กิจกรรมของสมุนไพรไทยในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร และการคัดเลือกสมุนไพรไทยที่มีคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติก

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THAI MEDICINAL PLANTS AGAINST PATHOGENIC BACTERIA IN GASTROINTESTINAL TRACT AND SCREENING OF THAI MEDICINAL PLANTS FOR THEIR PREBIOTIC PROPERTIES

นายณัฐกร คุณเจริญ

นางสาวเบญจรัตน์ ฤทธิ์จรูญ

นางสาวปวีณา สุขเจริญ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2556

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THAI MEDICINAL PLANTS AGAINST PATHOGENIC BACTERIA IN GASTROINTESTINAL TRACT AND SCREENING OF THAI MEDICINAL PLANTS FOR THEIR PREBIOTIC PROPERTIES

NATTAKORN KUNCHAROEN
BENJARAT RITCHAROON
PAWEENA SUKCHAROEN

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 2013

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ กิจกรรมของสมุนไพรไทยในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร และการคัดเลือกสมุนไพรไทยที่มีคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติก

Antimicrobial activity of Thai medicinal plants against pathogenic bacteria in gastrointestinal tract and screening of Thai medicinal plants for their prebiotic properties

ชื่อนักศึกษา นายณัฐกร คุณเจริญ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 53051354

นางสาวเบญจรัตน์ ฤทธิ์จรูญ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 53051395

นางสาวปวีณา สุขเจริญ นักศึกษาชั้นปีที่ 4 รหัส 53051397

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา พ.ศ. 2556

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2556

คณะกรรมการสอบ		ลายมือชื่อ
กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ		
ประธานกรรมการ	ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์	
กรรมการ	ดร. สุทธิจิต ศรีวัชรกุล	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	กิจกรรมของสมุนไพรไทยในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร และการคัดเลือกสมุนไพรไทยที่มีคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติก
ชื่อนักศึกษา	นายณัฐกร คุณเจริญ
	นางสาวเบญจรัตน์ ฤทธิ์จรูญ
	นางสาวปวีณา สุขเจริญ
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา	พ.ศ. 2556
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ได้นำสารสกัดหยาบจากสมุนไพรทั้งหมด 25 ชนิดซึ่งสกัดด้วยเมทานอลมาศึกษากิจกรรมการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารและสมบัติทางพฤกษเคมีบางประการ เช่น การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และสารประกอบแทนนินทั้งหมด สารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคเรียก่อโรคได้ดี คือ สารสกัดจากโกฐน้ำเต้า (*Rheum palmatum*) มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*) ผลมะกอก (*Spondias pinnata*) ว่านนางคำ (*Curcuma aromatica*) เบญจกานี (*Quercus infectoria*) และชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata*) โดยเชื้อแบคทีเรียใช้อากาศที่มีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากสมุนไพรคือเชื้อ *Yersinia enterocolitica* โดยถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบจากเบญจกานีและว่านนางคำได้ดีที่สุด (MIC เท่ากับ 0.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนแบคทีเรียไม่ใช้อากาศที่มีความไวต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากสมุนไพรคือ *Porphyromonas gingivalis* โดยถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้า ว่านนางคำ เปราะหอม และชุมเห็ดเทศได้ดีที่สุด (MIC เท่ากับ 0.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สารสกัดหยาบจากเบญจกานี มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบแทนนินมากที่สุด (672.13 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดและ 884.79 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ) ขณะที่สารสกัดหยาบจากเปลือกนนทรี (*Peltophorum pterocarpum*) มีสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด (5,293.60 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด) นอกจากนี้ยังได้คัดเลือกสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่มีปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ปริมาณสูงจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากโกฐน้ำเต้า ผลฟักข้าว รากฟักข้าว หญ้าแห้วหมูและเปลือกมังคุดมาศึกษาสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติก ผลปรากฏว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุด (*Garcinia mangostana*) ซึ่งมีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้และสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในปริมาณ 411.64 และ 201.75 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ โดยสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus* ได้ดีที่สุดในอาหารเหลว MRS หลังจากการหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น 2.93 logCFU ต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดหยาบจากหญ้าแห้วหมู (*Cyperus rotundus*) รากฟักข้าว (*Momordica cochinchinensis*) และผลฟักข้าวนั้นช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียชนิดนี้ได้ค่อนข้างดี (จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น 2.38 ถึง 2.63 logCFU ต่อมิลลิลิตร) อย่างไรก็ตามสารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้ามีผลทำให้การเจริญของ *L. acidophilus* เพิ่มขึ้นน้อยที่สุด

คำสำคัญ: สมุนไพรไทย วิธีการแพร่บนอาหารวุ้น แบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร กิจกรรมการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antimicrobial activity of Thai medicinal plants against pathogenic bacteria in gastrointestinal tract and screening of Thai medicinal plants for their prebiotic properties
Students	Mr. Nattakorn Kuncharoen
	Miss Benjarat Ritcharoon
	Miss Paweena Sukcharoen
Degree	Bachelor of Science
Major	Industrial Microbiology
Academic Year	2013
Advisor	Associate Professor Dr. Suree Nanasombat

ABSTRACT

In this study, the methanolic crude extracts from 25 Thai medicinal plants were tested for their antimicrobial activities on gastrointestinal pathogenic bacteria and some phytochemical properties (i.e. total phenolic, flavonoid and tannin contents). The extracts from rhubarb (*Rheum palmatum*), Indian gooseberry (*Phyllanthus emblica*), hog plum (*Spondias pinnata*), wan nang kham (*Curcuma aromatica*), aleppo oak (*Quercus infectoria*) and ringworm bush (*Cassia alata*) showed strong antimicrobial activities against pathogenic bacteria tested. The most susceptible aerobic bacterial strain, *Yersinia enterocolitica*, was inhibited by *Q. infectoria* and *C. aromatica* extracts at the minimum inhibitory concentration (MIC) of 0.32 mg/mL while the most vulnerable anaerobic bacterial strain, *Porphyromonas gingivalis*, was inhibited by *R. palmatum, C. aromatica, Kaempferia galanga* and *C. alata* extracts at the MIC (0.32 mg/mL). The aleppo oak (*Q. infectoria*) extract had the highest total phenolic and tannin contents (672.13 mg GAE/g extract and 884.79 mg TAE/g extract, respectively) whereas the copper pod (*Peltophorum pterocarpum*) extract had the highest flavonoid (5,293.60 mg QE/g extract). In addition, five plant

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

extracts with high water soluble carbohydrate content were selected for their prebiotic properties. The extract of mangosteen (*Garcinia mangostana)* with high water soluble carbohydrate and indigestible polysaccharide (411.64 and 201.75 mg/g extract, respectively) was the most effective plant extract to stimulate the growth of *Lactobacillus acidophilus* in MRS broth after fermentation for 24 hours (2.93 log CFU/mL increase from initial cell number) while the extract of nut grass (*Cyperus rotundus*) and gac fruit (*Momordica cochinchinensis*) also enhanced growth of this bacteria in MRS broth showing 2.38-2.63 logCFU/mL. However, *R. palmatum* extract affected the low increasing of *L. acidophilus*.

Keyword: Thai medicinal plants, disc diffusion method, gastrointestinal pathogenic bacteria, antimicrobial activities

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษารองศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์นานาสมบัติ ที่ให้คำแนะนำตลอดจนได้ทำการถ่ายทอดความรู้ และประสบการณ์ในการปฏิบัติงานที่ดีให้แก่ผู้จัดทำ ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษ ดร. วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ และ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการสอบโครงงานพิเศษรวมทั้งคำแนะนำ ตรวจสอบ ชี้แนะในการแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมืออุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการต่างๆ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่กรุณาให้ใช้สถานที่เพื่อปฏิบัติงานวิจัยและอำนวยความสะดวกในการติดต่อประสานงาน

ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาของผู้จัดทำที่เป็นกำลังใจ และให้คำปรึกษาในการทำโครงงานพิเศษนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนและพี่ๆ ทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่อง ให้ข้อคิดเห็น กำลังใจ และมิตรภาพที่ดีตลอดมา

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าโครงงานพิเศษฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้ในโครงงานพิเศษนี้

นายณัฐกร คุณเจริญ

นางสาวเบญจรัตน์ ฤทธิ์จรูญ

นางสาวปวีณา สุขเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	V
สารบัญ	VI
สารบัญรูป	XII
สารบัญตาราง	XIV
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการทดลอง	5
1.3 ขอบเขตของการทดลอง	5
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
บทที่ 2ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
2.1 สมุนไพร	6
2.2 องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพร	7
2.2.1 คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)	7
2.2.1.1 น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว	8
2.2.1.2 โอลิโกแซคคาไรด์	8
2.2.1.3 โพลีแซคคาไรด์	9
2.2.2 สารประกอบอะโรมาติก (aromatic compound)	9
2.2.2.1 ฟีนอล	9
2.2.3 ซาโปนิน	17
2.2.4 อัลคาลอยด์	17
2.3 สมุนไพรที่ใช้ในการวิจัย	19
2.3.1 กระถิน	19
2.3.2 โกฐน้ำเต้า	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.3.3 โกฐพุงปลา	20
2.3.4 คาง	20
2.3.5 แค (แคบ้าน)	21
2.3.6 เจตมูลเพลิงแดง	22
2.3.7 ชุมเห็ดเทศ	22
2.3.8 ทับทิม	23
2.3.9 นนทรี	23
2.3.10 เบญจกานี	24
2.3.11 ปอบิด	25
2.3.12 เปราะหอม	25
2.3.13 พลูคาว	26
2.3.14 ฟักข้าว	26
2.3.15 มะกอก	27
2.3.16 มะขามป้อม	28
2.3.17 มังคุด	28
2.3.18 ว่านนางคำ	29
2.3.19 ว่านน้ำ	29
2.3.20 ส้มป่อย	30
2.3.21 สมอไทย	31
2.3.22 สมอพิเภก	31
2.3.23 หญ้าฝรั่น	32
2.3.24 หญ้าแห้วหมู	32
2.4 แบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร	33
2.4.1 *Bacillus cereus*	33
2.4.2 *Enterobacter aerogenes*	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.4.3 *Escherichia coli*	35
2.4.4 *Helicobacter pylori*	35
2.4.5 *Klebsiella pneumoniae*	36
2.4.6 *Porphyromonas gingivalis*	37
2.4.7 *Listeria monocytogenes*	38
2.4.8 *Salmonella* Rissen และ *Salmonella* Typhimurium	39
2.4.9 *Staphylococcus aureus*	40
2.4.10 *Yersinia enterocolitica*	41
2.5 พรีไบโอติก	41
2.5.1 แหล่งที่มาและชนิดของสารพรีไบโอติก	43
2.5.1.1 สารพรีไบโอติกที่พบทางธรรมชาติ	43
2.5.1.2 สารพรีไบโอติกที่ได้จากการสังเคราะห์	45
2.5.2 คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อย (Non-digestible carbohydrate)	47
2.5.3 ประโยชน์ของสารพรีไบโอติก	47
2.6 จุลินทรีย์โพรไบโอติก	50
2.6.1 ประโยชน์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่อสุขภาพ	50
2.6.1.1 อันตรกิริยาของโพรไบโอติกต่อระบบภูมิคุ้มกัน	50
2.6.1.2 การแพ้แลคโตส	52
2.6.1.3 โรคลำไส้อักเสบ	52
2.6.1.4 การรักษาโรคในระบบทางเดินอาหาร	53
2.6.1.5 การลดระดับคลอเลสเทอรอล	53
2.6.1.6 การรักษาอาการภูมิแพ้	53
2.6.1.7 การป้องกันฟันผุ	54
2.6.1.8 การรักษาและการป้องกันมะเร็งโดยโพรไบโอติก	54
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	57
3.1 อุปกรณ์	57
3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง	57
3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง	57
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง	57
3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	59
3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	60
3.2 วิธีการทดลอง	60
3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรและการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์	60
3.2.1.1 การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรไทยด้วยเมทานอล	60
3.2.1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย	61
3.2.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	62
3.2.2.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method)	62
3.2.2.2 การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีเจือจางในอาหารแข็ง Agar dilution	63
3.2.2.3 การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์(Minimum bactericidal concentration)	65
3.2.3 การศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	65
3.2.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	65
3.2.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	67
3.2.3.4 การตรวจสอบการมีอยู่ของคาร์โบไฮเดรตในสารสกัดจากสมุนไพรไทย	68
3.2.4 การศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	68
3.2.4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้	68
3.2.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์	68
3.2.4.3 การศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีต่อการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติก	70
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	72
4.1 สมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	72
4.1.1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method)	72
4.1.2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยในการยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)	75
4.2 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	81
4.2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	81
4.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	81
4.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	82
4.2.4 การศึกษาการมีอยู่ของคาร์โบไฮเดรตของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	82
4.3 การศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	84

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	84
4.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	85
4.3.3 ผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus*	89
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	92
เอกสารอ้างอิง	94
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	104
ภาคผนวก ข การเตรียมสารละลาย	106
ภาคผนวก ค การคำนวณ	125
ภาคผนวก ง การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	139
ภาคผนวก จ ผลการทดสอบ disc diffusion และค่า MIC ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยทั้งหมดที่ทดสอบ	142
ภาคผนวก ฉ ขั้นตอนการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยต่อการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034	148
ภาคผนวก ช การตรวจสอบหาสารพฤกษเคมีบางชนิดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	149

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 สารประกอบฟีนอลอย่างง่าย	11
2.2 ฟีนอลอีเทอร์	11
2.3 ฟีนิลโพรพานอยด์	12
2.4 ฟลาโวนอล	14
2.5 ไอโซฟลาโวน	15
2.6 ฟลาวาโนน	15
2.7 แอนโทไซยานิน	15
2.8 ฟลาโวนอยด์อื่นๆ (ชาลโคน)	15
2.9 ตัวอย่างของไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน	18
2.10 ตัวอย่างของสารในกลุ่มซาโปนิน	18
2.11 ตัวอย่างของสารกลุ่มอัลคาลอยด์	18
2.12 กระถิน	19
2.13 โกฐน้ำเต้า	20
2.14 โกฐพุงปลา	20
2.15 คาง (คางแดง กางขี้มอด)	21
2.16 แคบ้าน	21
2.17 เจตมูลเพลิงแดง	22
2.18 ชุมเห็ดเทศ	23
2.19 ทับทิม	23
2.20 นนทรี	24
2.21 เบญจกานี	24
2.22 ปอบิด	25
2.23 เปราะหอม	26
2.24 พลูคาว	26
2.25 ฟักข้าว	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
2.26 มะกอก	27
2.27 มะขามป้อม	28
2.28 มังคุด	29
2.29 ว่านนางคำ	29
2.30 ว่านน้ำ	30
2.31 ส้มป่อย	30
2.32 สมอไทย	31
2.33 สมอพิเภก	32
2.34 หญ้าฝรั่น	32
2.35 หญ้าแห้วหมู	33
2.36 เชื้อ *Bacillus cereus*	34
2.37 เชื้อ *Enterobacter aerogenes*	34
2.38 เชื้อ *Escherichia coli*	35
2.39 เชื้อ *Helicobacter pylori*	36
2.40 เชื้อ *Klebsiella pneumoniae*	37
2.41 เชื้อ *Porphyromonas gingivalis*	38
2.42 เชื้อ *Listeria monocytogenes*	38
2.43 เชื้อ*Salmonella* Typhimurium	39
2.44 เชื้อ *Staphylococcus aureus*	40
2.45 เชื้อ *Yersinia enterocolitica*	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 อินนูลินและฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่พบในพืช	45
2.2 จุลินทรีย์ซึ่งถูกใช้เป็นโพรไบโอติก	51
3.1 สมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง	58
4.1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย ด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method)	73
4.2 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย ที่ความเข้มข้นต่ำสุดด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)	76
4.3 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	86
4.4 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้และปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย	88
4.5 ผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยต่อการเจริญของ *Lactobacillus acidophilus* ในอาหารเหลว MRS	90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

การติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารนั้นส่วนใหญ่มักมีความเกี่ยวข้องกับความผิดปกติของลำไส้ ซึ่งการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารนี้เป็นปัญหาใหญ่และมีความสำคัญมากในประเทศที่กำลังพัฒนา (Tekwu และคณะ, 2012) โรคที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติในระบบทางเดินอาหารได้แก่ โรคท้องร่วง โรคบิด โรคลำไส้อักเสบ และโรคปวดท้องที่มีอาการอาเจียนร่วมด้วย หรือไม่มีอาการอาเจียน สำหรับโรคท้องร่วงนั้นได้มีรายงานว่าเป็นโรคที่คร่าชีวิตเด็กแรกเกิดและเด็กเล็กในประเทศที่กำลังพัฒนา ซึ่งได้แก่ ประเทศที่อยู่ในทวีปเอเชีย แอฟริกา และละตินอเมริกา โดยเป็นสาเหตุที่ทำให้เด็กเสียชีวิตอย่างน้อย 5 พันล้านคนต่อปี (Fawole และคณะ, 2009; Tekwu, และคณะ, 2012) ซึ่งแบคทีเรียก่อโรคที่มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ เชื้อ *Campylobacter* sp., *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Vibrio cholerae*, *E. coli*, *Clostridium difficile*, *Salmonella* sp. และ *S. aureus* (Fawole และคณะ, 2009)

องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้ประเมินว่ามีผู้ป่วยโรคท้องร่วงประมาณ 2 พันล้านคนทั่วโลก ในปี ค.ศ. 2009 พบว่าโรคท้องร่วงเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตร้อยละ 6.9 ของผู้ที่เสียชีวิตทั้งหมด (Kadir และคณะ, 2013) สำหรับประเทศไทยนั้น จากสรุปรายงานการป่วยประจำปีพ.ศ. 2555 ของกระทรวงสาธารณสุขพบว่า แนวโน้มการเกิดของโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบย่อยอาหารรวมโรคติดเชื้อในช่องปาก โรคอื่นๆ ของช่องปาก และโรคกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้นอักเสบนั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ปี พ.ศ. 2551 ถึง 2555 โดยเฉพาะตามรายงานในปี พ.ศ. 2555 โรคที่เกี่ยวข้องกับระบบย่อยอาหารรวมโรคในช่องปากจัดอยู่อันดับที่ 5 จาก 10 อันดับแรกของโรคที่มีผู้ป่วยสูงสุด โดยมีอัตราการป่วยเท่ากับ 333.54 ต่อประชากร 1,000 คน และเมื่อพิจารณาตามอายุ พบว่ากลุ่มอายุที่ป่วยมากที่สุด คือ กลุ่มผู้ป่วยที่มีอายุ 60 ปีขึ้นไป รองลงมาคือช่วงอายุ 50 ถึง 59 ปี 1 ถึง 4 ปี 5 ถึง 14 ปี และ 15 ถึง 49 ปีตามลำดับ โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่จะเป็นผู้หญิงและเด็กมากกว่าผู้ชาย (สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ สำนักปลัดกระทรวงสาธารณสุข, 2555)

ปัจจุบันการรักษาผู้ป่วยที่ป่วยเป็นโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารส่วนใหญ่ มักนิยมรักษาด้วยยาปฏิชีวนะที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี อย่างไรก็ตามแม้ว่าอุตสาหกรรมยาจะมีการค้นพบยาปฏิชีวนะชนิดใหม่ได้ในปัจจุบัน แต่การต้านทานต่อยาปฏิชีวนะของจุลินทรีย์นั้นก็มีการเพิ่มสูงขึ้นด้วยเช่นกัน และเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้านทานต่อยาปฏิชีวนะยังเป็นปัญหาที่ทำให้เกิดโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่สำคัญ และยากต่อการรักษา นอกจากนี้การใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคติดเชื้อยังมีผลข้างเคียงต่อผู้ที่ใช้ยาด้วย (Tekwu และคณะ, 2012; Hemalatha และคณะ, 2013) ในอดีตได้มีการรายงานไว้ว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พืชหลายชนิดเป็นแหล่งสำคัญของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่นำมาใช้ในการรักษาสุขภาพของมนุษย์ และมีประสิทธิภาพดี ดังนั้นจึงได้มีการนำเอาสารจากพืชที่มีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์มาใช้ในการรักษาโรคแทนการใช้ยาปฏิชีวนะ เนื่องจากสารจากพืชนั้นมีความเป็นพิษต่ำ มีผลข้างเคียงต่อร่างกายน้อย และมีประสิทธิภาพสูงในการรักษา (Tekwu และคณะ, 2012; Hemalatha และคณะ, 2013)

มีรายงานการสำรวจการใช้สมุนไพรพื้นบ้านในหลายๆประเทศในการบำบัดรักษาโรคในระบบทางเดินอาหาร (Neamsuvan และคณะ, 2012; Moreno-Salazar และคณะ, 2008) โดยมีการนำสมอไทย (*Terminalia chebula*) สมอพิเภก (*Terminalia bellirica*) ทับทิม (*Punica granatum* L.) และกล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum* L.) มาใช้ในการรักษาโรคท้องร่วง (Neamsuvan และคณะ, 2012) ซึ่งการนำสมุนไพรพื้นบ้านเหล่านี้มาใช้ในการบำบัดรักษาโรคต่างๆ นั้นนำไปสู่การศึกษาทดลอง และวิจัยคุณสมบัติของสารสกัดจากพืชสมุนไพร และเครื่องเทศในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งได้มีรายงานว่าสารสกัดหลายชนิด เช่น อบเชย (*Cinnamomum cassia*) กานพลู (*Eugenia caryophylata*) โหระพา (*Ocimum basilicum* L.) ทับทิม สมอพิเภก และออริกาโน (*Origanum vulgare*) นั้นมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* และ *S. aureus* ซึ่งเป็นเชื้อที่ก่อโรคอาหารเป็นพิษ และเชื้อ *E. coli* ที่เป็นสาเหตุของโรคท้องร่วง (Shan และคณะ, 2007) นอกจากนี้ยังได้มีรายงานว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยหลายชนิดสามารถต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella* Typhimurium ได้เช่น สารสกัดหยาบจากส้มแขก (*Gracinia atroviridis*) ข่า (*Alpinia galangal* Wild.) ออริกาโน (Weerakkody และคณะ, 2010) มะเม่า (*Antidesma ghaesembilla*) และชะมวง (*Gracinia cowa*) เป็นต้น (Sakunpak และ Panichayupakaranant, 2012)

นอกจากเชื้อแบคทีเรียต่างๆ ที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วงหรือโรคในระบบทางเดินอาหารอื่นๆที่ได้กล่าวไปข้างต้นแล้วนั้น ยังมีเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งซึ่งก็คือเชื้อแบคทีเรีย *Helicobacter pylori* เชื้อ *H. pylori* (เดิมเรียกว่า *Campylobacter pyloridis*) ถูกค้นพบขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1982 ปัจจุบันเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* เป็นสาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดโรคกระเพาะอาหาร (gastritis) และแผลในกระเพาะอาหาร (peptic ulcer) รวมทั้งยังเป็นปัจจัยเสี่ยงที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร (gastric malignancy) อีกด้วย (Hamilton-Miller, 2003) เชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* นี้เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย (microaerophilic) โดยมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 30 ถึง 37 องศาเซลเซียส แต่ก็สามารถที่จะพบการเจริญที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียสได้เช่นกัน สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลาหลายเส้นที่อยู่บริเวณขั้วเซลล์ (Velázquez และ Feirtag, 1999) ซึ่งอัตราการติดเชื้อ *H. pylori* นี้ได้เพิ่มสูงขึ้นในประเทศที่กำลังพัฒนามากกว่าในประเทศที่พัฒนาแล้ว โดยพบว่ามีอัตราการติดเชื้อในผู้ใหญ่ในประเทศที่พัฒนาแล้วประมาณร้อยละ 20 ถึงร้อยละ 50 และในประเทศที่กำลังพัฒนามีอัตราการติดเชื้อถึงร้อยละ 80 (Patel และคณะ, 2013) ในปัจจุบันการรักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อที่เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จาก *H. pylori* นั้นนิยมรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ ซึ่งหนึ่งในวิธีการรักษาก็คือวิธี triple therapy เป็นการรักษาที่ประกอบด้วยยาปฏิชีวนะในกลุ่มมาร์โคไลเดส (macrolides) เช่น ยาปฏิชีวนะคลาริโทรมัยซิน (clarithromycin) หรือยาปฏิชีวนะในกลุ่มอินโทรอิมิดาโซล (introimidazoles) เช่น เมโทรนิดาโซล (metronidazole) ร่วมกับยาต้านเชื้อแบคทีเรียอื่น ได้แก่ ยาแอมมอกซีซิลลิน (amoxicillin) ยาลดกรดกลุ่ม proton pump inhibitor (PPI) ร่วมด้วย โดยลำดับในการรักษานั้นจะเริ่มจากการให้ยาลดกรด PPI ร่วมกับยาต้านเชื้อแบคทีเรียแอมมอกซีซิลลินเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นทำการให้ยาลดกรด PPI ต่ออีกเช่นเดิม ร่วมกับยาปฏิชีวนะคลาริโทรมัยซิน และทินิดาโซล (tinidazole) เป็นเวลา 5 วัน เป็นต้น (Asha และคณะ, 2013; ภัทรชัย, 2552) ซึ่งยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาเหล่านี้มักมีผลข้างเคียงต่อผู้ใช้หรือที่เรียกว่าอาการแพ้ยา เช่น อาการท้องเสีย และลำไส้อักเสบ นอกจากนี้ยาปฏิชีวนะนั้นยังมีผลทำลายเชื้อได้น้อยเนื่องจากการดื้อยาของเชื้อนั่นเอง (Tabak และคณะ, 1999) จึงได้มีการนำสารจากพืชหลายชนิดมาใช้ในการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อ *H. pylori* เพื่อลดปัญหาที่เกิดขึ้นจากการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาดังกล่าว โดยได้มีรายงานไว้ว่าพืชสมุนไพรหลายชนิดนั้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* ได้ เช่น ชะเอมเทศ (*Glycyrrhiza glabra*) (Asha และคณะ, 2013) ผลสมอไทย (Malekzadeh และคณะ, 2001) อบเชย (Tabak และคณะ, 1999) มะเม่า (Sakunpak และ Panichayupakaranant, 2012) ข่า ขมิ้นอ้อย (*Curcuma amada* Roxb.) และขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) เป็นต้น (Zaidi และคณะ, 2009)

ปัจจุบันนอกจากโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของลำไส้แล้ว โรคในช่องปาก (oral diseases) เช่น โรคฟันผุ (dental caries) และโรคปริทันต์ (periodontitis) นั้นกลายมาเป็นปัญหาเกี่ยวกับสุขภาพหลักทั่วโลก ถึงแม้ว่ามะเร็งในช่องปากและคอหอย และรอยหรือแถบของโรค (oral tissue lesions) นั้นจะมีความสำคัญด้วยเช่นกันก็ตาม ความเกี่ยวข้องกันระหว่างโรคในช่องปากกับกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นภายในช่องปากนั้นได้ถูกพบขึ้น โดยมากกว่า 750 สปีชีส์ของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในช่องปากนั้นส่วนใหญ่มักมีความเกี่ยวข้องกับโรคในช่องปาก เช่น โรคฟันผุ ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่สามารถสร้างและทนกรด (acidogenic and aciduric Gram-positive bacteria) โดยส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มของ mutans streptococci (*Streptococcus mutans* และ *S. sobrinus*), lactobacilli และ actinomycetes ที่สามารถเมแทบอไลซ์ซูโครสไปเป็นกรดอินทรีย์ (ส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติก) ซึ่งจะละลายแคลเซียมและฟอสเฟตในฟัน ทำให้เกิดการลดลงของแคลเซียมและเกิดฟันผุในที่สุด ในทางตรงกันข้ามโรคปริทันต์นั้นเป็นโรคที่เกิดบริเวณใต้เหงือก (subgingival) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับแบคทีเรียแกรมลบที่ไม่ใช้อากาศ โดยหนึ่งในแบคทีเรียที่สำคัญซึ่งเป็นสาเหตุของโรคนี้คือเชื้อแบคทีเรีย *Porphyromonas gingivalis* (Palombo, 2011) ซึ่งแบคทีเรียชนิดนี้นั้นสามารถหลั่งเอนไซม์โปรติเอสออกมานอกเซลล์เพื่อใช้ย่อยสลายเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) และโมเลกุลที่ใช้ในการต้านเชื้อโรค (host-defence molecules) ได้ (Bakri และ Douglas, 2005) โดยการติดเชื้อนี้เป็นสาเหตุของการอักเสบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บริเวณเหงือก (Palombo, 2011) ได้มีรายงานเกี่ยวกับการใช้พืชสมุนไพรและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในการรักษาโรคในช่องปาก อนุพันธ์ของพืชที่ใช้นั้นถูกนำมาใช้ในการรักษาแบบพื้นบ้าน รวมทั้งได้เคยมีการบันทึกไว้ในตำรับยาว่าเป็นสารที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ และไม่นานมานี้ได้มีการนำพืชสมุนไพรมาทดสอบประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในช่องปาก เช่น การใช้สารสกัดจากกระเทียมมายับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *P. gingivalis* เป็นต้น (Palombo, 2011)

นอกจากนี้ยังได้มีรายงานว่าพืชสมุนไพร ผัก ผลไม้และเครื่องเทศบางชนิด เช่น กระเทียม แก่นตะวัน กล้วย ขมิ้นชันและมะระขี้นก มีสารพรีไบโอติกประเภทคาร์โบไฮเดรต อาทิ ฟรุกโตโอลิโก-แซคคาไรด์หรืออินนูลินเป็นองค์ประกอบ (Judprasong และคณะ, 2011) ซึ่งมีความสามารถในการทนต่อการถูกย่อยในระบบทางเดินอาหารได้ (Wichienchot และคณะ, 2011) โดยสารพรีไบโอติกจัดเป็นสารคาร์โบไฮเดรตกลุ่มพิเศษและเป็นเส้นใยซึ่งไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหารและในลำไส้ใหญ่ สารเหล่านี้ได้เกิดการหมักและส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ (Van den Ende และคณะ, 2011) แบคทีเรียที่เป็นประโยชน์นี้อาจเรียกว่าแบคทีเรียโพรไบโอติก ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่ส่งผลต่อเจ้าบ้าน (host) ในทางที่เป็นประโยชน์ โดยการปรับปรุงสมดุลของผนังลำไส้และระบบภูมิคุ้มกัน อีกทั้งยังช่วยปรับปรุงสมดุลของจุลินทรีย์และสารอาหารภายในระบบทางเดินอาหารอีกด้วย (Penner และคณะ, 2005) จุลินทรีย์โพรไบโอติกส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria) ในกลุ่มที่หลากหลาย ได้แก่ *Lactobacillus*, *Enterococcus* และกลุ่ม Bifidobacteria โดยโพรไบโอติกเหล่านี้จะมีการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันโดยเฉพาะแบคทีเรียก่อโรคและส่งเสริมกิจกรรมต่างๆ ที่มีความเกี่ยวข้องกับความสามารถในการติดเชื้อ (Saad และคณะ, 2013) อีกทั้งผลิตภัณฑ์สุดท้ายของเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจะเป็นกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid) หลายชนิดและโดยเฉพาะกรดแลคติก ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทั้งไวรัส โปรโตซัวและแบคทีเรียที่ก่อโรคทางเดินอาหารที่รุนแรงได้ เนื่องด้วยผลิตภัณฑ์เหล่านี้อาจช่วยลดพีเอชในลำไส้ให้ต่ำกว่าระดับที่จุลินทรีย์ก่อโรคจะเจริญแข่งขันได้ (Gibson, 2004)

จากการศึกษาหลายการศึกษาได้รายงานว่าเส้นใยจากผักบางชนิด เช่น เส้นใยจากฟักเขียว (*Benincasa hispida*) อาจมีผลช่วยในการส่งเสริมการเจริญของ *Lactobacillus fermentum* และ *Bifidobacterium breve* ได้ดีเนื่องจากพบการสร้างกรดไขมันสายสั้น 2 ชนิด ได้แก่ กรดแอซีติกและกรดโพรพิโอนิกในปริมาณสูง และเส้นใยจากจากน้ำเต้า (*Lagenaria siceraria*) อาจช่วยส่งเสริมการเจริญของ *B. breve* ได้ดีเช่นกัน เนื่องจากพบการสร้างกรดแอซีติกเพียงชนิดเดียวได้ในปริมาณสูง (Sreenivas และ Lele, 2013) อีกทั้งยังมีรายงานว่าในสารสกัดจากผลไม้ เช่น สารสกัดจากแก้วมังกรอันประกอบด้วยโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งเป็นส่วนช่วยในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* และ *Bifidobacterium bifidum* ได้ (Wichienchot และคณะ, 2010) นอกจากผักผลไม้ที่สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกแล้ว ยังมีรายงานไว้ว่าสมุนไพร เช่นสารสกัดจากดอกแค (*Sesbania grandiflora*) ซึ่งมีสารประกอบรูทิน (rutin) อันเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลักซึ่งเป็นส่วนประกอบที่มีบทบาทสำคัญในการช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* และยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค เช่น *Bacillus cereus* และ *Salmonella* Typhi ได้ดีอีกด้วย (China และคณะ, 2012) อย่างไรก็ตามยังมีสมุนไพรไทยอีกหลายชนิดที่ยังไม่มีการศึกษาวิจัยในด้านนี้

ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจ ถ้าหากสามารถที่จะค้นหาสมุนไพรซึ่งไม่เพียงแต่จะมีคุณสมบัติในการต้านทานการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารได้แล้ว ยังมีสารพรีไบโอติกเป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีผลช่วยในการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้ ก็จะเป็นผลดีอย่างยิ่งต่อการช่วยรักษาโรคในระบบทางเดินอาหารอีกทางหนึ่ง

1.2 วัตถุประสงค์ของการทดลอง

1. เพื่อศึกษากิจกรรมการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร และคุณสมบัติด้านพฤกษเคมีของสมุนไพรไทย

2. เพื่อศึกษาคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของสมุนไพรไทยที่มีกิจกรรมในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร

1.3 ขอบเขตของการทดลอง

ในโครงงานพิเศษนี้ จะทำการศึกษาเกี่ยวกับกิจกรรมของสมุนไพรไทยในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร คุณสมบัติด้านพฤกษเคมี และคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของสมุนไพรไทยหลายชนิด เพื่อคัดเลือกสมุนไพรไทยที่มีกิจกรรมดังกล่าวสูงมาประยุกต์ใช้ในการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติก

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทำให้ทราบถึงชนิดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร และสมบัติด้านพฤกษเคมีต่างๆ ของสมุนไพรไทย รวมทั้งสมบัติของสมุนไพรไทยในการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สมุนไพร

คำว่า "สมุนไพร" ตามความหมายในพจนานุกรมราชบัณฑิตยสถาน พ.ศ. 2542 หมายถึง ผลิตผลจากธรรมชาติ ที่ได้จากพืช สัตว์ และแร่ธาตุที่สามารถใช้เป็นยาหรือผสมกับสารอื่นตามตำรับยาต่างๆ เพื่อบำบัดรักษาโรคและบำรุงร่างกาย ซึ่งแตกต่างจากพระราชบัญญัติยา พ.ศ. 2510 ได้ระบุความหมายของสมุนไพรไว้ว่า เป็นยาที่ได้จากพืช สัตว์และแร่ธาตุ ซึ่งยังมิได้ผสมหรือแปรสภาพ เช่น พืช ก็ยังคงเป็นส่วนของราก ลำต้น ใบ ดอก ผล และอื่นๆ มนุษย์ในสมัยโบราณได้เสาะแสวงหาพืชเพื่อนำมาใช้เป็นอาหาร เชื้อเพลิง เครื่องนุ่งห่ม ที่พักอาศัย และใช้เป็นยาป้องกันบำบัดรักษาโรค พืชจึงเป็นเครื่องสนองความต้องการของมนุษย์ในการดำรงชีวิตเพื่อความอยู่รอด (นิจศิริ และ พยอม, 2534; กระทรวงสาธารณสุข, 2541)

นักวิทยาศาสตร์ในปัจจุบันเชื่อว่าการที่มนุษย์รู้ว่าต้นไม้ชนิดใดมีสรรพคุณในการรักษาโรคได้นั้น มาจากการเรียนรู้ด้วยประสบการณ์และการทดลองสืบต่อกันยาวนานมาแต่โบราณ บางครั้งอาจอาศัยการสังเกตลักษณะของพืชว่ามีลักษณะเหมือนอวัยวะใด ก็ใช้รักษาอวัยวะนั้นๆ (The signature doctrine) หรือสังเกตจากสีหรือรสชาติของพืช เช่น พืชที่มีสีแดงใช้ในการรักษาโรคเกี่ยวกับเลือด หรือพืชที่มีรสขมใช้ในการรักษาโรคเกี่ยวกับน้ำดี เป็นต้น (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

ปัจจุบันสมุนไพรนั้นได้รับการยอมรับว่าเป็นสิ่งที่มีประโยชน์นานัปการต่อโลกและมนุษย์ไม่เพียงแต่ในด้านการบำบัดรักษาโรคเท่านั้น ยังรวมไปถึงการช่วยรักษาสมดุลของธรรมชาติด้วย จึงจัดได้ว่าสมุนไพรเป็นส่วนหนึ่งในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ซึ่งกระทรวงสาธารณสุขได้ดำเนินโครงการสมุนไพรไทยกับสาธารณสุขมูลฐาน โดยเน้นสมุนไพรมาใช้ในการบำบัดรักษาโรคในสถานบริการสาธารณสุขของรัฐมากขึ้น อีกทั้งยังส่งเสริมให้มีการเพาะปลูกพืชสมุนไพรเพื่อใช้กันเองภายในหมู่บ้านเป็นการส่งเสริมให้มีการใช้สมุนไพรมากยิ่งขึ้น ซึ่งวิธีการดังกล่าวเป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยให้ประเทศชาติประหยัดเงินตราในการนำเข้ายาสำเร็จรูปจากต่างประเทศได้ปีละเป็นจำนวนมาก การใช้สมุนไพรเป็นยาบำบัดโรคพึงมีข้อระวังก็คือ จะต้องรู้ลักษณะที่แท้จริงของพืชสมุนไพรที่จะนำมาใช้เพื่อความถูกต้องและปลอดภัยจากการใช้ ดังนั้นความรู้ที่ผู้ใช้พืชสมุนไพรในการบำบัดโรคควรมี ได้แก่ ความรู้ทางพฤกษศาสตร์ (botany) ความรู้เกี่ยวกับชื่อวิทยาศาสตร์ของสมุนไพร (scientific name) การเก็บพืชสมุนไพร การทำให้พืชสมุนไพรแห้ง การเก็บรักษาพืชสมุนไพร และองค์ประกอบต่างๆ ของสารที่มีอยู่ในพืชสมุนไพร (นิจศิริ และ พยอม, 2534; นิจศิริ, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 องค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพร

ตามทัศนะของนักวิทยาศาสตร์สมัยใหม่เชื่อว่า ในพืชสมุนไพรที่ได้ใช้เป็นยารักษาโรคกันมานานนั้น ประกอบด้วยสารเคมีหลายชนิด โดยส่วนของพืชสมุนไพรจะมีสารที่แตกต่างกันออกไป ซึ่งชนิดและปริมาณของสารจะแปรผันไปตามชนิดของพันธุ์สมุนไพร สภาพแวดล้อมที่ใช้ในการเพาะปลูก และช่วงเวลาที่เก็บพืชสมุนไพร นักวิทยาศาสตร์ได้นำความรู้ และวิธีการทางเคมีมาใช้ในการศึกษาค้นคว้าวิจัย เกี่ยวกับสารเคมีที่มีฤทธิ์ในพืชสมุนไพร ทำให้ทราบรายละเอียดเกี่ยวกับสารเคมีเหล่านั้น ตลอดจนสามารถจัดจำแนกและตรวจสอบสารเหล่านั้นได้ (กระทรวงสาธารณสุข, 2541)

นักวิทยาศาสตร์ได้จำแนกสารเคมีที่พบในพืชออกเป็น 2 ชนิด คือ สารปฐมภูมิ (primary metabolite) และสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) โดยนักวิทยาศาสตร์ได้ให้ข้อแตกต่างระหว่างสารปฐมภูมิและสารทุติยภูมิไว้ว่า สารปฐมภูมิเป็นสารที่มีอยู่ในพืชชั้นสูงทั่วไป พบได้ในพืชทุกชนิด เป็นผลิตผลที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (photosynthesis) เช่น คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) กรดอะมิโน (amino acid) ไขมัน (lipid) เม็ดสี (pigment) และเกลืออนินทรีย์ (inorganic salt) เป็นต้น ส่วนสารทุติยภูมินั้นเป็นสารประกอบที่มีลักษณะค่อนข้างพิเศษ พบต่างกันในพืชแต่ละชนิดนั้น คาดว่าเป็นสารที่เกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthesis) เช่น อัลคาลอยด์ (alkaloid) แทนนิน (tannin) และซาโปนิน (saponin) เป็นต้น (นิจศิริ และ พยอม, 2534; กระทรวงสาธารณสุข, 2541)

จากการศึกษาพบว่าส่วนใหญ่แล้วสารทุติยภูมิ มักจะเป็นสารที่มีสรรพคุณทางยา แต่ก็มิได้ตายตัวเสมอไป เนื่องจากสารปฐมภูมิบางตัวสามารถออกฤทธิ์ในการรักษาโรคได้เช่นกัน สารเคมีที่อยู่ในพืชสมุนไพรมีมากมายหลายชนิด ในที่นี้จะกล่าวถึงบางตัวที่มีความสำคัญ โดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

2.2.1 คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate)

คาร์โบไฮเดรตเป็นสารอินทรีย์ที่ประกอบด้วยธาตุคาร์บอน (carbon) ไฮโดรเจน (hydrogen) และออกซิเจน (oxygen) ซึ่งธาตุไฮโดรเจนและธาตุออกซิเจนนั้นมักพบในสัดส่วนเช่นเดียวกับที่พบในโมเลกุลของน้ำ คือมีอัตราส่วนระหว่างธาตุไฮโดรเจนและออกซิเจนเท่ากับ 2 ต่อ 1 (Evans, 2009) คาร์โบไฮเดรตเป็นกลุ่มของสารอินทรีย์ที่พบมากที่สุดในพืช คาร์โบไฮเดรตเป็นผลิตภัณฑ์แรกที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงและจำเป็นในฐานะแหล่งอาหารของพืช กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงที่สร้างคาร์โบไฮเดรตของพืชนั้นเป็นกระบวนการ endothermic reductive condensation ของคาร์บอนไดออกไซด์โดยต้องการแสงเป็นแหล่งพลังงานและคลอโรฟิลด์ดังสมการ

$$nCO_2 + nH_2O \longrightarrow C_nH_{2n}O_n + nH_2O$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พลังงานที่ได้จากคาร์โบไฮเดรตมักถูกจัดเก็บไว้ในรูปของสตาร์ช (starch) หรือฟรุกแทน (fructan) ซึ่งถูกนำไปใช้ในรูปของซูโครสและเกิดโพลีเมอไรซ์ (polymerized) ไปอยู่ในรูปเซลลูโลส (cellulose) ซึ่งเป็นวัสดุโครงสร้างเซลล์อันดับแรกของพืช สุดท้ายแล้วคาร์โบไฮเดรตยังรวมกันไปอยู่ในรูปของไกล-โคไซด์ (glycosides) ของหมู่พื้นฐานมากมายในผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติดังเช่น เทอร์พีน (หรือนำไปใช้ในการสร้างซาโปนิน) ฟีนอลและอัลคาลอยด์ น้ำตาล คือสารประกอบ aliphatic polyhydroxylate ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น optically active ที่ละลายน้ำได้ เนื่องจากความชอบน้ำตามธรรมชาติของหมู่ไฮ-ดรอกซิลที่เป็นหมู่ฟังก์ชัน น้ำตาลสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มตามขนาดของโมเลกุล ได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharides) โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharides) และโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) ที่ประกอบด้วยสารโมเลกุลใหญ่ เช่น เซลลูโลส (Brielmann และคณะ, 2006)

2.2.1.1 น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว

น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เป็นของแข็งที่เป็นผลึกไม่มีสี ประกอบด้วยหมู่อัลดีไฮด์หรือหมู่คีโตน 1 หมู่ ซึ่งโครงสร้างลักษณะนี้เป็นรูปแบบพื้นฐานของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 2 ชนิด คือ น้ำตาลอัล-โดส (aldose) และน้ำตาลคีโตส (ketose) ที่ประกอบด้วยหมู่อัลดีไฮด์และคีโตนตามลำดับ นอกจากนี้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวยังแบ่งได้ตามความยาวของสายโซ่ได้เป็นรูปแบบที่หลากหลายตั้งแต่น้ำตาลที่มีคาร์บอน 3 อะตอม (triose) ถึง 7 อะตอม (heptose) มีข้อยกเว้น 1 ประการคือ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวนั้นเป็นสารประกอบที่คุณสมบัติเป็น optically active คือมีทั้งในรูปของไอโซเมอร์ D และ L อย่างไรก็ตามน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวส่วนใหญ่ที่พบตามธรรมชาตินั้นจะอยู่ในรูปของไอโซเมอร์ D (Brielmann และคณะ, 2006)

2.2.1.2 โอลิโกแซคคาไรด์

เมื่อสารประกอบถูกสร้างขึ้นโดยการเชื่อมสารประกอบ 2 ชนิดที่โครงสร้างเหมือนกันด้วยพันธะโควาเลนต์ (covalent bond) สารประกอบนั้นจะถูกเรียกว่า “โอลิโก (oligo)” โอลิโกแซค-คาไรด์หรือน้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharide) ถูกสร้างขึ้นโดยการควบแน่นระหว่างน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 1 คู่ ตัวอย่างของน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่พบคือ ซูโครส (sucrose) ซูโครสเป็นน้ำตาลมีความหวานมากที่สุดโดยมีความหวานมากกว่าน้ำตาลมอลโตส 3 เท่า และหวานกว่าน้ำตาลแลคโตส 6 เท่าโดยประมาณ เมื่อเร็วๆนี้ ได้มีการใช้น้ำเชื่อมข้าวโพดแทนซูโครสในผลิตภัณฑ์หลายชนิด น้ำเชื่อมข้าวโพดนั้นเกิดจากการไฮโดรไลซ์โพลีแซคคาไรด์ ซึ่งก็คือสตาร์ชในข้าวโพดด้วยเอนไซม์ ไปเป็นหน่วยย่อยของน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอม (hexose monomer) น้ำเชื่อมข้าวโพด ประกอบด้วยหน่วยย่อยของกลูโคสเป็นส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 70 ซึ่งมีความหวานเท่ากับความหวานของซูโครส สำหรับกระบวนการทางการค้านั้นได้มีการนำเอนไซม์ไอโซเมอเรส (isomerase) มาใช้ในการเปลี่ยนกลูโคสประมาณครึ่งหนึ่งที่อยู่ในน้ำเชื่อมข้าวโพดไปอยู่ในรูปของฟรุกโตส สารให้ความหวานจากน้ำเชื่อมข้าวโพดซึ่งมีฟรุกโตสสูงนี้มีการนำไปใช้มากใน soft drink โอลิโกแซคคาไรด์โดยทั่วไปนั้นประกอบด้วยน้ำตาลประมาณ 2 ถึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5 หน่วย ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะอีเทอร์ได้มากสุดถึง 3 พันธะ ทำให้โอลิโกแซคคาไรด์นั้นมีโครงสร้างที่ซับซ้อน (Brielmann และคณะ, 2006)

2.2.1.3 โพลีแซคคาไรด์

คาร์โบไฮเดรตส่วนใหญ่ที่พบในพืชมักอยู่ในรูปของโพลีแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง โพลีแซคคาไรด์มีหน้าที่การทำงานที่หลากหลายในพืช เซลลูโลสเป็นวัสดุโครงสร้างในผนังเซลล์ของพืช ในขณะที่เคราติน (keratin) และคอลลาเจน (collagen) ในสัตว์จะทำหน้าที่คล้ายโครงสร้างในผมและกล้ามเนื้อตามลำดับ เซลลูโลสเป็นสารอินทรีย์ที่มีมากที่สุดในโลก และเป็นสารประกอบหลักของไม้ โครงสร้างหลักของโพลีแซคคาไรด์ของผนังเซลล์นั้น เป็นโพลีเมอร์สายตรงอย่างง่ายที่ไม่มีการแตกแขนง โพลีเมอร์สายตรงนั้นเชื่อมต่อกันด้วยพันธะอีเทอร์ (β-1,4) อะไมโลส (amylose) นั้นถูกใช้เป็นแหล่งสะสมพลังงาน มีโครงสร้างเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α-1,4 ส่วนอะไมโลเพกติน (amylopectin) เป็นโพลีเมอร์สายตรงเชื่อมกันด้วยพันธะ α-1,4 และแตกแขนงสาขาด้วยพันธะ α-1,6 (Brielmann และคณะ, 2006)

2.2.2 สารประกอบอะโรมาติก (aromatic compound)

พืชเกือบทุกชนิดประกอบด้วยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ซึ่งรวมถึงสารประกอบที่มีวงแหวนคาร์โบไซคลิก (carbocyclic ring) หรือวงแหวนเฮเทอโรไซคลิก (heterocyclic aromatic ring) โดยทั่วไปแล้ววงแหวนดังกล่าวประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) 1 หมู่หรือมากกว่า 1 หมู่ สารกลุ่มนี้ ได้แก่ เตตร้าไพรอล (tetrapyrroles) และฟีนอล (phenols) (Brielmann และคณะ, 2006) ซึ่งในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะสารประกอบฟีนอลหรือฟีนอลิกเท่านั้น

2.2.2.1 ฟีนอล

ฟีนอลเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติส่วนใหญ่ที่พบได้ในพืช ฟีนอลจัดอยู่ในกลุ่มของสารประกอบที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group, -OH group) เชื่อมต่ออยู่กับวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) แบ่งออกเป็น 6 ประเภท คือ สารประกอบฟีนอลอย่างง่าย (simple phenols) ฟีนอลอีเทอร์ (phenol ethers) ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แทนนิน (tannins) และควิโนน (quinones) (Brielmann และคณะ, 2006)

ก) สารประกอบฟีนอลอย่างง่าย

สารประกอบฟีนอลอย่างง่ายส่วนใหญ่ จัดเป็นมอนอเมอร์ (monomer) ของโพลีฟีนอล (polyphenols) และกรด ซึ่งสร้างขึ้นเป็นเนื้อเยื่อพืชบางชนิด รวมถึงลิกนิน (lignins) และเมลานิน (melanins) องค์ประกอบนี้แต่ละชนิดได้มาจากการที่เนื้อเยื่อพืชถูกย่อยสลายด้วยกรดจะได้สารประกอบฟีนอลอย่างง่ายเกิดขึ้น ได้แก่ กรดพาราไฮดรอกซีเบนโซอิก (*p*-hydroxybenzoic acid) กรดโปรโตคาเทชูอิก (protocatechuic acid) กรดวานิลลิก (vanillic acid) กรดซัยรินจิก (syringic acid) กรดซาลิซัยลิก (salicylic acid) และกรดแกลลิก (gallic acid) ฟีนอลอิสระที่ไม่ได้จากการถูก

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ย่อยสลายพอลิเมอร์ของผนังเซลล์ของพืชนั้นพบได้ค่อนข้างยากในพืช ไฮโดรควิโนน (hydroquinone) คาเทชูล (catechol) ออร์ซินอล (orcinol) และสารประกอบฟีนอลอย่างง่ายอื่นนั้น พบได้ในความเข้มข้นค่อนข้างต่ำซึ่งตัวอย่างของสารประกอบฟีนอลอย่างง่ายนั้นแสดงดังรูปที่ 2.1 (Brielmann และคณะ, 2006)

ข) ฟีนอลอีเทอร์

ฟีนอลหลายชนิด มักพบอยู่ในรูปของเมทิล อีเทอร์ (methyl ethers) ดังแสดงในรูปที่ 2.2 ตัวอย่างของฟีนอลอีเทอร์ ได้แก่ เคลลิน (khellin) และวิสนาจิน (visnagin) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของคูมาร์ริน (coumarin) ที่พบในผลของ *Ammi visnaga* ทรานส์-อะเนทโทล (trans-anethole) เป็นสารที่ให้รสและกลิ่นของเมล็ด *Pimpinella anisum* และอะพิโอล (apiole) ซึ่งเป็นน้ำมันหอมระเหยที่พบในเมล็ดผักชี (parsley, *Petroselinum crispum*) (Brielmann และคณะ, 2006)

ค) ฟีนิลโพรพานอยด์

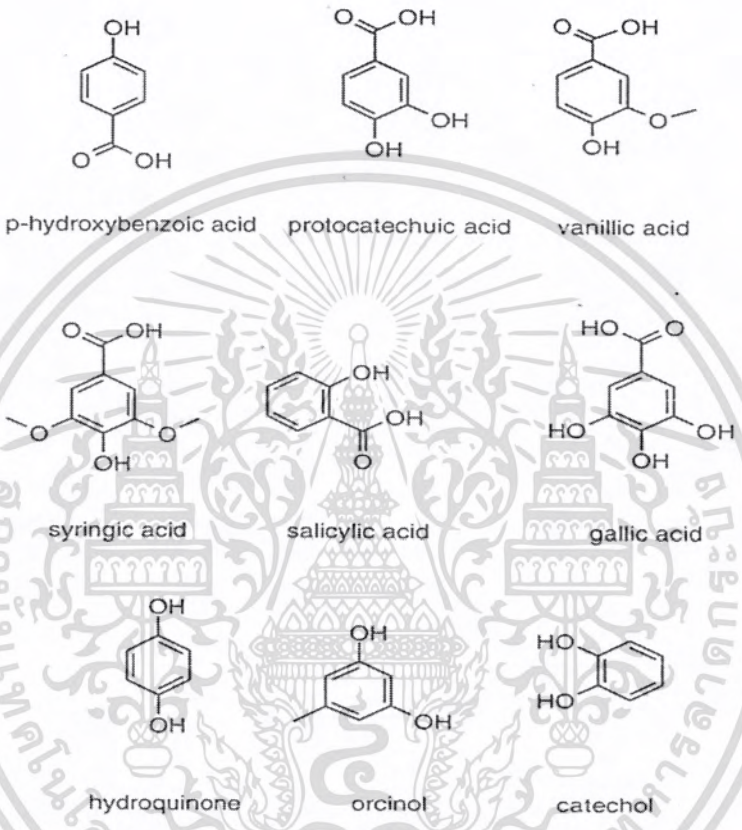
ฟีนิลโพรพานอยด์ เป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างประกอบด้วยสาย (side chain) ที่มีคาร์บอน 3 อะตอม เชื่อมต่ออยู่กับฟีนอล (รูปที่ 2.3) ตัวอย่างของสารประกอบนี้ที่พบได้ทั่วไป ได้แก่ กรดไฮดรอกซีคูมาร์ริน (hydroxycoumarin acid) ฟีนิลโพรพีน และลิกแนน ที่พบบ่อยยังมีกรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acid) หลายชนิด รวมถึงกรดคาเฟอิก (caffeic acid) และกรดคูมาร์ริก (coumaric acid) คูมาร์ริน (coumarin) เป็นสารกลุ่มฟีนิลโพรพานอยด์ชนิดหนึ่งที่พบได้ทั่วไปในพืชหลายชนิด มีกลิ่นหอมหวาน มักถูกปลดปล่อยออกมาจากฟางข้าวที่ตัดใหม่ สารกลุ่มฟีนิลโพรพีนนั้น เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหย (essential oil) มากมาย เช่น สารยูจีนอล (eugenol) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของน้ำมันกานพลู (*Eugenia caryophyllus* หรือ *Syzygium anonaticum*) นอกจากนี้ฟีนิลโพรพีน ยังได้แก่ อะเนทโทล (anethole) และมัยริสติซิน (myristicin) ซึ่งเป็นสารชนิดหนึ่งที่เป็นองค์ประกอบหลักของจันทน์เทศ (*Myristica fragrans*) (Brielmann และคณะ, 2006)

ง) ฟลาโวนอยด์

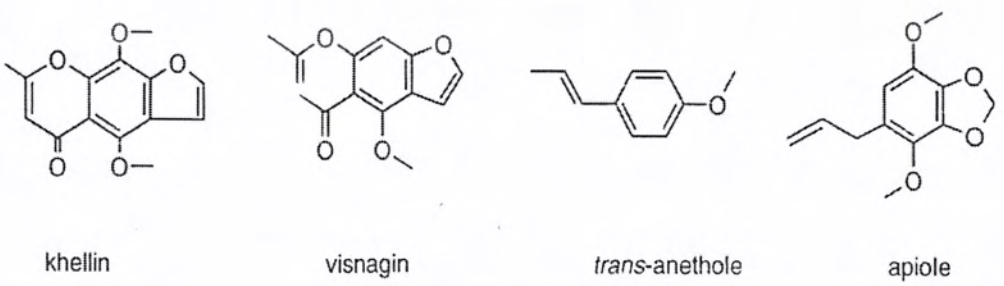
ฟลาโวนอยด์ เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่จัดเป็นสารทุติยภูมิของพืช ได้มาจากวิถีชีวสังเคราะห์ (biosynthetic pathway) 2 วิถี คือ วิถีชิกิเมท (Shikimate pathway) และวิถีแอซิเตท (acetate pathway) (Bravo และ Mateos, 2008) ฟลาโวนอยด์ เป็นสารที่มีโครงสร้างประกอบด้วยวงแหวนเบนซีน (benzene ring) 2 วงแยกจากกันโดยหน่วยโพรเพน (propane) เป็นสารประกอบที่สามารถละลายน้ำได้ เมื่อมีการจับตัวกันมากขึ้นมักจะให้สีสันที่สดใสพบได้ในพืชในฐานะของไกลโคไซด์ (glycoside) ของพืชซึ่งมีโครงสร้างที่ซับซ้อน สารประกอบฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งเป็นสารอีกหลายกลุ่มย่อย ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างได้จากการมีวงแหวนเฮเทอโรไซคลิกที่มีออกซิเจน (oxygen-containing heterocyclic ring) และหมู่ไฮดรอกซิลเพิ่มมากขึ้น สารนี้ได้แก่ ฟลาโวนอล และฟลาโวน (flavonols and flavones) ไอโซฟลาโวน (isoflavones) ฟลาวาโนน (flavanones)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟลาวานอลและฟลาวานไดออล (flavanols and flavandiols) แอนโทไซยานิน (anthocyanins) โพรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidins) และสารฟลาโวนอยด์กลุ่มอื่นๆ (other flavonoids) (Brielmann และคณะ, 2006)

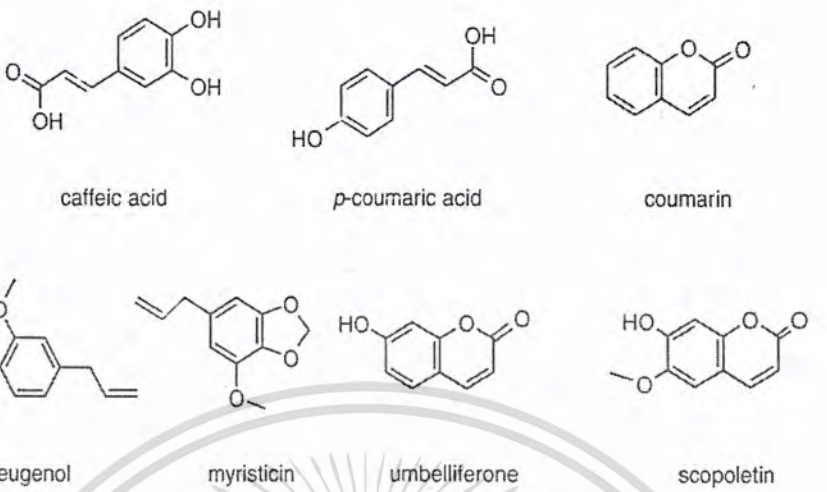


รูปที่ 2.1 สารประกอบฟีนอลอย่างง่าย
ที่มา : Brielmann และคณะ (2006)



รูปที่ 2.2 ฟีนอลอีเทอร์
ที่มา : Brielmann และคณะ (2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.3 ฟีนิลโพรพานอยด์
ที่มา : Brielmann และคณะ (2006)

ง.1) ฟลาโวนอลและฟลาโวน

ฟลาโวนอลและฟลาโวนเป็นสารประกอบที่มีความเกี่ยวข้องกันทางเคมี ฟลาโวนนั้นเป็นสารที่ขาดหมู่ไฮดรอกซิลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของวงแหวนเฮเทอโรไซคลิกของฟลาโวนอล ฟลาโวนอยด์ทั้ง 2 ชนิดนี้ มักพบว่าถูก *O*-glycosylated โดยส่วนใหญ่แล้วจะอยู่ในรูปของ 3-glucosides นอกจากนี้สารกลุ่มนี้ยังเกิด glycosylation กับน้ำตาลอื่น เช่น รูทิโนส (rutinose) และนีโอเฮอสเพอริโดส (neohersperidose) ได้บ่อย (รูปที่ 2.4) ฟลาโวนอยด์กลุ่มนี้เป็นฟลาโวนอยด์ที่ให้สีเหลืองสว่าง ซึ่งพบได้อย่างแพร่หลายในอาณาจักรพืช ยกเว้นพวกสาหร่าย (algae) และรา (fungi) โดยฟลาโวนอยด์กลุ่มนี้พบอยู่เป็นหลักในส่วนที่อยู่เหนือดินของพืช เช่น ใบและผิวด้านนอกของผล แต่พบได้น้อยในราก ฟลาโวนที่พบตามธรรมชาติ ได้แก่ เอพิจีนิน (apigenin) และลูทีโอลิน (luteolin) ซึ่งเป็นสารประกอบที่พบมากที่สุดในดอกเสาวรส น้ำผึ้ง และพรอพโพลิส (propolis) ในกรณีของสารประกอบที่มีความเกี่ยวข้องกับฟลาโวนอล ควอซิทิน (quercetin) เป็นสารประกอบที่พบมากที่สุดในผลไม้ ผัก และเครื่องเทศ โดยเฉพาะในหัวหอม แอปเปิ้ล ผลไม้ตระกูลเบอร์รี ชา และไวน์ ควอซิทิน อาจพบอยู่ในรูปของอะไกลโคน (aglycone) หรือไม่ก็อยู่ในรูปของไกลโคไซด์ (glycosides) เช่น สารประกอบรูทิน (rutin) ควอซิทริน (quercitrin) ไอโซควอซิทริน (isoquercitrin) และไฮเปอร์-ไซด์ (hypersides) รวมทั้งสารฟลาโวนอยด์ชนิดอื่นที่พบบ่อย เช่น มัยริซีทิน (myricetin) และเคม-เฟอรอล (kaempferol) (Bravo และ Mateos, 2008)

ง.2) ไอโซฟลาโวน

โครงสร้างของไอโซฟลาโวน (รูปที่ 2.5) แตกต่างจากโครงสร้างของฟลาโวน ที่ตำแหน่ง B-ring ซึ่งเชื่อมต่ออยู่กับคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของวงแหวนเฮเทอโรไซคลิก แทนที่จะเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 เหมือนกับฟลาโวนอยด์ส่วนใหญ่ ไอโซฟลาโวนอาจเรียกได้อีกอย่างหนึ่งว่าไฟโต-เอสโตรเจน (phytoestrogen) เนื่องจากมีโครงสร้างทางเคมีและกิจกรรมการทำงานคล้ายกับฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) ในกลุ่มของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สารไอโซฟลาโวนนี้มักพบมากในพืชตระกูลถั่ว (legumes) โดยเฉพาะถั่วเหลือง นอกจากนี้ไอโซฟลาโวนบางชนิดยังพบได้ในผลิตภัณฑ์ถั่วและธัญ-ชาติซึ่งไอโซฟลาโวนที่พบบ่อยมากที่สุด ได้แก่ เดดซีน (daidzein) และเจนิสทีน (genistein) (Bravo และ Mateos, 2008)

ง.3) ฟลาวาโนน

ฟลาวาโนนหรือซิตรัสไบโอฟลาโวนอยด์ (citrus bioflavonoid) (รูปที่ 2.6) เป็นสารประกอบที่มีรสขม ส่วนมากพบในผลของพืชตระกูลส้ม (citrus fruit) และพรุน (prune) โดยพบในรูปของอะไกลโคนหรือไม่ก็ในรูปของ *C*-glycoside หรือ *O*-glycoside ซึ่งฟลาวาโนน 2 ชนิดในกลุ่มฟลาวาโนนที่พบมากที่สุดได้แก่ เฮสเพอรีทิน (hesperetin) และนารินจีนิน (naringenin) รวมทั้ง 7-*O*-glycoside-hesperidin (hesperitin-7-*O*-rutinoside), neohesperetin (hesperetin-7-*O*-neohesperidoside) และ naringin (naringenin-7-*O*-rutinoside) (Bravo และ Mateos, 2008)

ง.4) ฟลาวานอลและฟลาวานไดออล

ฟลาวานอลหรือ flavan-3-ols เป็นสารที่เหมือนกับสารประกอบเช่น คาเท-ชิน (catechin) อีพิคาเทชิน (epicatechin) ซึ่งเป็นสารประกอบที่เกี่ยวข้องกัน โดยเป็นสารประกอบที่ถูกเติมหมู่ไฮดรอกซี 3 หมู่ (trihydroxylated) ใน B-ring รวมทั้งแกลโลคาเทชิน (gallocatechin) และอีพิแกลโลคาเทชิน (epigallocatechin) และ galloylated derivatives ของสารทั้งสองนี้ซึ่งได้แก่ คาเทชิน แกลเลท (catechin gallate) อีพิคาเทชิน แกลเลท (epicatechin gallate) แกลโล-คาเทชิน แกลเลท (gallocatechin gallate) และอีพิแกลโลคาเทชิน แกลเลท (epigallocatechin gallate) ฟลาวานอลเป็นสารประกอบโพลีฟีนอลิกที่พบได้บ่อยในผักและผลไม้มากมายหลายชนิด นอกจากนี้ยังพบได้ในเครื่องดื่มบางชนิด เช่น ชา ไวน์ และโกโก้ซึ่งมีสาร oligomeric procyanidins สารประกอบเหล่านี้รวมทั้งฟลาวานไดออล (flavan-3,4-diols หรือ leucoanthocyanidins) ซึ่งพบได้มากเหมือนอะไกลโคน (aglycones) ฟลาวานไดออลเป็นสารที่มีความไม่เสถียรอย่างมาก เนื่องจากทำให้เกิดการสร้างคาร์โบแคทไอออน (carbo-cation) ซึ่งถูกรีดิวซ์ไปเป็น flavan-3-ol ได้ง่าย ในสภาวะที่ไม่ถูกรีดิวซ์ คาร์โบแคทไอออนมีแนวโน้มที่จะถูกโพลีเมอไรซ์ (polymerized) ไปอยู่ในรูปของโครงสร้างแบบไดเมอริก (dimeric) โอลิโกเมอริก (oligomeric) และแม้แต่โครงสร้างแบบโพลีเมอริก (polymeric) ด้วยวิธีการ copolymerization หรือการควบแน่น (condensation) กับฟลาวานอลหรือแอนโทไซยานิน เกิดเป็นคอนเดนซ์แทนนิน (condensed tannin) หรือโพรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidins) (Bravo และ Mateos, 2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง.5) แอนโทไซยานิน

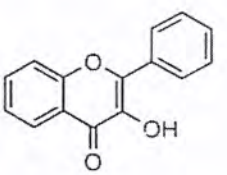
แอนโทไซยานิน เป็นสารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของแอนโทไซยานิดิน ซึ่งที่ค่าพีเอช (pH) ต่ำกว่า 2 จะปรากฏอยู่ในรูปของฟลาวีเลียม แคทไอออน (flavylium cation) แอนโทไซยานินมักจะมี *O*-glycosides ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 แอนโทไซยานินเป็นสารที่ให้สีน้ำเงิน ม่วง แดง หรือส้มในผลและดอกของพืช ดังนั้นจึงเป็นสารรงควัตถุที่ละลายน้ำได้กลุ่มที่สำคัญที่สุดในพืช แอนโทไซยานินพบมากในพืชตระกูลเบอร์รี่ องุ่นแดง และเครื่องดื่มบางชนิด เช่น ไวน์แดง เป็นต้น โดยแอนโทไซยานินชนิดพื้นฐานมี 6 ชนิด ได้แก่ ไซยานิดิน (cyanidin) เดลฟินิดิน (delphinidin) มาลวิดิน (malvidin) พีลาโกนิดิน (pelargonidin) พีโอนิดิน (peonidin) และพีทูนิดิน (petunidin) (รูปที่ 2.7) (Bravo และ Mateos, 2008)

ง.6) โพรแอนโทไซยานิดิน

โพรแอนโทไซยานิดิน เป็นสารฟลาโวนอยด์พื้นฐานที่พบได้ทั่วไป และเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีปริมาณมากเป็นอันดับสองรองจากลิกนิน (lignin) โพรแอนโทไซยานิดินเป็นสารประกอบที่มีปริมาณมากในผลไม้ โดยเฉพาะผลไม้ตระกูลเบอร์รี ถั่วลิสง ถั่วลันเตา ธัญชาติและเครื่องเทศ รวมทั้งยังสามารถพบได้ในเครื่องดื่มบางชนิด เช่น ไวน์แดง น้ำแอปเปิ้ล (cider) ชา และโกโก้ (Bravo และ Mateos, 2008)

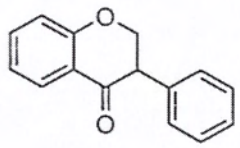
ง.7) ฟลาโวนอยด์กลุ่มอื่นๆ

ฟลาโวนอยด์กลุ่มอื่นๆ (other flavonoids) ที่จะกล่าวถึงในที่นี้ ได้แก่ สารประกอบจำพวกชาลโคน (chalcone) (รูปที่ 2.8) ซึ่งเป็นสารตัวกลางในวิถีชีวสังเคราะห์ของฟลาโวนอยด์อื่นๆ อีกหลายชนิดเช่น สารไดไฮโดรชาลโคน (dihydrochalcone) ออโรน (aurone) หรือไดไฮโดรฟลาโวนอล (dihydroflavonol) รวมทั้งสารพวกไบโอฟลาโวนอยด์ (bioflavonoid) ซึ่งเป็น flavonoid dimer ที่แตกต่างจากพวกโพรแอนโทไซยานิน โดยทั่วไปแล้วฟลาโวนอยด์เหล่านั้นเป็นฟลาโวนอยด์ที่พบได้ในอาหารน้อยกว่าชนิดที่กล่าวข้างต้น แม้ว่าในบางกรณีสารประกอบเหล่านี้อาจสำคัญต่อการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร โดยใช้เป็นสารให้ความหวาน เช่น สารประกอบนีโอเฮสเพอริดิน ไดไฮโดรชาลโคน (neohesperidin dihydrochalcone : NHDC) เป็นต้น (Bravo และ Mateos, 2008)

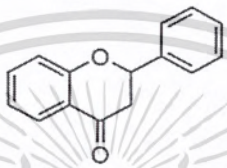


รูปที่ 2.4 ฟลาโวนอล
ที่มา : Brielmann และคณะ (2006)

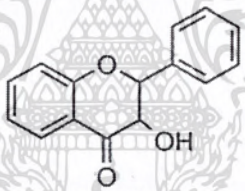
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



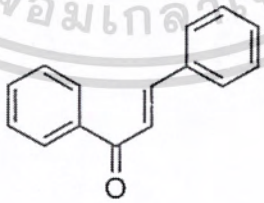
รูปที่ 2.5 ไอโซฟลาโวน
ที่มา : Brielmann และคณะ (2006)



รูปที่ 2.6 ฟลาวาโนน
ที่มา : Brielmann และคณะ (2006)



รูปที่ 2.7 แอนโทไซยานิน
ที่มา : Brielmann และคณะ (2006)



รูปที่ 2.8 ฟลาโวนอยด์อื่นๆ (ชาลโคน)
ที่มา : Brielmann และคณะ (2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จ) แทนนิน

แทนนิน เป็นสารโอลิโกเมอร์ (oligomer) ที่สามารถละลายน้ำได้ ประกอบด้วยหมู่ฟีนอลิกเป็นจำนวนมาก ซึ่งสามารถจับหรือตกตะกอนโปรตีนที่ละลายน้ำได้ แทนนินพบได้ในทั่วไปในพืชที่มีท่อลำเลียง (vascular plant) โดยมักพบอยู่ภายในเนื้อเยื่อไม้ แต่ก็สามารถพบได้ในใบ ดอก และเมล็ดของพืชได้เช่นกัน เนื้อเยื่อพืชเป็นบริเวณที่มีปริมาณแทนนินมากที่สุด ทำให้มีรสฝาด โดยแทนนินสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดคือ ไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน (hydrolysable tannin) และคอนเดนซ์แทนนิน (condensed tannin) โดยคอนเดนซ์แทนนินนั้นถูกสร้างขึ้นจากการสังเคราะห์ทางกระบวนการชีวภาพโดยการควบแน่น (condensation) ของฟลาวานอลทำให้เกิดเป็นโพลีเน็ตเวิร์ค (polymeric network) ส่วนไฮโดรไลเซเบิลแทนนินนั้น เป็นเอสเทอร์ของน้ำตาล (มักจะเป็นกลูโคส) กับกรดไตรไฮดรอกซีเบนซีนคาร์บอกซีลิกหรือกรดแกลลิก (trihydroxybenzenecarboxylic acid หรือ gallic acid) 1 โมเลกุล หรือมากกว่า 1 โมเลกุล ไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน ให้ตะกอนที่ไม่ละลายน้ำ เมื่อจับกับอัลบูมิน (albumin) สตาร์ช (starch) หรือเจลาติน (gelatin) ซึ่งปฏิกิริยากับโปรตีนนี้ถูกใช้ในอุตสาหกรรมการฟอกหนัง (leather tanning) ตัวอย่างของไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน (รูปที่ 2.9) ได้แก่ โคริลาจิน (corilagin) แยกได้จากใบของ sumac (*Rhus* spp.) และยูคาลิปตัส (*Eucalyptus* spp.) เจอรานิอิน (geraniin) ซึ่งแยกได้จากต้นเจอเรเนียม (*Geranium* spp.) และพืชที่อยู่ในสกุล *Phyllanthus* spp. โดยได้มีรายงานว่าทั้งโคริลาจิน และเจอรานิอินนั้น สามารถต้านไวรัสเอดส์ (HIV) ได้โดยมีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ reverse transcriptase (Brielmann และคณะ, 2006)

ฉ) ควิโนน

ควิโนน เป็นสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งโดยทั่วไปจะทำให้เกิดรงควัตถุที่มีสีครอบคลุมช่วงคลื่นทั้งหมดของแสงที่มองเห็นได้ ปกติพบได้บริเวณส่วนนอกของพืช โดยทั่วไปแล้ว ควิโนน เป็นอนุพันธ์ที่มาจากโครงสร้างของเบนโซควิโนน (benzoquinone) แนฟโทควิโนน (naphthoquinone) หรือแอนทราควิโนน (anthraquinone) ควิโนนมีบทบาทสำคัญในการหายใจของพืช โดยควิโนนทำหน้าที่เป็นตัวพาอิเล็กตรอน ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงระหว่างไฮโดรควิโนน (hydroquinone) และควิโนน ดังนั้นจึงทำตัวอยู่ในฐานะของคู่รีดอกซ์ (redox couples) ไฮโดรควิโนน (1,4-benzenediol) มีหน้าที่หลายอย่าง รวมทั้งการป้องกันสารเคมีและลดการเจริญของใบ ยูบิควิโนน (ubiquinone) เป็นตัวพาอิเล็กตรอนในเยื้อหุ้มชั้นในของไมโตคอนเดรีย โดยการขนส่งอิเล็กตรอนเพื่อที่จะให้การขับโปรตอน (proton pump) เกิดอย่างสมบูรณ์ในโซ่การหายใจ สิ่งนี้ทำให้ควิโนนเป็นองค์ประกอบที่มีความสำคัญในกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอนสำหรับการหายใจ และสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชส่วนใหญ่ (Brielmann และคณะ, 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 ซาโปนิน

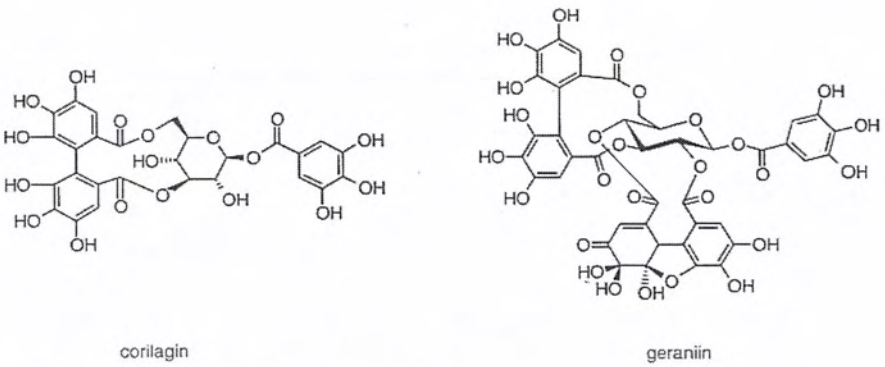
ซาโปนิน (saponin) เป็นสารประกอบกลุ่มไตรเทอร์พีนไกลโคไซด์ (triterpene glycoside) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ประกอบด้วยหมู่ของน้ำตาล 1 หมู่ที่เกาะอยู่กับสเตอรอล หรือไม่ก็ไตรเทอร์พีน (triterpene) ชนิดอื่น ซาโปนินพบได้มากในพืชหลายชนิด โครงสร้างของซาโปนิน แบ่งได้เป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นไกลโคน (glycone) ซึ่งเป็นส่วนของน้ำตาล และส่วนที่เป็นอะไกลโคน (aglycone) หรือจีนิน (genin) ซึ่งเป็นไตรเทอร์พีน สารในกลุ่มซาโปนินนี้ โดยทั่วไปแล้วเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการเป็นดีเทอเจนท์ (detergent properties) สามารถทำให้เกิดฟองในน้ำได้อย่างรวดเร็ว มีรสขม และเป็นพิษต่อปลา (piscicidal) พืชหลายชนิดที่มีสารกลุ่มซาโปนินเป็นองค์ประกอบนั้น และได้เคยมีการนำเอาไปทำสบู่ได้แก่ พืชจำพวก soaproot (*Chorogalum pomeridianum*), soapbark (*Quillaja saponaria*), soapberry (*Sapindus saponaria*) และ soapnut (*Sapindus mukurossi*) อะไกลโคนอาจจะเป็น กลุ่มของไตรเทอร์พีน สเตอรอยด์ หรือสเตอรอยด์ อัลคาลอยด์ (steroid alkaloid) ซาโปนิน อาจพบในรูปของโมโนเดสโมดิก (monodesmodic) หรือโพลีเดสโมดิก (polydesmodic) ขึ้นอยู่กับจำนวนของโมเลกุลน้ำตาลที่มาเกาะ โดยตัวอย่างของซาโปนินที่พบบ่อยแสดงดังรูปที่ 2.10 (Brielmann และคณะ, 2006)

2.2.4 อัลคาลอยด์

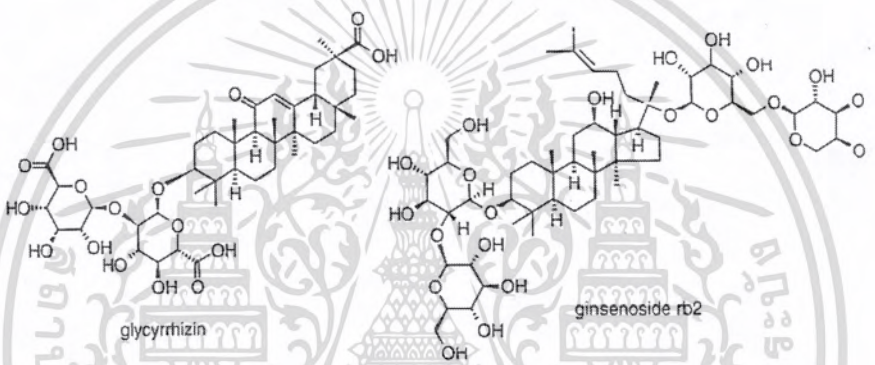
อัลคาลอยด์ (alkaloids) เป็นสารประกอบที่มีไนโตรเจน พบมากในพืชหลายกลุ่ม สารอัลคาลอยด์เกือบทั้งหมดมีฤทธิ์เป็นด่าง อัลคาลอยด์ถูกจัดว่าเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางเภสัชกรรม สารประกอบพื้นฐานของอัลคาลอยด์เปลี่ยนมาจากกรดอะมิโน ซึ่งประกอบด้วยวงแหวนเฮเทอโรไซคลิกที่มีอะตอมของไนโตรเจน 1 วง หรือมากกว่า 1 วง ในทางปฏิบัติพบว่า สารทุติยภูมิส่วนใหญ่ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบมักถูกพิจารณาให้อยู่ในกลุ่มของอัลคาลอยด์ อัลคาลอยด์ส่วนใหญ่มาจากกรดอะมิโนที่มีวงแหวนอะโรมาติก (aromatic amino acid) ได้แก่ ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ไทโรซีน (tyrosine) และทริปโตเฟน (tryptophan) ตัวอย่างประเภทของอัลคาลอยด์นั้นแสดงดังรูปที่ 2.11 (Brielmann และคณะ, 2006)

อัลคาลอยด์ส่วนใหญ่ มีรสขม และมีผลต่อสรีรวิทยาของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น มอร์ฟีน (morphine) ซึ่งใช้ในการระงับอาการปวด เรสเซอพีน (reserpine) ช่วยลดความดันโลหิต อะโทรพีน (atropine) ใช้คลายกล้ามเนื้อ โคเคน (cocaine) ทำให้เกิดอาการชาเฉพาะที่ รวมทั้งมีศักยภาพในการกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง และสตริชนีน (strychnine) ซึ่งใช้ในการกระตุ้นประสาท ดังนั้นยาที่ใช้ในการรักษาโรคส่วนใหญ่ในปัจจุบัน (รวมทั้งยาเสพติด) นั้นล้วนมีพื้นฐานมาจากอัลคาลอยด์ทั้งสิ้น (Brielmann และคณะ, 2006)

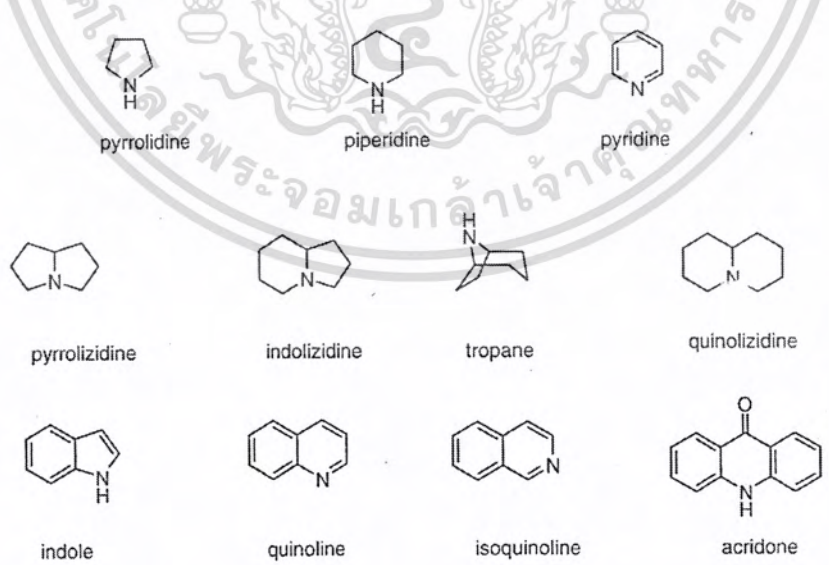
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.9 ตัวอย่างของไฮโดรไลเซเบิลแทนนิน (Brielmann และคณะ, 2006)



รูปที่ 2.10 ตัวอย่างของสารในกลุ่มซาโปนิน (Brielmann และคณะ, 2006)



รูปที่ 2.11 ตัวอย่างของสารกลุ่มอัลคาลอยด์ (Brielmann และคณะ, 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 สมุนไพรไทยที่ใช้ในการวิจัย

สมุนไพรไทยทั้งหมดจำนวน 24 ชนิดที่ใช้ในการศึกษานั้น ได้ทำการเก็บรวบรวมมาจากตลาดทั่วไปในกรุงเทพมหานครและจังหวัดฉะเชิงเทรา ร้านยาไทยฮั่วจั่น และกลุ่มเกษตรกรในจังหวัดพัทลุง โดยสมุนไพรเหล่านี้ ได้แก่

2.3.1 กระถิน

กระถินเป็นพืชชนิดหนึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Leucaena leucocephala* de Wit. จัดอยู่ในวงศ์ Mimosaceae มีลักษณะเป็นไม้พุ่มกึ่งไม้ยืนต้นขนาดเล็ก เปลือกลำต้นเรียบมีสีน้ำตาล ตามลำต้นและกิ่งมีรูอากาศอยู่ทั่วไป ยอดอ่อนมีขนสีขาว ใบนั้นมีลักษณะเป็นใบประกอบแบบขนนก 2 ชั้นออกเรียงสลับกัน หลังและท้องใบเรียบ ดอกออกเป็นช่อกระจุกแน่นตามซอกใบและที่ปลายยอด ดอกย่อยมีสีขาวนวลมีกลิ่นหอม ผลเป็นฝักแบน รูปขอบขนาน เมล็ดแบน ผิวเรียบเป็นมัน ดอกมีรสมัน ใช้เป็นยาบำรุงตับ แก้เกล็ดกระดี่ขึ้นตา รากมีรสจืดเฝื่อน ใช้ขับลม เป็นยาอายุวัฒนะ และช่วยขับระดูขาวในสตรี (นิจศิริ, 2547)

รูปที่ 2.12 กระถิน

ที่มา: http://probiotic-s.blogspot.com/2013/05/blog-post_13.html (10 ต.ค. 2556)

2.3.2 โกฐน้ำเต้า

โกฐน้ำเต้าเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Rheum palmatum* L. จัดอยู่ในวงศ์ Polygonaceae จัดเป็นพรรณไม้พุ่ม ยางมีสีเหลือง ใบมีขนาดใหญ่ยาวประมาณ 60 –120 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อยาว ลักษณะเป็นดอกเล็กๆ สีขาวอมเขียวรวมอยู่กันเป็นช่อ ผลมีขนาดยาวประมาณ 1 เซนติเมตร กว้างประมาณ 0.6 เซนติเมตร ผลจะแก่ในช่วงเดือนสิงหาคม ส่วนที่ใช้คือ ราก โดยนำรากปอกเปลือกออก แล้วนำไปตากแห้ง จะมีรสขม กลิ่นหอม สามารถใช้เป็นยาแก้ท้องเสีย โรคริดสีดวง ใช้เป็นยาระบาย ยาบำรุงกระเพาะอาหารและบำรุงธาตุให้เป็นปกติ (วิทย์, 2536)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.13 โกฐน้ำเต้า

ที่มา: http://www.thaihof.org/main/article/detail/2214 (10 ต.ค. 2556)

2.3.3 โกฐพุงปลา

โกฐพุงปลาเป็นพืชสมุนไพรไทยชนิดหนึ่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Terminalia chebula* Retz. var. *chebula* จัดอยู่ในวงศ์ Combretaceae มีลักษณะเป็นพรรณไม้เลื้อย บริเวณลำต้นเป็นข้อมีราก์งอกออกมา ใบมีลักษณะแตกต่างกันแต่อยู่ภายในต้นเดียวกัน ชนิดแรกมีลักษณะคล้ายถุงปากแคบ ชนิดที่สองเป็นใบธรรมดารูปร่างค่อนข้างกลมปลายใบแหลมมีติ่ง ผิวใบเกลี้ยงลักษณะใบหนาและอวบน้ำ ดอกออกเป็นช่อสั้นขนาดเล็ก มีขนขึ้นประปรายอยู่ด้านนอก กลีบดอกกลม ผลเป็นฝักยาวประมาณ 5-7.5 เซนติเมตร มีสีเหลืองแกมส้ม มีสรรพคุณดังนี้ ใบใช้แก้โรคท้องเดิน รากใช้ปรุงเป็นยาฝาดสมานแผล แก้ปวดเบ่ง แก้ท้องร่วง แก้โรคบิดแก้อาเจียนและเสมหะพิการ (วุฒิ, 2540; กัญจนา, 2542)

รูปที่ 2.14 โกฐพุงปลา

ที่มา: http://herbs2012.myfri3nd.com/blog/2012/05/16/entry-1 (10 ต.ค. 2556)

2.3.4 คาง

คางมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Albizzia odoratissima* จัดอยู่ในวงศ์ Mimosaceae ซึ่งเป็นพรรณไม้ยืนต้นขนาดกลางจนถึงขนาดใหญ่ ใบมีลักษณะใหญ่และดูกหนาทึบสีเขียวเข้ม ดอกจะออกเป็นฝอยฟูสีเขียวๆขาวๆ และมีกลิ่นหอม ฝักมีลักษณะแบนและโต ส่วนที่ใช้เป็นยา ได้แก่ ดอก ผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้

เปลือก โดยใบ ใช้รักษาอาการไอ ดอก มีรสหวาน ใช้เป็นยาบำรุงธาตุ รักษาอาการปวดของบาดแผล ผลใช้เป็นยารักษาโรคตา เปลือก มีรสฝาดเฝื่อน ใช้รักษาอาการปวดท้อง รักษาอาการตกเลือด อาการบวม รักษาฝี ปวดบาดแผล รักษาลำไส้พิการ และใช้เป็นยาอายุวัฒนะ (วิทย์, 2536)

รูปที่ 2.15 คาง (คางแดง กางขี้มอด)

ที่มา: http://www.gotoknow.org/posts/358130 (10 ต.ค. 2556)

2.3.5 แค (แคบ้าน)

แคมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Sesbania grandiflora* Desv. จัดอยู่ในวงศ์ Papilionaceae มีลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก สูงประมาณ 3-6 เมตร แตกกิ่งก้านสาขามาก เปลือกลำต้นมีสีน้ำตาลปนเทา ขรุขระแตกเป็นสะเก็ด กิ่งเปราะ ใบประกอบแบบขนนก ออกเรียงสลับ ขอบใบเรียบ ดอกออกเป็นช่อ ดอกย่อยสีขาวหรือแดง 3-4 ดอก มีกลิ่นหอม ผลออกเป็นฝักยาว 8-15 เซนติเมตร ฝักแก่แตกได้ เมล็ดกลมแป้นสีน้ำตาล มีสรรพคุณดังนี้ ใบ มีรสจืด แก้ไข้เปลี่ยนฤดู ถอนพิษไข้ เปลือกต้น มีรสฝาด ใช้รักษาอาการท้องเดิน แก้บิดมูกเลือด คุมธาตุ ดอก มีรสหวานเย็น ใช้แก้ไข้ ยอดอ่อน ใช้แก้ไข้หัวลม รากใช้เป็นยาขับเสมหะ (นิจศิริ, 2547)

รูปที่ 2.16 แคบ้าน

ที่มา: http://www.qsbg.org/database/botanic_book%20full%20 (10 ต.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.6 เจตมูลเพลิงแดง

เจตมูลเพลิงแดง เป็นพืชชนิดหนึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Plumbago indica* L. จัดอยู่ในวงศ์ Plumbaginaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดเล็กสูงประมาณ 1-2 เมตร ยอดอ่อนมีสีแดง ลำต้นกลมเรียบ ใบสีเขียว ออกเรียงสลับกันไปตามข้อ ใบรูปมนรีปลายใบแหลม โคนใบมนแผ่นใบมัดบิด ก้านใบแดง ออกดอกเป็นช่อตั้งที่ปลายยอดหรือปลายกิ่ง มีดอกย่อย 10-15 ดอก กลีบดอกบางกลีบมี 5 กลีบ รูปรีมนสีแดง กลีบเลี้ยงมีสีเขียวมีขนเหนียวๆปกคลุม ลักษณะผลแห้งทรงรียาว เมื่อแก่จะแตกตามร่อง มีสรรพคุณดังนี้ ใบมีรสร้อน ใช้แก้ลมในกองเสมหะ ช่วยย่อยอาหาร ขับผายลม ดอก มีรสร้อนแก้น้ำดีในฝัก รากมีรสร้อน บำรุงธาตุ ขับลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ บำรุงโลหิต ขับประจำเดือนสตรี แก้ริดสีดวงทวาร เกลื่อนฝี แก้ปวดท้อง แก้ท้องเสีย (นิจศิริ, 2547)

รูปที่ 2.17 เจตมูลเพลิงแดง

ที่มา: http://www.networkherbs.com/herbs (10 ต.ค. 2556)

2.3.7 ชุมเห็ดเทศ

ชุมเห็ดเทศมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Cassia alata* (L.) จัดอยู่ในวงศ์ Caesalpiniaceae ลำต้นมีลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดกลาง สูงประมาณ 2-3 เมตร ใบประกอบแบบขนนก ยาวประมาณ 30-60 เซนติเมตร ใบย่อยรูปขอบขนานแกมรูปรี โคนใบมน และปลายใบมนหรือเว้าเล็กน้อย ขอบใบเรียบจะมีสีแดง ใบกว้างประมาณ 5-7 เซนติเมตร ดอกออกเป็นช่อตามง่ามใบและปลายกิ่ง ดอกมีสีเหลืองมี 5 กลีบเป็นรูปขนาน สีเขียวตรงปลายจะแหลม ก้านดอกสั้นและมีเส้นเห็นชัด ผลเป็นฝักรูปไม้บรรทัด ฝักแก่มีสีน้ำตาลแตกตามยาว ภายในฝักมีเมล็ดมาก เมล็ดมีลักษณะแบนเป็นรูปสามเหลี่ยม ผิวขรุขระสีดำ สรรพคุณ ใบใช้ชงดื่มเป็นยาระบาย แก้กลากเกลื้อนและแมลงกัดต่อย ใบสด ใช้ตำเร่งหัวฝี ฝักใช้เป็นยาช่วยขับพยาธิ ต้นและรากใช้เป็นยากษัยเส้น แก้ท้องผูกและช่วยบำรุงหัวใจ (กัญจนา, 2542)

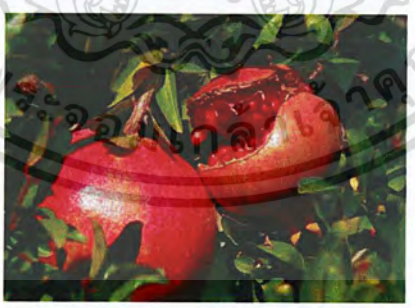
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.18 ชุมเห็ดเทศ

ที่มา: http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=40 (10 ต.ค. 2556)

2.3.8 ทับทิม

ทับทิมมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Punica granatum* Linn. จัดอยู่ในวงศ์ Punicaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก เปลือกต้นมีสีน้ำตาลอ่อน ใบยาวรี ใบหนาและเป็นมัน ดอกมีขนาดใหญ่สีแดงสดหรือสีขาว ผลค่อนข้างกลม เปลือกหนา ผลแก่มีสีเหลืองปนน้ำตาลและมีสีแดง ผลแก่เต็มที่แตกออก ทำให้เห็นเมล็ดสีแดงเรื่อเป็นจำนวนมาก เนื้อหุ้มเมล็ดมีลักษณะโปร่งแสง และมีรสเปรี้ยวอมหวาน ส่วนที่ใช้ ได้แก่ เปลือกผล เปลือกต้น เปลือกรากและดอก ที่เปลือกผล มีรสฝาดของแทนนินสูง ประมาณร้อยละ 22-25 ใช้เปลือกผลทับทิมแก้โรคท้องร่วงและโรคที่เกี่ยวกับทางเดินอาหาร ทับทิมมีรสเปรี้ยวอมหวานใช้รับประทานเป็นผลไม้ทั่วๆไป เพื่อแก้อาการกระหายเย็นสดชื่นและใช้แก้ไข้ได้ (นิจศิริ และ พยอม, 2534)



รูปที่ 2.19 ทับทิม

ที่มา : http://www.kaikeang.com/index.php?topic=71.0 (10 ต.ค. 2556)

2.3.9 นนทรี

นนทรี เป็นไม้ยืนต้นชนิดหนึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Peltophorum pterocarpum* (DC.) จัดอยู่ในวงศ์ Caesalpiniaceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้นสูงประมาณ 8 -15 เมตร เปลือกลำต้นสีเทาอมดำค่อนข้างเรียบ เป็นพุ่ม ลักษณะเป็นใบประกอบ ออกเรียงสลับกันหนาแน่นที่ปลายกิ่ง ปลายใบมนหรือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เว้าเล็กน้อย โคนใบมนเบี้ยวหลังใบเรียบสีเขียวเข้ม ท้องใบเรียบสีเขียวอ่อน ดอกออกเป็นช่อที่ปลายยอดและซอกใบ ดอกมีสีเหลืองย่นขอบกลีบวางเกยทับกัน ผลออกเป็นฝักแบน ปลายฝักและโคนฝักเรียวแหลม ฝักสดสีเขียวพอแก่มีสีน้ำตาล เมล็ดวางเรียงขวางกับฝัก ส่วนที่นิยมใช้ คือ เปลือกต้น มีรสฝาดเผ็ดร้อน ใช้เป็นยาขับลม แก้ท้องร่วง ปิดธาตุ ใช้ขับประจำเดือนสตรี ช่วยกล่อมเสมหะและโลหิต (นิจศิริ, 2547)

รูปที่ 2.20 นนทรี

ที่มา: http://www.bloggang.com/data/m/maipradab (10 ต.ค. 2556)

2.3.10 เบญจกานี

เบญจกานีมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Quercus infectoria* จัดอยู่ในวงศ์ Fagaceae เป็นต้นไม้ขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ อยู่ในตระกูลเดียวกับอ้อยช้าง ผลทรงกลมขนาดราวๆหัวแม่มือ ส่วนใหญ่มักมีรอยแมงเจาะกินเนื้อใน ผิวมีลักษณะเป็นปมปุ่มกลมๆไม่เสมอกัน แข็งแกร่ง เปลือกบางเป็นเยื่อหุ้มอยู่ มีรอยขั้วเป็นจุกเล็กๆ ซึ่งมีสรรพคุณได้แก่ ลูกมีรสฝาด แก้ท้องร่วง แก้บิดปวดเบ่ง สมานบาดแผล แก้อาเจียน แก้ปวดมดลูก ฝนกับน้ำสมานแผล (วุฒิ, 2540)

รูปที่ 2.21 เบญจกานี

ที่มา: http://www.zoneza.com/view10039.htm (10 ต.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.11 ปอบิด

ปอบิดมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Helicteres isora* L. จัดอยู่ในวงศ์ Sterculiaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มสูงประมาณ 1-2 เมตร เปลือกลำต้นมีลักษณะเรียบสีขาว ลักษณะใบเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงสลับ ใบมีรูปกลมปลายใบมนมีหางสั้น หลังใบมีขนสั้นๆขอบใบหยักเป็นซี่ๆ ก้านใบยาว 1-2 เซนติเมตร ออกดอกเป็นช่อตามซอกใบ ดอกมีสีส้ม กลีบดอกบางไม่เท่ากัน รูปรียาว กลีบเลี้ยงเป็นกาบหุ้มสีเขียวอ่อน ผลออกเป็นฝักยาว มีรอยแตกเป็นแนว 5 แนว บิดเป็นเกลียว มีขนสั้น พอแก่จะแตกอ้าออก ผิวไม่เรียบสากระคายมือ เมล็ดมีขนาดเล็ก รูปสี่เหลี่ยมสีน้ำตาล เรียงอัดแน่นอยู่ตามแนวร่องผล ส่วนที่นิยมใช้เป็นยา ได้แก่ ฝักหรือเปลือก ใช้เป็นยาสมานให้เส้นเอ็น รากและเปลือกต้น มีรสเฝื่อน ใช้บำรุงธาตุ ผลมีรสฝาด แก้ปวดท้อง แก้ลำไส้ กระเพาะอาหารอักเสบเรื้อรัง แก้ท้องขึ้น ท้องอืด ท้องเฟ้อ แก้บิดปวดเบ่ง แก้เสมหะ และตำพอกแก้ปวด เคล็ดขัดยอก บวมเป็นต้น (นิจศิริ, 2547)

รูปที่ 2.22 ปอบิด

ที่มา: http://www.zoneza.com/view10039.htm (10 ต.ค. 2556)

2.3.12 เปราะหอม

เปราะหอม มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Kaempferia galanga* L. จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae ลักษณะเป็นพืชล้มลุก มีเหง้าหรือหัวอยู่ใต้ดิน ใบเดี่ยวแทงออกจากเหง้า รูปร่างค่อนข้างกลม กว้างประมาณ 4-10 เซนติเมตร ยาวประมาณ 6-14 เซนติเมตร แผ่ราบไปบนดิน ท้องใบมีขน ลักษณะเนื้อใบค่อนข้างหนา ออกดอกเป็นช่อตรงกลางระหว่างใบ มีสีขาวแต้มม่วง ผลแห้งสามารถแตกได้ ในตำรายาไทยใช้เหง้าเป็นยาขับลม แก้อาการท้องเฟ้อ ในเหง้ามีน้ำมันหอมระเหย และพบว่าสารสกัดของเหง้าแห้ง ทำให้กล้ามเนื้อเรียบของลำไส้เล็กคลายตัว ใช้บรรเทาอาการปวดท้องได้ (พร้อมจิต, 2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.23 เปราะหอม

ที่มา: http://www.samunpri.com/?attachment_id=5136 (10 ต.ค. 2556)

2.3.13 พลูคาว

พลูคาวมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Houttuynia cordata* Thunb. จัดอยู่ในวงศ์ Saururaceae เป็นพืชที่มีรากไหลเลื้อยคลานไปตามดิน ลำต้นตั้งตรง ใบรูปไข่ปลายแหลม ฐานใบรูปหัวใจ ใบเกลี้ยง ไม่มีขน ช่อดอกประกอบด้วยดอกที่ไม่มีก้านดอก ดอกมีขนาดเล็กและไม่มีกลีบดอก มีแต่กลีบเลี้ยง ใบมีกลิ่นเหม็นคาว ใบและลำต้นมีสีเขียวอมม่วง ส่วนที่ใช้เป็นยา ซึ่งใช้ทั้งต้น โดยใช้เป็นยาขับปัสสาวะ ฆ่าเชื้อโรคทางเดินปัสสาวะ (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

รูปที่ 2.24 พลูคาว

ที่มา: http://www.kelvilyphlukao.com/pbdphlukao_today.html (10 ต.ค. 2556)

2.3.14 ฟักข้าว

ฟักข้าว เป็นพืชชนิดหนึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Momordica cochinchinensis* Spreng. จัดอยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae ลักษณะเป็นไม้เถาล้มลุกเลื้อย มีขนปกคลุมตลอดทั้งเถา มีมือสำหรับยึดเกาะต้นไม้อื่น ลักษณะเป็นใบเดี่ยวออกเรียงสลับ รูปสามเหลี่ยมกว้างและยาว 6-15 เซนติเมตร ปลายใบแหลม ขอบใบเว้าเข้ามาเป็นสามแฉกและมีหนามเป็นตุ่มเล็กๆ ดอกสีเหลืองอ่อน มีขนปกคลุม โคนดอกมีสีน้ำตาลแกมม่วงเกสรเป็นแท่ง ผลทรงกลมขนาดใหญ่ ผิวผลมีหนามแหลมสั้นตลอดทั้งผล ผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อ่อนมีสีเขียวอมเหลือง ผลแก่จัดเป็นสีแดงอมส้ม เมล็ดแบน เนื้อหุ้มเมล็ดมีสีแดง ส่วนที่ใช้คือ ใบใช้แก้ไข้ตัวร้อน ใช้ถอนพิษ อักเสบ ตำพอกแก้ปวดหลัง แก้ฝีและแก้พิษต่างๆ (นิจศิริ, 2547)

รูปที่ 2.25 ฟักข้าว

ที่มา: http://gacfruitmarket.blogspot.com/ (11 ต.ค. 2556)

2.3.15 มะกอก

มะกอกมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Spondias pinnata* (L.f.) Kurz จัดอยู่ในวงศ์ Anacardiaceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่สูงประมาณ 20 เมตรเปลือกลำต้นสีเทาอ่อน เปลือกหนามีปุ่มปมบางเล็กน้อย ใบประกอบแบบขนนกปลายรูปรี ปลายใบมีหางสั้นๆ หลังใบเรียบเกลี้ยง ดอกออกเป็นช่อกลีบดอกรีปลายกลีบดอกแหลม ผลเป็นรูปทรงกลมรีผิวเรียบ ผลอ่อนสีเขียวพอสุกเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ใช้รับประทานได้ โดยมีสรรพคุณดังนี้ ใบ มีรสฝาดเปรี้ยว คั้นน้ำแก้หูอักเสบ แก้ปวดหู เปลือกต้น มีรสฝาดเย็นเปรี้ยว แก้ร้อนใน แก้ท้องเสีย แก้สะอึก แก้อาเจียน ราก มีรสฝาดเย็น แก้ร้อนในกระหายน้ำ ทำให้ชุ่มคอ ขับปัสสาวะ (นิจศิริ, 2547)

รูปที่ 2.26 มะกอก

ที่มา: http://poonitafarm.blogspot.com/2012_11_01_archive.html (11 ต.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.16 มะขามป้อม

มะขามป้อมมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Phyllanthus emblica* L.จัดอยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง เปลือกนอกค่อนข้างเกลี้ยง ใบรวมใบย่อยเรียงเป็น 2 แถวคล้ายขนนก ใบย่อยมีขนาดเล็ก ปลายใบแหลมยาวรีมีสีเขียวแก่ ดอกออกเป็นช่อหรือเป็นกระจุกเล็กๆ ดอกขนาดเล็กมีสีเหลืองๆเขียวๆ ผลมีลักษณะกลมเกลี้ยง มีรอยแยก ผลอ่อนมีสีเขียวออกเหลือง เมื่อแก่เนื้อในจะมีสีเหลืองออกน้ำตาล เมล็ดมีสีน้ำตาล โดยมีสรรพคุณดังนี้ ใบ ต้มลดไข้ ดอกใช้เป็นยาระบายท้อง ลูกแก่แก้ไข้เจือลม แก้ไอ แก้เสมหะ ระบายท้องบำรุงหัวใจ เนื้อของผลแห้ง ใช้แก้บิด แก้ท้องเสีย ยางจากผลหยอดตาแก้อักเสบ รับประทานช่วยย่อยอาหาร เปลือกต้น ช่วยสมานแผล ราก ต้มดื่มแก้พิษไข้ ใช้เป็นยาเย็นและทำให้อาเจียน (กัญจนา, 2542)

รูปที่ 2.27 มะขามป้อม

ที่มา: http://www.thaihealth.or.th/healthcontent/article/7188 (11 ต.ค. 2556)

2.3.17 มังคุด

มังคุดมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Garcinia mangostana* L. จัดอยู่ในวงศ์ Guttiferae เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางสูงประมาณ 10-12 เมตร ทุกส่วนมียางสีเหลือง กิ่งก้านแตกแขนงตั้งแต่โคนต้น ลักษณะเป็นใบเดี่ยวออกเป็นคู่ รูปไข่หรือรูปรี เนื้อใบหนา ขอบเรียบผิวมัน หลังใบสีเขียวเข้ม ท้องใบสีอ่อนกว่า ดอกมีสีแดงชำออกเดี่ยวๆหรือเป็นคู่ตามซอกใบใกล้ปลายกิ่ง กลีบเลี้ยงมีสีเขียวอมเหลือง รูปกลม มีเกสรสีเหลืองกระจุกอยู่ใจกลางดอก ผลเป็นผลกลมขนาดย่อม ผลสุกมีสีม่วงดำเนื้อในมีสีขาวนวล ส่วนที่นิยมใช้ ได้แก่ เปลือกผล บดต้มหรือชงแก้ท้องร่วง แก้บิดมูกเลือด แก้ท้องเสีย แก้แผลเน่าพุพอง เนื้อหุ้มเมล็ดแก้ร้อนใน ยางจากผล แก้บิดท้องร่วง เปลือกผลมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ต้านโรคผิวหนัง รักษาแผลที่เป็นหนองสิว ช่วยลดรอยด่างดำ (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.28 มังคุด

ที่มา: http://www.bansuanporpeang.com/node/19882 (11 ต.ค. 2556)

2.3.18 ว่านนางคำ

ว่านนางคำเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma aromatica* Salisb.จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae เป็นพรรณไม้ลงหัว จัดอยู่ในจำพวกขิงและข่า หัวนั้นจะเป็นสีเหลืองเข้ม และมีกลิ่นหอม มีรสฝาด เป็นพรรณไม้ที่เจริญดีในฤดูฝน และเหี่ยวร่วงโรยในฤดูหนาว แต่หัวยังสดชื่นอยู่ใต้ดิน ใบมีขนาดใหญ่เท่าว่านคันทมาลา ส่วนตรงกลางใบจะมีสีแดง ส่วนที่ใช้เป็นยา ได้แก่ หัวและราก หัวใช้ฝนทารักษาเม็ดผื่นคัน และใช้เป็นยาขับลมในลำไส้ แก้ปวดท้อง หรือใช้ตำพอกรักษาอาการฟกช้ำ รากใช้เป็นยาขับเสมหะและยาสมาน รักษาอาการลงท้องและรักษาโรคหนองในเรื้อรัง (วิทย์, 2536)

รูปที่ 2.29 ว่านนางคำ

ที่มา: http://www.panmai.com/Warn/Warn_ZINGIB_07.shtml (11 ต.ค. 2556)

2.3.19 ว่านน้ำ

ว่านน้ำเป็นพืชชนิดหนึ่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Acorus calamus* L. จัดอยู่ในวงศ์ Araceae ลักษณะเป็นพรรณไม้ที่มีเหง้าเจริญไปตามยาวขนานกับผิวดิน ลักษณะเป็นเส้นกลมและหนา มีสีขาวออกม่วง ใบจะแตกออกจากเหง้าเป็นเส้นตรงและยาว ตรงปลายใบจะแหลม มีเส้นกลางใบมองเห็นชัด ผิวใบเรียบ ดอกจะออกเป็นช่อ เป็นแท่งทรงกระบอก มีสีเหลืองออกเขียว ผลสุกจะเป็นสีแดง มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

สรรพคุณทางยารักษาอาการต่างๆ เช่น ใช้เหง้าแห้ง ใช้รักษาอาการลืมง่าย ตื่นเต้นตกใจกลัวจนสั่น จิตใจปั่นป่วน รักษาอาการปวดฟัน เลือดออกตามไรฟัน แก้ท้องอืด รักษาผื่นคันตามซอกขาและก้น ใช้รักษาโรคบิด ท้องเสีย ไอ ขับลม ขับเสมหะ ปวดตามบริเวณข้อ อาหารไม่ย่อย รักษาแผลเป็นหนอง และใช้ขับพยาธิ (กัญจนา, 2542)

รูปที่ 2.30 ว่านน้ำ

ที่มา: http://fishmini.blogspot.com/2010/07/blog-post_17.html (11 ต.ค. 2556)

2.3.20 ส้มป่อย

ส้มป่อยมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Acacia concinna* (Willd.) D.C จัดอยู่ในวงศ์ Mimosaceae ลักษณะเป็นไม้พุ่มเลื้อยทอดลำต้นเกาะเกี่ยว เปลือกลำต้นสีน้ำตาล ตามลำต้นและกิ่งก้านมีหนามแหลมสั้นอยู่ทั่วไป ใบประกอบแบบขนนก 2 ชั้นใบย่อยรูปขอบขนานปลายใบมน โคนใบมน ขอบใบเรียบ ออกดอกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง ดอกย่อยมีขนาดเล็กอัดแน่น ผลเป็นฝักแบนยาวเป็นลอยตามเมล็ดปลายฝักแหลม สันฝักหนา มีสารกลุ่มซาโปนินสูงถึงร้อยละ 20 ตีกับน้ำจะเกิดฟอง มีสรรพคุณดังนี้ ใบมีรสเปรี้ยวฝาดเล็กน้อย ต้มน้ำดื่มขับเสมหะ ขับระดูขาว แก้บิด แก้โรคตา ดอกมีรสเปรี้ยวฝาดมัน แก้เส้นเอ็นพิการ ฝักมีรสเปรี้ยว ต้มหรือบดรับประทานใช้เป็นยาถ่าย ขับเสมหะ แก้ไข้ เปลือกฝัก ช่วยให้เจริญอาหาร ต้นมีรสเปรี้ยว แก้น้ำตาพิการ ราก มีรสขมแก้ไข้ (นิจศิริ, 2547)

รูปที่ 2.31 ส้มป่อย

ที่มา: http://www.baanmaha.com/community/thread5545.html (11 ต.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ทั้งนี้ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.21 สมอไทย

สมอไทยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Terminalia chebula* Retz. var. *chebula* จัดอยู่ในวงศ์ Combretaceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้น สูงประมาณ 20-35 เมตร เปลือกลำต้นสีเทาปนน้ำตาล มีรอยแตกเป็นร่องลึก ลักษณะเป็นใบเดี่ยว ใบรูปรี ปลายใบแหลม โคนใบมน หลังใบและขอบใบเรียบ ออกดอกเป็นช่อแบบแยกแขนง ตามซอกใบและที่ปลายยอด ดอกย่อยมีขนาดเล็กจำนวนมาก สีครีม มีกลิ่นหอม ผลรูปทรงค่อนข้างกลมผิวเรียบสีเขียว เมล็ดเดี่ยว เปลือกแข็งสีน้ำตาลอ่อน โดยมีสรรพคุณดังนี้ ผล ใช้แก้เจ็บคอ ขับน้ำเหลือง ผลแก่ ใช้เป็นยาฝาดสมาน แก้ลมจุกเสียด เป็นยาเจริญอาหาร ผลอ่อนใช้เป็นยาระบาย ดอก ใช้เป็นยารักษาโรคบิด (นิจศิริ, 2547)

รูปที่ 2.32 สมอไทย

ที่มา: http://nunthana2524.blogspot.com/2013/06/chebulic (11 ต.ค. 2556)

2.3.22 สมอพิเภก

สมอพิเภกเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Terminalia bellirica* (Gaertn.) Roxb. จัดอยู่ในวงศ์ Combretaceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้นสูงถึง 50 เมตร เปลือกลำต้นสีเทาดำขรุขระ แตกเป็นร่องตามยาว มักมีพูพอนแคบๆ ลักษณะเป็นใบเดี่ยว ออกเรียงสลับหนาแน่นที่ปลายกิ่ง ใบรูปไข่ โคนใบสอบ ปลายใบมน หลังใบเรียบเป็นมัน ท้องใบมีขนอ่อน ดอกออกเป็นช่อแกนตามซอกใบ ดอกย่อยสีนวลขาวขนาดเล็ก ผลรูปทรงค่อนข้างกลม เปลือกสีน้ำตาลเข้ม ผิวมีขนสั้นนุ่มสีน้ำตาลปกคลุม โดยมีสรรพคุณดังนี้ ใบ แก้บาดแผล เปลือกต้น ขับปัสสาวะ แก่น แก้ริดสีดวงทวาร ผลอ่อนและผลแก่ ใช้แก้เสมหะ ทำให้ชุมคอ บำรุงธาตุ เมล็ดแก้บิด และดอกใช้แก้โรคตา (นิจศิริ, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.33 สมอพิเภก

ที่มา: https://www.google.co.th/search (11 ต.ค. 2556)

2.3.23 หญ้าฝรั่น

หญ้าฝรั่น มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Crocus sativus* L.จัดอยู่ในวงศ์ Iridaceae เป็นพืชที่มีลำต้นใต้ดินเป็นหัวที่เรียกว่า corm เป็นพืชที่มีอายุได้หลายปี ดอกโผล่ขึ้นมาจากดิน ระยะเวลาที่ออกดอกเป็นเวลา 1-3 สัปดาห์ การเก็บดอกมาใช้จะเก็บเมื่อดอกเริ่มบาน แยกเอาเกสรตัวเมียซึ่งมีสีแดงเข้มออกมาจากส่วนอื่นของดอกด้วยมือ แล้วนำมาย่างบนเตาถ่าน โดยหญ้าฝรั่นเป็นเครื่องเทศที่มีราคาแพงมากที่สุดชนิดหนึ่ง ประเทศที่ปลูกหญ้าฝรั่นเพื่อขายเป็นสินค้า ได้แก่ สเปน ฝรั่งเศส ตุรกี เยอรมนี อิหร่าน และอินเดีย ส่วนที่ใช้ คือ ปลายเกสรตัวเมียที่แห้ง โดยจะใช้แต่งกลิ่นและสีในอาหาร แต่งสีเครื่องดื่มและเหล้า ใช้เป็นยาพื้นบ้าน โดยใช้เป็นยาระงับความปวด ยาขับเหงื่อ ขับระดู แก้อาการเกร็ง ขับเสมหะอีกด้วย (นิจศิริ และ พยอม, 2534)

รูปที่ 2.34 หญ้าฝรั่น

ที่มา: http://www.kasetporpeang.com/forums/index.php?topic=43486.0 (11 ต.ค. 2556)

2.3.24 หญ้าแห้วหมู

หญ้าแห้วหมูเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่ง มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Cyperus rotundus* L. จัดอยู่ในวงศ์ Cyperaceae ลักษณะเป็นไม้ล้มลุกจำพวกหญ้า สูงประมาณ 20-40 เซนติเมตร มีอายุหลายปี มีลำต้นใต้ดินลักษณะเป็นหัวกลมรี ขณะยังอ่อนมีสีขาว พอแก่มีสีดำ ลักษณะเป็นใบเดี่ยว แทงออกจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัว ใบเรียวยาว สีเขียวเป็นมัน กลางใบเป็นร่อง ขอบใบเรียบ ปลายใบแหลม ส่วนล่างเป็นกาบหุ้มลำต้นมีสีน้ำตาลอมแดง ดอกออกเป็นช่อแขนงที่ปลายยอด ก้อนช่อดอกเป็นเหลี่ยม ดอกย่อยมีสีน้ำตาลแดงขนาดเล็ก ไม่มีกลีบดอก ผลรูปทรงยาวรี ปลายแหลม มีสันเป็นรูปสามเหลี่ยม มีสรรพคุณรักษาโรคต่างๆ ดังนี้ หัว มีกลิ่นหอม ใช้เข้ายา เป็นยาฝาดสมาน ขับปัสสาวะ ขับลม บำรุงธาตุ ขับระดู ขับเหงื่อ สงบประสาท แก้บิด แก้ท้องเสีย ช่วยย่อย แก้อาเจียน ลดไข้ แก้กระหายน้ำ แก้ตับอักเสบ และใช้ในปริมาณน้อยยังช่วยขับพยาธิได้อีกด้วย (นิจศิริ, 2547)

รูปที่ 2.35 หญ้าแห้วหมู

ที่มา: http://www.bloggang.com/data/s/step/picture/1284549685.jpg (11 ต.ค. 2556)

2.4 แบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร

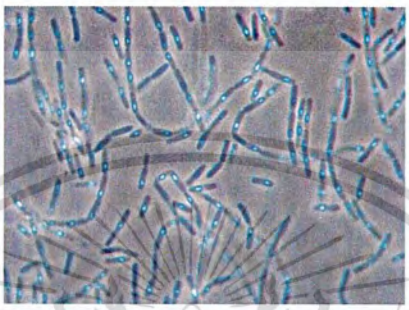
2.4.1 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปท่อน ต้องการอากาศในการเจริญ มีขนาดประมาณ 0.5-1 x 3-10 ไมโครเมตร พบอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ หรือเรียงตัวเป็นสาย สร้างกรดจากการหมักกลูโคสแต่ไม่สร้างแก๊ส สร้างเอนไซม์คะตะเลส สามารถสร้างแคปซูลได้ เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบเซลล์ (peritrichous flagella) มีความสามารถในการสร้างสปอร์ภายในเซลล์ ซึ่งจะมีการสร้างขึ้นเมื่อเซลล์เจริญอยู่ในบรรยากาศที่มีก๊าซออกซิเจนเท่านั้น จึงเรียกสปอร์ชนิดนี้ว่า aerobic endospore (ภัทรชัย, 2552)

เชื้อ *Bacillus cereus* อาศัยอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมและก่อให้เกิดโรคในคนได้ไม่บ่อย แต่มีความสำคัญในการก่อโรคติดเชื้อฉวยโอกาส โรติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ที่มีความสำคัญ คือ โรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร (gastroenteritis) หรือโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) เป็นโรคติดเชื้อ *B. cereus* ที่พบได้บ่อยที่สุด และสามารถก่อให้เกิดการระบาดของโรคได้ ผู้ป่วยที่เป็นโรคนี้มักได้รับจากการรับประทานอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อ สปอร์ หรือสารพิษของเชื้อ การปรุงอาหารด้วยความร้อนไม่สามารถทำลายสปอร์และสารพิษบางชนิดที่เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สร้างออกมาได้ โรคอาหารเป็นพิษสามารถแบ่งตามลักษณะอาการทางคลีนิกและกลไกการก่อโรคออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มที่มีอาการอาเจียน (emetic form) ผู้ป่วยมักจะมีอาการอาเจียน คลื่นไส้ และปวดเกร็งท้อง เกิดจากการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รับประทานอาหารประเภทข้าว โดยเฉพาะข้าวผัด ที่มีการปนเปื้อนสปอร์ของเชื้อ และถูกตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 2) กลุ่มที่มีอาการถ่ายเหลว (diarrheal form) ผู้ป่วยมักมีอาการท้องร่วงและปวดเกร็งท้อง ส่วนใหญ่เกิดจากการรับประทานอาหารจำพวกผัก ผลไม้ เนื้อสัตว์ และซอสที่ปนเปื้อนตัวเซลล์หรือสปอร์ของเชื้อ (ภัทรชัย, 2552)



รูปที่ 2.36 เชื้อ *Bacillus cereus*

ที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1116 (10 ต.ค. 2556)

2.4.2 *Enterobacter aerogenes*

Enterobacter aerogenes เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน จัดอยู่ในวงศ์เอนเทอโรแบคเทอเรียซีอี (Enterobacteriaceae) เซลล์มีขนาดประมาณ 0.3-1 × 1-6 ไมโครเมตร เจริญได้ในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) ไม่สร้างเอนไซม์ออกซิเดส ถูกทำลายได้ง่ายโดยความร้อนและความแห้ง เชื้อ *E. aerogenes* เป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นในทางเดินอาหาร ที่พบว่าไม่เป็นเป็นสาเหตุก่อโรคท้องร่วง แต่มักก่อโรคให้เกิดโรคอื่น เช่น โรคปอดบวม และโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ (ภัทรชัย, 2552)

รูปที่ 2.37 เชื้อ *Enterobacter aerogenes*

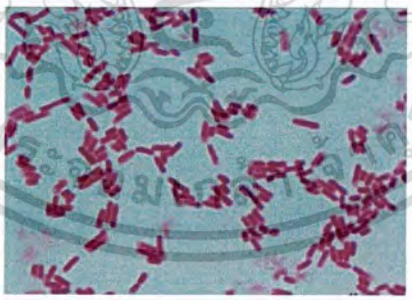
ที่มา: http://modmedmicrobes.wikispaces.com/Enterobacter+aerogenes+number+4 (10 ต.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 *Escherichia coli*

Escherichia coli เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน จัดอยู่ในวงศ์เอนเทอโรแบคเทอเรียซีอี (Enterobacteriaceae) เซลล์มีขนาดประมาณ 0.3-1 × 1-6 ไมโครเมตร เจริญได้ในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) ไม่สร้างเอนไซม์ออกซิเดส เชื้อ *E. coli* เป็นสปีชีส์ที่มีความสำคัญทางการแพทย์มากที่สุด เป็นเชื้อประจำถิ่นในทางเดินอาหาร โดยเฉพาะในลำไส้ใหญ่ เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้สามารถก่อโรคได้ทั้งในคนปกติ และคนที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง เป็นหนึ่งในเชื้อก่อโรคติดเชื้อในโรงพยาบาลที่พบได้บ่อยที่สุด (ภัทรชัย, 2552)

เนื่องจากเชื้อ *E. coli* จัดเป็นเชื้อประจำถิ่นถาวรในลำไส้คนและพบได้ในอุจจาระตลอดเวลา การตรวจพบเชื้อในอาหารหรือน้ำจึงบ่งชี้ถึงการปนเปื้อนอุจจาระ และไม่เหมาะสมสำหรับการบริโภค เชื้อ *E. coli* ที่อาศัยเป็นเชื้อประจำถิ่นในทางเดินอาหารส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ที่ไม่ก่อโรค แต่ในบางรายอาจมีสายพันธุ์ที่ก่อโรคปนอยู่ได้ ผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อนี้เข้าไป มักจะทำให้ป่วยเป็นเกิดโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารหรือโรคทางเดินอาหารอักเสบ (gastroenteritis) การได้รับเชื้อมักเกิดจากการรับประทานอาหารหรือดื่มน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อ ซึ่งโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารที่พบบ่อยมากที่สุดหลังจากได้รับเชื้อก็คือ โรคท้องร่วง (diarrhea) เชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วง เรียกว่า diarrheagenic *E. coli* ซึ่งแบ่งตามกลไกการก่อโรคได้ 5 กลุ่ม คือ Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), Enteropathogenic *E. coli* (EPEC), Enteroinvasive *E. coli* (EIEC), Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) และ Enteroaggregative หรือ Enteroadherent *E. coli* (EAEC) (ภัทรชัย, 2552)



รูปที่ 2.38 เชื้อ *Escherichia coli*

ที่มา: http://www.bacteriainphotos.com/Escherichia%20coli%20light%20-microscopy.html (10 ต.ค. 2556)

2.4.4 *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่งโค้ง หรือรูปเกลียวสั้นคล้ายตัวอักษรเอส (S-shape) มีขนาด 0.3-1 × 1.5-10 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาที่มีเยื่อหุ้ม ซึ่งอยู่ที่บริเวณปลายด้านใดด้านหนึ่งของตัวเซลล์ (lophotrichous flagella)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถสร้างเอนไซม์ออกซิเดส (oxidase) คะตะเลส (catalase) และยูรีเอส (urease) ได้ ไม่สามารถย่อยสลายน้ำตาลโดยผ่านกระบวนการหมักได้ จัดอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียที่ต้องการอากาศในการเจริญเพียงเล็กน้อย (microaerophilic) ซึ่งสภาวะนี้จะมีระดับแก๊สออกซิเจนต่ำประมาณร้อยละ 5 แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 10 และแก๊สไนโตรเจนร้อยละ 85 และหากมีแก๊สไนโตรเจนผสมอยู่ด้วยจะช่วยกระตุ้นการเจริญของเชื้อได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ที่ประมาณ 35 องศาเซลเซียส (ภัทรชัย, 2552)

กลไกการก่อโรคของเชื้อ *H. pylori* นี้ยังไม่ทราบชัดเจน เชื้อนี้สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่เป็นกรดอ่อนหรือเป็นกลาง (pH 6-7) และไม่สามารถทนต่อความเป็นกรดสูงในกระเพาะอาหารได้ ดังนั้นจึงมักจะพบเชื้ออาศัยอยู่ในส่วนลึกของชั้นเมือกที่ปกคลุมเซลล์เยื่อบุผิวในกระเพาะอาหาร เชื้อ *H. pylori* เป็นเชื้อที่มีความสำคัญในการก่อโรคในคนมากที่สุด การได้รับเชื้อส่วนใหญ่มักจะได้รับผ่านทางการกินอาหารหรือดื่มน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อ รวมถึงสามารถถ่ายทอดสู่คนใกล้ชิดหรือแพร่กระจายได้ในชุมชน และอาจแพร่มาจากสัตว์ได้ ผู้ที่มีเชื้อแบคทีเรียนี้อยู่ในร่างกายมักจะไม่การแสดงอาการแต่อย่างใด ปัจจุบันได้มีการศึกษาพบว่าเชื้อ *H. pylori* นี้ก่อให้เกิดโรคการอักเสบและแผลในกระเพาะอาหาร (gastric ulcer) มะเร็งกระเพาะอาหาร (gastric adenocarcinoma) และการอักเสบในลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenitis) (ภัทรชัย, 2552)

รูปที่ 2.39 เชื้อ *Helicobacter pylori*

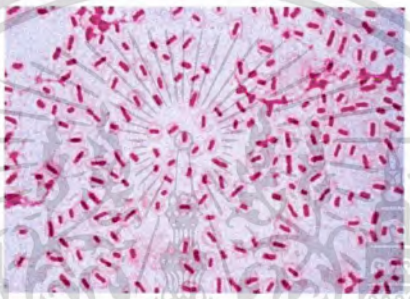
ที่มา: http://www.steadyhealth.com/articles/Helicobacter_pylori__The_Bacteria_that_Cause_Ulcers_a71.html (10 ต.ค. 2556)

2.4.5 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน จัดอยู่ในวงศ์เอนเทอโรแบคเทอเรียซีอี (Enterobacteriaceae) เซลล์มีขนาดประมาณ 0.3-1 × 1-6 ไมโครเมตร สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) ไม่สร้างเอนไซม์ออกซิเดส สามารถสร้างแคปซูลได้ เชื้อ *K. pneumoniae* เป็นสปีชีส์ที่ก่อให้เกิดโรคในคนบ่อยที่สุด มักทำให้เกิดการติดเชื้อที่รุนแรงและมีอัตราการตายสูง โรคติดเชื้อที่สำคัญที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ ได้แก่ โรคปอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บวม ซึ่งมักพบในผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น ผู้ที่ติดสุราเรื้อรัง ผู้ป่วยโรคเบาหวาน และผู้ป่วยโรคทางเดินหายใจเรื้อรัง การติดเชื้อมักเป็นการติดเชื้อเฉพาะกลีบปอด (lobar pneumonia) บางรายอาจจะเกิดเป็นโพรงฝีหนองในปอดได้ เชื้อ *K. pneumoniae* สามารถก่อโรคนอกระบบทางเดินหายใจได้ เช่น โรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร โรคติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (มักพบในทารก) และการติดเชื้อในกระแสเลือด ผู้ป่วยที่พักรักษาตัวอยู่ในโรงพยาบาลเป็นเวลานานพบว่ามักจะมีเชื้อ *K. pneumoniae* อาศัยอยู่ในทางเดินอาหารในปริมาณที่สูงขึ้น และเป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล (ภัทรชัย, 2552)



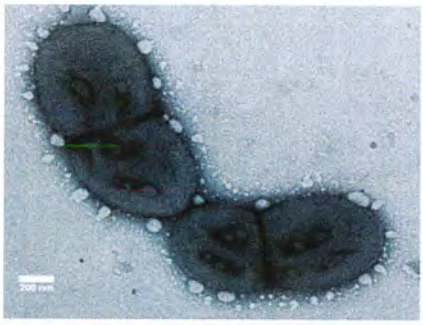
รูปที่ 2.40 เชื้อ *Klebsiella pneumoniae*

ที่มา: http://www.studyblue.com/notes/note/n/microbiology-lab/deck/6785141 (10 ต.ค. 2556)

2.4.6 *Porphyromonas gingivalis*

Porphyromonas gingivalis เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อนสั้น (short rod) หรือกลมรี (coccobacilli) จัดอยู่ในวงศ์พอไฟโรโมนาดาซีอี (Porphyromonadaceae) มีขนาด 0.3-1.0 × 0.8-3.5 ไมโครเมตร ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ เจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ (obligate anaerobic) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ คือ 37 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปจะสร้างโคโลนีสีน้ำตาลไปจนถึงสีดำบนอาหาร blood agar ต้องการฮีมิน (hemin) และวิตามินเคในการเจริญ สามารถย่อยสลายกรดอะมิโน และเปลี่ยนไปเป็นสารผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่มีความเป็นพิษต่อมนุษย์ได้ เชื้อ *P. gingivalis* เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคเหงือกอักเสบ (gingivitis) แยกได้จากการติดเชื้อในปาก (oral infection) ของมนุษย์และสัตว์ (Krieg, 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

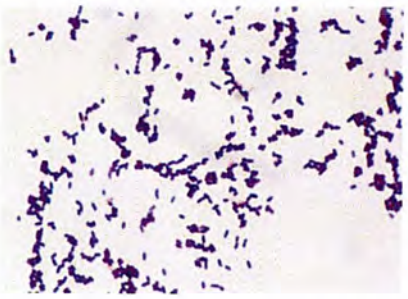


รูปที่ 2.41 เชื้อ *Porphyromonas gingivalis*
ที่มา: http://www.pgingivalis.org/W50BEI(2).htm (14 มี.ค. 2557)

2.4.7 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปท่อน มีขนาดประมาณ 0.4-0.5 × 0.5-2 ไมโครเมตร ส่วนใหญ่พบอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว หรืออาจเรียงตัวเป็นสายสั้นๆ ไม่สร้างสปอร์ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส แต่เชื้อสามารถเคลื่อนที่ได้เฉพาะเมื่อเจริญที่อุณหภูมิ 22-28 องศาเซลเซียสด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบเซลล์จำนวน 1 ถึง 5 เส้น เชื้อนี้สามารถเจริญได้อย่างช้าๆ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เจริญได้ในสภาวะที่มีอากาศหรือไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) สร้างเอนไซม์คะตะเลสได้ แต่ไม่สร้างเอนไซม์ออกซิเดส (ภัทรชัย, 2552)

การติดเชื้อ *L. monocytogenes* ส่วนใหญ่นั้นเกิดจากการรับประทานอาหารหรือน้ำดื่มที่ปนเปื้อนเชื้อ โดยเฉพาะอาหารแช่เย็นที่ไม่ผ่านการปรุงด้วยความร้อน เช่น นม เนยแข็ง และผักผลไม้ เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำจึงสามารถเจริญในอาหารแช่เย็นได้ เชื้อ *L. monocytogenes* เป็นสาเหตุก่อโรคติดเชื้อที่เกิดจากอาหาร (foodborne infection) ที่พบอัตราการตายสูงที่สุดคือประมาณร้อยละ 20 ถึงร้อยละ 30 เป็นเชื้อที่มีความจำเพาะกับเนื้อเยื่อของระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้เกิดโรคในกลุ่ม listeriosis เช่น โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ (meningitis) สมองอักเสบ (encephalitis) และการติดเชื้อในกระแสเลือด (septicemia) (ภัทรชัย, 2552)



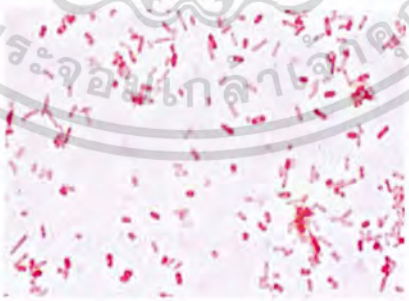
รูปที่ 2.42 เชื้อ *Listeria monocytogenes*
ที่มา: http://www.msevans.com/cnsinfections/listeria.html (10 ต.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.8 *Salmonella* Rissen และ *Salmonella* Typhimurium

Salmonella เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน จัดอยู่ในวงศ์เอนเทอโรแบคเทอเรียซีอี (Enterobacteriaceae) เซลล์มีขนาดประมาณ 0.3-1 × 1-6 ไมโครเมตร เจริญได้ในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) ไม่สร้างเอนไซม์ออกซิเดส (oxidase) สามารถสร้างแคปซูลที่มีลักษณะบางๆ ได้ เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบตัว ชื่อสกุล *Salmonella* นี้ตั้งชื่อให้เป็นเกียรติแก่นายแพทย์ชาวอเมริกันชื่อ Daniel E. Salmon (ค.ศ. 1850-1914) ซึ่งเป็นผู้ค้นพบแบคทีเรียชนิดนี้ การติดเชื้อ *Salmonella* เกือบทั้งหมดนั้นมักได้รับเชื้อทางการกิน โดยปริมาณเชื้อที่สามารถก่อโรค (infectious dose) ได้อยู่ที่ประมาณ 10^6-10^8 เซลล์ ทำให้การระบาดของเชื้อนี้เกิดขึ้นได้ง่าย (ภัทรชัย, 2552)

เชื้อ *Salmonella* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบอาศัยและก่อโรคในสัตว์ได้เกือบทุกชนิดทั้งสัตว์ปีก สัตว์เลื้อยคลาน และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งถือเป็นแหล่งสำคัญในการแพร่เชื้อมาสู่คน ส่วนใหญ่ผู้ป่วยที่ติดเชื้อมักได้รับเชื้อจากการรับประทานอาหารหรือน้ำดื่มที่ปนเปื้อนเชื้อ ที่พบบ่อยได้แก่ ไข่ สัตว์ปีก และผลิตภัณฑ์นม รวมถึงอาหารที่เตรียมโดยผู้ที่เป็นพาหะของเชื้อ โรคติดเชื้อ *Salmonella* เรียกว่า salmonellosis โดยโรค salmonellosis ที่สำคัญได้แก่ โรคทางเดินอาหารอักเสบ (gastroenteritis) ซึ่งเป็นโรคที่พบได้บ่อยที่สุด โดยซีโรไทป์ (serotype) ที่ก่อโรคในคนได้บ่อยก็คือ *S.* Typhimurium กลไกในการก่อโรคนั้นยังไม่เป็นที่ทราบชัดเจน เชื่อว่าเกิดจากเชื้อบุกรุกเข้าสู่เซลล์และกระตุ้นการตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกัน หลังจากผู้ป่วยได้รับเชื้อทางการกินประมาณ 6-48 ชั่วโมง จะเริ่มมีไข้ต่ำ หนาวสั่น ปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน ปวดเกร็งท้อง และถ่ายเหลวเป็นน้ำ บางรายอาจมีอาการคล้ายอหิวาต์และรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้ (ภัทรชัย, 2552)



รูปที่ 2.43 เชื้อ *Salmonella* Typhimurium

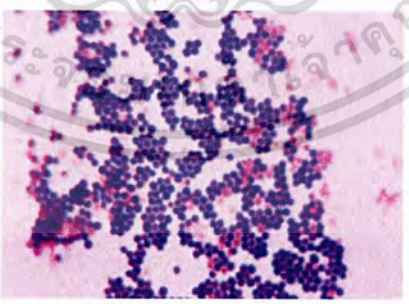
ที่มา: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Salmonella_Typhimurium_Gram.jpg (10 ต.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.9 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกรูปกลม (Gram-positive cocci) เซลล์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5-1.5 ไมโครเมตร มักอยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น (grape-like cluster) ชื่อเชื้อมาจากศัพท์ภาษากรีกคือ “staphyle” แปลว่าพวงองุ่น จำนวนเซลล์ในแต่ละกลุ่มไม่แน่นอน บางครั้งอาจเห็นอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือคู่ก็ได้ ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ เจริญได้ในสภาวะที่มีอากาศหรือไม่มีอากาศก็ได้ (facultative anaerobe) สามารถเจริญในที่ที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึงร้อยละ 10 และเจริญได้ที่อุณหภูมิแตกต่างกันตั้งแต่ 18-40 องศาเซลเซียส เชื้อ *S. aureus* สามารถทนต่อความแห้งและทนความร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสได้นาน 30 นาที สามารถสร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase) และเอนไซม์โคแอกลูเลส (coagulase) ซึ่งเอนไซม์โคแอกลูเลสนี้เป็นคุณสมบัติสำคัญที่ใช้ในการแยกเชื้อสปีชีส์นี้ออกจากเชื้อสปีชีส์อื่น (ภัทรชัย, 2552)

เชื้อ *S. aureus* เป็นเชื้อกลุ่ม staphylococci ที่ก่อโรคในคนบ่อยที่สุด โดยทั่วไปเชื้อมักจะอาศัยอยู่บนผิวหนัง และอาจลุกลามลงสู่ชั้นเนื้อเยื่อเข้าสู่ร่างกายได้หากมีบาดแผลหรือถูกวัตถุแปลกปลอมแทงทะลุผ่านชั้นผิวหนังลงไป ในผู้ที่เป็นพาหะของเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้มักพบเชื้ออาศัยอยู่ตามโพรงจมูกส่วนหน้า ทำให้เชื้อสามารถแพร่กระจายได้ง่ายและรวดเร็ว ลักษณะสำคัญของโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ *S. aureus* คือ เกิดการอักเสบเป็นหนองในตำแหน่งติดเชื้อที่เรียกว่า suppurative infection หรือมักทำให้เกิดฝีหนอง (abscess) โดยเฉพาะในบริเวณผิวหนังและชั้นเนื้อเยื่อใต้ผิวหนัง นอกจากนี้เชื้อจากรอยโรคอาจแพร่กระจายเข้าสู่เลือดไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย ทำให้สามารถก่อโรคติดเชื้อตามระบบต่างๆ ได้ (ภัทรชัย, 2552)



รูปที่ 2.44 เชื้อ *Staphylococcus aureus*

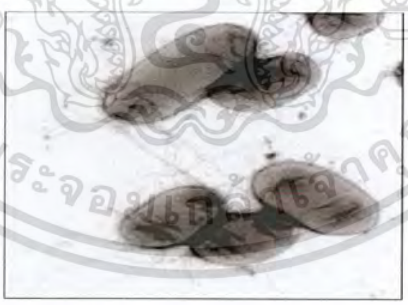
ที่มา: http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=7611 (10 ต.ค. 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.10 *Yersinia enterocolitica*

Yersinia enterocolitica เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปท่อนขนาดเล็ก หรือรูปท่อนสั้น (coccobacilli) มีขนาด 0.5-0.8 × 1-3 ไมโครเมตรส่วนใหญ่พบแพร่กระจายทั่วไปในสิ่งแวดล้อมและอาศัยอยู่ได้ในสัตว์หลายชนิด สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลาที่อยู่รอบเซลล์ (peritrichous flagella) แต่จะเคลื่อนที่เฉพาะที่อุณหภูมิ 22-30 องศาเซลเซียส และไม่เคลื่อนที่ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เชื้อ *Y. enterocolitica* สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 0-45 องศาเซลเซียส และมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 25-28 องศาเซลเซียส ซึ่งแตกต่างจากเชื้อชนิดอื่นในวงศ์เอนเทอโรแบคเทอเรียซีอี (Enterobacteriaceae) (ภัทรชัย, 2552)

โรคติดเชื้อ *Y. enterocolitica* จัดเป็นโรคติดเชื้อจากสัตว์ (zoonosis) คนไม่ใช่แหล่งอาศัยโดยธรรมชาติของเชื้อ แต่สามารถเกิดโรคติดเชื้อฉวยโอกาสจากการได้รับเชื้อโดยบังเอิญ (accidental host) ได้ แหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติของเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้คือ บริเวณทางเดินอาหารของสัตว์ และพบอาศัยอยู่ในสิ่งแวดล้อมเช่น ดินและน้ำได้นาน ส่วนใหญ่ผู้ป่วยมักติดเชื้อนี้ได้จากการรับประทานอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อนี้เข้าไป ซึ่งสามารถแบ่งลักษณะอาการทางคลีนิกของการติดเชื้อได้เป็น 2 กลุ่ม คือ 1) โรคติดเชื้อในทางเดินอาหาร (enterocolitis หรือ intestinal yersinosis) เกิดจากการได้รับเชื้อเข้าไปประมาณ 10^{8}-10^{9} เซลล์ การติดเชื้อมักพบในผู้ใหญ่มากกว่าเด็ก และ 2) การติดเชื้อในกระแสเลือด (septicemia) พบได้น้อยมาก ส่วนใหญ่มักเกิดกับผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น ผู้ป่วยโรคเบาหวาน โรคตับแข็ง โรคเอดส์ และโรคมะเร็ง รวมถึงในผู้สูงอายุ (ภัทรชัย, 2552)



รูปที่ 2.45 เชื้อ *Yersinia enterocolitica*

ที่มา: http://www.wadsworth.org/databank/yersinia.htm (10 ต.ค. 2556)

2.5 พรีไบโอติก

พรีไบโอติก (prebiotic) ถูกให้คำจำกัดความขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1995 โดย Gibson และ Roberfroid ว่าหมายถึงส่วนประกอบของอาหารที่ไม่ถูกย่อยซึ่งมีผลในทางที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายของผู้ที่ได้รับสารดังกล่าว โดยกระตุ้นการเจริญหรือกิจกรรมของแบคทีเรียจำนวนหนึ่งที่อาศัยอยู่ใน

เอกสารนี้ ... ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำไส้ใหญ่ ดังนั้นจึงช่วยปรับปรุงสุขภาพของผู้ที่รับประทานสารนี้ คำจำกัดความดังกล่าวได้ถูกปรับปรุงใหม่โดยผู้เขียนหลายๆท่านและในปัจจุบัน สารพรีไบโอติกหมายถึง ส่วนประกอบที่ถูกคัดเลือกให้เกิดกระบวนการหมักส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างจำเพาะทั้งต่อองค์ประกอบและหรือกิจกรรมของจุลินทรีย์ภายในกระเพาะอาหารและลำไส้ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพ ปัจจุบันสารพรีไบโอติกทั้งหมดหมายถึงคาร์โบไฮเดรตสายสั้น (short-chain carbohydrates) ที่มีระดับของการเกิดโพลิเมอร์ (degree of polymerization) ระหว่าง 2 ถึงประมาณ 60 มอนอเมอร์ และเชื่อกันว่าสารดังกล่าวนั้นไม่สามารถถูกย่อยได้โดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ (Saad และคณะ, 2013) ซึ่งสารที่จะจัดเป็นสารพรีไบโอติกได้นั้นจะต้องมีคุณลักษณะสำคัญอย่างน้อย 3 ประการคือ 1) สารนั้นจะต้องไม่ถูกไฮโดรไลซ์ (hydrolyzed) หรือดูดซึมในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก 2) สารนั้นจะต้องมีความจำเพาะกับแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ เช่น bifidobacteria 3) การหมักของสารนี้ควรชักนำให้เกิดผลในทางที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย (Gibson, 2004) สับสเตรท (substrate) จำนวนหนึ่งที่ได้มาจากอาหารหรือถูกผลิตขึ้นโดยร่างกายที่จะถูกใช้ในกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ใหญ่ ได้แก่ สาร resistant starch ซึ่งเป็นสารที่ได้มาจากอาหารเป็นสับสเตรทที่มีปริมาณสูงและมีความสำคัญมากที่สุด สารโพลีแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช (non-starch polysaccharides) นั้นเป็นสารกลุ่มที่มีปริมาณมากและมีความสำคัญรองลงมา ประกอบด้วยสับสเตรทที่ได้จากพืช เช่น เพคติน (pectin) เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) กัว (guar) และไซแลน (xylan) น้ำตาลและโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharides) เช่น แลคโตส (lactose) แลคทูโลส (lactulose) ราฟฟิโนส (raffinose) สตาคิโอส (stachyose) และสารประกอบฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructo-oligosaccharide) สารทั้งหมดนี้เป็นสารที่ไม่ถูกดูดซึมในลำไส้เล็ก ดังนั้นจึงพบมากในลำไส้ใหญ่ ซึ่งจะถูกเมแทบอไลซ์โดยเชื้อแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ มิวซินไกลโคโปรตีน (mucin glycoprotein) ถูกสร้างขึ้นโดยก๊อปเล็ตเซลล์ (goblet cell) ในเยื่อบุลำไส้ใหญ่ (colonic epithelium) เป็นสารที่มีมากซึ่งจะถูกหมักในลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้สารมิวโคโพลีแซคคาไรด์ (related mucopolysaccharides) ชนิดอื่นที่เกี่ยวข้อง เช่น คอนดรอยติน ซัลเฟต (chondroitin sulphate) และเฮปาริน (heparin) และสารที่หลั่งจากตับอ่อนและแบคทีเรียนั้น เป็นสารที่หาได้หรือมีใช้โดยจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ สุดท้ายแล้วโปรตีนและเปปไทด์ที่ได้มาจากอาหารซึ่งอยู่ในสารที่หลั่งจากตับอ่อนหรือถูกผลิตขึ้นโดยเชื้อแบคทีเรียก็ยังคงเป็นสารที่มีอยู่แม้ว่าจะมีในปริมาณที่น้อยกว่าสารประเภทคาร์โบไฮเดรตก็ตาม (Gibson, 2004)

ดังนั้นสารพรีไบโอติก จึงเป็นสารที่สามารถกระตุ้นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นบางชนิดที่อาศัยอยู่ภายในลำไส้ได้มากกว่าที่จะนำแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นที่อาศัยอยู่ภายนอกร่างกายเข้ามา ฉะนั้นหลักการที่สำคัญของพรีไบโอติกก็คือ การที่สารคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อย (non-digestible carbohydrates) ถูกคัดเลือกไปใช้ในการหมักโดยแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ และเมื่อองค์ประกอบของอาหารใดๆ นี้เคลื่อนมาถึงลำไส้ใหญ่จึงเป็นสารพรีไบโอติกที่มีศักยภาพ อย่างไรก็ตามความสนใจส่วนใหญ่ในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พัฒนาสารพรีไบโอติกนั้น ได้มุ่งเน้นไปที่สารโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่สามารถย่อยได้ (non-digestible oligosaccharides) (Gibson, 2004)

เนื่องจากแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ดังนั้น สารพรีไบโอติกมักจะเคลื่อนตัวไปยังแบคทีเรียที่อยู่บริเวณลำไส้ส่วนล่างโดยตรง ปัจจุบันพรีไบโอติกส่วนใหญ่ถูกจัดเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่สามารถย่อยได้บริเวณลำไส้ส่วนบนและมีระดับของการถูกเลือกให้เกิดกระบวนการหมักตามความต้องการ ตัวอย่างเช่นมีความจำเพาะกับเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม bifidobacteria (Gibson, 2004)

2.5.1 แหล่งที่มาและชนิดของสารพรีไบโอติก

มีความเป็นไปได้ที่จะได้รับสารพรีไบโอติกจากธรรมชาติ เช่น จากอาหาร ผักและผลไม้หลายชนิดประกอบด้วยสารโอลิโกแซคคาไรด์ที่จัดเป็นสารพรีไบโอติก เช่น สารฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ ผักและผลไม้ที่มีสารโอลิโกแซคคาไรด์ได้แก่ หัวหอม กระเทียม กล้วย หน่อไม้ฝรั่ง กระเทียมต้น หัวชิโครีและแก่นตะวัน เป็นต้น (Gibson, 2004)

เมื่อเร็วๆ นี้ได้มีการพัฒนาสารโอลิโกแซคคาไรด์ที่เป็นสารพรีไบโอติกและแบคทีเรียโพรไบโอ-ติกในทางการค้าซึ่งได้นำไปสู่แนวคิดใหม่นั่นคือ ซิมไบโอติก (symbiotic) ซึ่งเป็นการรวมโพรไบโอติกเข้ากับสารพรีไบโอติก สารพรีไบโอติกนั้นอาจได้มาจากการสกัดโดยตรงจากแหล่งธรรมชาติหรือโดยกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีโดยการไฮโดรไลซ์โพลีแซคคาไรด์หรือโดยการสังเคราะห์โดยใช้เอนไซม์และปฏิกิริยาทางเคมีจากน้ำตาลโมเลกุลคู่ สารพรีไบโอติกส่วนใหญ่นั้นถูกสังเคราะห์ขึ้นหรือแยกโดยกระบวนการดีโพลีเมอไรเซชัน (depolymerization) ของโพลีแซคคาไรด์จากพืช และสาหร่าย เช่น สารฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructo-oligosaccharides) สารกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galacto-oligosaccharides) สารไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (isomalto-oligosaccharides) และสารไซโล-โอลิโกแซคคาไรด์ (xylo-oligosaccharides) (Saad และคณะ, 2013)

2.5.1.1 สารพรีไบโอติกที่พบทางธรรมชาติ

ก) กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galacto-oligosaccharides)

กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ประกอบด้วย กาแลคโตสในโครงสร้างต่อไปนี้คือ Glu α 1-4 [β Gal 1-6]$_n$ โดยที่ n เท่ากับ 2-5 ซึ่งพบได้ในน้ำนมของมนุษย์ วัว โยเกิร์ต และอาจสังเคราะห์ได้จากแลคโตสด้วยเอนไซม์เบต้า-กาแลคโตซิเดส (β-galactasidase) (Thammarutwasik และคณะ, 2009) กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ไม่สามารถถูกย่อยได้โดยเอนไซม์ในลำไส้และสามารถเคลื่อนตัวผ่านไปยังลำไส้ใหญ่ได้โดยปราศจากการถูกย่อย แต่อย่างไรก็ตามกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์สามารถถูกไฮโดรไลซ์ได้โดยจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้ใหญ่ทำให้เกิดการสร้างกรดไขมันสายสั้นๆ (short-chain fatty acid) เช่น กรดแอซีติก (acetic acid) กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) และกรดบิวทิริก (butyric acid) รวมทั้งแก๊ส เช่น แก๊สไฮโดรเจน มีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้อาจมีสารประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อื่นที่ได้จากการย่อยสลายกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์เช่น แลคเตท (lactate) ที่สามารถส่งเสริมการเจริญของ Bifidobacteria และ Lactobacilli ได้ จุลินทรีย์เหล่านี้สามารถช่วยสังเคราะห์สารจำพวกวิตามินออกมากระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันและป้องกันกระเพาะอาหารส่วนบน (stomach upset) จากรายงานการศึกษาผลของกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ของอาสาสมัครจำนวน 12 คนที่มีจำนวนจุลินทรีย์ในลำไส้น้อยกว่าปกติ โดยให้อาสาสมัครทั้ง 12 คนได้รับกาแลคโต-โอลิโกแซคคาไรด์ปริมาณ 10 กรัมต่อวัน พบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นและมีการดูดซึมแร่ธาตุในลำไส้ของพวกเขาเพิ่มขึ้นเช่นกัน แล้วยังมีรายงานว่าการเพิ่มกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ปริมาณร้อยละ 5 (น้ำหนักโดยปริมาตร) ในอาหารหนูเป็นเวลา 30 วัน มีผลทำให้หนูนั้นมีการดูดซึมแคลเซียมเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังมีผู้ทดลองให้หนูกินอาหารที่มีกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ปริมาณร้อยละ 5 (น้ำหนักโดยปริมาตร) เป็นเวลา 14 วันพบว่าหนูมีการดูดซึมแคลเซียมและแมกนีเซียมดีขึ้น นอกจากนี้กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ยังช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่โดยการลดระดับค่าพีเอชในลำไส้ใหญ่ซึ่งจะช่วยยับยั้งกระบวนการสร้าง secondary bile acids ที่เป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็ง สารกาแลคโตโอลิโก-แซคคาไรด์จะควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์ของแบคทีเรียที่หลากหลาย ตัวอย่างเช่น เบต้ากลูโคโรนิเดส (β-glucoronidase) และไนโตรรีดักเทส (nitroreductase) ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารพิษและสารก่อมะเร็ง กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ยังถูกพบว่าสามารถลดสารประกอบที่อันตราย เช่น แอมโมเนีย (ammonia) อินโดล (indole) และ *p*-cresol ซึ่งเป็นสารเคมีที่สามรถกระตุ้นให้เกิดการขยายตัวของมะเร็งได้ (Thammarutwasik และคณะ, 2009)

ข) ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์และอินนูลิน

อินนูลิน คือสารโพลีแซคคาไรด์ที่เป็นอาหารสะสมของพืช เป็นโมเลกุลของฟรุกโตโอ-ลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาดเล็กประกอบด้วยฟรุกโตส 3 ถึง 60 โมเลกุลมีโครงสร้างคือ Glu α 1-2 [β Fru 2-1]$_n$ ซึ่ง n เท่ากับ 10^{14} โดยทั่วไปแล้วอินนูลินนั้นพบได้ในพืช แบคทีเรียและฟังไจบางชนิด และเป็นที่รู้กันดีว่ามีอินนูลินมีอยู่ในผักและผลไม้มากกว่า 3,600 ชนิด โดยเฉพาะในวงศ์ชิโคเรียม (Cichorium family) เช่น ชิโครี กล้วย หอมหัวใหญ่ และกระเทียม (ตารางที่ 2.1) อินนูลินไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็กแต่บางส่วนอาจถูกย่อยในลำไส้ใหญ่โดยจุลินทรีย์ประจำถิ่น อินนูลินและฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์สามารถละลายได้ง่ายในน้ำร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส แต่ละลายได้น้อยมากในน้ำเย็นและแอลกอฮอล์ อินนูลินและฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์เกือบทั้งหมด มีความเสถียร ไม่มีสมบัติทางประสาทสัมผัสที่ไม่พึงประสงค์ยกเว้นบางชนิดมีความหวานบ้าง ดังนั้นจึงถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อปรับปรุงรสสัมผัสและคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์บางชนิด เช่น ช่วยรักษาความสดใหม่และความชื้นในเค้ก และรักษาความคงตัวทางกายภาพในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม อินนูลินและฟรุกโตโอลิโก-แซคคาไรด์สามารถผ่านไปยังลำไส้ใหญ่ได้โดยปราศจากการถูกย่อย ดังนั้นทั้งอินนูลินและฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์จึงมีคุณสมบัติของการเป็นสารพรีไบโอติก (Thammarutwasik และคณะ, 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค) โอลิโกแซคคาไรด์ในถั่วเหลือง (Soybean oligosaccharides)

Soybean oligosaccharides เป็นสารโอลิโกแซคคาไรด์ในถั่วเหลืองที่ประกอบด้วย ราฟฟิโนส (raffinose) และสตาคิโอส (stachyose) สามารถทนต่อการย่อยโดยเอนไซม์ในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก สามารถถูกไฮโดรไลซ์ได้โดยจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ใหญ่ซึ่งสามารถเพิ่มการเจริญของแบคทีเรียกลุ่ม bifidobacteria ในลำไส้ใหญ่ได้ (Thammarutwasik และคณะ, 2009)

ตารางที่ 2.1 อินนูลินและฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่พบในพืช

ชนิดของพืช	อินนูลิน (ร้อยละของน้ำหนักเปียก)	ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (ร้อยละของน้ำหนักเปียก)
หอมหัวใหญ่	2-6	2-6
แก่นตะวัน	16-20	10-15
ชิโครี่	15-20	5-10
กระเทียมต้น	3-10	2-5
อาร์ติโชค	3-10	น้อยกว่า 1
กล้วย	0.3-0.7	0.3-0.7
ข้าวไรน์	0.5-1.0	0.5-1.0
บาร์เลย์	0.5-1.5	0.5-1.5
ข้าวสาลี	1-4	1-4
หน่อไม้ฝรั่ง	1-30	5-10
กระเทียม	9-16	3-6

ที่มา: ดัดแปลงจาก Thammarutwasik และคณะ (2009)

2.5.1.2 สารพรีไบโอติกที่ได้จากการสังเคราะห์

ก) แลคโตซูโครส (Lactosucrose)

แลคโตซูโครสถูกผลิตขึ้นจากการรวมกันของแลคโตสและซูโครสโดยใช้เอนไซม์เบต้า-ฟรุกโตฟูราโนซิเดส (β-fructofuranosidase) จากการทดลองให้แลคโตซูโครสกับอาสาสมัครจำนวน 3 คนในปริมาณ 3 กรัมต่อวัน พบว่าปริมาณของ bifidobacteria มีการเพิ่มขึ้น 0.7 เท่าและจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายลดลง 0.6 เท่า นอกจากนี้กรดไขมันสายสั้นๆ เช่น กรดแอซีติก และกรดบิวทิริกมีการเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน (Thammarutwasik และคณะ, 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข) แลคทูโลส (lactulose)

แลคทูโลส ถูกผลิตขึ้นจากแลคโตสที่มีโครงสร้างอยู่ในรูป Gal β1-4 Fru แลคทูโลสละลายได้ในน้ำ ละลายได้เล็กน้อยในเมทานอลและไม่ละลายในอีเทอร์ ไม่ถูกไฮโดรไลซ์และไม่ถูกดูดซึมในลำไส้เล็ก แต่สามารถถูกหมักโดยเชื้อแบคทีเรียภายในลำไส้ใหญ่ซึ่งจะช่วยเพิ่มจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ประจำถิ่น การเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ประจำถิ่นนี้พบว่าสามารถช่วยป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ ช่วยลดปริมาณเชื้อก่อโรคและช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกัน แลคทูโลสปริมาณเล็กน้อยถูกพบในอาหารจากธรรมชาติ ดังนั้นจึงมีการเติมแลคทูโลสในอาหารที่หลายชนิด เช่น โยเกิร์ต คุกกี้ เค้ก และช็อกโกแลต เพื่อใช้เป็น Functional ingredient ที่ช่วยปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการ (Thammarutwasik และคณะ, 2009)

ค) ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Isomalto-oligosaccharide)

ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ ถูกผลิตขึ้นจากสตาร์ชโดยใช้เอนไซม์ไอโซมอลโตส (isomaltose) ซึ่งเป็นไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดหนึ่งที่สามารถถูกย่อยได้ภายในในลำไส้เล็ก มีรายงานว่าการให้สารไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ ปริมาณ 20 กรัมต่อวันนั้นส่งผลทำให้มีการเพิ่มขึ้นของ bifidobacteria ในลำไส้ใหญ่และกระบวนการหมักไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยแบคทีเรียกรดแลคติกที่การสร้างบิวทิเรท (Thammarutwasik และคณะ, 2009)

ง) กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ (Gluco-oligosaccharide)

กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ ถูกสังเคราะห์ขึ้นด้วยเอนไซม์กลูโคซิลทรานสเฟอเรส (glucosyl transferase) ที่ผลิตขึ้นโดย *Leuconostoc mesenteries* หรืออาจจะสกัดจากเบต้า-กลูแคน (β-glucan) ของต้นโอ๊ค โดยได้มีการยอมรับว่าเป็น functional food กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์สามารถถูกหมักโดย Bifidobacteria ได้ยกเว้น *Bifidobacterium bifidum* และยังสามารถถูกไฮโดรไลซ์โดยเชื้อกลุ่ม Bacteriods และ Clostridia แต่ไม่สามารถถูกไฮโดรไลซ์โดย Lactobacilli นักวิจัยกลุ่มหนึ่งได้ศึกษาผลของกลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ในหนูต่อกิจกรรมของเชื้อ *B. breve* และพบว่ากลูโค-โอลิโกแซคคาไรด์ สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อ *Salmonella* ได้ (Thammarutwasik และคณะ, 2009)

จ) ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (Xylo-oligosaccharide)

ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลไซโลส (xylose) ที่ต่อกันอยู่ด้วยพันธะ β 1-4 ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์สามารถถูกไฮโดรไลซ์โดย Bifidobacteria และ Lactobacilli และพบว่ามีประสิทธิภาพมากกว่าฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ ในการเพิ่มจำนวนประชากรของโพรไบโอ-ติก และการลดจำนวนลงของแบคทีเรียที่เป็นอันตราย (Thammarutwasik และคณะ, 2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อย (Non-digestible carbohydrate)

คาร์โบไฮเดรตต่างๆ มักถูกจัดกลุ่มตามขนาดของโมเลกุลหรือ degree of polymerization ได้เป็นน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์และโพลีแซคคาไรด์ซึ่งกลุ่มย่อยเหล่านี้ถูกบ่งชี้โดยธรรมชาติของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบสำคัญ อย่างไรก็ตามมีความจำเป็นที่จะต้องทำการแบ่งตามคุณสมบัติทางสรีรวิทยาด้วย (Voragen, 1998)

การจัดกลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญที่สุด คือการจัดกลุ่มตามความสามารถในการย่อยในลำไส้เล็ก มีคาร์โบไฮเดรต 3 ชนิดหลักที่ไม่สามารถย่อยได้ในลำไส้เล็กของมนุษย์ ได้แก่ สารโพลีแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช รีซิสแตนท์สตาร์ช และโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อย สารอาหารคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อยในบริเวณกระเพาะอาหารและลำไส้ส่วนบน จัดเป็นสับสเตรทที่สำคัญสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียภายในลำไส้ใหญ่ รีซิสแตนท์สตาร์ชประมาณ 10 ถึง 60 กรัมต่อวันจะเคลื่อนตัวไปสู่ลำไส้ใหญ่ และรีซิสแตนท์สตาร์ชประมาณ 8 ถึง 40 กรัมต่อวันที่จะเป็นส่วนของสับสเตรทที่ใช้ในการหมักตามด้วยโพลีแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช 8 ถึง 18 กรัมต่อวันซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลที่ไม่สามารถดูดซึมได้ 2 ถึง 10 กรัม และโอลิโกแซคคาไรด์ 2 ถึง 8 กรัม ซึ่งจะเป็นสับสเตรทที่ใช้ในการหมัก แต่อย่างไรก็ตามจากการสำรวจปริมาณรีซิสแตนท์สตาร์ชในอาหารหลักที่ชาวยุโรปรับประทานพบว่ามีปริมาณรีซิสแตนท์สตาร์ชเพียง 4 กรัมต่อวัน (Voragen, 1998)

2.5.3 ประโยชน์ของสารพรีไบโอติก

จุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้สามารถหมักสารประกอบได้หลายชนิดซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารที่ได้มาจากอาหารซึ่งไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็ก จึงทำให้มีปริมาณเพียงพอสำหรับการหมักโดยจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ใหญ่ สารต่างๆ เหล่านี้รวมถึงรีซิสแตนท์สตาร์ช โพลีแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช (dietary fiber) โอลิโกแซคคาไรด์ โปรตีน กรดอะมิโนและสารอื่นๆอีกมากมาย โดยในผู้ใหญ่ทั่วๆ ไปอาหาร 100 กรัมของที่รับประทานเข้าไปในแต่ละวันนั้น จะเคลื่อนตัวเข้าสู่ลำไส้ใหญ่และจะเกิดกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ กระบวนการหมักแบบไม่ใช้อากาศในลำไส้แบ่งได้เป็น 2 ชนิดหลัก คือ การย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาล (saccharolytic) และการย่อยสลายโปรตีน (proteolytic) ส่วนใหญ่ผลิตภัณฑ์สุดท้ายของเมแทบอลิซึมคาร์โบไฮเดรต คือกรดไขมันสายสั้น (short-chain fatty acid) ซึ่งกรดไขมันสายสั้นที่สำคัญๆ นั้นได้แก่ แอซีเตท (acetate) โพรพิโอเนต (propionate) และบิวทิเรท (butyrate) สารเหล่านี้อาจถูกเมแทบอไลซ์ต่อไปเพื่อสร้างพลังงานให้แก่ร่างกาย สำหรับผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการหมักโปรตีนได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก เอมีน และแอมโมเนียซึ่งสารทั้งหมดนี้มีความเป็นพิษ (Gibson, 2004) ผลของสารพรีไบโอติกส่วนใหญ่ ที่มักถูกอ้างถึงเกี่ยวกับการปรับหน้าที่การทำงานของลำไส้ใหญ่และเมแทบอลิซึม เช่น การเพิ่มขึ้นของการแสดงออก หรือการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันสายสั้น การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักอุจจาระ การลดลงของค่าพีเอชในลำไส้ใหญ่ การลดลงของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่มีไนโตรเจน และการรีดักทีฟเอนไซม์ (reductive enzyme)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพิ่มการแสดงออกของ binding proteins หรือ biomarker บางชนิดในเมแทบอลิซึมของไขมันและแร่ธาตุและการปรับระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งประโยชน์ของสารพรีไบโอติกชนิดต่างๆมีดังนี้ (Saad และคณะ, 2013)

ก) ผลต่อจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้

สารพรีไบโอติกเช่น สารฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ ทรานส์กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (trans-galactooligosaccharides) และอินนูลินร่วมกับแบคทีเรียโพรไบโอติก เช่น *Lactobacillus plantarum*, *L. paracasei* หรือ *B. bifidum* นั้นช่วยเพิ่มปริมาณของ bifidobacteria และ lactobacilli หรือช่วยยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคในมนุษย์และสัตว์หลายชนิด เช่น *Clostridium* sp., *E. coli*, *Campylobacter jejuni*, *Enterobacterium* sp., *Salmonella* Enteritidis หรือ *S.* Typhimurium ในหนู หมู หรือคน นอกจากนี้การใช้สารพรีไบโอติกหลายๆ ชนิดร่วมกัน เช่น สารโพลีเดกซ์โตส (polydextrose) และแลคติทอล (lactitol) พบว่ามีผลต่อระบบนิเวศน์ของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในทางเดินอาหารของหนูและมีผลช่วยส่งเสริมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันโดยการเพิ่มการหลั่งของอิมมูโนโกลบูลินเอ (immunoglobulin A) และยิ่งไปกว่านั้นในการบำบัดรักษาภาวะลำไส้ใหญ่อักเสบ (colitis disorders) นั้นมีผลการทดลองจำนวนหนึ่งที่ได้แสดงให้เห็นประโยชน์ของอินนูลินในการบรรเทาภาวะลำไส้ใหญ่อักเสบในหนู (Saad และคณะ, 2013)

ข) ผลต่อจุลินทรีย์ก่อโรค

หลักฐานความสำเร็จของพรีไบโอติก ได้แก่ ความสามารถของสารพรีไบโอติกในการปรับปรุงความต้านทานต่อจุลินทรีย์ก่อโรคโดยการเพิ่มจำนวนของ bifidobacteria และ lactobacilli ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าจุลินทรีย์นี้สร้างกรดแลคติก ซึ่งมีสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค ไวรัส โปรโตซัวและแบคทีเรียที่สามารถก่อให้เกิดโรคทางเดินอาหารที่รุนแรง ผลิตภัณฑ์สุดท้ายจากปฏิกิริยาเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์เหล่านี้อาจช่วยลดค่าพีเอชในลำไส้ให้ต่ำกว่าระดับที่จุลินทรีย์ก่อโรคจะเจริญแข่งขันได้ นอกจากนี้ lactobacilli และ bifidobacteria ยังปล่อยสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดที่ออกฤทธิ์กว้างอีกด้วย (Gibson, 2004)

ค) การป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่

สารพรีไบโอติกสามารถป้องกันการพัฒนาของมะเร็งลำไส้ใหญ่โดยผ่านกลไกอย่างน้อย 2 กลไก ได้แก่ 1) การสร้างสารเมแทบอไลท์ป้องกัน บิวทิเรท คือสารผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากกระบวนการหมักและสามารถที่จะกระตุ้นกระบวนการ apoptosis ของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่และเป็นแหล่งพลังงานสำหรับเซลล์ลำไส้ใหญ่ที่มีสุขภาพดี ด้วยเหตุนี้จึงมีความต้องการที่จะเพิ่มระดับของการสร้างบิวทิเรทในลำไส้ใหญ่ โดยพบว่าสารพรีไบโอติกนั้นมีสามารถในการกระตุ้นการสร้างบิวทิเรทได้ 2) การกำจัดเมแทบอลิซึมของโปรตีนและลิปิดของลำไส้ใหญ่ โดยมีความเป็นไปได้ที่สารพรีไบโอติกนั้นจะชักนำเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ไปสู่การสร้างสารผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ไม่มีความเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิษโดยจะเปลี่ยนเมแทบอลิซึมของแบคทีเรีย clostridia และ bacteroides จากการย่อยสลายโปรตีนไปเป็นการย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาล (Gibson, 2004)

ง) การปรับปรุงการดูดซึมแคลเซียม

มีความสนใจเพิ่มขึ้นในหลายๆ ปีที่ผ่านมาถึงความเป็นไปได้ในการเพิ่มขึ้นของการดูดซึมแร่ธาตุโดยเฉพาะแคลเซียมจากการบริโภคสารพรีไบโอติก มีหลายกลไกที่ถูกเสนอขึ้นเพื่ออธิบายการเพิ่มขึ้นของการดูดซึมแคลเซียมโดยการชักนำของสารพรีไบโอติก ได้แก่ 1) การหมักสารพรีไบโอ-ติก เช่น อินนูลิน ส่งผลให้เกิดการสร้างกรดไขมันสายสั้นอย่างมีนัยสำคัญนำไปสู่การลดลงของค่าพีเอชในลำไส้ใหญ่ การลดลงของค่าพีเอชนี้เป็นไปได้ที่จะช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายของแคลเซียมและระดับของแคลเซียมในลำไส้ 2) ไฟเตท (phytate) หรือ myoinositol hexaphosphate นั้นเป็นองค์ประกอบในพืชซึ่งสามารถเคลื่อนตัวไปยังลำไส้ใหญ่ได้ มีความเสถียร เป็นสารเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำกับ divalent cations เช่น แคลเซียม จึงทำให้ไม่มีใช้สำหรับการขนส่งสาร ซึ่งผลของการหมักไฟ-เตทจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียนั้นจะมีการปลดปล่อยแคลเซียมออกมา 3) ได้มีการเสนอว่ากลไกการแลกเปลี่ยนแคลเซียมเกิดขึ้นในลำไส้ใหญ่ ซึ่งในระบบนี้เมื่อกรดไขมันสายสั้นเคลื่อนตัวเข้าสู่ลำไส้ใหญ่ในรูปของ protonated แตกตัวภายในเซลล์ โปรตอนที่ถูกปลดปล่อยออกมานั้นจะถูกหลั่งเข้าไปใน lumen ทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนแคลเซียมไอออน หลายการศึกษาชี้ให้เห็นว่าสารพรีไบโอติกนั้นช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมจากลำไส้ใหญ่และลดการสูญเสียแคลเซียมจากเนื้อเยื่อกระดูก (Gibson, 2004)

จ) ผลต่อไขมันในเลือด

มีหลักฐานว่าแบคทีเรียกรดแลคติกนั้น อาจสามารถลดระดับคลอเลสเทอรอลทั้งหมดและแอลดีแอล คลอเลสเทอรอลได้ กลไกดังกล่าวเกิดขึ้นโดยแบคทีเรียกรดแลคติกและเกิดขึ้นทางอ้อมโดยสารพรีไบโอติกที่มีอิทธิพลต่อไขมันในเลือด ซึ่งยังไม่เป็นที่เข้าใจกันมากนักในปัจจุบัน และอาจมีความเป็นไปได้ว่าแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถใช้คลอเลสเทอรอลได้โดยตรง (Gibson, 2004)

ฉ) ผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน

แบคทีเรียกรดแลคติกนั้น สามารถที่จะกระตุ้นกลไกการป้องกันทางภูมิคุ้มกันของเจ้าบ้านแบบไม่จำเพาะและการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะผ่านเซลล์ ผลของการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันนั้นคือการเพิ่มกิจกรรม phagocytic และหรือการเพิ่ม immunological molecules เช่น สารอิมมูโนโกลบูลิน เอ ที่ส่งผลต่อเชื้อโรคเช่น เชื้อแบคทีเรีย *Salmonella* และเชื้อไวรัส rotavirus ความสนใจส่วนใหญ่ในการศึกษานี้มุ่งไปยังการบริโภคโพรไบโอติก (แบคทีเรียกรดแลคติก) และการมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างองค์ประกอบของผนังเซลล์และเซลล์ภูมิคุ้มกัน พรีไบโอติกส่งผลเช่นเดียวกับแบคทีเรียกรดแลคติก เช่น การปรับปรุงองค์ประกอบของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ ซึ่งผลดังกล่าวจะเกิดขึ้นต่อเมื่อได้รับสารพรีไบโอติก ปัจจุบันการศึกษาในสัตว์แสดงให้เห็นว่าสารพรีไบโอติกมีผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (Gibson, 2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 จุลินทรีย์โพรไบโอติก

มีการยอมรับโดยทั่วกันถึงบทบาทที่สำคัญของจุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะอาหารและลำไส้ต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ จากหลักการที่จุลินทรีย์บางชนิดจะให้ประโยชน์โดยตรงแก่ร่างกายของสัตว์ที่อาศัยอยู่เมื่อมีอยู่ในปริมาณที่เพียงพอ เป็นคำจำกัดความของคำว่า "โพรไบโอติก (probiotic) " องค์การสหประชาชาติ (United Nations) และ World Health Organization Expert Panel ได้ให้คำจำกัดความของโพรไบโอติกไว้ว่า "เป็นจุลินทรีย์ที่เมื่อรับประทานเข้าไปในปริมาณที่เพียงพอแล้วจะให้ประโยชน์ต่อสุขภาพของร่างกายสัตว์ที่จุลินทรีย์นี้อาศัยอยู่" (Saad และคณะ, 2013)

ตาม guideline ขององค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) และองค์การอนามัยโลก (WHO) ได้กล่าวว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ในอาหารจะต้องสามารถผ่านเข้าไปและอยู่รอดได้ในลำไส้ดังเช่น ต้องมีความสามารถทนต่อน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร (gastric juices) สามารถทนต่อเกลือน้ำดีและสามารถเจริญหรือเพิ่มจำนวนในระบบทางเดินอาหารได้ นอกจากนี้โพรไบโอติกที่ใช้ยังต้องมีความปลอดภัยและมีประสิทธิภาพและยังคงรักษาความมีประสิทธิภาพและศักยภาพไว้ได้ตลอดช่วงอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ด้วย (Saad และคณะ, 2013)

จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโพรไบโอติก (ตารางที่ 2.2) ส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria) ในกลุ่มที่หลากหลายเช่น *Lactobacillus*, *Enterococcus* และ *Bifidobacteria* นักวิจัยหลายๆท่านได้เสนอให้ใช้คุณสมบัติในการเกาะติดของจุลินทรีย์ในการคัดเลือกโพรไบโอติกสายพันธุ์ใหม่ ซึ่งกลไกที่ใช้ในการต่อต้านจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้แก่ 1) การแข่งขันสำหรับสารอาหารและจุดที่เข้ามา 2) การสร้างสารเมแทบอไลท์ในการต่อต้านจุลินทรีย์ก่อโรค 3) การเปลี่ยนแปลงในสภาพแวดล้อม และ 4) การตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันของเจ้าบ้าน จุลินทรีย์ส่วนน้อยที่ถูกใช้เป็นโพรไบโอติก ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Bacillus* และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces* สำหรับเชื้อ *Streptococcus thermophilus* ได้ถูกใช้เป็นโพรไบโอติกที่ช่วยส่งเสริมการย่อยน้ำตาลแลคโตสในคนที่แพ้แลคโตส (Saad และคณะ, 2013)

2.6.1 ประโยชน์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่อสุขภาพ

ผลของโพรไบโอติกต่อสุขภาพมีหลายประการ ดังนี้

2.6.1.1 อันตรกิริยาของโพรไบโอติกต่อระบบภูมิคุ้มกัน

จุลินทรีย์ในลำไส้ซึ่งจะอาศัยอยู่บริเวณที่เรียกว่า epithelial cell ของผนังลำไส้ (gut lumen) เชื้อกันว่าจุลินทรีย์เหล่านี้มีส่วนร่วมในตอนเริ่มต้นและการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อแบคทีเรีย โดยเฉพาะแบคทีเรียก่อโรค โดยอันตรกิริยากับเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันของบริเวณ Peyer's patches เนื้อเยื่อน้ำเหลืองใน lamina propria ของลำไส้และเม็ดเลือดขาว เริ่มแรกโพรไบโอติกนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถที่จะเข้าไปจับกับ recognition receptor ที่แสดงออกบนผิวของเซลล์ epithelial ของผนังลำไส้เล็ก ซึ่งจะก่อให้เกิดกลไกการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน (Saad และคณะ, 2013)

ตารางที่ 2.2 จุลินทรีย์ซึ่งถูกใช้เป็นโพรไบโอติก

Lactobacillus	*Bifidobacterium*	Lactic acid bacteria	ชนิดอื่นๆ
L. acidophilus	*B. adolescentis*	*Enterococcus faecium*	*Escherichia coli strain Nissle*
L. casei	*B. animalis*	*Lactococcus lactis*	
L. crispatus	*B. bifidum*	*Leuconostoc mesenteroides*	*Saccharomyces cerevisae*
L. curvatus			
L. delbrueckii	*B. breve*	*Pediococcus acidilactici*	
L. farciminis	*B. infantis*	*Streptococcus thermophilis*	*Saccharomyces bourlardii*
L. fermentum	*B. lactis*	*Streptococcus diacetylactis*	
L. gasseri	*B. longum*	*Streptococcus intermedius*	
L. johnsonii	*B. thermophilum*		
L. paracasei			
L. plantarum			
L. reuteri			
L. rhamnosus			

ที่มา: Saad และคณะ (2013)

โพรไบโอติกนั้นสามารถส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (innate immunity) รวมถึงกิจกรรม phagocytic ของ neutrophils และกิจกรรม cytotoxic ของ NK cell การกระตุ้นกิจกรรมของเซลล์นั้นมีเกี่ยวข้องกับความสามารถในการติดเชื้อและการต้านมะเร็งของโพรไบโอติก การใช้โพรไบโอติกอาจไปช่วยในการส่งเสริมหน้าที่ของระบบภูมิคุ้มกันได้ (innate function) จริงๆ แล้วได้มีรายงานที่บ่งชี้ให้เห็นว่าการเติมเชื้อ *Lactobacillus rhamnosus* HN001 ลงไปในอาหารนั้น สามารถช่วยเพิ่มจำนวนของ NK cell ในร่างกายคนได้ และได้มีรายงานว่าเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lactobacillus casei Shirota ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักนม สามารถช่วยส่งเสริมกิจกรรม cytotoxic ของ NK cell ได้ ยิ่งไปกว่านั้นยังได้มีรายงานอีกว่าองค์ประกอบของผนังเซลล์ของโพรไบโอติกเช่น กรดไลโพทีอิโคอิก (lipoteichoic acid) สามารถกระตุ้นให้เซลล์แมคโครฟาจ (macrophage) หลั่ง TNF-α และ IL-10 ได้ โดยผ่านตัวรับที่สำคัญคือ phagocytosis receptors เช่น Toll-like receptor (Saad และคณะ, 2013)

2.6.1.2 การแพ้แลคโตส

ประชากรหลายล้านคนทั่วโลกนั้นประสบกับปัญหาสภาวะดูดซึมแลคโตสได้ไม่ดี ซึ่งเกิดมากขึ้นไปตามอายุที่เพิ่มขึ้น สาเหตุที่ทำให้เกิดสภาวะนี้ เนื่องมาจากการลดลงของกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์แลคเตส (lactase) ภายใน rush border ของลำไส้เล็ก การลดลงของกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์นี้ มีผลทำให้เกิดการดูดซึมแลคโตสได้ไม่สมบูรณ์ ดังนั้นจึงทำให้เกิดอาการท้องอืด ท้องเดิน เป็นตะคริวที่ท้อง ตลอดจนเกิดอาการท้องร่วงในระดับปานกลางจนถึงระดับรุนแรงได้ การเกิดปัญหานี้เป็นผลให้บุคคลมีข้อจำกัดในการรับประทานผลิตภัณฑ์นมหรือไม่สามารถรับประทานได้ ซึ่งปัญหาเหล่านี้พบมากในผู้สูงอายุ จากการทดลองหลายการทดลองแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์แลคเตสในโยเกิร์ตมีผลต่อกระบวนการหมักนม เพื่อให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์และเมื่อมีการบริโภคโยเกิร์ตซึ่งมีเอนไซม์แลคเตสจะช่วยทำให้เกิดการกระตุ้นภายในลำไส้ ซึ่งจุลินทรีย์ที่ถูกใช้สำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์ประเภทโยเกิร์ตนี้ก็คือเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulagaricus* และ *Streptococcus thermophilus* และการทดลองของ Kim และ Gilland ปี ค.ศ. 1983 พบว่าการรับประทานโยเกิร์ตมีส่วนช่วยให้ผู้ที่มีอาการแพ้แลคโตส เนื่องจากมีความสำคัญต่อการลดระดับของไฮโดรเจนลงในลมหายใจ เมื่อเปรียบเทียบกับการรับประทานนมอย่างเดียวในสภาวะที่เหมือนกัน ระดับของไฮโดรเจนในลมหายใจมีผลต่อเมแทบอลิซึมของเอนไซม์แลคเตสของจุลินทรีย์ภายในลำไส้ ที่จะไม่เกิดการดูดซึมภายในลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ ที่เป็นบริเวณที่มีจุลินทรีย์อาศัยอยู่เป็นจำนวนมากและหนาแน่น และยังมีงานวิจัยอีกที่พบว่า บุคคลผู้ที่รับประทานเอนไซม์แลคเตสที่มีอยู่ในโยเกิร์ตปริมาณ 18 กรัมนั้น จะช่วยลดระดับของไฮโดรเจนภายในลมหายใจได้ถึงร้อยละ 67 เมื่อเปรียบเทียบกับการรับประทานนมตามปกติ (Goldin, 2011)

2.6.1.3 โรคลำไส้อักเสบ

โรคลำไส้อักเสบ (inflammatory bowel disease) เป็นปัญหาหลักทางการแพทย์ คำนี้ใช้สำหรับเรียกโรคที่มีอาการอักเสบของลำไส้ และโรคที่มีความจำเพาะและมีความผิดปกติ โรคที่จัดอยู่ในกลุ่มของโรคที่ก่อให้เกิดการอักเสบนั้น รวมถึงโรคโครห์น (Crohn's disease) โรคแผลอักเสบในลำไส้ (ulcerative colitis) และโรคที่มีความระคายเคืองในลำไส้ (irritable bowel syndrome) การประยุกต์ใช้ที่สำคัญทางการแพทย์อย่างหนึ่งก็คือ การนำโพรไบโอติกมาใช้ในการรักษาและป้องกันไม่ให้เกิดโรคลำไส้อักเสบ หรือทำให้โรคลำไส้อักเสบทุเลาลง (Goldin, 2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.1.4 การรักษาโรคในระบบทางเดินอาหาร

จากรายงานทางการแพทย์ ได้มีการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการรักษาอย่างกว้างขวาง โดยส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับโรคท้องร่วง (diarrheal disease หรือ gastroenteritis) โดยสามารถแบ่งกลุ่มการรักษาและการป้องกันตามสาเหตุหรือชนิดของโรค ได้ดังนี้

ก) โรคอุจจาระร่วงที่เกี่ยวข้องกับการได้รับยาปฏิชีวนะ

ได้มีการทดลองมากมายที่ทดสอบหาประสิทธิภาพของโพรไบโอติกในการป้องกันหรือช่วยลดความถี่และความรุนแรงของโรคอุจจาระร่วงที่เกี่ยวข้องกับการใช้ยาปฏิชีวนะในทางคลินิก จากการทดลองศึกษาในเด็กจำนวน 119 คนที่ได้รับยาปฏิชีวนะเพื่อรักษาการติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ พร้อมกับการให้รับประทาน *Lactobacillus rhamnosus* GG โดยเปรียบเทียบกับเด็กที่ไม่ได้รับประทานเชื้อ *L. rhamnosus* GG ในช่วงที่มีการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ พบว่าเด็กจำนวนหนึ่งที่ได้รับ *L. rhamnosus* GG จะมีอาการท้องร่วงลดลงถึงร้อยละ 70 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับประทานเชื้อนี้ ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าโพรไบโอติก มีคุณประโยชน์มากมายในการบำบัดและรักษาโรคอุจจาระร่วงที่เกิดจากการได้รับยาปฏิชีวนะ (Goldin, 2011)

ข) โรคท้องร่วงเฉียบพลัน

การศึกษาหลากหลายแหล่งได้รายงายเกี่ยวกับการใช้โพรไบโอติกในการป้องกันหรือรักษาโรคท้องร่วงเฉียบพลัน (Acute diarrhea) การศึกษาส่วนใหญ่ได้ทำการทดลองในเด็กทารกและเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคคือ โรตาไวรัส (rotavirus) หรือบางกรณีไม่ทราบสาเหตุของโรค โดยพบว่าโพรไบโอติกมีประสิทธิภาพในการรักษาโรคท้องร่วงเฉียบพลัน ซึ่งแบคทีเรียโพรไบโอติกดังกล่าว ได้แก่ เชื้อ *L. rhamnosus* GG, *L. reuteri* และ *S. boulardii* (Goldin, 2011)

2.6.1.5 การลดระดับคลอเลสเทอรอล

มีหลักฐานจากการทดลองในมนุษย์ พบว่าโพรไบโอติกอาจมีส่วนทำให้ระดับของคลอเลสเทอรอลในซีรัมลดลงและมีปริมาณของแอลดีแอล คลอเลสเทอรอลลดลงเช่นกัน ผลลัพธ์ดังกล่าวยังไม่เป็นที่แน่ชัดและมักจะมีข้อโต้แย้ง การลดระดับของแอลดีแอล คลอเลสเทอรอลมีความสำคัญต่อการลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ (coronary artery disease) และโรคกล้ามเนื้อหัวใจตายเฉียบพลัน (fatal myocardial infarction) จากการศึกษาในมนุษย์ได้แสดงให้เห็นถึงผลของผลิตภัณฑ์นมหมักต่อระดับพลาสมาคลอเลสเทอรอล ซึ่งพบว่ามีการลดลงของระดับคลอเลสเทอรอลในช่วงร้อยละ 5.4 ถึงร้อยละ 23.2 และมีการลดลงของปริมาณแอลดีแอล คลอเลสเทอรอลอยู่ในช่วงร้อยละ 9 ถึงร้อยละ 9.8 (Goldin, 2011)

2.6.1.6 การรักษาอาการภูมิแพ้

การศึกษาอย่างกว้างขวางเกี่ยวข้องกับการใช้โพรไบโอติกในการปรับสภาพของการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มต่อสารก่อภูมิแพ้จากอาหาร ซึ่งได้ทำการทดลองศึกษากับเชื้อแบคทีเรีย *L. rhamnosus* GG เพื่อใช้ในการป้องกัน และบำบัดโรคภูมิแพ้ผิวหนัง (atopic eczema) โดยในการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดลองของ Kalliomaki และคณะปี ค.ศ. 2001 ในหญิงมีครรภ์จำนวนทั้งหมด 159 คน ซึ่งครอบครัวมีประวัติของโรคภูมิแพ้ เช่น การทดลองที่ทำในหญิงมีครรภ์จำนวน 159 คน ที่ครอบครัวมีประวัติของการเป็นโรคภูมิแพ้ โดยการให้เชื้อ *L. rhamnosus* GG เปรียบเทียบกับการไม่ให้เชื้อนี้เป็นเวลา 2 ถึง 4 สัปดาห์ก่อนถึงกำหนดเวลาคลอด และได้มีการทดลองในหญิงที่เลี้ยงลูกด้วยนมแม่รับประทานเชื้อ *L. rhamnosus* GG เปรียบเทียบกับการไม่รับประทานเชื้อนี้เป็นเวลา 6 เดือนเปรียบเทียบกับหญิงที่เลี้ยงลูกด้วยนมขวด ซึ่งได้รับและไม่ได้รับเชื้อ *L. rhamnosus* GG พบว่าเด็กที่ได้รับ *L. rhamnosus* GG จะมีอัตราการเกิดโรคภูมิแพ้ลดลงถึงร้อยละ 50 ในระยะเวลา 2 ปีแรกหลังเกิด เมื่อเปรียบเทียบกับเด็กที่ไม่ได้รับเชื้อ *L. rhamnosus* GG (Goldin, 2011)

2.6.1.7 การป้องกันฟันผุ

หลังจากที่ให้รับประทานโพรไบโอติก จากนั้นจึงสามารถแยกเชื้อโพรไบโอติกจากช่องปากได้ ดังนั้นจึงทำให้มีการศึกษาถึงประสิทธิภาพของโพรไบโอติกในการป้องกันฟันผุ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเชื้อ *L. rhamnosus* GG มีกิจกรรมการต่อต้านจุลินทรีย์บางชนิด เช่น *Streptococcus sp.* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดฟันผุ จากการศึกษาทดลองของนักวิจัยกลุ่มหนึ่งในปี ค.ศ. 2001 ซึ่งได้ทดลองในเด็กในศูนย์เลี้ยงเด็ก โดยให้รับประทานเชื้อแบคทีเรีย *L. rhamnosus* GG ที่ผสมในนมเปรียบเทียบกับการที่ไม่ได้ใส่เชื้อนี้ในนมและทำการตรวจวิเคราะห์ทั้งก่อนและหลังจากการให้รับประทานเชื้อนี้เป็นเวลา 7 เดือน พบว่าเด็กที่ได้รับโพรไบโอติกจะมีอัตราของการเกิดฟันผุลดลง โดยเฉพาะในกลุ่มเด็กที่มีอายุ 3 ถึง 4 ปี (Goldin, 2011)

2.6.1.8 การรักษาและการป้องกันมะเร็งโดยโพรไบโอติก

จากคุณสมบัติของกิจกรรมเมแทบอลิซึม โพรไบโอติกมีอิทธิพลต่อการเกิดมะเร็งลำไส้และการเกิดเนื้องอกได้ในที่บริเวณอื่นๆ มีรายงานว่าโพรไบโอติกช่วยลดเอนไซม์ของแบคทีเรียภายในลำไส้ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นสารก่อมะเร็ง (procarcinogens) โพรไบโอติกยังสามารถสร้างกรดไขมันสายสั้น (Short chain fatty acids) ซึ่งสามารถใช้เป็นตัวป้องกันในลำไส้ใหญ่ และจากการทดลองในหนู พบว่าโพรไบโอติกยังสามารถยับยั้ง aberrant crypt foci ได้ (Goldin, 2011)

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Sharmin และคณะ (2013) ได้ศึกษากิจกรรมการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากว่านนางคำที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ทำการทดสอบด้วยวิธีแพร่กระจายบนอาหารวุ้น (disc diffusion method) และหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีเจือจางในอาหารเหลว พบว่าสารสกัดจากว่านนางคำที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์มีกิจกรรมยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคได้สูงกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และน้ำ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis, S. aureus, P. aeruginosa, Shigella sonnei* และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sh. dysenteriae เท่ากับ 16.3, 15.3 11.7, 9.7 และ 10.0 มิลลิเมตร และมีค่า MIC เท่ากับ 0.03, 0.06, 0.25, 0.25 และ 0.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

Srvidya และคณะ (2009) ได้ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสารสกัดที่ได้จากเหง้าของว่านนางคำและขมิ้นที่สกัดด้วย hydroethanol พบว่าสารสกัดจากเหง้าของว่านนางคำและขมิ้นมีกิจกรรมยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีกิจกรรมการยับยั้งการเจริญของ *K. pneumoniae* ได้ปานกลาง โดยมีค่า MIC ของสารสกัดจากว่านนางคำในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus*, *K. pneumoniae* และ *Candida albicans* เท่ากับ 15.625, 62.5 และ 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

Leela และ Satirapipathkul (2011) ได้ศึกษากิจกรรมการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดจากปูด (gall) ของเบญจกานีที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ เมทานอล เอทานอล เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และน้ำกลั่น ทำการทดสอบการออกฤทธิ์ของสารสกัดดังกล่าวด้วยวิธีแพร่บนอาหารแข็ง โดยใช้สารสกัดความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอล เอทานอลและน้ำกลั่นมีกิจกรรมยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคสูงกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มและเฮกเซน โดยสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลมีกิจกรรมยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคได้ดีที่สุด มีเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*, *B. subtilis* และ *S. aureus* เท่ากับ 20.3, 22.0 และ 25.3 มิลลิเมตร และมีค่า MIC เท่ากับ 0.625, 1.25 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

Aly และ Gumgumjee (2011) ได้ศึกษากิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของสารสกัดจากรากของโกฐน้ำเต้า และเหง้าของขมิ้นและข่า พบว่าสารสกัดจากรากของโกฐน้ำเต้าและเหง้าของขมิ้นและข่า มีกิจกรรมยับยั้งการเจริญของยีสต์ รา และแบคทีเรียได้หลายชนิดและพบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอล มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยบิวทานอล โดยมีค่า MIC ของสารสกัดจากรากของโกฐน้ำเต้าที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Sh. dysenteriae* และ *K. pneumoniae* เท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *Micrococcus roseus* ได้ที่ค่า MIC เท่ากับ 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Todkar และคณะ (2010) ได้ศึกษาสาร secondary metabolites และกิจกรรมการต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากฝักส้มป่อยที่สกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกัน ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเทอร์ เบนซีน คลอโรฟอร์ม บิวทานอล เมทานอลและน้ำ พบว่าสารสกัดจากฝักส้มป่อยที่สกัดด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดประกอบด้วย อัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แทนนินและสารประกอบฟีนอลิก ยกเว้นสารสกัดจากฝักส้มป่อยที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์และบิวทานอลนั้นไม่พบการมีอยู่ของแทนนิน เมื่อทดสอบกิจกรรมการต้านแบคทีเรียของฝักส้มป่อยพบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเบนซีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมทานอลและน้ำนั้น มีกิจกรรมยับยั้งการเจริญของเชื้อ *K. pneumoniae*, *E. coli* และ *B. subtilis* ได้ดี รองลงมาคือเชื้อ *S. aureus* และ *P. aeruginosa*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

สมุนไพรไทยที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ สมุนไพรแห้งจำนวน 21 ชนิด ได้แก่ เปราะหอม มะขามป้อม สมอไทย ชุมเห็ดเทศ หญ้าแห้วหมู กระถิน แค เบญจกานี สมอพิเภก เจตมูลเพลิงแดง ว่านนางคำ มะกอก ปอบิด โกฐพุงปลา คาง โกฐน้ำเต้า ว่านน้ำ หญ้าฝรั่น ส้มป่อย นนทรี ซื้อจากร้านยาไทยฮั่วจั่น และฟักข้าว ซื้อจากกลุ่มเกษตรกรในจังหวัดพัทลุง สมุนไพรสดจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ มังคุด ทับทิม ซื้อจากตลาดในกรุงเทพมหานครและจังหวัดฉะเชิงเทรา สำหรับพลูคาว ได้รับความอนุเคราะห์จากรองศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ โดยนำสมุนไพรสดทั้งหมดมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงก่อนนำไปสกัด (ตารางที่ 3.1)

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อแบคทีเรียที่นำมาใช้ในการทดสอบ ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* DMST 5040, *Enterobacter aerogenes* DMST 8841, *Escherichia coli* DMST 4212, *Helicobacter pylori* DMST 20165, *Klebsiella pneumoniae* DMST 8216, *Listeria monocytogenes* DMST 11256, *Salmonella* Rissen DMST 7097, *Salmonella* Typhimurium DMST 0526 และ *Yersinia enterocolitica* DMST 9380 จากศูนย์เก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์แห่งชาติ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 จากศูนย์เก็บรักษาจุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย และเชื้อแบคทีเรีย *Porphyromonas gingivalis* JCM 12257 ได้รับความอนุเคราะห์จากคุณเพ็ญพิชชา วนจันทรรักษ์ ศูนย์วิจัยทางทันตแพทยศาสตร์ คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อ Brain Heart Infusion Broth/ Brain Heart Infusion Agar (BHIB/BHIA, Difco), Columbia Blood Agar (CBA, Difco), Mueller Hinton Broth/Mueller Hinton Agar (MHB/MHA, Difco), และอาหารเลี้ยงเชื้อ de Man Rogosa and Sharpe (MRS, pH 6.8±2, Difco) (สูตรอาหารดูในภาคผนวก ก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 สมุนไพรไทยที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสมุนไพร	วงศ์	ส่วนของพืชที่ใช้	สรรพคุณ
Acacia concinna (Willd.) D.C	ส้มป่อย	Mimosaceae	ใบ	ขับเสมหะ
Acorus calamus L.	ว่านน้ำ	Araceae	เหง้า	แก้บิด
Albizzia odoratissima	คาง	Mimosaceae	เปลือกต้น	รักษาฝี
Cassia alata (L.)	ชุมเห็ดเทศ	Caesalpiniaceae	แก่น	แก้ท้องผูก
Crocus sativus L.	หญ้าฝรั่น	Iridaceae	เกสร	บำรุงธาตุ
Curcuma aromatica Salisb.	ว่านนางคำ	Zingiberaceae	เหง้า	แก้ท้องเสีย
Cyperus rotundus L.	หญ้าแห้วหมู	Cyperaceae	หัว	แก้บิด
Garcinia mangostana L.	มังคุด	Guttiferae	เปลือกผล	แก้ท้องเสีย
Helicteres isora L.	ปอบิด	Sterculiaceae	ผล	แก้ปวดท้อง
Houttuynia cordata Thunb.	พลูคาว	Saururaceae	ทั้งต้น	ขับปัสสาวะ
Kaempferia galanga L.	เปราะหอม	Zingiberaceae	เหง้า	แก้ท้องอืด
Leucaena leucocephala de Wit.	กระถิน	Mimosaceae	ราก	ขับลม
Momordica cochinchinensis Spreng.	ฟักข้าว	Cucurbitaceae	ผลและราก	ยังไม่มีรายงานการวิจัย
Peltophorum pterocarpum (DC.)	นนทรี	Caesalpiniaceae	เปลือกต้น	แก้ท้องร่วง
Phyllanthus emblica L.	มะขามป้อม	Euphorbiaceae	ผล	แก้ไข้เจือลม
Plumbago indica L.	เจตมูลเพลิงแดง	Plumbaginaceae	ราก	แก้ท้องเสีย
Punica granatum L. var. *granatum*	ทับทิม	Punicaceae	เปลือกผล	แก้ท้องร่วง
Quercus infectoria	เบญจกานี	Fagaceae	ปูด	แก้ท้องร่วง
Rheum palmatum L.	โกฐน้ำเต้า	Polygonaceae	ราก	แก้ท้องเสีย
Sesbania grandiflora Desv.	แค	Papilionaceae	เปลือกต้น	แก้ท้องเดิน
Spondias pinnata (L.f.) Kurz	มะกอก	Anacardiaceae	ผล	ยังไม่มีรายงานการวิจัย
Terminalia bellirica (Gaertn.) Roxb.	สมอพิเภก	Combretaceae	ผล	แก้ไข้เจือลม
Terminalia chebula Retz. var. *chebula*	สมอไทย	Combretaceae	ผล	แก้ลมจุกเสียด
Terminalia chebula Retz. var. *chebula*	โกฐพุงปลา	Combretaceae	ปูด	แก้ท้องร่วง

หมายเหตุ : ปูด คือ ส่วนที่ผิดปกติของต้นไม้ อาจเกิดจากการรบกวนด้วยแมลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เมทานอล (Methanol, Avantor Performance Materials, Inc., USA) เอทานอล (Ethanol, Avantor Performance Materials, Inc., USA) ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide, Carlo Erba, Italy) ยาปฏิชีวนะเพนิซิลลิน จี (Penicillin G, General Drugs House Co., Ltd., Thailand) ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลิน (Ampicillin 500 mg, AMPIN, โมเดอร์นเมนู, ประเทศไทย) ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (Gentamicin 40 mg, Pharmadica Co., Ltd., Thailand) ฮีมิน (Hemin, Sigma-Aldrich, Switzerland) มีนาไดโอน (Menadione, Sigma-Aldrich, Switzerland) ซอง campygen (Oxoid, Oxoid Ltd., England) ซอง gas pack (Microbiological Anaerocult, Merck, Germany) กรดแกลลิก (Gallic acid, Sigma-Aldrich, Switzerland) อะลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium Chloride, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) ควอซิทิน (Quercetin, Sigma-Aldrich, Switzerland) โฟลิน-ซิโอคาลทู (Folin-Ciocalteu's reagent, Fluka, Switzerland) โฟลิน-เดนิช (Folin-Denis' reagent, Fluka, Switzerland) กรดแทนนิก (Tannic acid, Sigma-Aldrich, China) อินนูลิน (Inulin from chicory, Sigma-Aldrich, USA) กลูโคส (D-Glucose anhydrous ACS-for analysis, Carlo ERBA Reagenti, Italy) โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) โซเดียมคลอไรด์ (Sodium Chloride, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) แอลฟา-แนฟทอล (1-Naphthol, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) ฟีนอล (Phenol crystallized, PANREAC QUÍMICA, Spain) กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid, RCI Labscan Ltd., Thailand) ไดโซเดียมไฮโดรเจนออโทฟอสเฟต-ไดไฮเดรต (Di-Sodium Hydrogen Orthophosphate (dihydrate), Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) โซเดียมไฮโดรเจนออโทฟอสเฟต (Sodium Hydrogen Orthophosphate, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) แมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต (Magnesium Hexahydrate, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต (Calcium Chloride Dihydrate, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-Amylase from *Aspergillus oryzae*, Fluka, Switzerland) โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต (Potassium Sodium Tartrate, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium Chloride, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) โพแทสเซียมไฮโดรเจนออโทฟอสเฟต (Potassium Hydrogen Orthophosphate, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) โซเดียมไนไตรท์ (Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) กรดไดไนโตรซาลิซัยลิก (3,5-Dinitrosalicylic acid, Sigma-Aldrich, Switzerland)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator, Heidolph, Germany) ตู้อบลมร้อน (Memmert, ULM 600, Germany) ตู้ปลอดเชื้อ (BossTech, VT90, ประเทศไทย) ตู้บ่มเชื้อ (Memmert, BE 600, Germany) เครื่องเขย่า (Orbital Platform Shaker, GALLENKAMP, Japan) เครื่องบดไม้ (Retsch, SK 100, Germany) เตาอบ (กล้วยน้ำไท เตาอบ, ประเทศไทย) เครื่องชั่งสารทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius, BP 221S, Germany) เครื่องชั่งสารทศนิยม 3 ตำแหน่ง (METTLER TOLEDO, PG 5002, Switzerland) เครื่องชั่งสารทศนิยม 2 ตำแหน่ง (METTLER TOLEDO, PG 803, Switzerland) เครื่องสเปกโตรโฟโต-มิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer, Shimadzu, UV-1601, Japan) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอ-น้ำ (TOMY, ES-315, Japan) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath, Memmert, Germany) เครื่องหมุนเหวี่ยง (Refrigerated Centrifuge, HERMLE, Z383K, Germany) ไมโครปิเปตขนาด 20-200 ไมโครลิตร (eppendrof, USA) ไมโครปิเปตขนาด 500-5,000 ไมโครลิตร (eppendrof, USA) ไมโครปิเปตขนาด 2-20 ไมโครลิตร (Thermo Scientific, USA) ไมโครปิเปตขนาด 10-100 ไมโครลิตร (BIOHIT, USA) และไมโครปิเปตขนาด 100-1,000 ไมโครลิตร (BIOHIT, USA) กระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เครื่องจ่ายตัวอย่างลงจานอาหารเลี้ยงเชื้ออัตโนมัติ (Automated spiral plater) (Spiral Biotech, autoplate 4000, USA)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรไทยและการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

3.2.1.1 การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรไทยด้วยเมทานอล

การสกัดสารจากสมุนไพรไทยทำได้โดยนำสมุนไพรไทยแห้งจำนวนทั้งหมด 24 ชนิด (ตารางที่ 3.1) ได้แก่ เปราะหอม มะขามป้อม สมอไทย ชุมเห็ดเทศ หญ้าแห้วหมู กระถิน แค เบญจ-กานี สมอพิเภก เจตมูลเพลิงแดง ว่านนางคำ มะกอก ปอบิด โกฐพุงปลา คาง โกฐน้ำเต้า ว่านน้ำ หญ้าฝรั่น ส้มป่อย นนทรี พลูคาว มังคุด ทับทิม ฟักข้าว (2 ส่วนของพืชคือ รากและผล) มาบดให้เป็นผงละเอียด เมื่อได้ผงสมุนไพรแต่ละชนิดแล้ว ชั่งผงสมุนไพรแต่ละชนิดปริมาณ 10 กรัม ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร และเติมเมทานอลปริมาตร 100 มิลลิลิตรลงไป จากนั้นนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลานำมากรองด้วยผ้าขาวบาง (เป็นการกรองครั้งที่ 1) จากนั้นนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 (เป็นการกรองครั้งที่ 2) และนำของเหลวที่ได้นั้นไประเหยเพื่อเอาเมทานอลออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศแบบหมุน จะได้สารสกัดหยาบเข้มข้นประมาณ 3 ถึง 5 มิลลิลิตร นำสารสกัดหยาบที่ได้ใส่ในขวดสีชาหรือขวดที่ห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอยด์ และปิดปากขวดสารสกัดด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อะลูมิเนียมฟอยด์ที่เจาะรู ตั้งทิ้งไว้ในตู้ดูดควัน หรือโถดูดความชื้นจนกระทั่งเมทานอลระเหยออกหมด จะได้สารสกัดแห้ง เก็บสารสกัดแห้งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปทำการวิเคราะห์ เมื่อจะทำการวิเคราะห์ให้ทำการเตรียม stock solution ของสารสกัดที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยนำสารสกัดหยาบแห้งมาเจือจางด้วยสารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide: DMSO, Carlo Erba, Italy) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (วิธีเตรียมดูในภาคผนวก ข)

3.2.1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียใช้อากาศ (aerobic bacteria) ทำได้โดยเขี่ยเชื้อแบคทีเรียใช้อากาศ จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ *Bacillus cereus* DMST 5040, *Enterobacter aerogenes* DMST 8841, *Escherichia coli* DMST 4212, *Klebsiella pneumoniae* DMST 8216, *Listeria monocytogenes* DMST 11256, *Salmonella* Rissen DMST 7097, *Salmonella* Typhimurium DMST 0526, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และเชื้อแบคทีเรีย *Yersinia enterocolitica* DMST 9380 จากหลอด stock culture ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหาร BHI slant ใหม่ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นถ่ายเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดจากหลอดอาหารแข็ง 1 ลูปเต็มลงในอาหารเหลว Brain Heart Infusion (BHI) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเหลวแต่ละหลอดไปปั่นเหวี่ยงครั้งที่ 1 ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้เซลล์ของแบคทีเรียนั้นตกตะกอน และเทส่วนใส (supernatant) ทิ้งไป เหลือแต่เฉพาะส่วนของตะกอนเซลล์ (cell pellet) ที่ก้นหลอด จากนั้นทำการล้างเซลล์โดยเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตรเท่ากับอาหารเหลวเดิม (5 มิลลิลิตร) ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) นำไปปั่นเหวี่ยงอีกเป็นครั้งที่ 2 ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้ง (เป็นการล้างเซลล์ครั้งที่ 1) จากนั้นทำการล้างเซลล์ด้วยวิธีเดียวกันนี้อีก 1 ครั้ง นำตะกอนเซลล์ที่ได้นั้น มาทำให้อยู่ในรูปของสารแขวนลอยเซลล์ (cell suspension) โดยทำการเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปรับความขุ่นของสารแขวนลอยเซลล์แบคทีเรียให้มีความขุ่นเท่ากับความขุ่นของสารละลายมาตรฐาน McFarland เบอร์ 3 สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* DMST 5040, *Enterobacter aerogenes* DMST 8841, *Escherichia coli* DMST 4212, *Klebsiella pneumoniae* DMST 8216, *Listeria monocytogenes* DMST 11256, *Salmonella* Rissen DMST 7097, *Salmonella* Typhimurium DMST 0526 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 (จะได้ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร) ส่วนเชื้อ *Yersinia enterocolitica* DMST 9380 จะปรับความขุ่นของสารแขวนลอยเซลล์แบคทีเรียให้มีความขุ่นเท่ากับสารละลายมาตรฐาน McFarland เบอร์ 2 (จะได้ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียไม่ใช้อากาศ ได้แก่ เชื้อ *Helicobacter pylori* DMST 20165 ทำได้โดยถ่ายเชื้อ *Helicobacter pylori* DMST 20165 จากหลอด stock culture ลงในอาหารเหลว BHI จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ microaerophilic (บรรจุลงในโถไร้อากาศ (anaerobic jar) ที่มีซอง campygen ของบริษัท Merck) ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *Porphyromonas gingivalis* JCM 12257 ทำได้โดยถ่ายเชื้อจากหลอด stock culture ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในอาหารเหลว BHI ที่เติมสารละลายฮีมิน (hemin, Sigma-Aldrich, Switzerland) ความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตร จาก stock solution ของสารละลายฮีมินความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และมีนาได-โอน (menadione, Sigma-Aldrich, Switzerland) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อลิตร จาก stock solution ของสารละลายมีนาไดโอนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไร้อากาศ (บรรจุลงในโถไร้อากาศที่มีซอง Gaspack ของบริษัท Merck) เมื่อเชื้อทั้งสองชนิดนั้นเจริญพร้อมที่จะนำไปใช้ได้แล้ว ให้ถ่ายเชื้อ *Helicobacter pylori* DMST 20165 จากหลอดอาหารเหลวดังกล่าวปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเหลว BHI ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ microaerophilic สำหรับเชื้อ *Porphyromonas gingivalis* JCM 12257 ให้ทำการถ่ายเชื้อโดยการปิเปตสารแขวนลอยเซลล์ของเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดอาหารเหลว BHI ที่เติมฮีมินและมีนาไดโอนความเข้ม 10 มิลลิลิตรต่อลิตรและ 1 มิลลิลิตรต่อลิตรตามลำดับ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไร้อากาศ นำเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดนั้นมาเทียบความขุ่นกับสารละลายมาตรฐาน McFarland ซึ่งทั้งเชื้อ *Helicobacter pylori* DMST 20165 และ *Porphyromonas gingivalis* JCM 12257 นั้นจะมีความขุ่นเทียบเท่ากับสารละลายมาตรฐาน McFarland เบอร์ 3 (มีความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร)

3.2.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

3.2.2.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method)

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้นนั้นจะแบ่งเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มแบคทีเรียใช้อากาศ 9 ชนิด ได้แก่เชื้อ *Bacillus cereus* DMST 5040, *Enterobacter aerogenes* DMST 8841, *Escherichia coli* DMST 4212, *Klebsiella pneumoniae* DMST 8216, *Listeria monocytogenes* DMST 11256, *Salmonella* Rissen DMST 7097, *Salmonella* Typhimurium DMST 0526, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Yersinia enterocolitica* DMST 9380 ทำตามวิธีการของ Hussain และคณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2008) และกลุ่มแบคทีเรียไม่ใช้อากาศ 2 ชนิด ได้แก่ เชื้อ *Helicobacter pylori* DMST 20165 ทำตามวิธีการของ Thong-Ngam และ Chatsuwan (2007) และเชื้อ *Porphyromonas gingivalis* JCM 12257 ทำตามวิธีการของ Kraivaphan และคณะ (2013) ดังนี้ โดยเริ่มจากปิเปตสารแขวนลอยเซลล์ของจุลินทรีย์แต่ละชนิดปริมาตร 100 ไมโครลิตร ได้แก่ เชื้อ *Bacillus cereus* DMST 5040, *Enterobacter aerogenes* DMST 8841, *Escherichia coli* DMST 4212, *Klebsiella pneumoniae* DMST 8216, *Listeria monocytogenes* DMST 11256, *Salmonella* Rissen DMST 7097, *Salmonella* Typhimurium DMST 0526, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Yersinia enterocolitica* DMST 9380 ลงบนผิวหน้าของอาหาร MHA ส่วนสารแขวนลอยเซลล์ของเชื้อ *Helicobacter pylori* DMST 20165 ปิเปตลงบนผิวหน้าอาหาร Columbia Blood Agar ที่เติมเลือดคนความเข้มข้นร้อยละ 5 และสารแขวนลอยเซลล์ของเชื้อ *Porphyromonas gingivalis* JCM 12257 จะปิเปตลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI Agar ที่เติมฮีมินความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตร มีนาไดโอนความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อลิตร และเลือดคนความเข้มข้นร้อยละ 5 จากนั้นเกลี่ยด้วยไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ แล้วคีบแผ่นกระดาษกรองปลอดเชื้อที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 6 มิลลิเมตร ไปวางบนผิวหน้าของอาหาร หยดสารสกัดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 15 ไมโครลิตรลงบนกระดาษกรอง สำหรับเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคที่ใช้อากาศ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อ *Helicobacter pylori* DMST 20165 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ถึง72 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ microaerophilic และเชื้อแบคทีเรีย *Porphyromonas gingivalis* JCM 12257 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 ถึง 10 วัน ภายใต้สภาวะไร้อากาศ ตรวจผลการทดลองโดยตรวจดูโซนการยับยั้ง (inhibition zone) และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (ในหน่วยมิลลิเมตร)

สำหรับชุดควบคุมเชิงลบ (Negative control) ใช้สารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 15 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่นกระดาษกรอง ส่วนชุดควบคุมเชิงบวกจะใช้ยาปฏิชีวนะเพนิซิลลิน จี (Penicillin G) ที่ความเข้มข้น 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตร สำหรับแบคทีเรียแกรมบวกทุกชนิดที่ทดสอบยกเว้นเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118 จะใช้ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และชุดควบคุมเชิงบวกสำหรับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบทุกชนิดที่ทดสอบ ใช้ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2.2.2 การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)

การทดลองหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี agar dilution ทำตามวิธีการของ Collins และคณะ (2001) ได้ดังนี้ เริ่มจากทำการเจือจางสารสกัดจาก stock solution ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารสกัดจากพืชสมุนไพร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ในรูปแบบอื่นๆ ทั้งสิ้น ทั้งนี้ ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่ละชนิด ได้แก่ เปราะหอม มะขามป้อม สมอไทย ชุมเห็ดเทศ หญ้าแห้วหมู รากกระถิน เปลือกแค เบญจกานี สมอพิเภก เจตมูลเพลิงแดง ว่านนางคำ ผลมะกอก โกฐพุงปลา โกฐน้ำเต้า เปลือกคาง หญ้าฝรั่น ว่านน้ำ ใบส้มป่อย เปลือกนนทรี พลูคาว ปอบิด เปลือกมังคุดและเปลือกทับทิม รากและผล ฟักข้าว โดยปิเปตสารสกัดปริมาตรที่แตกต่างกันในแต่ละระดับความเข้มข้นลงในหลอดทดลองที่ ปราศจากเชื้อ และปิเปตน้ำกลั่นปลอดเชื้อลงไปในหลอดที่มีสารสกัด โดยปริมาตรของสารสกัดรวมกับ น้ำกลั่นจะต้องเท่ากับ 250 ไมโครลิตร (ภาคผนวก ข) จากนั้นปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากเชื้อ และมีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ปริมาตร 4,750 ไมโครลิตรลงไป โดยเชื้อ *Bacillus cereus* DMST 5040, *Enterobacter aerogenes* DMST 8841, *Escherichia coli* DMST 4212, *Klebsiella pneumoniae* DMST 8216, *Listeria monocytogenes* DMST 11256, *Salmonella* Rissen DMST 7097, *Salmonella* Typhimurium DMST 0526, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และเชื้อ *Yersinia enterocolitica* DMST 9380 จะใช้อาหาร BHI Agar สำหรับเชื้อ *P. gingivalis* JCM 12257 จะใช้อาหาร BHI Agar ที่เติมสารละลายฮีมินความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตร มีนาได-โอนความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อลิตร และเลือดคนความเข้มข้นร้อยละ 5 (Kraivaphan และคณะ, 2013) ส่วนเชื้อ *H. pylori* DMST 20165 จะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Columbia Blood Agar ที่เติมเลือดคนความเข้มข้นร้อยละ 5 (Malekzadeh และคณะ, 2001) จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน แล้วนำมาเอียงเพื่อให้ได้หลอดอาหารที่มีผิวหน้าเอียง ซึ่งจะได้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดในหลอดทดลองที่มีระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 10, 7, 5.12, 2.56, 1.28, 0.64 และ 0.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการถ่ายเชื้อจากสารแขวนลอยเซลล์ของจุลินทรีย์แต่ละชนิดลงบนผิวหน้าอาหารที่มีความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละระดับลงไป 1 ลูป ด้วยเทคนิค simple streak สำหรับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ใช้อากาศนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เชื้อ *H. pylori* DMST 20165 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน (72 ชั่วโมง) ภายใต้สภาวะ microaerophilic และเชื้อ *P. gingivalis* JCM 12257 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ถึง 10 วัน ภายใต้สภาวะไร้อากาศ ตรวจผลการทดลองโดยตรวจดูการเจริญของเชื้อที่แต่ละระดับความเข้มข้นของสารสกัด รายงานผลเป็นค่า MIC (Minimum inhibitory concentration) ซึ่งก็คือระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้

สำหรับชุดควบคุมเชิงลบ ใช้สารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ส่วนชุดควบคุมเชิงบวกนั้นจะใช้ยาปฏิชีวนะเพนิซิลลิน จีที่ระดับความเข้มข้น 1,000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 16 และ 8 ยูนิตต่อมิลลิลิตร สำหรับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกทุกชนิดที่นำมาใช้ทดสอบ ยกเว้นเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* TISTR 118 จะใช้ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซินที่ระดับความเข้มข้น 1.0, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, และ 0.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และชุดควบคุมเชิงบวกสำหรับแบคทีเรียแกรมลบทุกชนิดที่ใช้ในการทดสอบนั้น จะใช้ยาปฏิชีวนะแอมพิซิลลินที่ระดับความเข้มข้น 5, 1, 0.5, 0.25, 0.1 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.3 การวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum bactericidal concentration)

ทำการทดลองตามวิธีการของ Malekzadeh และคณะ (2001) โดยทำการถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารที่ไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย หลังจากการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัด ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (MIC) ด้วยวิธี Agar dilution มาลากลงบนผิวหน้าอาหารปกติที่ไม่มีการเติมสารสกัดด้วยเทคนิค simple streak สำหรับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ใช้อากาศ ได้แก่ เชื้อ *Bacillus cereus* DMST 5040, *Enterobacter aerogenes* DMST 8841, *Escherichia coli* DMST 4212, *Klebsiella pneumoniae* DMST 8216, *Listeria monocytogenes* DMST 11256, *Salmonella* Rissen DMST 7097, *Salmonella* Typhimurium DMST 0526, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Yersinia enterocolitica* DMST 9380 จะใช้อาหาร BHI Agar เชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* DMST 20165 จะใช้อาหาร Columbia Blood Agar ที่เติมเลือดคนความเข้มข้นร้อยละ 5 และเชื้อ *P. gingivalis* JCM 12257 จะใช้อาหาร BHI Agar ที่เติมฮีมิน ความเข้มข้น 10 มิลลิลิตรต่อลิตร มีนาไดโอนความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อลิตร และเลือดคนความเข้มข้นร้อยละ 5 สำหรับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ใช้อากาศนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เชื้อ *H. pylori* DMST 20165 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ภายใต้สภาวะ microaerophilic และเชื้อ *P. gingivalis* JCM 12257 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ถึง 10 วัน ภายใต้สภาวะไร้อากาศ ทำการตรวจผลการทดลองโดยตรวจดูการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบ โดยที่ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่ไม่พบการเจริญของเชื้อบนผิวหน้าอาหารในหลอดทดลองจะรายงานผลเป็นค่า MBC ซึ่งก็คือระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดที่สามารถทำลายหรือฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้

3.2.3 การศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

3.2.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากสมุนไพรไทยทำตามวิธีการของ Singleton และคณะ (1999) โดยทำการเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แล้วปิเปตสารสกัดแต่ละชนิดปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง ปิเปตน้ำบริสุทธิ์คุณภาพสูง (ultra-pure water) ปริมาตร 6 มิลลิลิตร และสาร Folin-Ciocalteu's reagent (Fluka, Switzerland) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงไปแล้วเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำมาทำการเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) ความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร และน้ำบริสุทธิ์คุณภาพสูงปริมาตร 1.9 มิลลิลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไว้เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg gallic acid equivalents (GAE)/g extract) (วิธีการคำนวณดูในภาคผนวก ค)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Sigma-Aldrich, Switzerland) ที่ระดับความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แทนสารสกัดจากสมุนไพร ส่วนแบลงก์ (blank) ใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงมาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแกลลิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อมาใช้ในการคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในตัวอย่างที่วิเคราะห์

3.2.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยจะวิเคราะห์ตามวิธีของ Kathirvel และ Sujatha (2012) โดยปิเปตสารสกัดจากสมุนไพรไทยแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตรในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตรลงไป ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตรและน้ำกลั่นปริมาตร 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโต-มิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของควอซิทิน จากนั้นรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด (mg quercetin equivalents (QE)/g extract) (วิธีการคำนวณดูในภาคผนวก ค)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารฉบับนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของควอซิทิน (Sigma-Aldrich, Switzerland) ที่ระดับความเข้มข้น 10 ถึง 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ

10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้นต่างๆ แทนสารสกัดจากสมุนไพร ส่วนแบลงก์ (blank) ใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรของสารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้นต่างๆแล้ว นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณควอซิทินกับค่าการดูดกลืนแสงของควอซิทินจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่มีในตัวอย่างที่วิเคราะห์

3.2.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย จะวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Denis (Kathirvel และ Sujatha, 2012) ทำได้โดยปิเปตสารสกัดจากสมุนไพรไทยแต่ละชนิดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 7.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายโฟลิน-เดนิช (Folin-Denis' reagent, Fluka, Switzerland) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร พร้อมทั้งผสมให้เข้ากัน จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น แล้วผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโต-มิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นั้นมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบแทนนินจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานกรดแทนนิก รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด (mg of tannic acid equivalent (TAE)/ g of extract) (วิธีการคำนวณดูในภาคผนวก ค)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิก (Sigma-Aldrich, China) ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณสารประกอบแทนนินด้วยวิธีการเดียวกับวิธีการข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แทนสารสกัดจากสมุนไพร ส่วนแบลงก์ (blank) เป็นเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแทนนิกกับค่าการดูดกลืนแสงของกรดแทนนิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในคำนวณหาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดที่มีในตัวอย่างที่วิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3.4 การตรวจสอบการมีอยู่ของคาร์โบไฮเดรตในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

การตรวจสอบการมีอยู่ของคาร์โบไฮเดรตในสารสกัดจากสมุนไพรไทย จะตรวจสอบตามวิธีของ Yisa (2009) โดยปิเปตสารสกัดความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 200 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมโมลิช รีเอเจนต์ (Molisch's reagent) (ประกอบด้วยแอลฟา-แนฟทอล (α-naphthol) 1.5 กรัมที่ละลายในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร) และกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ปริมาณ 3 และ 5 หยดตามลำดับ สังเกตการเปลี่ยนสี หากพบว่ามีการเปลี่ยนสีเป็นสีม่วงหรือเกิดตะกอนสีม่วง แสดงว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยนั้นมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบ

3.2.4 การศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

3.2.4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่ตรวจพบว่ามีคาร์โบไฮเดรตจากข้อ 3.2.3.4 โดยทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (Phenol-Sulfuric method) ตามวิธีการของ Dubois และคณะ (1956) เริ่มจากการปิเปตสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายเมทานอลร้อยละ 30 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายฟีนอล (PANREAC QUÍMICA, Spain) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงไปผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (RCI Labscan Ltd., Thailand) ปริมาตร 5 มิลลิลิตรลงไป ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เย็นเป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโต-มิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นั้นมาคำนวณหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (น้ำตาลทั้งหมด) จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (mg /g extract) (วิธีการคำนวณดูในภาคผนวก ค) และวิเคราะห์หาปริมาณของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ในสารมาตรฐานอินนูลินซึ่งใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก

3.2.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยจำนวน 5 ชนิดที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้สูง 5 อันดับแรก ซึ่งคัดเลือกจากผลการทดลองในข้อ 3.2.4.1 โดยทำตามวิธีการของ Wichienchot และคณะ (2011) ซึ่งทำได้โดยปิเปตสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 3 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง เก็บตัวอย่างที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมงที่ 0 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer) (Korakli, 2002) ที่มีค่า pH เท่ากับ 1.0 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบ 4 ชั่วโมง ทำการหยุดปฏิกิริยาโดยการปรับ pH ของสารละลายผสมให้มี pH เท่ากับ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 นอร์มัล จากนั้นทำการย่อยต่อด้วยเอนไซม์ โดยการเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-amylase from *Aspergillus oryzae*, Fluka, Switzerland) ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ (mM) ที่มีค่า pH เท่ากับ 7.0 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบ 6 ชั่วโมง ทำการหยุดปฏิกิริยาด้วยการนำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังการย่อยด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (Phenol-Sulfuric method) ตามวิธีการของ Dubois และคณะ (1956) ปริมาณของสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยนั้น จะรายงานในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (mg /g extract) โดยคำนวณจากสูตรดังนี้

ปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) =
ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ - ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนทำการย่อย
(มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)

สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดที่ชั่วโมงที่ 0 นั้น จะวิเคราะห์ด้วยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS method) ที่ดัดแปลงจากวิธีการของ Miller (1959) ทำได้โดยปิเปตสารสกัดหยาบจากสมุนไพรความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิซัยลิก (dinitrosalicylic acid, Sigma-Aldrich, Switzerland) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงทันที (แช่ในน้ำเย็น) เพื่อหยุดปฏิกิริยา เติมน้ำกลั่นปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นั้นไปคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด (mg /g extract) (วิธีการคำนวณดูในภาคผนวก ค) และวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในสารมาตรฐานอินนูลินซึ่งใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4.3 การศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีต่อการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติก

ก) การเตรียมเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034

การเตรียมเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ซึ่งเป็นแบคทีเรียไม่ใช้อากาศ ทำได้โดยเขี่ยเชื้อจากหลอด stock culture ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารแข็ง 1 ลูปเต็มลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ microaerophilic จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเหลว MRS ดังกล่าวไปปั่นเหวี่ยงครั้งที่ 1 ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาทีเพื่อให้เซลล์ตกตะกอนและเทส่วนใสทิ้งไป เหลือแต่เฉพาะตะกอนเซลล์ที่ก้นหลอด จากนั้นทำการล้างเซลล์โดยการเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตรเท่ากับอาหารเดิม (5 มิลลิลิตร) นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม นำไปปั่นเหวี่ยงอีกเป็นครั้งที่ 2 ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้ง (เป็นการล้างเซลล์ครั้งที่ 1) จากนั้นทำการล้างเซลล์ด้วยวิธีการเดียวกันนี้อีก 1 ครั้ง นำตะกอนเซลล์ที่ได้มาทำให้อยู่ในรูปของสารแขวนลอยเซลล์ โดยการเติมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 5 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน ปรับความขุ่นของสารแขวนลอยเซลล์แบคทีเรียให้เท่ากับความขุ่นของสารละลายมาตรฐาน McFarland เบอร์ 5 (จะได้ความเข้มข้นของเซลล์เท่ากับ 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร)

ข) ขั้นตอนการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยต่อการเจริญของ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034

ในการทดลองนี้ได้ทำการเปรียบเทียบผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ปริมาณสูง 5 อันดับแรก ซึ่งได้คัดเลือกจากผลการทดลองในข้อ 3.2.4.1 ที่มีต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *L. acidophilus* TISTR 1034 ในอาหารเหลว MRS โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Wichienchot และคณะ (2010) ได้ดังนี้ ทำการเตรียมอาหารเหลว MRS ในหลอดทดลองจำนวน 5 หลอด จากนั้นเติมสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยแต่ละชนิดที่มีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ในปริมาณสูงลงในหลอดอาหารเหลวดังกล่าว ซึ่งจะได้อาหารเหลว MRS ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดแต่ละชนิดในหลอดอาหารเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับชุดควบคุมเชิงบวกนั้น จะทำการทดลองเช่นเดียวกับวิธีการข้างต้น แต่จะใช้สารมาตรฐานอินนูลินแทนสารสกัด และใช้สารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 สำหรับเป็นชุดควบคุมเชิงลบ จากนั้นปิเปตสารแขวนลอยเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย *L. acidophilus* ที่เตรียมไว้ลงในหลอดอาหารเหลว MRS แต่ละหลอด บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะ microaerophilic และทำการเก็บตัวอย่างที่ชั่วโมงที่ 0, 12 และ 24 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เพื่อนำตัวอย่างที่แต่ละชั่วโมงมาทำการวิเคราะห์หาจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตโดยเทคนิค Spiral plate บนอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แข็ง MRS และนำข้อมูลของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตที่ได้จากการทดลองในแต่ละซ้ำ (3 ซ้ำ) มาทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ค) การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

นำผลการทดลองทั้ง 3 ซ้ำของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ analysis variance (ANOVA) และ Duncan's multiple range test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลแต่ละทรีทเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 22.0 (IBM, USA) (ภาคผนวก ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 สมบัติการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

4.1.1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method)

จากผลการศึกษาสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรทั้งหมด 25 ชนิดที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเทคนิค Disc diffusion (ตารางที่ 4.1) พบว่าสารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้กว้างที่สุด คือ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ถึง 9 ชนิด จากจำนวนทั้งหมด 11 ชนิด ส่วนสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ค่อนข้างกว้าง คือ สารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อมและผลมะกอก ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารได้ 6 ชนิด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบจากว่าน-นางคำและชุมเห็ดเทศ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 5 และ 4 ชนิดตามลำดับ และสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยชนิดอื่นที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 1 ถึง 3 ชนิด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากเปราะหอม ฟักข้าว (ผลและราก) หญ้าแห้วหมู เปลือกมังคุด เปลือก-ทับทิม เบญจกานี โกฐพุงปลา ว่านน้ำ เปลือกนนทรี เจตมูลเพลิงแดง และผลสมอพิเภก (ตารางที่ 4.1)

สารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้านั้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Porphyromonas gingivalis* ได้ดีมากคือ มีเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (inhibition zone) กว้างถึง 45.21 มิลลิเมตร และสารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศนั้นก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. gingivalis* ได้ดีเช่นเดียวกัน (26.89 มิลลิเมตร) รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบจากว่านนางคำและเปราะหอม (18.86 ถึง 18.87 มิลลิเมตร) นอกจากนี้สารสกัดหยาบจากเปลือกทับทิมและเบญจกานีสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacillus cereus* ได้ค่อนข้างดี ขณะที่สารสกัดหยาบจากว่านนางคำมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้ค่อนข้างดี นอกจากนี้ยังมีสารสกัดหยาบจากสมุนไพรอีกหลายชนิดที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียที่ทดสอบได้ แต่มีโซนการยับยั้งไม่กว้างมากนัก ส่วนสารสกัดหยาบจากสมุนไพรชนิดอื่นที่นำมาทดสอบและมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *P. gingivalis* และ *Yersinia enterocolitica* แต่ไม่ได้แสดงผลไว้ในตารางที่ 4.1 เนื่องจากมีโซนการยับยั้งไม่กว้างมากนัก (6.97 ถึง 10.92 มิลลิเมตร) ได้แก่ สารสกัดหยาบจากผลสมอไทย รากกระถิน เปลือกแค ปอบิด เปลือกคาง หญ้าฝรั่น ใบส้มป่อย และพลูคาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method)

ชนิดของจุลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	ว่านน้ำ	ชุมเห็ดเทศ	ว่านนางคำ	หญ้าแห้วหมู	มังคุด	เปราะหอม	ผลฟักข้าว	รากฟักข้าว	นนทรี
Bacillus cereus	12.41±0.37	10.01±0.11	14.47±1.20	8.60±0.06	11.24±1.82	-	-	-	12.01±0.11
Enterobacter aerogenes	-[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
Escherichia coli	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Helicobacter pylori	-	10.66±1.21	-	-	-	-	-	-	-
Klebsiella pneumoniae	7.09±0.11	-	-	-	-	-	-	-	-
Listeria monocytogenes	-	-	17.80±1.21	-	-	-	-	-	14.21±0.93
Porphyromonas gingivalis	14.76±3.46	26.89±2.03	18.86±1.15	-	-	18.87±1.99	14.86±1.95	11.27±1.32	-
Salmonella Rissen	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salmonella Typhimurium	-	-	7.42±0.29	-	-	-	-	-	-
Staphylococcus aureus	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Yersinia enterocolitica	-	16.83±7.67	18.60±0.10	7.80±0.70	11.25±0.24	-	-	-	13.51±0.66

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

หมายเหตุ: สารสกัดหยาบทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/mL ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL

ตารางที่ 4.1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method) (ต่อ)

ชนิดของจุลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	มะขามป้อม	เจตมูลเพลิงแดง	ทับทิม	เบญจกานี	โกฐน้ำเต้า	มะกอก	สมอพิเภก	โกฐพุงปลา	Ampicillin
Bacillus cereus	10.13±0.60	14.58±1.66	18.58±8.09	19.71±2.52	13.79±4.29	9.59±1.39	14.44±4.27	14.54±0.23	12.54±0.10
Enterobacter aerogenes	-[b]	-	-	-	7.74±1.02	7.23±0.45	-	-	25.54±0.00
Escherichia coli	-	-	-	-	8.33±0.42	-	-	-	13.76±0.04
Helicobacter pylori	8.50±0.23	-	-	-	-	8.58±0.79	10.11±0.64	-	29.30±0.00
Klebsiella pneumoniae	-	-	-	-	7.67±1.05	-	-	-	27.14±0.00
Listeria monocytogenes	-	-	-	-	-	-	-	-	10.67±0.05
Porphyromonas gingivalis	9.26±0.14	10.40±1.91	-	-	45.21±10.84	12.37±0.49	-	-	29.01±0.06
Salmonella Rissen	-	-	-	-	8.08±0.63	-	-	-	30.04±0.06
Salmonella Typhimurium	7.41±0.28	-	-	-	8.08±0.63	12.26±0.46	-	-	30.04±0.00
Staphylococcus aureus	7.25±0.28	-	-	-	8.38±0.07	-	-	-	-[c]
Yersinia enterocolitica	13.51±0.46	19.51±5.34	13.02±7.86	19.47±1.21	13.47±0.05	9.22±0.50	12.86±0.73	11.76±1.76	31.24±0.01

[a] ค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ; [b] ไม่พบการยับยั้ง (เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส < 6 มม.); [c] ไม่ได้ทำการทดลอง เนื่องจากเชื้อ *S. aureus* ต้ายทานต่อยา Ampicillin

หมายเหตุ: สารสกัดหยาบทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/mL ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL

4.1.2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยในการยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)

จากผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารจำนวน 11 ชนิดที่ทดสอบของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธี Agar dilution (ตารางที่ 4.2) พบว่าเชื้อ *B. cereus* และ *Y. enterocolitica* ไวต่อการถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยหลายชนิด โดยถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบจากว่านนางคำและเบญจ-กานีได้ดีที่สุด (มีค่า MIC เท่ากับ 0.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับเชื้อ *P. gingivalis* นั้นถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบจากและชุมเห็ดเทศ ว่านนางคำ เปราะหอม และโกฐน้ำเต้าได้ดีที่สุด (มีค่า MIC เท่ากับ 0.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนเชื้อ *L. monocytogenes* ถูกยับยั้งได้ดีโดยสารสกัดหยาบจากว่านนางคำ (มีค่า MIC เท่ากับ 0.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และเปลือกนนทรี (มีค่า MIC เท่ากับ 2.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ในขณะที่เชื้อ *S.* Typhimurium นั้นถูกยับยั้งได้โดยสารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้าและมะกอก โดยมีค่า MIC เท่ากับ 7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *E. aerogenes*, *E. coli*, *H. pylori*, *K. pneumoniae*, *S.* Rissen และ *S. aureus* ค่อนข้างต้านทานต่อการถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบที่นำมาทดสอบ โดยมีค่า MIC เท่ากับหรือมากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งไม่ได้แสดงผลการทดลองไว้ในตารางที่ 4.2

จากผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MBC) ในการทำลายหรือฆ่าเชื้อแบคทีเรียพบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยส่วนใหญ่มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการทำลายเชื้อเท่ากับค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดยกเว้นสารสกัดจากรากกระถินและเจตมูลเพลิงแดงที่มีค่า MBC มากกว่าค่า MIC ของ *B. cereus* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 5.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ค่า MBC นั้นมีค่ามากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการทดลองในครั้งนี้พบว่าสารสกัดหยาบจากว่านนางคำมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของนักวิจัยท่านอื่นๆ หลายท่าน ดังเช่นในรายงานการทดลองของ Srvidya และคณะ (2009) ที่ได้ทำการทดลองและพบว่าสารสกัดหยาบจากเหง้าของว่านนางคำที่สกัดด้วยไฮโดรเอทานอล (hydroethanol) นั้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus, K. pneumoniae* และ *Candida albicans* ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 15.625, 62.5 และ 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ แต่เชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* นั้นค่อนข้างที่จะต้านทานต่อการถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากพืชชนิดนี้ (ค่า MIC มากกว่า 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่ความเข้มข้นต่ำสุดด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)

ชนิดของสารสกัด	ค่า minimum inhibitory concentration (mg/ml)				
	B. cereus	*L. monocytogenes*	*P. gingivalis*	*S.* Typhimurium	*Y. enterocolitica*
ใบส้มป่อย	>10	>10	>10	>10	>10
ว่านน้ำ	2.56	>10	2.56	>10	>10
คาง	>10	>10	>10	>10	>10
ชุมเห็ดเทศ	>10	>10	0.32	>10	7
หญ้าฝรั่น	>10	>10	2.56	>10	>10
ว่านนางคำ	0.32	0.64	0.32	>10	0.32
หญ้าแห้วหมู	10	>10	>10	>10	>10
มังคุด	>10	>10	>10	>10	2.56
ปอบิด	>10	>10	10	>10	>10
พลูคาว	5.12	>10	>10	>10	>10
เปราะหอม	>10	>10	0.32	>10	>10
กระถิน	5.12	>10	>10	>10	>10
ผลฟักข้าว	>10	>10	5.12	>10	>10
รากฟักข้าว	>10	>10	>10	>10	>10
นนทรี	2.56	2.56	>10	>10	5.12
มะขามป้อม	>10	>10	>10	>10	5.12
เจตมูลเพลิงแดง	5.12	>10	>10	>10	>10
ทับทิม	5.12	>10	>10	>10	5.12
เบญจกานี	0.32	>10	>10	>10	0.32
โกฐน้ำเต้า	5.12	>10	0.32	7	5.12
แค	>10	>10	5.12	>10	5.12
มะกอก	10	>10	7	7	10
สมอพิเภก	5.12	>10	>10	>10	5.12
สมอไทย	10	>10	>10	>10	10
โกฐพุงปลา	5.12	>10	>10	>10	2.56
Ampicillin	-[a]	-	0.05	0.05	0.05
Penicillin G[b]	8	8	-	-	-

หมายเหตุ : [a] ไม่ได้ทำการทดลอง; [b] ความเข้มข้นของ Penicillin G (unit/ mL)

นอกจากนี้ Sharmin และคณะ (2013) ยังได้รายงานว่าสารสกัดจากเหง้าของว่านนางคำที่สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ดี โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus, S. aureus, Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei* และ *Shigella dysenteriae* เท่ากับ 16.3, 15.3, 11.7, 9.7 และ 10.0 มิลลิเมตร และมีค่า MIC เท่ากับ 0.03, 0.06, 0.25, 0.25 และ 0.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ การที่สารสกัดหยาบจากว่านนางคำมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดีนั้น อาจเนื่องมาจากการที่สารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หยาบดังกล่าวมีสารสำคัญที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ดังรายงานการศึกษาของ Pant และคณะ (2013) ที่ได้รายงานว่าสารสกัดจากเหง้าของว่านนางคำที่สกัดด้วยเอทิลแอซิเตทประกอบด้วยสาร curcumin, demethoxycurcumin และ β-sitosterol-3-β-D-glucopyranoside

สำหรับสารสกัดหยาบจากเบญจกานี จากการทดลองพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ดีเช่นกัน จากรายงานการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคโดยสารสกัดจากเบญจกานีด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันของ Leela และ Satirapipathkul (2011) พบว่าสารสกัดจากเบญจกานีที่สกัดด้วยเมทานอล เอทานอลและน้ำมีกิจกรรมยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสูงกว่าสารสกัดที่สกัดจากคลอโรฟอร์มและเฮกเซน สำหรับสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลมีกิจกรรมยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ดีที่สุด โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis, S. aureus* และ *E. coli* ได้โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.625, 1.25 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ นอกจากนี้ Basri และคณะ (2012) ยังได้รายงานถึงกิจกรรมการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคในช่องปาก (oral pathogen) ของสารสกัดหยาบจากเบญจกานีที่สกัดด้วยเมทานอลพบว่ามีค่า MIC และ MBC ของการยับยั้งและทำลายเชื้อ *P. gingivalis* เท่ากับ 0.63 และ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ จากรายงานการวิจัยต่างๆ ของนักวิจัยหลายท่านข้างต้นมีความสอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้ที่พบว่าสารสกัดจากเบญจกานีที่สกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* ได้ แต่ไม่พบกิจกรรมการยับยั้งเชื้อ *S. aureus, E. coli* และเชื้อ *P. gingivalis* ซึ่งกิจกรรมการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากเบญจกานีอาจเนื่องมาจากสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบ ดังในรายงานการทดลองของ Hashim (2013) ที่ได้ทำการศึกษาสารสำคัญในสารฟีนอลิกที่สกัดจากเบญจกานีพบว่าประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่สาร isoquercetin, quercetin, ferulic acid, rutin, coumaric acid, kaempferol, vanillic acid, sinapic acid และ tannic acid โดยพบ tannic acid ในปริมาณสูงถึงร้อยละ 52.85

สำหรับสารสกัดหยาบที่ได้จากรากของโกฐน้ำเต้านั้น จากการทดลองศึกษาพบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 0.32 ถึง 7.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เช่นเดียวกับรายงานการทดลองของ Aly และ Gumgumjee (2011) ที่ได้พบว่าสารสกัดจากรากของโกฐน้ำเต้าที่สกัดด้วยเมทานอลมีกิจกรรมการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ รา และแบคทีเรีย โดยสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยบิวทานอล โดยค่า MIC ของสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* และ *K. pneumoniae* เท่ากับ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ดี โดยมีค่า MIC เท่ากับ 75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ Kosikowska และคณะ (2010) ยังได้รายงานถึงกิจกรรมในการยับยั้งการเติบโตเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากโกฐน้ำเต้าที่สกัดด้วยเอทานอลพบว่ามีค่า MIC ของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* เท่ากับ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ *S. aureus, K. pneumoniae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ *Proteus mirabilis* นั้นค่อนข้างต้านทานต่อการถูกยับยั้งด้วยสารสกัดดังกล่าว โดยมีค่า MIC มากกว่า 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ Kosikowska และคณะยังได้ตรวจสอบปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในรากของโกฐน้ำเต้าพบว่าประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 75.34 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารอนุพันธ์ของแอนทราควิโนน (anthraquinone derivative) และสารแอนทราควิโนน (anthraquinone) ทั้งหมด 36.3 และ 34.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และสารประกอบแทนนินร้อยละ 8.67 นอกจากนี้ Qin และคณะ (2011) ยังได้ทำการศึกษาคุณสมบัติการทำให้ถ่ายท้องและการยับยั้งโรคท้องร่วงในหนูของสารแอนทราควิโนนและแทนนินที่แยกได้จากสารสกัดจากรากและเหง้าของโกฐน้ำเต้าที่สกัดด้วยเอทานอลพบว่าสารแอนทราควิโนนมีคุณสมบัติทำให้เกิดอาการถ่ายท้อง ในขณะที่แทนนินมีกิจกรรมการยับยั้งโรคท้องร่วง Wang และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาและรายงานถึงสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในสารประกอบฟีนอลิกที่แยกได้จากสารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้าพบว่า สารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้าประกอบด้วยแทนนินในปริมาณที่สูงถึงร้อยละ 38.26 นอกจากนี้ Wang และคณะ (2011) ยังได้ระบุถึงชนิดของสารประกอบต่างๆ ที่พบในสารประกอบฟีนอลิกดังกล่าว ซึ่งสารประกอบที่พบเหล่านั้น ได้แก่ gallic acid, galloyl glucose, di-*O*-galloyl-glucose, glucopyranosyl-galloyl-glucose, coumaroyl-*O*-galloyl-glucose, trimer of catechin, catechin gallate, catechin-glucopyranoside, carboxyl-chrysophanol-*O*-glucose และ emodin-*O*-glucose ซึ่งการที่สารสกัดจากโกฐน้ำเต้านั้นประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิดดังที่ได้มีผู้รายงานไว้อาจส่งเสริมให้สารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้ามีกิจกรรมยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้หลากหลายชนิด

สำหรับสารสกัดหยาบจากว่านน้ำและเปลือกมังคุดนั้น จากการทดลองพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ค่อนข้างดี แต่พบว่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ทดสอบนั้นค่อนข้างต้านทานต่อการถูกยับยั้งด้วยสารสกัดดังกล่าว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการทดลองของ Asha และ Deepak (2009) ที่ได้รายงานไว้ว่าเชื้อแบคทีเรีย *P. aeruginosa*, *S. paratyphi*, *Shigella sonnei*, *Vibrio cholera*, *E. faecalis* และ *S. aureus* มีความต้านทานต่อการถูกยับยั้งด้วยสารสกัดจากใบและเหง้าของว่านน้ำที่สกัดด้วยเอทิลแอซิเตท ยกเว้นเชื้อ *E. coli* สามารถถูกยับยั้งได้โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 16 ถึง 42 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งการที่สารสกัดหยาบจากว่านน้ำมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้นั้น อาจเป็นผลมาจากสมบัติการยับยั้งของสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในว่านน้ำ และจากรายงานการทดลองศึกษาของ Gyawali และ Kim (2009) ที่ได้รายงานไว้ว่าในเหง้าของว่านน้ำนั้นประกอบด้วยสารสำคัญอยู่หลายชนิด ได้แก่ [E,Z]-2,4-decadienal, linalool, farnesol, methyleugenol, α-asarone และ β-asarone ซึ่งสาร β-asarone นั้นเป็นสารที่เป็นองค์ประกอบของว่านน้ำที่สำคัญที่พบมากที่สุดโดยมีปริมาณสูงถึงร้อยละ 46.78 Pongpaichit และคณะ (2005) ได้ทำการทดลองศึกษาเกี่ยวกับกิจกรรมการยับยั้งการเจริญของสาร β-asarone ที่แยกได้จากสารสกัดจากว่านน้ำที่สกัดด้วยเมทานอลพบว่าสารดังกล่าวมีฤทธิ์ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์และเชื้อราได้ดี รวมทั้งยังมีกิจกรรมยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, Methicillin resistant *S. aureus* (MRSA), *E. coli* และ Enterovasive *E. coli* ได้โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 5 ถึง 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC มากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกเหนือจากนี้ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus* sp. และ *P. aeruginosa* มีความต้านทานต่อการถูกยับยั้งด้วยสารสกัดดังกล่าวเช่นเดียวกับรายงานการทดลองของ Asha และ Deepak (2009) ที่พบว่าสาร α-asarone และ β-asarone มีกิจกรรมการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 8 ถึง 32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สำหรับสารสกัดจากเปลือกมังคุดนั้น Voravuthikunchai และ Kitpipit (2005) ได้รายงานไว้ว่า สารสกัดหยาบจากมังคุดที่สกัดด้วยเอทานอลนั้นมีฤทธิ์ยับยั้ง Methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) (ค่า MIC เท่ากับ 0.05 ถึง 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และ *S. aureus* ATCC 25923 (ค่า MIC เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เช่นเดียวกับการทดลองศึกษาของ Fernando และ Dasanayake (2006) ที่ได้รายงานไว้ว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis*, *S. aureus* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MIC ของการยับยั้งการเจริญของ *Streptococcus faecal* เท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่ง Pothitirat และคณะ (2009) ได้รายงานว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดแก่ที่สกัดด้วยเอทานอลประกอบด้วยสารฟีนอลิกทั้งหมด 28.88 กรัมของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของสารสกัด แทนนินทั้งหมด 36.66 กรัมของกรดแทนนิกต่อ 100 กรัมของสารสกัด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 4.08 กรัมของควอซิทินต่อ 100 กรัมของสารสกัด และสาร α-mangostin ร้อยละ 13.63 ซึ่งสารสกัดดังกล่าวนั้นมีกิจกรรมยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus epidermidis* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 15.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 15.63 และ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าสารประกอบ α-mangostin ซึ่งเป็นสารกลุ่มแซนโทน (xanthone) ชนิดหลักที่พบเป็นองค์ประกอบในสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีกิจกรรมยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *P. acnes* และ *S. epidermidis* ได้ โดยมีค่า MIC และ MBC ของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. acnes* เท่ากับ 1.95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MIC และ MBC ของการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* เท่ากับ 3.91 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

จากการศึกษาในครั้งนี้ สารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยหลายชนิดได้แก่ สารสกัดหยาบจากว่านนางคำ เปราะหอม โกฐน้ำเต้า และชุมเห็ดเทศ มีสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Porphyromonas gingivalis* ได้ดีมาก รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบจากว่านน้ำ หญ้าฝรั่น เปลือกแค และผลฟักข้าว ซึ่งสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. gingivalis* ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรเหล่านี้ ส่วนใหญ่ยังไม่เคยมีผู้รายงานไว้ แต่มีเฉพาะรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารเคอร์คูมิน (curcumin) บริสุทธิ์ซึ่งเป็นหนึ่งในสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบของพืชในสกุลเดียวกับว่านนางคำ โดย Mandroli และ Bhat (2013) ได้รายงานไว้ว่าค่า MIC ของสารสกัดเคอร์คูมินบริสุทธิ์ร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. gingivalis* เท่ากับ 0.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังได้มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับผลของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนต่างๆ ของ *Cassia bakeriana* ซึ่งเป็นพืชในสกุลเดียวกับชุมเห็ดเทศ ต่อการยับยั้งการเจริญของ *P. gingivalis* โดย Cunha และคณะ (2013) พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากใบ และเปลือกต้นมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. gingivalis* (MIC เท่ากับ 0.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากส่วนของเนื้อไม้ (MIC เท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *P. gingivalis* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เจริญได้ในสภาวะไร้อากาศ ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับโรคปริทันต์ (periodontitis) ต่างๆ เช่น โรคเหงือกอักเสบ (gingivitis) เชื้อ *P. gingivalis* เป็นเชื้อที่พบมากและบ่อยในช่องปากของผู้ป่วยที่เป็นโรคปริทันต์มากกว่าผู้ที่ไม่ได้เป็นโรค นอกจากความเกี่ยวข้องกับโรคปริทันต์แล้ว ได้มีรายงานว่าเชื้อ *P. gingivalis* มีความสัมพันธ์กับโรคอื่นๆ อีก เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ (cardiovascular diseases) โรครูมาตอยด์ (rheumatoid arthritis) และโรคหลอดเลือดแข็งตัว (atherosclerosis) (Choi และคณะ, 2011)

ในการศึกษาครั้งนี้ สารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อม ชุมเห็ดเทศ เปลือกแค ผลมะกอก ใบส้มป่อย ผลสมอพิเภก และผลสมอไทย มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Helicobacter pylori* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแผลในกระเพาะอาหารและมะเร็งกระเพาะอาหาร (Malekzadeh และคณะ, 2001) ซึ่งสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* ของสารสกัดหยาบจากผลสมอไทย และเปลือกแคนั้น ได้มีนักวิจัยหลายท่านเคยรายงานไว้ สำหรับสารสกัดหยาบจากผลสมอไทยนั้น ได้มีการทดลองที่ทำการทดลองคล้ายกันของ Malekzadeh และคณะ (2001) ที่ได้ทำการทดลองหาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *H. pylori* ของสารสกัดหยาบด้วยน้ำจากผลสมอไทย พบว่า มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.125 และ 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ นอกจากนี้ Malekzadeh และคณะ (2001) ยังได้ทำการหาฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ยูรีเอส (urease) ของสารสกัดหยาบด้วยน้ำของผลสมอไทยพบว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำจากผลสมอไทยสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ยูรีเอสได้ที่ความเข้มข้น 1 ถึง 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดหยาบจากเปลือกแคนั้น มีรายงานการวิจัยของ Uyub และคณะ (2010) ที่ได้รายงานไว้ว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกแคที่สกัดด้วยเมทานอล มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *H. pylori* ได้ดีที่สุด (เส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 17.30 มิลลิเมตร) เมื่อเทียบกับสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยปิโตรเลียม อีเทอร์ และคลอโรฟอร์ม ในขณะที่สารสกัดหยาบจากเปลือกแคที่สกัดด้วยน้ำนั้นไม่ยับยั้งการเจริญของ *H. pylori*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

4.2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 25 ชนิดนั้นพบว่า สารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดได้แก่ เบญจกานี (672.13 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากโกฐพุงปลา เปลือกนนทรี ผลมะขามป้อม ผลสมอพิเภก เปลือกทับทิม และรากกระถิน ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 612.67, 543.41, 393.42, 370.44, 324.83 และ 322.64 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) ส่วนสารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างมากรองลงมาได้แก่ พลูคาว โกฐน้ำเต้า เปลือกคาง ปอบิด เปลือกมังคุดและผลสมอไทย โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 282.94, 252.03, 251.01, 242.57, 231.25 และ 203.38 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากสมุนไพรชนิดอื่นพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อนข้างน้อย ได้แก่ ใบส้มป่อย หญ้าแห้วหมู ผลมะกอก ชุมเห็ดเทศ ว่านน้ำ เปลือกแค รากฟักข้าว ว่านนางคำ ผลฟักข้าว เจตมูลเพลิงแดง เปราะหอม และหญ้าฝรั่น (6.59 ถึง 129.74 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด)

4.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 25 ชนิดพบว่า สารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโว-นอยด์ทั้งหมดมากที่สุดได้แก่ เปลือกนนทรี (5,293.60 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือ เปลือกมังคุด เปลือกคาง พลูคาว และปอบิด ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 4,406.93, 3,584.27, 3,583.60 และ 3,397.60 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) ส่วนสารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างมากรองลงมาได้แก่สารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้า โกฐพุงปลา ชุมเห็ดเทศ เบญจกานี เปลือกทับทิม และรากกระถินโดยมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดท่ากับ 2,086.93, 2,076.27, 1,536.27, 1,361.60, 1,034.93 และ 937.60 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจากสมุนไพรชนิดอื่นพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดค่อนข้างน้อย ได้แก่ ผลมะขามป้อม หญ้าแห้วหมู เปราะหอม ผลสมอพิเภก ใบส้มป่อย ผลมะกอก ผลสมอไทย ว่าน-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นางคำ เปลือกแค รากฟักข้าว เจตมูลเพลิงแดง ว่านน้ำ ผลฟักข้าว และหญ้าฝรั่น (13.60 ถึง 802.93 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด)

4.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 25 ชนิดพบว่า สารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดมากที่สุดได้แก่ เบญจกานี (884.79 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากโกฐพุงปลา และเปลือกนนทรี ซึ่งมีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 712.20 และ 629.09 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) ส่วนสารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดค่อนข้างมากรองลงมาได้แก่ สารสกัดหยาบจากผลสมอพิเภก เปลือกคาง ผลมะขามป้อม เปลือกทับทิม รากกระถิน โกฐน้ำเต้า และเปลือกมังคุด โดยมีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 425.31, 345.60, 335.47, 302.66, 265.81, 253.20 และ 234.60 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรไทยชนิดอื่นพบว่ามีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดค่อนข้างน้อยได้แก่ ปอบิด พลูคาว สมอไทย ใบส้มป่อย หญ้าแห้วหมู ผลมะกอก ชุมเห็ดเทศ เปลือกแค ว่านนางคำ เปราะหอม รากฟักข้าว เจตมูลเพลิงแดง และผลฟักข้าว (17.71 ถึง 233.76 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด) ส่วนสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่ไม่มีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดคือ สารสกัดหยาบจากหญ้าฝรั่น

4.2.4 การศึกษาการมีอยู่ของคาร์โบไฮเดรตของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

จากการศึกษาการมีอยู่ของคาร์โบไฮเดรตของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยทั้งหมด 25 ชนิดด้วยวิธีโมลิช (Molisch test) ซึ่งเป็นการทดสอบเพื่อหาการมีอยู่ของคาร์โบไฮเดรตในอาหาร โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเกิดจากการรวมตัวของแอลฟา-แนฟทอลและเฟอฟิวรอล (furfural) ที่ได้จากการสลายตัวของคาร์โบไฮเดรตได้ตะกอนสีม่วงแดงของของผสม จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบมีทั้งหมด 12 ชนิด ได้แก่ ผลมะขามป้อม หญ้าแห้วหมู ผลสมอไทย เปลือกแค ผลสมอพิเภก ว่านนางคำ รากฟักข้าว ผลมะกอก ปอบิด ผลฟักข้าว โกฐน้ำเต้า และเปลือกมังคุด ส่วนสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่ไม่พบคาร์โบไฮเดรตได้แก่ ใบส้มป่อย ว่านน้ำ เปลือกคาง ชุมเห็ดเทศ หญ้าฝรั่น พลูคาว เปราะหอม รากกระถิน เปลือกนนทรี เจตมูลเพลิงแดง เปลือกทับทิม เบญจกานี และโกฐพุงปลา

จากการศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยทั้ง 25 ชนิด ในครั้งนี้ สารสกัดหยาบจากเบญจกานีเป็นสารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่สุด ซึ่งได้มีรายงานการทดลองที่ได้ทำการศึกษาในลักษณะเดียวกันของ Kaur และคณะ (2008) ที่ได้ทำการทดลองหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลของเบญจกานี พบว่า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 416 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด นอกจากนี้ยังได้วิเคราะห์หาปริมาณของกรดแทนนิก และกรดแกลลิกด้วยวิธี HPTLC พบว่าสารสกัดดังกล่าวมีปริมาณกรดแทนนิก และกรดแกลลิกร้อยละ 19.925 และ 8.75 ตามลำดับ

สารสกัดหยาบจากเปลือกนนทรีและผลมะขามป้อมนั้นเป็นสารสกัดหยาบที่มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงรองลงมาจากสารสกัดหยาบจากเบญจกานี โดยในส่วนของสารสกัดหยาบจากเปลือกนนทรีได้มีรายงานการวิจัยที่ทำการวิจัยคล้ายกันนี้หลายงานวิจัย โดยจากการทดลองของ Manaharan และคณะ (2011) ที่ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลและน้ำจากส่วนต่างๆ ของต้นนนทรี พบว่าสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของต้นนนทรี ซึ่งได้แก่ ใบ เปลือกต้น ดอก และฝักที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำ โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทานอลเท่ากับ 434, 779, 382 และ 512 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ ต่อมาในปี ค.ศ. 2012 Manaharan และคณะนั้นได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากเปลือกนนทรีอีกครั้งพบว่ามีปริมาณใกล้เคียงกับที่ได้ทำการวิเคราะห์ในปี ค.ศ. 2011 คือมีค่าเท่ากับ 797.6 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ส่วนสารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อมนั้นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (393.42 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด) ใกล้เคียงกับรายงานการทดลองของธนวรรณและคณะ (2555) ที่ได้รายงานไว้ว่าสารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อมที่สกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 405.06 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด นอกจากนี้ยังได้มีรายงานการวิจัยอีกหลายงานวิจัยที่ทำการวิจัยคล้ายกัน ดังรายงานการวิจัยของ Mayachiew และ Devahastin (2008) ที่ได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลจากผลมะขามป้อม พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 290.4 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และยังมีการทดลองของ Kumaran และ Karunakaran (2007) ที่รายงานไว้ว่าสารสกัดหยาบจากพืชในสกุล *Phyllanthus* sp. ซึ่งเป็นพืชสกุลเดียวกันกับมะขามป้อมมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ระหว่าง 171 ถึง 380 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

ในการทดลองครั้งนี้พบว่าสารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุดคือ สารสกัดหยาบจากเปลือกนนทรี ซึ่งนักวิจัยหลายท่านได้เคยรายงานการพบสารสำคัญในพืชชนิดนี้ (ต้นนนทรี) โดยการนำส่วนของดอกมาทำการสกัดด้วยเมทานอล แล้วนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทำการตรวจหาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นพบว่าสารสกัดหยาบจากดอกนนทรีที่สกัดด้วยเมทานอลประกอบด้วยสารสำคัญต่างๆได้แก่ สารประกอบฟลาโวนอยด์ ไกลโคไซด์ อัลคาลอยด์ คาเทชิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟีนอล ซาโปนิน สเตอรอยด์ แทนนิน แซนโทโปรตีน กรดคาร์บอกซิลิก คูมาร์ริน และคาร์โบไฮเดรต (Nathan และคณะ, 2012; Sukumaran และคณะ, 2011) นอกจากการศึกษาสารสกัดหยาบจากดอกนนทรีแล้ว Satapathy และ Swamy (2012) ยังได้ทำการทดลองวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากใบนนทรีที่สกัดด้วยเมทานอลพบว่า สารสกัดหยาบนั้นมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ 72.1 มิลลิกรัมของรูทินต่อกรัมของสารสกัด (mg rutin equivalent per gram extract) และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 242 มิลลิกรัมของคาเทชูลต่อกรัมของสารสกัด (mg catechol equivalent per gram extract)

สารสกัดหยาบจากเบญจกานี เป็นสารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดสูงที่สุด ซึ่งสามารถรายงานออกมาในรูปของกรดแทนนิกได้ ดังรายงานการทดลองของ Kaur และคณะ (2008) ที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น สารสกัดหยาบจากโกฐพุงปลา มีปริมาณแทนนินทั้งหมดรองลงมาจากสารสกัดหยาบจากเบญจกานี โดยโกฐพุงปลานั้น เป็นก้อนแข็งที่ได้จากใบ และยอดอ่อนของต้นสมอไทย มีลักษณะเป็นกระเปาะคล้ายพุงของปลา (วุฒิ, 2540) ซึ่งไม่ได้มีรายงานที่สอดคล้องกัน แต่มีรายงานการทดลองที่ทำการทดลองลักษณะเดียวกันของ Kathirvel และ Sujatha (2012) ซึ่งได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบด้วยเมทานอลจากใบสมอไทย พบว่าสารสกัดหยาบจากใบสมอไทยมีปริมาณแทนนิน ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ฟลาโวนอล กรดแอสคอร์บิก และโปรตีนทั้งหมดเท่ากับ 81.17 ไมโครกรัมของกรดแทนนิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด 97.62 ไมโครกรัมของกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด 82.45 ไมโครกรัมของคาเทชินต่อมิลลิกรัมของสารสกัด 90.23 ไมโครกรัมของรูทินต่อมิลลิกรัมของสารสกัด 49.22 ไมโครกรัมของกรดแอสคอร์บิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัด และ 62.01 มิลลิกรัมของโบวีนซีรัมอัลบูมินต่อกรัมของสารสกัด (mg bovine serum albumin per gram extract) ตามลำดับ

4.3 การศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

4.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

จากการวิเคราะห์หาปริมาณของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ ซึ่งหมายถึงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดจากสมุนไพรไทย 12 ชนิดพบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้สูงที่สุด ได้แก่ สารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้า (443.24 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด หญ้าแห้วหมู ผลฟักข้าว รากฟักข้าว และผลสมอพิเภก โดยมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 411.64, 346.03, 304.87, 276.57 และ 223.14 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) ส่วนสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่มีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ค่อนข้างมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้แก่ สารสกัดหยาบจากผลสมอไทย เปลือกแค ว่านนางคำ ผลมะขามป้อม ผลมะกอก และปอบิด โดยมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 202.89, 196.10, 183.77, 164.59, 159.62 และ 125.53 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ สำหรับสารมาตรฐานซึ่งใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control) ในการทดลองนี้คือสารอินนูลินที่ได้จากชิโครี โดยมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 1,549.69 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ดังนั้นจึงได้ทำการคัดเลือกสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยซึ่งมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้สูงที่สุด 5 ชนิดมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อยด้วยสารละลายไฮโดรคลอริก-บัฟเฟอร์ และสารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-amylase) ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยและผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ต่อไป

4.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

จากการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยทั้ง 12 ชนิดพบว่าสารสกัดหยาบที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้สูงสุด 5 อันดับแรก ได้แก่ โกฐน้ำเต้า เปลือกมังคุด หญ้าแห้วหมู ผลฟักข้าว และรากฟักข้าว จึงได้ทำการคัดเลือกสารสกัดจากสมุนไพรไทยทั้ง 5 ชนิดดังกล่าวมาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ซึ่งเป็นการวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อย (indigestible polysaccharide) ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย ดังนั้นถ้าหลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์แล้ว ยังคงมีสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์อยู่ในปริมาณสูง แสดงว่าสารสกัดมีความสามารถในการทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์สูงและมีคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกที่ดี โดยจากการทดลองศึกษาพบว่าสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีปริมาณของสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในปริมาณสูงที่สุดได้แก่ รากฟักข้าว (246.15 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือเปลือกมังคุด หญ้าแห้วหมู โกฐน้ำเต้า และผลฟักข้าว ซึ่งมีปริมาณของสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ทั้งหมดเท่ากับ 201.75, 125.94, 48.43 และ 2.05 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (อินนูลิน) นั้นมีปริมาณของสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์เท่ากับ 437.47 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	Extract yield (% dry weight)	Total phenolic content[a] (mg GAE/ g extract) ± SD	Total flavonoid content[a] (mg QE/ g extract) ± SD	Total tannin content[a] (mg TAE/ g extract) ± SD
Acacia concinna (Willd.) D.C	ส้มป่อย	10.98	129.74±1.59	486.93±0.92	91.57±0.66
Acorus calamus L.	ว่านน้ำ	5.61	41.39±0.38	85.60±1.39	61.19±0.61
Albizzia odoratissima	คาง	7.58	251.01±0.02	3,584.27±2.01	345.60±2.17
Cassia alata (L.)	ชุมเห็ดเทศ	3.67	57.43±0.34	1,536.27±2.01	72.18±1.56
Crocus sativus L.	หญ้าฝรั่น	23.23	6.59±0.10	13.60±1.39	0.00±0.00
Curcuma aromatica Salisb.	ว่านนางคำ	8.35	28.55±0.22	361.60±1.39	38.41±1.35
Cyperus rotundus L.	หญ้าแห้วหมู	4.15	82.77±0.39	786.93±0.92	87.76±0.65
Garcinia mangostana L.	มังคุด	20.70	231.25±0.23	4,406.93±0.92	234.60±0.03
Helicteres isora L.	ปอบิด	3.29	242.57±0.34	3,397.60±1.39	233.76±0.74
Houttuynia cordata Thunb.	พลูคาว	7.47	282.94±0.92	3,583.60±2.43	194.39±1.78
Kaempferia galanga L.	เปราะหอม	3.61	15.88±0.69	686.93±0.92	23.65±1.24
Leucaena leucocephala de Wit.	กระถิน	1.66	322.64±0.12	937.60±1.39	265.81±1.48
Momordica cochinchinensis Spreng.	ผลฟักข้าว	6.97	22.80±0.83	66.93±0.92	17.71±0.95

[a] คือค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 4.3 สมบัติทางพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย (ต่อ)

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	Extract yield (% dry weight)	Total phenolic content[a] (mg GAE/ g extract) ±SD	Total flavonoid content[a] (mg QE/ g extract) ±SD	Total tannin content[a] (mg TAE/ g extract) ±SD
Momordica cochinchinensis Spreng.	รากฟักข้าว	3.09	34.14±1.31	145.60±1.39	21.95±1.05
Peltophorum pterocarpum (DC.)	นนทรี	12.92	543.41±0.10	5,293.60±2.88	629.09±1.53
Phyllanthus emblica L.	มะขามป้อม	25.52	393.42±1.27	802.93±3.23	355.47±1.96
Plumbago indica L.	เจตมูลเพลิงแดง	24.26	18.24±0.39	102.93±0.92	21.10±0.65
Punica granatum L.	ทับทิม	45.46	324.83±0.95	1,034.93±0.92	302.66±3.56
Quercus infectoria	เบญจกานี	53.95	672.13±0.62	1,361.60±1.39	884.79±1.55
Rheum palmatum L.	โกฐน้ำเต้า	29.59	252.03±0.03	2,086.93±0.92	253.20±2.32
Sesbania grandiflora Desv.	แค	5.11	35.14±1.00	281.60±1.39	42.21±1.43
Spondias pinnata (L.f.) Kurz	มะกอก	4.81	59.29±0.30	413.60±2.88	79.76±0.91
Terminalia bellirica (Gaertn.) Roxb.	สมอพิเภก	27.50	370.44±0.22	644.27±2.01	425.31±0.84
Terminalia chebula Retz. var. *chebula*	โกฐพุงปลา	35.72	612.67±0.66	2,076.27±2.01	712.20±2.35
Terminalia chebula Retz. var. *chebula*	สมอไทย	29.07	203.38±1.26	413.60±2.88	124.06±0.52

[a] คือค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

ตารางที่ 4.4 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้และปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อไทย	Total water soluble carbohydrate[a] (mg/ g extract) ± SD	Indigestible polysaccharide (mg/ g extract) ± SD
Curcuma aromatica Salisb.	ว่านนางคำ	183.77±1.31	-[b]
Cyperus rotundus L.	หญ้าแห้วหมู	346.03±0.22	125.94±4.70
Garcinia mangostana L.	มังคุด	411.64±2.37	201.75±3.23
Helicteres isora L.	ปอบิด	125.53±2.02	-
Momordica cochinchinensis Spreng.	ผลฟักข้าว	304.87±3.00	2.05±0.98
Momordica cochinchinensis Spreng.	รากฟักข้าว	276.57±1.79	246.15±7.62
Phyllanthus emblica L.	มะขามป้อม	164.59±2.70	-
Sesbania grandiflora Desv.	แค	196.10±0.44	-
Spondias pinnata (L.f.) Kurz	มะกอก	159.62±1.89	-
Terminalia bellirica (Gaertn.) Roxb.	สมอพิเภก	223.14±1.74	-
Rheum palmatum L.	โกฐน้ำเต้า	443.24±0.54	48.43±2.01
Terminalia chebula Retz. var. *chebula*	สมอไทย	202.89±0.44	-
Inulin from chicory	อินนูลิน	1,549.69±2.18	437.47±2.35

[a] ค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง 3 ซ้ำ

[b] ไม่ได้ทำการทดลอง

4.3.3 ผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีต่อการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus*

จากผลการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้า เปลือกมังคุด ผลฟักข้าว รากฟักข้าว และหญ้าแห้วหมูต่อการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ในอาหารเหลว MRS ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4.5) พบว่าที่ชั่วโมงเริ่มต้นของการทดลองจำนวนเซลล์ของ *L. acidophilus* ในอาหารเหลว MRS ทุกชุดมีจำนวนใกล้เคียงกัน (1.3×10^6 ถึง 1.5×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร) และหลังจากบ่มถึง 12 ชั่วโมงพบว่าจำนวนเซลล์ของเชื้อ *L. acidophilus* ส่วนใหญ่มีจำนวนเพิ่มขึ้นในอาหารเหลว MRS ทุกชุดโดยเพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 0.92 ถึง 1.28 logCFU ต่อมิลลิลิตร โดยจำนวนเซลล์ของ *L. acidophilus* ในอาหารเหลว MRS ที่เติมสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดเพิ่มขึ้นมากที่สุดคือ เพิ่มขึ้นถึง 1.28 logCFU ต่อมิลลิลิตรจากจำนวนเริ่มต้น ขณะที่จำนวนเซลล์ของแบคทีเรียชนิดนี้เพิ่มขึ้นน้อยที่สุดในอาหารเหลวที่เติมสารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้า (เพิ่มขึ้นเพียง 0.11 logCFU ต่อมิลลิลิตร) และเมื่อบ่มจนครบ 24 ชั่วโมงผลปรากฏว่าจำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย *L. acidophilus* ในอาหารเหลว MRS ที่เติมสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีจำนวนเพิ่มขึ้นสูงที่สุดถึง 2.93 log CFUต่อมิลลิลิตร คือ มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต 1.9×10^9 CFU ต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีจำนวนมากกว่าจำนวนเซลล์ในชุดควบคุมที่ไม่เติมสารใดๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนอาหารเหลว MRS ชุดที่เติมสารสกัดหยาบจากหญ้าแห้วหมู รากฟักข้าว ผลฟักข้าว และสารมาตรฐานอินนูลินซึ่งมีจำนวนเซลล์ของเชื้อ *L. acidophilus* เพิ่มขึ้นค่อนข้างสูงคืออยู่ในช่วง 2.38 ถึง 2.63 logCFU ต่อมิลลิลิตรหรือมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นเป็น 5.6×10^8 ถึง 6.2×10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร จากจำนวนเริ่มต้น 1.3×10^6 ถึง 1.5×10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร ส่วนอาหารเหลวที่เติมสารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้ามีจำนวนเซลล์ของเชื้อ *L. acidophilus* เพิ่มขึ้นน้อยที่สุดเพียง 1.41 logCFU ต่อมิลลิลิตร (คือมีจำนวนเซลล์ 3.6×10^7 CFU ต่อมิลลิลิตร)

การที่สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีผลช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *L. acidophilus* ได้ดีที่สุดนั้นมีความสัมพันธ์กับการมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้และสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในปริมาณสูงเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยชนิดอื่น ขณะที่สารสกัดหยาบที่มีผลต่อการเจริญรองลงมาคือ หญ้าแห้วหมูและรากฟักข้าว ซึ่งมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้และสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์สูงรองลงมา จึงมีผลทำให้การเจริญของเชื้อ *L. acidophilus* เพิ่มสูงขึ้นรองลงมาด้วย ในขณะที่สารสกัดหยาบจากผลฟักข้าวนั้นมีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้และสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์น้อยจึงทำให้การเจริญของเชื้อ *L. acidophilus* น้อยตามไปด้วย และสารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้ามีผลทำให้จำนวนเซลล์ของเชื้อ *L. acidophilus* เพิ่มขึ้นน้อยที่สุดนั้น อาจเป็นผลมาจากการที่สารสกัดหยาบมีปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์น้อยหรือมีสารพฤกษเคมีชนิดอื่นที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกเป็นองค์ประกอบอยู่ในสารสกัดด้วย

ตารางที่ 4.5 ผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยต่อการเจริญของ *Lactobacillus acidophilus* ในอาหารเหลว MRS

ชนิดของสารสกัด	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (logCFU/ มิลลิลิตร)		
	0 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง
หญ้าแห้วหมู	6.11±0.14^{a}	7.29±0.00^{b}	8.74±0.27^{ab}
มังคุด	6.15±0.11^{a}	7.43±0.04^{a}	9.08±0.07^{a}
โกฐน้ำเต้า	6.12±0.13^{a}	6.23±0.13^{e}	7.53±0.18^{c}
ผลฟักข้าว	6.17±0.06^{a}	7.19±0.08b^{c}	8.55±0.27^{b}
รากฟักข้าว	6.12±0.14^{a}	7.04±0.04^{d}	8.67±0.24^{ab}
อินนูลิน	6.11±0.15^{a}	7.11±0.03^{cd}	8.67±0.36^{ab}
ชุดควบคุมเชิงลบ	6.10±0.09^{a}	7.10±0.09^{cd}	8.40±0.37^{b}

หมายเหตุ : อักษรต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ในการทดลองครั้งนี้การเติมสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดลงในอาหารเหลว MRS มีผลทำให้ *L. acidophilus* TISTR 1034 เพิ่มจำนวนขึ้นสูงที่สุดหลังบ่ม 24 ชั่วโมง ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากเปลือกมังคุดช่วยส่งเสริมการเจริญของ *L. acidophilus* ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการที่สารสกัดจากเปลือกมังคุดมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้และสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์เป็นส่วนประกอบในปริมาณสูง ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าสารเหล่านี้จะมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก Saad และคณะ (2013) ได้กล่าวไว้ว่า สารพรีไบโอติกทั้งหมดนั้นหมายถึงคาร์โบไฮเดรตสายสั้น (short-chain carbohydrates) ที่มีระดับของการเกิดโพลิเมอร์ (degree of polymerisation) อยู่ระหว่าง 2 ถึง 60 มอนอเมอร์และเชื่อกันว่าสารดังกล่าวนั้นไม่ถูกย่อยได้ด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ โดยจะประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด 3 ชนิดหลักได้แก่ โพลีแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช รีซิสแตนท์สตาร์ช และโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อย เพื่อไว้เป็นสับสเตรทที่สำคัญสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียภายในลำไส้ สำหรับส่วนประกอบทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดนั้นยังไม่มีผู้ใดเคยศึกษาไว้ แต่ได้มีการทดลองศึกษาเกี่ยวกับสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญที่พบในสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด ได้แก่ 1) กลุ่มของกรดไฮดรอกซีเบนโซอิกและอนุพันธ์ เช่น สารประกอบโพรคาเทชูอิก (Protocatechuic) ซึ่งมีอยู่ในปริมาณสูงและสารประกอบ m-Hydroxybenzoic ที่จะพบเฉพาะในเปลือกมังคุด 2) กลุ่มของกรดไฮดรอกซีซินนามิกและอนุพันธ์ เช่น คาเฟอิก (Caffeic) 3) กลุ่มของกรดอื่นๆ เช่น ไพเพอโรนัยลิก (Piperonylic) (Zadernowski และคณะ, 2009) และ 4) กลุ่มของแซนโทน เช่น สาร α-Mangostin, β-Mangostin,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

γ- Mangostin, Mangostanin และอื่นๆ (Pedraza-Chaverri และคณะ, 2008) นอกจากนี้ López-Nicolás และคณะ (2014) ได้รายงานไว้ว่าสารคาเฟอิกนั้นเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีผลทำให้เชื้อ *Lactobacillus gasseri* มีการเจริญเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารคาเฟอิกที่พบในสารสกัดจากเปลือกมังคุดอาจมีผลทำให้ *L. acidophilus* เพิ่มขึ้นเช่นกัน

สารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้านั้นส่งผลทำให้จำนวนเซลล์ของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* เพิ่มขึ้นน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการเติมสารสกัดชนิดอื่น ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Wang และคณะ (2010) ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้าในอาหารเปปโตนมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium adolescentis* ได้เช่นกันโดยที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรจะมีผลทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญอย่างสมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของสมุนไพรไทย 25 ชนิด สรุปได้ว่าสารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้า ผลมะขามป้อม ผลมะกอก ว่านนางคำ ชุมเห็ดเทศ และเบญจกานี มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารได้ค่อนข้างดี (ส่วนใหญ่มีค่า MIC น้อยกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยเชื้อแบคทีเรียที่มีความไวต่อการถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบมากที่สุด คือ เชื้อ *Bacillus cereus* และ *Yersinia enterocolitica* ซึ่งถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบจากว่านนางคำ และเบญจกานี (ค่า MIC เท่ากับ 0.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนเชื้อ *Porphyromonas gingivalis* ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้า ว่านนางคำ เปราะหอม และชุมเห็ดเทศได้ดีที่สุด (ค่า MIC เท่ากับ 0.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยส่วนใหญ่มีค่า MBC เท่ากันกับค่า MIC ยกเว้นค่า MBC ของสารสกัดหยาบจากรากกระถินและเจตมูลเพลิงแดงที่มีค่า MBC มากกว่าค่า MIC โดยมีค่า MBC มากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ค่า MIC ของสารสกัดหยาบทั้งสองมีค่าเท่ากับ 5.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สำหรับการศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีของสมุนไพรไทย 25 ชนิดปรากฏว่า สารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในปริมาณสูง ได้แก่ สารสกัดหยาบจากเบญจกานี โกฐพุงปลา เปลือกนนทรี และผลมะขามป้อม โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 672.13, 612.67, 543.41 และ 393.42 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ สารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณสูง ได้แก่ สารสกัดหยาบจากเปลือกนนทรี เปลือกมังคุด เปลือกคาง พลูคาว และปอบิด ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 5,293.60, 4,406.93, 3,584.27, 3,583.60 และ 3,397.60 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ สารสกัดหยาบที่มีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในปริมาณสูง ได้แก่ สารสกัดหยาบจากเบญจ-กานี โกฐพุงปลา และเปลือกนนทรี ซึ่งมีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 884.79, 712.20 และ 629.09 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ และสารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบ ได้แก่ สารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อม หญ้าแห้วหมู ผลสมอไทย เปลือกแค ผลสมอพิเภก ว่านนางคำ รากฟักข้าว ผลฟักข้าว ผลมะกอก ปอบิด โกฐน้ำเต้า และเปลือกมังคุด

นอกจากนี้ยังพบว่าสมุนไพรไทยที่มีคาร์โบไฮเดรตที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ในปริมาณสูง ได้แก่ โกฐน้ำเต้า เปลือกมังคุด หญ้าแห้วหมู ผลฟักข้าว และรากฟักข้าว โดยมีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 443.24, 411.64, 346.03, 304.87 และ 276.57 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ และได้นำสารสกัดหยาบจากสมุนไพรทั้ง 5 ชนิดนี้มา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการใช้

ทำการวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ พบว่า สารสกัดหยาบจากสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์สูงสุดคือ สารสกัดหยาบจากรากฟักข้าว (246.15 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) รองลงมาคือ เปลือกมังคุด (201.75 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) หญ้าแห้วหมู (125.94 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) โกฐน้ำเต้า (48.43 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) และผลฟักข้าว (2.05 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) ตามลำดับ

สำหรับการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 ในอาหารเหลว MRS พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีผลต่อการส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *L. acidophilus* ได้ดีที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบจากหญ้าแห้วหมู ผลฟักข้าว และรากฟักข้าว รวมทั้งชุดควบคุมเชิงบวก (อินนูลิน) ส่วนสารสกัดหยาบจากโกฐน้ำเต้ามีผลต่อการส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *L. acidophilus* ได้ไม่ดีนัก

จากการทดลองนี้มีข้อเสนอแนะในการนำสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีกิจกรรมการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. gingivalis* (ซึ่งเป็นสารเหตุของโรคเหงือกอักเสบ) ได้ดีเช่น โกฐน้ำเต้า ว่านนางคำ เปราะหอม และชุมเห็ดเทศ มาเป็นส่วนผสมในยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก สารเคลือบไหมขัดฟันและหมากฝรั่ง เพื่อช่วยในการป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อ *P. gingivalis* ส่วนสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *L. acidophilus* ได้แก่ เปลือกมังคุด หญ้าแห้วหมู ผลฟักข้าว และรากฟักข้าวนั้น สามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมในการทำอาหารหมัก เช่น โยเกิร์ต ผักดอง แหนม ไส้กรอกอีสาน รวมทั้งปลาและอาหารทะเลหมัก เพื่อช่วยให้เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกซึ่งใช้เป็นกล้าเชื้อมีการเจริญเพิ่มมากขึ้น รวมทั้งเกิดการหมักได้ดีและเร็วขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กัญจนา ดีวิเศษ. **เภสัชกรรมแผนไทย**. (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก, 2542.

ธนวรรณ บุบผาสวรรค์ นันธภรณ์ ตะมะพุฒ และ ยุวภา สีมาขันธ์. **การคัดเลือกสมุนไพรที่มีกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์และสมบัติทางพฤกษเคมีบางประการเพื่อการประยุกต์ใช้**. ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 2555.

นิจศิริ เรืองรังสี และ พยอม ตันติวัฒน์. **พืชสมุนไพร**. (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, 2534.

นิจศิริ เรืองรังสี. **สมุนไพรไทย เล่ม 1**. (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ บี เฮลท์ตี้, 2547.

พร้อมจิต ศรลัมพ์. **สมุนไพรกับโรคระบบทางเดินอาหาร**. (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: คณะเภสัชศาสตร์ มหาลัยมหิดล, 2537.

ภัทรชัย กีรติสิน. **ตำราวิทยาแบคทีเรียทางการแพทย์**. (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: หจก. วี.เจ.พริ้นติ้ง, 2552.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. **พจนานุกรมสมุนไพรไทย**. (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัดประชุมทองการพิมพ์, 2536.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. **สารานุกรมสมุนไพรไทยรวมหลักเภสัชกรรมไทย**. (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, 2540.

สำนักงานคณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน กระทรวงสาธารณสุข. **สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน**. (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ดอกหญ้า, 2541.

สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ สำนักปลัดกระทรวงสาธารณสุข. **สรุปรายงานการป่วยประจำปี 2555**. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก, 2555.

Akinjogunla, O. J., Yah, C. S., Eghafona, N. O., & Ogbemudia, F. O. (2010). Antibacterial activity of leave extracts of *Nymphaea lotus (Nymphaeaceae)* on *Methicillin* resistant *Staphylococcus aureus* (*MRSA*) and Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (*VRSA*) isolated from clinical samples. *Annals of Biological Research*, *1 (2)*, 174-184.

Aly, M. M., & Gumgumjee, N. M. (2011). Antimicrobial efficacy of *Rheum palmatum*, *Curcuma longa* and *Alpinia officinarum* extracts against some pathogenic microorganisms. *African Journal of Biotechnology*, *10 (56)*, 12058-12063.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Asha, M. K., Debraj, D., Prashanth, D., Edwin, J. R., Srikanth, H. S., Murugananthan, N., Dethe, S. M., Anirban, B., Jaya, B., Deepak, M., & Agarwal, A. (2013). *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* activity of a flavonoid rich extract of *Glycyrrhiza glabra* and its probable mechanisms of action. *Journal of Ethnopharmacology*, *145*, 581-586.

Asha, D. S., & Deepak, G. (2009). Antimicrobial activity of *Acorus calamus* (L.) rhizome and leaf extract. *Acta Biologica Szegediensis*, *53 (1)*, 45-49.

Bakri, I. M., & Douglas, C. W. I. (2005). Inhibitory effect of garlic extract on oral bacteria. *Archives of Oral Biology*, *50*, 645-651.

Basri, D. F., Tan, L. S., Shafiei, Z., & Zin, N. M. (2012). In vitro antibacterial activity of galls of *Quercus infectoria* Olivier against oral pathogens. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2012*, 1-6.

Bravo, L., & Mateos, R. (2008). Analysis of flavonoids in functional foods and nutraceuticals. In W. J. Hurst (Ed.), *Method of analysis for functional foods and nutraceuticals* (pp.149-157). Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC.

Brielmann, H. L., Setzer, W. N., Kaufman, P. B., Kirakosyan, A., & Cseke, L. J. (2006). Phytochemical: the chemical compound of plants. In L. J. Cseke, A. Kirakosyan, P. B. Kaufman, S. L. Warber, J. A. Duke, & H. L. Brielman (Eds.), *Natural products from plants* (pp. 2-42). Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC.

China, R., Mukherjee, S., Sen, S., Bose, S., Datta, S., Koley, H., Ghosh, S., & Dhar, P. (2012). Antimicrobial activity of *Sesbania grandiflora* flower polyphenol extracts on some pathogenic bacteria and growth stimulatory effect on the probiotic organism *Lactobacillus acidophilus*. *Microbiological Research*, *167*, 500-506.

Choi, S., Baik, J. E., Jeon, J. H., Cho, K., Seo, D. G., Kum, K. Y., Yun, C. H., & Han, S. H. (2011). Identification of *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide-binding proteins in human saliva. *Molecular Immunology*, *48*, 2207-2213.

Collins, C. H., Lyne, P. M., & Grange, J. M. (2001). *Collins and Lyne's microbiological method*. (7th ed.). New York: Oxford University Press Inc, (Chapter 12), pp. 178-205.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cunha, L. C. S., Morais, S. A. L., Martins, C. H. G., Martins, M. M., Chang, R., Aquino, F. J. T., Oliveira, A., Moraes, T. S., Machado, F. C., Silva, C. V., & Nascimento, E. A. (2013). Chemical composition, cytotoxic and antimicrobial activity of essential oils from *Cassia bakeriana* Craib. against aerobic and anaerobic oral pathogen. *Molecules*, *18*, 4588-4598.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, *28 (3)*, 350-356.

Evans, W. C. (2009). *Trease and Evans Phamacognosy*. (6th ed.). New York: Elsevier Limited, (Chapter 20), pp. 194-218.

Fawole, O. A., Finnie, J. F., & Staden, J. V. (2009). Antimicrobial activity and mutagenic effects of twelve traditional medicinal plants used to treat ailments related to gastro-intestinal tract in South Africa. *South African Journal of Botany*, *75*, 356-362.

Fernando, K. M .E. P., & Dasanayake, P. N. (2006). Antibacterial activity of extracts of pericarp of *Garcinia mangostana*. *Vidyodaya Journal of Science*, *13*, 99-107.

Gibson, G. R. (2004). Prebiotic. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterogy*, *18 (2)*, 287-298.

Goldin, B. R. (2011). Probiotics and health: from history to future. In W. Kneifel, & S. Salminen (Eds.), *Probiotics and health claims* (pp. 1-13). Chichester: Blackwell Publishing Ltd.

Gyawali, R., & Kim, K. S. (2009). Volatile organic compound of medicinal values from Nepalese *Acorus calamus* (L.). *Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology*, *5 (2)*, 51-65.

Hamilton-Miller, J. M. T. (2003). The role of probiotics in the treatment and prevention of *Helicobacter pylori* infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *22*, 360-366.

Hashim, S. T. (2013). Bacteriological and biochemical study for effect of phenolic extract of *Quercus infectoria* against some food-born pathogenic bacteria. *Indian Journal of Applied Research*, *3 (7)*, 52-55.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hemalatha, M., Thirumalai, T., Saranya, R., Elumalai, E. K., & David, E. (2013). A review on antimicrobial efficacy of some traditional medicinal plants in Tamilnadu. *Journal of Acute Disease, 2 (2)*, 99-105.

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

Judprasong, K., Tanjor, S., Puwastien, P., & Sungpuag, P. (2011). Investigation of Thai plants for potential sources of inulin-type fructans. *Journal of Food Composition and Analysis, 24*, 642–649.

Kadir, M. F., Sayeed, M. S. B., & Mia, M. M. K. (2013). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used by traditional healers in Bangladesh for gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology, 147*, 148-156.

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.

Kaur, G., Athar, M., & Alam, M. S. (2008). *Quercus infectoria* galls possess antioxidant activity and abrogates oxidative stress-induced functional alterations in murine macrophages. *Chemico-Biological Interactions, 171*, 272-282.

Korakli, M., Gänzle, M. G., & Vogel, R. F. (2002). Metabolism by bifidobacteria and lactic acid bacteria of polysaccharides from wheat and rye, and exopolysaccharides produced by *Lactobacillus sanfranciscensis*. *Journal of Applied Microbiology, 92*, 958-965.

Kosikowska, U., Smolarz, H. D., & Malm, A. (2010). Antimicrobial activity and total content of polyphenols of Rheum L. species growing in Poland. *Central European Journal of Biology, 5 (6)*, 814-820.

Kraivaphan, P., Amornchat, C., & Maneepitsanai, Y. (2013). Bactericidal effects of three mint essential oils *Porphyromonas gingivalis* in planktonic and biofilm cells. *Research Journal of Medicinal Plant, 7 (2)*, 100-106.

Krieg, W. R. (2011). FAMILY IV. Porphyromonadaceae. In W. B. Whitman (Ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2nd, Vol. 4 (pp. 61-65). New York: Springer Science + Business Media.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kumaran, A., & Karunakaran, J. R. (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, 40,* 344-352.

Leela, T., & Satirapipathkul, C. (2011). Studies on the antibacterial activity of *Quercus infectoria* galls. *International Proceedings of Chemical, Biological & Environmental Engineering, 5,* 410-414.

López-Nicolás, R., González-Bermúdez, C. A., Ros-Berruezo, G., & Frontela-Saseta, C. (2014). Influence of in vitro gastrointestinal digestion of fruit juices enriched with pine bark extract on intestinal microflora. *Food Chemistry, 157,* 14-19.

Malekzadeh, F., Ehsanifar, H., Shahamat, M., Levin, M., & Colwell, R. R. (2001). Anti-bacterial activity of black myrobalan (*Terminalia chebula* Retz.) against *Helicobacter pylori*. *International Journal of Antimicrobial Agents, 18,* 85-88.

Mandroli, P. S., & Bhat, K. (2013). An *in-vitro* evaluation of antibacterial activity of curcumin against common endodontic bacteria. *Journal of Applied Phamaceutical Science, 3 (10),* 106-108.

Manaharan, T., Teng, L. L., Appleton, D., Ming, C. H., Masilamani, T., & Palanisamy, U. D. (2011). Antioxidant and antiglycemic potential of *Peltophorum pterocarpum* plant parts. *Food Chemistry, 129 (4),* 1355-1361.

Manaharan, T., Palanisamy, U. D., & Ming, C. H. (2012). Tropical plant extracts as potential antihyperglycemic agents. *Molecules, 17 (5),* 5915-5923.

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

Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry, 31,* 426-428.

Moreno-Salazar, S. F., Robles-Zepeda, R. E., & Johnson, D. E. (2008). Plant folk medicines for gastrointestinal disorders among the main tribes of Sonora, Mexico. *Fitoterpia, 79,* 132-141.

Nathan, V. K., Antonisamy, J. M., Gnanaraj, W. E., & Subramanian, K. M. (2012). Phytochemical and bio-efficacy studies on methanolic extract flower extracts of *Peltophorum pterocarpum* (DC.) Baker ex Heyne. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2 (2),* 641-645.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Neamsuvan, O., Tuwaemaengae, T., Bensulong, F., Asae, A., & Mosamae, K. (2012). A survey of folk remedies for gastrointestinal tract disease from Thailand's three southern border provinces. *Journal of Ethnopharmacology, 144*, 11-21.

Palombo, E. A. (2011). Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacterial: potential application in the prevention and treatment of oral diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2011*, 1-15.

Pant, N., Misra, H., & Jain, D. C. (2013). Phytochemical investigation of ethyl acetate extract from *Curcuma aromatica* Salisb. rhizome. *Arabian Journal of Chemistry, 6*, 279-283.

Patel, A., Shah, N., & Prajapati, J. B. (2013). Clinical appliance of probiotics in the treatment of *Helicobacter pylori* infection-a brief review. *Journal of Microbiology, Immunology and infection, xx*, 1-9.

Pedraza-Chaverri, J., Cárdenas-Rodríguez, N., Orozco-Ibarra, M., & Pérez-Rojas, J. M. (2008). Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food and Chemical Toxicology, 46*, 3227-3239.

Penner, R., Fedorak, R. N., & Madsen, K. L. (2005). Probiotics and nutraceuticals: non-medicinal treatments of gastrointestinal diseases. *Current Opinion in Pharmacology, 5*, 596-603.

Pongpaichit, S., Pujenjob, N., Rukachaisirikul, V., & Ongsakul, M. (2005). Antimicrobial activities of the crude methanol extract of *Acorus calamus* Linn. *Songklanakarin Journal Science Technology, 27 (2)*, 517-523.

Pothitirat, W., Chomnawang, M. T., Supabphol, R., & Gritsanapan, W. (2009). Comparison of bioactive compounds content, free radical scavenging and anti-acne inducing bacteria activities of extracts from the mangosteen fruit rind at two stages of maturity. *Fitoterapia, 80*, 442-447.

Qin, Y., Wang, J. B., Kong, W. J., Zhao, Y. I., Yang, H. Y., Dai, C. M., Fang, F., Zhang, L., Li, B. C., Jin, C., & Xiao, X. H. (2011). The diarrhoeogenic and antidiarrhoeal bidirectional effects of rhubarb and its potential mechanism. *Journal of Ethnopharmacology, 133*, 1096-1102.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J. M., & Bressollier, P. (2013). An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, 50*, 1-16.

Sakunpak, A., & Panichayupakaranant, P. (2012). Antibacterial activity of Thai edible plants against gastrointestinal pathogenic bacteria and isolation of a new broad spectrum antibacterial polyisoprenylated benzophenone, chamuangone. *Food Chemistry, 130*, 826-831.

Satapathy, R., & Swamy, P. (2012). Total phenolic, flavonoid content and hepatoprotective potentials of *Peltophorum pterocarpum* (DC.) K Heyne leaf extracts. *Annals of Phytomedicine, 1 (2)*, 93-96.

Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D., & Corke, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology, 117*, 112-119.

Sharmin, S. A., Alam, M. J., Sheikh, M. M. I., Zaman, R., Khalekuzzaman, M., Mondal, S. C., Haque, A. M., Alam, F. M., & Alam, I. (2013). Micropropagation and antimicrobial activity of *Curcuma aromatica* Salisb., a threatened aromatic medicinal plant. *Turkish Journal of Biology, 37*, 698-708.

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.

Sreenivas, K. M., & Lele, S. S. (2013). Prebiotic activity of gourd family vegetable fibres using *in vitro* fermentation. *Food Bioscience, 1*, 26-30.

Srvidya, A. R., Yadev, A. K., & Dhanal, S. P. (2009). Antioxidant and antimicrobial activity of rhizome of *Curcuma aromatica* and *Curcuma zeodaria*, leaves of *Abutilon indicum. Archives of Pharmacal Science & Research, 1*, 14-19.

Sukumaran, S., Kiruba, S., Mahesh, M., Nisha, S. R., Miller, P. Z., Ben, C. P., & Jeeva, S. (2011). Phytochemical constituents and antibacterial efficacy of the flower of *Peltophorum pterocarpum* (DC.) Baker ex Heyne. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 4*, 735-738.

Tabak, M., Armon, R., & Neeman, I. (1999). Cinnamon extracts' inhibitory effect on *Helicobacter pylori. Journal of Ethnopharmacology, 67*, 269-277.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tekwu, E. M., Pieme, A. C., & Beng, V. P. (2012). Investigations of antimicrobial acitivity of some Cameroonian medicinal plant extracts against bacteria and yeast with gastrointestinal relevance. *Journal of Ethnopharmacology, 142*, 265-273.

Thammarutwasik, P., Hongpattakere, T., Chantachum, S., Kijroongrojana, K., Itharat, A., Reanmongkol, W., Tewtrakul, S., & Ooraikul, B. (2009). Prebiotics-a review. *Songklanakarin Journal of Science and Technology, 31 (4)*, 401-408.

Thong-Ngam, D., & Chatsuwan, T. (2007). Antibacterial activity of *Aloe vera*, curcumin, garlic, and plau-noi against *Helicobacter pylori*. *Thai Journal of Gastroenterology, 8 (1)*, 5-11.

Todkar, S. S., Chavan, V. V., & Kulkarni, A. S. (2010). Screening of secondary metabolites and antibacterial activity of *Acacia concinna*. *Research Journal of Microbiology, 5 (10)*, 974-979.

Uyub, A. M., Nwachukwu, I. N., Azlan, A. A., & Fariza, S. S. (2010). In vitro antibacterial activity and cytotoxicity of selected medicinal plant extracts from Penang island Malaysia on metronidazole-resistant-*Helicobacter pylori* and some pathogenic bacteria. *A Journal of Plants, People and Applied Research, 8*, 95-106.

Van den Ende, W., Peshev, D., & De Gara, L. (2011). Disease prevention by natural antioxidants and prebiotics acting as ROS scavengers in the gastrointestinal tract. *Trends in Food Science & Technology, 22*, 689-697.

Velázquez, M., & Feirtag, J. M. (1999). *Helicobacter pylori*: characteristics, pathogenicity, detection methods and mode of transmission implicating foods and water. *International Journal of Food Microbiology, 53*, 95-104.

Voragen, A. G. J. (1998). Technological aspects of functional food-related carbohydrates. *Trends in Food Science & Technology, 9*, 328–335.

Voravuthikunchai, S. P., & Kitpipit, L. (2005). Activity of medicinal plant extracts against hospital isolate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Infection, 11*, 510-512.

Wang, J., Zhao, H., Kong, W., Jin, C., Zhao, Y., Qu, Y., & Xiao, X. (2010). Microcalorimetric assay on the antimicrobial property of five hydroxyanthraquinone derivatives in rhubarb (*Rheum palmatum* L.) to *Bifidobacterium adolescentis*. *Phytomedicine, 17*, 684-689.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wang, J. B., Qin, Y., Kong, W. J., Wang, Z. W., Zeng, L. N., Fang, F., Jin, C., Zhao, Y. L., & Xiao, X. H. (2011). Identification of the antidiarrhoeal components in official rhubarb using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, *129*, 1737-1743.

Weerakkody, N. S., Caffin, N., Turner, M. S., & Dykes, G. A. (2010). *In vitro* antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. *Food Control*, *21*, 1408-1414.

Wichienchot, S., Jatupornpipat, M., & Rastall, R. A. (2010). Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. *Food Chemistry*, *120*, 850-857.

Wichienchot, S., Thammarutwasik, P., Jongjareonrak, A., Chansuwan, W., Hmadhlu, P., Hongpattarakere, T., Itharat, A., & Ooraikul, B. (2011). Extraction and analysis of prebiotics from selected plants from southern Thailand. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, *33 (5)*, 517-523.

Yisa, J. (2009). Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Scoparia dulcis* and *Nymphaea lotus*. *Australian Journal of Basic and Applied Science*, *3 (4)*, 3975-3979.

Zadernowski, R., Czaplicki, S., & Naczk, M. (2009). Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*). *Food Chemistry*, *112*, 685-689.

Zaidi, S. F. H., Yamada, K., Kadowaki, M., Usmanghani, K., & Sugiyama, T. (2009). Bactericidal activity of medicinal plants, employed for the treatment of gastrointestinal ailment, against *Helicobacter pylori*. *Journal of Ethnopharmacology*, *121*, 286-29.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Mueller Hinton Broth (MHB)

ประกอบด้วย			
	Beef extract powder	2.0	กรัม
	Acid digest of Casein	17.5	กรัม
	Soluble starch	1.5	กรัม
	Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกันในน้ำกลั่น จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 15 นาที

หมายเหตุ : อาหาร MHA เตรียมโดยใช้ส่วนประกอบเช่นเดียวกับ MHB โดยมีการเติม Agar 15 กรัมต่อลิตร

2. Brain Heart Infusion Broth (BHIB)

ประกอบด้วย			
	Calf Brain, Infusion from 200 กรัม	7.7	กรัม
	Beef Heart, Infusion from 250 กรัม	9.8	กรัม
	Proteose peptone	10.0	กรัม
	Dextrose	2.0	กรัม
	Sodium Chloride	5.0	กรัม
	Disodium phosphate	2.5	กรัม
	Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกันในน้ำกลั่น จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 15 นาที

3. Brain Heart Infusion Agar ผสมเลือดคนร้อยละ 5 (BHIA supplemented with 5% human blood)

ประกอบด้วย			
	Calf Brain, Infusion from 200 กรัม	7.7	กรัม
	Beef Heart, Infusion from 250 กรัม	9.8	กรัม
	Proteose peptone	10.0	กรัม
	Dextrose	2.0	กรัม
	Sodium Chloride	5.0	กรัม
	Disodium phosphate	2.5	กรัม
	Agar	15.0	กรัม
	Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกันในน้ำกลั่น จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 15 นาที หลังจากการนึ่งฆ่าเชื้อ ควรตั้งทิ้งไว้ให้เย็นเล็กน้อย (อุณหภูมิประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส) แล้วจึงทำการเติมเลือดคนปลอดเชื้อในอัตราส่วนร้อยละ 5

4. Columbia Blood Agar (CBA)

ประกอบด้วย			
	Pancreatic Digest of Casein	10.0	กรัม
	Proteose peptone No.3	5.0	กรัม
	Yeast Extract	5.0	กรัม
	Beef Heart, Infusion from 500 กรัม	3.0	กรัม
	Corn starch	1.0	กรัม
	Sodium Chloride	5.0	กรัม
	Agar	15.0	กรัม
	Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกันในน้ำกลั่น จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 15 นาที หลังจากการนึ่งฆ่าเชื้ออาหาร CBA ควรตั้งทิ้งไว้ให้เย็นเล็กน้อย (อุณหภูมิประมาณ 50-60 องศาเซลเซียส) แล้วจึงทำการเติมเลือดแกะหรือเลือดคนปลอดเชื้อในอัตราส่วนร้อยละ 5

5. MRS Broth (MRS)

ประกอบด้วย			
	Proteose peptone No.3	10.0	กรัม
	Beef Extract	10.0	กรัม
	Yeast Extract	5.0	กรัม
	Dextrose	20.0	กรัม
	Polysorbate 80	1.0	กรัม
	Ammonium citrate	2.0	กรัม
	Sodium Acetate	5.0	กรัม
	Magnesium Sulfate	0.1	กรัม
	Manganese Sulfate	0.05	กรัม
	Dipotassium phosphate	2.0	กรัม
	Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกันในน้ำกลั่น จากนั้นนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 15 นาที

หมายเหตุ : อาหาร MRS Agar เตรียมโดยใช้ส่วนประกอบเช่นเดียวกับ MRS Broth โดยมีการเติม Agar 15 กรัมต่อลิตร

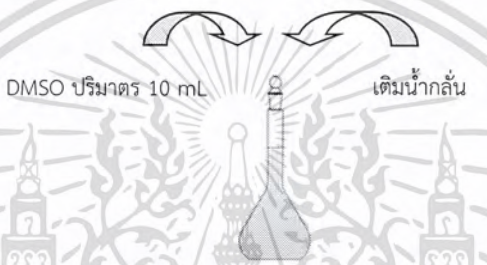
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารละลาย

1. การเตรียม 10% DMSO (v/v)

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



รูปที่ 1 (ข) การเตรียมสารละลาย Dimethyl sulfoxide (DMSO) ความเข้มข้นร้อยละ 10

2. วิธีการเตรียม 30% methanol

ทำการเตรียมสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 โดยเริ่มจากปิเปตสารละลายเมทานอลปริมาตร 30 มิลลิลิตรลงในขวดปรับปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นซึ่งทำได้ดังนี้

รูปที่ 2 (ข) การเตรียมสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30

3. วิธีเตรียม Stock solution ของสารสกัด

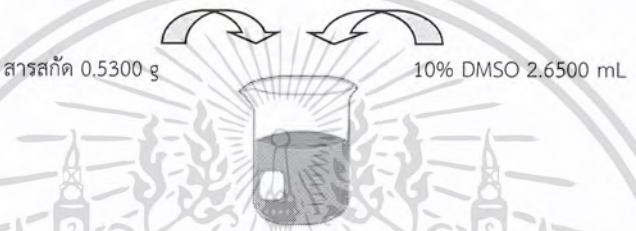
ทำการเตรียม Stock solution ของสารสกัดหยาบที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 3 ระดับ ได้แก่ ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการศึกษาสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ทดสอบ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับศึกษาสมบัติทางพฤกษเคมีและการหาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อย และความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับศึกษาผลของสารสกัดหยาบที่มีต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *L. acidophilus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำได้โดยชั่งสารสกัด 0.2000 กรัม แล้วเติม DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10 ลงไป 1 มิลลิลิตร ซึ่งการชั่งสารให้ได้ 0.2000 กรัม นั้นเป็นไปได้ยาก จึงทำได้ดังนี้

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

หรือ	ชั่งสารสกัด 0.2000	g	จะเติมสารละลาย 10% DMSO ปริมาตร	1	mL
	ถ้าชั่งสารสกัด 0.5300	g	จะเติมสารละลาย 10% DMSO ปริมาตร (1×0.5300)/0.20		mL
			เท่ากับ	2.65	mL



รูปที่ 3 (ข) ตัวอย่างการเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

การเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถเตรียมได้ดังวิธีข้างต้นเช่นกัน โดยในสารละลาย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีสารสกัดอยู่ 0.0100 กรัม หรือ

	ชั่งสารสกัด 0.0100	g	จะเติมสารละลาย 10% DMSO ปริมาตร	1	mL
	ถ้าชั่งสารสกัด 0.0400	g	จะเติมสารละลาย 10% DMSO ปริมาตร (1×0.0400)/0.01		mL
			เท่ากับ	4	mL

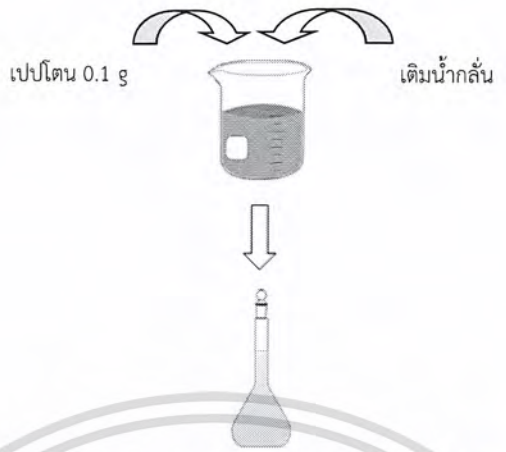
สำหรับสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมโดยละลายในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ซึ่งในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีสารสกัดอยู่ 0.0010 กรัม หรือ

	ชั่งสารสกัด 0.0010	g	จะเติม 30% methanol ปริมาตร	1	mL
	ถ้าชั่งสารสกัด 0.0030	g	จะเติม 30% methanol ปริมาตร (1×0.0030)/0.001		mL
			เท่ากับ	3	mL

4. วิธีเตรียมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (w/v)

ทำการเตรียมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยชั่งเปปโตนปริมาณ 0.1 กรัม ลงในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อย คนให้ละลาย จากนั้นเทลงในขวดปรับปริมาตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ดังแสดงในรูปที่ 4 (ข)

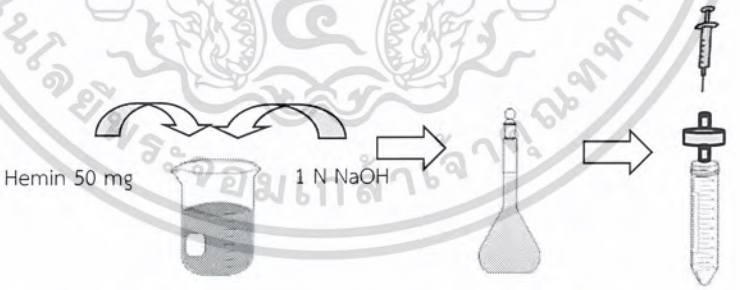
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 (ข) การเตรียมสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 น้ำหนักโดยปริมาตร

5. วิธีเตรียม Stock solution ของสารละลายฮีมิน (hemin)

ทำการเตรียม Stock solution ของสารละลายฮีมินความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำได้โดยชั่งฮีมินปริมาณ 50 มิลลิกรัม ลงในบีกเกอร์ เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ปริมาณเล็กน้อย คนให้ละลาย เทลงในขวดปรับปริมาตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จากนั้นกรองผ่านตัวกรอง (filter) ปลอดเชื้อ (ที่บรรจุกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร) เก็บในภาชนะที่ปิดสนิทและพ้นแสงแดด ดังแสดงในรูป



รูปที่ 5 (ข) การเตรียม Stock solution Hemin ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม

6. วิธีเตรียม Stock solution ของสารละลายมีนาไดโอน (menadione)

ทำการเตรียม Stock solution ของสารละลายมีนาไดโอน ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม ในสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำได้โดยชั่งมีนาไดโอนปริมาณ 100 มิลลิกรัม ลงในบีกเกอร์ เติมสารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณเล็กน้อย คนให้ละลาย เทลงในขวดปรับปริมาตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายเอทานอลความ

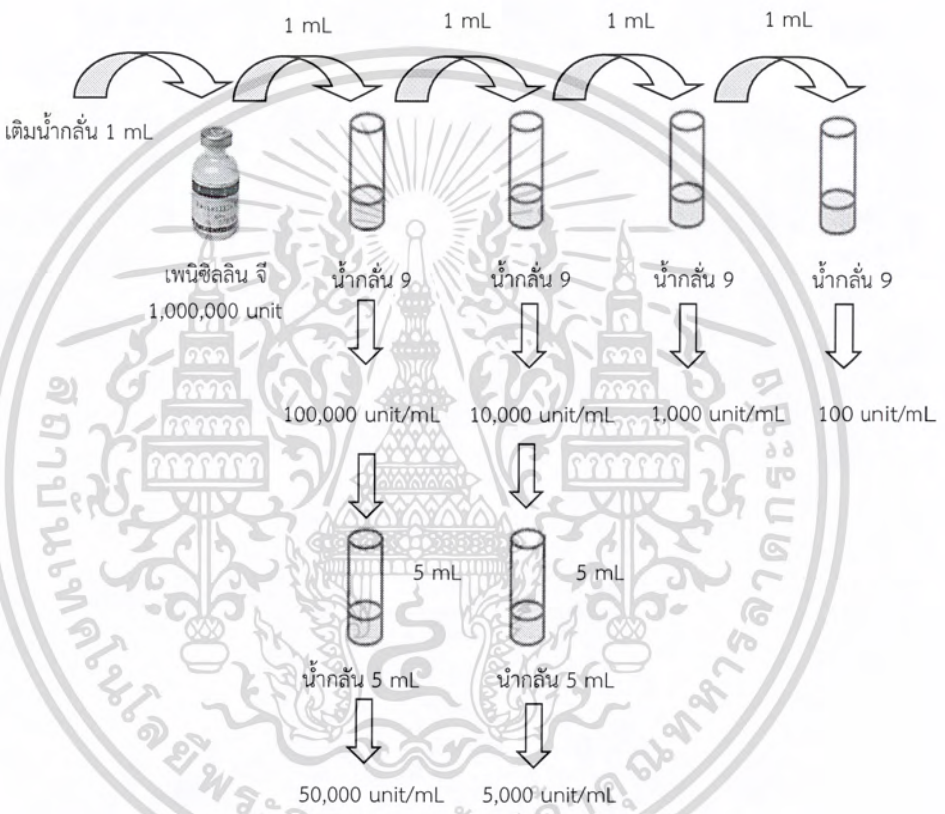
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นร้อยละ 95 จากนั้นกรองผ่านจากนั้นกรองผ่านตัวกรอง (filter) ปลอดเชื้อ (ที่บรรจุกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร) เก็บในภาชนะที่ปิดสนิทและพ้นแสงแดด

7. วิธีเตรียม Agar dilution

7.1 การเตรียม Stock solution ของยาปฏิชีวนะที่ใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก

ยาเพนิซิลลิน จี

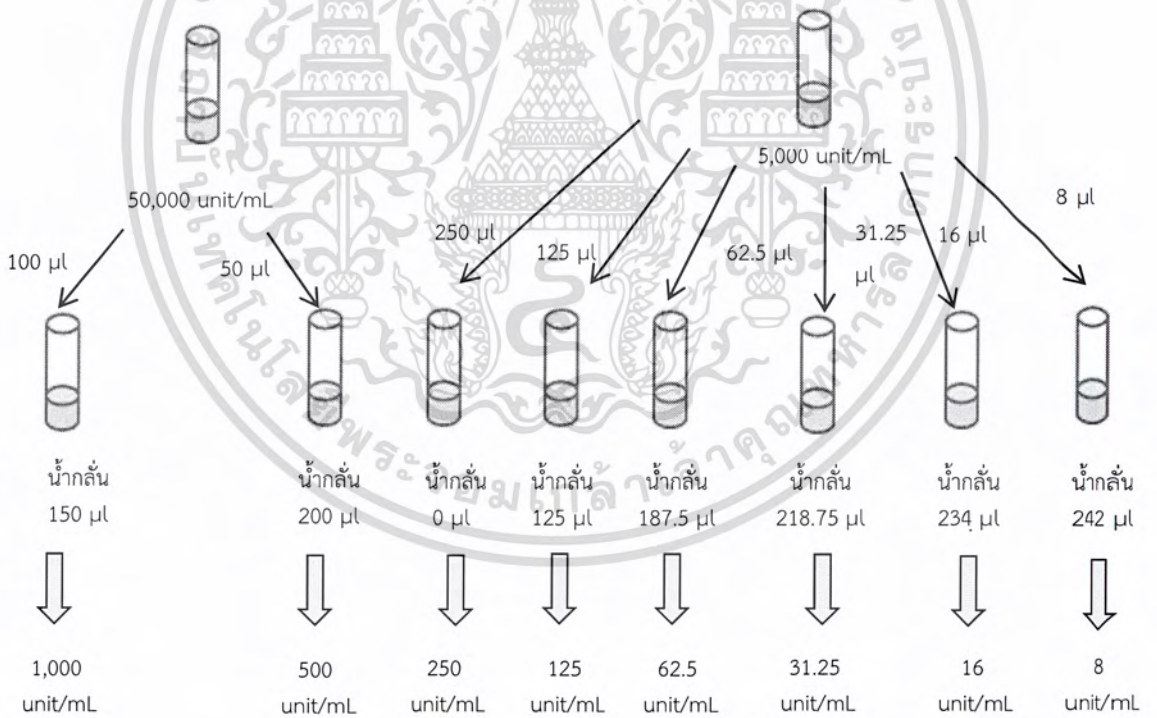


รูปที่ 6 (ข) การเตรียม Stock solution ของยาเพนิซิลลิน จี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ข) การทำความเจือจางของยาเพนิซิลลิน จี ที่ความเข้มข้นต่างๆ

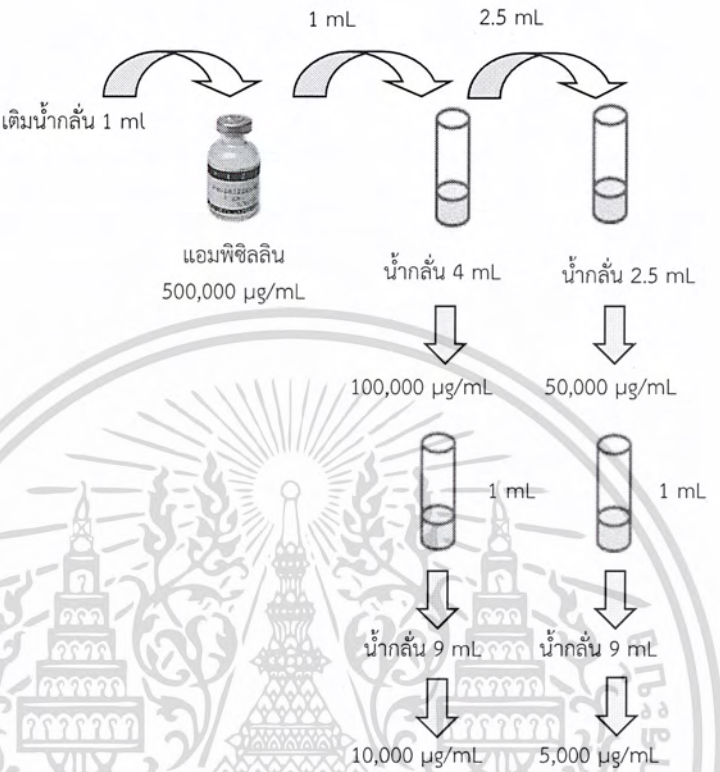
ความเข้มข้นของยา (unit/mL)	ปริมาตรยา (µl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (µl)	ความเข้มข้นของยา ที่ได้ในหลอดทดลอง (unit/mL)	ความเข้มข้นสุดท้ายของยาในหลอดอาหาร (unit/mL)
50,000	100	150	20,000	1,000
50,000	50	200	10,000	500
5,000	250	0	5,000	250
5,000	125	125	2,500	125
5,000	62.5	187.5	1,250	62.5
5,000	31.25	218.75	625	31.25
5,000	16	234	320	16
5,000	8	242	160	8



รูปที่ 7 (ข) การทำความเจือจางของยาเพนิซิลลิน จี ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับทำ Agar dilution

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยาแอมพิซิลลิน

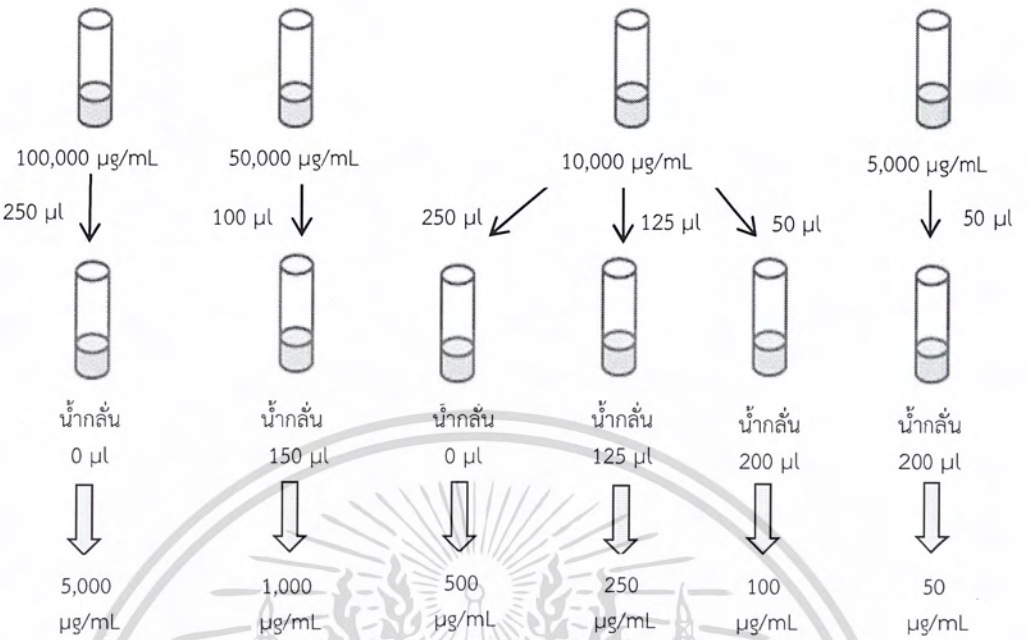


รูปที่ 8 (ข) การเตรียม Stock solution ของยาแอมพิซิลลิน

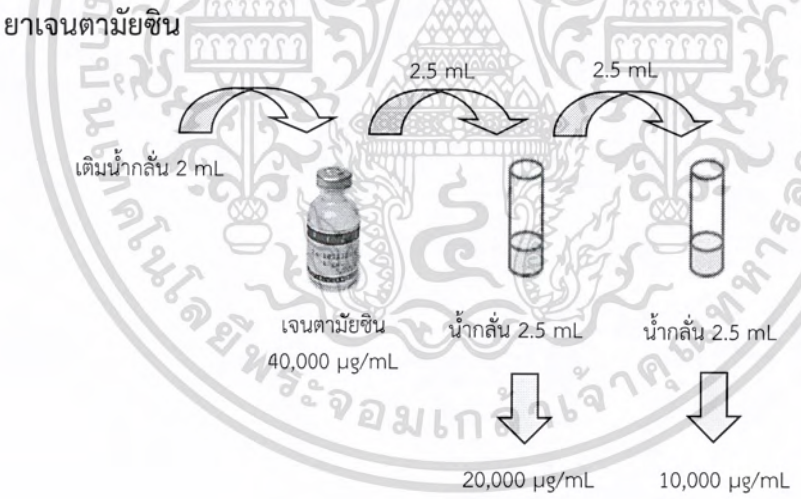
ตารางที่ 2 (ข) การทำความเจือจางของยาแอมพิซิลลินที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของยา (µg/mL)	ปริมาตรยา (µl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (µl)	ความเข้มข้นของยาที่ได้ในหลอดทดลอง (µg/mL)	ความเข้มข้นสุดท้ายของยาในหลอดอาหาร (µg/mL)
100,000	250	0	100,000	5,000
50,000	100	150	20,000	1,000
10,000	250	0	10,000	500
10,000	125	125	5,000	250
10,000	50	200	2,000	100
5,000	50	200	1,000	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 9 (ข) การทำความเจือจางของยาแอมพิซิลินความเข้มข้นต่างๆ สำหรับทำ Agar dilution

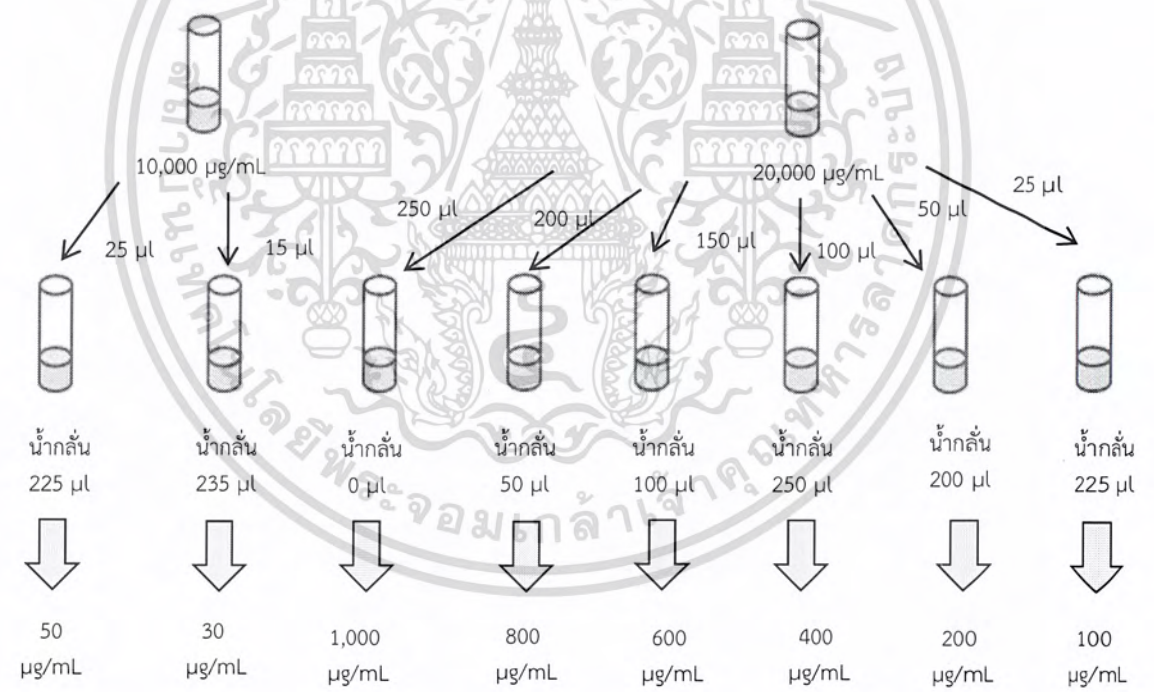


รูปที่ 10 (ข) การเตรียม Stock solution ของยาเจนตามัยซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 (ข) การทำความเจือจางของยาเจนตามัยซินที่ความเข้มข้นต่างๆ

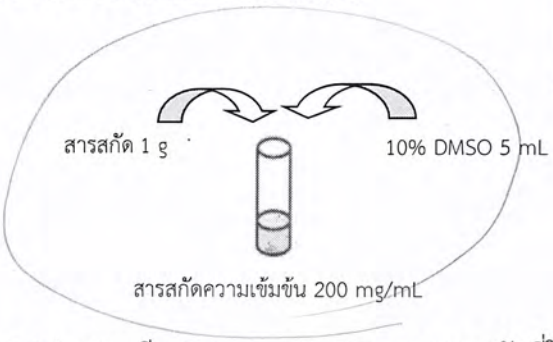
ความเข้มข้นของยา (µg/mL)	ปริมาตรยา (µl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (µl)	ความเข้มข้นของยาที่ได้ในหลอดทดลอง (µg/mL)	ความเข้มข้นสุดท้ายของยาในหลอดอาหาร (µg/mL)
20,000	250	0	20,000	1,000
20,000	200	50	16,000	800
20,000	150	100	12,000	600
20,000	100	150	8,000	400
20,000	50	200	4,000	200
20,000	25	225	2,000	100
10,000	25	225	1,000	50
10,000	15	235	600	30



รูปที่ 11 (ข) การทำความเจือจางของยาเจนตามัยซินที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับทำ Agar dilution

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

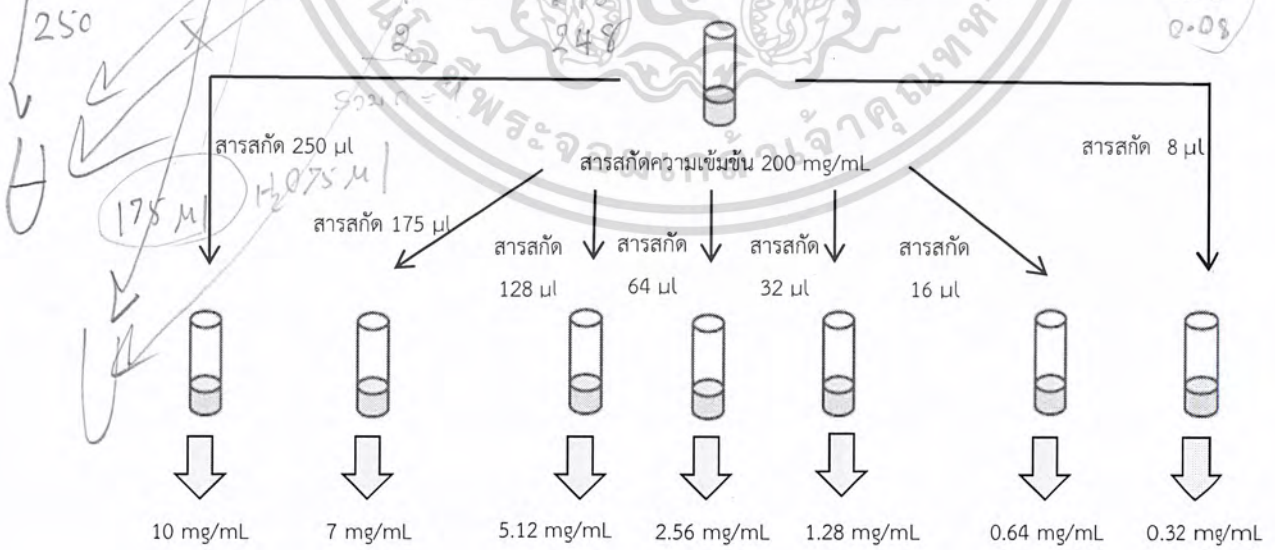
7.2 การเตรียม Stock solution ของสารสกัด



รูปที่ 13 (ข) การเตรียม Stock solution ของสารสกัดที่ใช้ทดสอบ

ตารางที่ 5 (ข) การทำความเจือจางของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับเตรียม Stock solution

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/mL)	ปริมาตรของสารสกัด (µl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (µl)	ความเข้มข้นของสารสกัดที่ได้ในหลอด (µg/mL)	ปริมาตรอาหาร (µl)	ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดในหลอดอาหาร (µg/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
200	8	242	6.4	4,750	0.32



รูปที่ 14 (ข) การทำความเจือจางของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ สำหรับการเตรียม Stock solution

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากสมุนไพรไทย

8.1 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20

ทำการเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 น้ำหนักโดยปริมาตร (20% (w/v) Na_2CO_3) คิดได้ดังนี้

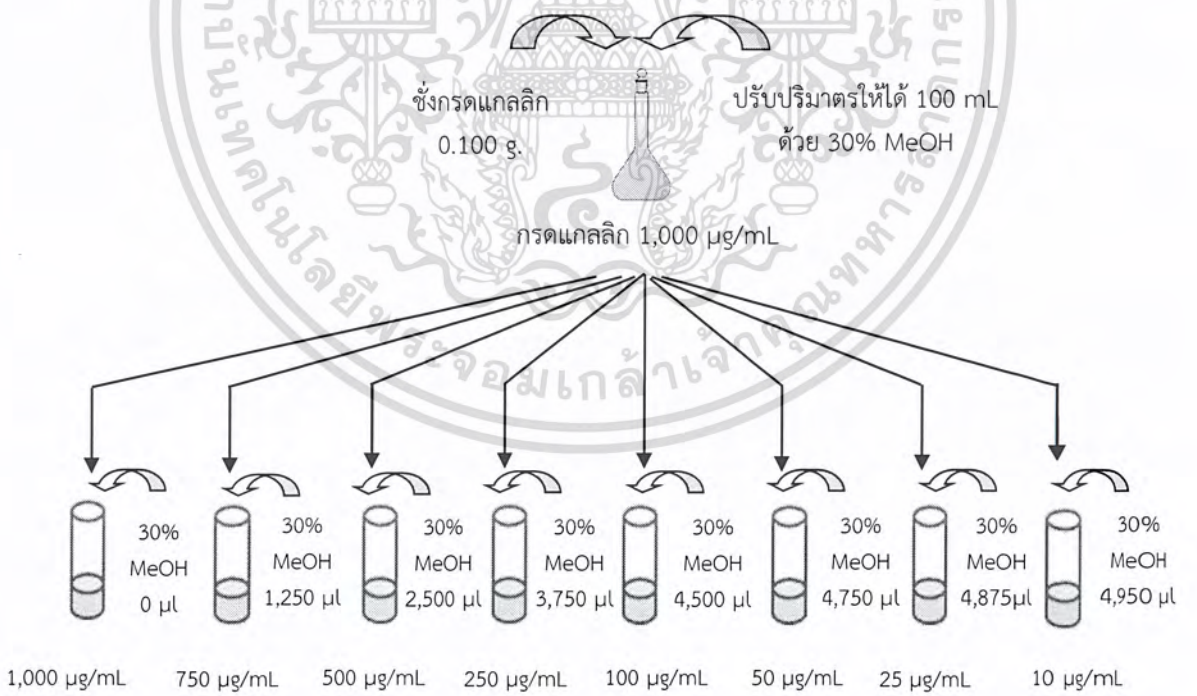
จากในสารละลาย ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 20 กรัม

ถ้าเตรียมสารละลายปริมาตร 500 มิลลิลิตรจะใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 100 กรัม

ดังนั้น ในการเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 500 มิลลิลิตรนั้น จะต้องชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 100 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร

8.2 สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ดังนี้



รูปที่ 15 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 (ข) การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของกรดแกลลิก (µg/mL)	ปริมาตรของกรดแกลลิก (µl)	ปริมาตรของ 30% เมทานอล (µl)	ความเข้มข้นสุดท้ายของกรดแกลลิกในหลอดทดลอง (µg/mL)
1,000	5,000	0	1,000
1,000	3,750	1,250	750
1,000	2,500	2,500	500
1,000	1,250	3,750	250
1,000	500	4,500	100
1,000	250	4,750	50
1,000	125	4,850	25
1,000	50	4,950	10

9. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากสมุนไพรไทย

9.1 สารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5

ทำการเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 น้ำหนักโดยปริมาตร (5% (w/v) $NaNO_2$) คิดได้ดังนี้

จากในสารละลาย ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้โซเดียมไนไตรท์ 5 กรัม

ถ้า เตรียมสารละลายปริมาตร 500 มิลลิลิตร จะใช้โซเดียมไนไตรท์ 25 กรัม

ดังนั้นในการเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จะต้องชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 25 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร

9.2 สารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10

ทำการเตรียมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 น้ำหนักโดยปริมาตร (10% (w/v) $AlCl_3$) คิดได้ดังนี้

จากในสารละลาย ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะใช้อลูมิเนียมคลอไรด์ 10 กรัม

ถ้า เตรียมสารละลายปริมาตร 500 มิลลิลิตร จะใช้อลูมิเนียมคลอไรด์ 50 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นในการเตรียมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จะต้องชั่งอลูมิเนียมคลอไรด์ 50 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร

9.3 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์

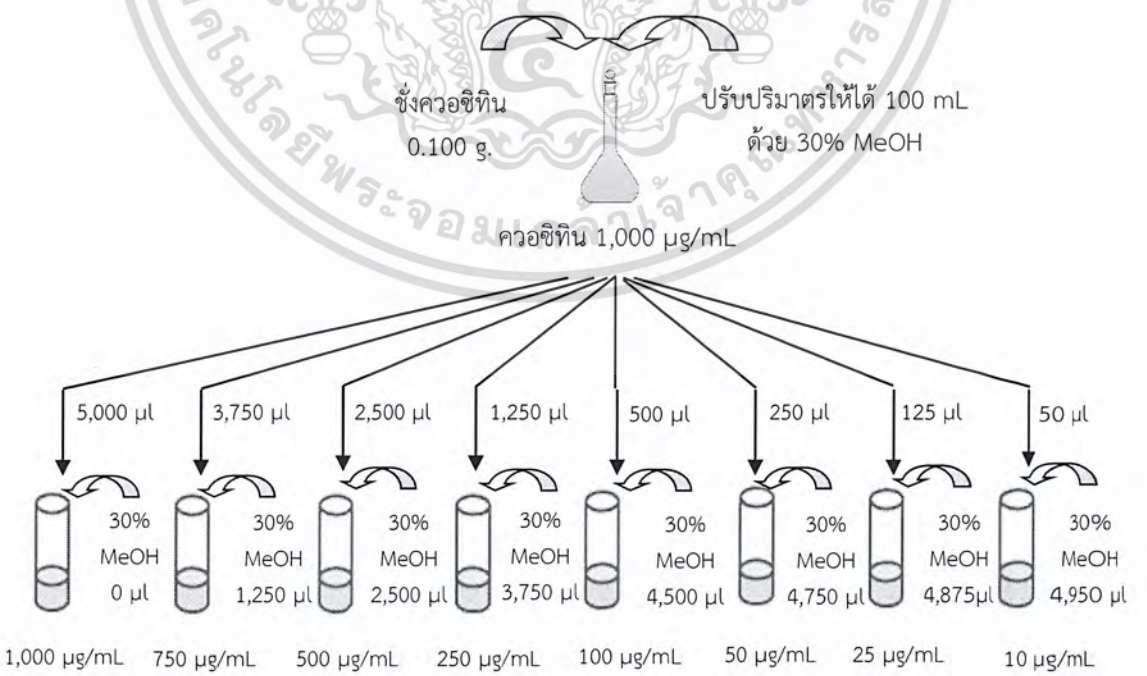
ทำการเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร คิดได้ดังนี้

จากสารละลาย	ปริมาตร 1,000	มิลลิลิตร จะมีโซเดียมไฮดรอกไซด์	40	กรัม
ถ้าเตรียม	ปริมาตร 250	มิลลิลิตร จะมีโซเดียมไฮดรอกไซด์	(250×40)/1,000	กรัม
		เท่ากับ	10.00	กรัม

ดังนั้นในการเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 250 มิลลิลิตรนั้น จะต้องชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 10.00 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปละลายเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 250 มิลลิลิตร

9.4 สารละลายมาตรฐานควอซิทิน

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายควอซิทินทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ดังนี้



รูปที่ 16 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานควอซิทิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

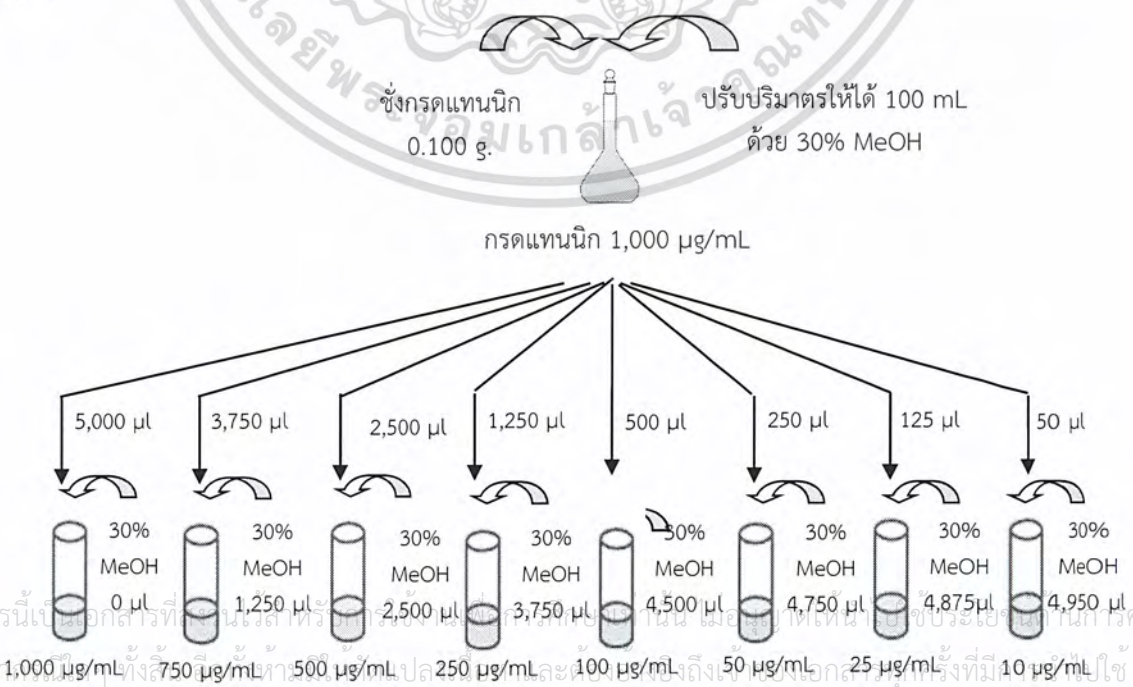
ตารางที่ 7 (ข) การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานควอซิทินความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของควอซิทิน (µg/mL)	ปริมาตรของควอซิทิน (µl)	ปริมาตรของ 30% เมทานอล (µl)	ความเข้มข้นสุดท้ายของควอซิทิน ในหลอดทดลอง (µg/mL)
1,000	5,000	0	1,000
1,000	3,750	1,250	750
1,000	2,500	2,500	500
1,000	1,250	3,750	250
1,000	500	4,500	100
1,000	250	4,750	50
1,000	125	4,850	25
1,000	50	4,950	10

10. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารแทนนินทั้งหมดของสารสกัดจากสมุนไพรไทย

10.1 สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแทนนิก ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า การจำหน่าย การจ่ายแจก หรือการนำไปใช้ในเชิงพาณิชย์ ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 17 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก

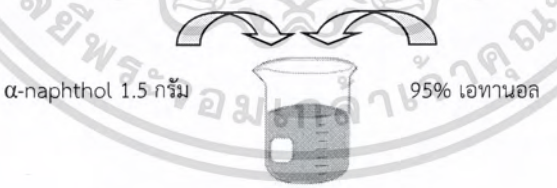
ตารางที่ 8 (ข) การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของกรดแทนนิก (µg/mL)	ปริมาตรของกรดแทนนิก (µl)	ปริมาตรของ 30% เมทานอล (µl)	ความเข้มข้นสุดท้ายของกรดแทนนิก ในหลอดทดลอง (µg/mL)
1,000	5,000	0	1,000
1,000	3,750	1,250	750
1,000	2,500	2,500	500
1,000	1,250	3,750	250
1,000	500	4,500	100
1,000	250	4,750	50
1,000	125	4,850	25
1,000	50	4,950	10

11. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์การมีอยู่ของคาร์โบไฮเดรตและการวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้

11.1 สารละลาย Molisch

ทำการเตรียมสารละลาย Molisch โดยชั่งแอลฟา-แนฟทอล (α-naphthol) ปริมาณ 1.5 กรัม จากนั้นเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร



รูปที่ 18 (ข) การเตรียมสารละลาย Molisch

11.2 สารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5

ทำการเตรียมสารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5 น้ำหนักโดยปริมาตร คิดได้ดังนี้

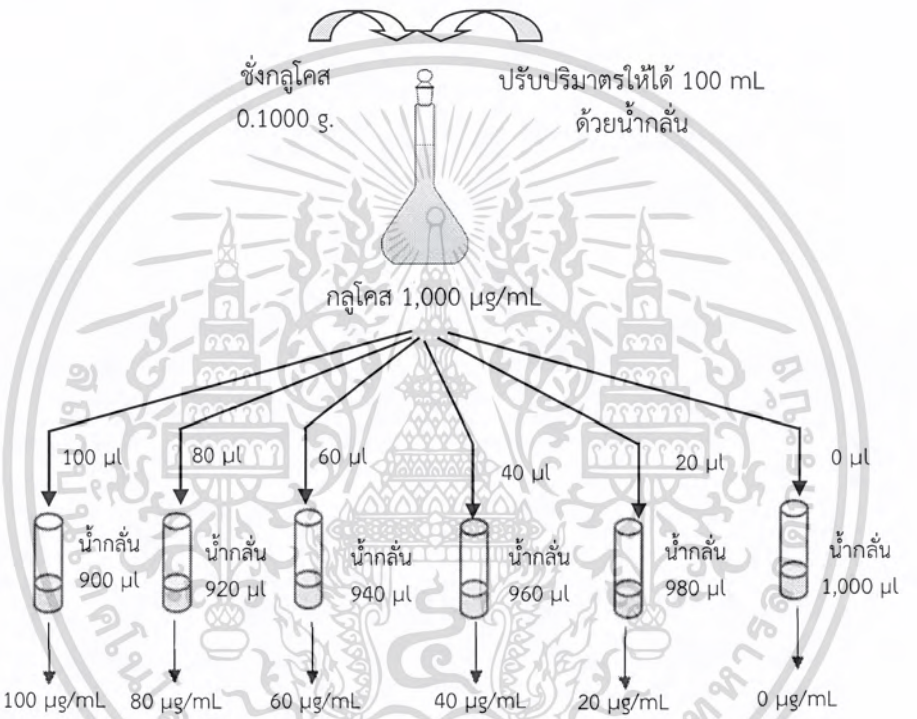
จากในสารละลาย ปริมาตร	100 มิลลิลิตร จะใช้ฟีนอล	5	กรัม
ถ้า เตรียมสารละลายปริมาตร	200 มิลลิลิตร จะใช้ฟีนอล	10	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นในการเตรียมสารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จะต้องชั่งฟีนอล 10 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย จากนั้นเทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 200 มิลลิลิตร

11.3 สารละลายมาตรฐานกลูโคส (สำหรับวิธี Phenol-sulfuric)

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 100, 80, 60, 40, 20 และ 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ดังนี้



รูปที่ 19 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

ตารางที่ 9 (ข) การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ

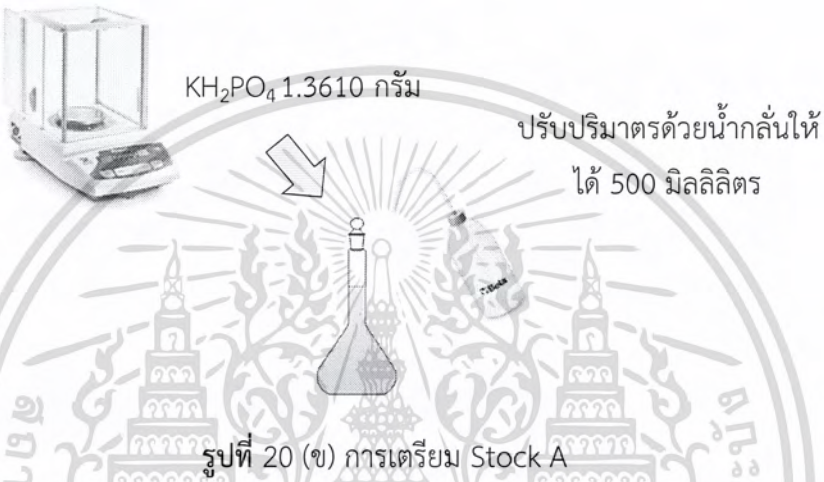
ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส (µg/mL)	ปริมาตรของสารละลายกลูโคส (µl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (µl)	ความเข้มข้นสุดท้ายของกลูโคสในหลอดทดลอง (µg/mL)
1,000	100	900	100
1,000	80	920	80
1,000	60	940	60
1,000	40	960	40
1,000	20	980	20
1,000	0	1,000	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

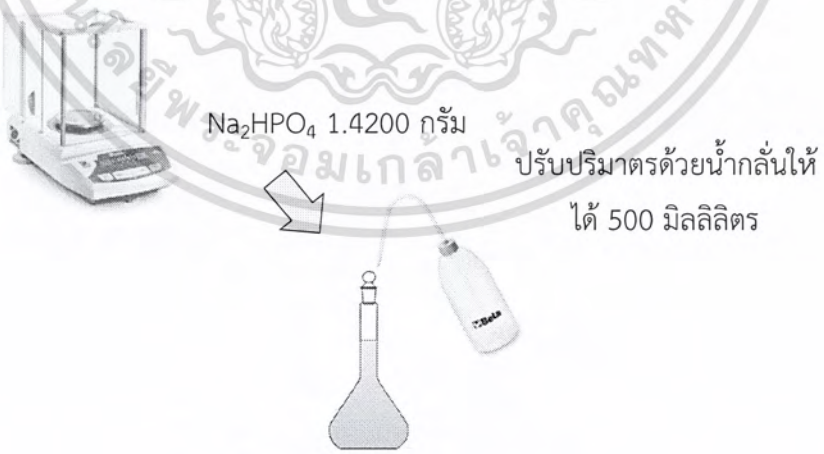
12.1 การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

Stock A: ชั่ง KH_2PO_4 ปริมาณ 1.3610 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมน้ำกลั่นเล็กน้อย คนให้ละลาย เทสารละลายดังกล่าวลงในขวดปรับปริมาตรและปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร



รูปที่ 20 (ข) การเตรียม Stock A

Stock B: ชั่ง Na_2HPO_4 ปริมาณ 1.4200 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมน้ำกลั่นเล็กน้อย คนให้ละลาย เทสารละลายดังกล่าวลงในขวดปรับปริมาตรและปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร



รูปที่ 20 (ข) การเตรียม Stock B

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทำการเตรียมสารละลาย Stock A และ B แล้วให้ทำการผสมสารละลายทั้งสองชนิดในสัดส่วนดังตารางที่ 10 (ข) เพื่อให้ได้ pH ที่ต้องการ (ในที่นี้ต้องการสารละลายบัฟเฟอร์ฟอสเฟตความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ pH ≈ 7.0) จากนั้นผสมสารละลายทั้งสองชนิดให้เข้ากัน เก็บใส่ขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 10 (ข) ปริมาณของสารละลาย Stock A และ Stock B ที่ใช้ในการเตรียมบัฟเฟอร์ฟอสเฟต

ค่า pH	ปริมาตร Stock A (มิลลิลิตร)	ปริมาตร Stock B (มิลลิลิตร)
6.0	26.32	3.69
7.0	4.80	25.20
7.6	3.90	26.10
8.0	1.59	28.41

12.2 การเตรียมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

จากการทดลองการหาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยจะใช้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส (α-amylase) ที่ได้จากเชื้อรา *Aspergillus oryzae* ที่มีความเข้มข้น 36.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีวิธีคำนวณและวิธีเตรียม ดังนี้

จาก เอนไซม์ความเข้มข้น 36 U มีเนื้อสารของเอนไซม์ 1.0 mg

ดังนั้น เอนไซม์ความเข้มข้น 2 U มีเนื้อสารของเอนไซม์ (1.0 x 2)/36 = 0.0555 mg

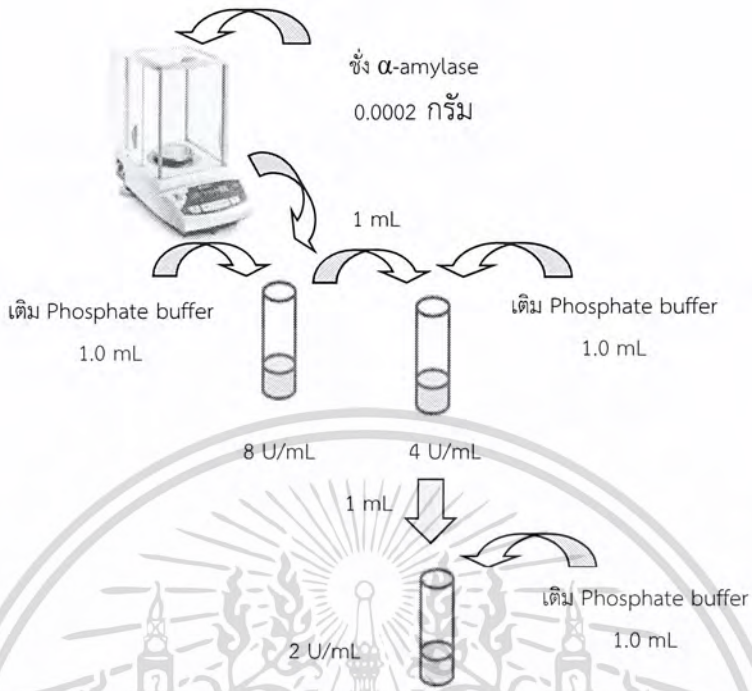
แต่ในทางปฏิบัตินั้นการเตรียมเอนไซม์ให้ได้ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตรโดยตรงเป็นไปได้ยาก จึงนิยมเตรียมจากความเข้มข้นสูงๆ แล้วทำการเจือจางให้เหลือความเข้มข้นเพียง 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยในที่นี้จะเตรียมจากความเข้มข้น 8 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยมีวิธีคำนวณและวิธีเตรียม ดังนี้

จาก เอนไซม์ความเข้มข้น 36 U มีเนื้อสารของเอนไซม์ 1.0 mg

ดังนั้น เอนไซม์ความเข้มข้น 8 U มีเนื้อสารของเอนไซม์ (1.0 x 8)/36 = 0.2222 mg

ดังนั้นทำการชั่งเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ปริมาณ 0.2222 มิลลิกรัม ลงในบีกเกอร์ เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ที่มีพีเอชเท่ากับ 7 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร คนให้ละลายจะได้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 8 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางแบบ two-fold dilution โดยปิเปตละลายจะได้เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 8 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ที่มีพีเอชเท่ากับ 7 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 4 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางด้วยวิธีดังกล่าวอีก 1 ครั้ง จะได้สารละลายเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ดังแสดงในรูปที่ 21 (ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 21 (ข) การเตรียมเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส ความเข้มข้น 2 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

12.3 การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer)

การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer) ทำได้โดยชั่งโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 8 กรัม โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 0.2 กรัม ไดโซเดียมไฮโดรเจนออโทฟอสเฟตไดไฮเดรต ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) 8.25 กรัม โซเดียมไฮโดรเจนออโทรฟอสเฟต (NaH_2PO_4) 14.35 กรัม แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$) 0.1 กรัม และแมกนีเซียมคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) 0.18 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมน้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อย คนให้ละลาย จากนั้นเทสารละลายดังกล่าวลงในขวดปรับปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร และทำการปรับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (HCl buffer) ที่ได้ให้มีพีเอชเท่ากับ 1 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5 โมลาร์

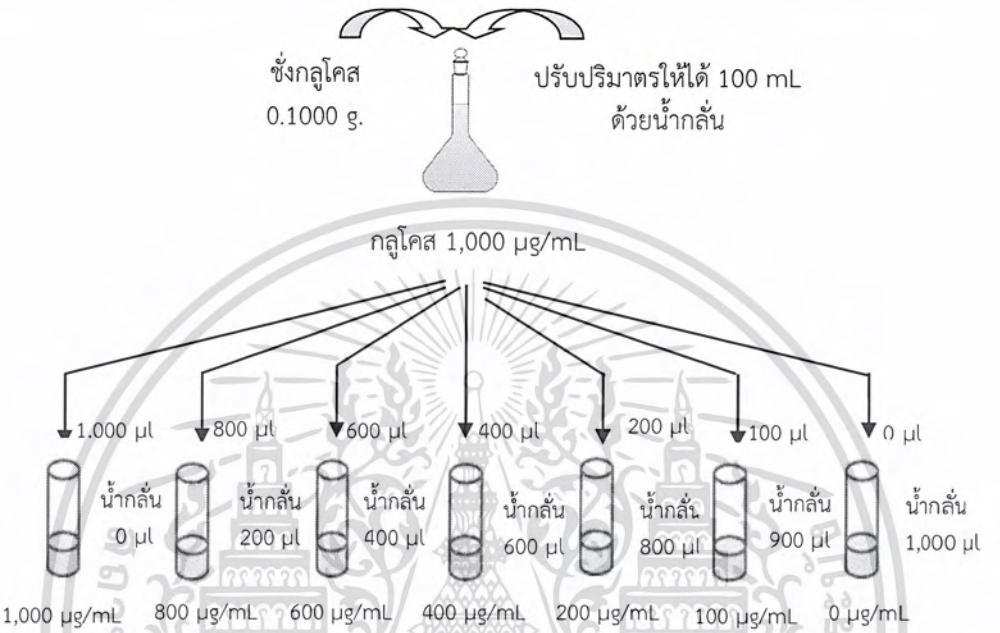
12.4 การเตรียมสารละลาย 3, 5-Dinitrosalicyris acid (DNS)

การเตรียมสารละลาย 3, 5-Dinitrosalicyris acid (DNS) ทำได้โดยชั่ง DNS ปริมาณ 10 กรัม ลงในบีกเกอร์จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อยคนให้ละลายโดยใช้เครื่องกวนสารละลายพร้อมให้ความร้อน (hot plate stirrer) อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เมื่อสารละลายหมดแล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 2 นอร์มอล ปริมาตร 200 มิลลิลิตรลงไป ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมโซเดียมทาร์เทรต ปริมาณ 300 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12.5 สารละลายมาตรฐานกลูโคส (สำหรับวิธี DNS method)

สำหรับการทำกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 1,000, 800, 600, 400, 200 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ดังนี้



รูปที่ 22 (ข) การเตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

ตารางที่ 11 (ข) การทำความเจือจางของสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส (µg/mL)	ปริมาตรของสารละลายกลูโคส (µl)	ปริมาตรของน้ำกลั่น (µl)	ความเข้มข้นสุดท้ายของกลูโคสในหลอดทดลอง (µg/mL)
1,000	1,000	0	1,000
1,000	800	200	800
1,000	600	400	600
1,000	400	600	400
1,000	200	800	200
1,000	0	1,000	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การคำนวณ

1. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดจากสมุนไพรไทย ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ

$$\frac{1{,}000\ \mu g \times 0.1\ mL}{1\ mL} = 100\ \mu g$$

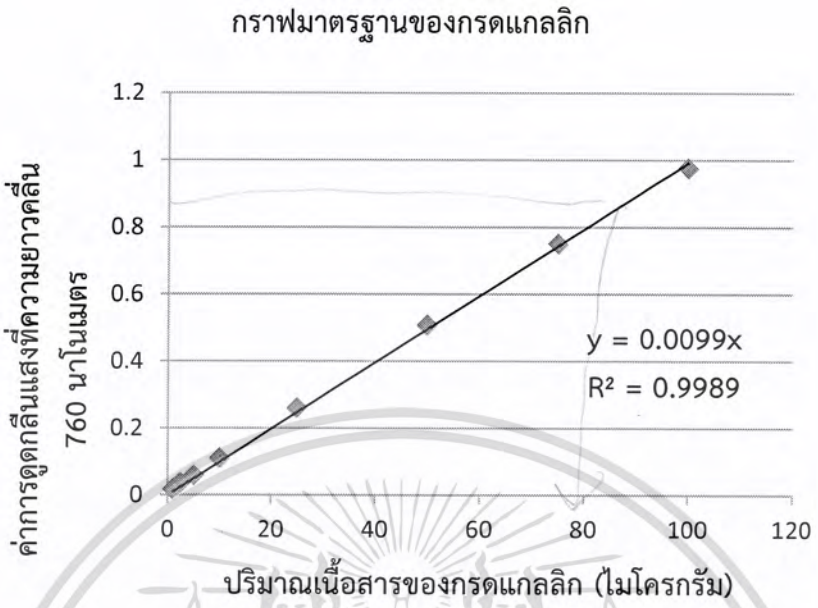
<u>สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ

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

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ในการทดลองปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของกรดแกลลิกอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 100, 75, 50, 25, 10, 5, 2.5 และ 1 ไมโครกรัมตามลำดับ นำมาทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร กับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 (ค) กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ตัวอย่าง 1.1 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากเบญจกานี คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากเบญจกานี แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ดังนี้

สารสกัดหยาบจากเบญจกานี มีค่า $O.D_{760}$ เท่ากับ 0.668

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

$$y = 0.0099x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร

แทนค่า

$$0.668 = 0.0099x$$

$$x = 0.668 / 0.0099$$

$$x = 67.4747 \text{ ไมโครกรัมของกรดแกลลิก}$$

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบ 0.1 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิกเท่ากับ 67.4747 ไมโครกรัม

สารสกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ $\frac{67.4747\ \mu g \times 1\ mg}{0.1\ mg}$

เท่ากับ 674.75 µg

สารสกัด 1,000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ 674.75 × 1,000

(1g)

เท่ากับ 674,750 µg

หรือ เท่ากับ 674,750/1,000 เท่ากับ 674.75 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากเบญจกานีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 674.75 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

2. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ สารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดจากสมุนไพรไทย ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของควอซิทินดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานควอซิทินความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองนี้ จะมีเนื้อสารของควอซิทิน เท่ากับ

$$\frac{1{,}000\ \mu g \times 0.25\ mL}{1\ mL} = 250\ \mu g$$

<u>สารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

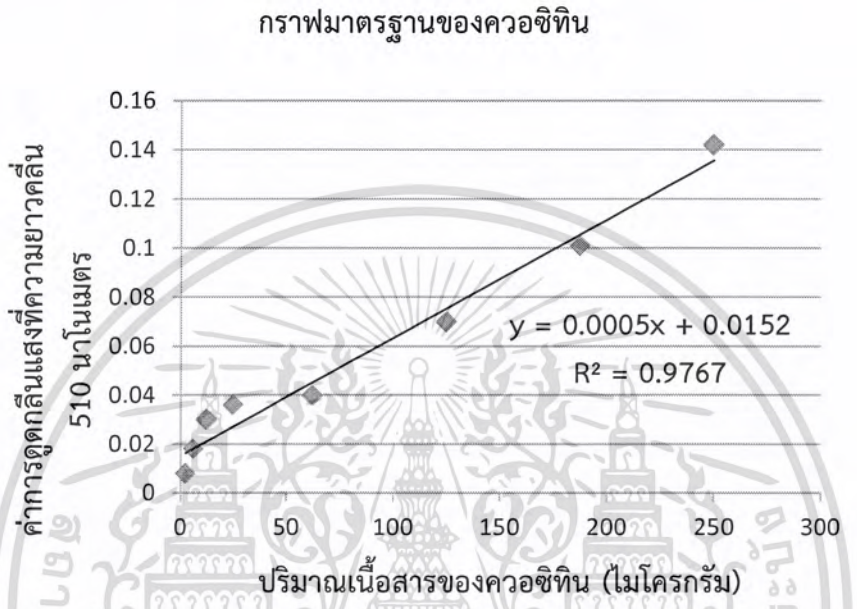
ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานควอซิทินความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของควอซิทิน เท่ากับ

$$\frac{750\ \mu g \times 0.25\ mL}{1\ mL} = 187.5\ \mu g$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานควอซิทินที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ในการทดลองปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของควอซิทิน

อยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 250, 187.5, 125, 62.5, 25, 12.5, 6.25 และ 2.5 ไมโครกรัมตามลำดับ นำมาทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของควอซิทินในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้



รูปที่ 2 (ค) กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของควอซิทินในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ตัวอย่าง 2.1 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากเปลือกนนทรี คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากเปลือกนนทรีแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานควอซิทิน ดังนี้

สารสกัดหยาบจากเปลือกนนทรี มีค่า $O.D_{510}$ เท่ากับ 0.678

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานควอซิทิน

$$y = 0.0005x + 0.0152$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

แทนค่า $0.678 = 0.0005x + 0.0152$

$x = (0.678 - 0.0152) / 0.0005$

$x = 1,325.60$ ไมโครกรัมของควอซิทิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.25 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบ 0.25 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของควอซิทินเท่ากับ 1,325.60 ไมโครกรัม

สารสกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน เท่ากับ $\frac{1{,}325.60\ \mu g \times 1\ mg}{0.25\ mg}$

เท่ากับ 5,302.40 µg

สารสกัด 1,000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน เท่ากับ 5,302.40 × 1,000

เท่ากับ 5,302,400 µg

หรือ เท่ากับ 5,302,400/1,000 เท่ากับ 5,302.40 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากเปลือกนนทรีมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 5,302.40 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด

3. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด สารละลายมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการเช่นเดียวกับสารสกัดจากสมุนไพรไทย ซึ่งในวิธีการทดลองจะใช้สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก ที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของกรดแทนนิกดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองนี้ จะมีเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ

$$\frac{1{,}000\ \mu g \times 0.05\ mL}{1\ mL} = 50\ \mu g$$

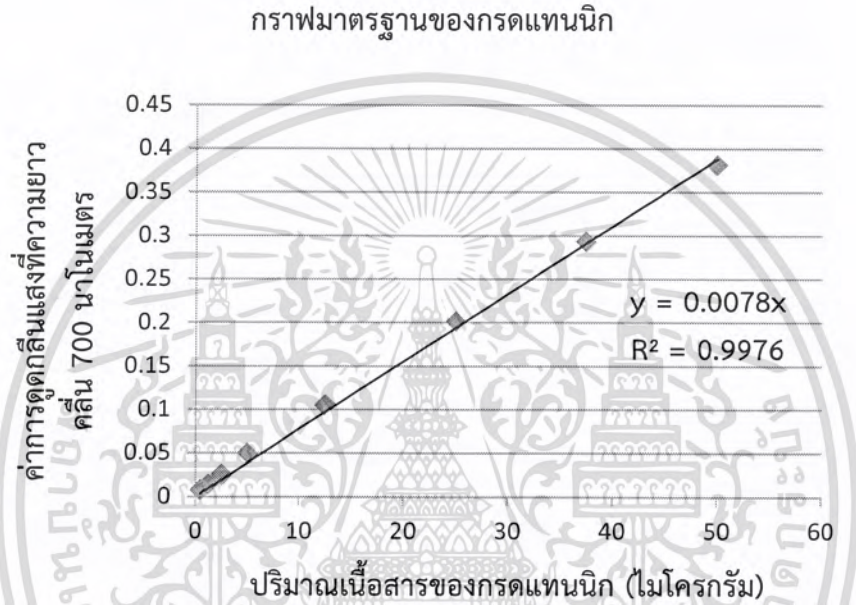
<u>สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองนั้น จะมีสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกความเข้มข้น 750 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ

$$\frac{750\ \mu g \times 0.05\ mL}{1\ mL} = 37.5\ \mu g$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้น 1,000, 750, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งใช้ในการทดลองปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของกรดแทนนิกอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 50, 37.5, 25, 12.5, 5, 2.5, 1.25 และ 0.5 ไมโครกรัมตามลำดับ นำมาทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิกในหน่วยไมโครกรัม ดังนี้



รูปที่ 3 (ค) กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิกในหน่วยไมโครกรัม สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด

ตัวอย่าง 3.1 การคำนวณหาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากเบญจกานี คิดได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากเบญจกานี แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก ดังนี้

สารสกัดหยาบจากเบญจกานี มีค่า $O.D_{700}$ เท่ากับ 0.346

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก

$$y = 0.0078x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

แทนค่า $0.346 = 0.0078x$

$x = 0.346 / 0.0078$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

x = 44.36 ไมโครกรัมของกรดแทนนิก

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.05 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด

ดังนั้น ปริมาณสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบ 0.05 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิกเท่ากับ 44.3589 ไมโครกรัม

สารสกัด 1 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิก เท่ากับ $\frac{44.3589\ \mu g \times 1\ mg}{0.05\ mg}$

เท่ากับ 887.18 µg

สารสกัด 1,000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของควอซิทิน เท่ากับ 887.17 × 1,000

เท่ากับ 887,180 µg

หรือ เท่ากับ 887,180/1,000 เท่ากับ 887.18 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากเบญจกานีมีปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดเท่ากับ 887.18 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด

4. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (น้ำตาลทั้งหมด) และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ได้จากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ ด้วยวิธีฟีนอล - ซัลฟิวริก (Dubois และคณะ, 1956)

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (phenol-sulfuric method) สารละลายมาตรฐานที่ใช้คือ สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 100, 80, 60, 40 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการของ Dubois และคณะ (1956) ซึ่งในการทดลองนั้น จะใช้สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส ดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสอยู่เท่ากับ

$$\frac{100\ \mu g \times 1\ mL}{1\ mL} = 100\ \mu g$$

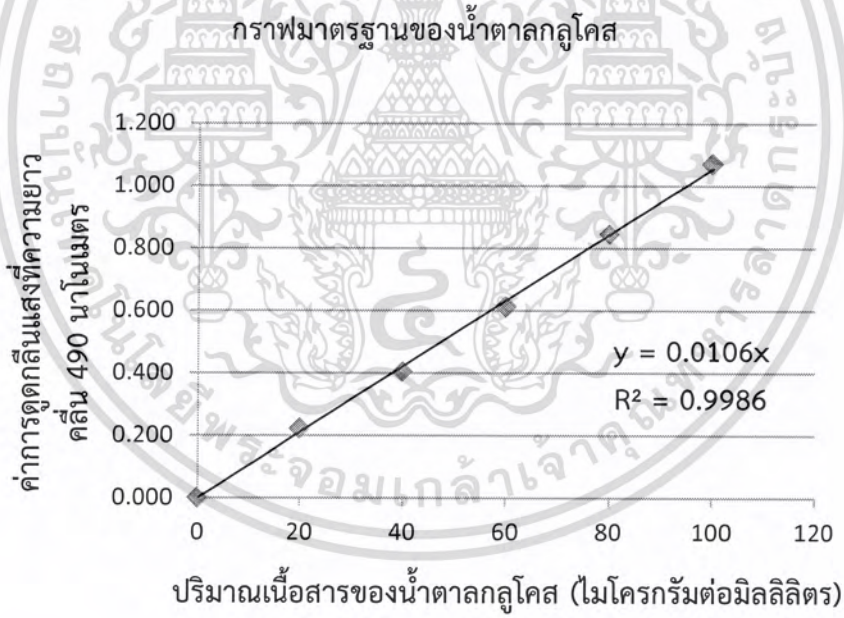
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ

$$\frac{80\ \mu g \times 1\ mL}{1\ mL} = 80\ \mu g$$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 100, 80, 60, 40 และ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ใช้ในการทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 100, 80, 60, 40 และ 20 ไมโครกรัมตามลำดับ ทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรกับเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสในหน่วยไมโครกรัม ได้ดังนี้



รูปที่ 4 (ค) กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ 4.1 การคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (คาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้) ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด คิดได้โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส ดังนี้

สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด มีค่า $O.D_{490}$ เท่ากับ 0.434 (ที่ระดับความเจือจาง 10 เท่า)

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

$$y = 0.0106x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

แทนค่า

$$y = 0.0106x$$
$$0.434 = 0.0106x$$
$$x = 0.434 / 0.0106$$
$$x = 40.9433 \text{ ไมโครกรัม}$$

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดจากสมุนไพรที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ทำการเจือจาง 10 เท่า ก่อนการวัด (เพื่อให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.2 ถึง 0.8) โดยปิเปตสารสกัดปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 0.9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จะได้สารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ดังนั้น

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสารสกัดหยาบ 0.1 มิลลิกรัม เท่ากับ 40.9433 ไมโครกรัม

ถ้าสารสกัด 1,000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกลูโคส เท่ากับ $\frac{40.9433 \text{ µg} \times 1000 \text{ mg}}{0.1 \text{ mg}}$

เท่ากับ 409,433 µg

หรือเท่ากับ 409,433/1,000 เท่ากับ 409.43 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 409.43 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างที่ 4.2 การคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (หลังการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์) ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด คิดได้โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส ดังนี้

สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด มีค่า $O.D_{490}$ เท่ากับ 0.498 (ที่ระดับความเจือจาง 15 เท่า)

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

$$y = 0.0103x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

แทนค่า

$$y = 0.0103x$$
$$0.498 = 0.0103x$$
$$x = 0.498 / 0.0103$$
$$x = 48.35 \text{ ไมโครกรัม}$$

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดจากสมุนไพรที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ทำการเจือจาง 15 เท่า ก่อนการวัด (เพื่อให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.2 ถึง 0.8) โดยปิเปตสารสกัดปริมาตร 0.0668 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 0.9332 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จะได้สารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.0668 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ดังนั้น

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสารสกัดหยาบ 0.1 มิลลิกรัม เท่ากับ 48.35 ไมโครกรัม

ถ้าสารสกัด 1,000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกลูโคส เท่ากับ $\frac{48.35 \text{ µg} \times 1000 \text{ mg}}{0.0668 \text{ mg}}$

เท่ากับ 723,802 µg

หรือเท่ากับ 723,802/1,000 เท่ากับ 723.802 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 723.80 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การคำนวณสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (Miller, 1959)

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (DNS method) สารละลายมาตรฐานที่ใช้ คือ สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 1,000, 800, 600, 400, 200 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดลองตามวิธีการของ Miller (1956) ซึ่งในการทดลองนั้น จะใช้สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสดังนี้

<u>สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส เท่ากับ

$$\frac{1{,}000\ \mu g \times 0.5\ mL}{1\ mL} = 500\ \mu g$$

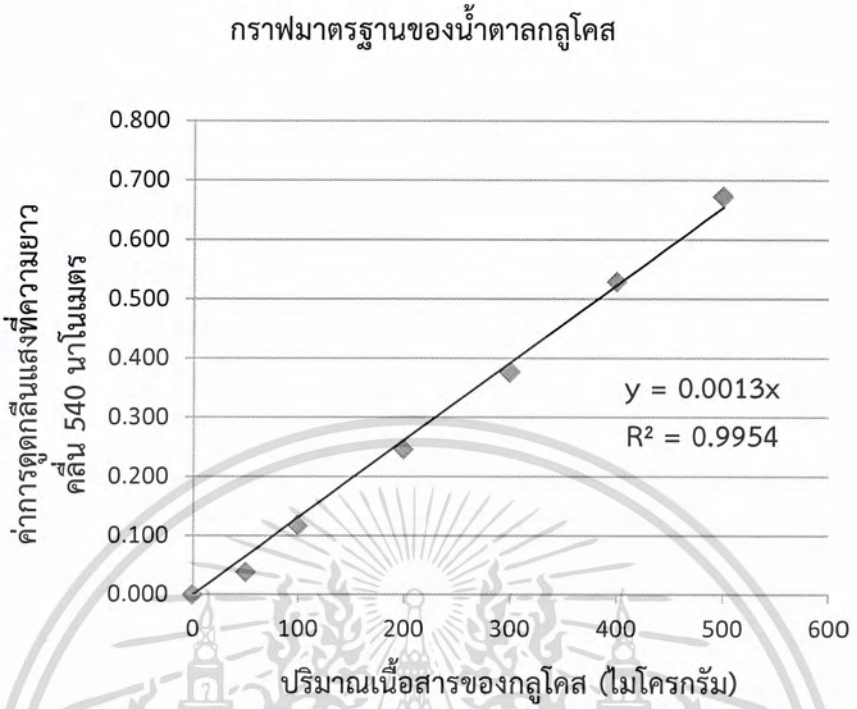
<u>สารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ในหลอดทดลองจะมีสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อยู่ในปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพราะฉะนั้นในหลอดทดลองนี้จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสเท่ากับ

$$\frac{800\ \mu g \times 0.5\ mL}{1\ mL} = 400\ \mu g$$

ดังนั้นสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 1,000, 800, 600, 400, 200 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ใช้ในการทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสอยู่ในหลอดทดลองเท่ากับ 500, 400, 300, 200, 100 และ 50 ไมโครกรัมตามลำดับ ทำการพลอตกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรกับเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคสในหน่วยไมโครกรัม ได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5 (ค) กราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรกับปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารสกัด

ตัวอย่างที่ 5.1 การคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด (ก่อนย่อยด้วยกรดและเอนไซม์) คิดได้โดยการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด แทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส ดังนี้

สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด มีค่า $O.D_{540}$ เท่ากับ 0.337

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

$$y = 0.0013x$$

เมื่อ x คือ ปริมาณเนื้อสารของน้ำตาลกลูโคส (ไมโครกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

แทนค่า

$$y = 0.0013x$$

$$0.337 = 0.0013x$$

$$x = 0.337 / 0.0013$$

$$x = 259.2307 \text{ ไมโครกรัม}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยในการทดลองจะใช้สารสกัดจากสมุนไพรที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ดังนั้นในหลอดทดลองจะมีปริมาณเนื้อสารของสารสกัดเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัม ซึ่งจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด ดังนั้น

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารสกัดหยาบ 0.5 มิลลิกรัม เท่ากับ 259.2307 ไมโครกรัม

ถ้าสารสกัด 1,000 mg จะมีปริมาณเนื้อสารของกลูโคส เท่ากับ $\frac{259.2307\ \mu g \times 1{,}000\ mg}{0.5\ mg}$

เท่ากับ 518,461 µg

หรือเท่ากับ 518,461/1,000 เท่ากับ 518.461 mg

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 518.46 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

6. การหาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์

สำหรับการคำนวณหาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ (Indigestible polysaccharide) ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยนั้น จะใช้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลืออยู่หลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดหยาบ (เฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำสามารถคำนวณได้ดังตัวอย่างที่ 4.2) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดหยาบ (เฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำสามารถคำนวณได้ดังตัวอย่างที่ 5.1) มาคำนวณตามสูตรดังนี้

ปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) =
ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) - ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนทำการย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)

ในที่นี้จะยกตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ของสารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุด

จากสูตร

ปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการถูกย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) =
ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดหลังจากการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) - ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนทำการย่อย (มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แทนค่า Indigestible polysaccharide = 723.796667 (mg/g extract) - 522.05 (mg/g extract) (mg/g extract)

= 201.746667 mg/g extract

หรือเท่ากับ 201.75 mg/ g extract

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากเปลือกมังคุดมีปริมาณสารประกอบโพลีแซคคาไรด์ที่ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ 201.75 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด

7. การคำนวณสำหรับการหาผลได้ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย (ร้อยละของสมุนไพรแห้ง)

การคำนวณการหาผลได้ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยนั้น (ร้อยละของน้ำหนักสมุนไพรแห้ง) สามารถคิดคำนวณโดยการเทียบบัญญัติไตรยางศ์ ดังนี้

	ถ้าใช้สมุนไพรแห้ง A	กรัม	ได้สารสกัดหยาบ	B	กรัม
ดังนั้น	ถ้าใช้สมุนไพรแห้ง 100	กรัม	จะได้สารสกัดหยาบ	(100×B)/A	

ตัวอย่าง การคำนวณผลได้ของสารสกัดหยาบจากหญ้าฝรั่น (ร้อยละของสมุนไพรแห้ง) โดยการนำค่าน้ำหนักสุทธิของหญ้าฝรั่นที่ได้เทียบบัญญัติไตรยางศ์ ดังนี้

	ถ้าใช้สมุนไพรแห้ง 10	กรัม	ได้สารสกัดหยาบ	2.323	กรัม
ดังนั้น	ถ้าใช้สมุนไพรแห้ง 100	กรัม	จะได้สารสกัดหยาบ	(100×2.323)/10	
			เท่ากับร้อยละ	23.23	

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากหญ้าฝรั่นนั้น มีค่าผลได้ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพร (ร้อยละของน้ำหนักสมุนไพรแห้ง) เท่ากับร้อยละ 23.23

หมายเหตุ: สมุนไพรแห้งที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 10 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

1. ผลของสารสกัดหยาบต่อการเจริญของ *L. acidophilus* TISTR 1034 ที่ 0 ชั่วโมง

Descriptives

Growth

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
หญ้าแห้วหมู	3	6.119333	.1436676	.0829465	5.762443	6.476223	6.0000	6.2788
เปลือกมังคุด	3	6.147600	.1069579	.0617522	5.881902	6.413298	6.0414	6.2553
โกฐน้ำเต้า	3	6.123067	.1278966	.0738411	5.805354	6.440779	6.0000	6.2553
ผลฟักข้าว	3	6.173467	.0582946	.0336564	6.028655	6.318279	6.1139	6.2304
รากฟักข้าว	3	6.119333	.1436676	.0829465	5.762443	6.476223	6.0000	6.2788
อินนูลิน	3	6.106733	.1504450	.0868595	5.733007	6.480459	6.0000	6.2788
ควบคุม	3	6.095633	.0939349	.0542333	5.862286	6.328981	6.0414	6.2041
Total	21	6.126452	.1049274	.0228970	6.078690	6.174215	6.0000	6.2788

ANOVA

Growth

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.012	6	.002	.138	.989
Within Groups	.208	14	.015		
Total	.220	20			

Homogeneous Subsets

Growth

	Treatment	N	Subset for alpha = 0.05
			1
Duncan[a]	ควบคุม	3	6.095633
	อินนูลิน	3	6.106733
	หญ้าแห้วหมู	3	6.119333
	รากฟักข้าว	3	6.119333
	โกฐน้ำเต้า	3	6.123067
	เปลือกมังคุด	3	6.147600
	ผลฟักข้าว	3	6.173467
	Sig.		.493

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ผลของสารสกัดหยาบต่อการเจริญของ *L. acidophilus* TISTR 1034 ที่ 12 ชั่วโมง

Descriptives

Growth

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
หญ้าแห้วหมู	3	7.278800	.0000000	.0000000	7.278800	7.278800	7.2788	7.2788
เปลือกมังคุด	3	7.436367	.0396486	.0228911	7.337874	7.534859	7.3979	7.4771
โกฐน้ำเต้า	3	6.234133	.1273837	.0735450	5.917695	6.550572	6.1461	6.3802
ผลฟักข้าว	3	7.189600	.0832748	.0480787	6.982734	7.396466	7.1139	7.2788
รากฟักข้าว	3	7.040200	.0396136	.0228709	6.941794	7.138606	7.0000	7.0792
อินนูลิน	3	7.113067	.0334578	.0193169	7.029953	7.196180	7.0792	7.1461
ควบคุม	3	7.096667	.0893059	.0515608	6.874819	7.318515	7.0000	7.1761
Total	21	7.055548	.3707538	.0809051	6.886782	7.224313	6.1461	7.4771

ANOVA

Growth

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.678	6	.446	88.276	.000
Within Groups	.071	14	.005		
Total	2.749	20			

Homogeneous Subsets

Growth

	Treatment	N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
Duncan[a]	โกฐน้ำเต้า	3	6.234133				
	รากฟักข้าว	3		7.040200			
	ควบคุม	3		7.096667	7.096667		
	อินนูลิน	3		7.113067	7.113067		
	ผลฟักข้าว	3			7.189600	7.189600	
	หญ้าแห้วหมู	3				7.278800	
	เปลือกมังคุด	3					7.436367
	Sig.		1.000	.253	.150	.147	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ผลของสารสกัดหยาบต่อการเจริญของ *L. acidophilus* TISTR 1034 ที่ 24 ชั่วโมง

Descriptives

Growth

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
หญ้าแห้วหมู	3	8.738867	.2741247	.1582660	8.057903	9.419830	8.4472	8.9912
เปลือกมังคุด	3	9.075933	.0657602	.0379667	8.912576	9.239291	9.0000	9.1139
โกฐน้ำเต้า	3	7.532600	.1839188	.1061856	7.075720	7.989480	7.3222	7.6628
ผลฟักข้าว	3	8.545300	.2735615	.1579408	7.865735	9.224865	8.2304	8.7243
รากฟักข้าว	3	8.668467	.2449399	.1414161	8.060002	9.276931	8.3979	8.8751
อินนูลิน	3	8.671067	.3622961	.2091718	7.771073	9.571060	8.2553	8.9191
ควบคุม	3	8.404767	.3737537	.2157868	7.476311	9.333222	8.0792	8.8129
Total	21	8.519571	.5104050	.1113795	8.287238	8.751905	7.3222	9.1139

ANOVA

Growth

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.172	6	.695	9.377	.000
Within Groups	1.038	14	.074		
Total	5.210	20			

Homogeneous Subsets

Growth

	Treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Duncan[a]	โกฐน้ำเต้า	3	7.532600		
	ควบคุม	3		8.404767	
	ผลฟักข้าว	3		8.545300	
	รากฟักข้าว	3		8.668467	8.668467
	อินนูลิน	3		8.671067	8.671067
	หญ้าแห้วหมู	3		8.738867	8.738867
	เปลือกมังคุด	3			9.075933
	Sig.		1.000	.194	.112

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ผลการทดสอบ disc diffusion และค่า MIC ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยทั้งหมดที่ทดสอบ

ตารางที่ 1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method)

ชนิดของจุลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	ส้มป่อย	ว่านน้ำ	คาง	ชุมเห็ดเทศ	หญ้าฝรั่น	ว่านนางคำ	หญ้าแห้วหมู	มังคุด	ปอบิด
Bacillus cereus	7.89±0.45	12.41±0.37	7.77±0.09	10.01±0.11	-	14.47±1.20	8.60±0.06	11.24±1.82	7.97±0.29
Enterobacter aerogenes	-[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
Escherichia coli	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Helicobacter pylori	8.54±1.21	-	-	10.66±1.21	-	-	-	-	-
Klebsiella pneumoniae	-	7.09±0.11	-	-	-	-	-	-	-
Listeria monocytogenes	-	-	-	-	-	17.80±1.21	-	-	-
Porphyromonas gingivalis	-	14.76±3.46	-	26.89±2.03	9.996±1.51	18.86±1.15	-	-	10.92±3.19
Salmonella Rissen	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salmonella Typhimurium	-	-	-	-	-	7.42±0.29	-	-	-
Staphylococcus aureus	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Yersinia enterocolitica	7.20±0.11	-	8.16±0.16	16.83±7.67	7.20±0.70	18.60±0.10	7.80±0.70	11.25±0.24	8.53±1.72

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

หมายเหตุ: สารสกัดหยาบทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/mL ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL และยาปฏิชีวนะ Penicillin G ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ใช้ยาปฏิชีวนะ Gentamicin ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียนี้ต้านทานต่อการยับยั้งโดยยาปฏิชีวนะอื่นที่ใช้ทดสอบ ซึ่งมีค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง 15.00±0.00 มิลลิเมตร

ตารางที่ 1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method) (ต่อ)

ชนิดของจุลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	พลูคาว	เปราะหอม	กระถิน	ผลฟักข้าว	รากฟักข้าว	นนทรี	มะขามป้อม	เจตมูลเพลิงแดง	ทับทิม
Bacillus cereus	8.13±1.75	-	10.01±2.46	-	-	12.01±0.11	10.13±0.60	14.58±1.66	18.58±8.09
Enterobacter aerogenes	-[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
Escherichia coli	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Helicobacter pylori	-	-	-	-	-	-	8.50±0.23	-	-
Klebsiella pneumoniae	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Listeria monocytogenes	-	-	-	-	-	14.21±0.93	-	-	-
Porphyromonas gingivalis	-	18.87±1.99	-	14.86±1.95	11.27±1.32	-	9.26±0.14	10.40±1.91	-
Salmonella Rissen	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salmonella Typhimurium	-	-	-	-	-	-	7.41±0.28	-	-
Staphylococcus aureus	-	-	-	-	-	-	7.25±0.28	-	-
Yersinia enterocolitica	8.40±0.31	-	7.55±0.38	-	-	13.51±0.66	13.51±0.46	19.51±5.34	13.02±7.86

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

หมายเหตุ: สารสกัดหยาบทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/mL ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL และยาปฏิชีวนะ Penicillin G ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ใช้ยาปฏิชีวนะ Gentamicin ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียนี้ต้านทานต่อการยับยั้งโดยยาปฏิชีวนะอื่นที่ใช้ทดสอบ ซึ่งมีค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง 15.00±0.00 มิลลิเมตร

ตารางที่ 1 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยด้วยวิธีการแพร่บนอาหารวุ้น (Disc diffusion method) (ต่อ)

ชนิดของจุลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง (มม.)[a] ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน								
	เบญจกานี	โกฐน้ำเต้า	แค	มะกอก	สมอพิเภก	สมอไทย	โกฐพุงปลา	Ampicillin	Penicillin G
Bacillus cereus	19.71±2.52	13.79±4.29	-	9.59±1.39	14.44±4.27	10.80±0.75	14.54±0.23	12.54±0.10	30.06±0.05
Enterobacter aerogenes	-[b]	7.74±1.02	-	7.23±0.45	-	-	-	25.54±0.00	10.01±0.65
Escherichia coli	-	8.33±0.42	-	-	-	-	-	13.76±0.04	14.64±0.92
Helicobacter pylori	-		9.20±0.93	8.58±0.79	10.11±0.64	7.85±0.47	-	29.30±0.00	6.11±0.05
Klebsiella pneumoniae	-	7.67±1.05	-	-	-	-	-	27.14±0.00	15.64±0.54
Listeria monocytogenes	-		-	-	-	-	-	10.67±0.05	35.07±0.04
Porphyromonas gingivalis	-	45.21±10.84	13.14±0.37	12.37±0.49	-	-	-	29.01±0.06	11.45±1.05
Salmonella Rissen	-	8.08±0.63	-	-	-	-	-	30.04±0.06	13.00±0.00
Salmonella Typhimurium	-	8.08±0.63	-	12.26±0.46	-	-	-	30.04±0.00	12.75±0.25
Staphylococcus aureus	-	8.38±0.07	-	-	-	-	-	-[c]	-[c]
Yersinia enterocolitica	19.47±1.21	13.47±0.05	6.97±0.94	9.22±0.50	12.86±0.73	7.45±0.35	11.76±1.76	31.24±0.01	13.02±7.86

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

หมายเหตุ: สารสกัดหยาบทุกชนิดใช้ที่ความเข้มข้น 200 mg/mL ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL และยาปฏิชีวนะ Penicillin G ที่ความเข้มข้น 100 unit/mL สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ใช้ยาปฏิชีวนะ Gentamicin ที่ความเข้มข้น 1 mg/mL เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียนี้ต้านทานต่อการยับยั้งโดยยาปฏิชีวนะอื่นที่ใช้ทดสอบ ซึ่งมีค่าเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้ง 15.00±0.00 มิลลิเมตร

ตารางที่ 2 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่ความเข้มข้นต่ำสุดด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution)

ชนิดของจุลินทรีย์	ค่า minimum inhibitory concentration (mg/mL)								
	ใบส้มป่อย	ว่านน้ำ	คาง	ชุมเห็ดเทศ	หญ้าฝรั่น	ว่านนางคำ	หญ้าแห้วหมู	มังคุด	ปอบิด
Bacillus cereus	>10	2.56	>10	>10	>10	0.32	10	>10	>10
Enterobacter aerogenes	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Escherichia coli	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Helicobacter pylori	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Klebsiella pneumoniae	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Listeria monocytogenes	>10	>10	>10	>10	>10	0.64	>10	>10	>10
Porphyromonas gingivalis	>10	2.56	>10	0.32	2.56	0.32	>10	>10	10
Salmonella Rissen	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Salmonella Typhimurium	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Staphylococcus aureus	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Yersinia enterocolitica	>10	>10	>10	7	>10	0.32	>10	2.56	>10

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ 2 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่ความเข้มข้นต่ำสุดด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution) (ต่อ)

ชนิดของจุลินทรีย์	ค่า minimum inhibitory concentration (mg/mL)								
	พลูคาว	เปราะหอม	กระถิน	ผลฟักข้าว	รากฟักข้าว	นนทรี	มะขามป้อม	เจตมูลเพลิงแดง	ทับทิม
Bacillus cereus	5.12	>10	5.12	>10	>10	2.56	>10	5.12	5.12
Enterobacter aerogenes	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Escherichia coli	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Helicobacter pylori	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Klebsiella pneumoniae	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Listeria monocytogenes	>10	>10	>10	>10	>10	2.56	>10	>10	>10
Porphyromonas gingivalis	>10	0.32	>10	5.12	>10	>10	>10	>10	>10
Salmonella Rissen	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Salmonella Typhimurium	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Staphylococcus aureus	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Yersinia enterocolitica	>10	>10	>10	>10	>10	5.12	5.12	>10	5.12

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ 2 สมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยที่ความเข้มข้นต่ำสุดด้วยวิธีการเจือจางในอาหารแข็ง (Agar dilution) (ต่อ)

ชนิดของจุลินทรีย์	ค่า minimum inhibitory concentration (mg/mL)								
	เบญจกานี	โกฐน้ำเต้า	แค	มะกอก	สมอพิเภก	สมอไทย	โกฐพุงปลา	Ampicillin	Penicillin G[b]
Bacillus cereus	0.32	5.12	>10	10	5.12	10	5.12	-[a]	8
Enterobacter aerogenes	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	1	-
Escherichia coli	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	0.05	-
Helicobacter pylori	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	5	-
Klebsiella pneumoniae	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	0.5	-
Listeria monocytogenes	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	-	8
Porphyromonas gingivalis	>10	0.32	5.12	7	>10	>10	>10	0.05	-
Salmonella Rissen	>10	10	>10	>10	>10	>10	>10	0.05	-
Salmonella Typhimurium	>10	7	>10	7	>10	>10	>10	0.05	-
Staphylococcus aureus	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	-	-
Yersinia enterocolitica	0.32	5.12	5.12	10	5.12	10	2.56	0.05	-

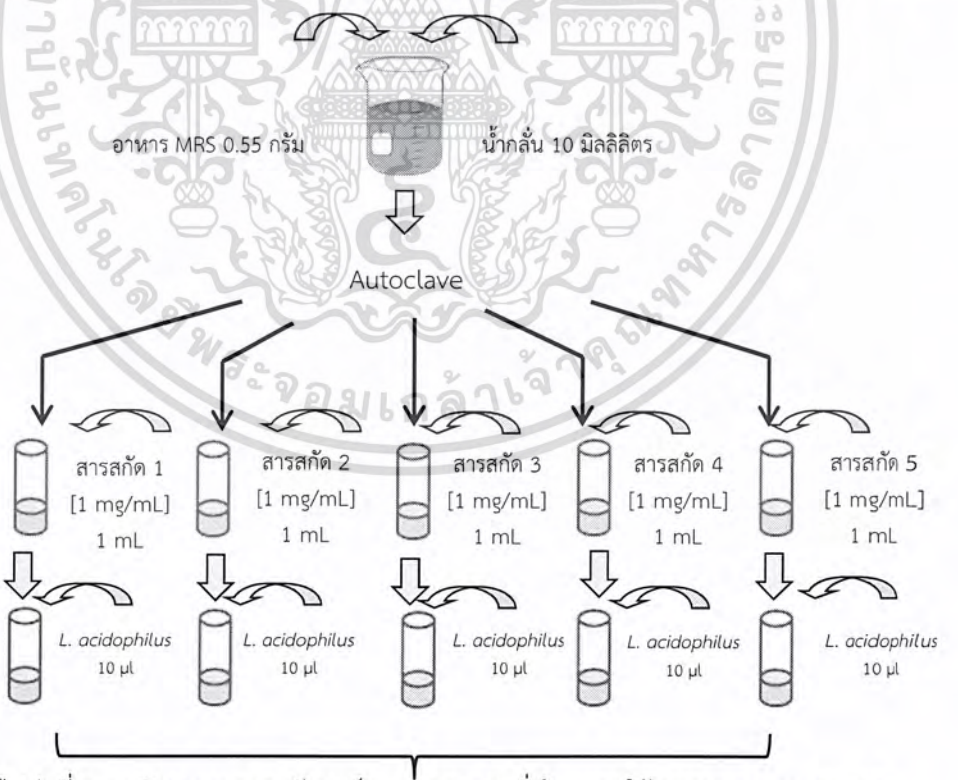
[a]ไม่ได้ทำการทดลอง (สำหรับยาปฏิชีวนะ) [b] ความเข้มข้นของ Penicillin G (unit/mL)

หมายเหตุ: สำหรับเชื้อ *Staphylococcus aureus* ถูกยับยั้งโดยยาปฏิชีวนะ Gentamicin ที่ความเข้มข้น 0.03 mg/mL แต่ต้านทานต่อยาปฏิชีวนะอื่นที่ทดสอบจึงไม่ได้ทำการทดลอง

ภาคผนวก ฉ

ขั้นตอนการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยต่อการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034

การศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยต่อการเจริญของ *L. acidophilus* TISTR 1034 ทำได้โดยเตรียมอาหารเหลว MRS ความเข้มข้น 2 เท่า โดยชั่งอาหาร MRS ปริมาณ 0.55 กรัม ลงในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตรลงไป จากนั้นปิเปตอาหารปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองจำนวน 5 หลอด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นระยะเวลา 15 นาที จากนั้นเติมสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยแต่ละชนิดที่มีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ละลายน้ำได้สูงความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่ละลายในสารละลาย DMSO ความเข้มข้นร้อยละ 10 ลงในหลอดอาหารดังกล่าว ซึ่งจะได้อาหารเหลว MRS ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดแต่ละชนิดในหลอดอาหารเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับชุดควบคุมเชิงบวกทำการทดลองเช่นเดียวกับวิธีการข้างต้น แต่จะใช้อินนูลินแทนสารสกัดและใช้สารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 สำหรับชุดควบคุมเชิงลบ



รูปที่ 1 (ฉ) ขั้นตอนการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยต่อการเจริญของ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034

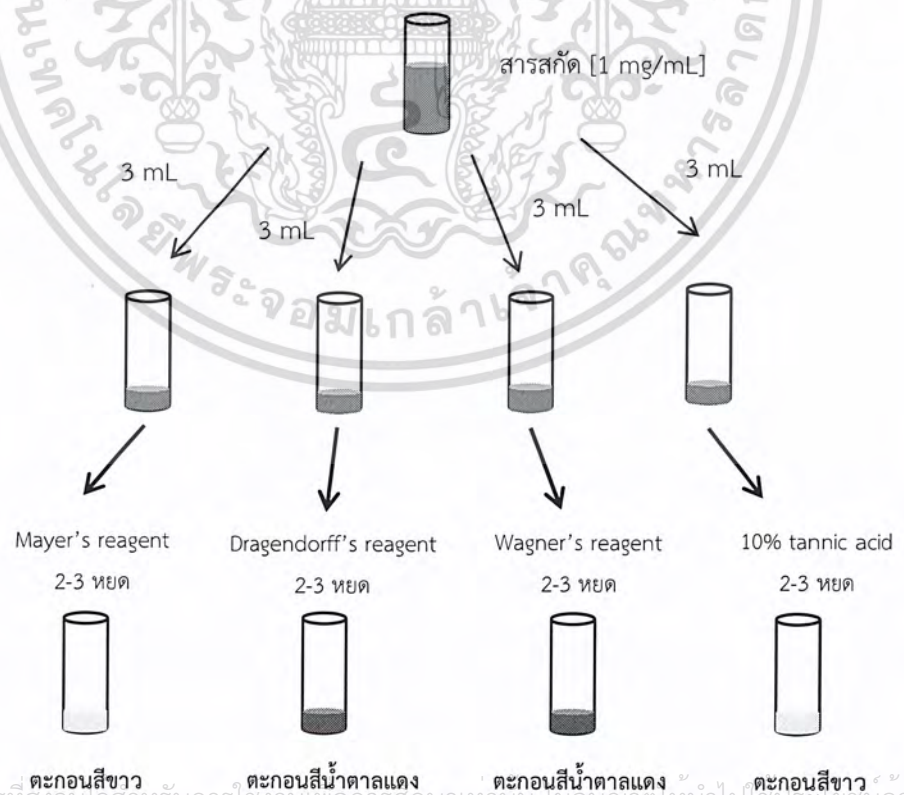
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช

การตรวจสอบหาสารพฤกษเคมีบางชนิดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

1. การตรวจหาสารอัลคาลอยด์ในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

สำหรับการตรวจหาสารอัลคาลอยด์ในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยนั้นจะทำการตรวจสอบตามวิธีของ Yisa (2009) ซึ่งมีวิธีการตรวจสอบดังนี้ เริ่มจากปิเปตสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเมทานอลความเข้มร้อยละ 30 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองจำนวน 4 หลอด จากนั้นหยดสารละลายเมเยอร์ (Mayer's reagent) สารละลายดราเกนดรอฟ (Dragendorff's reagent) สารละลายแวกเนอร์ (Wagner's reagent) สารละลายกรดแทนนิกความเข้มข้นร้อยละ 10 (10% tannic acid) ปริมาณ 2-3 หยดลงในหลอดทดลองแต่ละหลอดตามลำดับ สังเกตตะกอนที่เกิดขึ้น โดยจะต้องเกิดตะกอนอย่างน้อย 3 ใน 4 หลอดที่ทดสอบ ซึ่งสารละลายที่ใช้ทดสอบนั้นจะให้ตะกอนที่มีต่างกันดังนี้ Dragendorff's reagent และ Wagner's reagent ให้ตะกอนสีน้ำตาลแดง (reddish-brown) ส่วน Mayer's reagent และ 10% tannic acid ให้ตะกอนสีขาว (white) โดยวิธีการทดลองแสดงดังรูปที่ 1 (ช)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 1 (ช) วิธีการตรวจหาสารอัลคาลอยด์

วิธีการเตรียมสารละลายที่ใช้ทดสอบสามารถเตรียมได้ดังนี้

1.1 การเตรียมสารละลาย Mayer's reagent

ชั่ง Mercuric Chloride ปริมาณ 1.36 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 60 มิลลิลิตร จากนั้นชั่ง Potassium Iodide ปริมาณ 5.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร เท สารละลาย Potassium Iodide ลงในสารละลาย Mercuric Chloride จะทำให้ Mercuric Chloride นั้นละลายได้ดีและเร็วขึ้น ผสมให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น (kb.psu.ac.th/psukb/bitstream/2553/.../217060_app.pdf) (14 พ.ค. 2557)

1.2 การเตรียมสารละลาย Dragendorff's reagent

ชั่ง Bismuth subnitrate ปริมาณ 8.0 กรัม ละลายในน้ำปริมาตร 20 มิลลิลิตร (จะไม่ค่อยละลายมากนัก) จากนั้นชั่ง Potassium Iodide ปริมาณ 27.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 30 มิลลิลิตร นำสารละลาย Potassium Iodide เทลงในสารละลาย Bismuth subnitrate ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมกรดไนตริกความเข้มข้นร้อยละ 30 (30% nitric acid) ปริมาตร 12 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันอีกครั้ง ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

หมายเหตุ: การเตรียมสารละลาย Dragendorff's reagent จะต้องทำในตู้ดูดควัน (hood) เท่านั้น (kb.psu.ac.th/psukb/bitstream/2553/.../217060_app.pdf) (14 พ.ค. 2557)

1.3 การเตรียมสารละลาย Wagner's reagent

ชั่งไอโอดีน (Iodine) ปริมาณ 1.27 กรัมลงในบีกเกอร์ จากนั้นชั่ง Potassium Iodide ปริมาณ 2.0 กรัม ลงในบีกเกอร์อีกใบหนึ่ง ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร เทผสมลงในบีกเกอร์ที่มีไอโอดีนอยู่ คนให้ละลายเข้ากัน ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร (kb.psu.ac.th/psukb/bitstream/2553/.../217060_app.pdf) (14 พ.ค. 2557)

1.4 การเตรียมสารละลายกรดแทนนิกความเข้มข้นร้อยละ 10

ชั่งกรดแทนนิก ปริมาณ 10.0 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

หมายเหตุ: สำหรับการตรวจหาสารอัลคาลอยด์นั้นไม่ได้ทำการทดสอบ เนื่องจากปริมาณของสารสกัดหยาบส่วนใหญ่มีไม่เพียงพอต่อการทดสอบ เช่น สารสกัดหยาบจากชุมเห็ดเทศ และสารสกัดหยาบจากเจตมูลเพลิงแดง เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การตรวจหาสารซาโปนินในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

สำหรับวิธีการตรวจหาสารประกอบซาโปนินในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยนั้น ดัดแปลงวิธีการของ Akinjogunla และคณะ (2010) ดังนั้น เริ่มจากชั่งสารสกัดหยาบปริมาณ 1.5 กรัม ลงในหลอดฝาเกลียว จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่น เขย่าเป็นเวลา 2 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น โดยหากมีฟองเกิดขึ้น แสดงว่าสารสกัดนั้นมีซาโปนินเป็นองค์ประกอบ โดยวิธีการทดลองแสดงดังรูปที่ 2 (ช)

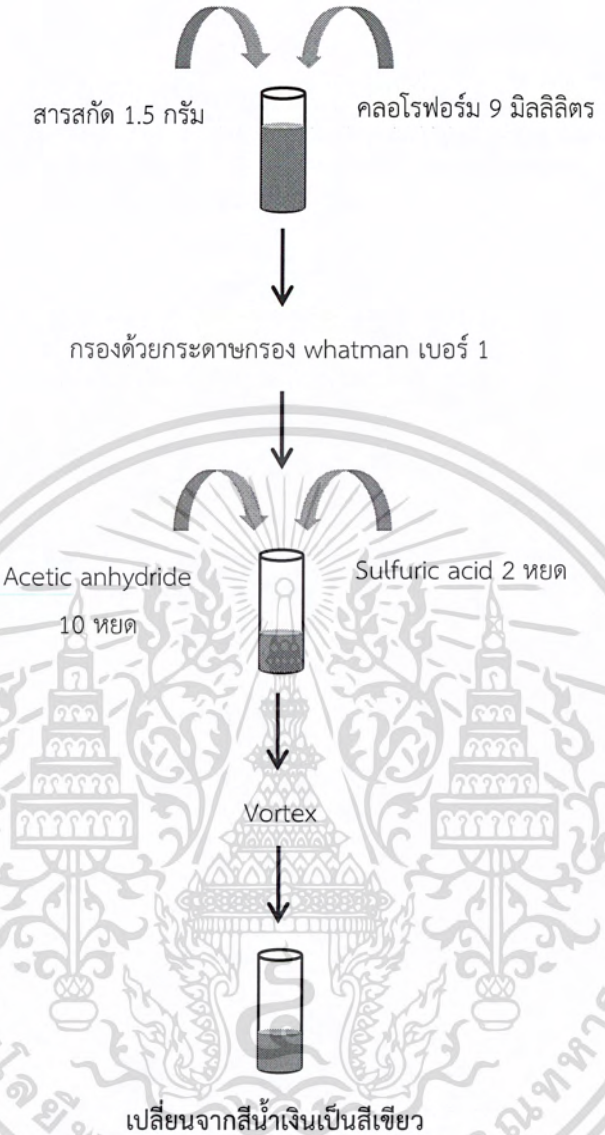
รูปที่ 2 (ช) วิธีการตรวจหาสารซาโปนิน

หมายเหตุ: สำหรับการตรวจหาสารซาโปนินนั้นไม่ได้ทำการทดสอบ เนื่องจากสารสกัดหยาบทุกชนิดมีปริมาณไม่เพียงพอต่อการทดสอบ

3. การตรวจหาสารเทอร์พีนในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย

การตรวจหาสารเทอร์พีนในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทยนั้น ดัดแปลงจากวิธีการของ Akinjogunla และคณะ (2010) ดังนี้ เริ่มจากชั่งสารสกัดหยาบปริมาณ 1.5 กรัม ลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร จากนั้นเติมคลอโรฟอร์ม (Chloroform) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 (ระวังอย่างให้คลอโรฟอร์มระเหยหมด) นำส่วนที่กรองได้นั้นมาเติมแอซีติก แอนไฮไดร์ด (acetic anhydride) และกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาณ 10 และ 2 หยดตามลำดับ สังเกตการเปลี่ยนสี หากเปลี่ยนจากสีน้ำเงินไปเป็นสีเขียว แสดงว่าสารสกัดนั้นมีเทอร์พีนเป็นองค์ประกอบ โดยวิธีการทดลองแสดงดังรูปที่ 3 (ช)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3 (ช) วิธีการทดสอบหาสารเทอร์พีน

หมายเหตุ: สำหรับการตรวจหาสารเทอร์พีนนั้นไม่ได้ทำการทดสอบ เนื่องจากสารสกัดหยาบทุกชนิดมีปริมาณไม่เพียงพอต่อการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้