดจากสมุนไพรไทยที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในปริมาตร 250 ไมโครลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัด เท่ากับ 0.25 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยไมโครกรัมของควอซิทินต่อมิลลิกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัด 0.25 mg เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน เท่ากับ 575.3548 μg

ถ้าสารสกัด 1 mg เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน เท่ากับ $\frac{575.3548 \times 1}{0.25}$ μg

= 2,301.4192 μg

ถ้าสารสกัด 1000 mg เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน เท่ากับ $\frac{2,301.4192 \times 1000}{1000}$ μg

= 2,301.4192 μg

**เพราะฉะนั้น** สารสกัดจากสีเสียดเทศมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 2,301.4192 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตาราง** ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของ Amphotericin B และ Penicillin G ด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method)

| ชนิดของจุลินทรีย์ | เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± SD | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Amphotericin B (mg/ml) | | | | Penicillin G (U/ml) | | | | | |
| | 10 | 5 | 2.5 | 1.25 | $10^6$ | $10^5$ | $10^4$ | $10^3$ | $10^2$ | 10 |
| **เชื้อยีสต์** | | | | | | | | | | |
| *Candida lipolytica* | 12.67 ± 0.58 | 12.67 ± 0.58 | 12.33 ± 0.58 | 12.33 ± 0.58 | -[b] | - | - | - | - | - |
| *Debaryomyces hansenii* | 11.00 ± 0.00 | 11.00 ± 0.00 | 10.00 ± 0.00 | 10.00 ± 0.58 | - | - | - | - | - | - |
| *Hanseniaspora uvarum* | 13.67 ± 0.58 | 12.33 ± 0.58 | 12.33 ± 0.58 | 12.33 ± 0.58 | - | - | - | - | - | - |
| *Pichia membranaefaciens* | 10.67 ± 0.00 | 10.67 ± 0.58 | 10.33 ± 0.58 | 10.33 ± 0.58 | - | - | - | - | - | - |
| *Rhodotorula glutinis* | 20.00 ± 1.00 | 14.33 ± 0.58 | 14.00 ± 0.00 | 10.00 ± 1.00 | 20.00 ± 0.00 | 13.00 ± 0.00 | 11.00 ± 0.00 | 11.00 ± 0.00 | 11.00 ± 0.00 | 10.00 ± 0.00 |
| *Saccharomyces cerevisiae* | 10.33 ± 0.58 | 10.00 ± 0.00 | 10.00 ± 0.00 | 9.67 ± 0.58 | - | - | - | - | - | - |
| *Schizosaccharomyces pombe* | 20.00 ± 0.00 | 15.00 ± 0.00 | 10.00 ± 0.00 | 7.00 ± 0.00 | 20.00 ± 0.00 | 12.00 ± 0.00 | 9.00 ± 0.00 | 7.00 ± 0.00 | 7.00 ± 0.00 | 6.50 ± 0.00 |
| *Zygosaccharomyces rouxii* | 15.00 ± 0.00 | 14.33 ± 0.58 | 14.33 ± 1.15 | 14.33 ± 0.58 | - | - | - | - | - | - |
| **เชื้อแบคทีเรีย** | | | | | | | | | | |
| *Acetobacter aceti* | 10.00 ± 0.00 | 10.00 ± 0.00 | 9.00 ± 0.00 | 8.00 ± 0.00 | 30.00 ± 0.00 | - | - | - | - | - |
| *Lactobacillus casei* | 10.00 ± 0.00 | 10.00 ± 0.00 | 10.00 ± 0.00 | - | - | - | - | - | - | - |
| *Lactobacillus plantarum* | 10.00 ± 0.00 | 5.00 ± 0.00 | 9.00 ± 0.00 | - | - | - | - | 27.00 ± 0.00 | 14.00 ± 0.00 | - |
| *Leuconostoc mesenteroides* | 10.00 ± 0.00 | 9.00 ± 0.00 | 8.00 ± 0.00 | - | - | - | - | 25.00 ± 0.00 | 18.00 ± 0.00 | - |

[a]ค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ; [b]ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส < 6 มม.)