อัลลีโลพาทีและฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้น

ALLELOPATHIC AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF CRUDE EXTRACTS FROM *Zanthoxylum Limonella* ALSTON LEAVES

ชลิตวรรณ แก้วไพฑูรย์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ALLELOPATHIC AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF CRUDE EXTRACTS FROM *Zanthoxylum Limonella* ALSTON LEAVES

CHALITTAWAN KEAWPAITOON

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULLFILLMENT OF

THE REQUIREMENTS FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRAL CHEMISTRY)

DEPARTMENT OF CHEMISTRT, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT' INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ อัลลีโลพาทีและฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้น Allelopathic and Antimicrobial Activities of Crude Extracts from *Zanthoxylum Limonella* Alston Leaves

ชื่อนักศึกษา นางสาว ชลิตวรรณ แก้วไพฑูรย์ รหัสนักศึกษา 58050454

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)

ภาควิชา เคมี

คณะ วิทยาศาสตร์

ปีการศึกษา 2561

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม) ปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.ณัฐวุฒิ เชิงชั้น ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.ณวสิทธิ์ โชติแสง กรรมการ	
ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ อัลลีโลพาทีและฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้น
ชื่อนักศึกษา นางสาว ชลิตวรรณ แก้วไพฑูรย์ รหัสนักศึกษา 58050454
ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมีอุตสาหกรรม)
ภาควิชา เคมี
คณะ วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา 2561
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.พัชนี เจริญยิ่ง

บทคัดย่อ

ฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีและการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้นได้ถูกตรวจสอบ ใบกำจัดต้นแห้งบดละเอียดถูกสกัดด้วยเมทานอลได้สารสกัดหยาบเมทานอล จากนั้นนำสารสกัดหยาบเมทานอลละลายในน้ำและทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ได้แก่ เฮกเซนและเอทิล แอซิเตต ได้สารสกัดหยาบเฮกเซนและสารสกัดหยาบเอทิล แอซิเตต นอกจากนั้น สารสกัดหยาบเมทานอลได้ถูกแยกออกโดยการสกัดแบบแบ่งส่วนด้วยสารละลายกรด-เบสได้สารสกัดหยาบที่เป็นกลาง (NE) และสารสกัดหยาบที่เป็นกรด (AE) สำหรับการศึกษาฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีได้ทำการทดสอบกับพืชทดสอบสองชนิดได้แก่ ผักโขมจีนและหญ้าข้าวนก การทดสอบดำเนินการที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 500, 1000, 2000, 4000 และ 8000 ppm ในขณะที่สารละลาย 0.1 เปอร์เซ็นต์ของทวีน 80 เป็นชุดควบคุม ผลการทดลองพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 2000 ถึง 8000 ppm สารสกัดหยาบเฮกเซน สารสกัดหยาบเอทิล แอซิเตต และสารสกัดหยาบ NE มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน ในขณะที่ ที่ระดับความเข้มข้น 8000 ppm สารสกัดหยาบ NE มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากใบกำจัดต้นมีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช เป็นที่น่าเสียดายสารสกัดหยาบทุกชนิดจากใบกำจัดต้นไม่แสดงฤทธิ์ต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์

คำสำคัญ : กำจัดต้น, อัลลีโลพาที, การต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Allelopathic and Antimicrobial Activities of Crude Extracts from *Zanthoxylum Limonella* Alston Leaves
Student	Miss Chalittawan Keawpaitoon Student ID 58050454
Degree	Bachelor of Science
Department	Chemistry
Faculty	Science
University	King Mongkut' Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2018
Advisor	Assist.Professor Dr.Patchanee Charoenying

Abstract

Allelopathic and antimicrobial activities of crude extracts from the leaves of *Zanthoxylum Limonella* Alston were investigated. The air-dried powdered leaves of *Z. Limonella* Alston were extracted with methanol. The residue was redissolved in water which was then subjected to sequential extraction with two organic solvents: hexane and ethyl acetate to give crude hexane extract and crude ethyl acetate extract. In addition, crude methanol extract of *Z. Limonella* Alston leaves was separated by acid-base solvent partitioning into crude neutral (NE) and crude acidic (AE) extracts. For allelopathic activity, each of these extracts was comparative studied on seed germination and seedling growth of 2 tested plants, *Amaranthus tricolor* L. (Chinese amaranth) and *Echinocloa crus-galli* (L.) Beauv (Barnyardgrass). The test was carried out at the concentrations 500, 1000, 2000, 4000 and 8000 ppm whereas the 0.1% solution of tween 80 was used as control. The results found that at the concentrations 2000 to 8000 ppm crude hexane extract, crude ethyl acetate extract and crude NE extract gave the highest inhibitory effect on Chinese amaranth seed germination and seedling growth while at the concentration 8000 ppm, crude AE extract exhibited the highest inhibitory effect on Barnyardgrass seed germination and seedling growth. These results suggest that extracts from *Z. Limonella* Alston had potent inhibitory effect on plant growth. Unfortunately, all of the crude extracts were not active against the tested microbial.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Keywords : *Zanthoxylum Limonella* Alston, Allelopathy, Antimicrobial

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยการเอื้อเฟื้อข้อมูลที่เป็นประโยชน์ และความร่วมมือต่างๆ ของหลายท่าน ซึ่งให้การสนับสนุนผู้วิจัยตั้งแต่เริ่มต้นงานวิจัยจนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. พัชนี เจริญยิ่ง อาจารย์ประจำคณะวิทยาศาสตร์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาของโครงงานพิเศษนี้ ที่กรุณารับ เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาให้แก่คณะรู้วิจัย รวมทั้งสละเวลาให้คำแนะนำ และความคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ เกี่ยวกับแนวทางการทำวิจัย การปรับปรุงงานวิจัยและการนำเสนองานวิจัยนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ท่านคอยชี้แนะ ทำให้ผู้วิจัยได้รับข้อมูลที่ครบถ้วน และสามารถนำมาใช้วิเคราะห์วางแผน รวมทั้งแผนงานต่างๆ และสรุปข้อมูลได้อย่างราบรื่น ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างมากตลอดจน ผศ.ดร. ณัฐวุฒิ เชิงชั้น และ ผศ.ดร ณวสิทธิ์ โชติแสง ซึ่งเป็นกรรมการสอบโครงงานพิเศษนี้ที่ให้คำแนะนำในการแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เพื่อให้โครงงานพิเศษนี้มีความถูกต้องสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่าน ที่ไม่ได้กล่าวนามไว้ในที่นี้ที่กรุณาสละเวลาเอื้อเฟื้อข้อมูลและให้ความร่วมมือในด้านต่างๆ ที่มีส่วนช่วยให้การจัดทำโครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ คุณค่าอันพึงมีจากงานวิจัยฉบับนี้ คณะผู้วิจัยขอมอบเป็นเครื่องบูชาพระคุณ บิดา มารดา ครูอาจารย์ ผู้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ และวางรากฐานการศึกษาแก่คณะผู้วิจัย

ชลิตวรรณ แก้วไพฑูรย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญ(ต่อ)	จ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
คำย่อ/สัญลักษณ์	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสมุนไพร	3
2.2 สารสำคัญในพืชสมุนไพร	4
2.3 การเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพรและ การตรวจสอบสารสำคัญทางพฤษเคมีเบื้องต้น	8
2.4 วิธีการสกัดแยกและพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สำคัญจากพืชสมุนไพร	10
2.5 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับวัชพืช	12
2.6 อัลลีโลพาที (Allelopathy)	14
2.7 วิธีและเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ	15
2.8 กำจัดต้น (*Zanthoxylum limonella* Alston)	17
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	18
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	
3.1 สารเคมีในการทดลอง	23
3.2 อุปกรณ์ในการทดลอง	23
3.3 แหล่งที่มาของพืชในการทดลอง	24
3.4 ขั้นตอนการวิจัย	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.5 วิธีการดำเนินการทดลอง 25

3.6 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้น โดยวิธี Disc diffusion method 30

3.7 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้นต่อการงอก และการเจริญเติบโตของพืชทดสอบด้วยวิธี Vial Test 30

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลของการสกัดสารในแต่ละชั้นของตัวทำละลาย 32

4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้น 33

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้นต่อการงอก และการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 33

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้น 41

5.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้น 41

5.3 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้นต่อการงอก และการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 42

5.4 วิจารณ์ผลการวิจัย 42

5.5 ข้อเสนอแนะ 42

เอกสารอ้างอิง 43

ภาคผนวก 47

ภาคผนวก ก 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ผลได้ร้อยของสารสกัดหยาบเมทานอลส่วนที่หนึ่ง 32
4.2 ผลได้ร้อยของสารสกัดหยาบเมทานอลส่วนที่สอง 32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.8 ลักษณะต้นกำจัดต้น 17

3.1 ขั้นตอนการสกัดขั้นเมทานอลด้วยวิธีแบบ Sequential Extraction 28

3.2 ขั้นตอนการสกัดขั้นเมทานอลด้วยวิธีการสกัดแบบ Partition Extraction 29

4.1 ผลของสารสกัดหยาบต่อการยับยั้งต่อการงอกของหญ้าข้าวนก 34

4.2 ผลของสารสกัดหยาบต่อการยับยั้งความยาวต้นของหญ้าข้าวนก 35

4.3 ผลของสารสกัดหยาบต่อการยับยั้งความยาวรากของหญ้าข้าวนก 36

4.4 ผลของสารสกัดหยาบต่อการยับยั้งต่อการงอกของผักโขมจีน 38

4.5 ผลของสารสกัดหยาบต่อการยับยั้งความยาวต้นของผักโขมจีน 39

4.6 ผลของสารสกัดหยาบต่อการยับยั้งความยาวรากของผักโขมจีน 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
MeOH	เมทานอล
EtOAc	เอทิล แอซิเตต
ppm	หนึ่งส่วนในล้านส่วน (Part per milion)
AR	สารเคมีเกรดงานวิเคราะห์ (Analytical Reagent grade)
AQ	สารสกัดชั้นน้ำ (Aqueous Phase Extracts)
NE	ชั้นสารสกัดที่มีฤทธิ์เป็นกลาง (Neutral Extracts)
AE	ชั้นสารสกัดที่มีฤทธิ์เป็นกรด (Acid Extracts)
CRD	แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design)
%	เปอร์เซ็นต์
%(v/v)	เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตร
N	Normality

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พืชสมุนไพรจัดเป็นพืชที่มีความสำคัญกลุ่มหนึ่ง ซึ่งถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางโดยมนุษย์ ทั้งในด้านการประกอบอาหาร การกำจัดวัชพืชและศัตรูพืช รวมถึงการใช้เป็นยารักษาโรคและที่สำคัญคือพืชในกลุ่มนี้สามารถสร้างสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติได้ ซึ่งสารดังกล่าวเป็นสารชีวเคมีที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ภายในพืช สัตว์ หรือจุลินทรีย์ [1] ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ได้จากพืชสมุนไพรได้รับความนิยมจากผู้บริโภคเป็นอย่างมาก อันมีสาเหตุมาจากการใส่ใจในเรื่องสุขภาพในวิถีทางธรรมชาติที่มากขึ้น [2] อีกทั้งยังถือว่าเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีความหลากหลายทางชีวภาพ สามารถทดแทนได้ง่าย มีความปลอดภัยต่อการรับประทาน เนื่องจากมีการออกฤทธิ์ค่อนข้างอ่อน มีโอกาสในการเข้าถึงการรับประทานได้ง่ายกว่ายาหลายชนิดที่ได้จากสังเคราะห์ และยังเป็นการลดผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมจากการสังเคราะห์ยาชนิดใหม่ [3] จากการที่มนุษย์ทราบถึงสรรพคุณทางยาของพืชสมุนไพร อันจะเห็นได้จากตำราพื้นบ้านหรือคำบอกเล่าสืบต่อกันมาของบรรพบุรุษ [4] ทำให้ทราบว่าพืชสมุนไพรมีสรรพคุณทางยาและประโยชน์ต่อร่างกายมากมาย ประกอบกับสถานการณ์การอุบัติของโรคชนิดใหม่ จึงเป็นที่มาของการพัฒนาและค้นคว้าวิจัยอย่างต่อเนื่องเพื่อพัฒนาสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติให้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในทางเภสัชวิทยาได้ หรืออาจกล่าวได้ว่าเป็นการค้นหาโมเลกุลต้นแบบชนิดใหม่ ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์เพื่อบำบัดรักษาและบรรเทาอาการของโรคอุบัติใหม่ที่อาจเกิดขึ้นได้ [5] จากรายงานผลการวิจัยในปัจจุบัน พบว่าพืชสมุนไพรส่วนใหญ่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในด้านการรักษาโรค เช่น กระเทียมช่วยลดปริมาณคลอเลสเตอรอล [6] ขมิ้นสามารถใช้เป็นยาลดกรด [7] มะขามแขกใช้รักษาภาวะท้องผูกเรื้อรัง [8] หัวข้าวเย็นใช้รักษามะเร็งและเอดส์ [9] เป็นต้น แต่เนื่องจากพืชสมุนไพรหลายชนิดยังไม่มีรายงานการตรวจสอบสรรพคุณและวิธีการใช้งานสมุนไพรอย่างแน่ชัด จึงทำให้นักวิจัยสนใจที่จะศึกษาและพิสูจน์สรรพคุณของสมุนไพรด้วยวิธีทางวิทยาศาสตร์ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการนำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ได้อย่างปลอดภัยและเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาสมุนไพรในด้านการแพทย์และเภสัชกรรมเพื่อผลิตยารักษาโรค รวมทั้งยังทำให้ทราบว่าสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีอยู่ในพืชสมุนไพรเป็นสารกลุ่มใดและสามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อโรคและรักษาอาการเจ็บป่วยได้อย่างไร ซึ่งจะเป็นแนวทางนำไปสู่การค้นคว้าวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติได้ดียิ่งขึ้นและสามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์ธรรมชาติไปใช้ในประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ [10] การนำสมุนไพรมาเป็นองค์ประกอบหนึ่งของยารักษาโรคในมนุษย์และสัตว์ หรือเป็นอาหารเสริมบำรุงร่างกาย วิวัฒนาการของการใช้สมุนไพรในปัจจุบันได้มีแนวโน้มที่มีรูปแบบน่าใช้และให้ผลการรักษาอย่างแน่นอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น และห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา

นักวิจัยจึงได้สกัดสารสำคัญในการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามาใช้เป็นยาในรูปของสารบริสุทธิ์ [11] เช่น การพัฒนาสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในกลุ่มลาเมลลารินที่มีศักยภาพเป็นสารต้านมะเร็ง [12] หรือการศึกษาฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและสารสังเคราะห์ที่เป็นอนุพันธ์ของสติลบีน [13]

กำจัดต้นหรือพริกหอม (*Zanthoxylum Limonella* Alston L.) จัดเป็นพืชที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างมากในปัจจุบัน โดยถูกใช้เป็นเครื่องเทศชนิดหนึ่งที่นิยมนำมาประกอบอาหารหรือรับประทานแบบสดในภาคเหนือของประเทศไทย อีกทั้งยังจัดว่าเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยา โดยสามารถนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในยาบำรุงหัวใจ บำรุงเลือด ขับลมในทางเดินทางอาหาร แก้วิงเวียนศีรษะ เป็นต้น [14] นอกจากนั้น ในด้านการเกษตร จรัล [15] ได้รายงานผลการวิจัยเกี่ยวกับสารสกัดน้ำและสารสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์จากเมล็ดกำจัดต้นมีผลต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโต (ปรากฏการณ์อัลลีโลพาที) ของพืชทดสอบ ซึ่งงานวิจัยนี้นำไปสู่การค้นพบสารอัลลีโลพาทีอีกชนิดหนึ่ง จากที่กล่าวมาทั้งหมดข้างต้น อีกทั้งยังเห็นได้ว่าการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของใบกำจัดต้นยังไม่มีรายงานการศึกษาในหัวข้อนี้ โครงงานพิเศษนี้จึงมีความมุ่งเน้นการทดสอบพื้นฐานที่จะพิสูจน์ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบกำจัดต้น ได้แก่ฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีและการต้านเชื้อจุลินทรีย์

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ฤทธิ์ทางอัลลีโลพาทีและการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบกำจัดต้น

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. การสกัดสารจากส่วนใบของกำจัดต้นโดยใช้วิธีการสกัดแบบ Sequential extraction และการสกัดแบบ Partition extraction

2. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ฤทธิ์การยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ (อัลลีโลพาที) ด้วยวิธี Vial Test และฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc Diffusion Method

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงฤทธิ์อัลลีโลพาทีและการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบกำจัดต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสมุนไพร

2.1.1 ความหมายของสมุนไพร [15]

สมุนไพรเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่มีประวัติอยู่ควบคู่มากับชีวิตความเป็นอยู่ของมวลมนุษยชาติมานาน โดยคำว่า สมุนไพร ตามพระราชบัญญัติยา หมายถึง ยาที่ได้จากพฤกษชาติ สัตว์ และแร่ธาตุ ซึ่งยังไม่ได้ทำการผสมหรือปรุงแปรสภาพ มนุษย์รู้จักนำพืชมาใช้ประโยชน์ตั้งแต่สมัยดึกดำบรรพ์ ด้วยการใช้เป็นอาหาร ใช้เป็นเชื้อเพลิง เป็นที่อยู่อาศัยและยารักษาโรค ซึ่งการใช้สมุนไพรนั้น มีการใช้กันอย่างกว้างขวางในทุกครัวเรือนมาตั้งแต่โบราณจนถึงสมัยปัจจุบัน สมุนไพรยังเป็นพืชที่มีคุณค่าทางยาและทางเศรษฐกิจที่ประชาชนชาวไทยยังคงให้ความนิยมอยู่ และใช้ในการปรุงยาแผนโบราณอย่างกว้างขวาง ปัจจุบันมักถูกดัดแปลงให้เป็นรูปแบบที่แตกต่างกันเพื่อให้เหมาะสมกับการนำไปใช้ เช่น บดเป็นผง อัดเป็นเม็ด เป็นต้น

2.1.2 ความสำคัญของพืชสมุนไพร [16]

1. ด้านสิ่งแวดล้อม เป็นทรัพยากรธรรมชาติที่สามารถทดแทนได้ง่าย และยังเป็นการลดผลกระทบของการใช้สารเคมีอันตรายเพื่อการสังเคราะห์ยาบางชนิด

2. ด้านการบริโภค มีความปลอดภัยในการบริโภคทั้งภายนอกและภายใน เนื่องจากสมุนไพรส่วนมากมีฤทธิ์ค่อนข้างอ่อน และเหมาะสำหรับผู้ที่ไม่สามารถเข้าถึงแหล่งจำหน่ายยาแผนปัจจุบัน

3. ด้านเศรษฐกิจ สามารถลดปัญหาการขาดแคลนยาแผนปัจจุบัน ทำให้สามารถประหยัดค่าใช้จ่ายในการซื้อยา และยังถือว่าเป็นพืชเศรษฐกิจ สามารถส่งไปจำหน่ายตลาดทั้งในและส่งออกไปยังต่างประเทศ

2.1.3 ประโยชน์ของพืชสมุนไพร

1. ด้านเภสัชกรรม โดยถูกใช้เป็นสารตั้งต้นเพื่อการสังเคราะห์ยาแผนปัจจุบัน รวมถึงการใช้เป็นวัตถุดิบเบื้องต้นในการสกัดสารเพื่อใช้ในการผลิตยาแผนโบราณ

2. ด้านอาหาร ใช้เป็นส่วนประกอบหลักสำหรับการประกอบอาหาร การปรุงแต่งรส กลิ่นและสีของอาหาร รวมถึงการใช้ในการผลิตอาหารเสริม

3. ด้านอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง โดยถูกใช้เป็นสารตั้งต้นและองค์ประกอบหลักในการผลิตเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้อง

4. ด้านการเกษตร โดยถูกใช้ในการป้องกันและกำจัดวัชพืชและแมลงศัตรูพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 ข้อจำกัดของการใช้งานพืชสมุนไพร

1. ควรใช้ให้ถูกต้องตามประเภท เนื่องจากพืชที่มีอยู่มากมายและบางชนิดมีลักษณะคล้ายคลึงกัน จึงควรพิจารณาว่าพืชสมุนไพรที่นำมาใช้ ว่ามีลักษณะถูกต้องตามที่ต้องการ

2. ควรใช้ให้ถูกต้องตามขนาดและสัดส่วน เนื่องจากการบริโภคในปริมาณที่น้อยเกินไปอาจทำให้ไม่สามารถเห็นผลในการรักษา ในขณะเดียวกัน หากบริโภคในปริมาณที่มากเกินไปอาจทำให้เกิดผลข้างเคียงตามมาได้

3. ควรเตรียมให้ถูกต้องตามวิธี การเตรียมยาจากพืชสมุนไพรเป็นเรื่องที่ค่อนข้างยุ่งยาก กล่าวคืออาจต้องใช้พืชสมุนไพรหลายชนิดในการเตรียมยาหนึ่งครั้ง หรืออาจจะต้องเติมสารอื่นหรือองค์ประกอบอื่นหลายอย่าง ทำให้เกิดความยุ่งยากในการเตรียมยา

4. ควรเห็นผลในการรักษาค่อนข้างช้า

5. พืชสมุนไพรบางชนิดอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงต่อผู้ใช้ จึงมีข้อจำกัดในการใช้สมุนไพรบางประการ

2.1.5 ข้อควรระวังในการใช้ยาสมุนไพร

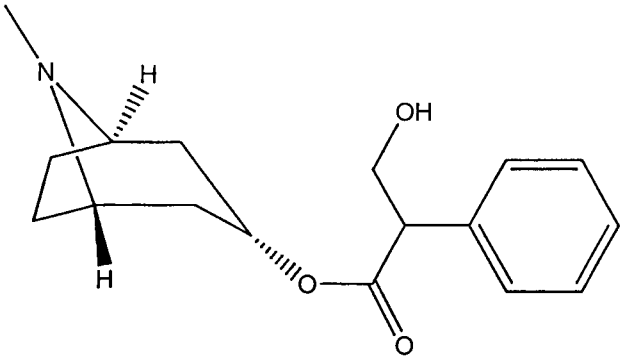
1. ไม่ควรใช้ยาที่ขึ้นราและมีสภาพเก่าจนเสื่อมคุณภาพ
2. ใช้ยาให้ตรงกับโรคและใช้ในปริมาณเพียงพอกับอาการของโรค
3. อย่าให้มีพืชชนิดอื่นหรือวัตถุชนิดอื่นปะปน
4. การใช้ยาสมุนไพรบางชนิดควรงดอาหารที่มีรสจัดทุกชนิดจึงจะมีประสิทธิภาพ

2.2 สารสำคัญในพืชสมุนไพร [17]

พืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางยาแตกต่างกัน โดยสารเคมีที่อยู่ในเซลล์หรือในเนื้อเยื่อพืชทุกชนิดเป็นผลมาจากการสังเคราะห์แสงของพืชทั้งสิ้น พืชสมุนไพรบางชนิดใช้เป็นเครื่องเทศได้เช่น กระเทียม หอม ผักชี พริก ขมิ้นและกระชายเป็นต้น ในพืชสมุนไพรมีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางยาเป็นสารเคมีที่มีผลต่อสรีรวิทยาของร่างกาย แบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ได้ 7 กลุ่ม ดังนี้

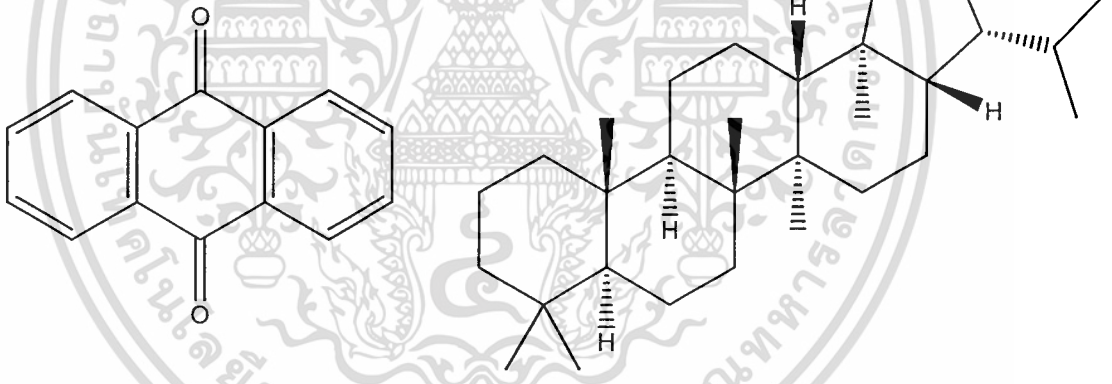
1. แอลคาลอยด์ (Alkaloid) พบมากในพืชชั้นสูง เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (organic nitrogen compounds) มีสมบัติทั่วไป คือ มักมีรสขม มีฤทธิ์เป็นด่างเมื่ออยู่ในรูปของเกลือไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvents) เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ เป็นต้น ตัวอย่างของแอลคาลอยด์ได้แก่ Atropine 1 จากต้นลำโพงมีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ จึงใช้ผสมในยาแก้ปวดท้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



1

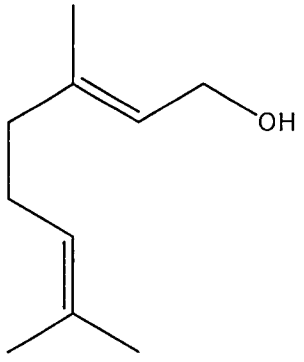
2. ไกลโคไซด์ (Glycoside) เป็นสารประกอบซึ่งประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นน้ำตาล และส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาล การที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบทำให้สารในกลุ่มนี้สามารถละลายน้ำได้ดีขึ้น ซึ่งมีสูตรโครงสร้างและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาแตกต่างกันออกไป เช่น Anthraquinone 2 มีฤทธิ์เป็นยาถ่าย หรือหากเป็น Triterpene 3 จะมีฤทธิ์ลดการอักเสบหรือขยายหลอดลม เป็นต้น



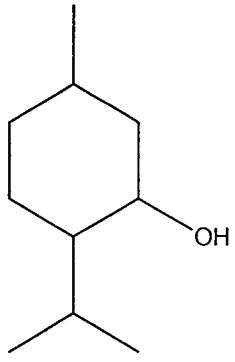
2 3

3. น้ำมันหอมระเหย (Essential oil) พบได้ในหลายส่วนของพืช เช่น ดอก ใบ ผล กลีบเลี้ยง เป็นต้น มีลักษณะเป็นน้ำมันที่มีกลิ่นและรสเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายในอุณภูมิห้อง ไม่มีสี สารบางชนิดใช้ปรุงแต่งกลิ่นของยา ใช้เป็นน้ำหอม Geraniol 4 ในน้ำมันดอกกุหลาบ Menthol 5 ในน้ำมันสาระแหน่ ซึ่งใช้แต่งกลิ่นอาหาร บางชนิดมีสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

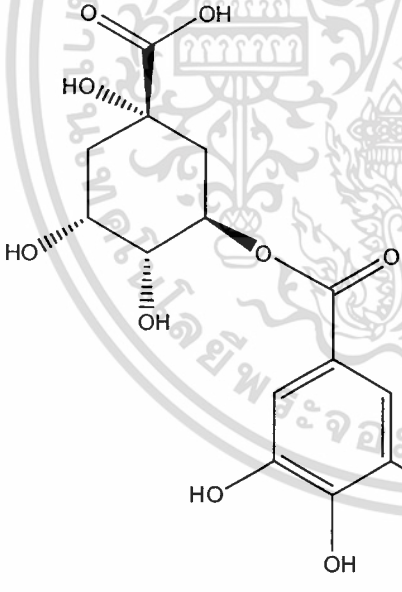


4

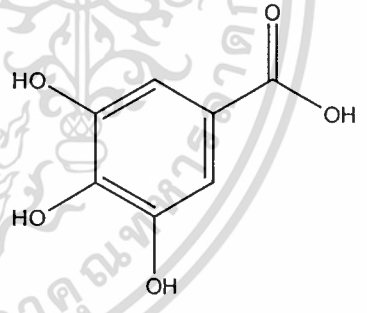


5

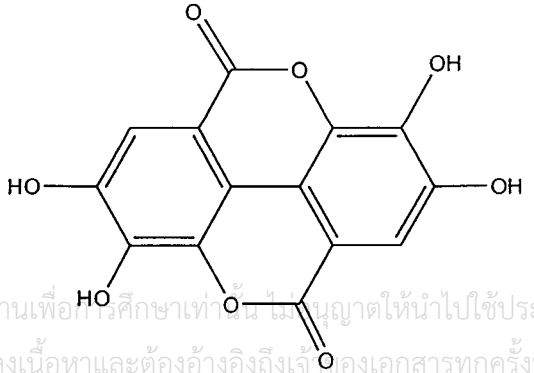
3. แทนนิน (Tannin) เป็นสารจำพวกพอลิฟีนอล (polyphenol) เป็นสารประกอบที่พบในพืชทั่วไป มีรสฝาด มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน สามารถตกตะกอนโปรตีนเมื่อทำปฏิกิริยากับเกลือคลอไรด์ของเหล็กโดยจะให้สีเขียว น้ำเงินหรือดำ ใช้บรรเทาอาการท้องร่วงและมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ใช้ในงานอุตสาหกรรมฟอกหนัง สมุนไพรที่มีองค์ประกอบเป็นแทนนิน เช่น เปลือกทับทิม ตัวอย่างแทนนินได้แก่ Theogallin 6, Gallic acid 7 และ Ellagic acid 8



6



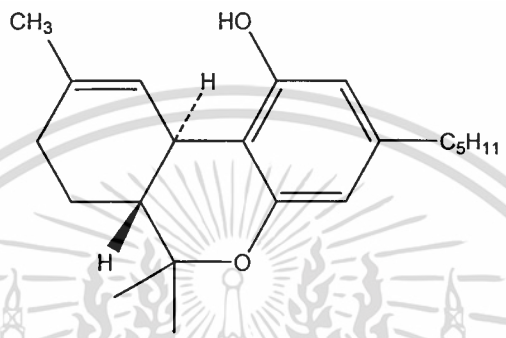
7



8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

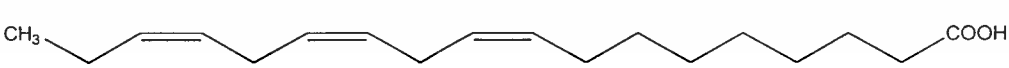
4. เรซินและบาลซัม (Resins และ Balsams) เป็นของเหนียวที่พบในพืชบางชนิด จะพบเมื่อกรีดหรือทำให้พืชนั้นเป็นแผล บางชนิดใช้เป็นยา สารในกลุ่มนี้ประกอบด้วยเรซินและสารประกอบที่มีเรซินเป็นองค์ประกอบ เช่น โอเลโอเรซิน, โอเลโอกัมเรซิน, บาลซัม ยกตัวอย่างเช่น Tetrahydrocannabinol 9 เป็นสารสำคัญในเรซินที่ได้จากส่วนของช่อดอกแห้งของต้นกัญชาตัวเมีย มีฤทธิ์ทำให้เกิดอาการเคลิ้มฝัน



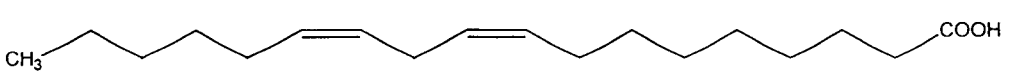
9

5. คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) เป็นสารอินทรีย์ที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน โดยมักพบไฮโดรเจนและออกซิเจนในอัตราส่วน 2 : 1 เป็นกลุ่มสารที่พบได้ทั้งในพืชและสัตว์ คาร์ไฮเดรตในพืชสร้างขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงและถูกเก็บสะสมไว้ ซึ่งถูกนำมาใช้เป็นอาหารของคนและสัตว์ คาร์โบไฮเดรตและอนุพันธ์ของคาร์โบไฮเดรตนำมาใช้ประโยชน์ในทางเภสัชกรรม

6. ลิพิด (Lipids) เป็นสารประกอบจำพวกเอสเทอร์ (Ester) ที่เกิดจากโมเลกุลของกรดไขมันที่มีขนาดสายโซ่ยาว (long chain fatty acid) ทำปฏิกิยากับแอลกอฮอล์ (alcohol) นำมาใช้เป็นอาหารหรือประโยชน์ทางเภสัชกรรม เช่น α-linolenic acid 10 และ linolenic acid 11



10



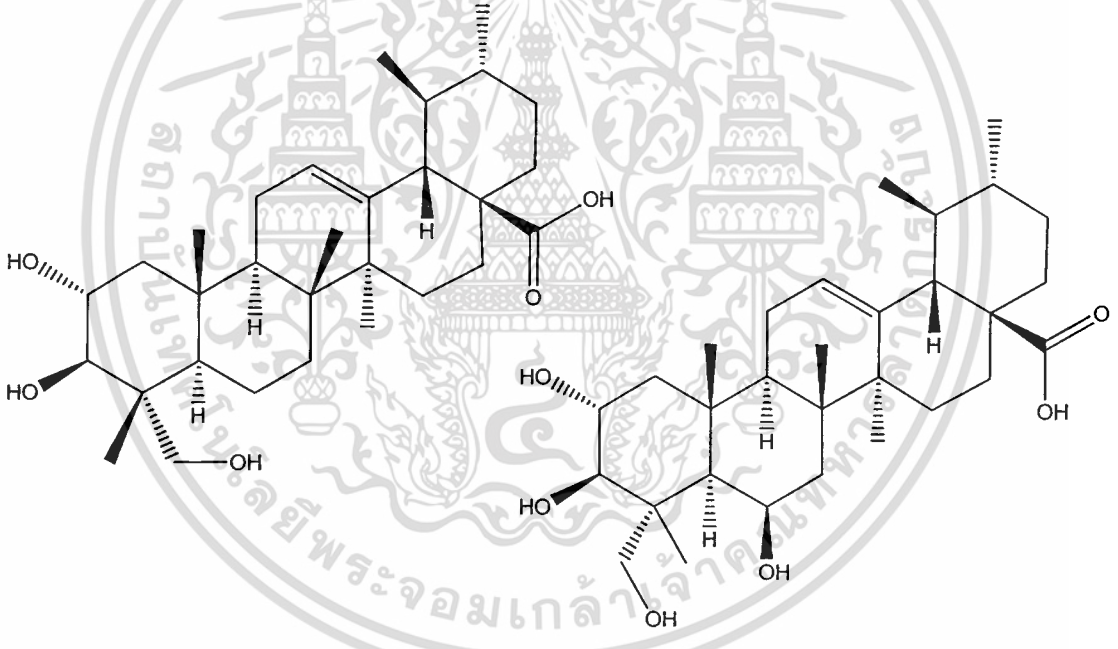
11

7. เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) เป็นสารในกลุ่มสารอินทรีย์ที่พบมากในพืชชั้นสูง โดยสามารถพบได้ในหลายส่วนของพืช ตั้งแต่เมล็ด ลำต้น ดอก หรือใบ และพบในพืชชั้นต่ำบางชนิดเช่น รา มอส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่าย เป็นต้น และยังสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตใต้ทะเลได้เช่นกัน เทอร์พีนอยด์เกิดจากการเชื่อมต่อกันของไอโซพรีนตั้งแต่ 2 หน่วยขึ้นไปทำให้เกิดความหลากหลายของเทอร์ปีนอยส์จนกระทั่ง L.Ruzicka ได้ตั้งกฎการเกิดสารจำพวกเทอร์พีนอยด์ชื่อว่า "Biogenic Isoprene Rule"

เทอร์พีนอยด์เป็นสารที่มีชีวสังเคราะห์ผ่านวิธีแอซิเตต-กรดเมวาโลเนต และยังมีสารอีกกลุ่มที่มิได้ผ่านวิถีดังกล่าวซึ่งเรียกสารกลุ่มนี้ว่า "เมโรเทอร์พีนอยด์" (Meroterpenoids) เช่น วิตามินเค และวิตามินอี เทอร์พีนอยด์เป็นสารที่ประกอบด้วยส่วนของไฮโดรคาร์บอนในรูปสารประกอบออกซิไดซ์ มีการแบ่งประเภทของเทอร์พีนอยด์ออกเป็นหลายประเภทตามจำนวนการเชื่อมต่อของไอโซพรีน เช่น มอนอเทอร์พีนอยด์, ไดเทอร์พีนอยด์, ไตรเทอร์พีนอยด์ และเตตระเทอร์พีนอยด์ โดยสารในกลุ่มไตรเทอร์พีนอยด์ มีฤทธิ์สมานแผลและลดการอักเสบ ได้แก่ Asiatic acid **12** และ Madecassic acid **13** [18]



12 13

2.3 การเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพรและการตรวจสอบสารสำคัญทางพฤษเคมีเบื้องต้น [15]

2.3.1 การเตรียมตัวอย่างพืชสมุนไพร

ในการเตรียมตัวอย่างพืชเป็นวิธีการที่สำคัญ โดยจะต้องคำนึงถึงสิ่งที่มีผลต่อความแตกต่างของสารสำคัญแต่ละชนิดในพืช ซึ่งได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. พืชสมุนไพรเหล่านั้นต้องไม่มีโรคพืช

2. ต้องไม่มีพืชชนิดอื่นผสมอยู่ เพราะหากมีพืชชนิดอื่นผสมอยู่จะทำให้การวินิจฉัยผิดพลาดได้

3. การตรวจสอบเอกลักษณ์ต้องถูกต้อง

4. ความแตกต่างของสารสำคัญของพืชในการเก็บพืชแต่ละครั้ง ซึ่งเกิดจากสาเหตุหลายประการ เช่น ความแตกต่างในด้านสายพันธุ์ สภาพแวดล้อม พื้นที่เพาะปลูก อายุของพืช เป็นต้น

5. ผลของการเก็บรักษาพืชและการทำให้แห้งอาจทำให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเสียไป

การเตรียมตัวอย่างของพืช มีวิธีการดังนี้

1. การทำให้สมุนไพรแห้ง

โดยทั่วไปแล้วการสกัดสารจากพืชจะให้ผลดีเมื่อทำการสกัดสารจากพืชสด โดยนำพืชสดมาต้มกับแอลกอฮอล์ เพื่อทำลายเอนไซม์ก่อนที่จะนำไปทำการสกัด หรือเก็บพืชสดมาแช่แอลกอฮอล์ในระหว่าง ที่ไม่ได้ทำการสกัด แต่เนื่องจากวิธีเหล่านี้ไม่สะดวกและไม่เหมาะสมกับกระบวนการทางอุตสาหกรรม จึงจำเป็นจะต้องทำให้เป็นพืชแห้งก่อน โดยทำที่อุณหภูมิที่ต่ำ เพื่อป้องกันการสลายตัวของสารสำคัญในพืชก่อนทำการสกัด วิธีทำให้แห้งมีหลายวิธี เช่น Air drying เป็นการทำให้แห้งโดยอาศัยอากาศ อาจเป็นที่ร่มหรือผึ่งแดด Artificial heat เป็นการทำให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากแหล่งพลังงานอื่น เช่น ไฟฟ้า และการอบในตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิโดยมีอากาศเข้าออก

2. การแตกย่อยเนื้อเยื่อ (List interpolation of tissue)

เป็นกระบวนการแตกย่อยเนื้อเยื่อของพืชให้มีขนาดเล็กลงซึ่งทำได้หลายวิธี เช่น การย่อยเชิงกล (mechanical method) ได้แก่ การบดด้วยโกร่งหรือเครื่องบดไฟฟ้า, การย่อยด้วยเอนไซม์ (Enzyme Disintegration) เป็นวิธีการย่อยเนื้อเยื่อโดยใช้เอนไซม์ เช่น เอนไซม์สำหรับย่อยเพคติน (pectin) และเซลลูโลส (cellulose), การย่อยเนื้อเยื่อโดยใช้สารเคมี (chemical disintegration) เช่น การใช้ไดเมทิลฟอร์มาไมด์ (dimethylformamide) ทำให้เซลล์ของสาหร่ายคอเรลลาแตกออก

2.3.2 การตรวจสอบสารสำคัญทางพฤษเคมีเบื้องต้น [17]

เป็นวิธีการตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดในพืช เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นว่าสารสกัดนั้นประกอบด้วยสารเคมีกลุ่มใดบ้างที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (pharmacological action) เช่น สารในกลุ่มแอลคาลอยด์ (alkaloids) กลุ่มไกลโคไซด์ (glycosides) เป็นต้น ทำให้สามารถวางแผนการสกัดแยกตามสมบัติทางเคมีของสารกลุ่มนั้นได้

การตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้นของสารแต่ละกลุ่มในพืช ควรเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว และค่อนข้างจำเพาะกับสารเคมีในกลุ่มที่ต้องการ โดยมี 2 วิธี คือ การตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาสีหรือการเกิดตะกอน และการตรวจสอบโดยใช้เทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin layer chromatography, TLC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2.1 การตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาสีหรือการเกิดตะกอน

เป็นการตรวจสอบโดยอาศัยปฏิกิริยาทางเคมีอย่างง่าย ซึ่งสามารถสังเกตได้จากการเปลี่ยนสี เกิดการขุ่น หรือเกิดตะกอน ซึ่งวิธีการตรวจสอบเบื้องต้นนี้จะเป็นวิธีที่ค่อนข้างง่าย รวดเร็ว และมีความไวสูง แต่ไม่จำเพาะเจาะจงกับกลุ่มสารเคมีที่ต้องการทดสอบ อาจเกิดผลบวกอำพราง (false-positive reaction) เนื่องจากสารประกอบอื่นที่ให้ผลเช่นเดียวกับสารตัวอย่าง หรืออาจเกิดผลลบอำพราง (false-negative reaction) เนื่องจากสารประกอบอื่นที่ไม่ให้ผลเช่นเดียวกับสารตัวอย่าง สารสำคัญแต่ละชนิดจะไวต่อสารเคมีที่ใช้ตรวจสอบไม่เท่ากัน จึงต้องระมัดระวังเรื่องสารเคมีที่ใช้ อีกทั้งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นต้องทำในสภาวะที่เหมาะสม หากใส่สารเคมีมากหรือน้อยเกินไปอาจจะไม่ได้ผล จึงต้องอาศัยข้อมูลจากการทดลองอื่นร่วมด้วย

2.3.2.2 การตรวจสอบโดยใช้ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี

เป็นการตรวจสอบเอกลักษณ์ที่สะดวก รวดเร็ว และแม่นยำ โดยการประเมินค่า R_f (Relative Front) หรือค่าอัตราส่วนของระยะทางที่สารเคลื่อนที่กับระยะทางที่ตัวทำละลายเคลื่อนที่ โดยการเปรียบเทียบสีและความเข้มของสีกับสารอ้างอิง (Reference substance) หรือสารมาตรฐาน (Standard substance) ในกรณีที่ไม่มีสารอ้างอิงหรือสารมาตรฐาน อาจใช้ลายนิ้วมือ (fingerprint) ของโครมาโทแกรมของพืชสมุนไพรนั้น เนื่องจากไม่มีพืชสมุนไพรใดที่มีองค์ประกอบและปริมาณสารที่เหมือนกันทุกอย่าง ทำให้ได้ลักษณะโครมาโทรแกรมเฉพาะส่วนของพืชสมุนไพรนั้น

2.4 วิธีการสกัดแยกและพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารที่สำคัญจากพืชสมุนไพร [19]

การสกัด (Extraction) หมายถึง การแยกสิ่งที่ต้องการออกจากสิ่งที่ไม่ต้องการ การเตรียมสารสกัดจากสมุนไพรคือ การแยกองค์ประกอบทางเคมีออกจากกากสมุนไพร หรือจากองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ ที่ไม่ต้องการ สารสกัดพืชสมุนไพร (Herbal Extract) เป็นวัตถุดิบสำคัญที่ใช้สำหรับเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายรูปแบบ เพื่อลดปัญหาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์สามารถปรับแต่งองค์ประกอบทางเคมีได้ และเนื่องจากกากสมุนไพรจะถูกแยกออกในระหว่างการเตรียมสารสกัด ปริมาณของสารสกัดจึงมีขนาดที่ลดลงกว่าการใช้สมุนไพรทั้งหมด ส่งผลให้ผู้บริโภคให้ความร่วมมือในการใช้ผลิตภัณฑ์มากขึ้น

การนำพืชสมุนไพรมาทำเป็นยาในปัจจุบัน จะพยายามสกัดสารสำคัญที่มีความสามารถในการต่อต้านหรือยับยั้งโรคที่สนใจ โดยทำให้สารบริสุทธิ์ จากนั้นหาโครงสร้างของสารที่สำคัญนั้นและหาแนวทางในการสังเคราะห์สารที่มีฤทธิ์ดังกล่าว รวมทั้งการพัฒนากับอนุพันธ์ของสารที่สกัดได้ว่ามีสมบัติทางเภสัชวิทยาด้วยหรือไม่ การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปการสกัดเบื้องต้นไม่ว่าจะสกัดด้วยวิธีการใดหรือใช้ตัวทำละลายใด จะได้องค์ประกอบเป็นของผสมหรือของสกัดอย่างหยาบ (Crude extract) ซึ่งเป็นสิ่งที่สกัดออกจากสมุนไพร โดยน้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย (Solvent) สารสกัดอย่างหยาบนี้เป็นของผสมขององค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพรซึ่งจะมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ซึ่งมักเรียกว่า สารสำคัญ (Active constituent) และองค์ประกอบที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ซึ่งเรียกว่าสารเฉื่อย (Inert substances) ชนิดและสัดส่วนขององค์ประกอบในสารสกัดจะแปรเปลี่ยนไปตามสภาพของสมุนไพรที่ใช้ในสภาวะที่ใช้ในการสกัด วัตถุประสงค์ของการสกัดพืชสมุนไพรคือ เพื่อสกัดแยกเอาสารสำคัญออกจากสมุนไพร เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นของสารสำคัญสูง และเพื่อลดขนาดของการใช้สมุนไพรให้อยู่ในปริมาณที่เหมาะสม การนำสารบริสุทธิ์มาใช้เป็นยาจำเป็นต้องผ่านหลายขั้นตอน คือ การเตรียมตัวอย่างพืช (Plant material preparation), การสกัด (Extraction), การทำให้เข้มข้น (Concentration), การแยกส่วนประกอบ (Separation) และการตรวจสอบเอกลักษณ์ (Identification)

2.4.1 หลักเกณฑ์ที่ใช้ในการเลือกตัวทำละลาย

1. ความเป็นขั้วของตัวทำละลายและสารที่ต้องการสกัดควรมีขั้วใกล้เคียงกัน
2. ต้องสามารถละลายสารที่ต้องการออกมาได้มากที่สุดและต้องไม่ละลายสารที่ไม่ต้องการออกมาน้อยที่สุด
3. การละลายจะเกี่ยวข้องกับแรงต่อไปนี้ dispersion force, dipole-dipole force และ hydrogen bond

2.4.2 การสกัดสารที่สำคัญจากพืช

การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรสามารถทำได้หลายวิธี ขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่ต้องการสกัด สมบัติของสารในการทนทานต่อความร้อน ชนิดของตัวทำละลาย ซึ่งในแต่ละวิธีจะมีข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกันไป ดังต่อไปนี้

1. Maceration เป็นกระบวนการสกัดสารที่สำคัญจากพืช โดยวิธีการแช่พืชสมุนไพรกับตัวทำละลายในภาชนะปิด เช่น ขวดโหลหรือโถ เป็นเวลา 7 วัน หมั่นเขย่าหรือคนบ่อยๆ เมื่อครบกำหนดจึงทำการเทเอาสารออก แล้วพยายามบีบเอาสารละลายออกจากกากให้มากที่สุด แล้วนำสารที่สกัดได้ไปกรอง ซึ่งวิธีนี้มีข้อดีตรงที่สารสกัดจะไม่โดนความร้อนที่ทำให้สารสลายตัวก่อน แต่ก็มีข้อเสียคือจะสิ้นเปลืองตัวทำละลายมากและเป็นอันตรายหากตัวทำละลายเป็นสารที่มีพิษ เช่น คลอโรฟอร์ม และ คาร์บอนเตตระคลอไรด์ เป็นต้น

2. Percolation เป็นกระบวนการสกัดสารแบบต่อเนื่อง โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า percolator โดยนำพืชสมุนไพรมาแช่กับตัวทำลายพอชื้น ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อพองตัวเต็มที่แล้วค่อยๆบรรจุผงยาทีละชั้นลงใน percolator จากนั้นเติมตัวทำละลายลงไปให้ระดับอยู่สูงกว่าสมุนไพรประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงจึงเริ่มไขออก แล้วค่อยเติมตัวทำละลายให้อยู่เหนือสมุนไพรตามที่กำหนด อย่าให้แห้ง เก็บสารสกัดจนทำการสกัดสมบูรณ์และบีบสารสกัดออกมาให้มากที่สุด แล้วจึงนำไปกรอง

3. Soxhlet Extraction วิธีการสกัดสารแบบต่อเนื่องอีกวิธีหนึ่ง โดยใช้ตัวทำละลายซึ่งมีจุดเดือดต่ำกว่า มาทำการสกัดโดยให้ความร้อนเพื่อให้ตัวทำละลายในขวดก้นกลมสวนทางขึ้นไปแล้วกลั่นตัวลงมา เมื่อถึงความสูงในระดับหนึ่งจะเกิดกาลักน้ำ สารสกัดในตัวทำละลายไหลกับลงในขวดก้น

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้เพื่อการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

กลมวนเวียนเรื่อยไป จนเกิดการสกัดอย่างสมบูรณ์ข้อดีคือ ไม่สิ้นเปลืองตัวทำละลายเพราะมีการหมุนเวียนใช้ แต่มีข้อเสีย คือ มีการให้ความร้อน สารเคมีบางชนิดอาจเกิดการสลายตัวได้

4. Liquid-Liquid extraction เป็นการสกัดสารจากสารละลายที่เป็นของเหลว ลงในตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งไม่เกิดการผสมกับตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่ง ทำให้เกิดการแบ่งแยกชั้นทั้งสองเฟส คือ Extract lighter เป็นตัวทำละลายที่ใช้สกัด โดยมีน้ำหนักเบากว่าตัวทำละลายที่ใช้สกัดสาร ส่วน Rafinate lighter เป็นตัวทำละลายที่ใช้สกัด โดยมีน้ำหนักที่หนักกว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสาร

2.4.3 การทำให้สารสกัดเข้มข้น (Concentration)

สารสกัดหยาบที่ได้จะมีปริมาณมากและเจือจาง ทำให้นำไปแยกองค์ประกอบได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นด้วยวิธีต่างๆกันดังนี้

1. การระเหย (Free evaporation) เป็นการนำตัวทำละลายออกจากสารสกัด โดยใช้ความร้อนจากหม้อไอน้ำ (Water Bath) หรือแผ่นความร้อน (Hot plate) วิธีนี้ อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้ เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงเกินไป และหากใช้สารละลายอินทรีย์ (Organic solvent) ในการสกัด การระเหยโดยให้ความร้อนโดยตรงบนแผ่นความร้อน อาจเกิดอันตรายได้ง่าย นอกจากนี้ควรคำนึงถึงอุณหภูมิที่จะทำให้เกิดการสลายตัวของสารสำคัญเมื่อใช้ความร้อน

2. การกลั่นในภาวะสุญญากาศ (Distillation in vacuum) จัดเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัดโดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ พร้อมทั้งลดความดันลงให้ใกล้เคียงเป็นสูญญากาศโดยใช้ปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า โรตารีอีวาโพเรเตอร์ (Rotary evaporator)

3. การทำให้แห้ง (Drying) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัดจนแห้ง และได้สารสกัดออกมาในสภาพของแข็ง มีหลายวิธีเช่น การใช้ความเย็น (lyophilizer หรือ freeze dryer) หรือการใช้ความร้อน (spray dryer)

4. อัลตราฟิลเทรชัน (Ultrafiltration) เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำทำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (membrane) โดยใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 5000 กรัมต่อโมล

2.5 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับวัชพืช [15]

2.5.1. ความหมายของวัชพืช

คำว่า วัชพืช มาจาก วัช หรือ วัชชะ แปลว่า "สิ่งที่ควรละทิ้ง" ซึ่งเมื่อรวมกับคำว่า พืช เป็นวัชพืช จึงมีความหมายว่า "พืชที่ควรละทิ้ง" ได้มีผู้ให้คำจำกัดความ วัชพืช ไว้เป็นหลายอย่าง เช่น พืชที่ไร้ประโยชน์ พืชไม่พึงประสงค์ พืชที่ขัดผลประโยชน์ต่อมนุษย์ พืชที่ควรละทิ้ง คำจำกัดความดังกล่าวข้างต้นเหล่านี้ยังไม่มีคำใดถูกแท้ทีเดียวนัก เพราะมีวัชพืชอยู่หลายชนิดที่ไม่ควรทิ้ง วัชพืชบางชนิดมีดอกสวยงาม บางชนิดช่วยยึดดินไม่ให้ดินพังทลาย และบางชนิดก็ให้ประโยชน์ได้บ้างเหมือนกัน วัชพืชจึงมีทั้งประโยชน์และโทษ เพียงแต่มีประโยชน์น้อยเท่านั้น เมล็ดวัชพืชมักปนมากับเมล็ดพืชที่ใช้ปลูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หรืออาจปลิวมาตามลม ลอยมากับกระแสน้ำ ติดมากับตัวสัตว์ พวกนก แมลง บางครั้งติดมากับเครื่องมือเครื่องใช้สำหรับทำการเพาะปลูก หรือติดมากับดิน ดังนั้น จึงควรตรวจดูวัชพืชในแปลงเพาะปลูก ถ้ามีติดมาก็ควรถอนทิ้งเสียตั้งแต่ต้นยังอ่อนอยู่ยังไม่มีเมล็ด จะช่วยลดการกระจายพันธุ์ของวัชพืชลงได้ ซึ่งการป้องกันกำจัดวัชพืชเป็นสิ่งที่จำเป็นที่จะต้องทำการปฏิบัติ ซึ่งมีหลายวิธีเช่น

1. การป้องกันกำจัดโดยวิธีกล เป็นการใช้แรงงานคน แรงงานสัตว์ การใช้เครื่องทุ่นแรง ใช้ไฟเผา ใช้วัสดุคลุมดิน

2. การป้องกันกำจัดโดยวิธีเขตกรรม เป็นการจัดการเพื่อลดปัญหาการแข่งขันจากวัชพืช ได้แก่ การขังน้ำในนา การปลูกพืชคลุมดิน การปลูกพืชหมุนเวียน การใช้อัตราเมล็ดพันธุ์พืชที่ปลูกสูงกว่าปกติ และการจัดการปุ๋ยที่ถูกต้องและเหมาะสม

3. การป้องกันกำจัดโดยชีววิธี เป็นการใช้สิ่งมีชีวิตมาควบคุมวัชพืช ได้แก่ แมลง โรคพืช และสัตว์

4. การป้องกันกำจัดโดยการใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืช เป็นวิธีที่เกษตรกรใช้กันมากเพราะสะดวกรวดเร็ว แต่ต้องรู้วิธีใช้อย่างถูกต้อง ไม่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ และไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม

ในปัจจุบันนิยมใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชมากกว่าใช้แรงคน เพราะประหยัดและรวดเร็วกว่า หากทำการควบคุมวัชพืชได้ดี จะสามารถเพิ่มผลผลิตได้มากกว่าเดิม แต่มีข้อเสียในเรื่องการตกค้างของสารเคมีในพืชเพาะปลูก ซึ่งอาจทำให้ดินเสื่อมสภาพเร็วขึ้น และยังเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตที่บริโภคพืชเพาะปลูกนั้น ดังนั้น จึงได้มีการพัฒนาและสกัดสารเคมีที่ผลิตมาจากธรรมชาติมาใช้ในการควบคุมและกำจัดวัชพืช เพราะสารเคมีที่ผลิตมาจากสารสกัดธรรมชาติจะไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสามารถใช้เป็นสารเคมีทดแทนต่อสารเคมีสังเคราะห์ได้

2.5.2 การจำแนกวัชพืชตามลักษณะทางพฤษศาสตร์ แบ่งเป็น 2 พวก คือ

1. วัชพืชใบแคบ (narrow-leafed weed) หรือวัชพืชใบเลี้ยงเดี่ยว พวกตระกูลหญ้า ตระกูลกก และพวกใบเลี้นงเดี่ยวทั้งหมด เช่น หญ้าข้าวนก หญ้าคา หญ้านกสีชมพู
2. วัชพืชใบกว้าง (broad-leafed weed) หมายถึงพวกใบเลี้ยงคู่ทั้งหมดที่มีลักษณะใบค่อนข้างกว้างเส้นใบเป็นร่างแห เช่น ผักโขม ผักเสี้ยนและสาบเสือ

2.5.3 สมบัติของวัชพืชที่ถูกจัดว่าเป็นวัชพืชร้ายแรง มีดังนี้

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

2.5.4 ปัจจัยที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของวัชพืช

1. ปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อม (Environmental factors) ได้แก่ แสงแดด, อุณหภูมิ, ลม และอากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ปัจจัยทางดิน (Edaphic factors) ดินเป็นที่ยึดเหนี่ยวของรากวัชพืช นอกจาก นี้ยังเป็นแหล่งของปัจจัยที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของวัชพืชอื่นๆอีกด้วย
3. ปัจจัยทางสิ่งมีชีวิต (Biotic factors) ทั้งมนุษย์ พืช สัตว์และสิ่งมีชีวิตอื่นๆจะมีผลต่อสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการอยู่รอดของวัชพืช

2.6 อัลลีโลพาที (Allelopathy) [20]

2.6.1 ความหมายของอัลลีโลพาที (Allelopathy)

อัลลีโลพาที (Allelopathy) เป็นปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างพืชรวมทั้งจุลินทรีย์ ซึ่งมีผลทั้งในด้านการยับยั้งและการกระตุ้นปฏิกิริยาทางเคมีทำให้เกิดผลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืชและจุลินทรีย์ หรืออัลลีโลพาที หมายถึงวิธีการที่พืชชนิดหนึ่งทำอันตรายกับพืชอีกชนิดหนึ่งมีความจำเพาะเจาะจง ตรงข้ามกับการอยู่ร่วมกันของสิ่งมีชีวิตที่ต้องพึ่งพาอาศัยกัน และเรียกสารเคมีที่พืชปล่อยมาว่า สารอัลลีโลเคมิคอล (allelochemical) [21] หรืออัลลีโลพาทีเป็นผลโดยตรงหรืออ้อมจากพืชชนิดหนึ่งส่งไปยังพืชชนิดหนึ่งผ่านทางสารเคมีที่ผลิตออกมา สู่สภาพแวดล้อม

อัลลีโลพาทีมาจากภาษากรีก คำว่า “allelo” แปลว่า “อีกชนิดหนึ่ง” ซึ่งคล้ายกันกับภาษากรีกคำที่ว่า “anellon” ซึ่งแปลว่า “อีกอันหนึ่ง” เช่นกัน รากศัพท์คำต่อมาคำว่า “*patho*” หรือ “*pathos*” ซึ่งแปลว่าการได้รับความเสียหาย เชื้อโรค อัลลีโลพาที (allelopathy) จึงหมายถึงผลกระทบที่มักเป็นอันตราย (the pathos) ซึ่งเกิดจากพืชชนิดหนึ่งแล้วส่งผลไปยังพืชอีกชนิดหนึ่งโดยสารเคมีที่มีพิษจากส่วนหนึ่งของพืชที่ยังมีชีวิตหรือผ่านทางการปลดปล่อยเมื่อพืชชนิดนั้นตายแล้วหรือผลิตขึ้นมาเมื่อเนื้อเยื่อพืชถูกย่อยสลาย คำว่า อัลลีโลพาที ใช้ครั้งแรกโดย Molisch [21] พฤกศาสตร์ชาวออสเตรียได้รวมเอาลักษณะความเป็นพิษที่เกิดขึ้นจากจุลินทรีย์และพืชชั้นสูงรวมเข้าไว้ด้วยกันและถูกใช้ต่อกันเรื่อยมา

2.6.2 ชนิดของสารอัลลีโลเคมิคอล [21]

โดยทั่วไปพืชสร้างสารจำนวนมากเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและการพัฒนาส่วนต่างๆ ที่เราไม่ทราบคุณสมบัติหรือประโยชน์ที่แน่ชัด สารอัลลีโลเคมิคอลในพืชส่วนใหญ่เป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) สมมติฐานที่ว่าสารเหล่านี้อาจส่งผลต่อสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นนั้นไม่ได้ตั้งขึ้นมาอย่างไร้เหตุผล อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อพิสูจน์เพื่อยืนยันสมมติฐาน เมื่อพืชสร้างสารอัลลีโลเคมิคอลขึ้นมาแล้วอาจมีการปลดปล่อยสารออกสู่สิ่งแวดล้อมอย่างต่อเนื่องจนเกิดการสะสมในปริมาณที่เพียงพอที่จะส่งผลกระทบต่อจุลินทรีย์ได้ สารมารถแบ่งอัลลีโลพาทีออกเป็นกลุ่มได้ ดังนี้

1. กลุ่มแอลกอฮอล์โซ่ตรง (straight-chain alcohols) อะลิเฟทิก (aliphatic) แอลดีไฮด์ (aldehydes) และ คีโตน (ketone)
2. กลุ่มแอโรมาทิก (aromatic acid)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. กลุ่มน้ำตาลแลคโทนไม่อิ่มตัว (simple unsaturated lactones)
4. กลุ่มคูมาลิน (coumarins)
5. กลุ่มควิโนน (quinones)
6. กลุ่มฟาโวนอยด์ (flavonoids)
7. กลุ่มแทนนิน (tannins)
8. กลุ่มแอลคาลอยด์ (alkaloids) และไซยาโนไฮดริน (cyanohydrins)
9. กลุ่มเทอร์พีนอยด์ (terpenoids) และสเตอรอยด์ (steroids)
10. กลุ่มก๊าซพิษ (toxic gas)
11. กลุ่มกรดไขมันโซ่ยาว (long- chain fatty acid) และพอลิอะเซทิลีน (polyacetylene)
12. กลุ่มกรดซินามิกและอนุพันธ์ (cinnamic acids and derivatives)
13. กลุ่มกรดอะมิโน (amino acid) และพอลิเปปไทด์ (polypeptides)
14. กลุ่มซัลไฟด์ (sulfides) และมัสตาร์ดออยด์ไกลโคไซด์ (mustard oil glycosides)
15. กลุ่มพิวรีน (purines) และนิวคลีโอไซด์ (nucleosides)
16. กลุ่มไซยาโนเจนิกไกลโคไซด์ (cyanogenic glycosides)

2.7 วิธีและเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ [22]

วิธีที่ใช้ทดสอบคือ Disc diffusion techniques เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากในห้องปฏิบัติ เนื่องจากเป็นวิธีซึ่งสามารถปฏิบัติง่าย การสะดวก และรวดเร็ว รวมทั้งสามารถให้ผลที่แน่นอนและถูกต้อง การทดสอบวิธีนี้ใช้หลักการแพร่โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เติมลงบนกระดาษกรอง (Filter paper disc) ซึ่งวางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ใช้ในการตรวจสอบไว้ จะแพร่จากจุดเริ่มต้นไปในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นเมื่อระยะทางที่สารแพร่ออกไปเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นของสารนั้นจะลดลงทำให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้นของสาร ณ จุดต่างๆกันรอบแผ่นกระดาษกรอง ในขณะเดียวกันจุลินทรีย์บนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ ณ ความเข้มข้นของสารที่จุดใดๆ (ไกลกระดาษกรอง) ก็จะเจริญและเพิ่มจำนวนขึ้นจนเห็นได้ชัด แต่บริเวณใกล้กระดาษกรองซึ่งมีความเข้มข้นของสารมากพอที่จะยับยั้งเชื้อได้ จะไม่มีการเจริญของเชื้อให้เห็นจึงเกิดเป็นโซนใส (inhibition zone) ขึ้น อัตราการแพร่ของสารออกฤทธิ์ผ่านไปในอาหารเลี้ยงเชื้อมีอิทธิพลต่อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใส ซึ่งจะบอกถึงความสามารถของสารที่นำมาทดสอบว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้มากน้อยเพียงใด ผลการยับยั้ง จุลินทรีย์วัดได้จากขนาดของโซนใสโดยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนใสจะแปรผกผันกับค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration หรือ MIC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรียที่ใช้ในการทดสอบ คือ เชื้อแบคทีเรีย มี 5 ชนิด ดังนี้

1. *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่พบ ได้ในร่างกายของมนุษย์ โดย *S. aureus* พบได้ ตามผิวหนังและรูจมูก เป็นสาเหตุสำคัญของการติดเชื้อที่ผิวหนัง บาดแผล และอาหารเป็นพิษ ส่วน *E. coli* พบได้ในระบบทางเดินอาหาร เป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ และเชื้อบางสายพันธุ์ก่อโรคอุจจาระร่วง

2. *Pseudomonas Aeruginosa* เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการติดเชื้อได้หลายประเภท มักพบในคนไข้ที่มีภูมิคุ้มกันต่ำในโรงพยาบาล มักเรียกว่า การติดเชื้อในร่างกาย ติดเชื้อในกระแสเลือด เป็นต้น [23]

3. *Bacillus cereus* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบ ตามสิ่งแวดล้อม แต่ถ้าปนเปื้อนมาในอาหารเป็นเวลานานจะสามารถสร้างสารพิษได้ 2 ชนิดคือ สารพิษที่ทำให้อุจจาระร่วง (Diarrheal toxin) และสารพิษที่ทำให้คลื่นไส้ อาเจียน (Emetic toxin) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษที่เรียก ว่า ฟรายด์-ไรซ์ ซินโดรม (Fried-rice syndrome) ได้

4. *Micrococcus luteus* พบในดิน ฝุ่น น้ำ และบนผิวหนังของคนและสัตว์ ซากสัตว์ เป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรค แต่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (microbial spoilage) ได้หลายประเภท เช่น การเสื่อมเสียของน้ำนม การเสื่อมเสียของไข่ การเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์ สัตว์ปีก อาหารกึ่งแห้ง อาหารทะเล ปลา หอย รวมทั้งผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เช่น ไส้กรอก แฮม และเชื้อราที่ใช้ทดสอบคือ *Candida albicans* เป็นเชื้อราประจำถิ่น โดยพบได้ตามเยื่อเมือกที่มีอยู่ ในระบบทางเดินอาหาร (เช่น ช่องปาก คอหอยส่วนปาก หลอดอาหาร กระเพาะอาหาร) ที่อวัยวะเพศหญิง (เช่น โยนี และช่องคลอด/เชื้อราในช่องคลอด) และที่อวัยวะเพศชาย(องคชาติ) ซึ่งในภาวะร่างกายมีภูมิคุ้มกันต้านทานโรค/ภูมิคุ้มกัน/ภูมิต้านทานปกติ เชื้อรากลุ่มนี้จะไม่ก่อโรค แต่ถ้าสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป เช่น อวัยวะนั้นมีการอับชื้น หรือร่างกายมีภูมิคุ้มกันผิดปกติ เช่น ต่ำลง เชื้อรานี้จะเจริญเติบโตในปริมาณมากเกินปกติ จนก่อให้เกิดเป็นโรคขึ้นได้ ที่เรียกว่าโรคแคนดิไดอะซิส [24]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 กำจัดต้น (*Zanthoxylum limonella* Alston) [25]

รูปที่ 2.8 ภาพแสดงลักษณะต้นกำจัดต้น

(ที่มา ; https://sites.google.com/a/kkn.ac.th/phuch-mi-meuxng-thiy/kacad-tn)

ชื่อวงศ์ : RUTACEAE

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Zanthoxylum limonella* (Dennst.) Alston

ชื่อพ้อง : *Zanthoxylum rhetsa* (Roxb.) *DC.*

ชื่อสามัญ : –

ชื่อพื้นเมืองอื่น : กำจัดต้น, พริกหอม, หมากเทศ (กรุงเทพฯ) ; มะข่วง, มะแขว่น (ภาคเหนือ) ; มะแข่น (ประเทศลาว) ; ลูกระมาศ (ภาคกลาง) ; หมักข่วง (แม่ฮ่องสอน)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

- ไม้ต้น (T) สูงประมาณ 1-3 เมตร ตลอดความยาวของลำต้นมีหนามแหลมดำขึ้นอยู่ทั่วไป ลำต้นมีสีเขียวออกเทา
- ใบ เป็นใบประกอบแบบขนนก ลักษณะใบรูปขอบขนานแกมรูปไข่ หรือ รูปใบหอกแกมรูปไข่ ใบมีสีเขียว ปลายใบแหลม โคนใบมน ขอบใบหยักมน ก้านใบสั้น
- ดอก ออกดอกเป็นช่อที่ส่วนยอด ออกแทรกอยู่ระหว่างกาบใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ผล มีขนาดเท่ากับเมล็กพริกไทย ผลสดสีเขียวสด ผิวไม่เรียบมัน เมื่อแห้งจะมีสีแดง และแตกได้
- เมล็ด มีลักษณะกลมสีดำ ผิวมัน

นิเวศวิทยา

ขึ้นตามป่าโปร่งทั่วไป จะพบตามภูมิภาคทางภาคเหนือของประเทศไทยเป็นส่วนมาก

การปลูกและขยายพันธุ์

เจริญเติบโตได้ในดินร่วนทั่ว ๆ ไป ความชื้นปานกลาง ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด แล้วแยกกล้าใส่ลงถุงดำไว้ปลูก

ประโยชน์ทางยา/รสและสรรพคุณในตำรายา

- รากและเนื้อไม้ รสเผ็ดร้อนขื่น ขับลมในลำไส้ แก้ลมเบื้องบน หน้ามืดตาลาย วิงเวียน ขับระดู
- เมล็ด รสเผ็ดสุขุมหอม บำรุงโลหิต บำรุงโลหิต บำรุงหัวใจ ขับลมในลำไส้ ขับปัสสาวะ บำรุงธาตุ ถอนพิษฟกบวม แก้หนองใน แก้ลมวิงเวียน
- ใบ รสเผ็ด แก้ปวดฟัน แก้รำมะนาด

วิธีและปริมาณที่ใช้

1. บำรุงหัวใจ ขับลมในลำไส้ บำรุงธาตุ โดยใช้ผลสดที่แก่แล้วตากแดดให้แห้ง นำมาบดให้ละเอียด ใช้ในการประกอบอาหาร เช่น ลาบทางภาคเหนือ เป็นต้น
2. แก้ปวดฟัน แก้รำมะนาด ใช้ใบสด 5-10 ใบ ล้างน้ำให้สะอาด นำมาโขลกให้ละเอียด ใช้อมแก้ปวด

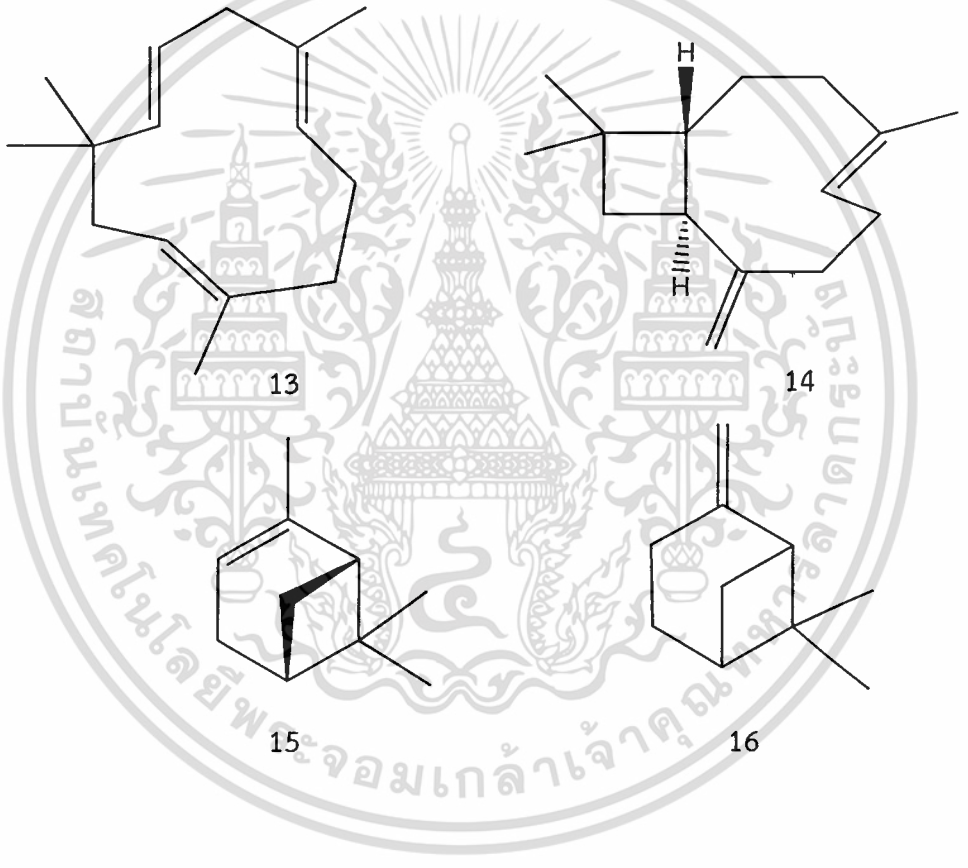
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

William N. Seter และคณะ [26] ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยที่ถูกสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน จากส่วนใบของพืชในวงศ์ *Zanthoxylum* ทั้ง 5 สปีชีส์ คือ *Z. acuminatum, Z. melanostictum, Z. monophyllum, Z.* sp. nov. “brillante” และ *Z. fagara* พบสารประกอบในกลุ่มของ monoterpene hydrocarbon oxygenated monoterpenoid sesquiterpenoid hydrocarbon และ oxygenated sesquiterpenoid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yun-Chin Chung และคณะ [27] ได้ทำการศึกษาสารที่มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระและสารก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดที่อยู่ในชั้นน้ำและชั้น ethanolic จากส่วนใบและลำต้นของ *Z. ailanthoides* พบสารประกอบในกลุ่มของPhenol, Phenolic และ Flavonoid

Saulo L. da Silva และคณะ [28] ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารควบคุมเชื้อโรคในน้ำมันหอมระเหยที่ถูกกลั่นด้วยน้ำจากส่วนใบของ *Z. rhoifolium* พบสารประกอบที่สำคัญ 4 ชนิด คือ α-humulene **14**, β-caryophyllene **15**, α-pinene **16** และ β-pinene **17**



Hong-yi Li และคณะ [29] ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพที่เพิ่มขึ้นของสารอัลลีโลพาทีภายใต้สภาวะที่มีรังสีอัลตราไวโอเล็ต-บี โดยพบในสารสกัดที่อยู่ในชั้นน้ำ จากส่วนใบของ *Z. bungeanum* พบสารประกอบในกลุ่มของ Phenol และ Flavonoid

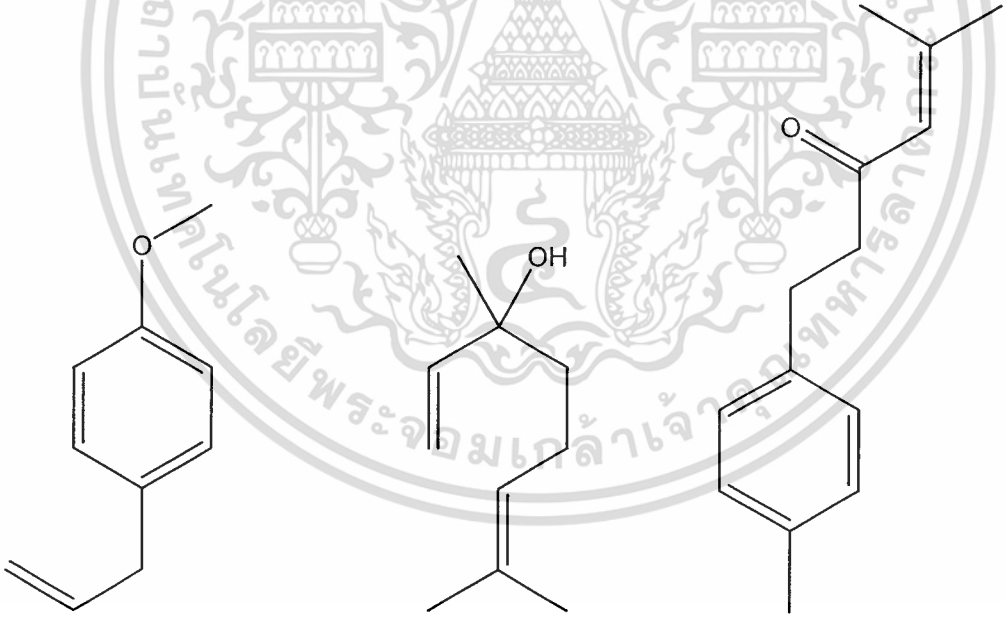
Saulo Luís da Silva และคณะ [30] ได้ทำการศึกษาการยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียและฟังไจของน้ำมันหอมระเหยที่ถูกกลั่นได้จากส่วนใบของ *Z. rhoifolium* พบสารประกอบอินทรีย์ที่มีความสามารถยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียและฟังไจได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chang-Ho Jeong และคณะ [31] ได้ทำการศึกษาผลในการป้องกันเซลล์ประสาทและการต้านอนุมูลอิสระจากส่วนใบของ *Z. piperitum* ที่ถูกสกัดอยู่ในชั้นของคลอโรฟอร์มและเมทานอล พบสารประกอบจำพวก Phenolic

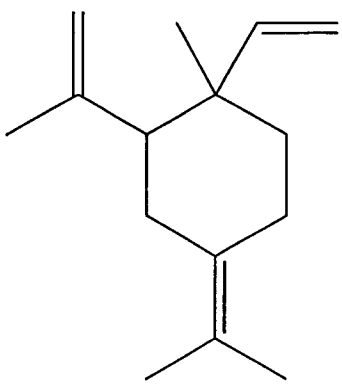
Su-Tze Chou และคณะ [32] ได้ทำการศึกษาการยับยั้งและกระตุ้นให้เกิดการตายของเซลล์มะเร็งในเม็ดเลือดขาวจากส่วนใบของ *Z. ailanthoides* Sieb. & Zucc ที่ถูกสกัดอยู่ในชั้นของน้ำ, เมทานอล, คลอโรฟอร์ม และ บิวทานอล พบสารประกอบที่สามารถแยกบริสุทธิ์ได้ 4 ชนิด คือ pheophorbide-a methyl ester, pheophorbide-b methyl ester, 13^2-hydroxyl (13^2-*S*) pheophorbide-a methyl ester และ 13^2-hydroxyl (13^2-*R*) pheophorbide-a methyl ester

Cheng Fang Wang และคณะ [33] ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและสารฆ่าแมลงในน้ำมันหอมระเหยที่ถูกสกัดจากส่วนใบและผลของ *Z. schinifolium* พบสารประกอบอินทรีย์ที่สำคัญในกลุ่มของ Monoterpenoid และ Sesquiterpenoid ได้แก่ Estragole **17**, Linalool **18**, Ar-Tumerone **19**, Elixene **20** และ Limonene **21**

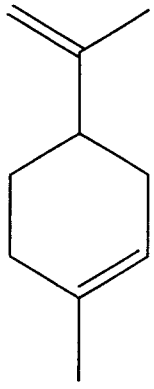


17 18 19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



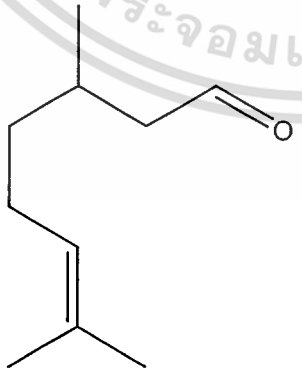
20



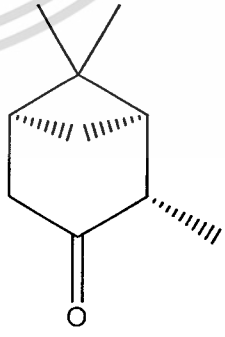
21

จันทร์เพ็ญ ตั้งจิตเจริญกุล และคณะ [34] ได้ทำการศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่อยู่ในชั้นของไดคลอโรมีเทน และเมทานอล จากส่วนใบและลำต้นของ *Z. limonella* พบสารประกอบอินทรีย์ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้

Sarah L. Miller และคณะ [35] ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยที่ถูกสกัดด้วยคลอโรฟอร์มจากส่วนใบของ Zanthoxylum sp. A “Penas Blancas” พบสารประกอบอินทรีย์ที่สำคัญหลายชนิดในกลุ่มของ monoterpene hydrocarbon, oxygenated monoterpenoid และ sesquiterpenoid hydrocarbon ได้แก่ Citronellal **22**, Limonene **21** *trans*-Pinocamphone **23** และ β-Pinene **17**



22



23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chang Ho Jeong และ Ki Hwan Shim [36] ได้ทำการศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดที่อยู่ในชั้นของน้ำ บิวทานอลและคลอโรฟอร์ม จากส่วนใบของ *Z. piperritum* พบสารประกอบอินทรีย์ที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้

Yujuan Zhang และคณะ [37] ได้ทำการศึกษาการแยกบริสุทธิ์และพิสูจน์เอกลักษณ์สารประกอบฟลาโวนอยด์ รวมถึงการศึกษาโครงสร้างและการต้านอนุมูลอิสระของสารที่อยู่ในชั้นของปิโตรเลียมอีเทอร์, คลอโรฟอร์ม, เอทิล แอซิเตต, แอซีโตน และเมทานอล ซึ่งถูกสกัดด้วยเอทานอล จากส่วนใบของ *Z. bungeanum* พบสารประกอบอินทรีย์ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้

Patchanee และคณะ [38] พบว่า แซนทอกซิลีนที่สามารถสกัดแยกได้จาก *Z. limonella* มีผลต่อการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบเช่น ผักโขมจีน และหญ้าข้าวนก และเมื่อทำการทดลองในระดับเซลล์ พบว่าแซนทอกซิลีนสามารถยับยั้งการแบ่งของเซลล์ปลายรากของหัวหอม (*Allium cepa* L.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีในการทดลอง

1. เมทานอล	เกรดวิเคราะห์	Zen Point
2. เฮกเซน	เกรดวิเคราะห์	Zen Point
3. เอทิล แอซิเตต	เกรดวิเคราะห์	Zen Point
4. อะซิโตน	เกรดวิเคราะห์	Zen Point
5. แมกนีเซียมซัลเฟตปราศจากน้ำ	เกรด AR	Merck

6. สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6 นอร์มัล
7. สารละลายอิ่มตัวโซเดียมคาร์บอเนต
8. สารละลายอิ่มตัวโซเดียมคลอไรด์
9. แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์
10. น้ำกลั่น

3.2 อุปกรณ์ในการทดลอง

1. ขวดก้นกลมรูปชมพู่ ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
2. บีกเกอร์ ขนาด 500 และ 1,000 มิลลิลิตร
3. กรวยแยก ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
4. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 500, 250 และ 50 มิลลิลิตร
5. กระบอกตวงสาร ขนาด 10, 100 และ 400 มิลลิลิตร
6. ขวดโหลสำหรับแช่พืช ขนาด 10 ลิตร
7. หลอดหยดสาร
8. ช้อนตักสาร
9. กรวยกรอง ขนาด 1 ลิตร
10. ที่คีบ
11. สำลี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12. กระดาษยูนิเวอร์ซัลอินดิเคเตอร์

13. กระดาษกรองวอทแมน เบอร์ 1

14. กระดาษฟอยล์

15. แท่นปั่นกวนและแท่งแม่เหล็ก

16. เครื่องบด

17. เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง

18. เครื่องระเหยสุญญากาศ

3.3 แหล่งที่มาของพืชในการทดลอง

ใบของกำจัดต้นหรือพริกหอม (*Z. Limonella* Alston) ปลูกที่เขตประเวศกรุงเทพมหานคร โดยเก็บจากต้นในช่วงเดือนสิงหาคม ทำการพิสูจน์เอกลักษณ์สายพันธุ์พืชที่คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร นำมาตากไว้ที่อุณภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 7 วัน นำใบพืชมาอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เพื่อไล่ความชื้น จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในสถานที่โดยไม่ให้สัมผัสกับแสงแดดและความร้อน ก่อนนำมาทำการทดลองในขั้นตอนถัดไป

การประเมินกิจกรรมการกำจัดวัชพืช จะใช้พืชทดสอบได้แก่ เมล็ดพันธุ์ผักโขมจีน (*Amaranthus tricolor* L.) จากบริษัท ไทย Seed & Agriculture จำกัด กรุงเทพฯ ประเทศไทย และหญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. เก็บเมล็ดพันธุ์จากทุ่งข้าว จังหวัดพิษณุโลก ประเทศไทย ในเดือนสิงหาคม 2559 การทดสอบความงอกของเมล็ดทั้งสองชนิดพบการงอก > 80%

3.4 ขั้นตอนการวิจัย

1. เตรียมตัวอย่างพืชโดยนำใบกำจัดต้นมาผึ่งลมให้แห้งแล้วบดให้ละเอียด

2. นำใบของกำจัดต้นที่บดละเอียดมาสกัดด้วยวิธีการหมัก (Maceration) สกัดด้วยเมทานอล โดยแช่ใบกำจัดต้นละเอียดเป็นเวลา 7 วัน

3. กรองแยกส่วนที่เป็นกากของใบกำจัดต้นและชั้นสารละลายเมทานอล

4. ทำการทดลองซ้ำในข้อ 1 และ 2

5. ทำการสกัดในชั้นตัวทำละลายให้เข้มข้น โดยการระเหยตัวทะลายอินทรีย์ออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ และเรียกส่วนนี้ว่า สารสกัดหยาบ หรือ Crude Extract

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. แบ่งสารสกัดเบื้องต้น เป็น 2 ส่วน คือส่วนแรกใช้สำหรับการสกัดแบบ Sequential extraction ส่วนที่สองใช้สำหรับการสกัดแบบ Partition Extraction

7. นำสารสกัดหยาบที่ได้จากข้อ 6 ไปทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์และการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

3.5 วิธีการดำเนินการทดลอง

3.5.1 การเตรียมสารสกัดหยาบชั้นเมทานอล (Crude Methanol Extract)

1. นำส่วนใบของกำจัดต้นมาบดหยาบด้วยเครื่องบด แล้วทำการชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่งใบที่ผ่านการบดหยาบแล้ว

2. แช่ใบพืชที่บดหยาบด้วยเมทานอลในขวดโหลสำหรับแช่พืช โดยเติมเมทานอลให้พอท่วม ทำการแช่ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง และทำการคนของผสมในขวดโหลทุกวัน

3. นำของเหลวสีเขียวเข้มที่สกัดด้วยเมทานอล มากรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1

4. ทำขั้นตอนที่ 2 และ 3 ซ้ำอีกครั้ง โดยใช้ใบพืชเดิมที่ผ่านการแช่แล้ว จากนั้นจึงนำของเหลวสีเขียวเข้มจากการสกัดทั้งสองครั้งมารวมกัน

5. ทำการระเหยเมทานอลที่ละลายอยู่ในของเหลวสีเขียวเข้มออกไป ด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ โดยใช้อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความดันประมาณ 100 - 300 มิลลิบาร์ จนมีลักษณะหนืดข้น

6. ชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลที่ได้

3.5.2 การสกัดแบบ Sequential Extraction

1. แบ่งสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลจากตอนที่ 3.5.1 ออกเป็น 2 ส่วนให้มีน้ำหนักเท่าที่กัน โดยส่วนที่หนึ่งใช้สำหรับการสกัดแบบ Sequential extraction ส่วนที่สองใช้สำหรับการสกัดแบบ partition extraction

2. สำหรับการสกัดแบบ Sequential extraction ดำเนินการทดลองโดยนำสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลส่วนที่หนึ่งใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วทำการผสมบนแท่นปั่นกวนเป็นระยะเวลา 30 นาที เพื่อให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน

3. เติมเฮกเซนปริมาตร 200 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ดังกล่าว แล้วทำการผสมบนแท่นปั่นกวนเป็นระยะเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดการแยกชั้นระหว่างชั้นน้ำที่อยู่ชั้นล่างและชั้นเฮกเซนที่อยู่ชั้นบน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ทำการเทสารทั้งหมดในบีกเกอร์ดังกล่าวลงในกรวยแยกขนาด 1000 มิลลิลิตร รอให้สารทั้งสองชั้น เกิดการแยกชั้นอย่างชัดเจน แล้วจึงไขสารชั้นล่างลงในบีกเกอร์ดังกล่าวอีกครั้ง ส่วนสารชั้นบนเก็บไว้ในขวดรูปชมพู่ขนาด 1000 มิลลิลิตร

5. ทำขั้นตอนที่ 3 และ 4 ซ้ำอีก 2 ครั้ง จะได้สารในชั้นเฮกเซนที่เก็บไว้ในขวดรูปชมพู่ปริมาตรทั้งหมดประมาณ 600 มิลลิลิตร ทำการติดฉลากให้เรียบร้อย

6. นำบีกเกอร์ที่เก็บสารในชั้นน้ำมาเติมเฮกเซนปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วทำการผสมบนแท่นปั่นกวนเป็นระยะเวลา 40 นาที เพื่อให้เกิดการแยกชั้นระหว่างชั้นน้ำที่อยู่ชั้นล่างและชั้นเฮกเซนอยู่ชั้นบน

7. เทสารทั้งหมดในบีกเกอร์ดังกล่าวลงในกรวยแยกขนาด 1000 มิลลิลิตร รอให้สารทั้งสองชั้น เกิดการแยกชั้นอย่างชัดเจน แล้วจึงไขสารชั้นล่างลงในบีกเกอร์ดังกล่าวอีกครั้ง ส่วนสารชั้นบนเก็บไว้ในขวดรูปชมพู่ขนาด 1000 มิลลิลิตร

8. ทำขั้นตอนที่ 6 และ 7 ซ้ำอีก 2 ครั้ง จะได้สารสกัดชั้นเฮกเซนที่เก็บไว้ในขวดรูปชมพู่ปริมาตรทั้งหมดประมาณ 600 มิลลิลิตร ทำการติดฉลากให้เรียบร้อย

9. นำสารสกัดชั้นเฮกเซนเทลงกรวยแยก แล้วจึงเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัวปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วทิ้งไว้ให้เกิดการแยกเป็นสองชั้น แล้วจึงไขสารชั้นล่างทิ้งไป เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัวปริมาตร 200 มิลลิลิตร ลงไปในกรวยแยกที่มีสารสกัดชั้นเฮกเซนอีกครั้ง

10. ไขสารที่อยู่ชั้นบนใส่ลงในขวดรูปชมพู่ จากนั้นจึงเติมแอนไฮดรัสแมกนีเซียมซัลเฟตลงไปสังเกตตะกอนตะกอนที่อยู่ก้นขวดจะรวมตัวกันจนแยกออกกัน จึงหยุดเติมแอนไฮดรัสแมกนีเซียมซัลเฟต

11. ทำการกรองสารที่ผ่านการเติมแอนไฮดรัสแมกนีเซียมซัลเฟตแล้ว ด้วยกระดาษกรองเชิงคุณภาพเบอร์ 2 ขนาด 125 มิลลิเมตร

12. นำสารที่ผ่านการกรองแล้ว มาทำการระเหยเฮกเซนที่ละลายอยู่ในของเหลวสีเขียวเข้มด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความดันประมาณ 100 - 300 มิลลิบาร์ จนมีลักษณะหนืดข้น

13. นำสารที่มีลักษณะหนืดข้นดังกล่าวมาชั่งน้ำหนัก แล้วติดฉลากให้เรียบร้อย

14. นำชั้นน้ำจาก ข้อ 8 มาทำซ้ำขั้นตอนที่ 9, 10, 11, 12 และ 13 โดยเปลี่ยนจากสารสกัดจากเฮกเซนเป็นเป็นเอทิล แอซิเตตแทน (ดังรูปที่ 3.1)

3.5.3 การสกัดแบบ Partition Extraction

1. สำหรับการสกัดแบบ Partition extraction ดำเนินการโดยนำส่วนที่สองของสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลมาเติมน้ำปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วทำการปรับค่าพีเอช โดยการหยดสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือแสวงหาผลประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้นำไฟล์นี้ไปเผยแพร่ต่อ ไม่ว่าจะเพื่อการค้าหรือไม่ก็ตาม

กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 6 นอร์มอล ให้มีค่าพีเอชอยู่ที่ประมาณ 3 โดยเปรียบเทียบสีได้จากการเปลี่ยนสีมาตราฐานของกระดาษยูนิเวอร์ซัลอินดิเคเตอร์

2. นำมาสกัดด้วยเอทิล แอซิเตต ปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วทำการผสมบนแท่นปั่นกวนเป็นระยะเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดการแยกระหว่างชั้นของน้ำและเอทิล แอซิเตต

3. นำส่วนของชั้นน้ำมาสกัดด้วยเอทิล แอซิเตตอีกครั้ง จะได้ปริมาตรของสารในชั้นเอทิล แอซิเตต ปริมาตรประมาณ 400 มิลลิลิตร

4. ชั้นน้ำที่เหลือจากการสกัดด้วยเอทิล แอซิเตตให้ทำการปรับค่าพีเอชเป็น 7 ก่อนการกำจัดทิ้ง โดยใช้สารละลายแอมโมเนียมไอดรอกไซด์ โดยทำในตู้ดูดควัน เรียกสารในชั้นนี้ คือ AQ (Aqueous Phase Extracts)

5. สารสกัดในชั้นเอทิล แอซิเตตจากข้อ 4 ให้ทำการสกัดด้วยสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตอิ่มตัว ปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วทำการผสมบนแท่นปั่นกวนเป็นระยะเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดการแยกระหว่างชั้นของน้ำและเอทิล แอซิเตต จะได้สารในชั้นเอทิล แอซิเตต คือ NE (Neutral Extract)

6. น้ำชั้นน้ำที่ได้จากการสกัดในข้อ 6 มาปรับค่าพีเอชประมาณ 3 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 6 นอร์มอล

7. นำส่วนของชั้นน้ำจากข้อ 7 มาสกัดด้วยเอทิล แอซิเตตปริมาตร 200 มิลลิลิตร โดยสกัดเป็นจำนวน 2 ครั้ง จะได้ปริมาตรของสารในชั้นเอทิล แอซิเตต ปริมาตรประมาณ 400 มิลลิลิตร จะได้สารในชั้นเอทิล แอซิเตตเรียกว่า AE (Acid Extract)

8. นำสารในชั้น NE เทลงในกรวยแยก แล้วจึงเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัวปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วทิ้งไว้ให้เกิดการแยกเป็นสองชั้น แล้วจึงไขสารชั้นล่างทิ้งไป เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์อิ่มตัวปริมาตร 200 มิลลิลิตร ลงไปในกรวยแยกที่มีสารในชั้น NE อีกครั้ง

9. นำสารในชั้น NE มาเติมแอนไฮดรัสแมกนีเซียมซัลเฟตลงไป สังเกตตะกอนที่อยู่ก้นขวดจะรวมตัวกันจนแยกออกกัน จึงหยุดเติมแอนไฮดรัสแมกนีเซียมซัลเฟต

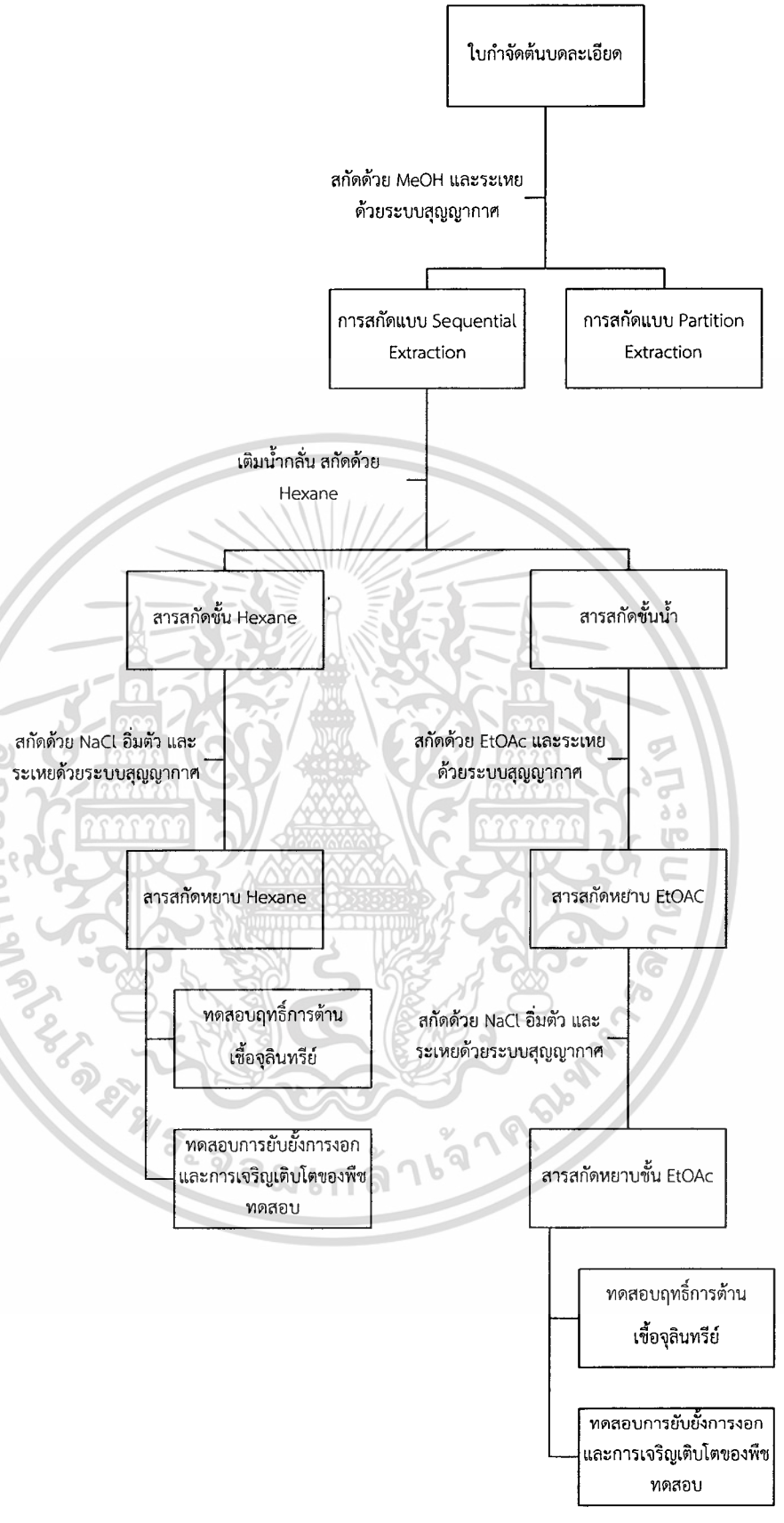
10. ทำการกรองสารที่ผ่านการเติมแอนไฮดรัสแมกนีเซียมซัลเฟตแล้ว ด้วยกระดาษกรองเชิงคุณภาพเบอร์ 2 ขนาด 125 มิลลิเมตร

11. นำสารที่ผ่านการกรองแล้ว มาทำการระเหยเอทิล แอซิเตตที่ละลายอยู่ในของเหลวสีเขียวเข้มด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความดันประมาณ 100 - 300 มิลลิบาร์ จนมีลักษณะหนืดข้น

12. นำสารที่มีลักษณะหนืดข้นดังกล่าวมาชั่งน้ำหนัก แล้วติดฉลากให้เรียบร้อย

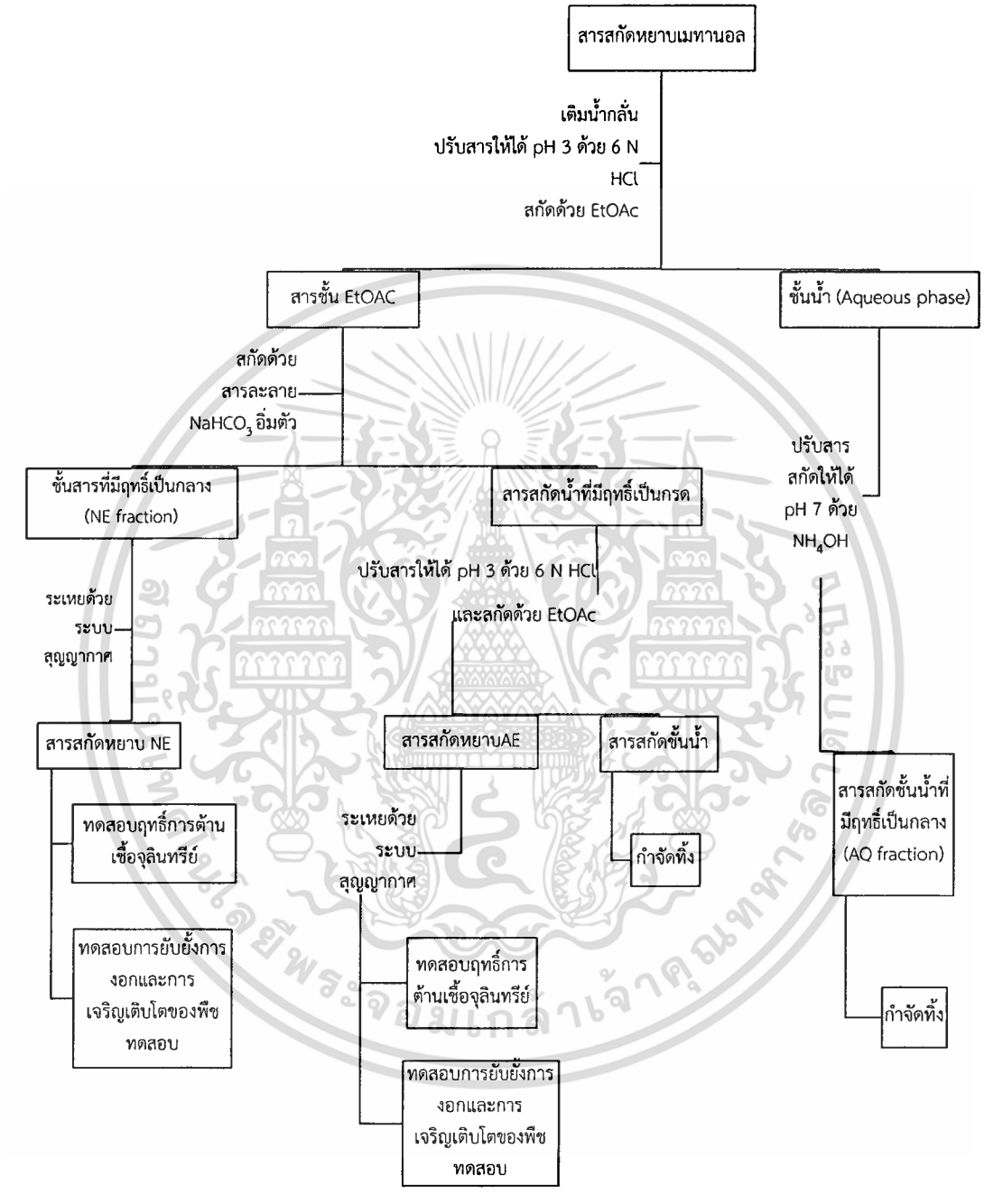
13. ทำขั้นตอนที่ 9, 10, 11, 12 และ 13 ซ้ำอีกหนึ่งครั้ง โดยเปลี่ยนจากสารใน NE เป็นชั้น AE แทน (ดังรูปที่ 3.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ

รูปที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการสกัดขั้นเมทานอลด้วยวิธีแบบ Sequential Extraction



รูปที่ 3.2 แสดงขั้นตอนการสกัดขั้นเมทานอลด้วยวิธีการสกัดแบบ Partition Extraction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้นโดยวิธี Disc diffusion method [39]

การทดสอบสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้นจะทำการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี Disc diffusion method จากหน่วยบริหารจัดการทรัพยากรจุลินทรีย์ ณ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ซึ่งวิธีการทดสอบสรุปได้ดังนี้

1. นำเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่เก็บไว้บน Tryticase Soy Agar (TSA) เพาะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Meuller Hinton Agar (MHA) บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง สำหรับเชื้อราใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Sabouraud Dextrose Agar (SDA) บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

2. หลังจากนั้นทำการเขี่ยเชื้อจุลินทรีย์ที่ถูก activated แล้วลงมาใน 0.85 %.โซเดียมคลอไรด์ ปรับให้ได้ความขุ่นเท่ากับ 0.5 Mcfarland

3. นำเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมได้มาเพาะลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Mueller Hinton Ager อยู่ โดยการขีดลงบนหน้าวุ้นให้ทั่วจำนวน 3 ครั้ง ทำให้ได้จานอาหารเลี้ยงเชื้อมีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ อยู่บนหน้าวุ้น

4. หลังจากนั้นนำแผ่นดิสก์ขนาด 0.6 มิลลิเมตร ที่มีสารตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ซึ่งละลายด้วย DCM วางบนผิววุ้นที่มีเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ จากนั้นทำการบ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5. อาหารสำหรับเชื้อจุลินทรีย์ใช้เป็นชนิด Sabouraud Agar และทำการบ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งอุณหภูมิและเวลาขึ้นอยู่กับเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด

6. ทำการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Clear zone ที่เกิดขึ้น

ส่วนกรณีทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียใช้ Penicillin และ Gentamicin เป็นตัวยาเปรียบเทียบ และกรณีทดสอบกับยีสต์ใช้ Nystatin เป็นตัวยาเปรียบเทียบ ในแต่ละชุดการทดลองจะใช้ DMSO เป็นชุดควบคุม จะใช้ทดสอบกับสารสกัดหยาบ

3.7 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้นต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบด้วยวิธี Vial Test [40]

3.7.1 การเตรียมสารละลายในน้ำของ 0.10% (v/v) ทวีน 80 (Tween® 80)

1. ปิเปตทวีน 80 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ทำการปั่นกวนของผสมจนกระทั่งของผสมรวมเป็นเนื้อเดียวกันหรือเป็นสารละลายใส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เทสารละลายทวีน 80 ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3. ปิดฝาขวดวัดปริมาตรและเขย่าขวดให้สารละลายเข้ากันจะได้สารละลาย (stock solution) ของ 0.10 เปอร์เซ็นต์ของทวีน 80

3.7.2 การเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้น

การเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้น โดยการเตรียมจากสารละลายของสารสกัดตั้งต้น (Stock solution) โดยให้ความเข้มข้นของของสารสกัด เท่ากับ 8000 ppm จากนั้นเจือจางให้มีความเข้มข้นของของสารสกัดด้วยสารละลาย 0.10 เปอร์เซ็นต์ของทวีน 80 เป็น 4000 2000 1000 และ 500 ppm โดยสารละลาย 0.10 เปอร์เซ็นต์ของทวีน 80 เป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ ปิเปตสารละลายในแต่ละความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร ลงในขวดเพาะเมล็ดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร ที่รองด้วยกระดาษเพาะเมล็ด จากนั้นเติมน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร วางเมล็ดพืชทดสอบ ได้แก่ หญ้าข้าวนก และผักโขมจีน จำนวน 10 เมล็ดต่อขวด ปิดปากขวดด้วยพาราฟิล์ม วางไว้ที่อุณหภูมิห้อง

การวางแผนการทดลอง การบันทึกผล และการวิเคราะห์ลการทดลอง

ในแต่ละพืชทดสอบใช้แผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ โดยนับจำนวนการงอกของเมล็ด วัดความยาวต้นและความยาวรากที่ 7 วันหลังทำการเพาะเมล็ด โดยกำหนดให้เมล็ดที่มีแรดิเคิล (radical) งอกพ้นออกมายาว 2 มิลลิเมตร เป็นเมล็ดที่งอก นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติและใช้แท่งบอกความคลาดเคลื่อน (error bar) บอกช่วงของข้อมูลทุกๆ กรณีที่เป็นไปได้ เพื่อแสดงความเชื่อถือต่อการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ผลการเตรียมสารสกัดหยาบ

จากการสกัดสารของใบกำจัดต้นแห้ง น้ำหนักเท่ากับ 901.23 กรัม ด้วยเมทานอลสามารถสกัดสารสกัดหยาบเมทานอลน้ำหนักเท่ากับ 312.08 กรัม มีผลได้ร้อยละเท่ากับ 34.62 เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักของใบกำจัดต้นแห้ง จากนั้นนำสารสกัดหยาบเมทานอลมาแบ่งออกเป็นสองส่วน ส่วนที่หนึ่งของสารสกัดหยาบเมทานอลน้ำหนักเท่ากับ 162.06 กรัม นำมาทำการสกัดแบบ Sequential extraction โดยเรียงลำดับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ได้แก่ เฮกเซน และ เอทิล แอซิเตต ตามลำดับ มีผลได้ร้อยละของสารสกัดหยาบเฮกเซนและสารสกัดหยาบเอทิล แอซิเตต เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักของสารสกัดหยาบเมทานอลส่วนที่หนึ่ง แสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลได้ร้อยละของสารสกัดหยาบ

สารสกัดหยาบ	น้ำหนัก (กรัม)	ผลได้ร้อยละ
สารสกัดหยาบเฮกเซน	7.67	9.95
สารสกัดหยาบเอทิล แอซิเตต	3.32	8.99

และเมื่อนำส่วนที่สองของสารสกัดหยาบเมทานอล น้ำหนักเท่ากับ 150.02 กรัม ทำการสกัดแบบแบ่งส่วน (Partition Extraction) โดยใช้สารละลายกรดและสารละลายเบส เพื่อจัดกลุ่มของสารสำคัญ สามารถสกัดสารได้สองกลุ่มได้แก่สารสกัดหยาบ Neutral Extract (NE) และสารสกัดหยาบ Acidic extract (AE) และมีผลได้ร้อยละของสารสกัดหยาบ เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักของสารสกัดหยาบขั้นเมทานอลส่วนที่สอง แสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ผลได้ร้อยละของสารสกัดหยาบ

สารสกัดหยาบ	น้ำหนัก (กรัม)	ผลได้ร้อยละ
สารสกัดหยาบ Neutral Extract	10.08	6.71
สารสกัดหยาบ Acidic extract	7.57	5.04

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้น

เมื่อนำสารสกัดหยาบเมทานอล, สารสกัดหยาบเฮกเซน, สารสกัดหยาบเอทิล แอซิเตต, สารสกัดหยาบ NE และสารสกัดหยาบ AE ของใบกำจัดต้น มาทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *S. aureus*, *E. coli*, *P. Aeruginosa*, *B. cereus* และ *M. luteus* โดยใช้ Penicillin และ Gentamicin เป็นตัวยาเปรียบเทียบ พบว่า สารสกัดหยาบทุกชนิดไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ และในทำนองเดียวกัน เมื่อนำสารสกัดหยาบทุกชนิดมาทดสอบกับเชื้อรา *C. albicans* โดยใช้ Nystatin เป็นตัวยาเปรียบเทียบ พบว่า สารสกัดหยาบทุกชนิด ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราชนิดนี้ได้

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้นต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้นต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ เลือกใช้พืชทดสอบ 2 ชนิด ได้แก่ หญ้าข้าวนก (*E. crus-galli* (L.) Beauv.) เป็นตัวแทนของวัชพืชใบเลี้ยงเดี่ยว และ ผักโขมจีน (*A. tricolor* L.) เป็นตัวแทนของวัชพืชใบเลี้ยงคู่ ด้วยวิธี Vial test โดยมีสารละลาย 0.1% (v/v) ทวีน 80 เป็นชุดควบคุมผลการทดลองสรุปได้ดังนี้

4.3.1 ผลการทดสอบการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก

ผลต่อการงอกของหญ้าข้าวนก

จากรูปที่ 4.1 พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบเมทานอลมีผลต่อการงอกของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 1000, 2000, 4000 และ 8000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 6.79, 15.69, 37.47 และ 72.58 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ความเข้มข้น 500 ppm ไม่มีผลต่อการยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนก

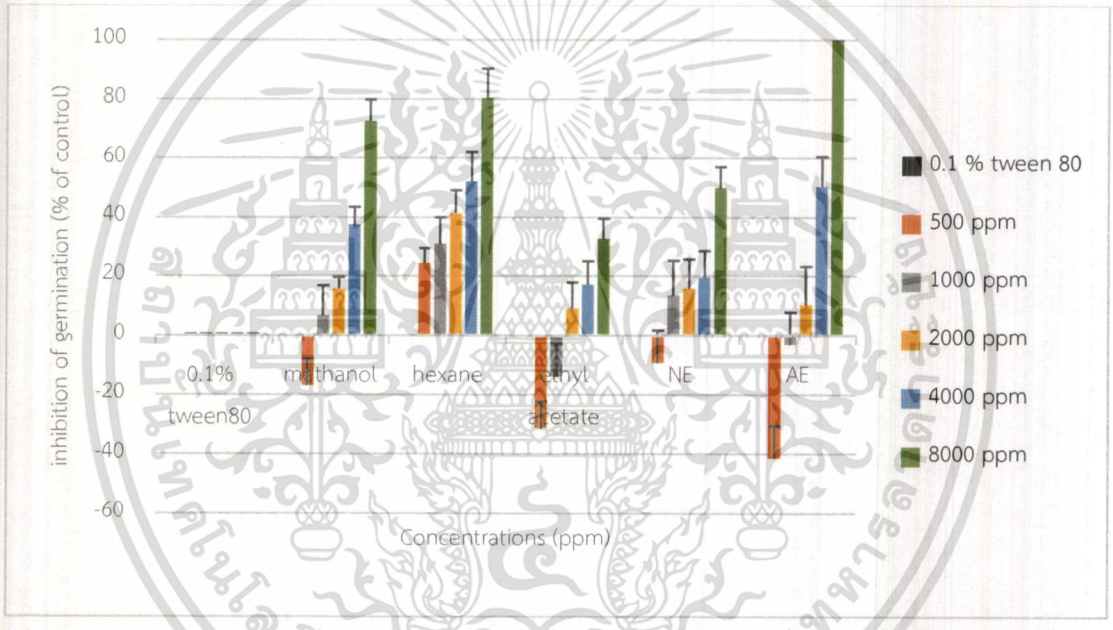
ที่ทุกระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเฮกเซนมีผลต่อการงอกของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000, 2000, 4000 และ 8000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 24.49, 31.02, 41.25, 52.15 และ 80.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm ขึ้นไป ของสารสกัดหยาบเอทิล แอซิเตตมีผลต่อการงอกของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 2000, 4000 และ 8000 ppm สามารถยับยั้งการงอกได้ 8.99, 17.20 และ 32.65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm ไม่มีผลต่อการยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนก แต่พบว่ามีผลส่งเสริมการงอกของหญ้าข้าวนก

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ขึ้นไป ของสารสกัดหยาบ NE มีผลต่อการงอกของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 1000, 2000, 4000 และ 8000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 13.44, 15.82, 19.65 และ 50.08 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ความเข้มข้น 500 ppm ไม่มีผลต่อการยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนก

ที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm ขึ้นไป ของสารสกัดหยาบ AE มีผลต่อการงอกของหญ้าข้าวนก โดยสารสกัดหยาบ AE ที่ระดับความเข้มข้น 2000 และ 4000 ppm สามารถยับยั้งการงอกได้ 10.35 และ 50.49 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 8000 ppm และสามารถยับยั้งการงอกได้อย่างสมบูรณ์ แต่ในขณะที่ความเข้มข้น 500 ppm ไม่มีผลต่อการยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนก แต่พบว่ามีผลส่งเสริมการงอกของหญ้าข้าวนก



รูปที่ 4.1 ผลของสารสกัดหยาบต่อการยับยั้งต่อการงอกของหญ้าข้าวนก

ผลต่อการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก

จากรูปที่ 4.2 ในด้านความยาวต้นพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบเมทานอลมีผลต่อความยาวต้นของหญ้าข้าวนก โดยระดับความเข้มข้น 1000, 2000, 4000 และ 8000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 18.15, 23.03, 39.91 และ 77.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ไม่มีผลต่อการยับยั้งความยาวต้น

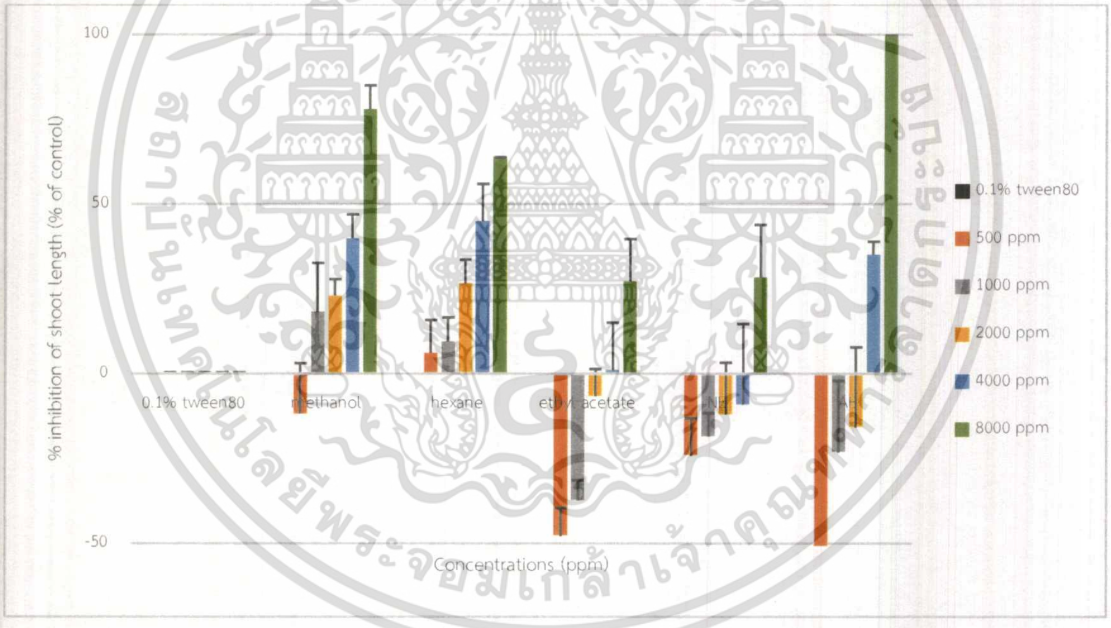
ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบเฮกเซนสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ทั้งหมด โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000, 2000, 4000 และ 8000 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 9.45, 13.30, 26.58, 27.55 และ 29.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ระดับความเข้มข้น 4000 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบเอทิล แอซิแตตมีผลต่อความยาวต้นของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้นข้น 4000 และ 8000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 0.99 และ 27.16 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 500 1000 และ 2000 ppm ไม่มีผลต่อการยับยั้งความยาวต้นได้ แต่พบว่ามีผลส่งเสริมความยาวต้นของหญ้าข้าวนก

ที่ระดับความเข้มข้น 8000 ppm สารสกัดหยาบ NE มีผลต่อความยาวต้นของหญ้าข้าวนก โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 28.32 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000, 2000, และ 4000 ppm ไม่มีผลต่อการยับยั้งความยาวต้น

ที่ระดับความเข้มข้น 4000 ppm สารสกัดหยาบ AE มีผลต่อความยาวต้นของหญ้าข้าวนก โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 35.05 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 8000 ppm ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000, และ 2000 ppm ไม่มีผลต่อการยับยั้งความยาวต้น



รูปที่ 4.2 ผลของสารสกัดหยาบต่อการยับยั้งความยาวต้นของหญ้าข้าวนก

จากรูปที่ 4.3 ในด้านความยาวรากพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบเมทานอล มีผลต่อความยาวรากของหญ้าข้าวนก โดยระดับความเข้มข้น 2000 และ 4000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 3.87 และ 38.59 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 8000 ppm ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm ไม่มีผลต่อการยับยั้งความยาวราก

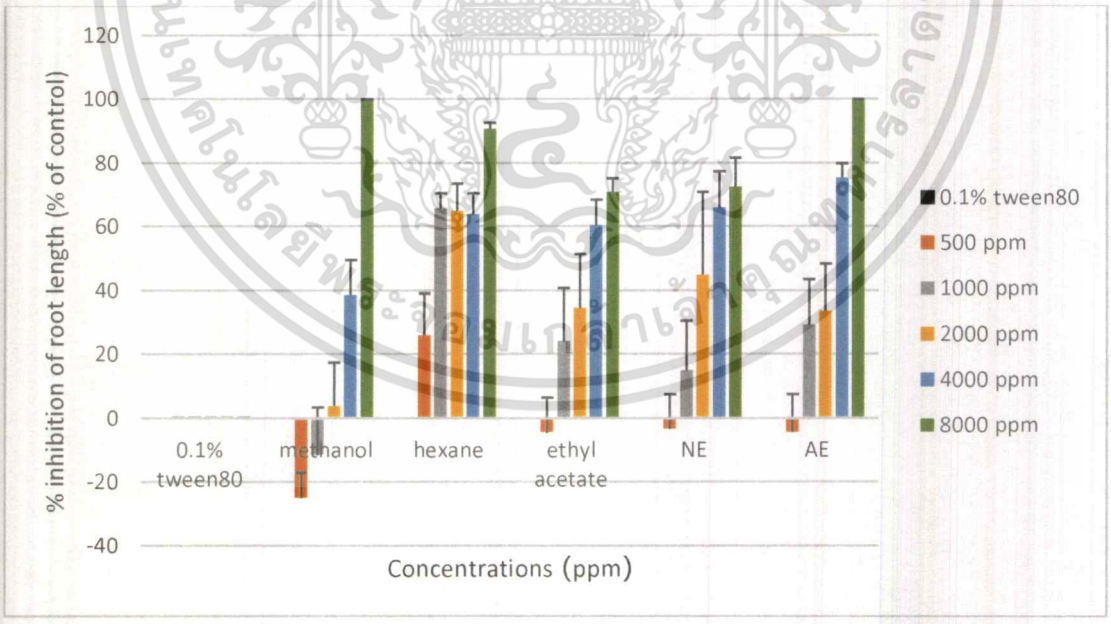
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบเฮกเซนสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ทั้งหมด โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000, 2000, 4000 และ 8000 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 25.92, 65.74, 64.85, 63.84 และ 90.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบเอทิล แอซิแตตมีผลต่อความยาวรากของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 1000, 2000, 4000 และ 8000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 24.06, 34.38, 60.40 และ 70.85 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ไม่มีผลต่อการยับยั้งความยาวราก

ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบ NE มีผลต่อความยาวรากของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 1000, 2000, 4000 และ 8000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 14.96, 44.82, 66.01 และ 72.55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ไม่มีผลต่อการยับยั้งความยาวราก

ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบ AE มีผลต่อความยาวรากของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 1000, 2000 และ 4000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 29.28, 33.49 และ 75.34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 8000 ppm ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ไม่มีผลต่อการยับยั้งความยาวราก



รูปที่ 4.3 ผลของสารสกัดหยาบต่อการยับยั้งความยาวรากของหญ้าข้าวนก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ผลการทดสอบการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขมจีน

ผลต่อการงอกของผักโขมจีน

จากรูปที่ 4.4 พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบเมทานอล มีผลต่อการงอกของผักโขมจีน โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 4.37, 5.49, และ 22.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 4000 และ 8000 ppm

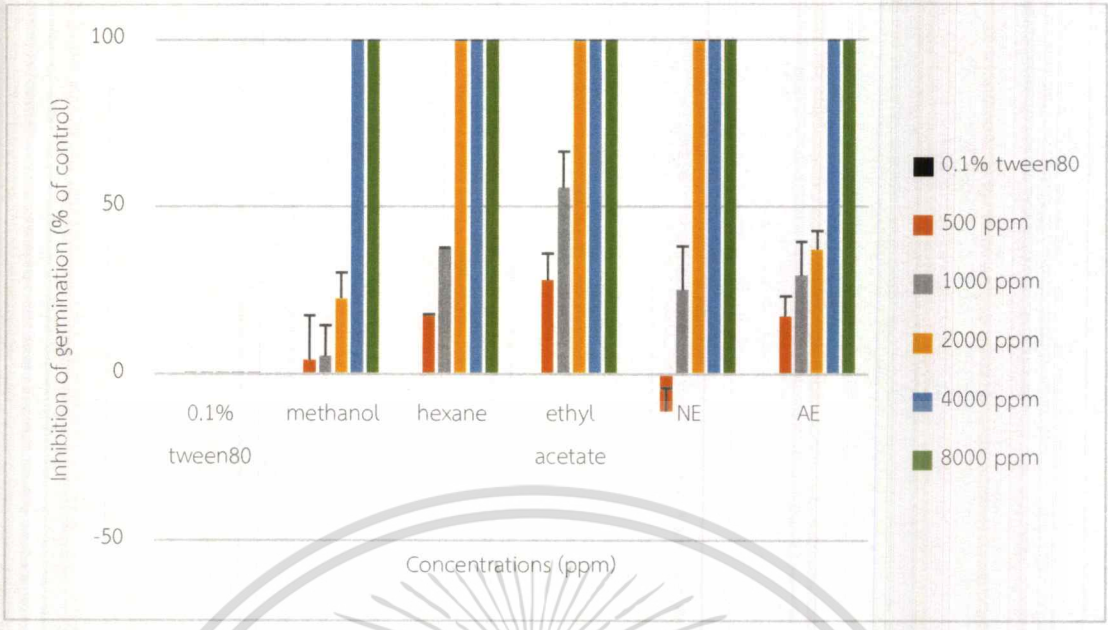
ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบเฮกเซน มีผลต่อการงอกของผักโขมจีน โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 17.58 และ 37.34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 2000 4000 และ 8000 ppm

ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบเอทิล แอซิเตตมีผลต่อการงอกของผักโขมจีน โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 28.07 และ 55.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 2000 4000 และ 8000 ppm

ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบ NE มีผลต่อการงอกของผักโขมจีน สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 25.28 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 2000, 4000 และ 8000 ppm ในขณะที่ความเข้มข้น 500 ppm ไม่มีผลต่อการยับยั้งการงอกของผักโขมจีน

ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบ AE มีผลต่อการงอกของผักโขมจีน โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 17.23, 29.59 และ 37.08 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 4000 และ 8000 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 ผลของสารสกัดหยาบต่อการยับยั้งต่อการงอกของผักโขมจีน

ผลต่อการเจริญเติบโตของผักโขมจีน

จากรูปที่ 4.5 ในด้านความยาวต้นพบว่า สารสกัดหยาบเมทานอลที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm ขึ้นไป มีผลต่อความยาวต้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 30.28 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 4000 และ 8000 ppm ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm ไม่มีผลต่อการยับยั้งความยาวต้น

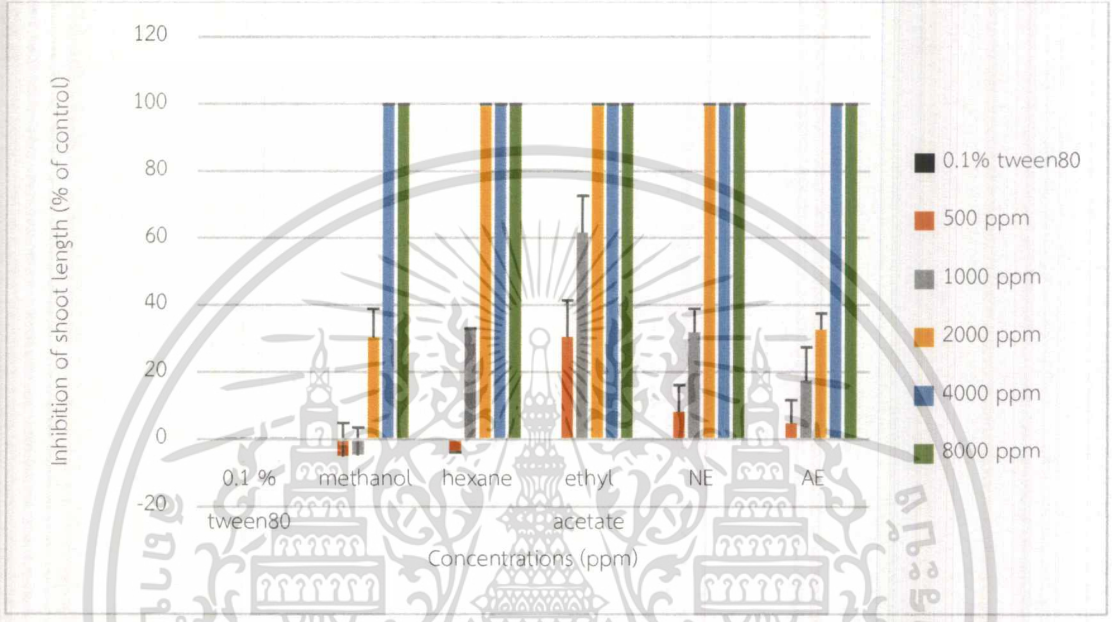
ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบเฮกเซนสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ โดยที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 32.57 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 2000, 4000 และ 8000 ppm ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ไม่มีผลต่อการยับยั้งความยาวต้น

ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบเอทิล แอซิแตตสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 30.46 และ 61.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 2000, 4000 และ 8000 ppm

ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบ NE สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ โดยที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 8.28 และ 31.95 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 2000, 4000 และ 8000 ppm

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือจำหน่ายเพื่อการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบ AE สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ โดยที่ระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 ppm ยับยั้งความยาวต้นได้ 4.73, 17.55 และ 32.71 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 4000 และ 8000 ppm



รูปที่ 4.5 ผลของสารสกัดหยาบต่อการยับยั้งความยาวต้นของผักโขมจีน

จากรูปที่ 4.6 ในด้านความยาวรากพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบเมทานอล มีผลต่อความยาวราก โดยระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 12.85, 14.61 และ 15.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 4000 และ 8000 ppm

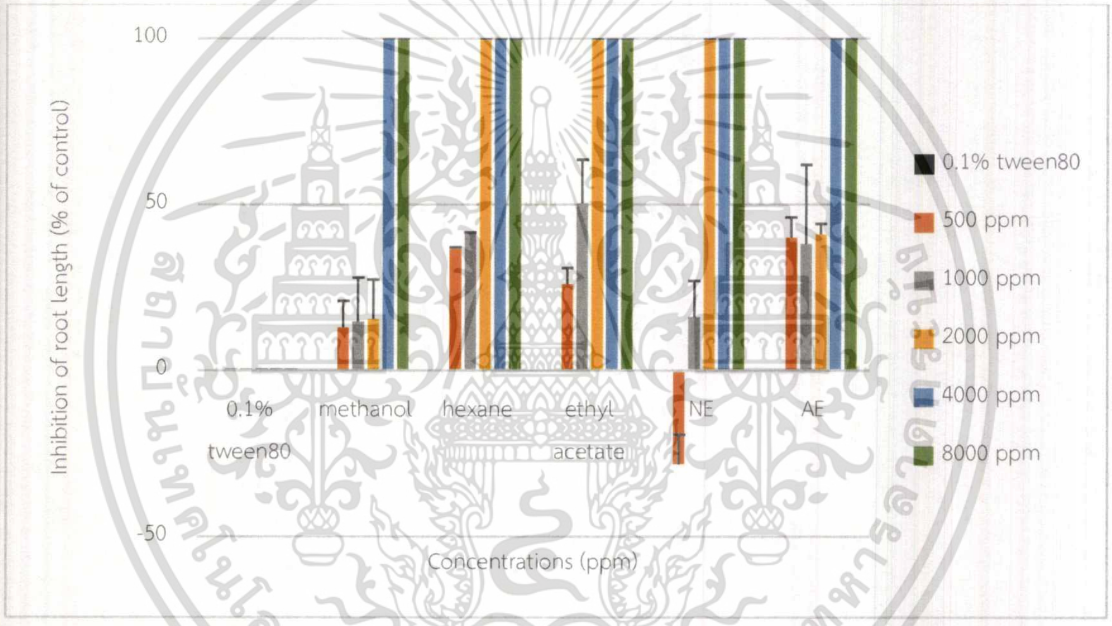
ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบเฮกเซนมีผลต่อความยาวราก โดยระดับความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 36.96 และ 41.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 2000, 4000 และ 8000 ppm

ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบเอทิล แอซิแตต มีผลต่อความยาวราก โดยระดับความเข้มข้น 500 และ 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 25.93 และ 50.47 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 2000, 4000 และ 8000 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบ NE มีผลต่อความยาวรากของหญ้าข้าวนก โดยที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 16.02 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm ขึ้นไป ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ไม่มีผลต่อการยับยั้งความยาวราก

ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm ขึ้นไป สารสกัดหยาบ AE มีผลต่อความยาวราก โดยระดับความเข้มข้น 500, 1000 และ 2000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 39.96, 38.01 และ 40.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 4000 และ 8000 ppm ดังแสดงในรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 ผลของสารสกัดหยาบต่อการยับยั้งความยาวรากของผักโขมจีน

จากการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้นมีผลต่อผักโขมจีนมากกว่าหญ้าข้าวนก สารสกัดหยาบเฮกเซน, สารสกัดหยาบเอทิล แอซิเตต และสารสกัดหยาบ NE สามารถยับยั้งการงอกของผักโขมได้อย่างสมบูรณ์ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm ขึ้นไป มีแนวโน้มเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจะมีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ในขณะที่สารสกัดหยาบ AE มีผลต่อการงอกของผักโขมจีนที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 4000 ppm ขึ้นไป ส่วนหญ้าข้าวนกพบว่า สารสกัดหยาบ AE มีผลต่อการงอกของหญ้าข้าวนกที่ระดับความเข้มข้น 8000 ppm อาจกล่าวได้ว่าสารสกัดหยาบเฮกเซน, สารสกัดหยาบเอทิล แอซิเตต และสารสกัดหยาบ NE มีผลต่อพืชใบเลี้ยงคู่มากกว่าพืชใบเลี้ยงเดี่ยว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้น

สารสกัดหยาบ (Crude Extract) ที่เตรียมจากการสกัดใบกำจัดต้นด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เมทานอล ได้สารสกัดหยาบเมทานอล มีผลได้ร้อยละเท่ากับ 34.62 เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักของใบกำจัดต้นแห้ง เมื่อนำสารสกัดหยาบเมทานอลส่วนที่หนึ่งมาสกัดด้วยวิธี Sequential extraction ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เฮกเซน และเอทิล แอซิเตต ตามลำดับ ได้สารสกัดหยาบเฮกเซน และสารสกัดหยาบเอทิล แอซิเตต มีผลได้ร้อยละเท่ากับ 34.62, 9.95 และ 8.99 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบเมทานอลส่วนที่หนึ่ง

และเมื่อทำการสกัดสารสกัดหยาบเมทานอลส่วนที่สองด้วยวิธีการสกัดแบบ Partition extraction ได้สารสกัดหยาบชั้น NE (Neutral extract) และสารสกัดหยาบชั้น AE (Acidic Extract) มีผลได้ร้อยละเท่ากับ 6.71 และ 5.04 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักสารสกัดหยาบเมทานอลส่วนที่สอง

5.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้น

นำสารสกัดหยาบเมทานอล, สารสกัดหยาบเฮกเซน, สารสกัดหยาบเอทิล แอซิเตต, สารสกัดหยาบชั้น NE (Neutral extract) และสารสกัดหยาบชั้น AE (Acidic extract) จากใบกำจัดต้นมาทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ *S. aureus*, *E. coli*, *P. Aeruginosa*, *B. Cereus*, *M. luteus* และ *C. albicans* พบว่าสารสกัดหยาบทุกชนิด ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบได้

5.3 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้นต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้นต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกได้ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 4000 และ 8000 ppm และสามารถยับยั้งการงอกของผักโขมจีนได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 8000 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบเฮกเซนสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกได้ที่ระดับความเข้มข้น 8000 ppm เท่ากับ 80.35 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งการงอกของผักโขมจีนได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 4000 และ 8000 ppm

สารสกัดหยาบเอทิล แอซิเตตมีแนวโน้มในการยับยับยั้งการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกที่ระดับความเข้มข้น 8000 ppm เท่ากับ 32.65 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งการงอกของผักโขมจีนได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 2000, 4000 และ 8000 ppm

สารสกัดหยาบชั้น NE มีแนวโน้มในการยับยับยั้งการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกได้ที่ระดับความเข้มข้น 8000 ppm และสามารถยับยั้งการงอกของผักโขมจีนได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 4000 และ 8000 ppm

สารสกัดหยาบชั้น AE มีแนวโน้มในการยับยับยั้งการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกที่ระดับความเมข้นเท่ากับ 8000 ppm ได้อย่างสมบูรณ์ และสามารถยับยั้งการงอกของผักโขมจีนได้อย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 4000 และ 8000 ppm

จากการทดสอบทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบกำจัดต้นต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืช สารสกัดหยาบทุกชนิดจากใบกำจัดต้นมีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบโดยมีผลยับยั้งกับผักโขมจีนซึ่งเป็นตัวแทนของวัชพืชใบเลี้ยงคู่มากกว่าหญ้าข้าวนกซึ่งเป็นตัวแทนของวัชพืชใบเลี้ยงเดี่ยว และเมื่อเพิ่มความเข้นข้นของสารสกัดหยาบจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น และพบว่าสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sarah L. Miller [35] ที่ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในน้ำมันหอมระเหยที่ถูกสกัดด้วยคลอโรฟอร์มจากส่วนใบของ *Zanthoxylum* sp. ที่พบสารอัลลีโลพาทีที่อยู่ในกลุ่มน้ำมันหอมระเหย เช่น Citronellal 22, Limonene 21 เป็นต้น ดังนั้นสารสกัดหยาบเฮกเซน, สารสกัดหยาบเอทิล แอซิเตต และสารสกัดหยาบ NE สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้ดีนั้นอาจเป็นเพราะตัวทำละลายอินทรีย์ทั้งสองสามารถสกัดสารอัลลีโลพาทีที่อยู่ในกลุ่มน้ำมันหอมระเหยและกลุ่มฟีนอลิกได้จึงทำให้มีผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดกลุ่มอื่น

5.4 วิจารณ์ผลการวิจัย

ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชจะต้องทำการวัดเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดในวันที่ 7 ของการทดลอง ต้องทำการวัดความยาวรากและลำต้น โดยต้องวัดผลให้เสร็จภายในวันเดียวกัน เพื่อป้องกันความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นได้

การเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ อาจเกิดการผิดพลาดจากการชั่งน้ำหนักสารและการปิเปตสารลงในขวดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.5 ข้อเสนอแนะ

ควรเปลี่ยนพืชทดสอบให้หลากหลายชนิดเพื่อทำให้เกิดการเปรียบเทียบ

เอกสารอ้างอิง

[1] ณัฐกานต์ วงศ์สีสม, จามจุรี จินะตา, บุษบา มะโนแสน. จิรรัชต์ กันทะขู้, สุรีพร วันควร และ สุภาวดี ศรีแย้ม. 2557. **"การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคในอาหารของน้ำมันหอมระเหยจากมะแขว่น."** *วิจัยและพัฒนา มจธ.* 37(1) : 3-15

[2] นุชนิภา นันทะวงศ์, 2558. **ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ. เชียงใหม่ : เอราวัณการพิมพ์**

[3] วราวุธ เสริมสินสีริ. 2558. "เส้นทางพัฒนาสมุนไพรไทยสู่ความยั่งยืน" Med.*&Herb*. 2(5): 6-11.

[4] ชยันต์ พิเชียรสุนทร. 2540. "พฤกษศาสตร์พื้นบ้านกับการค้นหายาใหม่." หน้า 206-228. **ในรายงานการสัมมนาทางวิชาการ เรื่อง สมุนไพรไทย เฉลิมพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงครองสิริราชสมบัติ ครบ ๕๐ ปี.** กรุงเทพฯ : บุญศิริการพิมพ์.

[5] ชยันต์ พิเชียรสุนทร และวิเชียร จีรวงส์. 2545. **คู่มือเภสัชกรรมแผนไทย เครื่องยาพฤกษวัตถุ.** เล่มที่ 2. กรุงเทพฯ : อมรินทร์.

[6] พิชิต สุดตา. 2558. **"การใช้ประโยชน์ทางยาพื้นบ้าน สารพฤกษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของมะข่วง."** *วิทยาศาสตร์บูรพา.* 20(1) : 236-250

[7] ปรารถนา สถิตย์วิภาวี. 2545. **ผลของกระเทียมสกัดชนิดเม็ดต่อระดับไขมันในผู้มีโคเรสเตอรอลสูง.** กรุงเทพฯ : โอ. เอส. พริ้นติ้งเฮาส์

[8] ปิยธิดา ตรีเดช. (2533) **การศึกษาความเป็นไปได้ในการนำขมิ้นใช้แทนยาลดกรดในโรงพยาบาลชุมชน.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยมหิดล.

[9] นงลักษณ์ ลิ้มกุล. 2552. **ประสิทธิผลและความปลอดภัยของการใช้ยาเม็ดมะขามแขกในการรักษาภาวะท้องผูกเรื้อรังในผู้ป่วยไตวายระยะสุดท้าย.** กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[10] สมบูรณ์ เกียรตินันทน์. 2552. **พัฒนาตำรับยาหัวข้าวเย็นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้รักษาผู้ป่วยมะเร็งและเอดส์.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

[12] อ้อมบุญ ล้วนรัตน์, วันดี กฤษณพันธ์ และนันทวัน บุณยประภัศร. 2536. **เภสัชวินิจฉัยยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ.** เล่มที่ 1. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[13] วีณา จิรัจฉริยากูล, ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิตย์, อ้อมบุญ ลัวนรัตน์, วันดี กฤษณพันธ์, เอมอร โสมนะพันธุ์ และพรรนิภา ชุมศรี. 2536. **เภสัชวินิจฉัย ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ.** เล่มที่ 2. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

[14] กฤษณ์ ศรีวะรมย์. 2543. **การศึกษาส่วนประกอบทางเคมีในผลกำจัดต้น.** โครงงานพิเศษ ภาควิชาเคมี สาขาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

[15] จรัญ ล้อมรัตน์สิริ. 2544. **การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดจากผลกำจัดต้นในทางการเกษตรและเภสัชวิทยา**. โครงงานพิเศษ ภาควิชาเคมี สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

[16] รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. 2535. **พืชเครื่องเทศและสมุนไพร.** ตำรา-เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 59. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์การศาสนา กรมการศาสนา.

[17] รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. **การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพร.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพ ฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[18] K Studio. 2558. Grieds Histor. [Online]. Available : http://kcontent.blogspot.com/2015/08/triterpenoid.html

[19] รัฐตะวัน พูลรมย์ สาวิกา หมานมา และสุภาวินี สุขโสม. 2553. **การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของดาวเรือง.** โครงงานพิเศษ สาขาวิชาเคมีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

[20] สืบศักดิ์ อนันต์พัฒนา. **ผลทางอัลลีโลพาทีของแซนทอกซิลีนจากผลกำจัดต้น.**วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเคมี บัณฑิตวิทยาลัย. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

[21] อัญชลี จาละ และอมรทิมพย์ วงค์สารสิน. 2556. "ผลของสารอัลลีโลพาทีจากต้อยติ่งที่มีต่อการงอกของเมล็ดไมยราบ ผักเสี้ยนผี และ ผักโขมหิน". *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 21(6) : 558-564

[22] อมรรัตน์ สีสุกอง กัลยาภรณ์ จันตรี และ ศรีสุดา หาญภาคภูมิ. "การศึกษาฤทธิ์ต้านแบคธีเรียของสารสกัดจากวัชพืชบางชนิด". *วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์.* 11(1) : 69-82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[23] Marcus Friedrich. 2018. **Pseudomonas Aeruginosa.** [Online]. Available : https://www.honestdocs.co/pseudomonas-aeruginosa

[24] พิมพ์เพ็ญ พระเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. 2562. **Micrococcus.** Available : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1982/micrococcus

[25] ธมลวรรณ ด้วงฉุย. 2015. **พืชไม้เมืองไทย, กำจัดต้น.** [Online]. Available : https://sites.google.com/a/kkn.ac.th/phuch-mi-meuxng-thiy/kacad-tn

[26] N. Setzer, A. Noletto, O. Lawton and A. Haber. 2004. "Leaf essential oil composition of five *Zanthoxylum* species from Monteverde, Costa Rica" *Molecular Diversity.* 2005(9) : 3-13.

[27] Y.C Chung, C.T Chien, K.Y Teng and S.T Chou. 2006. "Antioxidative and mutagenic properties of *Zanthoxylum ailantoides Sieb & zucc*" *Food Chemistry.* 97 : 418-425.

[28] S.L. Silva, P.M.S. Figueiredo and T.Yano. 2007. "Chemotherapeutic potential of the volatile oila from *Zanthoxylum rhoifolium* Lam leaves" *ScienceDriect.* 576 : 180-188.

[29] H.Y. Li, K.W. Pan, Q. Liu and J.C Wang .2008. "Effect of enhanced ultraviolet-B on allelopatathic potential of *Zanthoxylum bungeanum*". *Scientia Horticulturae.* 2009(119) : 310-314.

[30] S.L. Silva, P.M.S. Figueiredo and T.Yano. "Antibacterial and Antifungal Activities of Volatile Oils from *Zanthoxylum Rhoifolium*. Leaves". *Pharmaceutical Biology.* 2006(44) : 657-659.

[31] C.H. Jeong, J.H. Kwak, J.H. Kim, J.H. Kim, G.N. Choi, D.O. Kim and H.J Heo. "Neuronal cell protective and antioxidant effects of phenolicsobtained from Zanthoxylum piperitum leaf using in vitro model system". Food Chemistry. 2011(125) : 417-422

[32] S.T. Chou, H.H. Chan, H.Y. Peng, M.J.Liou and T.S. Wu. "Isolation of substances with antiproliferative and apoptosis-inducing activites against leukemia cell from the leaves of *Zanthoxylum ailanthoides* Sieb. & Zucc" *Phytomedicine.* 2011(18) : 344-348.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[33] C.F. Wang, K.Yang, H.M. Zhang, J.Cao, R.Fang and L.Zhou. "Components and Insecticidal Activity against the Maize Weevils of *Zanthoxylum schinifolium* Fruita and Leaves". 2011(16) : 3077-3088.

[34] J. Tangjitjaroenkun, R.Supabphol and W.Chavasiri. 2011. "Antioxidant effect of *Zanthoxylum limonella* Alston" *Journal of Medicnal Plants Research.* 6(8) : 1407-1414.

[35] S.L. Miller, W.A. Haber and W.N. Setzer. 2013. "Chemical composition of the leaf essential oil of an undercribed species of *Zanthoxylum* from Monteverde, Costa Rica". *Americam Journal of Essential Oils and Natural Products.* 1(2) : 38-40.

[36] C.H. Jeong and K.H. Shim. 2014. "Tyrosinanes Inhibitor Isolated from the leaves of *Zanthoxylum piperitum*". *Bioscience.* 68 (9) : 1984-1987.

[37] Y. Zhang, D.Wang, L.Yang, D. Zhou and J.Zhang. 2014. "Purification and Characterization of Flavonoids from the Leaves of *Zanthoxylum bungeanum* and Correlation between Their Strucure and Antioxiadant Activity". *PLOS ONE* . 1-11.

[38] P. Charoenying, M. Teerarak and C. Laosinwattana. 2010. An Allelopathic substance isolated from *Zanthoxylum limonella* Alston fruit. *Scientia Horticulturae*, 125, pp. 411-419.

[39] N. Chotsaeng, C. Laosinwattana and P. Charoenying. 2018. Inhibitory Effects of a Variety of Aldehydes on *Amaranthus tricolor* L. and *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. *Molecules*, 23, 471-485.

[40] A.W. Bauer, W.M.M. Kirby, J.C. Sherris and M. Truck. 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standdized Single Disk Method., *American Journal Clinical Pathology.*, 45, pp. 493-496.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตัวอย่างการคำนวนเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% Inhobotion)

$$\%\,Inhibition = 100 - \left[\frac{shoot\ length\ \&\ root\ length}{control(Tween80)} \times 100 \right]$$

ตัวอย่าง รากของต้นหญ้าข้าวนก มีความยาวเท่ากับ 0.7 เซนติเมตร และรากของต้นหญ้าข้าวนก ของชุดควบคุม (ทวีน80) มีความยาวเท่ากับ 1 เซนติเมตร สามารถคำนวนได้ดังนี้

$$\%\,Inhibition = 100 - \left[\frac{0.7}{1} \times 100 \right] = 30\%$$

ดั้งนั้น เปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากของหญ้าข้าวนกมีค่าเท่ากับ 30 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้