ผลของสารสกัดหยาบจากหญ้าแฝกต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์

ธารินทร์ ศรีวิโรจน์

วิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยพะเยา เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
กุมภาพันธ์ 2562
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

ผลของสารสกัดหยาบจากหญ้าแฝกต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์

ธารินทร์ ศรีวิโรจน์

วิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยพะเยา เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
กุมภาพันธ์ 2562
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของสารสกัดหยาบจากหญ้าแฝกต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์

ของ ธารินทร์ ศรีวิโรจน์

ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ของมหาวิทยาลัยพะเยา

.....ประธาน
(ดร.จิราภรณ์ นิคมทัศน์)

.....กรรมการ
(ดร.พนิตนาฏ อู่พุฒินันท์)

.....กรรมการ
(ดร.รวิสรา รื่นไวย์)

.....กรรมการ
(ดร.วนิดา แซ่จึง)

.....กรรมการ
(ดร.สุภาพร ภัสสร)

อนุมัติ

.....
(รองศาสตราจารย์รัตนา อัตตปัญโญ)
คณบดีคณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ
กุมภาพันธ์ 2562

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องได้รับความกรุณาจากอาจารย์ ดร. พนิตนาฏ อู่พุฒินันท์ อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย ที่ให้คำแนะนำปรึกษาเกี่ยวกับงานวิจัย ให้ความรู้ทางวิชาการ และช่วยเหลือด้านอุปกรณ์การทำวิจัย ทำให้ดำเนินงานวิจัยสำเร็จไปได้อย่างราบรื่น ตลอดจนแนะนำปรับปรุงแก้ไขข้อผิดพลาดของเล่มวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำแนะนำเพื่อแก้ไขในการจัดทำรูปเล่มวิทยานิพนธ์ฉบับสมบูรณ์ ทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยพะเยาทุกท่านที่คอยให้คำปรึกษาในด้านต่าง ๆ และอำนวยความสะดวกในงานวิจัย รวมถึงให้ความรู้ทางด้านวิชาการซึ่งมีส่วนสำคัญมากที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คุณนฤมล สุทะ นักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยพะเยา และคุณจันทนา จันโจมศึก นักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการสาขาวิชาความปลอดภัยทางอาหารในธุรกิจเกษตร มหาวิทยาลัยพะเยา ที่อำนวยความสะดวกในเรื่องของสถานที่และอุปกรณ์การทำวิจัย รวมถึงความรู้ในทางวิชาการทำให้มีความสะดวกสบายในการดำเนินงานวิจัย ทำให้งานวิจัยสำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (สำนักงาน กปร.) ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 ขอขอบคุณนิสิตรุ่นน้องสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพรหัส 56 และเพื่อนที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยบางเรื่อง และมีส่วนทำให้งานวิจัยสำเร็จ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดาและคนที่อยู่เบื้องหลังทุกท่าน ที่คอยสนับสนุนและให้กำลังใจผู้วิจัยจนทำให้สามารถพิมพ์เล่มวิทยานิพนธ์นี้ขึ้นมาได้ และผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์เล่มจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจและนำความรู้ที่ได้ไปต่อยอดเป็นความรู้และสิ่งใหม่ ๆ ในอนาคต

ธารินทร์ ศรีวิโรจน์

เรื่อง: ผลของสารสกัดหยาบจากหญ้าแฝกต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์
ผู้วิจัย: นายธารินทร์ ศรีวิโรจน์ **วิทยานิพนธ์:** วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ), มหาวิทยาลัยพะเยา, 2561
ประธานที่ปรึกษา: ดร. พนิตนาฏ อู่พุฒินันท์, **กรรมการที่ปรึกษา:** ดร. สุภาพร ภัสสร, ดร. รวิสรา รื่นไวย์
คำสำคัญ: หญ้าแฝก สกัดสาร สารพฤกษเคมี การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

บทคัดย่อ

หญ้าแฝกเป็นพืชที่มีรากยาวและมีความสำคัญต่อการนำไปใช้ในการอนุรักษ์น้ำและดิน ใบหญ้าแฝกจะถูกตัดทุก 3 เดือน เพื่อส่งเสริมการเจริญของราก ดังนั้นจึงมีใบเหลือทิ้งที่น่านำไปใช้ประโยชน์ทางอื่นได้ ในปัจจุบันหลายงานวิจัยรายงานว่าสารสกัดจากพืชบางชนิดมีฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคดังนั้นการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารพฤกษเคมีและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ของสารสกัดหญ้าแฝกทั้ง 12 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์แม่ฮ่องสอน แม่เต๊ียะ ศรีสังกา เชียงใหม่ พระราชทาน สงขลา 3 กาญจนบุรี พิษณุโลก ปางกว้าง จันทบุรี นครสวรรค์ และห้วยขาแข้ง โดยนำใบหญ้าแฝกมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิดคือน้ำ เอทานอล 95 เปอร์เซ็น อะซิโตน และเฮกเซน เมื่อนำสารสกัดมาทดสอบสารประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นพบว่า สารสกัดหญ้าแฝกที่สกัดด้วยน้ำพบซาโปนิน แทนนิน และฟลาโวนอยด์ในทุกสายพันธุ์ สารสกัดหญ้าแฝกที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็น พบแทนนิน เทอร์ปีนอยด์ และฟลาโวนอยด์ทุกสายพันธุ์ สารสกัดหญ้าแฝกที่สกัดด้วยอะซิโตนพบว่ามีเทอร์ปีนอยด์และฟลาโวนอยด์ในบางสายพันธุ์ ในขณะที่สารสกัดที่สกัดด้วยเฮกเซนไม่พบสารพฤกษเคมีใด จากการตรวจสอบปริมาณฟีนอลิกรวมพบว่า สายพันธุ์ห้วยขาแข้งที่สกัดด้วยน้ำมีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุด จากนั้นสารสกัดทั้งหมดถูกนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค 3 กลุ่มคือ กลุ่มแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังได้แก่ *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Streptococcus pyogenes* DMST 30653, *Propionibacterium acnes* DMST 14916, และ *Pseudomona aeruginosa* DMST 4739 กลุ่มแบคทีเรียก่อโรคช่องปากและลำคอได้แก่ *Streptococcus mutans* DMST 18771, *Streptococcus sorbinus* DMST 35719, และ *Moraxella catarrhalis* DMST 17121, และกลุ่มแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารได้แก่ *Escherichia coli* DMST 4212, *Salmonella* Typhi DMST 22842, *Shigella flexneri* DMST 4423, และ *Listeria monocytogenes* DMST 17203 ด้วยวิธี disc diffusion ผลการวิจัยพบว่า ในกลุ่มแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังพบว่าสารสกัดสายพันธุ์พระราชทานที่สกัดด้วย เอทานอล 95 เปอร์เซ็น ยับยั้งเชื้อ *S. Pyogenes* ได้ดีที่สุดกลุ่มแบคทีเรียก่อโรคช่องปากและลำคอพบว่า สารสกัดหญ้าแฝกสายพันธุ์พระราชทานที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็น ยับยั้งเชื้อ *S. mutans* ได้มากที่สุด ในขณะที่กลุ่มแบคทีเรียแบคทีเรียก่อโรคระบบทางเดินอาหารพบว่า *L. monocytogenes* เท่านั้นที่มีความไวต่อสารสกัดหญ้าแฝกสายพันธุ์เชียงใหม่ที่สกัดด้วยเอทานอล 95% มากที่สุด นอกจากนี้ผลการวิจัยยังพบว่าสารสกัดด้วยน้ำไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้เลย จากนั้นนำสารสกัดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ไปหาค่า MIC และ MBC พบว่าสารสกัดหญ้าแฝกสายพันธุ์แม่เต๊ียะ พิษณุโลก ปางกว้าง เชียงใหม่ และนครสวรรค์ ที่สกัดด้วย เอทานอล 95 เปอร์เซ็น และอะซิโตน ให้ค่า MIC ต่ำสุดอยู่ที่ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC ต่ำสุดอยู่ที่ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Title: EFFECT OF CRUDE EXTRACTS VETIVER GRASS ON GROWTH OF PATHOGENIC BACTERIA IN HUMAN

Author: Tarin Srewirot. **Thesis:** M.Sc. (Biotechnology), University of phayao, 2017

Advisor: Dr.Panitnart Auputinan. **Co-advisor:** Dr.Supapon pussorn, Dr.Rawisara ruenwai

Keyword: Vetiver grass, Extraction, Phytochemistry, Bacteria inhibition

Abstract

Vetiver grass is a plant that has long roots and is important to used in soil and water conservation. Leaves of vetiver grass will have cut every three mouths. Thus, they are by products that should be used in other ways. Today, many researchers reported that some plant extracts had antibacterial properties against bacterial pathogen. Therefore, this research aimed to study phytochemical and antibacterial activity of 12 vetiver grass extracts including Maehongson, Maetae, Srilanka, Chiangmai, Prarachatan, Songkhla 3, Kanchanaburi, Phitsanulok, Prangkwa, Chanthaburi, Nakhonsawan and Huaikhakhang. Leaves of vetiver grass were extracted by using 4 solvents; water, ethanol, acetone and hexane. The vetiver grass extracts were subjected to phytochemical screening tests. The results showed that saponin, tannin and flavonoids present in vetiver grass extracted by water. Ethnolic extracts showed terpenoids tannin and flavonoids, while some vetiver grass extracted by acetone showed terpenoids and flavonoids. In contract, hexane extracts were not found all phytochemistry. The highest content of phenolic compounds was obtained Huaikhakhang aqueous extracts. In latter time, all vetiver grass extracts were determined the bacteria growth inhibition of 3 group pathogenic bacteria including skin pathogen group namely *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Streptococcus pyogenes* DMST 30653, *Propionibacterium acnes* DMST 14916 and *Pseudomonas aeruginosa* DMST 4739, oral and throat pathogen group namely *Streptococcus mutans* DMST 18771, *Streptococcus sobrinus* DMST 35719 and *Moraxella catarrhalis* DMST 17121, gastrointestinal tract pathogen group namely *Escherichia coli* DMST 4212, *Salmonella* Typhi DMST 22842, *Shigella flexneri* DMST 4423, and *Listeria monocytogenes* DMST 17203 by disc diffusion method. In skin pathogen group bacterial inhibition, Prarachatan ethanolic extracts shows highest activity against *S. pyogene*s. About oral and throat pathogen group bacterial inhibition, Prarachatan ethanolic extracts showed highest activity against *S. mutans*. However, only *L. monocytogenes* in gastrointestinal tract pathogen was sensitive to vetiver grass extracts. All of aqueous extracts were not showed inhibition zone. The results showed that Maetae, Phitsanulok, Prangkwa Chiangmai and Nakhonsawan ethanolic and acetone extracts had minimum value of MIC of 62.5 mg/ml, and MBC of 125 mg/ml.

สารบัญ

บทที่ **หน้า**

1 บทนำ 1

ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2

ขอบเขตของการวิจัย 2

ประโยชน์ที่จะได้รับจากงานวิจัย 3

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

ความสำคัญและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหญ้าแฝก 4

สารประกอบทางพฤกษเคมีในพืช 8

การสกัดสารจากพืช 17

การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีในพืช 19

โรคติดเชื้อ (Infectious disease) และแบคทีเรียก่อโรค (Pathogenic Bacteria) 21

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 27

3 วิธีดำเนินงานวิจัย 30

วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง 30

วิธีการทดลอง 33

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ **หน้า**

4 ผลการวิจัย 37

การสกัดสารสกัดหยาบจากใบหญ้าแฝก 37

ผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัด (Phytochemical screening) 41

การหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด (Total Phenolic) 43

การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคด้วยวิธี disc diffusion 44

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าแบคทีเรียทดสอบ (MBC) 57

5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 63

บรรณานุกรม 70

ภาคผนวก 81

ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ 82

ภาคผนวก ข ภาพผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัด 83

ภาคผนวก ค สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 85

ภาคผนวก ง การเตรียมกราฟมาตรฐาน gallic acid 86

ประวัติผู้วิจัย 87

สารบัญตาราง

ตาราง **หน้า**

1 วิธีการปลูกหญ้าแฝกในพื้นที่ลาดชันโดยคิดจากพื้นที่ 1 ไร่ 7
2 ชนิดของไกลโคไซด์ 11
3 การจัดจำแนกชนิดของเทอร์ปีนอยด์ 15
4 วิธีการที่ใช้ตรวจสอบอัลคาลอยด์ 19
5 แบคทีเรียทดสอบ 32
6 สภาวะที่ใช้ระเหยตัวทำละลาย 34
7 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดจากใบหญ้าแฝกด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ 38
8 ลักษณะของสารสกัด 39
9 ผลการตรวจองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดด้วยน้ำ 41
10 ผลการตรวจองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ 42
11 ผลการตรวจองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดด้วยอะซิโตน 42
12 ผลการตรวจองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดด้วยเฮกเซน 43
13 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัด 44
14 ความกว้างของโซนการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังโดยสารสกัดหญ้าแฝกความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อ มิลลิตร ด้วยวิธี disc diffusion (มิลลิเมตร) 46
15 ความกว้างของโซนการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคช่องปากและลำคอโดยสารสกัดหญ้าแฝกความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ด้วยวิธี disc diffusion (มิลลิเมตร) 50
16 ความกว้างของโซนการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคระบบทางเดินอาหารโดยสารสกัดหญ้าแฝกความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ด้วยวิธี disc diffusion (มิลลิเมตร) 54
17 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่า (MBC) เชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดหญ้าแฝก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) 58

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง **หน้า**

18 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุด
ที่สามารถฆ่า (MBC) เชื้อแบคทีเรียก่อโรคบริเวณช่องปากและลำคอของสารสกัด
หญ้าแฝก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)..... 60
19 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุด
ที่สามารถฆ่า (MBC) เชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารของสารสกัดหญ้าแฝก
(มิลลิกรัมต่อมิลลิตร)..... 62

สารบัญภาพ

ภาพ **หน้า**

1 โครงสร้างของอัลคาลอยด์ 10
2 โครงสร้างของไกลโคไซด์ 11
3 โครงสร้างของคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ 13
4 โครงสร้างของฟีนอล 14
5 โครงสร้างของฟลาโวนอยด์ 15
6 ลักษณะของสารสกัดจากหญ้าแฝก 40
7 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. pyogenes* โดยสารสกัดจากหญ้าแฝก 48
8 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. catarrhalis* โดยสารสกัดจากหญ้าแฝก 52
9 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* โดยสารสกัดจากหญ้าแฝก 56
10 การทดสอบซาโปนิน 83
11 การทดสอบแทนนิน 83
12 การทดสอบเทอร์ปีนอยด์ 84
13 การทดสอบฟลาโวนอยด์ 84
14 กราฟมาตรฐาน Gallic acid 86

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของงานวิจัย

แบคทีเรียก่อโรค (Pathogenic bacteria) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มองไม่เห็นได้ด้วยตาเปล่า มักจะพบปะปนอยู่ในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ทั้งดิน น้ำ และอากาศ (จิราภรณ์ บุราคร และเรือนแก้ว ประพฤติ, 2555) มนุษย์จึงมีโอกาสที่จะสัมผัสและได้รับเชื้อแบคทีเรียเหล่านั้น ทำให้เกิดอาการเจ็บป่วย ผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการรุนแรงและอาจส่งผลกระทบต่อการดำเนินกิจกรรมในชีวิตประจำวัน นอกจากนี้บางรายอาจรู้เท่าไม่ถึงการณ์ด้านการสาธารณสุขและมีการรักษาแบบไม่ถูกวิธีทำให้มีอาการเจ็บป่วยที่รุนแรงขึ้นกว่าเดิม การป้องกันหรือการรักษานั้นทำได้โดยใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ผลิตภัณฑ์บางชนิดมีราคาค่อนข้างสูงและต้องมีการนำเข้าจากต่างประเทศ เชื้อบางชนิดมีการทนต่อผลิตภัณฑ์ดังกล่าวทำให้ยากต่อการป้องกันและรักษา นอกจากนี้ผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการแพ้ทำให้เกิดผลข้างเคียงและเกิดปัญหาในการรักษาตามมา ดังนั้นการหาสิ่งที่จะไปทดแทนผลิตภัณฑ์ต้านแบคทีเรียดังกล่าวจึงมีความสำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการค้นหาตัวยาชนิดใหม่จากพืชเพื่อที่จะนำไปทดแทนสิ่งเหล่านั้น ซึ่งในพืชจะสร้างสารที่เรียกว่าสารทุติยภูมิ (Secondary Metabolite) ขึ้นเพื่อเป็นประโยชน์กับตัวของพืชเอง แต่สารดังกล่าวมีประโยชน์กับตัวมนุษย์เช่นกัน และมนุษย์ได้รู้จักนำสารเหล่านี้ออกมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ มาตั้งแต่สมัยโบราณแล้ว เช่น การนำมารักษาโรค ใช้ในการไล่แมลง หรือแม้กระทั่งใช้เป็นสารพิษในการล่าสัตว์ และเพื่อหาตัวยาจากพืชที่เหมาะสมที่สุดในการนำไปทดแทนผลิตภัณฑ์ต้านแบคทีเรีย จึงมีความจำเป็นที่ต้องวิจัยค้นคว้าเกี่ยวกับสารสกัดจากพืช อีกทั้งยังเป็นการลดต้นทุนการนำเข้าผลิตภัณฑ์เหล่านั้นและเป็นการใช้ทรัพยากรทางธรรมชาติให้เกิดประโยชน์อีกด้วย

หญ้าแฝก (Vetiver Grass) เป็นพืชในโครงการพระราชดำริของรัชกาลที่ 9 ถูกนำมาปลูกเพื่อแก้ไขปัญหาทรัพยากรทางดินและน้ำ โดยการนำหญ้าแฝกไปปลูกในพื้นที่ที่ดินเสื่อมโทรมหรือเสี่ยงต่อการพังทลายของหน้าดิน เนื่องจากหญ้าแฝกนั้นมีระบบรากที่แผ่กระจายและแทงลึกตรง ๆ ลงไปในดิน ด้วยคุณสมบัตินั้นทำให้หญ้าแฝกสามารถรักษาสภาพหน้าดินเอาไว้ได้ดี และในทุก ๆ 3–4 เดือน จะมีการตัดใบให้สั้นเพื่อให้กอหญ้าแฝกขยาย (กรมพัฒนาที่ดิน, 2550) นอกจากการอนุรักษ์ทรัพยากรดินและน้ำแล้ว ใบของหญ้าแฝกที่มีความแข็งแรงได้ถูกใช้นำมาทำเป็นวัสดุในการมุงหลังคา และทำเครื่องจักรสานได้อีกด้วย น้ำมันหอมระเหยจากรากของหญ้าแฝกยังถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอางเพื่อช่วยทำให้กลิ่นติดทนนาน นอกจากนี้ยังมีรายงานอีกด้วยว่ารากของหญ้าแฝกนั้นช่วย

ในการป้องกันแมลง (รุ่งนภาก่อประดิษฐ์สกุล และคณะ, 2538) และส่วนต่าง ๆ ของหญ้าแฝกยังสามารถใช้ในการรักษาโรคหรืออาการบาดเจ็บต่าง ๆ ได้อีกด้วย (Sangeetha, 2012) จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของหญ้าแฝกที่อาจจะนำไปใช้ประโยชน์ได้ จึงมีความสนใจที่จะศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพนั้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค อีกทั้งยังเป็นการค้นหาตัวยาต้านแบคทีเรียเพื่อนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับป้องกันหรือรักษาโรคที่เกิดจากจุลินทรีย์ได้ในอนาคต และเป็นการใช้ใบหญ้าแฝกที่เกิดจากการตัดเพื่อดูแลรักษาให้เกิดประโยชน์อย่างครบวงจรอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากใบหญ้าแฝกด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

2. ศึกษาผลของสารสกัดจากใบหญ้าแฝกสายพันธุ์ต่าง ๆ ต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์

ขอบเขตของการวิจัย

ทำการสกัดสารจากใบของหญ้าแฝกทั้ง 12 สายพันธุ์ แบ่งเป็นแฝกลุ่ม 6 สายพันธุ์ได้แก่ แม่ฮ่องสอน แม่เตี๊ยะ ศรีลังกา พระราชทาน เชียงใหม่ และสงขลา 3 แฝกดอน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ กาญจนบุรี พิษณุโลก ปางกว้าง จันทบุรี นครสวรรค์ และห้วยขาแข้ง ทำการสกัดโดยวิธีการหมักเพื่อสกัด (Maceration) โดยใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน อะซิโตน เอทานอล และน้ำ แล้วนำสารสกัดที่ได้มาตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารทั้ง 5 กลุ่ม ได้แก่ เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน และอัลคาลอยด์ จากนั้นนำมาทดสอบกับ แบคทีเรียก่อโรค โดยวิธี Disc Diffusion test, Minimum inhibitory concentration และ Minimum Bactericidal Concentration โดยสถานที่ที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย คือ ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา ในช่วงเวลา เดือนมกราคม พ.ศ 2558 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2559

ประโยชน์ที่จะได้รับจากงานวิจัย

1. ทำให้รู้สารพฤกษเคมีในสารสกัดหญ้าแฝก

2. สามารถนำผลจากการทดลองไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการฆ่าหรือยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอนาคต

3. เป็นการใช้ใบจากหญ้าแฝกที่ถูกตัดทิ้งเพื่อให้เกิดประโยชน์อย่างครบวงจร

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ความสำคัญและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหญ้าแฝก

1. ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับหญ้าแฝก

หญ้าแฝก (Vetiver Grass) เป็นพืชที่มีการกระจายตัวอยู่มากในเขตร้อน เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ Poaceae สกุล *Vetiveria* และมีความใกล้เคียงกับพืชในสกุล *Chrysopogon* มาก ในปี ค.ศ. 1999 Veldkamp ได้รายงานว่าพืชในสกุล *Chrysopogon* และ *Vetiveria* ไม่ได้มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันจึงได้ทำการปรับเปลี่ยนรายชื่อพืชที่อยู่ในสกุล *Vetiveria* มาเป็น *Chrysopogon* (Veldkamp, 1999) ทำให้หญ้าแฝกมีชื่อพ้องทางวิทยาศาสตร์ว่า *Chrysopogon* spp. สำหรับพืชในสกุล *Vetiveria* มีการกระจายตัวอยู่ประมาณ 11–12 สปีชีส์ทั่วโลก สปีชีส์ที่รู้จักกันมากที่สุดคือ *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash ในรากของหญ้าแฝกชนิดนี้มีน้ำมันหอมระเหยที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในทางอุตสาหกรรมเครื่องสำอางหรือใช้เป็นส่วนผสมของน้ำหอม (Singh, et al., 2014) นอกจากนี้ยังมี *V. Lawsonii* ที่พบในประเทศอินเดีย และ *V. nigritana* ที่พบในแถบทวีปแอฟริกา (Maffei, 2003)

จากปัญหาความเสื่อมโทรมของทรัพยากรทางดินและน้ำ หญ้าแฝกจึงถูกนำมาใช้ในการปรับปรุงแก้ไขปัญหาเหล่านั้น เนื่องจากมีระบบรากลึกและแผ่ตรง ๆ ลงไปในดิน ทำให้หญ้าแฝกมีความสามารถในการยึดเกาะกับหน้าดินได้ (กรมพัฒนาที่ดิน, 2550) ทั่วโลกนั้นมีหญ้าแฝกอยู่ประมาณ 11–12 สปีชีส์ แต่ที่ประเทศไทยพบเพียง 2 สปีชีส์ คือ *V. zizanioides* (L.) Nash และ *V. nemoralis* A. Camus (ประสิทธิ์ ฮวบดี, 2556)

2. ชนิดของหญ้าแฝกที่พบในประเทศไทย

2.1 กลุ่มแฝกดอน (*Vetiveria nemoralis A. Camus* หรือ *Chrysopogon nemoralis* (Balansa) Holttum) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าแฝกบ้านพบอยู่ตามประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีลักษณะใบยาว 80 เซนติเมตร และ กว้าง 0.8 เซนติเมตร สีเขียวซีดหลังใบเป็นสันสามเหลี่ยม เนื้อใบหยาบและสากคาย มีไขมันเคลือบน้อยทำให้ใบดูกร้าน เมื่อมีอายุประมาณ 1 ปี จะมีระบบรากลึกประมาณ 1 เมตร เช่น พิษณุโลก นครสวรรค์ และห้วยขาแข้ง

2.2 กลุ่มแฝกลุ่ม (*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash หรือ *Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่าแฝกหอม เป็นพืชที่สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้อย่างรวดเร็ว มีลักษณะใบยาว 100 เซนติเมตร กว้าง 1.2 เซนติเมตร ใบโค้งปลายใบแหลมมีสีเขียวเข้ม เนื้อใบค่อนข้างเนียนมีไขมันเคลือบท้องใบมีสีขาวซีดกว่าหลังใบ เมื่อมีอายุประมาณ 1 ปี จะมีระบบรากลึกประมาณ 1 เมตร เช่น สงขลา 3 ศรีลังกา และศรีลังกา (ศูนย์ปฏิบัติการโครงการหลวงภาคเหนือ, 2548)

3. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหญ้าแฝก หญ้าแฝกจัดเป็นพืชเขตร้อนพบกระจัดกระจายอยู่ตามธรรมชาติขึ้นเป็นกอหนาแน่น แต่ละกอจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 30 เซนติเมตร ความสูงจากโคนถึงยอดประมาณ 0.5–1.5 เมตร ใบมีลักษณะแคบและเรียวยาว โดยมีความกว้างอยู่ที่ 0.8 เซนติเมตร และยาว 75 เซนติเมตร ส่วนระบบรากนั้นจะลึกและแทงตรง ๆ ลงไปในดินแนวดิ่ง รากจะมีจำนวนมากและประสานกันได้ดีติดต่อกันแน่นหนา ทำให้สามารถกักเก็บน้ำและความชุ่มชื้นของดินได้ดี ส่งผลให้หญ้าแฝกเป็นพืชทนแล้ง (ศูนย์ปฏิบัติการโครงการหลวงภาคเหนือ, 2548)

3.1 ลำต้น ขึ้นเป็นกอมีลักษณะเป็นพุ่มอัดกันแน่นอยู่กันเป็นกลุ่มใหญ่กระจายกันไปไม่ไกลมาก กอแฝกมีขนาดค่อนข้างใหญ่โคนกอเบียดกันแน่นเป็นลักษณะเฉพาะที่แตกต่างจากหญ้าชนิดอื่นค่อนข้างชัดเจน ส่วนโคนของลำต้นจะแบนเกิดจากส่วนของโคนใบที่จัดเรียงซ้อนพับกัน ลำต้นแท้จะมีขนาดเล็กซ่อนอยู่ในกาบใบบริเวณคอดิน การเจริญเติบโตของหญ้าแฝกจะมีการแตกหน่อใหม่ขึ้นมาทดแทนหน่อเก่าอยู่เรื่อย ๆ ทำให้กอมีขนาดใหญ่ขึ้น

3.2 ใบ จะแตกออกจากโคนกอ มีลักษณะแคบเรียวยาวปลายใบแหลม ในใบแก่จะมีลักษณะตรงขอบในและเส้นกลางใบจะมีหนามละเอียด (Spinulose)

3.3 ราก จะเจริญออกจากลำต้นแทงหยั่งลึกตรง ๆ ลงไปในดินลักษณะเป็นแนวดิ่งและสานกันแน่นไม่แผ่กระจายไปรอบข้าง มีระบบรากฝอยจำนวนมาก เป็นลักษณะที่ทำให้ระบบรากของหญ้าแฝกนั้นแตกต่างจากหญ้าชนิดอื่น จากลักษณะแบบนี้ทำให้หญ้าแฝกถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาทรัพยากรดิน

3.4 ช่อดอก ลักษณะของดอกของหญ้าแฝกมีลักษณะเป็นรูปกระสวยกว้าง 1.5–2.5 เซนติเมตร ยาว 2.5–3.5 เซนติเมตร มีช่อดอกที่มีลักษณะตั้งเป็นรวง ก้านดอกยาวกลมก้านและช่อดอกสูงรวมกันมีความยาวประมาณ 1–1.15 เมตร ดอกของหญ้าแฝกจะเรียงกันอยู่เป็นคู่ ๆ มีขนาดใกล้เคียงกันแต่ละคู่นั้นประกอบด้วยดอกที่มีก้านและไม่มีก้าน ดอกไม่มีก้านจะอยู่ตรงกลาง ส่วนดอกที่มีก้านจะอยู่ด้านบน ปลายของก้านช่อย่อย

3.5 เมล็ด (Seed) มีสีน้ำตาลอ่อนรูปกระสวยพัฒนามาจากดอกที่ไม่มีก้านที่ได้รับการผสมแล้ว เมล็ดของหญ้าแฝกสูญเสียสภาพการงอกได้ง่ายและความสามารถในการงอกอยู่ในช่วงระยะเวลาอันสั้น และบางสายพันธุ์ไม่มีเมล็ด จึงทำให้หญ้าแฝกไม่ใช่วัชพืชที่ร้ายแรง

4. การขยายพันธุ์หญ้าแฝกและการดูแลรักษา เนื่องจากเมล็ดของหญ้าแฝกมีความสามารถในการงอกที่ไม่ค่อยดีและสูญเสียสภาพได้ง่าย ดังนั้นจึงไม่นิยมใช้เมล็ดในการขยายพันธุ์แต่จะใช้การขยายแม่พันธุ์แทน โดยคัดเลือกแม่พันธุ์ที่มีลักษณะดีมาทำการแยกหน่อแล้วทำการเพิ่มปริมาณโดยการปลูกลงดิน หรืออีกวิธีหนึ่งคือการขยายกล้าพันธุ์ ทำได้โดยนำหน่อที่ได้จากการขยายแม่พันธุ์มาเพาะชำแล้วนำไปปลูกในพื้นที่จริง (กรมพัฒนาที่ดิน, 2550; ประสิทธิ์ ฮวบดี, 2556)

4.1 การขยายแม่พันธุ์หญ้าแฝก

4.1.1 การขยายพันธุ์ในแปลงขนาดใหญ่ ทำได้โดยการแยกหน่อออกจากกอ ตัดใบและรากให้สั้น จากนั้นนำไปแช่น้ำรอจนรากแตกออกใหม่แล้วนำไปปลูกในแปลงให้มีระยะห่างต่อต้นประมาณ 5 เซนติเมตร เมื่ออายุ 1 เดือน ให้ใส่ปุ๋ยสูตร 15–15–15 และเมื่ออายุครบ 4–5 เดือน ให้ขุดไปชำในถุงพลาสติก

4.1.2 การขยายพันธุ์ในถุงพลาสติกขนาดใหญ่ ทำได้โดยนำหน่อของหญ้าแฝกที่ได้ผ่านการตัดใบ ราก และแช่น้ำจนรากแตกออกใหม่แล้ว ไปเพาะในถุงพลาสติกขนาดใหญ่ โดยในถุงพลาสติกจะมีวัสดุปลูกที่สามารถระบายน้ำได้ดีเช่น ดินร่วนปนทราย แกลบหรือขุยมะพร้าว ควรติดตั้งระบบน้ำฝอยหรือมีตะข่ายบังแสง นำหน่อมาปักชำ จนกระทั่งอายุครบ 4 เดือน จึงนำไปแยกหน่อเพาะชำต่อไป

4.2 การขยายกล้าพันธุ์สำหรับใช้ปลูก

4.2.1 การเตรียมกล้าหญ้าแฝกในถุง ทำได้โดยนำหญ้าแฝกมาทำการแยกหน่อออกจากกอ ตัดใบและรากให้สั้น นำไปแช่น้ำหรือมัดรวมกับขุยมะพร้าวที่ชื้น เมื่อรากแตกออกใหม่จึงนำไปเพาะในถุงพลาสติกที่ใช้สำหรับปลูกพืช ดูแลรักษาในเรือนเพาะชำ เมื่อครบ 40–60 วันให้นำไปปลูกในพื้นที่จริง

4.2.2 การเตรียมกล้าหญ้าแฝกแบบรากเปลือย ทำได้โดยนำหญ้าแฝกมาทำการแยกหน่อออกจากกอ ตัดใบและรากให้สั้น นำไปแช่น้ำหรือมัดรวมกับขุยมะพร้าวที่ชื้น เมื่อรากแตกออกใหม่จึงนำไปปลูกโดยไม่ต้องนำไปเพาะชำในถุงพลาสติก

4.3 การดูแลรักษา

เมื่อพบต้นที่ตายให้ทำการปลูกซ่อมทันที กำจัดวัชพืชที่ขึ้นรอบ ๆ กอ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกที่เป็นไม้เถา และตัดใบให้เหลือประมาณ 40 เซนติเมตรในทุก ๆ 3–4 เดือน

5. การใช้ประโยชน์จากหญ้าแฝก

จากที่หญ้าแฝกมีลักษณะเป็นกออัดกันแน่นและมีระบบรากที่แทงลึกลงไปในดิน ทำให้สามารถยึดกับหน้าดินได้ดี จึงมีการนำหญ้าแฝกมาปลูกในพื้นที่ลาดชันเพื่อป้องกันการพังทลายของหน้าดิน หรือนำไปปลูกบริเวณริมแหล่งน้ำเพื่อป้องกันการกัดเซาะหน้าดิน นอกจากนี้หญ้าแฝกยังมีบทบาทในการปรับปรุงดินให้มีสภาพดีขึ้นอีกด้วย โดยเฉพาะใบเมื่อมีการย่อยสลายจะสามารถปล่อยธาตุอาหารหลักและรองให้แก่ดินได้ ส่วนรากนั้นมีส่วนทำให้ดินร่วนซุยขึ้นเนื่องจากระบบรากจะแทงลึกลงไปในดินและเมื่อตายลงจะทำให้เกิดช่องว่างทำให้อากาศถ่ายเทได้สะดวกซึ่งจะเป็นสภาพดินที่เหมาะแก่การเจริญเติบโตของพืชหลาย ๆ ชนิด

5.1 การปลูกหญ้าแฝกเพื่ออนุรักษ์ดินและน้ำ

5.1.1 การปลูกในพื้นที่ลาดชัน ปลูกเป็นแถวเพื่อป้องกันการพังทลายของดิน โดยมีวิธีการปลูกดังแสดงในตาราง 1

ตาราง 1 วิธีการปลูกหญ้าแฝกในพื้นที่ลาดชันโดยคิดจากพื้นที่ 1 ไร่

ความลาดชัน	จำนวนแถว	ระยะห่างของแถว(เมตร)
31–35 เปอร์เซ็นต์	5	8
21–30 เปอร์เซ็นต์	5	10
11–20 เปอร์เซ็นต์	4	12
6–10 เปอร์เซ็นต์	3	20
3–5 เปอร์เซ็นต์	2	30

5.1.2 ในพื้นที่ราบ ปลูกเป็นแถวขวางทางลาดเทของพื้นที่เพื่อกันตะกอนดินและปุ๋ยไว้ในพื้นที่ไม่ให้ชะล้างไปกับน้ำ

5.1.3 ปลูกบริเวณข้างแปลงพืชเพื่อป้องกันร่องพัง โดยปลูกให้ห่างจากร่องประมาณ 30 เซนติเมตร (กรมพัฒนาที่ดิน, 2550; กรมชลประทาน, 2552)

5.2 การปลูกหญ้าแฝกในการปรับปรุงดิน

5.2.1 การปลูกแฝกเพื่อบำรุงดิน เป็นการปลูกหญ้าแฝกเพื่อทำให้ดินอยู่ในสภาพพร้อมที่จะปลูกพืชชนิดอื่น ๆ การปลูกควรปลูกให้เต็มในพื้นที่ที่ต้องการฟื้นฟู โดยปลูกแบบดำนาข้าวให้มีระยะห่างระหว่างต้นและแถวประมาณ 50x50 เซนติเมตร เมื่อครบ 4–5 เดือนให้ขุดกอออกโดยใช้จอบ หรือเสียมแซะรอบกอแล้วงัดขึ้นเหลือรากทิ้งไว้ในดิน กอที่ขุดออกมาแล้วสามารถนำไปแยกหนอเพื่อขยายพันธุ์ต่อไปได้

5.2.2 การปลูกหญ้าแฝกเพื่อเร่งให้ไม้ยืนต้นโตเร็วขึ้น ทำได้โดยปลูกรอบ ๆ ไม้ยืนต้น ทำการปลูกทั้งหมด 2 วง วงแรกให้ห่างจากทรงพุ่มของต้นไม้ประมาณ 30 เซนติเมตร วงที่ 2 ให้ห่างจากวงแรก 50 เซนติเมตร เมื่อต้นไม้โตขึ้นจนถึงวงแรกให้ขุดวงแรกออกเหลือรากทิ้งไว้ในดิน จากนั้นให้นำหญ้าแฝกมาปลูกต่อจากวงที่ 2 โดยให้ห่างประมาณ 50 เซนติเมตร ทำแบบนี้ไปเรื่อย ๆ เมื่อไม้ยืนต้นนั้นเจริญมาถึง (กรมพัฒนาที่ดิน, 2550; กรมชลประทาน, 2552)

5.3 ประโยชน์ในด้านอื่น ๆ หญ้าแฝกนอกจากจะใช้ในการรักษาทรัพยากรทางดินและน้ำแล้วยังมีรายงานการใช้ประโยชน์จากส่วนต่าง ๆ อีก ตัวอย่างเช่น ใช้เป็นวัสดุผลิตแผ่นประกอบทางชีวภาพแล้วนำไปใช้แทนไม้ (วรธรรม อุ่นจิตติชัย, 2555) เนื่องจากใบของหญ้าแฝกนั้นประกอบด้วยเซลลูโลสและลิกนินลักษณะเส้นใยคล้ายคลึงกับไม้ จากคุณสมบัตินี้ยังใช้เป็นวัสดุในการมุงหลังคาได้อีกด้วย ซึ่งสามารถใช้ได้ทนนานถึง 3–5 ปี ในขณะที่ใบหญ้าคานั้นสามารถอยู่ได้เพียงไม่เกิน 2 ปีเท่านั้น อีกทั้งยังนำมาใช้ในการทำเครื่องจักสาน (ชาติชาย ศิริพัฒน์, 2556) นอกจากนี้หญ้าแฝกยังมีสารประกอบทางเคมีที่สำคัญในการช่วยรักษาอาการบาดเจ็บหรือโรคต่าง ๆ ได้ เช่น รากใช้แก้อาการปวดหัวและปวดฟัน และเป็นแหล่งที่เก็บน้ำมันหอมระเหยไว้มากซึ่งมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ ทำให้ผิวแดงร้อนอย่างอ่อน และช่วยให้นอนหลับง่าย ลำต้นนำไปต้มแก้อาการติดเชื้อในกระเพาะปัสสาวะ ส่วนของใบนั้นใช้สกัดเอาน้ำมันระเหยไปใช้รักษาโรคไข้มาลาเรีย (Sangeetha, 2012)

สารประกอบทางพฤกษเคมีในพืช

ในกระบวนการทางชีวเคมีของพืชนั้นจะมีการผลิตสารประกอบชนิดต่าง ๆ ขึ้นมามากมายและจะเก็บสะสมไว้ในส่วนต่าง ๆ ของพืชเรียกสารเหล่านี้ว่าสารประกอบทางเคมีในพืช (Phytochemistry) สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ สารประกอบปฐมภูมิ และสารประกอบทุติยภูมิ

1. สารประกอบปฐมภูมิ (Primary metabolite) เป็นสารที่พืชได้มาจากกระบวนการสังเคราะห์แสง และเป็นสารที่มีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของพืช และอาจใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารทุติยภูมิอีกด้วย สารพวกนี้ได้แก่

1.1 คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) เป็นสารที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญที่จะเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานให้กับสิ่งมีชีวิต จะประกอบไปด้วยธาตุคาร์บอน (Carbon) ไฮโดรเจน (Hydrogen) และออกซิเจน (Oxygen) มีสูตรโมเลกุลทั่วไปคือ $(CH_2O)_n$ โดยที่ n คือจำนวนโมเลกุลที่มากกว่า 3 แบ่งตามหน่วยของน้ำตาลได้ดังนี้คือ

1.1.1 น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Monosaccharides) เป็นน้ำตาลเพียงหนึ่งโมเลกุลและเป็นหน่วยที่เล็กที่สุดของคาร์โบไฮเดรต ในแต่ละโมเลกุลจะประกอบได้ด้วยธาตุคาร์บอนตั้งแต่ 3 ถึง 9 อะตอม น้ำตาลประเภทนี้ได้แก่ กลูโคส ฟรักโตส และกาแลคโตส

1.1.2 โอลิโกแซคคาร์ไรด์ (Oligosaccharides) เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยน้ำตาลตั้งแต่ 2 ถึง 10 โมเลกุล มาต่อกันเป็นสายด้วยพันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic Bond) ได้แก่ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลมอลโตส และแลกโตส

1.1.3 น้ำตาลโมเลกุลใหญ่ (Polysaccharides) เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่สุดประกอบด้วยน้ำตาลตั้งแต่ 10 โมเลกุลขึ้นไปมาเรียงต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic Bond) อาจมีแขนงหรือไม่ก็ได้ เช่น แป้ง เซลลูโลส ไกลโคเจน

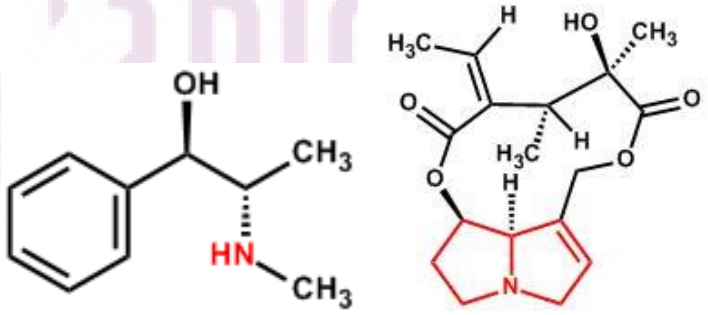
1.2 ไขมัน (Lipids) เป็นสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ เป็นแหล่งพลังงานสำรองให้กับสิ่งมีชีวิต และเป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ ถ้าอยู่ในรูปของของแข็งจะเรียกว่าไขมัน (Fat) แต่ถ้าอยู่ในรูปของของเหลวจะเรียกว่าน้ำมัน (Oil) (อริศร์ เทียนประเสริฐ, 2555) ลักษณะโมเลกุลของไขมันจะเป็น สายไฮโดรคาร์บอนต่อกันยาวซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ไม่มีขั้ว แต่ไขมันบางชนิดอาจแสดงคุณสมบัติที่มีขั้ว และบางชนิดอาจมีคุณสมบัติทั้ง 2 อย่างอยู่ในโมเลกุลเดียวกัน

1.3 โปรตีน (Protein) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่จะประกอบด้วยกรดอะมิโน (Amino Acid) มาเรียงต่อกันด้วยพันธะเปปไทด์ (Peptide Bond) และในแต่ละโมเลกุลจะประกอบไปด้วยธาตุคาร์บอน ไฮโดเจน ออกซิเจน และไนโตรเจน

2. สารประกอบทุติยภูมิ (Secondary Metabolite) พืชจะนำสารประกอบปฐมภูมิเข้าสู่กระบวนการชีวสังเคราะห์ (Biosynthesis) เพื่อให้ได้สารประเภทนี้ขึ้นมา เป็นสารที่พืชสร้างโดยที่พืชนั้นไม่ได้มีความจำเป็นในขั้นวิกฤต แต่ถูกสร้างขึ้นเพราะว่ามีความจำเป็นบางอย่างต่อตัวผู้ผลิต สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะผลิตสารทุติยภูมิออกมามากในระหว่างการเจริญขั้นสุดท้ายของช่วง active ไปสู่ช่วงหยุดนิ่ง (Stationary Phase) (Agostini, et al., 2012) ในพืชส่วนใหญ่จะสะสมอยู่ตามส่วนต่าง ๆ ซึ่งจะแตกต่างกันตามชนิดของพืช ทำให้พืชมีลักษณะที่โดดเด่นเฉพาะตัว เช่น

กลิ่น สี ความเป็นพิษ และสรรพคุณทางยา เป็นต้น มนุษย์นั้นได้รู้จักการนำชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืชมาใช้ให้เกิดประโยชน์นอกเหนือจากการนำมาประกอบอาหารเช่น การใช้เป็นยารักษาโรค การนำมาเป็นเครื่องปรุงรสชาติของอาหาร ใช้ในการให้สี หรือแม้กระทั่งใช้เป็นสารพิษในการล่าสัตว์ (อัญชลี สงวนพงษ์, 2545) ตัวอย่างสารทุติยภูมิมีดังนี้

2.1 อัลคาลอยด์ (Alkaloid) เป็นสารที่มีธาตุไนโตรเจนอยู่ในโมเลกุลทำให้แสดงคุณสมบัติเป็นเบส โดยอาจมีไนโตรเจนหนึ่งอะตอมหรือมากกว่า อยู่ในรูปของเอมีน (Amine) เอมีนออกไซด์ (Amine oxide) หรืออาจพบอยู่ในรูปของเอไมด์ (Amide) และอิไมด์ (Imide) ส่วนใหญ่จะพบในพืชชั้นสูง แต่อย่างไรก็ตามอาจพบบ้างในพืชชั้นต่ำ สัตว์ และจุลินทรีย์ ในพืชได้มีการสันนิษฐานว่าสารกลุ่มนี้อาจใช้ในการต่อต้านการรุกรานของแมลงและสัตว์ มนุษย์ได้รู้จักนำสารกลุ่มนี้มาใช้ประโยชน์นานแล้ว ในปัจจุบันได้ใช้เป็นยาแก้ปวด ยาชา และยารักษาโรคอื่น ๆ นอกจากนี้ยังพบอัลคาลอยด์ในพืชเสพติดอีกด้วย การจำแนกชนิดของอัลคาลอยด์สามารถจำแนกได้ตามโครงสร้างทางเคมี ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ 1) อัลคาลอยด์ที่มีไนโตรเจนอยู่นอกวง (Non–heterocyclic alkaloids) และ 2) อัลคาลอยด์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนของวง (Heterocyclic alkaloids) (ประไพรัตน์ สีพลไกร, 2555) (ภาพ 1)



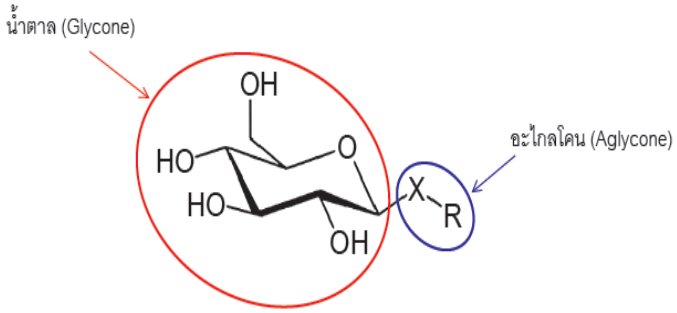
ก) ข)

ภาพ 1 โครงสร้างของอัลคาลอยด์

หมายเหตุ: ก) อัลคาลอยด์ที่มีไนโตรเจนอยู่นอกวง และ ข) อัลคาลอยด์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนของวง

ที่มา: Sweety, 2012

2.2 ไกลโคไซด์ (Glycosides) เป็นกลุ่มสารอินทรีย์กลุ่มหนึ่งที่โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยส่วนที่เป็นน้ำตาลเรียกว่าไกลโคน (Gycone) จับกับส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลเรียกว่าอะไกลโคน (Aglycone) หรือจีนิน (Genin) (ภาพ 2) ทำให้สามารถจำแนกชนิดของไกลโคไซด์ได้ 11 กลุ่ม ตามลักษณะของส่วนที่ไม่ใช่น้ำตาลหรือส่วนที่เป็นอะไกลโคนได้ตามตาราง 2 (พรหทัย กันแก้ว, 2555)



ภาพ 2 โครงสร้างของไกลโคไซด์

ที่มา: พรหทัย กันแก้ว, 2555

ตาราง 2 ชนิดของไกลโคไซด์

ประเภทของไกลโคไซด์	ส่วนที่เป็นอะไกลโคน (Aglycone)
คาร์ดิแอคไกลโคไซด์ (Cardiac Glycosides)	สเตียรอยด์นิวเคลียส
แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ (Anthraquinone Glycosides)	อนุพันธ์ของแอนทราซีน
ซาโปนินไกลโคไซด์ (Saponin Glycosides)	สเตียรอยด์ หรือ ไตรเทอร์พีนอยด์
ไซยาโนเจนิกไกลโคไซด์ (Cyanogenic Glycosides)	อนุพันธ์ของ Mandelonitrile
ไอโซไทโอไซยาเนตไกลโคไซด์ (Isothiocyanate Glycosides)	สารประกอบไอโซไทโอไซยาเนต
ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ (Flavoniod Glycosides)	สารจำพวกฟลาโวนอยด์
แอลกอฮอลิกไกลโคไซด์ (Alcoholic Glycosides)	แอลกอฮอล์
แอลดีไฮด์ไกลโคไซด์ (Aldehyde Glycosides)	แอลดีไฮด์
ฟีนอลิกไกลโคไซด์ (Phenolic Glycosides)	ฟีนอล
คูมารินไกลโคไซด์ (Coumarin Glycosides)	แลคโทน
แทนนินไกลโคไซด์ (Tannin Glycosides)	แทนนิน

ไกลโคไซด์เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจึงสามารถนำมาใช้เป็นยารักษาโรคได้ เช่น ใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง และบำบัดอาการหัวใจเต้นผิดปกติ อย่างไรก็ตามการออกฤทธิ์ทางชีวภาพนั้นก็จะขึ้นอยู่กับส่วนที่เป็นอะไกลโคน

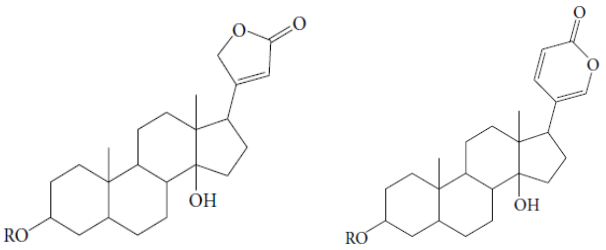
2.3 ซาโปนิน (Saponin) เป็นสารในกลุ่มไกลโคไซด์ที่อะไกลโคนเป็นสเตียรอยด์หรือไตรเทอร์พีนอยด์ เป็นสารทุติยภูมิที่พบได้ในทั้งพืชและสัตว์ แต่ส่วนใหญ่จะพบในพืช ทั้งพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวส่วนใหญ่จะพบซาโปนินที่เป็นสเตียรอยด์ ในขณะที่พืชใบเลี้ยงคู่จะพบชนิดที่เป็นไตรเทอร์พีนอยด์ ซาโปนินเมื่อละลายน้ำแล้วจะทำให้เกิดฟองเนื่องจากตัวมันเองมีทั้งขั้วที่ละลายได้ในน้ำและไขมัน ทำให้เป็นผงซักฟอกจากธรรมชาติ ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดซาโปนินคือ น้ำ และแอลกอฮอล์ แต่ยังมีซาโปนินบางชนิดที่สามารถละลายได้ในอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม และเอทิลอะซิเตท การวิเคราะห์ซาโปนินเบื้องต้นนั้นสามารถทำได้โดยการทำให้เกิดฟอง การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของซาโปนินนั้นมีความสามารถในการต่อต้านจุลินทรีย์ มีความเป็นพิษต่อหนอน แมลง และหอยทาก นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการลดการดูดซึมของไขมันและต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย ซาโปนินนั้นยังมีการใช้ประโยชน์ในหลาย ๆ ด้านเช่น ใช้ประโยชน์ในด้านอาหาร ใช้ในเครื่องสำอาง และด้านเภสัช (กรมวิทยาศาสตรบริการ, 2553)

2.3.1 ด้านอาหาร ใช้ผสมในเครื่องดื่มที่มีการอัดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ทำให้เกิดฟองในเครื่องดื่ม

2.3.2 ใช้ในเครื่องสำอาง ใช้ผสมในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดต่าง ๆ เช่น เจลล้างมือ สบู่ แชมพู

2.3.3 ใช้ในด้านเภสัช ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตสเตียรอยด์ ฮอร์โมนและยา

2.4 คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiac Glycoside) เป็นสารในกลุ่มไกลโคไซด์ที่ส่วนของอะไกลโคนจะเป็นสเตียรอยด์นิวเคลียสต่อกับวงแหวนแลคโทนไม่อิ่มตัว (Calderon-Montano, et al., 2014) ซึ่งวงแหวนแลคโทนที่ต่อกับสเตียรอยด์นิวเคลียสจะพบอยู่ด้วยกัน 2 ลักษณะ คือ ลักษณะที่เป็น Furanone เรียกว่า คาร์ดีโนไลด์ (Cardinolide) (ภาพ 3ก.) และลักษณะที่เป็น Pyrone เรียกว่ บูฟาดีอีโนไลด์ (Bufanolide) (ภาพ 3ข.) โดยทั่วไปมักจะพบในพืชแต่ก็พบบ้างในสัตว์และแมลง คาร์ดิแอกไกลโคไซด์นั้นมีฤทธิ์ในการรักษาโรคเกี่ยวกับหัวใจจึงได้มีการนำสารประเภทนี้มารักษาโรคหัวใจล้มเหลวและการเต้นผิดจังหวะของหัวใจ (Schoner, 2002) นอกจากนี้ยังพบอีกว่าสามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งบางชนิดได้ และยังออกฤทธิ์ที่กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก ระบบประสาทของร่างกายได้อีกด้วย

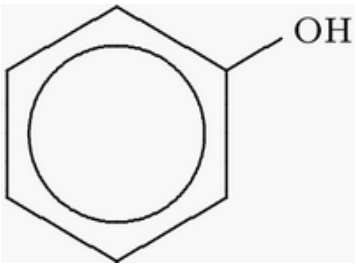


ก) Furanone ข) Pyrone

ภาพ 3 โครงสร้างของคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

ที่มา: Calderon-Montano, et al., 2014

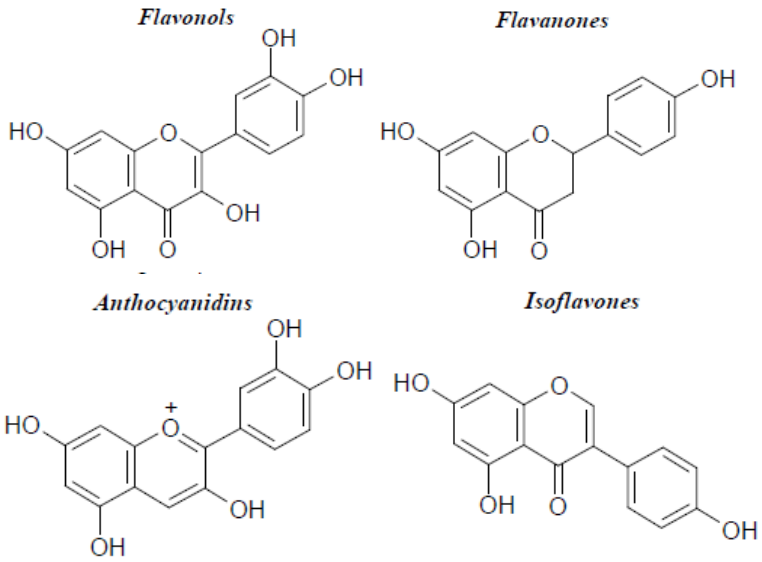
2.5 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound หรือ Polyphenols) เป็นสารประกอบที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl Group) มาเกาะคล้ายคลึงกับแอลกอฮอล์แต่แตกต่างกันตรงที่แอลกอฮอล์นั้นจะมีโครงสร้างเป็นอะลิฟาติก (Aliphatic) ในขณะที่ฟีนอลนั้นจะมีโครงสร้างเป็นวงอะโรมาติก (Aromatic) (ภาพ 4) ในสารประกอบฟีนอลิก 1 โมเลกุลนั้นอาจมีหมู่ไฮดรอกซิลมาเกาะอยู่หนึ่งหมู่หรือมากกว่า (จิราพร เพลินจิตร, 2554) ในพืชนั้นสารประกอบฟีนอลิกถือว่าเป็นสารทุติยภูมิที่มีความสำคัญที่สุดและพบมากในพืชกว่า 8,000 ชนิด พืชจะสร้างสารชนิดนี้ขึ้นมาในระหว่างการเจริญเติบโต หรือเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (มณฑนา วีระวัฒนากร 2556) การจำแนกชนิดนั้นจะขึ้นอยู่กับโครงสร้างทางเคมี ซึ่งมีตั้งแต่โครงสร้างอย่างง่าย อย่างเช่นพวกกรดฟีนอลิก (Phenolic acid) ไปจนถึงพวกที่มีโครงสร้างซับซ้อนอย่างลิกนิน (Lignin) กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากที่สุด คือฟลาโวนอยด์ (Khoddami, et al., 2013) เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบในผักและผลไม้ มีส่วนช่วยเสริมภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกายมนุษย์ เช่น เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยต้านมะเร็ง และกำจัดสารพิษในร่างกาย สำหรับในพืชนั้นจะช่วยเมื่อพืชอยู่ในสภาวะเครียด เช่น ช่วยให้พืชเจริญได้ในสภาพแวดล้อมที่มีโลหะหนัก โดยที่หมู่ไฮดรอกซิลของสารฟีนอลิกนั้นสามารถจับกับอนุภาคของโลหะหนักที่อยู่ในดินได้ นอกจากนี้ฟลาโวนอยด์บางชนิดจะถูกกระตุ้นออกมาเมื่อพืชได้รับการติดเชื้อ มีบาดแผล อยู่ในสภาวะอุณหภูมิต่ำ และในสภาพที่มีอาหารน้อย (Michalak, 2005) อย่างไรก็ตามนอกจากพืชที่สามารถสร้างสารฟีนอลลิกขึ้นมาได้แล้ว มนุษย์เองสามารถสังเคราะห์ขึ้นมาได้เหมือนกันโดยมีจุดประสงค์ที่จะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมไม่ว่าจะเป็นอุตสาหกรรมสิ่งทอและเครื่องหนัง สีสังเคราะห์ และยา ซึ่งหากไม่มีการกำจัดอย่างถูกวิธีในภาคอุตสาหกรรมแล้วอาจทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่เป็นพิษได้ (Kidak and Nilsun, 2006)



ภาพ 4 โครงสร้างของฟีนอล

ที่มา: สยามเคมี, 2559

2.6 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) เป็นสารในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างหลักเป็นคาร์บอนต่อกัน 15 อะตอมในรูปแบบ C_6–C_3–C_6 เรียงกันเป็นวง 3 วง เรียกโครงสร้างนี้ว่าฟลาแวน (Flavan) สามารถระบุชนิดได้ตามหมู่ของสารที่เข้ามาจับกับโครงสร้างหลัก (ภาพ 5) และเป็นสารในกลุ่มฟีนอลิกที่พบมากที่สุดในธรรมชาติ (ทิชา ลาภศิริ, 2545; Kidak and Nilsun, 2006) ในปัจจุบันนั้นได้มีการศึกษาแล้วว่าฟลาโวนอยด์มีสรรพคุณในหลาย ๆ ด้าน เช่น มีฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง โรคหัวใจและระบบหมุนเวียนของเลือด ป้องกันโรคเบาหวาน และโรคสมองเสื่อมทั้งความจำและการเคลื่อนไหว และยังได้มีการสกัดสารสกัดหยาบไปใช้ในรูปของอาหารเสริมอีกด้วย (ฉันทนา อารมณ์ดี, 2556) นอกจากนี้ยังสามารถช่วยในการเจริญเติบโตของพืช โดยการควบคุมการสร้างโปรตีน เร่งแป้ง กระตุ้นการแบ่งเซลล์ทำให้พืชมีความแข็งแรง เจริญเติบโตเร็ว และดูดซึมธาตุอาหารได้ดี (ธิดารัตน์ เมธาวรากุล และคณะ, 2557) ฟลาโวนอยด์นั้นสามารถถูกย่อยสลายได้โดยเอนไซม์ที่มีอยู่ในพืชสด ดังนั้นการสกัดฟลาโวนอยด์จึงควรทำให้พืชแห้งเสียก่อน ฟลาโวนอยด์จำพวกไอโซฟลาโวน (isoflavones) ฟลาวาโนน (flavanones) ฟลาโวโนน (flavonols) และเมทิลเลทฟลาโวน (methylated flavones) นั้นเป็นกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีขั้วค่อนข้างต่ำดังนั้นจึงเหมาะที่จะใช้ตัวทำละลาย เช่น คลอโรฟอร์ม ไดคลอโรมีเทน เอทิลอีเทอร์ และเอทิลอะซีเตรทในการสกัด ในขณะที่พวกที่อยู่ในรูปของไกลโคไซด์นั้นจะมีขั้วค่อนข้างสูงกว่าดังนั้นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดก็จะเป็นแอลกอฮอล์และน้ำ (Andersen and Markham, 2005)



ภาพ 5 โครงสร้างของฟลาโวนอยด์

ที่มา: Pereira, 2009

2.7 เทอร์ปีนอยด์ (Terpenoids) เทอร์ปีนอยด์เป็นสารทุติยภูมิที่เกิดจากการต่อกันของหน่วยไอโซพรีน (Isoprene unit) ตั้งแต่ 2 หน่วยขึ้นไปมาต่อกันในลักษณะหัวต่อหาง (Head to tail) มีสูตรโมเลกุลโดยทั่วไปคือ $(C_5H_8)_n$ ซึ่งสามารถจัดจำแนกชนิดได้ตามจำนวนของ n หรือตามเลขอะตอมของคาร์บอน (ตาราง 3) (Gershenzon and Dudareva, 2007)

ตาราง 3 การจัดจำแนกชนิดของเทอร์ปีนอยด์

จำนวนอะตอมของคาร์บอน	จำนวน n	ชนิดของเทอร์ปีนอยด์	สูตรโมเลกุล
10	2	Monoterpenoids	$C_{10}H_{16}$
15	3	Sesquiterpenoinds	$C_{15}H_{24}$
20	4	Diterpenoids	$C_{20}H_{32}$
25	5	Sesterpenoids	$C_{25}H_{40}$
30	6	Troterpenoids	$C_{30}H_{48}$

ที่มา: Gershenzon and Dudareva, 2007

แต่ละชนิดของเทอร์ปีนอยด์นั้นสามารถเกิดวงแหวนขึ้นมาได้และทำให้มีชื่อเรียกแตกต่างกันออกไปเช่น

2.7.1 Acyclic Terpenoids คือพวกที่เป็นโครงสร้างเปิด หรือไม่มีวงแหวน

2.7.2 Monocyclic Terpenoids คือพวกที่มีวงแหวน 1 วงในโครงสร้าง

2.7.3 Bicyclic Terpenoids คือพวกที่มีวงแหวน 2 วงในโครงสร้าง

2.7.4 Tricyclic Terpenoids คือพวกที่มีวงแหวน 3 วงในโครงสร้าง

2.7.5 Tetracyclic Terpenoids คือพวกที่มีวงแหวน 4 วงในโครงสร้าง

เทอร์ปีนอยด์ส่วนใหญ่จะไม่มีสี มีลักษณะเป็นของเหลวที่เบากว่าน้ำ สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์โดยเฉพาะน้ำ เป็นสารที่เกิดการออกซิไดซ์ได้ง่าย ส่วนใหญ่มักจะพบในพืชโดยเฉพาะพืชที่มีกลิ่นหอมซึ่งสามารถนำพืชเหล่านั้นมาสกัดเพื่อที่จะนำสารไปใช้ประโยชน์ได้หรือที่รู้จักกันในชื่อของน้ำมันหอมระเหย (Essential Oils)

2.8 แทนนิน (Tannin) เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก มีโครงสร้างโมเลกุลที่ค่อนข้างจะซับซ้อน มักจะพบได้มากในพืชโดยเฉพาะส่วนที่เป็นเปลือกไม้ เนื้อไม้ เปลือกผล และยังพบได้ในพืชอาหารสัตว์อีกด้วย แทนนินในพืชต่างชนิดกันมีคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีที่ต่างกัน สามารถแบ่งชนิดได้ตามความสามารถในการทนต่อการสลายตัวต่อปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส แบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ ไฮโดรเซเลเบิลแทนนิน (Hydrolysable tannins) มีโครงสร้าง 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นน้ำตาลและส่วนที่เป็นกรดฟีนอลิก และคอนเดนซ์แทน (Condensed tannins) มีลักษณะโครงสร้างเป็นฟลาโวนอยด์ที่มาต่อรวมกันเรียกว่า โพลีเมอร์ลิกฟลาโวนอยด์ (Polymeric Flavonoids) แทนนินนั้นมีคุณสมบัติในการไปรวมตัวกับโปรตีนในหนังสัตว์ทำให้โปรตีนตกตะกอนแล้วเกิดการไม่เน่าเปื่อย จึงได้มีการใช้ประโยชน์จากสารตัวนี้ในการฟอกหนังสัตว์ นอกจากนี้ยังเป็นสารที่มีรสฝาดจึงสามารถนำไปใช้เป็นยาแก้ท้องเสียได้ ในอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้องนั้นถ้ามีอยู่ในปริมาณมากจะทำให้ไม่ย่อย แต่ถ้ามีในปริมาณต่ำถึงปานกลางก็จะป้องกันโรคท้องอืดได้ สำหรับในพืชมีบทบาทสำคัญในการป้องกันตัวเองจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (สุปรีณา ศรีใสคา, 2552; กุลภัทร์ โพธิกนิษฐ์ และคณะ, 2552)

การสกัดสารจากพืช

สารประกอบทางเคมีในพืชนั้นมีประโยชน์อย่างมากแก่มนุษย์ไม่ว่าจะเป็นการรักษาโรค การใช้เป็นอาหารเสริม ใช้ในการปรุงแต่งสีและรสชาติให้กับอาหาร จนไปถึงใช้ในทางเกษตรกรรม การที่จะนำสารที่อยู่ในพืชออกมาได้นั้นจึงจำเป็นต้องมีวิธีการสกัด เป็นวิธีการแยกเอาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชออกจากเนื้อเยื่อพืช (Tiwari, et al., 2011) วิธีการสกัดแบบดั้งเดิมนั้นคือการแช่และการต้ม การสกัดแบบนี้มักใช้กับพืชสมุนไพรโดยมีจุดประสงค์เพื่อที่จะนำไปใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ (Wendakoon, et al., 2012)

1. รูปแบบทั่วไปในการสกัดสารจากพืช (Handa, et al., 2008)

1.1 การหมักเพื่อสกัด (Maceration) เป็นการนำตัวอย่างพืชที่ถูกหั่นเป็นชิ้นจนละเอียดหรือถูกทำให้เป็นผงมาใส่ในตัวทำละลายในภาชนะที่มีฝาปิด จากนั้นทิ้งไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ภายในระยะเวลาที่กำหนดหรือจนกระทั่งแน่ใจแล้วว่าสารที่อยู่ภายในพืชละลายอยู่ในตัวทำละลายเป็นที่เรียบร้อยแล้ว หลังจากนั้นนำไปกรองเพื่อที่จะนำของเหลวที่ได้ไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

1.2 การแช่ (Infusion) กระบวนการสกัดนี้จะทำการนำตัวอย่างพืชแช่ลงในน้ำร้อนหรือน้ำเย็นในระยะเวลาสั้น ๆ การสกัดแบบนี้เหมาะสำหรับสารสกัดที่สามารถละลายน้ำได้

1.3 การทำให้เปื่อยยุ่ย (Digestion) กระบวนการสกัดนี้จะทำการแช่ตัวอย่างลงในตัวทำละลาย จากนั้นก็ให้ความร้อนอ่อน ๆ ในระหว่างการสกัด

1.4 การต้ม (Decoction) กระบวนการสกัดนี้จะทำการต้มตัวอย่างในน้ำที่อุณหภูมิสูง หลังจากนั้นก็จะทำการระบายความร้อน การสกัดแบบนี้เหมาะสำหรับสารที่ทนต่อความร้อนได้

1.5 การซึมผ่าน (Percolation) เป็นกระบวนการสกัดที่นิยมใช้กันมากที่สุด โดยจะมีเครื่องมือที่เรียกว่า Percolator ตัวอย่างจะถูกแช่ด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดในปริมาณที่เหมาะสมภายในภาชนะที่มีฝาปิดในระยะเวลาที่กำหนด (โดยทั่วไปจะประมาณ 4 ชั่วโมง) หลังจากนั้นมวลของตัวอย่างจะลอยขึ้นสู่ด้านบนของเครื่อง Percolator ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดจะไปทำให้ตัวอย่างเปื่อยยุ่ย ที่ทางออกของเครื่องจะปล่อยให้ของเหลวหยดลงมาได้

1.6 Hot Continuous Extraction หรือ Soxhlet Extraction เป็นรูปแบบการสกัดอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันมากเป็นการสกัดแบบต่อเนื่องมีข้อดีคือใช้ตัวทำละลายไม่เปลืองหลักการคล้ายกับการสกัดแบบการซึมผ่าน (Percolation) หากแต่ว่าการสกัดแบบนี้จะใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Soxhlet apparatus โดยภายในเครื่องมือนั้นจะแบ่งออกเป็นชั้น ๆ ตัวทำละลายนั้นจะถูกใส่ไว้ชั้นล่างสุดและตัวอย่างจะใส่ไว้ข้างบน เมื่อให้ความร้อนแก่

ตัวทำละลายแล้วจะทำให้ตัวทำละลายระเหยขึ้นไปรวมกับตัวอย่างที่ใส่ไว้ด้านบน จากนั้นตัวทำละลายจะถูกควบแน่นแล้วไหลกลับไปยังชั้นด้านล่างที่เป็นชั้นของตัวทำละลายเพื่อที่จะนำกลับมาใช้อีกครั้ง

2. การเลือกใช้ตัวทำละลาย ตัวทำละลายเป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งที่จะทำให้บรรลุเป้าหมายในการสกัด ตัวทำละลายที่ดีนั้นจะต้องมีคุณสมบัติที่มีความเป็นพิษต่ำ ไม่เกิดปฏิกิริยาทางเคมีได้ง่าย สามารถดูดซึมได้อย่างรวดเร็ว สะดวกต่อการนำไประเหยในที่อุณหภูมิต่ำ และต้องสามารถสกัดสารที่ต้องการออกมาได้อย่างสมบูรณ์หรือได้ออกมาในปริมาณมาก ปัจจัยที่มีผลต่อการเลือกใช้ตัวทำละลาย คือ สารประกอบทางเคมีที่อยู่ในพืช การจัดการหลังการสกัดเสร็จสิ้น ความเป็นพิษของตัวทำละลาย และความอันตรายต่อสุขภาพของตัวทำละลาย อย่างไรก็ตามการเลือกตัวทำละลายนั้นขึ้นอยู่กับจุดมุ่งหมายของการสกัด ซึ่งตัวทำละลายนั้นไม่ควรจะเป็นพิษและไม่ควรเป็นอุปสรรคในการวิเคราะห์ (Tiwari, et al., 2011)

3. ชนิดของตัวทำละลาย

3.1 น้ำ (Water) เป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้กันมากในการสกัดสารเพื่อใช้ในการผลิตยาต้านจุลินทรีย์ ถึงแม้ว่าจะนิยมใช้กันมาก แต่ว่าสารสกัดที่ใช้น้ำนั้นก็มีความสามารถการยับยั้งจุลินทรีย์น้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายชนิดอื่น เนื่องจากว่าน้ำสามารถละลายสารจำพวกฟลาโวนอยด์ออกมาได้ดี ซึ่งไม่ได้มีความสำคัญในการต่อต้านจุลินทรีย์ แต่มีความสำคัญในเรื่องของการเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Antioxidant)

3.2 แอลกอฮอล์ (Alcohol) เป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพในการสกัดมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยตัวทำละลายที่เป็นน้ำและสามารถละลายสารในกลุ่มฟีนอลิกออกมาได้มากกว่า ซึ่งแอลกอฮอล์นั้นสามารถซึมผ่านเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ของพืชแล้วสามารถไปละลายสารที่อยู่ข้างในออกมาได้ แอลกอฮอล์ที่นิยมใช้ในการสกัดมีอยู่ 2 ชนิดคือ เมทานอล (Methanol) และเอทานอล (Ethanol) แต่โดยส่วนใหญ่แล้วจะนิยมใช้เอทานอลมากกว่าเนื่องจากเมทานอลนั้นมีความเป็นพิษค่อนข้างสูง

3.3 อะซิโตน (Acetone) สามารถละลายสารประกอบที่เป็นน้ำและไขมันได้ เป็นตัวทำละลายที่ระเหยได้ง่ายและมีความเป็นพิษต่ำ เป็นตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่งที่ถือว่ามีประสิทธิภาพอย่างมากในการสกัดสาร โดยเฉพาะการสกัดเพื่อวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์

3.4 คลอโรฟอร์ม (Chloroform) เป็นตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย สารที่สกัดออกมาได้ส่วนใหญ่จะเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มเทอร์ปีนอยด์

3.5 อีเทอร์ (Ether) เป็นตัวทำละลายที่มักจะใช้ในการสกัดคูมารินและกรดไขมัน

3.6 เฮกเซน (Hexane) เป็นตัวทำละลายที่ไม่แสดงความมีขั้ว เหมาะสำหรับการสกัดไขมันและน้ำมัน

การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีในพืช

หากต้องการทราบว่ามีสารกลุ่มใดบ้างนั้นสามารถตรวจสอบได้โดยการนำเอาสารสกัดที่ได้มาทำปฏิกิริยาที่จำเพาะแล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในส่วนมากแล้วจะเป็นการทดสอบการเกิดสีหรือการตกตะกอน หากมีการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะถือว่าสารสกัดนั้นมีสารในกลุ่มที่ทำการตรวจสอบ

1. วิธีมาตรฐานของการตรวจสอบสารประกอบทางเคมี

1.1 การตรวจสอบอัลคาลอยด์ จะใช้น้ำยาทดสอบที่มีความจำเพาะหยดลงในสารสกัดจากนั้นก็จะสังเกตการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้นตามตาราง 4 (Tiwari, et al., 2011)

ตาราง 4 วิธีการที่ใช้ตรวจสอบอัลคาลอยด์

วิธีที่ใช้ทดสอบ	สารที่ใช้ทดสอบ	ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น
Mayer's test	Mayer's reagent (Potassium Mercuric Iodide)	เกิดตะกอนสีเหลือง
Wagner's Test	Wagner's reagent (Iodine in Potassium Iodide)	เกิดตะกอนสีน้ำตาลแดง
Dragendroff's Test	Dragendroff's reagent (Solution of Potassium Bismuth Iodide)	เกิดตะกอนสีแดงส้ม
Hager's Test	Hager's reagent (Picric acid)	เกิดตะกอนสีเหลือง

1.2 การตรวจสอบซาโปนิน เนื่องจากว่าซาโปนินเป็นสารที่มีคุณสมบัติที่เกิดฟองและฟองที่เกิดจากซาโปนินนั้นมีความเสถียรและอยู่ได้นานมาก ดังนั้นวิธีการตรวจสอบเบื้องต้นสามารถทำได้โดยนำสารสกัดมาเขย่าแรง ๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 5–15 นาที หากฟองยังมีความคงทนอยู่ได้แสดงให้เห็นว่ามีสารซาโปนิน (Biswas, et al., 2013)

1.3 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ สามารถทำการตรวจสอบได้ดังนี้

1.3.1 ตรวจสอบโดยวิธี Shinoda Test ทำได้โดยใส่ขดลวดแมกนีเซียมหรือชิ้นส่วนของโลหะแมกนีเซียมลงไป จากนั้นค่อย ๆ รินกรดไฮโดรคลอริกหรือซัลฟิวริกลงไป หากสารสกัดมีสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์สารสกัดจะเปลี่ยนเป็นสีส้ม แดง ชมพู หรือม่วง

1.3.2 ตรวจสอบด้วยแอมโมเนีย ทำได้โดยใส่สารละลายแอมโมเนียลงไปในสารสกัด ตามด้วยกรดซัลฟิวริก หากสารสกัดมีสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์สารสกัดจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

1.3.5 ตรวจสอบด้วยสารละลายเบส ทำได้โดยหยดโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไปหากมีสารฟลาโวนอยด์จะเกิดสีเหลืองที่เข้มมากและถ้าใส่กรดลงไปก็จะทำให้สีนั้นเจือจางลง

1.3.6 ตรวจสอบด้วยสารละลายตะกั่วอะซิเตรท ทำได้โดยหยดสารละลายดังกล่าวลงไปในสารสกัด หากเกิดตะกอนสีเหลืองแสดงให้เห็นว่ามีสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์

1.4 การตรวจสอบไกลโคไซด์ ใช้การทดสอบ Keller–Kiliani test ทำได้โดยใส่สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์และกรดแกลเซียลอะซิติกลงไปในสารสกัด จากนั้นค่อย ๆ รินกรดซัลฟิวริกลงไปจะทำให้เกิดการแยกชั้นระหว่างชั้นของสารสกัดและชั้นของกรด หากในสารสกัดนั้นมีไกลโคไซด์จะเกิดสีน้ำตาลขึ้นตรงรอยแยกระหว่างชั้น (ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ และคณะ, 2556)

1.5 การตรวจสอบแทนนิน วิธีการที่นิยมใช้ในการตรวจสอบแทนนินคือการใช้สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ โดยหยดสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ลงไปในสารสกัดหากเกิดเป็นสีเขียวคล้ำแสดงว่ามีแทนนิน (Tiwari, et al., 2011; Biswas, et al., 2013)

1.6 การตรวจสอบเทอร์ปีนอยด์ วิธีที่นิยมใช้ในการตรวจสอบสารในกลุ่มนี้คือวิธี Salkowski test ทำได้โดยเติมคลอโรฟอร์มลงไปในสารสกัด จากนั้นค่อย ๆ รินกรดซัลฟิวริกเข้มข้นลงไปหากเกิดสีน้ำตาลระหว่างชั้นของคลอโรฟอร์มและสารสกัดแสดงว่ามีเทอร์ปีนอยด์ (Tiwari, et al., 2011; Biswas, et al., 2013)

1.7 การตรวจสอบแอนทราควิโนน นำสารสกัดมาละลายในกรดซัลฟิวริกแล้วนำไปอุ่นแล้วกรอง นำสารที่กรองออกมาแล้วเติมคลอโรฟอร์มลงไปแล้วเขย่า จากนั้นดูดชั้นที่เป็นคลอโรฟอร์มไปใส่ในสารละลายแอมโนเนีย สีของปฏิกิริยาจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูแสดงให้เห็นว่าสารสกัดนั้นมีแอนทราควิโนน (ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ และคณะ, 2556)

1.8 การตรวจสอบคาร์โบไฮเดรต วิธีทั่วไปที่นิยมใช้ในการตรวจสอบคาร์โบไฮเดรตมีดังนี้ (ชัยวัฒน์ วามวรรัตน์, 2557; Tiwari, et al., 2011)

1.8.1 Fehling's Test น้ำยาที่ใช้ในการทดสอบนี้คือ Fehling's reagent ซึ่งเป็นสารละลายผสมของสารทั้ง 2 ชนิด คือ สารละลายทองแดงซัลเฟตและสารละลายผสมของโซเดียมโปตัสเซียมทาเทรตกับโปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ เมื่อทำการหยดสารดังกล่าวใส่ลงในสารทดสอบแล้วหากมีคาร์โบไฮเดรตจะเกิดตะกอนสีแดง

1.8.2 Benedict's Test น้ำยาที่ใช้ในการทดสอบนี้คือ Benedict's reagent ซึ่งตัวน้ำยาทดสอบจะประกอบไปด้วยทองแดงซัลเฟต โซเดียมซิเตรตและโซเดียมคาร์บอเนต

ละลายรวมกันอยู่ และเมื่อหยดใส่ในสารสกัดที่มีคาร์โบไฮเดรตจะทำให้เกิดตะกอนอาจมีสีเขียว เหลือง ส้ม หรือแดง ขึ้นอยู่กับว่าในสารนั้นมีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตอยู่มากน้อยเพียงใด

1.8.3 Molisch's Test น้ำยาที่ใช้ในการทดสอบคือ Molisch's reagent ซึ่ง คือ สารละลาย alcoholic α–naphthol เมื่อทำการหยดใส่สารสกัดที่มีคาร์โบไฮเดรตจะทำให้เกิดวงแหวนสีม่วง

1.8.4 Iodine's Test น้ำยาที่ใช้ทดสอบคือไอโอดีน เมื่อทำการหยดลงในสารสกัดแล้วจะทำให้เกิดสีน้ำเงินคล้ำหรือสีม่วงถ้าสารสกัดนั้นมีคาร์โบไฮเดรต

โรคติดเชื้อ (Infectious disease) และแบคทีเรียก่อโรค (Pathogenic Bacteria)

โรคติดเชื้อหมายถึงโรคที่เกิดจากจุลินทรีย์เข้าสู่ร่างกายของสิ่งมีชีวิต และสามารถแพร่ไปยังสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นได้ โดยทั่วไปจะเป็นโรคติดต่อ แต่บางชนิดไม่ใช่โรคติดต่อ เช่น โรคที่เกิดจากสารพิษจากแบคทีเรีย (พวงทอง ไกรพิบูลย์, 2558) และเรียกจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคนี้ว่าเชื้อก่อโรค (Pathogen) (ละออ ชมพักตร์, 2556) ส่วนใหญ่นั้นมักจะเป็นแบคทีเรียเนื่องจากว่าสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน อีกทั้งแบคทีเรียส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิของร่างกายมนุษย์ (ณรงค์ศักดิ์ สารใจ, 2553) ผู้ป่วยที่มีอาการอ่อนแออยู่แล้วมักจะมีโอกาสที่ได้รับเชื้อก่อโรคได้ง่ายขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็ง มักพบเชื้อบริเวณระบบทางเดินหายใจและผิวหนังของผู้ป่วย และส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียมากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น (Thompat and Sudjaroen, 2009) นอกจากนี้เชื้อก่อโรคมักจะพบปะปนอยู่ในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ทำให้มนุษย์และสัตว์มีโอกาสที่จะสัมผัสกับเชื้อและรับเข้าสู่ร่างกายได้ง่าย จากรายงานการเฝ้าระวังโรคใน 17 จังหวัดของประเทศไทยของกรมควบคุมโรคในปี 2553–2557 พบผู้ป่วยมีอาการปอดอักเสบจำนวน 579 ราย มีการติดเชื้อทั้งหมด 324 ราย และมากกว่าร้อยละ 50 ของเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยเป็นเชื้อแบคทีเรีย (กรมควบคุมโรค, 2557) นอกจากนี้แบคทีเรียก่อโรคบางชนิดนั้นยังมีความสามารถในการกลายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วทำให้มีความต้านทานต่อยาปฏิชีวนะ (Wendakoon, et al., 2012) ส่งผลให้ยากต่อการป้องกันหรือรักษาโรคที่เกิดจากแบคทีเรียนั้น ๆ

1. ตัวอย่างแบคทีเรียก่อโรคบางชนิด

1.1 *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างกลม เป็นเชื้อจำพวก Facultative anaerobe สามารถตรวจพบได้ตามผิวหนังของมนุษย์ ในโพรงจมูก และตามฝุ่นละออง มักจะติดเชื้อนี้ได้จากแหล่งชุมชนและโรงพยาบาล (Lowy, 1998) มีการผลิตเอนไซม์หลายชนิดซึ่งทำให้เชื้อชนิดนี้สามารถเข้าสู่เนื้อเยื่อของเหยื่อได้ง่ายและมีบทบาทสำคัญในการแสดงความรุนแรงของการก่อโรค เอนไซม์ที่สำคัญที่สุดของ *S. sureus* คือ β–Lactamase เอนไซม์ชนิดนี้สามารถไปยับยั้งการทำงานของยาปฏิชีวนะเพนนิซิลิน ส่งผลให้เชื้อมีความต้านทานต่อยาปฏิชีวนะ (Goss and Muhlebach, 2011)

1.2 *Pseudomonas aeruginosa* เป็นแบคทีเรียแกรมลบมีลักษณะเป็นรูปแท่ง เป็นเชื้อฉวยโอกาสที่มักจะติดต่อกับผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล เป็นแบคทีเรียที่มีจีโนมขนาดใหญ่ ผู้ป่วยที่ติดเชื้อชนิดนี้ทำให้เกิดอาการแผลผุพอง (Sousa and Pereira, 2014)

1.3 *Propionibacterium acnes* เป็นแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนแต่ทนในสภาพที่มีออกซิเจนได้ (Anaerobic–aerotolerant) จัดเป็นแบคทีเรียชนิดแกรมบวก เป็นเชื้อประจำถิ่นในร่างกายของมนุษย์พบได้ในรูขุมขน นอกจากนี้ยังพบได้ที่เยื่อบุลูกตา ช่องปาก และลำไส้ใหญ่ *P. acnes* มีบทบาทสำคัญที่ทำให้เกิดอาการสิวอักเสบโดยจะหลั่งสารออกมาทำให้บริเวณของผิวหนังบริเวณนั้นเกิดอาการอักเสบ (Portillo, et al., 2013)

1.4 *Streptococcus pyogenes* จัดเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ที่อยู่ในกลุ่ม β hemolytic streptococci โดยเชื้อกลุ่มนี้จะทำให้ฮีโมโกลบิน (Hemoglobin) ในเม็ดเลือดแตกอย่างสมบูรณ์ (Complete haemolysis) ซึ่งสังเกตได้จากวงใสที่เกิดรอบ ๆ โคโลนีที่เจริญบนอาหาร Blood agar และเป็นแบคทีเรียสาเหตุของโรคผิวหนัง ทำให้เกิดอาการผื่นแดง พุพอง และแผลอักเสบที่ผิวหนัง เรียกอาการนี้ว่า Pyderma นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดอาการคออักเสบได้อีกด้วย (Cunningham, 2000; Nizet and Arnold, 2018)

1.5 *Streptococcus mutans* และ ***Streptococcus sorbinus*** เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่อยู่ในกลุ่ม mutans streptococci (Choi, et al., 2016) ทั้ง 2 ชนิดมีความใกล้ชิดกัน แต่มีความแตกต่างกันที่ระดับจีโนมและการแสดงของของยีน (Conrads and de Soet, 2014) และเป็นสาเหตุหลักของโรคในช่องปาก สามารถผลิตเอนไซม์และโปรตีนไปเคลือบที่ฟัน ของมนุษย์ทำให้มีลักษณะเป็นคราบของแบคทีเรียที่มีความคงทนต่อสภาพแวดล้อมในช่องปากได้ดีเช่น การเปลี่ยนแปลงของค่า pH (Matsumoto–Nakano, 2018) ส่งผลให้เกิดอาการฟันผุ นอกจากนี้ยังมีระบบ Two Component system ซึ่งระบบนี้จะมีการแสดงออกของยีนที่มีความต้านทาน

ต่อ Human–Antibacteria peptide ที่เป็นสารต้านจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในช่องปากของมนุษย์อีกด้วย (Kawada–Matsuo and Komatsuzawa, 2017)

1.5 *Streptococcus pneumoniae* หรือ Pneumococcus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ที่อยู่ในกลุ่ม α–hemolytic streptococci เป็นเชื้อที่อยู่บริเวณช่องจมูกของมนุษย์ แต่ไม่ก่อให้เกิดอันตราย (commensal) และไม่แสดงอาการการเกิดโรค และจะถูกกำจัดออกไปด้วยระบบภูมิคุ้นกันของร่างกาย อย่างไรก็ตาม *S. pneumoniae* สามารถกระจายไปยังอวัยวะส่วนอื่นของร่างกายได้อีกด้วยทำให้เป็นสาเหตุของโรคได้หลายชนิดเช่นโรคปอดบวม โรคหูติดเชื้อ และโรคสมองอักเสบ (Iovino, et al., 2016; สลิล ศิริอุดมภาส, 2017) โดยปัจจัยที่ทำให้เชื้อแสดงความรุนแรงของโรคได้นั้นคือ polysaccharide capsule และ Toxin pneumolysin (Mitchell and Mitchell, 2010)

1.6 *Haemophilus influenzae* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ พบอยู่บริเวณโพรงหลังจมูกของมนุษย์และเป็นเชื้อประจำถิ่นมีทั้งชนิดที่ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ แต่เชื้อสามารถรุกรานไปยังอวัยวะส่วนต่าง ๆ ของร่างกายได้และทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินหายใจ ไซนัสอักเสบ และไข้สันหลังอักเสบ (Verhoef and Gillissen, 2003; Erwin and Smith, 2007) *H. Influenzae* มีอยู่ด้วยกัน 6 ชนิด ตั้งแต่ชนิด A–F แต่ชนิดที่พบได้มากที่สุดคือชนิด B และเป็นสาเหตุหลักในการก่อโรคในเด็กส่วนใหญ่ มักจะก่อโรคกับทารกหรือเด็กที่อายุไม่เกิน 5 ปี ซึ่งผู้ที่ติดเชื้อขั้นรุนแรงนั้นอาจทำให้พิการหรืออาจเสียชีวิตได้ (Centers for Disease Control and Prevention, 2016)

1.7 *Moraxella catarrhalis* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เคยถูกจัดแบคทีเรียชนิดเดียวกับ *Neisseria catarrhalis* ซึ่งเป็นเชื้อประจำถิ่นที่อยู่ในระบบทางเดินหายใจของมนุษย์ แต่ต่อมาได้มีการใช้เทคโนโลยี DNA และศึกษาคุณสมบัติบางประการทำให้ ทำให้ทราบถึงความแตกต่างของแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ถึงแม้ว่าเชื้อแบคทีเรีย *M. catarrhalis* จะเป็นเชื้อประจำถิ่นในระบบทางเดินหายใจของมนุษย์ แต่สามารถกระจายไปยังอวัยวะส่วนต่าง ๆ ได้ทำให้เป็นสาเหตุของการติดเชื้อโดยในเด็กและทารกพบว่าส่วนใหญ่จะติดเชื้อบริเวณหูชั้นกลาง ในขณะที่ผู้ใหญ่พบว่าจะทำให้เกิดหลอดลมอักเสบ นอกจากนี้ยังทำให้เกิดไซนัส ไขข้ออักเสบ และเป็นเชื้อที่ฉวยโอกาสทำให้ผู้ป่วยมีอาการแทรกซ้อนในโรงพยาบาลอีกด้วย (Karalus and Campagnari, 2000; Mikucka, et al., 2000)

1.8 *Escherichia coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเซลล์เป็นแท่ง จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยวหรืออยู่กันเป็นคู่ ๆ เป็นแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์ม (Coliform) เป็นเชื้อประจำถิ่นในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่นทั่วไป โดยปกติแล้วพวกที่เป็นเชื้อประจำถิ่นจะไม่ก่อโรคที่รุนแรงแต่ในบางครั้งเป็นเชื้อฉวยโอกาสเมื่อร่างกายอ่อนแอลง สำหรับสายพันธุ์ที่ก่อโรคนั้นก็จะแบ่งเป็นสายพันธุ์ที่ก่อโรคบริเวณลำไส้ (Diarrheagenic *Escherichia coli*) ซึ่งจะเป็นสาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วง

และสายพันธุ์ที่ก่อโรคบริเวณอื่นที่ไม่ใช่ลำไส้ (Extraintestinal *Escherichia coli*) ที่มักจะเป็นสาเหตุหลักในการก่อโรคติดเชื้อในกระเพาะปัสสาวะ ไข้สันหลังอักเสบ และโลหิตเป็นพิษ (Jafari, et al., 2012) นอกจากนี้ยังมีกลุ่ม enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) ที่ทำให้เกิดอาการถ่ายเป็นเลือด ถึงแม้ว่าจะไม่มีการรายงานการระบาดอย่างรุนแรงของเชื้อ *E. coli* ในประเทศไทย แต่ในปี 2554 ที่ต่างประเทศ องค์กรอนามัยโลก (world Health Organization: WHO) ได้รายงานว่ามีผู้ป่วยติดเชื้อ *E. coli* จำนวน 3,697 จาก 16 ประเทศทั่วโลก และเสียชีวิต จำนวน 40 ราย นับเป็นการระบาดของ *E. coli* ครั้งรุนแรงที่สุดครั้งหนึ่ง ที่ได้รับการเปิดเผยจากองค์กรอนามัยโลก (กรมควบคุมโรค, 2554)

1.9 *Salmonella* Typhi เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ลักษณะเซลล์มีรูปร่างเป็นแท่ง มีแฟกเจลล่า สามารถจัดจำแนกชนิดได้ตามโครงสร้าง ของแฟกเจลลาซึ่งจะมี 2 ลักษณะคือ แบบที่โครงสร้างเป็นคาร์โบไฮเดรตและแบบที่เป็นไลโปโพลีแซคคาไรด์ (Lipopolysaccharide) *Salmonella* spp. เป็นเชื้อที่เจริญได้ในสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย สามารถเจริญได้ดีในอุณภูมิปกติ คือ 35–37 องศาเซลเซียส แต่บางครั้งสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำประมาณ 2–4 องศาเซลเซียส และช่วงค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญคือ 6.5–7.5 เชื้อนี้มักพบการปนเปื้อนอยู่กับอาหาร โดยเฉพาะผลไม้สดและผักสด ผู้ป่วยที่ติดเชื้อส่วนใหญ่มีสาเหตุการที่รับประทานอาหารที่มีเชื้อเข้าไป (Coburn, et al., 2007; Pui, et al., 2011)

1.10 *Shigella* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบจัดอยู่ใน *Enterobacteriacae* family เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดอาการของโรคบิด (Dysenteris syndrome) ที่เรียกว่า Shigellosis มีอยู่ 4 สปีชีส์ ได้แก่ *S. flexneri, S. sonnei, S. dysenteriae* และ*S. boydii* ในมนุษย์นั้นสามารถติดต่อกันโดยตรงได้โดยผ่านทางน้ำลายของผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อ หรือติดต่อทางอ้อมโดยได้รับเชื้อจากอาหารและน้ำดื่มที่มีการปนเปื้อน เชื้อนี้จะบุกรุกเข้าไปในลำไส้ใหญ่และเยื่อบุทวารหนักทำให้เกิดการอักเสบ (Phalipon and Sansonetti, 2007)

1.11 *Listeria monocytogenes* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อน ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (Facutative anaerobic) ก่อให้เกิดอาหารเป็นพิษแบบการติดเชื้อจากแบคทีเรีย เป็นเชื้อที่มีอยู่ในธรรมชาติตามดินและพืชที่เน่าเปื่อย เชื้อสามารถปนเปื้อนในอาหารระหว่างการผลิตได้ อาหารที่ปนเปื้อนเชื้อชนิดนี้ได้ง่าย ได้แก่ นม ชีส อาหารพวกเนื้อสัตว์ และอาหารทะเลแช่แข็ง นอกจากนี้อุณหภูมิการเก็บรักษาและการขนส่งก็เป็นปัจจัยทำให้เชื้อเจริญได้ดีและปนเปื้อนได้ง่ายอีกด้วย (Schuppler and Loessner; 2010 Buchanan, et al., 2017)

2. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย (General Bacteriology, 2015)

2.1 แหล่งอาหาร ในแหล่งอาหารนั้นต้องประกอบด้วยปัจจัยที่เซลล์จะสามารถนำไปสร้างเซลล์ใหม่ได้ ได้แก่ ไฮโดรเจนซึ่งจะเป็นตัวที่ให้และรับอิเล็กตรอน แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน แร่ธาตุต่างๆ กรดอะมิโน เบสไพริมิดีนและเพียวรีน และวิตามิน

2.2 ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) แบคทีเรียก่อโรคโดยทั่วไปต้องการค่า pH อยู่ที่ประมาณ 7.0 ยกเว้น *Vibrio cholerae* ที่สามารถเจริญได้ที่ค่า pH 8.2–9.0

2.3 ความต้องการก๊าซออกซิเจนของแบคทีเรีย แบคทีเรียแต่ละชนิดนั้นมีความต้องการออกซิเจนที่แต่ต่างกันออกไป ทำให้สามารถจัดแบ่งกลุ่มของแบคทีเรียตามความต้องการออกซิเจนได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ดังนี้

2.3.1 กลุ่มที่ต้องการออกซิเจน แบคทีเรียกลุ่มนี้จะใช้ ออกซิเจนในการเจริญเติบโต และไม่สามารถเจริญได้ถ้าไม่มี เรียกกลุ่มนี้ว่า Aerobe

2.3.2 กลุ่มที่สามารถเจริญได้ทั้ง 2 สภาวะ แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถเจริญได้ทั้ง 2 สภาวะ คือ ที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน เรียกกลุ่มนี้ว่า Facultative anaerobes

2.3.3 กลุ่มที่สามารถเจริญได้ในที่ไม่มีออกซิเจน เป็นแบคทีเรียที่สร้างพลังงานโดยกระบวนการหมัก และออกซิเจนนั้นอาจจะเป็นพิษกับเซลล์ของมัน เรียกกลุ่มนี้ว่า Anaerobes

2.3.4 กลุ่มที่สามารถเจริญได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจนเพียงน้อยนิด โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้ต้องการออกซิเจนเพียงน้อยนิดในการเจริญ เรียกกลุ่มนี้ว่า Microaerophils

2.4 อุณหภูมิ (Temperature) สำหรับแบคทีเรียก่อโรคนั้นส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ดีที่อุณภูมิ 37 องศาเซลเซียส แต่แบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่ม Mesophillic นั้นสามารถเจริญได้ที่อุณภูมิ 30–37 องศาเซลเซียส

2.5 ไอออนและแรงดันออสโมติก (Ionic strength and osmotic pressure)

2.6 แสง (Light) สภาวะที่เหมาะสมของการเจริญคือที่มืด

3. กลไกการยับยั้งแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะ ยาปฏิชีวนะมีปฏิกิริยาที่จำเพาะในการยับยั้งเซลล์ของแบคทีเรีย ปฏิกิริยาดังกล่าวนั้นอาจจะส่งผลรบกวนกระบวนการบางอย่างภายในเซลล์ของแบคทีเรียส่งผลให้แบคทีเรียหยุดการเจริญ หยุดการเพิ่มจำนวน หรืออาจทำให้เซลล์แตกหรือตาย (Cavalier, et al., 2005) กระบวนการยับยั้งแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะมีดังนี้

3.1 รบกวนการสังเคราะห์ผนังเซลล์ โมเลกุลของยาจะยับยั้งการสังเคราะห์เพปทิโดไกลแคน (Peptidoglycan) ทำให้ไม่เกิดการสร้างผนังเซลล์ส่งผลให้เซลล์ตาย

3.2 รบกวนเยื่อหุ้มเซลล์ โมเลกุลของยานั้นจะแพร่เข้าสู่เซลล์โดยผ่านทางเยื่อหุ้มชั้นนอกและผนังเซลล์ จากนั้นจะไปจับกับเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ผิดรูป ส่งผลให้ไซโทพลาสซึมไหลออกกมานอกเซลล์และทำให้เซลล์ตาย

3.3 รบกวนการสังเคราะห์โปรตีน มีหลายกระบวนการในการรบกวนการสังเคราะห์โปรตีนขึ้นอยู่กับชนิดของยานั้น ๆ ซึ่งสามารถแบ่งได้ดังนี้

3.3.1 จับกับ 30S Ribosomal Subunit ทำการหยุดการทำงาน tRNA ส่งผลให้ไม่มีกรดอะมิโนตัวใหม่ไปต่อกับสายโปรตีน การสังเคราะห์จึงถูกยับยั้ง หรือยึดติดกับ 30S Subunit ทำให้ mRNA ไม่เข้ามาเกาะ ส่งผลให้ไรโบโซมอ่านรหัสบน mRNA ผิด ทำให้เกิดกรดอะมิโนที่ผิดพลาดไปต่อกับสายโปรตีน

3.3.2 จับกับ 50S Ribosomal Subunit โดยไปจับกับ 50S Ribosomal Subunit แล้วส่งผลให้การสังเคราะห์โปรตีนสิ้นสุดลง หรือรบกานการต่อสายของกรดอะมิโน

3.4 รบกวนการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก

3.4.1 Fluoroquinolone รบกวนการสังเคราะห์ DNA โดยการยับยั้งเอนไซม์ DNA gyrase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่บทบาทสำคัญในกระบวนการ DNA replication โมเลกุลของยาจะไปจับกับ DNA gyrase DNA Complex จากนั้นก็ทำลายสาย DNA แล้วส่งออกไปนอกเซลล์

3.4.2 Rifampin เข้าไปจับกับ DNA dependent RNA polymerase แล้วยับยั้งการสังเคราะห์ RNA ส่งผลให้เซลล์ตาย

4. การทดสอบความไวต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ การทดสอบความไวต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นการทดสอบความสามารถของสารที่ความเข้มข้นหนึ่งว่ามีความสามารถในการยับยั้งหรือฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบได้หรือไม่ เพื่อที่จะใช้เป็นแนวทางในการเลือกใช้สารสกัดให้มีประสิทธิ์ภาพมากที่สุดในการนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคต (Jorgensen and Ferraro, 2009)

4.1 Broth dilution tests เป็นวิธีที่ใช้ในการทดสอบความไวของแบคทีเรียต่อสารออกฤทธิ์ ทำได้โดยเจือจางสารสกัดที่เป็นของเหลวแบบ Two–Fold Dilutions จากนั้นก็จะทำการใส่เชื้อทดสอบลงไปโดยให้มีเซลล์แขวนลอยอยู่ประมาณ 1–5x10^5 CFU/ml จากนั้นก็นำไปบ่มเป็นเวลา 1 คืน สังเกตการเจริญของแบคทีเรียได้โดยดูจากความขุ่นของอาหารในระดับความเข้มข้นที่ความขุ่นของอาหารปกติหรือไม่มีการเจริญของเชื้อเลยนั้นจะเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ (Minimal Inhibitory Concentration; MIC)

4.2 Disc diffusion test เป็นการทดสอบความไวของแบคทีเรียโดยอาศัยการแพร่ของสารที่ถูกดูดซับไว้ใน Disc ไปตามเนื้อวุ้นของอาหารแข็ง วิธีการทดสอบทำได้โดยใส่เชื้อลงไปบนผิวหน้าของอาหาร แล้ววาง Disc ลงไปบนผิวหน้าของอาหารแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาตามที่กำหนดจากนั้นก็ทำการเก็บผลการทดลอง ผลการทดลองก็คือบริเวณการยับยั้งที่เกิดขึ้นโดยจะเห็นเป็นวงใส (Clear Zone) เกิดขึ้นรอบ ๆ Disc ซึ่งจะวัดเป็นหน่วยมิลลิเมตรเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสนี้จะมีความสัมพันธ์กันระหว่างเชื้อกับสารที่ใช้ในการทดสอบ

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

รุ่งนภา ก่อประดิษฐ์สกุล และคณะ (2538) ได้ทำการสกัดสารจากรากและเหง้าของหญ้าแฝกเพื่อใช้ในการควบคุมเห็บในโค โดยแฝกที่ใช้มาจาก 3 แหล่ง คือ ศรีสะเกษ อุทัยธานี และเพชรบูรณ์ นำมากลั่นด้วยไอน้ำ และสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และไดคลอโรมีเทน พบว่า แฝกจากแหล่งปลูกอุทัยธานีที่สกัดด้วยการกลั่นมีฤทธิ์ในการฆ่าเห็บอ่อนและเห็บโตเต็มวัยดีที่สุด สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด มีฤทธิ์ฆ่าเห็บอ่อนได้ดีกว่าเห็บโตเต็มวัย สารสกัดจากรากหญ้าแฝกเพชรบูรณ์ที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถควบคุมการออกไข่ของเห็บโตเต็มวัยได้ที่ระยะ 5 วัน จากการศึกษาได้พบว่าแฝกจากแหล่งปลูกเพชรบูรณ์สามารถนำไปใช้แทนสารเคมีได้ในระดับหนึ่ง

อุดมพร แพ่งนคร (2539) ได้ศึกษาสารสกัดจากรากหญ้าแฝกหอมต่อการตายของหนอนใยผัก 2 วิธี คือ ถูกตัวตาย และกินตาย โดยนำรากหญ้าแฝกมาสกัดโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ พบว่า ที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ของสารสกัดมีฤทธิ์ในการฆ่าหนอนใยผักได้ดีที่สุด (ถูกตัวตายเท่ากับ 37.14 เปอร์เซ็นต์ และกินตายเท่ากับ 51.52 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นระดับ 90 เปอร์เซ็นต์ ลงมาถึง 40 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน ระดับความเข้มข้นที่ 30 เปอร์เซ็นต์ลงมาไม่มีผลต่อการตายของหนอนใยผัก

ทัศนีย์ ปัญจานนท์ และคณะ (2548) ได้ศึกษาการยับยั้งแบคทีเรียโดยใช้สารสกัดจากผลยอที่สกัดด้วยเมทานอลและน้ำกลั่น นำสารสกัดที่ได้นั้นมาทดสอบกับแบคทีเรียทั้งหมด 41 สายพันธุ์ โดยวิธี Disc Diffusion และ Broth Dilution จากการศึกษาพบว่าสารสกัดนั้นมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียได้หลายชนิดโดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวกอย่าง *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรียแกรมลบที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารอย่าง *Escherichia coli* โดยมีบริเวณการยับยั้งตั้งแต่ 7–13 มิลลิเมตร แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดจากผลยอนั้นยังมีประสิทธิภาพน้อยกว่ายาปฏิชีวนะ

จิราภรณ์ บุราคร และเรือนแก้ว ประพฤติ (2555) ได้ศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียจากสารสกัดสมุนไพรทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ ผักชีฝรั่ง ชะพลู สะระแหน่ ฟักแม้ว โหระพา กระเพรา และเตย โดยนำมาสกัดด้วยน้ำ เมทานอล และเอทานอล สารสกัดที่ได้ถูกนำไปทดสอบกับแบคทีเรียก่อโรค 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* โดยวิธี Well Diffusion และ Broth Dilution จากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากฟักแม้วที่สกัดด้วยเมทานอล สามารถยับยั้ง *E. coli* และ *S. epidermidis* ได้ดีที่สุด โดยมีบริเวณการยับยั้งอยู่ที่ 20.46 มิลลิเมตร และ 35.23 มิลลิเมตรตามลำดับ และจากผลของ Broth Dilution สารสกัดจากฟักแม้วที่สกัดด้วยเมทานอลมีค่าเท่ากับ 7.81 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 62.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. epidermidis*

รัฐพล ศรประเสริฐ (2556) ทำการสกัดสารจากใบหญ้าแฝกลุ่มพันธุ์สุราษฎร์ธานีด้วยเอทานอล แล้วนำไปทดสอบกับเชื้อรา *Curvularia lunata* ซึ่งเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดอาการเมล็ดด่างในข้าว ด้วยความเข้มข้นของสารสกัดที่มีความแตกต่างกัน 5 ระดับ ได้แก่ 0, 5,000, 10,000, 15,000 และ 20,000 ส่วนในล้านส่วน จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้น 20,000 ส่วนในล้านส่วน ให้ผลการยับยั้งเชื้อดีที่สุดที่เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 34.02 เปอร์เซ็นต์

ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ และคณะ (2556) ได้ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นของใบข่อยดำ โดยนำใบข่อยดำมาสกัดด้วยเอทิลอะซิเตรทโดยวิธีหมักเพื่อสกัด แล้วนำกากที่เหลือมาสกัดซ้ำด้วยเอทานอล จากการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีพบปฏิกิริยาของฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ ในการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นได้รายงานเป็นค่า IC_{50} ที่การสกัดด้วยเอทิลอะซิเตรทมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.46 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และที่การสกัดด้วยเอทานอลมีค่าเท่ากับ 4.03 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ผลการหาปริมาณฟีนอลิกรวมที่การสกัดด้วยเอทิลอะซิเตรท 258.84 มิลลิกรัม สมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และที่การสกัดด้วยเอทานอลมีเท่ากับ 289.49 มิลลิกรัม สมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด

Sangeetha (2012) ได้นำใบและรากของหญ้าแฝกมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เมทานอล คลอโรฟอร์ม และเฮกเซน และนำไปทดสอบกับจุลินทรีย์ก่อโรคโดยวิธี Disc Diffusion และ Minimum inhibitory concentration (MIC) พบว่าใบและรากที่สกัดด้วย เมทานอลมีบริเวณการยับยั้งดีที่สุดในการทดสอบโดยวิธี Disc Diffusion ซึ่งสอดคล้องกับการทดสอบโดยวิธี MIC

Biswas, et al. (2013) ได้ทำการศึกษาการยับยั้งจุลินทรีย์และตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารทั้ง 5 กลุ่มได้แก่ซาโปนิน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ ไกลโคไซด์ และฟลาโวนอยด์ของใบฝรั่งที่สกัดด้วยน้ำ เมทานอล เอทานอล และเฮกเซน ผลการศึกษาการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีพบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำพบปฏิกิริยาขององค์ประกอบทางเคมีทุกกลุ่มที่ทดสอบ ในขณะที่การสกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลพบ 4 กลุ่มคือแทนนิน เทอร์ปีนอยด์ ไกลโคไซด์ และฟลาโวนอยด์ ส่วนการสกัดด้วยเฮกเซนไม่พบปฏิกิริยาขององค์ประกอบทางเคมีของสารในกลุ่มใดเลย ในขณะที่การทดสอบกับแบคทีเรียโดยวิธี well difusion ปรากฏว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียดีที่สุดโดยมีบริเวณการยับยั้งอยู่ที่ 8.27–12.3 มิลลิเมตร

Farjana, et al. (2014) ได้ทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ สะเดา ชาเขียว ฝรั่ง และดาวเรืองโดยตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดคือน้ำ น้ำมันจากพืช และเมทานอล ในการสกัดด้วยน้ำและน้ำมันจากพืชนั้นได้ใช้อุณหภูมิที่มีความแตกต่างกัน 2 สภาวะในการสกัด คือ ที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิน้ำเดือด สารสกัดที่ได้นั้นนำมาทดสอบกับแบคทีเรียโดยวิธี Well Diffusion จากผลการทดลองสรุปได้ว่า สารสกัดจากใบฝรั่งที่สกัดด้วย เมทานอลให้ผลในการยับยั้งแบคทีเรียดีที่สุด และรองลงมา คือ สารสกัดจากชาเขียวที่สกัดด้วยเมทานอล

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. หญ้าแฝกที่ใช้ในการทดลอง ใบหญ้าแฝกทั้งหมดได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ ทั้งหมด 12 สายพันธุ์ ดังนี้

พันธุ์หญ้าแฝกลุ่ม	**พันธุ์หญ้าแฝกดอน**
แม่ฮ่องสอน	กาญจนบุรี
แม่เต๊ียะ	พิษณุโลก
ศรีลังกา	ปางกว้าง
เชียงใหม่	จันทบุรี
พระราชทาน	นครสวรรค์
สงขลา3	ห้วยขาแข้ง

2. ครุภัณฑ์และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

2.1 กระบอกตวง

2.2 กระดาษกรอง What Man No.1

2.3 กรวยกรองบุชเนอร์ (Buchner Funnel)

2.4 ขวดโหล

2.5 ขวดกรองสาร

2.6 เครื่องชั่งสาร (OHAUS, USA)

2.7 เครื่องบดตัวอย่างพืช

2.9 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) (Thermo scientific, USA)

2.10 เครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุน (Rotary Evaporator) (Heidolph, Germany)

2.11 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.12 ช้อนตักสาร

2.13 ตู้ดูดควัน

2.14 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow)

2.15 ตู้อบความร้อน (Hot Air Oven) (memmert, Germany)

2.16 โถดูดความชื้น (Desiccator)

2.17 แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)

2.19 บีกเกอร์ (Beaker)

2.20 ปากคีบ (Forceps)

2.21 ผ้าขาวบาง

2.22 ไมโครปิเปต (Micropipette)

2.23 ไม้พันสำลี เบอร์ L

2.24 หลอดทดลอง (Test Tube)

2.25 ห่วงถ่ายเชื้อ

2.26 Paper disc ขนาด 6 มิลลิเมตร

2.26 Water bath (memmert, Germany)

2.27 Water bath Shaker (memmert, Germany)

3. สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1 Acetone (RCI Labscan, Thailand)

3.2 Chloroform (RCI Labscan, Thailand)

3.3 Dimethyl Sulfoxide (DMSO) (RCI Labscan, Thailand)

3.4 Ferric Chloride ($FeCl_3$)

3.5 Folin Ciocalteu Regent (Global Chemical, Thailand)

3.6 Gallic Acid (Sigma, USA)

3.7 Hexane (RCI Labscan, Thailand)

3.8 Hydrochlororic Acid (Ajax Finechem, Australia)

3.9 Iodine (I_2) (CARLO ERBA Reagents, Thailand)

3.10 Potassium Iodide (KI) (Ajax Finechem, Australia)

3.11 Sodium Carbonate (Na_2CO_3) (Ajax Finechem, Australia)

3.12 Sodiumhydroxide (NaOH) (Merck, Germany)

3.12 Sulfuric Acid (H_2SO_4) (J.T.Baker® brand, New Zealand)

3.13 95% Ethanol (Apex Chemical, Thailand)

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ

4.1 Blood agar base infusion agar (BD BBL™, France)

4.2 Brian heart broth 4.5 Fluid thioglycolate medium (Merck, Germany)

4.3 Fluid thioglycolate medium (Merck, Germany)

4.4 Mueller–Hinton Broth (MHB) (Merck, Germany)

4.5 Tryptic Soy Broth (TSB) (Merck, Germany)

5. ยาปฏิชีวนะ

5.1 Penicilllin G (OXOID, UK)

5.2 Ciprofloxacin (OXOID, UK)

5.3 Amoxicillin–clavulanic acid (OXOID, UK)

5.4 Ceftriaone (OXOID, UK)

6. แบคทีเรียทดสอบ แบคทีเรียที่นำมาทดลองมี 11 สายพันธุ์ดังตาราง 5

ตาราง 5 แบคทีเรียทดสอบ

การก่อโรค	**ชื่อแบคทีเรีย/รหัสเชื้อ**	**การติดสีย้อมแกรม**
กลุ่มแบคทีเรียก่อโรคบริเวณผิวหนัง	*Staphylococcus aureus* DMST 8840	บวก
	Streptococcus pyogenes DMST 30653	บวก
	Propionibacterium acnes DMST 14916	บวก
	Pseudomonas aeruginosa DMST 4739	ลบ
แบคทีเรียก่อโรคบริเวณช่องปากและลำคอ	*Streptococcus mutans* DMST 18771	บวก
	Streptococcus sobrinus DMST 35719	บวก
	Moraxella catarrhalis DMST 17121	ลบ
แบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร	*Escherichia coli* DMST 4212	ลบ
	Salmonella Typhi DMST 22842	ลบ
	Shigella flexneri DMST 4423	ลบ
	Listeria monocytogenes DMST 17303	บวก

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมใบหญ้าแฝกก่อนการสกัด

นำใบหญ้าแฝกไปล้างทำความสะอาด ผึ่งให้แห้งแล้วนำมาตัดให้เล็กลง จากนั้นอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 55–60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำมาบดให้เป็นผงโดยใช้เครื่องบดตัวอย่างพืช ในการบดใช้ตะแกรงกรองอนุภาคขนาด 1.5 มิลลิเมตร เพื่อกรองให้ผงตัวอย่างมีขนาดเท่ากัน เสร็จแล้วใส่ไว้ในขวดโหลที่เตรียมไว้ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2. การสกัดด้วยน้ำกลั่น (ณรงค์ศักดิ์ สารใจ, 2553; Farjana, et al., 2014)

ชั่งผงแฝก 100 กรัม ใส่ลงในขวดโหล แล้วเติมน้ำกลั่นไป 1000 มิลลิลิตร หรือในอัตราส่วน 1:10 จากนั้นนำไปแช่ไว้ใน water bath ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุน (Rotary Evaporator) และตั้งสภาวะตามตาราง 6 ก่อนไปทำให้แห้งด้วยการอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 55–60 องศาเซลเซียส แล้วนำไปเก็บไว้ในโถดูดความชื้น เมื่อแห้งแล้วมาชั่งเพื่อคำนวณหาร้อยละผลผลิต (percentage yiled) ตามสมการ

$$\text{ร้อยละผลผลิต (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดแห้ง}}{\text{ปริมาณผงแฝกที่ใช้ในการสกัด}} \times 100$$

3. การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (ณรงค์ศักดิ์ สารใจ, 2553 Farjana, et al., 2014)

ชั่งผงแฝก 100 กรัม ใส่ลงในขวดโหล เติมตัวทำละลายไป 1000 มิลลิลิตร หรือในอัตราส่วน 1:10 จากนั้นนำไปแช่ไว้ใน water bath shaker ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุน (Rotary Evaporator) และตั้งสภาวะตามตาราง 6 ก่อนไปทำให้แห้งด้วยการอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 55–60 องศาเซลเซียส แล้วนำไปเก็บไว้ในโถดูดความชื้น เมื่อแห้งแล้วมาชั่งเพื่อคำนวณหาร้อยละผลผลิต (percentage yiled) ตามสมการ

$$\text{ร้อยละผลผลิต (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{น้ำหนักสารสกัดแห้ง}}{\text{ปริมาณผงแฝกที่ใช้ในการสกัด}} \times 100$$

ตาราง 6 สภาวะที่ใช้ระเหยตัวทำละลาย

ชนิดตัวทำละลาย	อุณหภูมิการระเหย (C°)	ความดัน (mbar)	อุณหภูมิหล่อเย็น (C°)	ความเร็วในการหมุน (rpm)	ระยะเวลาโดยประมาณ (นาที)
น้ำ	60	170	5	60	200
เอทานอล	45	200	5	60	90
อะซิโตน	40	450	5	60	30
เฮกเซน	40	300	5	60	30

4. การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัด

ละลายสารสกัดด้วย Dimethyl Sulfoxide (DMSO) ให้มีความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นดูดสารสกัดมา 0.1 มิลลิลิตรแล้วนำไปใส่ใน DMSO 0.9 มิลลิลิตร แล้วนำมาทดสอบสารพฤกษเคมีแต่ละกลุ่มดังนี้

4.1 ทดสอบเทอร์พีนอยด์ ใช้การทดสอบ Salkowski test เติมคลอโรฟอร์มลงไปในสารสกัด จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกลงไป หากมีสารในกลุ่มเทอร์พีนอยด์จะเกิดสีน้ำตาล (ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ และคณะ, 2556; Biswas, et al., 2013)

4.2 ทดสอบฟลาโวนอยด์ ใช้การทดสอบ Alkaline Reagent Test ผสมสารสกัดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) จะทำให้เกิดสีเหลืองเข้ม และทำการหยดไฮโดรคลอริกลงไปสังเกตการเจือจางของสารละลายที่เกิดขึ้น (Yadav and Agarwala, 2011)

4.3 ทดสอบซาโปนิน ทำการทดสอบโดยเติมน้ำกลั่นลงในสารสกัด แล้วเขย่าแรง ๆ สังเกตการเกิดฟอง ซึ่งฟองที่เกิดจากซาโปนินจะมีคงทนและอยู่ได้นาน (ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ และคณะ, 2556; Biswas, et al., 2013)

4.4 ทดสอบแทนนิน เติมเฟอร์ริกคลอไรด์ลงไปในสารสกัด หากเกิดสีเขียวคล้ำแสดงว่ามีสารในกลุ่มแทนนิน (ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ และคณะ, 2556; Biswas, et al., 2013)

4.6 ทดสอบอัลคาลอยด์ จะใช้ Wagner's reagent (สารผสมของสารละลาย Iodine กับ Potassium Iodide) ในการทดสอบ เมื่อทำการหยดน้ำยาดังกล่าวลงไปจะทำให้เกิดตะกอนสีน้ำตาลแดงในกรณีที่มีปริมาณของอัลคาลอยด์ (Tiwari, et al., 2011)

4.7 การหาปริมาณฟีนอลิกรวม ผสมสารสกัดด้วย Folin Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาทีในที่มืด จากนั้นใส่โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate: Na_2CO_3) ความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 90 นาทีในที่มืด จากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ใช้กรดแกลลิก (Gallic Acid) เป็นสารมาตรฐาน (ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ และคณะ, 2556)

5. ทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคด้วยวิธี Disc Diffusion (ณรงค์ศักดิ์ สารใจ 2553; Wendakoon, et al., 2012)

5.1 ละลายสารสกัดด้วย Dimethyl Sulfoxide (DMSO) ให้มีความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml)

5.2 ทำการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียทดสอบในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) หรือ Brain hear broth สำหรับเชื้อกลุ่ม *Streptococcus* หรือ Fluid thioglycolate medium สำหรับเชื้อ *P. acnes* บ่มเลี้ยงประมาณ 24–48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปรับความขุ่นของแบคทีเรียให้มีความเท่ากับสารละลาย McFarland standard เบอร์ 0.5 เพื่อให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่เท่ากันในการทดสอบ ($1.5x10^8$ CFU/ml)

5.3 นำแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวในข้อที่ 5.2 มา swab บนอาหารแข็ง Mueller Hinton Agar (MHA) หรือ Fluid thioglycolate medium สำหรับเชื้อ *P. acnes* โดยใช้ไม้พันสำลีจุ่มลงในอาหารเหลวที่มีเชื้อ แล้วเกลี่ยลงบนผิวหน้าของอาหารแข็ง จากนั้นนำ Paper Disc จุ่มสารสกัดแล้วนำไปวางบนผิวหน้าของอาหารแข็ง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24–48 ชั่วโมง สำหรับเชื้อกลุ่ม *Streptococcus* นำไปเลี้ยงใน candle jar สำหรับเชื้อ *P. acnes* นำไปเลี้ยงใน anaerobic jar ทำการทดลอง 3 ซ้ำ บันทึกผลวงใสที่เกิดรอบ paper disc ที่ชุบด้วยสารสกัด นำผลที่ได้ในแต่ละชุดการทดลองมาหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

6. หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ (Minimum inhibitory concentration; MIC) (ณรงค์ศักดิ์ สารใจ, 2553; Wendakoon, et al., 2012)

6.1 นำสารสกัดที่ให้ผลเป็นบวกในการทดลอง Disc Diffusion มาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งแบคทีเรีย เตรียมเชื้อแบคทีเรียทดสอบโดยการเลี้ยงในอาหารเหลว TSB หรือ Brian heart broth สำหรับเชื้อกลุ่ม *Streptococcus* หรือ Fluid thioglycolate medium สำหรับเชื้อ *P. acnes* ปรับความขุ่นให้เท่ากันโดยใช้สารละลาย McFarland standard เบอร์ 0.5

6.2 นำหลอดทดลองขนาด 3 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาจำนวน 10 หลอดพร้อมระบุตัวหมายเลขไว้ที่ข้างหลอด (1–10) ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อลงในหลอดหมายเลข 2–10 หลอดละ 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นดูดสารสกัด 0.1 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดหมายเลข 1 และ 2 แล้วดูดสารละลายจากหลอดหมายเลข 2 มา 0.1 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดหมายเลข 3 ทำซ้ำในลักษณะเดียวกันนี้ไปเรื่อยๆ จนถึงหลอดหมายเลข 8 เมื่อสารละลายเข้ากันดีแล้วให้ดูดหลอดที่ 8 ทิ้งไป 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นใส่เชื้อลงไปในหลอดหมายเลข 1–9 หลอดละ 0.1 มิลลิลิตร สำหรับหลอดที่ 9 และ 10 จะไม่มีการใส่สารสกัดลงไปเพื่อใช้เป็นชุดควบคุม

6.3 นำทั้ง 10 หลอดไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24–48 ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ สังเกตหลอดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแล้วทำการบันทึกเป็นค่าระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเชื้อได้

7. หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าแบคทีเรียได้ (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) (Wendakoon, et al., 2012)

นำหลอดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อมาเลี้ยงต่อบนอาหารแข็ง โดยใช้ห่วงถ่ายเชื้อจุ่มลงในหลอดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแล้วนำมา streak plate บนอาหารแข็ง MHA หรือ Fluid thioglycolate medium สำหรับเชื้อ *P. acnes* แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเวลา 24–48 ชั่วโมง สำหรับเชื้อกลุ่ม *Streptococcus* นำไปเลี้ยงใน candle jar และสำหรับเชื้อ *P. Acnes* นำไปเลี้ยงใน anaerobic jar ทำการทดลอง 3 ซ้ำ สังเกตจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ไม่มีการเจริญของเชื้อ บันทึกเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การสกัดสารสกัดหยาบจากใบหญ้าแฝก

จากการสกัดสารสกัดหยาบจากใบหญ้าแฝกด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 4 ชนิดคือ น้ำ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ อะซิโตน และเฮกเซนพบว่า สารสกัดที่ได้ออกมาจากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดนั้นมีความแตกต่างกันดังนี้

1. สารที่สกัดด้วยน้ำ สารสกัดจากหญ้าแฝกทุกสายพันธุ์ที่สกัดด้วยน้ำ เนื้อสารมีลักษณะเหนียวหนืด สีน้ำตาล (ตาราง 8 และภาพ 6) มีปริมาณสารที่ได้ออกมามากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายชนิดอื่นที่ใช้ในการทดลอง เมื่อพิจารณาปริมาณสารที่ได้พบว่า หญ้าแฝกสายพันธุ์แม่ฮ่องสอนมีปริมาณสารออกมามากที่สุด คือ 11.6 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ จันทบุรี 11.3 เปอร์เซ็นต์ และหญ้าแฝกสายพันธุ์สงขลา 3 มีปริมาณสารออกมาน้อยที่สุด คือ 3.9 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 7)

2. สารที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดจากหญ้าแฝกทุกสายพันธุ์ เนื้อสารมีลักษณะเป็นของเหลวข้น สีเขียวคล้ำ (ตาราง 8 และภาพ 6) แต่อ่อนตัวกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดที่ได้จากน้ำและตัวทำละลายอีก 2 ชนิด เมื่อพิจารณาปริมาณสารที่ได้พบว่า หญ้าแฝกสายพันธุ์นครสวรรค์มีปริมารสารออกมามากที่สุดคือ 5.2 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ พิษณุโลกและแม่ฮ่องสอน 3.7 เปอร์เซ็นต์ และหญ้าแฝกสายพันธุ์สงขลา 3 มีปริมาณสารออกมาน้อยที่สุด คือ 2.2 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 7)

3. สารที่สกัดด้วยอะซิโตน สารสกัดจากหญ้าแฝกทุกสายพันธุ์ เนื้อสารมีลักษณะเขียวคล้ำคล้ายกับสารสกัดที่ได้จากเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ แต่มีลักษณะเนื้อสารที่แข็งตัวกว่า (ตาราง 8 และภาพ 6) และปริมาณสารที่ออกมาได้น้อยกว่า เมื่อพิจารณาปริมาณสารที่ได้พบว่า สายพันธุ์นครสวรรค์มีปริมาณสารออกมามากที่สุดคือ 2.8 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ ศรีลังกา 2.0 เปอร์เซ็นต์ และหญ้าแฝกสายพันธุ์สงขลา 3 มีปริมาณสารออกมาน้อยที่สุด คือ 0.8 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 7)

4. สารที่สกัดด้วยเฮกเซน สารสกัดจากหญ้าแฝกทุกสายพันธุ์ที่สกัดด้วยเฮกเซนจับตัวเป็นก้อน สีน้ำตาลอ่อน (ตาราง 8 และภาพ 6) ปริมาณสารที่ได้ออกมาน้อยที่สุดเมื่อคิดเป็นผลผลิตร้อยละ เมื่อพิจารณาปริมาณสารที่ได้ พบว่าหญ้าแฝกสายพันธุ์นครสวรรค์มีปริมาณสารออกมามากที่สุด คือ 1.1 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือพระราชทานและเชียงใหม่ 0.9 เปอร์เซ็นต์ และสายพันธุ์ห้วยขาแข้งมีปริมาณสารออกมาน้อยที่สุด คือ 0.4 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 7)

ตาราง 7 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดจากใบหญ้าแฝกด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ

ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	ร้อยละผลผลิตของสารสกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ			
		น้ำ	เอทานอล 95%	อะซิโตน	เฮกเซน
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	11.63	3.67	1.38	0.43
	แม่เต๊ียะ	9.18	2.93	1.16	0.55
	ศรีลังกา	8.98	2.57	0.63	0.88
	เชียงใหม่	9.03	2.87	1.01	0.93
	พระราชทาน	7.48	2.69	2.00	0.46
	สงขลา3	3.88	2.23	0.84	0.64
แฝกดอน	กาญจนบุรี	7.51	3.90	1.53	0.48
	พิษณุโลก	8.45	3.72	1.04	0.46
	ปางกว้าง	5.37	2.34	1.06	0.83
	จันทบุรี	11.25	2.89	1.29	0.47
	นครสวรรค์	7.39	5.18	2.81	1.14
	ห้วยขาแข้ง	4.00	3.10	1.24	0.40

ตาราง 8 ลักษณะของสารสกัด

ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	ลักษณะของสารสกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ			
		น้ำ	เอทานอล 95%	อะซิโตน	เฮกเซน
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	เหนียวหนืด	ของเหลว	ของเหลว	จับตัวเป็นก้อน
		สีน้ำตาลเข้ม	สีเขียวคล้ำ	สีเขียวคล้ำ	สีน้ำตาลอ่อน
	แม่เตี๊ยะ	เหนียวหนืด	ของเหลว	ของเหลว	จับตัวเป็นก้อน
		สีน้ำตาลเข้ม	สีเขียวคล้ำ	สีเขียวคล้ำ	สีน้ำตาลอ่อน
	ศรีสังกา	เหนียวหนืด	ของเหลว	ของเหลว	จับตัวเป็นก้อน
		สีน้ำตาลเข้ม	สีเขียวคล้ำ	สีเขียวคล้ำ	สีน้ำตาลอ่อน
	เชียงใหม่	เหนียวหนืด	ของเหลว	ของเหลว	จับตัวเป็นก้อน
		สีน้ำตาลเข้ม	สีเขียวคล้ำ	สีเขียวคล้ำ	สีน้ำตาลอ่อน
	พระราชทาน	เหนียวหนืด	ของเหลว	ของเหลว	จับตัวเป็นก้อน
		สีน้ำตาลเข้ม	สีเขียวคล้ำ	สีเขียวคล้ำ	สีน้ำตาลอ่อน
	สงขลา3	เหนียวหนืด	ของเหลว	ของเหลว	จับตัวเป็นก้อน
		สีน้ำตาลเข้ม	สีเขียวคล้ำ	สีเขียวคล้ำ	สีน้ำตาลอ่อน
แฝกดอน	กาญจนบุรี	เหนียวหนืด	ของเหลว	ของเหลว	จับตัวเป็นก้อน
		สีน้ำตาลเข้ม	สีเขียวคล้ำ	สีเขียวคล้ำ	สีน้ำตาลอ่อน
	พิษณุโลก	เหนียวหนืด	ของเหลว	ของเหลว	จับตัวเป็นก้อน
		น้ำตาลเข้ม	สีเขียวคล้ำ	สีเขียวคล้ำ	สีน้ำตาลอ่อน
	ปางกว้าง	เหนียวหนืด	ของเหลว	ของเหลว	จับตัวเป็นก้อน
		สีน้ำตาลเข้ม	สีเขียวคล้ำ	สีเขียวคล้ำ	สีน้ำตาลอ่อน
	จันทบุรี	เหนียวหนืด	ของเหลว	ของเหลว	จับตัวเป็นก้อน
		สีน้ำตาลเข้ม	สีเขียวคล้ำ	สีเขียวคล้ำ	สีน้ำตาลอ่อน
	นครสวรรค์	เหนียวหนืด	ของเหลว	ของเหลว	จับตัวเป็นก้อน
		สีน้ำตาลเข้ม	สีเขียวคล้ำ	สีเขียวคล้ำ	สีน้ำตาลอ่อน
	ห้วยขาแข้ง	เหนียวหนืด	ของเหลว	ของเหลว	จับตัวเป็นก้อน
		สีน้ำตาลเข้ม	สีเขียวคล้ำ	สีเขียวคล้ำ	สีน้ำตาลอ่อน

ก) สารสกัดด้วยน้ำ

ข) สารสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

ค) สารสกัดด้วยอะซิโตน

ง) สารสกัดด้วยเฮกเซน

ภาพ 6 ลักษณะของสารสกัดจากหญ้าแฝก

ผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัด (Phytochemical screening)

จากการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดด้วยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตกตะกอนพบว่า สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายในแต่ละชนิดนั้นมีความแตกต่างกัน สารที่สกัดจากหญ้าแฝกที่สกัดด้วยน้ำทุกสายพันธุ์พบ ซาโปนิน แทนนิน และฟลาโวนอยด์ แต่ไม่พบเทอร์ปีนอยด์และอัลคาลอยด์ (ตาราง 9) สารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์จากทุกสายพันธุ์พบแทนนิน ฟลาโวนอยด์ และเทอร์ปีนอยด์ แต่ไม่พบซาโปนินและอัลคาลอยด์ (ตาราง 10) สารสกัดที่สกัดด้วยอะซิโตนพบฟลาโวนอยด์และเทอร์ปีนอยด์ในบางสายพันธุ์ แต่ทุกสายพันธุ์ไม่พบซาโปนิน แทนนิน และอัลคาลอยด์ โดยพบฟลาโวนอยด์ที่สายพันธุ์แม่ฮ่องสอน แม่เตี๊ยะ พระราชทาน เชียงใหม่ สงขลา 3 กาญจนบุรี จันทบุรี นครสวรรค์ และห้วยขาแข้ง และพบเทอร์ปีนอยด์ที่สายพันธุ์แม่ฮ่องสอน แม่เตี๊ยะ ศรีลังกา สงขลา 3 กาญจนบุรี จันทบุรี นครสวรรค์ และห้วยขาแข้ง (ตาราง 11) ในส่วนของสารสกัดจากเฮกเซนไม่พบสารพฤกษเคมีใดเลยในทุกสายพันธุ์ (ตาราง 12)

ตาราง 9 ผลการตรวจองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดด้วยน้ำ

ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	Saponin	Tannin	Flavonoids	Terpenoids	Alkaloids
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	+	+	+	–	–
	แม่เตี๊ยะ	+	+	+	–	–
	ศรีลังกา	+	+	+	–	–
	เชียงใหม่	+	+	+	–	–
	พระราชทาน	+	+	+	–	–
	สงขลา3	+	+	+	–	–
แฝกดอน	กาญจนบุรี	+	+	+	–	–
	พิษณุโลก	+	+	+	–	–
	ปางกว้าง	+	+	+	–	–
	จันทบุรี	+	+	+	–	–
	นครสวรรค์	+	+	+	–	–
	ห้วยขาแข้ง	+	+	+	–	–

หมายเหตุ: + คือ พบ

– คือ ไม่พบ

ตาราง 10 ผลการตรวจองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	Saponin	Tannin	Flavonoids	Terpenoids	Alkaloids
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	–	+	+	+	–
	แม่เต๊ียะ	–	+	+	+	–
	ศรีลังกา	–	+	+	+	–
	เชียงใหม่	–	+	+	+	–
	พระราชทาน	–	+	+	+	–
	สงขลา3	–	+	+	+	–
แฝกดอน	กาญจนบุรี	–	+	+	+	–
	พิษณุโลก	–	+	+	+	–
	ปางกว้าง	–	+	+	+	–
	จันทบุรี	–	+	+	+	–
	นครสวรรค์	–	+	+	+	–
	ห้วยขาแข้ง	–	+	+	+	–

ตาราง 11 ผลการตรวจองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดด้วยอะซิโตน

ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	Saponin	Tannin	Flavonoids	Terpenoids	Alkaloids
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	–	–	+	+	–
	แม่เต๊ียะ	–	–	+	+	–
	ศรีลังกา	–	–	–	+	–
	เชียงใหม่	–	–	+	–	–
	พระราชทาน	–	–	+	–	–
	สงขลา3	–	–	+	+	–
แฝกดอน	กาญจนบุรี	–	–	+	+	–
	พิษณุโลก	–	–	–	–	–
	ปางกว้าง	–	–	–	–	–
	จันทบุรี	–	–	+	+	–
	นครสวรรค์	–	–	+	+	–
	ห้วยขาแข้ง	–	–	+	+	–

หมายเหตุ: + คือ พบ

– คือ ไม่พบ

ตาราง 12 ผลการตรวจองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดด้วยเฮกเซน

ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	Saponin	Tannin	Flavonoids	Terpenoids	Alkaloids
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	–	–	–	–	–
	แม่เตี๊ยะ	–	–	–	–	–
	ศรีลังกา	–	–	–	–	–
	เชียงใหม่	–	–	–	–	–
	พระราชทาน	–	–	–	–	–
	สงขลา3	–	–	–	–	–
แฝกดอน	กาญจนบุรี	–	–	–	–	–
	พิษณุโลก	–	–	–	–	–
	ปางกว้าง	–	–	–	–	–
	จันทบุรี	–	–	–	–	–
	นครสวรรค์	–	–	–	–	–
	ห้วยขาแข้ง	–	–	–	–	–

หมายเหตุ: + คือ พบ

– คือ ไม่พบ

การหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด (Total Phenolic)

จากการหาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี folin ciocalteu โดยใช้ gallic acid ในการทำกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก ง) พบว่าสารสกัดหญ้าแฝกสายพันธุ์ห้วยขาแข้งที่สกัดด้วยน้ำมีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุดเท่ากับ 961.27 มิลลิกรัม สมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหยาบ (GAE/0.1 g crude extract) รองลงมาได้แก่สงขลา 3 ที่สกัดด้วยอะซิโตนและห้วยขาแข้ง ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 709.16 และ 657.89 มิลลิกรัม สมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหยาบ ตามลำดับ สารสกัดหญ้าแฝกที่สกัดด้วยเฮกเซนทุกสายพันธุ์มีปริมาณฟีนอลิกรวมน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดที่ตัวทำละลายอื่นในการสกัด (ตาราง 13)

ตาราง 13 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัด

ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (mg GAE/0.1 g crude extract)			
		การสกัดด้วยน้ำ	การสกัดด้วยเอทานอล 95%	การสกัดด้วยอะซิโตน	การสกัดด้วยเฮกเซน
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	285.74±8.43	460.85±8.79	210.00±2.22	191.02±5.38
	แม่เตี๊ยะ	371.82±5.88	336.16±8.30	343.97±1.93	159.79±4.49
	ศรีลังก	410.43±4.12	586.59±8.24	92.49±3.80	166.12±2.99
	เชียงใหม่	242.49±2.19	503.04±2.40	289.54±4.83	194.60±0.97
	พระราชทาน	323.30±0.37	577.94±6.10	250.72±2.76	131.95±0.37
	สงขลา3	440.81±7.91	605.36±6.40	709.16±11.76	146.29±4.56
แฝกดอน	กาญจนบุรี	273.51±5.02	481.31±0.73	435.32±5.27	216.76±1.93
	พิษณุโลก	334.05±8.87	283.21±4.67	384.05±4.07	217.18±3.80
	ปางกว้าง	281.52±6.24	429.20±4.56	343.55±15.81	226.25±3.60
	จันทบุรี	367.18±1.90	411.06±7.91	457.05±6.23	236.80±6.04
	นครสวรรค์	390.17±6.02	462.32±4.21	360.22±5.02	183.21±4.02
	ห้วยขาแข้ง	961.27±15.93	657.89±9.85	514.86±6.97	167.18±2.53

การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคด้วยวิธี disc diffusion

นำสารสกัดจากหญ้าแฝก 12 สายพันธุ์ ที่มีความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบกับแบคทีเรียก่อโรค 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มก่อโรคผิวหนัง กลุ่มแบคทีเรียก่อโรคช่องปากและลำคอ และกลุ่มแบคทีเรียก่อโรคระบบทางเดินอาหาร โดยใช้แผ่นยาปฏิชีวนะ ได้แก่ penicillin G, ciprofloxacin, amoxicillin-clavulanic acid, ceftriaxone และ ciprofloxacin เป็น positive control และใช้ DMSO เป็น negative control จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากหญ้าแฝกทั้ง 12 สายพันธุ์มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียรายละเอียด ดังนี้

1. กลุ่มแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง

แบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. Aureus* DMST 8840, *S. Pyogenes* DMST 30653, *P. acnes* DMST 14916 และ *P. aeruginosa* DMST 4739 ถูกนำมาทดสอบความไวต่อสารสกัดหญ้าแฝกทั้ง 12 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อ *S. pyogenes* DMST 30653 มีความไวต่อสารสกัดมากที่สุด โดยเมื่อทดสอบกับสารสกัดสายพันธุ์พระราชทานที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งมากที่สุดเท่ากับ 17.33 มิลลิเมตร รองลงมาคือสายพันธุ์แม่ฮ่องสอนที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ สายพันธุ์นครสวรรค์ที่สกัดด้วยอะซิโตน และสายพันธุ์กาญจนบุรีที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 16.67, 16.33 และ 15.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ สำหรับเชื้อ *S. aureus* DMST 8840 มีความไวต่อสารสกัดต่อ

สารสกัดสายพันธุ์สายพันธุ์พิษณุโลกที่สกัดด้วยเฮกเซนมากที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 11.0 มิลลิเมตร รองลงมาคือสายพันธุ์แม่เตี๊ยะและสายพันธุ์พระราชทานที่สกัดด้วยเฮกเซน โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 9.33 มิลลิเมตร ในขณะที่พบว่า *P. acnes* DMST 14916 มีความไวต่อสารสกัดสายพันธุ์พระราชทานที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มากที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 14.33 มิลลิเมตร รองลงมาคือสายพันธุ์แม่ฮ่องสอนที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และอะซิโตน โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 12.67 มิลลิเมตร อย่างไรก็ตามเชื้อ *P. aeruginosa* DMST 4739 มีความต้านทานต่อสารสกัด และสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำไม่พบการเกิดโซนการยับยั้งกับแบคทีเรียทดสอบเลย (ตาราง 14 และภาพ 7)

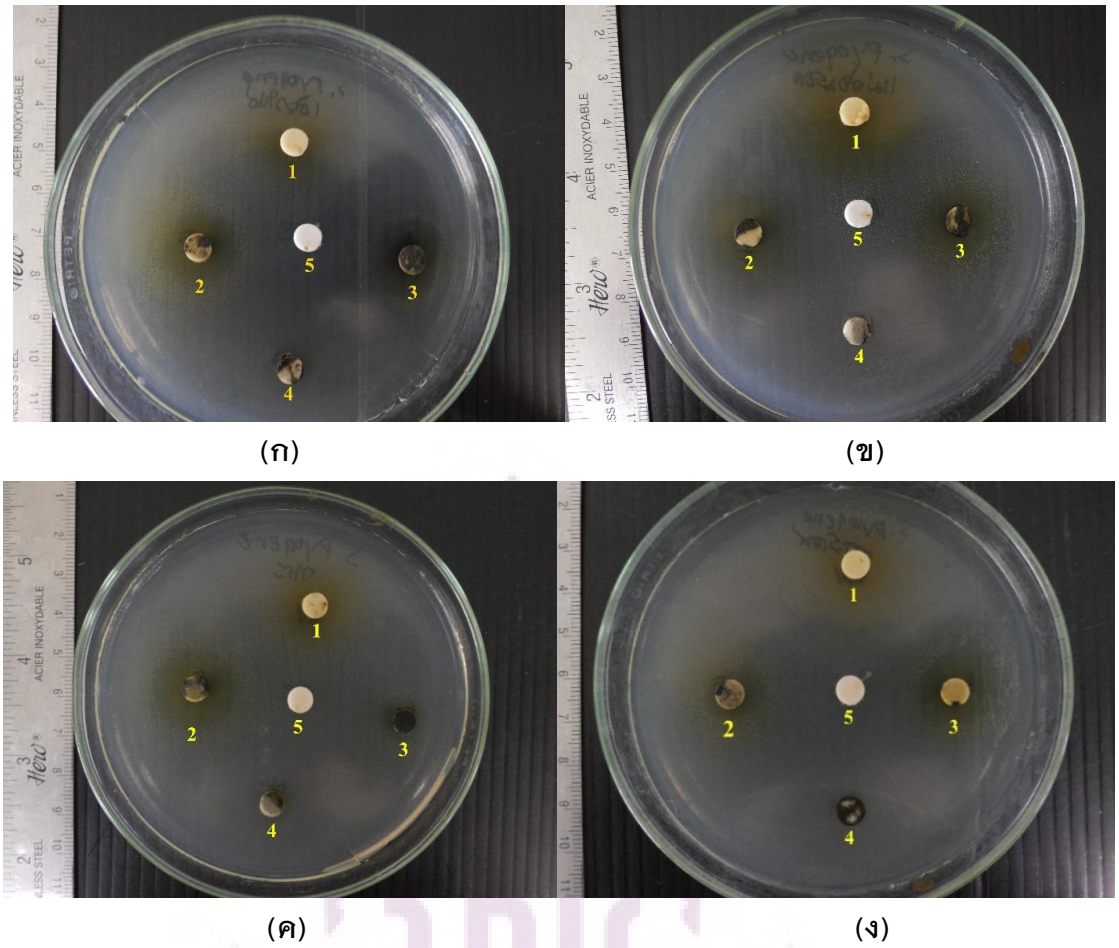
ตาราง 14 ความกว้างของโซนการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังโดยสารสกัดหญ้าแฝกความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี disc diffusion (มิลลิเมตร)

ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	ความกว้างของโซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)							
		การสกัดด้วยน้ำ				การสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์			
		S. aureus	*S. pyogenes*	*P. acnes*	*Ps. aeruginosa*	*S. aureus*	*S. pyogenes*	*P. acnes*	*Ps. aeruginosa*
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	–	–	–	–	7.00±0.0	16.67±2.08	12.67±1.70	–
	แม่เตี๊ยะ	–	–	–	–	7.33±0.58	10.67±1.15	8.00±0.82	–
	ศรีลังกา	–	–	–	–	7.00±0.00	10.33±0.58	10.00±0.00	–
	เชียงใหม่	–	–	–	–	–	15.00±0.00	8.33±0.47	–
	พระราชทาน	–	–	–	–	–	17.33±1.15	14.33±0.47	–
	สงขลา3	–	–	–	–	–	13.00±1.73	9.33±0.47	–
แฝกดอน	กาญจนบุรี	–	–	–	–	7.33±0.58	15.67±1.15	–	–
	พิษณุโลก	–	–	–	–	–	9.33±2.08	7.67±0.47	–
	ปางกว้าง	–	–	–	–	–	9.67±0.58	7.33±0.47	–
	จันทบุรี	–	–	–	–	–	11.00±1.00	8.67±1.25	–
	นครสวรรค์	–	–	–	–	8.00±1.00	12.67±1.53	–	–
	ห้วยขาแข้ง	–	–	–	–	8.33±0.58	9.67±2.52	8.33±1.25	–

ตาราง 14 (ต่อ)

ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	ความกว้างของโซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)							
		การสกัดด้วยอะซิโตน				การสกัดด้วยเฮกเซน			
		S. aureus	*S. pyogenes*	*P. acnes*	*Ps. aeruginosa*	*S. aureus*	*S. pyogenes*	*P. acnes*	*Ps. aeruginosa*
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	7.00±0.00	12.67±2.52	12.67±1.70	–	9.00±0.00	12.33±2.08	12.00±1.58	–
	แม่เตี๊ยะ	–	9.33±0.58	–	–	9.33±0.58	7.67±1.15	8.00±0.82	–
	ศรีลังกา	8.00±1.00	12.33±2.31	10.00±0.0	–	8.67±0.58	8.67±1.53	8.00±0.82	–
	เชียงใหม่	–	15.67±2.08	8.33±0.47	–	–	10.33±0.58	7.33±0.47	–
	พระราชทาน	9.67±0.58	11.00±1.00	8.00±0.82	–	9.33±0.58	10.33±1.15	8.67±0.47	–
	สงขลา3	–	8.67±0.58	–	–	7.00±0.0	–	–	–
แฝกดอน	กาญจนบุรี	8.00±0.00	10.–3±0.58	7.00±0.00	–	8.33±0.58	10.00±1.00	–	–
	พิษณุโลก	7.00±0.00	12.00±2.00	–	–	11.00±1.00	10.00±0.0	–	–
	ปางกว้าง	–	10.67±1.15	9.00±0.00	–	8.67±0.58	–	–	–
	จันทบุรี	9.00±2.00	13.00±2.0	7.00±0.00	–	8.67±1.15	8.33±0.58	–	–
	นครสวรรค์	–	16.33±1.15	–	–	7.00±0.0	9.00±1.00	–	–
	ห้วยขาแข้ง	8.00±0.00	9.67±0.58	9.67±0.94	–	8.67±0.58	–	7.33±0.47	–

หมายเหตุ: – คือ ไม่มีการยับยั้ง



ภาพ 7การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. pyogenes* โดยสารสกัดจากหญ้าแฝก

หมายเหตุ: (ก) สายพันธุ์แม่ฮ่องสอน (ข) สายพันธุ์เชียงใหม่ (ค) สายพันธุ์กาญจนบุรี และ(ง) สายพันธุ์นครสวรรค์

1=สารที่สกัดด้วยน้ำ 2=สารที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

3=สารที่สกัดด้วยอะซิโตน 4=สารที่สกัดด้วยเฮกเซน และ5=DMSO

2. กลุ่มแบคทีเรียก่อโรคช่องปากและลำคอ

กลุ่มแบคทีเรียก่อโรคช่องปากและลำคอ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. mutans* DMST 18771, *S. sorbunus* DMST 35719 และ *M. catarrhalis* DMST 17121 ถูกนำมาทดสอบความไวต่อสารสกัดหญ้าแฝกทั้ง 12 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อ *M. catarrhalis* DMST 17121 มีความไวต่อสารสกัดและมีความกว้างของโซนการยับยั้งมากที่สุดอยู่ที่สารสกัดสายพันธุ์นครสวรรค์ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 12.33 มิลลิเมตร ในขณะที่ *S. mutans* DMST 18771 มีความไวต่อสารสกัดหญ้าแฝกสายพันธุ์พระราชทานที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มากที่สุดโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 14.67 มิลลิเมตร รองลงมาคือ *S. sorbunus* DMST 35719 ที่มีความไวต่อสารสกัดหญ้าแฝกสายพันธุ์ศรีลังกาที่สกัดด้วยอะซิโตนและสายพันธุ์แม่เตี๊ยะที่สกัดด้วยเฮกเซน โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 13.3 มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำไม่พบการเกิดโซนการยับยั้งกับแบคทีเรียทดสอบเลย (ตาราง 15 และภาพ 8)

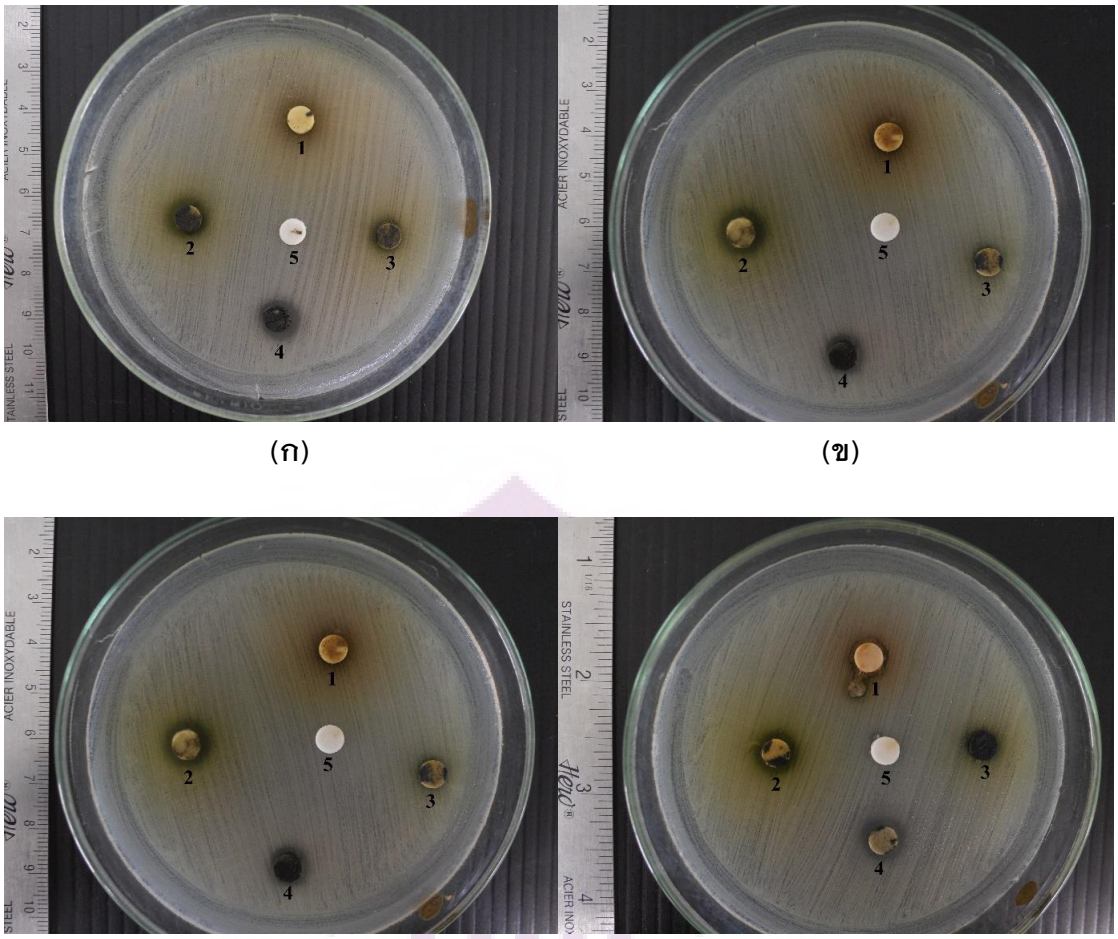
ตาราง 15 ความกว้างของโซนการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคช่องปากและลำคอโดยสารสกัดหญ้าแฝกความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี disc diffusion (มิลลิเมตร)

ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	ความกว้างของโซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)					
		การสกัดด้วยน้ำ			การสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์		
		S. mutans	*S. sorbinus*	*M. catarrhallis*	*S. mutans*	*S. sorbinus*	*M. catarrhallis*
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	–	–	–	10.67±1.50	–	7.67±0.47
	แม่เตี๊ยะ	–	–	–	10.33±2.00	10.33±1.25	8.67±0.94
	ศรีลังกา	–	–	–	7.67±1.00	11.67±0.94	7.33±0.47
	เชียงใหม่	–	–	–	10.00±0.50	10.00±0.82	9.00±1.63
	พระราชทาน	–	–	–	14.67±0.00	10.33±0.47	8.33±0.47
	สงขลา3	–	–	–	7.33±0.50	10.33±1.25	9.67±0.94
แฝกดอน	กาญจนบุรี	–	–	–	–	–	9.00±0.00
	พิษณุโลก	–	–	–	–	–	–
	ปางกว้าง	–	–	–	–	–	9.33±0.47
	จันทบุรี	–	–	–	7.00±0.0	8.33±1.25	10.33±0.47
	นครสวรรค์	–	–	–	8.00±0.50	10.00±1.41	12.33±2.36
	ห้วยขาแข้ง	–	–	–	10.00±0.50	8.33±1.25	10.00±0.82

ตาราง 15 (ต่อ)

ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	ความกว้างของโซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)					
		การสกัดด้วยอะซิโตน			การสกัดด้วยเฮกเซน		
		S. mutans	*S. sorbinus*	*M. catarrhallis*	*S. mutans*	*S. sorbinus*	*M. catarrhallis*
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	–	–	–	7.33±0.47	–	8.00±0.00
	แม่เตี๊ยะ	–	9.67±1.25	7.00±0.00	10.00±0.00	13.33±2.36	9.00±0.00
	ศรีลังกา	8.00±0.00	13.33±1.70	7.33±0.47	10.33±0.94	12.33±1.25	8.67±1.25
	เชียงใหม่	10.33±1.25	8.33±0.47	7.00±0.00	10.67±0.47	10.33±0.47	7.00±0.00
	พระราชทาน	9.67±0.47	10.00±0.82	9.33±0.47	9.67±0.47	8.33±0.47	8.33±0.94
	สงขลา3	–	9.33±0.94	–	–	–	–
แฝกดอน	กาญจนบุรี	–	9.67±0.47	8.33±0.47	9.00±0.00	–	9.67±1.70
	พิษณุโลก	–	–	7.00±0.00	–	–	–
	ปางกว้าง	–	–	7.00±0.00	–	–	–
	จันทบุรี	10.67±0.94	10.00±1.41	10.67±2.05	10.67±0.47	10.33±0.47	–
	นครสวรรค์	7.67±0.94	–	9.00±0.82	8.00±0.82	–	8.33±0.47
	ห้วยขาแข้ง	–	10.00±1.41	7.67±0.47	–	10.33±0.47	8.67±0.47

หมายเหตุ: – คือ ไม่มีการยับยั้ง



ภาพ 8 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. catarrhalis* โดยสารสกัดจากหญ้าแฝก

หมายเหตุ: (ก) สายพันธุ์เชียงใหม่ (ข) สายพันธุ์กาญจนบุรี (ค) สายพันธุ์จันทบุรี และ(ง) สายพันธุ์แม่เตี๊ยะ

1=สารที่สกัดด้วยน้ำ 2=สารที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ 3=สารที่สกัดด้วยอะซิโตน 4=สารที่สกัดด้วยเฮกเซน และ5=DMSO

3. กลุ่มแบคทีเรียก่อโรคระบบทางเดินอาหาร

กลุ่มแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร 4 สายพันธุ์ได้แก่ *E. coli* DMST 4212, *S.* Typhi DMST 22842, *S. flexneri* DMST 4423 และ *L. monocytogenes* DMST 17303 พบว่ามีเพียง *L. monocytogenes* DMST 17303 เท่านั้นที่มีความไวต่อสารสกัดและมีความไวต่อสารสกัดสายพันธุ์เชียงใหม่ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มากที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 11.00 มิลลิเมตร รองลงมาได้แก่สารสกัดสายพันธุ์พิษณุโลกที่สกัดด้วยเฮกเซน สารสกัดสายพันธุ์นครสวรรค์ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดสายพันธุ์ศรีสังกาที่สกัดด้วยเฮกเซน โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งเท่ากับ 10.67 และ 10.33 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตาราง 16 และภาพ 9)

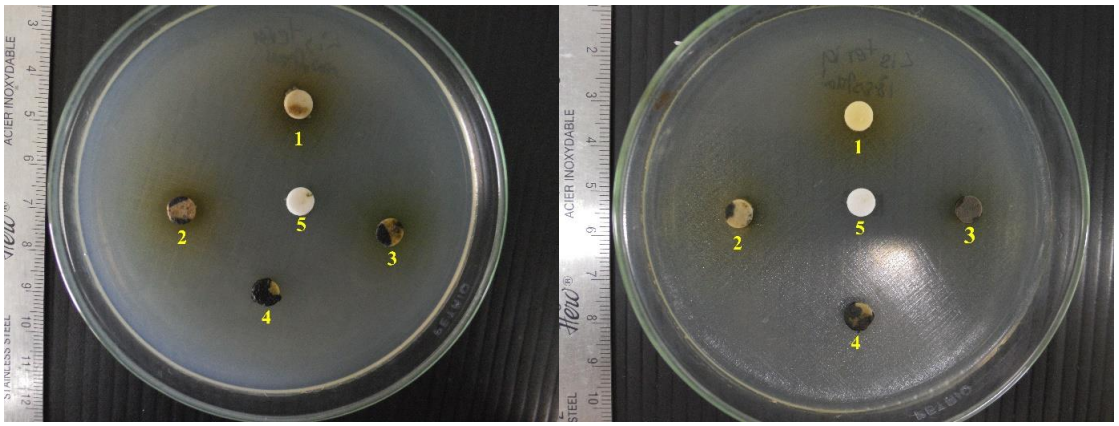
ตาราง 16 ความกว้างของโซนการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคระบบทางเดินอาหารโดยสารสกัดหญ้าแฝกความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี disc diffusion (มิลลิเมตร)

ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	ความกว้างของโซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)							
		การสกัดด้วยน้ำ				การสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์			
		E. coli	*S. typhi*	*S. flexneri*	*L. monocytogenes*	*E. coli*	*S. typhi*	*S. flexneri*	*L. monocytogenes*
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	–	–	–	–	–	–	–	–
	แม่เต๊ียะ	–	–	–	–	–	–	–	7.00±0.00
	ศรีสังกา	–	–	–	–	–	–	–	7.67±0.58
	เชียงใหม่	–	–	–	–	–	–	–	11.00±2.00
	พระราชทาน	–	–	–	–	–	–	–	7.00±0.00
	สงขลา3	–	–	–	–	–	–	–	–
แฝกดอน	กาญจนบุรี	–	–	–	–	–	–	–	9.00±0.00
	พิษณุโลก	–	–	–	–	–	–	–	–
	ปางกว้าง	–	–	–	–	–	–	–	–
	จันทบุรี	–	–	–	–	–	–	–	–
	นครสวรรค์	–	–	–	–	–	–	–	10.33±1.15
	ห้วยขาแข้ง	–	–	–	–	–	–	–	–

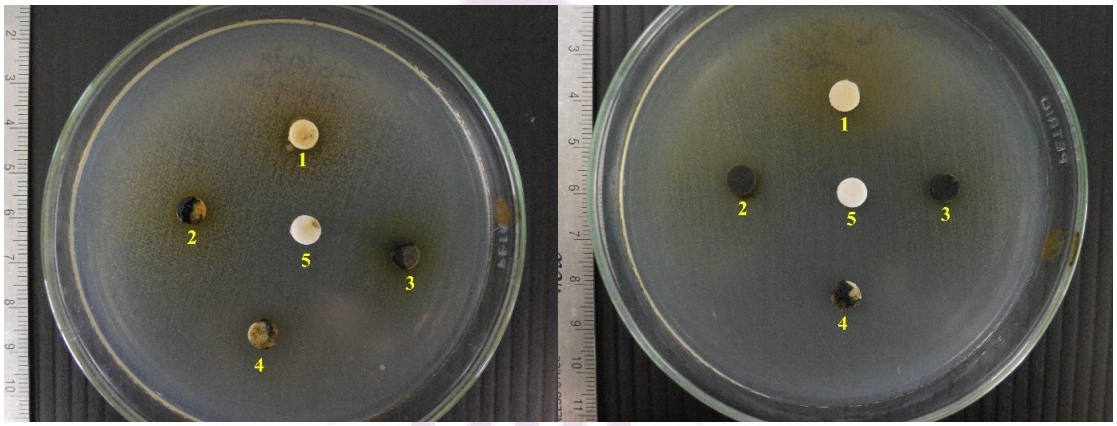
ตาราง 16 (ต่อ)

ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	ความกว้างของโซนการยับยั้ง (มิลลิเมตร)							
		การสกัดด้วยอะซิโตน				การสกัดด้วยเฮกเซน			
		E. coli	*S. typhi*	*S. flexneri*	*L. monocytogenes*	*E. coli*	*S. typhi*	*S. flexneri*	*L. monocytogenes*
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	–	–	–	–	–	–	–	7.00±0.0
	แม่เตี๊ยะ	–	–	–	–	–	–	–	–
	ศรีลังกา	–	–	–	8.00±1.00	–	–	–	10.33±0.58
	เชียงใหม่	–	–	–	–	–	–	–	–
	พระราชทาน	–	–	–	8.67±0.58	–	–	–	8.5±0.71
	สงขลา3	–	–	–	–	–	–	–	–
แฝกดอน	กาญจนบุรี	–	–	–	7.33±0.58	–	–	–	10.00±1.00
	พิษณุโลก	–	–	–	7.00±0.00	–	–	–	10.67±0.00
	ปางกว้าง	–	–	–	–	–	–	–	–
	จันทบุรี	–	–	–	–	–	–	–	–
	นครสวรรค์	–	–	–	–	–	–	–	–
	ห้วยขาแข้ง	–	–	–	–	–	–	–	–

หมายเหตุ: – คือ ไม่มีการยับยั้ง



(ก) (ข)



(ค) (ง)

ภาพ 9 การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* โดยสารสกัดจากหญ้าแฝก

หมายเหตุ: (ก) สายพันธุ์เชียงใหม่ (ข) สายพันธุ์นครสวรรค์ (ค) สายพันธุ์ศรีสังกา และ (ง) สายพันธุ์พิษณุโลก

1=สารที่สกัดด้วยน้ำ 2=สารที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ 3=สารที่สกัดด้วยอะซิโตน 4=สารที่สกัดด้วยเฮกเซน และ5=DMSO

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าแบคทีเรียทดสอบ (MBC)

นำสารสกัดหญ้าแฝกความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้ในการทดลอง disc diffusion ไปหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ (MIC) โดยใช้การเจือจางแบบ 2 เท่าลำดับส่วน จากนั้นนำหลอดที่ไม่มีการเจริญไป streak plate บนอาหารแข็งเพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าแบคทีเรียทดสอบ (MBC)

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง พบว่าเชื้อ *P. acnes* DMST 14916 มีความไวต่อสารสกัดสายพันธุ์แม่เตี๊ยะ กาญจนบุรี ปางกว้างที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดสายพันธุ์แม่เตี๊ยะที่สกัดด้วยอะซิโตนมากที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับเชื้อ *S. aureus* DMST 8840 มีความไวต่อสารสกัดสายพันธุ์กาญจนบุรีที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ มากที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC เท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่เชื้อ *S. pyogenes* DMST 30653 พบว่ามีความไวต่อสารสกัดสายพันธุ์แม่เตี๊ยะที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และพิษณุโลกที่สกัดด้วยอะซิโตนมากที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC เท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตาราง 17)

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าแบคทีเรียก่อโรคช่องปากและลำคอ พบว่า *M. catarrhalis* DMST 17121 มีความไวต่อสารสกัดสายพันธุ์ศรีสังกา ปางกว้าง นครสวรรค์ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และศรีสังกา พิษณุโลก ปางกว้างที่สกัดด้วยอะซิโตนมากที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สำหรับเชื้อ *S. mutans* DMST 18771 มีความไวต่อสารสกัดสายพันธุ์เชียงใหม่ที่สกัดด้วยเอทานอล 90 เปอร์เซ็นต์ และนครสวรรค์ที่สกัดด้วยอะซิโตนมากที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 125 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อ *S. sorbinus* DMST 35719 พบว่า มีความไวต่อสารสกัดสายพันธุ์ศรีสังกา สายพันธุ์เชียงใหม่ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์และศรีสังกา กาญจนบุรี ห้วยขาแข้งสกัดด้วยอะซิโตนมากที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 125 และ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตาราง 18)

การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารพบว่า *L. monocytogenes* DMST 17303 มีความไวต่อสารสกัดสายพันธุ์แม่เตี๊ยะเชียงใหม่ พระราชทาน และสงขลา 3 ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และสายพันธุ์พิษณุโลกที่สกัดด้วยอะซิโตนมากที่สุด โดยมีค่า MIC เท่ากับ 125 และ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC เท่ากับ 500 และ 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตาราง 19)

ตาราง 17 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่า (MBC) เชื้อแบคทีเรียก่อโรคผิวหนังของสารสกัดหญ้าแฝก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สารสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์							
ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	*S. aureus*		*S. pyogenes*		*P.acnes*	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	–	–	500	1000	–	–
	แม่เตี๊ยะ	–	–	62.5	500	62.5	125
	ศรีสังกา	–	–	–	–	125	1000
	เชียงใหม่	–	–	500	1000	–	–
	พระราชทาน	–	–	125	500	250	1000
	สงขลา3	–	–	–	–	–	–
แฝกดอน	กาญจนบุรี	125	500	–	–	500	>1000
	พิษณุโลก	–	–	125	1000	62.5	125
	ปางกว้าง	–	–	125	250	62.5	125
	จันทบุรี	–	–	500	500	125	500
	นครสวรรค์	250	1000	250	250	125	>1000
	ห้วยขาแข้ง	250	1000	250	1000	250	250

ตาราง 17 (ต่อ)

สารสกัดด้วยอะซิโตน							
ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	*S. aureus*		*S. pyogenes*		*P.acnes*	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	–	–	–	–	–	–
	แม่เตี๊ยะ	–	–	1000	>1000	62.5	125
	ศรีสังกา	500	>1000	250	1000	–	–
	เชียงใหม่	–	–	250	>1000	62.5	250
	พระราชทาน	1000	>1000	250	500	–	–
	สงขลา3	–	–	1000	>1000	–	–
แฝกดอน	กาญจนบุรี	–	–	1000	>1000	–	–
	พิษณุโลก	500	1000	62.5	500	125	125
	ปางกว้าง	–	–	–	–	62.5	250
	จันทบุรี	–	–	–	–	62.5	500
	นครสวรรค์	–	–	1000	>1000	125	>1000
	ห้วยขาแข้ง	125	1000	–	–	–	–
สารสกัดด้วยเฮกเซน							
ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	*S. aureus*		*S. pyogenes*		*P.acnes*	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	–	–	–	–	–	–
	แม่เตี๊ยะ	–	–	500	500	125	500
	ศรีสังกา	–	–	–	–	–	–
	เชียงใหม่	–	–	–	–	–	–
	พระราชทาน	–	–	–	–	–	–
	สงขลา3	–	–	–	–	–	–
แฝกดอน	กาญจนบุรี	–	–	–	–	–	–
	พิษณุโลก	–	–	1000	>1000	–	–
	ปางกว้าง	–	–	–	–	125	250
	จันทบุรี	–	–	–	–	–	–
	นครสวรรค์	–	–	–	–	–	–
	ห้วยขาแข้ง	–	–	–	–	500	>1000

หมายเหตุ: – คือ ไม่ได้ทำการทดลอง

ตาราง 18 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่า (MBC) เชื้อแบคทีเรียก่อโรคบริเวณช่องปากและลำคอของสารสกัดหญ้าแฝก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

สารสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์							
ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	*S. mutans*		*S. sorbinus*		*M. catarrhalis*	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	125	250	–	–	250	>1000
	แม่เตี๊ยะ	250	500	–	–	125	>1000
	ศรีสังกา	125	125	125	125	62.5	250
	เชียงใหม่	62.5	125	125	125	250	1000
	พระราชทาน	–	–	–	–	125	500
	สงขลา3	500	1000	250	250	500	500
แฝกดอน	กาญจนบุรี	–	–	–	–	–	–
	พิษณุโลก	–	–	–	–	–	–
	ปางกว้าง	–	–	–	–	62.5	250
	จันทบุรี	125	500	–	–	125	1000
	นครสวรรค์	125	250	500	>1000	62.5	1000
	ห้วยขาแข้ง	125	500	–	–	125	1000
สารสกัดด้วยอะซิโตน							
ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	*S. mutans*		*S. sorbinus*		*M. catarrhalis*	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	–	–	–	–	–	–
	แม่เตี๊ยะ	–	–	–	–	250	>1000
	ศรีสังกา	500	>1000	125	125	62.5	500
	เชียงใหม่	500	500	125	1000	125	1000
	พระราชทาน	–	–	–	–	1000	>1000
	สงขลา3	–	–	–	–	–	–
แฝกดอน	กาญจนบุรี	–	–	125	500	–	–
	พิษณุโลก	–	–	–	–	62.5	1000
	ปางกว้าง	–	–	–	–	62.5	500
	จันทบุรี	125	1000	–	–	125	1000
	นครสวรรค์	62.5	500	–	–	125	>1000
	ห้วยขาแข้ง	–	–	125	500	250	1000

หมายเหตุ: – คือ ไม่ได้ทำการทดลอง

ตาราง 18 (ต่อ)

ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	สารสกัดด้วยเฮกเซน					
		S. mutans		*S. sorbinus*		*M. catarrhalis*	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	–	–	–	–	–	–
	แม่เตี๊ยะ	–	–	–	–	500	
	ศรีสังกา	–	–	–	–	–	–
	เชียงใหม่	–	–	–	–	1000	
	พระราชทาน	–	–	–	–	–	–
	สงขลา3	–	–	–	–	–	–
แฝกดอน	กาญจนบุรี	–	–	–	–	–	–
	พิษณุโลก	–	–	–	–	–	–
	ปางกว้าง	–	–	–	–	–	–
	จันทบุรี	125		–	–	–	–
	นครสวรรค์	–	–	–	–	–	–
	ห้วยขาแข้ง	–	–	–	–	500	>1000

หมายเหตุ: – คือไม่ได้ทำการทดลอง

ตาราง 19 ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญ (MIC) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่า (MBC) เชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารของสารสกัดหญ้าแฝก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

ชนิดของหญ้าแฝก	สายพันธุ์หญ้าแฝก	*L. monocytogenes*					
		สารที่สกัดด้วยเอทานอล 95 %		สารที่สกัดด้วยอะซิโตน		สารที่สกัดด้วยเฮกเซน	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
แฝกลุ่ม	แม่ฮ่องสอน	–	–	–	–	–	–
	แม่เตี๊ยะ	125	1000	–	–	–	–
	ศรีลังกา	250	500	–	–	–	–
	เชียงใหม่	250	1000	–	–	–	–
	พระราชทาน	250	500	–	–	–	–
	สงขลา3	–	–	–	–	–	–
แฝกดอน	กาญจนบุรี	–	–	500	1000	1000	>1000
	พิษณุโลก	–	–	250	1000	–	–
	ปางกว้าง	–	–	–	–	–	–
	จันทบุรี	–	–	–	–	–	–
	นครสวรรค์	500	1000	–	–	–	–
	ห้วยขาแข้ง	–	–	–	–	–	–

หมายเหตุ: – คือไม่ได้ทำการทดลอง

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสกัดสารจากใบหญ้าแฝกด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิดได้แก่ น้ำ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ อะซิโตน และเฮกเซน พบว่าสารที่สกัดด้วยน้ำนั้นมีลักษณะเหนียวหนืด สีน้ำตาล สารที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และอะซิโตนมีลักษณะคล้ายกันคือเป็นของเหลวข้น สีเขียวคล้ำ ส่วนสารที่สกัดด้วยเฮกเซนมีลักษณะจับกันเป็นเกร็ด สีน้ำตาลอ่อน และเมื่อนำมาหาร้อยละผลผลิตพบว่าสารที่สกัดด้วยน้ำมีปริมาณสารสกัดออกมามากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายอื่น ๆ ที่ใช้ในการสกัด การเลือกใช้ตัวทำละลายในการสกัดสารนั้นจะพิจารณาจากต้นทุนน้อย ความเป็นพิษต่ำ สกัดสารที่ต้องการออกมาได้ในปริมาณมาก และง่ายต่อการนำไประเหย แต่อย่างไรก็ตามการเลือกตัวทำละลายจะขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของงานที่จะปฏิบัติ น้ำเป็นตัวทำละลายที่นิยมมากในการสกัดสาร เนื่องจากได้สารออกมาในปริมาณมาก ราคาถูก และไม่มีความเป็นพิษ แต่ไม่มีความจำเพาะของสารที่ออกมาจากการสกัด ทำให้ได้สารพฤกษเคมีชนิดอื่นที่ไม่ต้องการออกมาด้วย และมีความสามารถยับยั้งเชื้อที่ต่ำ การใช้น้ำในการสกัดจึงเหมาะสมกับการใช้ในการรักษาโรคที่ไม่ได้เกิดจากการติดเชื้อ ในขณะที่เอทานอล อะซิโตน และเฮกเซนมีความเป็นพิษสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำ แต่มีความจำเพาะต่อสารพฤกษเคมีในพืชมากกว่า และมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อโดยเฉพาะเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และอะซิโตน จึงนิยมใช้ในการสกัดเพื่อเป็นยารักษาโรคที่เกิดจากการติดเชื้อ (Tiwari, et al., 2011) และจากผลการทดลองพบว่าสารสกัดหญ้าแฝกที่สกัดด้วยน้ำได้ร้อยละผลผลิตออกมามากที่สุดเมื่อเปรียบกับตัวทำละลายชนิดอื่นที่ใช้ในการสกัด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Dhanani, et al. (2017) ที่ได้ทำการสกัดสารจากโสมอินเดีย (*Withania somnifera*) โดยใช้น้ำและเอทานอล และใช้ช่วงเวลาที่แตกต่างกันในการสกัด ได้แก่ 5, 10 และ 20 นาที จากผลการสกัดพบว่าสารสกัดโสมอินเดียที่สกัดด้วยน้ำมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 9.90, 11.85 และ 10.27 ตามลำดับ มากกว่าการสกัดด้วยเอทานอลซึ่งมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 2.85, 2.96 และ 3.17 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามร้อยละผลผลิตที่ได้จากการสกัดนอกจากจะขึ้นอยู่กับตัวทำละลายแล้วยังขึ้นอยู่กับอีกหลายปัจจัยเช่น ชนิดของพืช ชิ้นส่วนของพืช และการเก็บรักษาตัวอย่างก่อนนำมาสกัด (Wendakoon, et al., 2012) งานวิจัยของจิราภรณ์ บุราคร และเรือนแก้ว ประพฤติ (2555) ได้ทำการศึกษาสารสกัดสมุนไพรทั้ง 7 ชนิด ได้แก่ ผักชีฝรั่ง ชะพลู สะระแหน่ ฟักแม้ว โหระพา กะเพรา และเตย โดยใช้ตัวทำละลายคือน้ำ เอทานอล และเมทานอล จากผลการสกัดพบว่าร้อยละผลผลิตของสารที่สกัดด้วยเอทานอลเท่ากับ

10.25, 20.56, 23.00, 18.54, 34.65, 23.67 และ 22.12 ตามลำดับซึ่งมากกว่าสารที่สกัดด้วยน้ำซึ่งเท่ากับ 2.24, 7.12, 3.23, 3.33, 4.21, 3.21 และ 4.21 ตามลำดับ

ในการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น สารที่สกัดด้วยน้ำนั้นพบ ซาโปนิน แทนนิน และฟลาโวนอยด์ สารที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ พบแทนนิน ฟลาโวนอยด์ และ เทอร์ปีนอยด์ สารที่สกัดด้วยอะซิโตนพบฟลาโวนอยด์และเทอร์ปีนอยด์ในบางสายพันธุ์ ส่วนสารที่สกัดด้วยเฮกเซนไม่พบสารพฤกษเคมีชนิดใดเลย และสารสกัดหญ้าแฝกทุกสายพันธุ์ไม่พบอัลคาลอยด์ การตรวจสอบสารพฤกษเคมีของสารสกัดนั้นทำให้ทราบข้อมูลพื้นฐานทางเคมีของสารสกัดซึ่งอาจจะเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติที่เป็นที่ต้องการ ในการทดลองได้ใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิดในการสกัด และจากผลการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดทั้ง 5 ชนิดได้แก่ ซาโปนิน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ พบว่าสารพฤกษเคมีมีความแตกต่างกันตามชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด สารพฤกษเคมี ได้แก่แทนนิน ฟลาโวนอยด์ และเทอร์ปีนอยด์ พบในสารสกัดหญ้าแฝกที่สกัดด้วยน้ำ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และอะซิโตน ซึ่งตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดมีคุณสมบัติที่สามารถละลายสารพฤกษเคมีดังกล่าวออกมาได้ดี (Tiwari, et al., 2011) ในขณะที่สารสกัดหญ้าแฝกที่สกัดด้วยเฮกเซน ไม่พบสารพฤกษเคมีใดเลยในการทดสอบ เนื่องจากเฮกเซนเป็นตัวทำละลายไม่มีขั้วจึงนิยมใช้ในการสกัดสารที่ไม่มีขั้วเช่นน้ำมันพืช (Adeshina, et al., 2012) ซาโปนินนั้นพบเพียงสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำเท่านั้นเพราะซาโปนินมีโครงสร้างที่สามารถละลายในน้ำได้ดี (สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2553) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Biswas, et al. (2013) ได้ทำการสกัดสารจากใบฝรั่งโดยใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ น้ำ เอทานอล เมทานอล และเฮกเซน แล้วนำมาทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นได้แก่แทนนิน ซาโปนิน เทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และไกลไซด์พบว่ามีซาโปนินที่สารสกัดด้วยน้ำเท่านั้น ในขณะที่สารที่สกัดด้วยเฮกเซนนั้นไม่พบสารพฤกษเคมีใดเลย ในส่วนของอัลคาลอยด์นั้นไม่พบเลยในสารสกัดจากใบหญ้าแฝกทุกสายพันธุ์ อาจเป็นเพราะว่าอัลคาลอยด์นั้นไม่ได้มีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของพืช และพืชกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ไม่ได้มีการสร้างและสะสมอัลคาลอยด์ (ประไพรัตน์ สีพลไกร, 2555) ในงานวิจัยของ Yadav and Agarwala (2011) ได้นำพืชหลายชนิดมาทำการสกัดแล้วตรวจสอบองค์ประกอบพฤกษเคมีเบื้องต้น จากผลการทดลองพบว่ามีพืชเพียงไม่กี่ชนิดที่พบอัลคาลอยด์

การศึกษาหาปริมาณฟีนอลิกรวมพบว่าสายพันธุ์ห้วยขาแข้งมีปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุด และสารสกัดหญ้าแฝกที่สกัดด้วยเฮกเซนทุกสายพันธุ์มีปริมาณฟีนอลิกรวมน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดที่ตัวทำละลายอื่นในการสกัด สารในกลุ่มฟีนอลิกเป็นสารพฤกษเคมีที่พบในพืชมากที่สุด ซึ่งมีตั้งแต่โครงสร้างอย่างง่ายไปจนถึงพวกที่มีโครงสร้างซับซ้อน (Khoddami, et al., 2013) และสารฟีนอลิกบางชนิดเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเช่น เป็นสารต้านมะเร็ง ป้องกันโรคเบาหวาน แก้ท้องเสีย และต้านจุลินทรีย์ (สุปรีณา ศรีใสคา, 2552; ฉันทนา อารมณ์ดี, 2556) และจากผลการทดลองสารที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใหญ่มีปริมาณฟีนอลิกรวมที่มากกว่าสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายอีก 3 ชนิดที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Dhanani, et al., (2017) ได้ทำการสกัดสารจากโสมอินเดีย (*Withania somnifera*) โดยใช้น้ำและเอทานอล และพบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณฟีนอลิกรวมที่มากกว่าสารที่สกัดด้วยน้ำ

การศึกษาผลการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง แบคทีเรียก่อโรคช่องปากและลำคอ และแบคทีเรียก่อโรคระบบทางเดินอาหารของสารสกัดหญ้าแฝกทั้ง 12 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน 4 ชนิด ได้แก่ น้ำ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ อะซิโตน และเฮกเซน ในการทดสอบกับกลุ่มแบคทีเรียก่อโรคผิวหนัง พบว่าเชื้อ *S. pyogenes* DMST 30653 ถูกยับยั้งโดยสารสกัดสายพันธุ์พระราชทานที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ได้ดีที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งเท่ากับ 17.33 มิลลิเมตร และมีค่า MIC เท่ากับ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC เท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เชื้อ *S. pyogenes* เป็นเชื้อแบคทีเรีย *streptococcus* กลุ่ม A ที่ทำให้เกิดการอักเสบของผิวหนัง และยังเป็นเชื้อสาเหตุหลักในการก่อโรคในระบบทางเดินหายใจอีกด้วย (Nizet and Arnold, 2018) ในรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *S. pyogenes* นั้นจะใช้ Pennicilli เป็นหลัก ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม β–lactam เนื่องจาก *S. pyogenes* มีความไวต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่มนี้ค่อนข้างมาก นอกจากนี้ *S pyogenes* ยังมีความไวต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่มอื่น ๆ อีกด้วย ในงานวิจัยของ Camara et al., (2013 ได้นำยาปฏิชีวนะ 9 กลุ่ม ได้แก่ β–lactams, macrolides, lincosamins, streptogramins, ketolids, fluoroquinolones, glycopeptides, phenicols และ cyclines ผลการทดลองพบว่าเชื้อ *S. pyogenes* มีความไวต่อยาปฏิชีวนะทุกกลุ่ม โดยมีค่าความกว้างของโซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 18.28–30.93 มิลลิเมตร และค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.004–4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และจากผลการวิจัยพบว่า *S. pyogenes* DMST 30653 มีความไวต่อสารสกัดมากที่สุด อาจเป็นเพราะว่าเชื้อ *S. pyogenes* DMST 30653 มีความไวต่อยาปฏิชีวนะในทุกกลุ่ม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Razafintsalama, et al. (2017) ที่ได้นำพืชทั้ง

14 ชนิดมาทำการสกัดสารแล้วทำทดสอบกับแบคทีเรียก่อโรคทั้งแกรมลบและแกรมบวก ได้แก่ *Proteus mirabilis, Listeria monocytogenes Escherichia coli, Shigella flexneri, Salmonella* Enteritidis, *Yersinia enterocolitica, Clostridium perfringens, Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus pyogenes* จากผลการทดลองพบว่าเชื้อ *S. pyogenes* มีความไวต่อสารสกัดจากพืชทุกสายพันธุ์ โดยมีค่าความกว้างของโซนการยับยั้งอยู่ระหว่าง 11–15 มิลลิเมตร และค่า MIC อยู่ระหว่าง 0.002–3.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ MBC อยู่ระหว่าง 0.008–3.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และในการทดสอบกับกลุ่มแบคทีเรียก่อโรคช่องปากและลำคอพบว่า *M. catarrhalis* DMST 17121 ถูกยับยั้งโดยสารสกัดสายพันธุ์นครสวรรค์ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ได้ดีที่สุดโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งเท่ากับ 12.33 มิลลิเมตร และมีค่า MIC เท่ากับ 62.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC เท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร *M. catarrhalis* เป็นแบคทีเรียแกรมลบก่อให้เกิดการติดเชื้อที่หูชั้นกลางในเด็กทารกและติดเชื้อทางเดินหายใจส่วนล่างในผู้ใหญ่ *M. catarrhalis* มีเอนไซม์ β–lactamase ทำให้มีความต้านทานต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่ม β–lactams (Karalus and Campagnari, 2000) ในการรักษาโรคที่ติดเชื้อจาก *M. catarrhalis* โดยส่วนมากจะใช้ amoxicillin/clavulanate, extendedspectrum cephalosporins, macrolides, trimethoprim/sulfamethoxazole, tetracyclines และ fluoroquinolones (Flamm, et al., 2012) แต่อย่างไรก็ตามได้มีรายงานว่าสารสกัดจากพืชบางชนิดสามารถยับยั้งเชื้อ *M. catarrhalis* ได้ จากงานวิจัยของ Suliman, et al. (2014) ได้ทำการสกัดสารจาก *Aristolochia bracteolate* ด้วยเมทานอลแล้วนำไปทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้แก่ *B. subtilis, Bacillus sp., S. aureus, Ps. aeruginosa* และ *M. catarrhalis* และพบว่า *M. catarrhalis* สามารถถูกยับยั้งได้โดยสารสกัดโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งเท่ากับ 12 มิลลิเมตร และมีค่า MIC เท่ากับ 25 μg/mL และค่า MBC เท่ากับ 50 μg/mL ในขณะที่การทดสอบกับกลุ่มแบคทีเรียก่อโรคระบบทางเดินอาหารพบว่ามีเพียง *L. monocytogenes* DMST 17303 ที่สารสกัดสามารถยับยั้งได้ โดยสารสกัดสายพันธุ์เชียงใหม่ที่สกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งได้ดีที่สุดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนการยับยั้งเท่ากับ 11.00 มิลลิเมตร และมีค่า MIC เท่ากับ 250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า MBC เท่ากับ 1000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร *L. monocytogenes* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก พบอยู่ตามดินหรือแหล่งน้ำ สามารถปนเปื้อนกับอาหารได้ทั้งในระหว่างกระบวนการผลิตและกระบวนการขนส่ง และก่อให้เกิดอาหารเป็นพิษ (Buchanan, et al., 2017) อีกทั้งยังเป็นเชื้อที่มีความทนต่อค่า pH อุณหภูมิ และความเข้มข้นของเกลือ ทำให้สามารถปนเปื้อนและเจริญในอาหารได้ในหลาย ๆ สภาวะ นอกจากนี้ยังมีความต้านทานต่อยาปฏิชีวนะอีกด้วย จากการ

ทดลองถึงแม้ว่าสารสกัดจากหญ้าแฝกจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* DMST 17303 ได้ ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่มก่อโรคระบบทางเดินอาหารเพียงชนิดเดียว แต่ค่าการยับยั้งนั้นน้อยกว่าแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ที่ใช้ในการทดลอง การควบคุมเชื้อ *L. monocytogenes* นอกจากจะควบคุมในระดับกระบวนการผลิตแล้ว ยังสามารถใช้ยาปฏิชีวนะในการยับยั้งเชื้อได้ อีกเช่น ceftriaxone, tetracycline, gentamicin และ penicillin เนื่องจากเชื้อ *L. monocytogenes* ค่อนข้างมีความไวต่อยาปฏิชีวนะเหล่านี้ (Sosnowski, et al., 2019) แต่อย่างไรก็ตามได้มีรายงานสามารถใช้สารสกัดจากพืชบางชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* จากงานวิจัยของ Lis-Balchin and Deans (1997) ได้นำน้ำมันหอมระเหยที่มีขายตามท้องตลาดทั่วไปมาทดสอบกับเชื้อ *L. monocytogenes* และพบว่าผลิตภัณฑ์เกือบทุกชนิดสามารถยับยั้งเชื้อได้ และในงานวิจัยของ Akhlaghi, et al. 2018) ได้ทำการสกัดสารจาก *Ferula assafoetida* ด้วยวิธีการซึมผ่านของตัวทำละลาย (percolation) แล้วทำมาทดสอบกับเชื้อ *L. monocytogenes* 2 ชนิด ได้แก่ชนิด 4a และ 4b ด้วยวิธี Disc diffusion จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดสามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 2 ชนิดได้ด้วยความกว้างของบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 16.35 และ 15.87 มิลลิเมตร ตามลำดับ

จากผลการวิจัยไม่ได้แสดงให้เห็นถึงความสามารถที่แตกต่างกันของหญ้าแฝกทั้ง 2 กลุ่ม (แฝกดอนและแฝกลุ่ม) ในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ แต่แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน สารที่สกัดด้วยน้ำนั้นถึงแม้ว่ามีสารสกัดออกมาในปริมาณมากแต่ไม่มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ในงานวิจัยของ Ayandele and Adebiyi (2007) ได้ทำการสกัดสารจาก *Olax subscorpioidea* โดยใช้น้ำและเอทานอลจากผลการทดลองพบว่าสารที่สกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียที่ดีกว่าน้ำ และจากรายงานของ Biswas, et al. (2013) ได้ทำการสกัดสารจากใบฝรั่งโดยใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิดได้แก่ น้ำ เอทานอล เมทานอล และเฮกเซน แล้วนำมาทดสอบกับแบคทีเรียก่อโรค และพบว่าสารที่สกัดด้วยน้ำนั้นไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้เลย ในการทดลอง สารที่สกัดด้วยเฮกเซนนั้นไม่พบสารพฤกษเคมีใดเลยในการทดสอบ แต่เมื่อนำมาทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียพบว่ามีการยับยั้ง จากรายงานของ Sangeetha (2012) ได้นำใบของหญ้าแฝก (*Vetiveria zizanioides*) มาสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ คลอโรฟอร์ม เมทานอล และเฮกเซน และนำมาทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียโดยวิธี disc diffusion และหาค่า MIC จากผลการทดลองพบว่าสารที่สกัดด้วยเฮกเซนนั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางการยับยั้งอยู่ระหว่าง 10-24 มิลลิเมตร

และ MIC เท่ากับ 10–40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบอีกว่าแบคทีเรียแกรมลบมีความต้านทานต่อสารสกัดมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก อาจเป็นเพราะว่าโครงสร้างของแบคทีเรียแกรมลบนั้น มีเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกซึ่งมี lipopolysaccharide เป็นส่วนประกอบ ทำให้เป็นอุปสรรค์ต่อการเข้าไปทำลายเซลล์ของยาปฏิชีวนะหรือสารยับยั้งแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ (Denyer and Maillard, 2002) และจากรายงานของ Wendakoon (2012) พบว่าสารสกัดพืชที่สกัดออกมานั้นไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้เลย แต่อย่างไรก็ตามได้มีรายงานว่าสารสกัดจากพืชบางชนิดสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ จากงานวิจัยของ Razafintsalama, et al. (2017) ที่ได้นำพืชทั้ง 14 ชนิดมาทำการสกัดสารแล้วทำการทดสอบกับแบคทีเรียก่อโรคทั้งแกรมลบและแกรมบวกและพบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งเชื้อ *P. mirabilis* และ *S. flexneri* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้ และจากงานวิจัยของ Suliman, et al. (2014) พบว่าสารสกัดจาก *Aristolochia bracteolate* สามารถยับยั้ง *M. catarrhalis* ได้นอกจากนี้ทราบอีกว่าสารสกัดจากหญ้าแฝกสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบบางชนิดได้เช่นกัน (Sangeetha, 2012)

ในการสกัดสารจากพืชนั้นนอกจากจะต้องเลือกใช้ตัวทำละลายให้เหมาะสมแล้ว ยังมีรูปแบบของการสกัดที่จะต้องคำนึงถึงอีกด้วย ในการเลือกรูปแบบของการสกัดนั้นจะต้องพิจารณาในเรื่องของตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง อุปกรณ์ สถานที่ที่ใช้ในการวิจัย และระยะเวลาในการวิจัย เพื่อให้ได้สารสกัดออกมามีประสิทธิภาพ เป็นไปตามวัตถุประสงค์ของงานวิจัย และเพื่อให้งานวิจัยลุล่วงไปตามเป้าหมาย นอกจากนี้ควรระมัดระวังเรื่องเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง เนื่องจากเชื้อดังกล่าวเป็นเชื้อก่อโรค ดังนั้นจึงควรคำนึงถึงหลักการของเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic technique) และปฏิบัติตามอย่างเคร่งคัด เพื่อไม่ให้เกิดอันตรายแก่ตัวผู้ทดลอง และเกิดการแพร่กระจายของเชื้อซึ่งจะนำไปสู่อันตรายแก่บุคคลรอบข้าง

จากผลการวิจัยถือเป็นข้อมูลสำคัญที่จะนำไปต่อยอดในงานวิจัยต่อไป อาจนำเทคนิคทางชีวโมเลกุลมาใช้เพื่อให้ทราบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์และชนิดของหญ้าแฝกมากขึ้น และอาจมุ่งเน้นไปในเรื่องของสารพฤกษเคมีเช่น การแยกสารผสมทางเคมีออกจากกัน (Chromatography) หรือเจาะจงสกัดสารเฉพาะบางกลุ่มออกมา เพื่อจัดจำแนกสารดังกล่าวให้มีความละเอียดและทำให้รู้ถึงสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของหญ้าแฝกที่มีผลกับแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์มากยิ่งขึ้น และเนื่องจากข้อมูลการวิจัยนี้จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับมนุษย์ ดังนั้นควรมีการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดและทดสอบความพึงพอใจของผู้ใช้เมื่อนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์แล้ว นอกจากนี้ยังทราบอีกว่าสารพฤกษเคมีของหญ้าแฝกยังออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นได้อีก เช่น เชื้อก่อโรคในพืช (รัฐพล ศรประเสริฐ, 2556) แมลงศัตรูพืช (อุดมพร แพ่งนคร, 2539) และ

แมลงปริสิตในสัตว์ (รุ่งนภา ก่อประดิษฐ์สกุล และคณะ, 2538) ข้อมูลดังกล่าวถือเป็นประเด็นที่น่าสนใจในการศึกษาเพิ่มเติม ทั้งนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลจากการวิจัยที่สมบูรณ์ในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากสารสกัดใบหญ้าแฝกสำหรับยับยั้งหรือฆ่าแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์เช่น ทดแทนยาปฏิชีวนะใช้ผสมในเครื่องสำอางเพื่อให้มีฤทธิ์ การป้องกันจุลินทรีย์ก่อโรค หรือผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ได้อย่างเหมาะสมในอนาคต

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กรมชลประทาน. (กุมภาพันธ์ 2552). **คู่มือการปลูกหญ้าแฝกในพืชที่ชลประทานสำนักงานวิจัยและพัฒนา**. สืบค้นเมื่อ 9 กรกฎาคม 2558, จาก http://kmcenter.rid.go.th /kcresearch/MANUAL/MASS0004.pdf

กรมพัฒนาที่ดิน. (2550). สนท.030016-2550. **สำนักนิเทศและถ่ายทอดเทคโนโลยีการพัฒนาที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ การใช้ประโยชน์หญ้าแฝกในการปรับปรุงบำรุงดิน**.

กรมควบคุมโรค. (24 มิถุนายน 2554). การติดตามการระบาดของเชื้อ *Escherichia coli* ปี พ.ศ. 2554. **รายงานเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา**. สืบค้นเมื่อ 9 กรกฎาคม 2558, จาก http://www.wesr.moph.go.th/wesr_new/file/y54/H54242011-06-122011-06-18.pdf

กรมควบคุมโรค. (11 เมษายน 2557). สถานการณ์ผู้ป่วยโรคติดเชื้อปอดอักเสบรุนแรงหรือเสียชีวิตไม่ทราบสาเหตุ จากระบบเฝ้าระวัง โรคปอดอักเสบรุนแรงเดือนมกราคม – มีนาคม 2557. **รายงานเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา**. สืบค้นเมื่อ 9 กรกฎาคม 2558, จาก http://www.boe.moph.go.th/Annual/ AESR2014/ aesr2557/WESR_2557% 20CD /wk57 _13.pdf.

กรมวิทยาศาสตรบริการ. (มีนาคม 2553). **ซาโปนิน**. สืบค้นเมื่อ 9 กรกฎาคม 2559, จาก http://siweb.dss.go.th/repack/fulltext/IR10.pdf

กุลภัทร์ โพธิกนิษฐ์, วันดี ทาตระกูล, โอภาส พิมพา, ทินกร ทาตระกูล และกุลยาภัสร์ วุฒิจารี. (2552). **การศึกษาปริมาณและการใช้ประโยชน์ของสารแทนนินในใบกระถินเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพโปรตีนไหลผ่านในกระบือ**. สืบค้นเมื่อ 9 กรกฎาคม 2559, จาก https://ag.kku.ac.th/academic/lib/work/pdf/AG%2052--34-p121-123.pdf

จิราพร เพลินจิตร. (2554). **ความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในน้ำกึ่งวิกฤต**. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยศิลปากร, นครปฐม.

จิราภรณ์ บุราคร และเรือนแก้ว ประพฤติ. (2555). ผลของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านไทยจำนวน 7 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย. **วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก**, 10(1), 11–22.

ฉันทนา อารมณ์ดี. (2556). เภสัชจลนศาสตร์ของฟลาโวนอยด์. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, **วารสารอาหารและยา**, 2, 4–10.

ชัยวัฒน์ วามวรรัตน์. (2557). **คาร์โบไฮเดรต**. สืบค้นเมื่อ 9 กรกฎาคม 2558, จาก http://biochem.flas.kps.ku.ac.th/01402312/.

ชาติชาย ศิริพัฒน์. (30 สิงหาคม 2556). หญ้าแฝกให้อะไรมากกว่าที่คุณคิด. **ไทยรัฐ**. สืบค้นเมื่อ 3 กรกฎาคม 2558, จาก http://www.thairath.co.th/content/366541.

ณรงค์ศักดิ์ สารใจ. (2553). **ผลของสารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค**. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่

ทัศนีย์ ปัญจานนท์, กันทิมา ชูแสง และธีรกุล อาภรณ์สุวรรณ. (2548). ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากผลยอ, **วารสารสมุนไพร**, 12(1), 19 –29.

ทิชา ลาภศิริ. (2545). **สารสกัดฟลาโวนอยด์จากเปลือกมะนาว**. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน, นครปฐม.

ธิดารัตน์ เมธาวรากุล, เฉมอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์ และเบญญา มะโนชัย. (2557). ผลของฟลาโวนอยด์จากสารสกัดเปลือกมังคุดและขมิ้นชันต่อการเจริญเติบโต และการพัฒนาของมะเขือเทศสีดา. **วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร**, 45(2)(พิเศษ), 213–216.

ประสิทธิ์ ฮวบดี. (ธันวาคม 2556). แบบฟอร์มการนำส่งองค์ความรู้ของสำนักชลประทานที่ 13 โครงการส่งน้ำและบำรุงรักษาท่ามะกา. **สำนักงานชลประทานที่ 13**. สืบค้นเมื่อ 9 กรกฎาคม 2558, จาก http://irrigation.rid.go.th/thamaka/km_tmk/00122556.pdf

ประไพรัตน์ สีพลไกร. (2555). สารอินโดลอัลคาลอยด์และฤทธิ์ทางชีวภาพของต้นพญาสัตบรรณ. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี**, 14, 54–65.

พรหทัย กันแก้ว. (2555). ประโยชน์จากไกลโคไซด์. **วารสาร metrology info 2012**, 4(69), 10–15.

พวงทอง ไกรพิบูลย์. (14 พ.ย. 2558) โรคติดเชื้อ. **หาหมอ แหล่งรวมข้อมูลสุขภาพโรงพยาบาล และแพทย์**. สืบค้นเมื่อ 13 มีนาคม 2560, จาก https://Haamor.com/th

มณฑนา วีระวัฒนากร. (2556). ปฏิกิริยาเคมีระหว่างโปรตีนและพอลีฟีนอลและผลต่อระบบชีวภาพของ. **วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา**, 1, 210–218.

รัฐพล ศรประเสริฐ. (2556). ผลของสารสกัดหยาบจากใบหญ้าแฝกลุ่ม (*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash) ต่อการเจริญของเชื้อ *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn. **วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น**, 41(4), 967–972.

รุ่งนภา ก่อประดิษฐ์สกุล, ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล, สุรัตน์วดี จิวะจินดา, สุวพงษ์ สวัสดิ์พาณิชย์ และราเชนทร์ ถิรพร. (2538). การใช้สารสกัดจากรากหญ้าแฝกในการควบคุมเห็บโค. **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**, สืบค้นเมื่อ 9 กรกฎาคม 2558, จาก https://kukr.lib.ku.ac.th/proceedings/index.php?/KUCON2/search_detail/result/5968

ละออ ชมพักตร์. (2556). **หลักการติดเชื้อโรค**. สืบค้นเมื่อ 9 กรกฎาคม 2558, จาก http://www.med.nu.ac.th/pathology/405313/book56/.pdf

วรธรรม อุ่นจิตติชัย. (2555). **วัสดุทดแทนไม้**. สืบค้นเมื่อ 9 กรกฎาคม 2558, จาก http://forprod.forest.go.th/forprod/wood_industries/pdf/หนังสือ/วัสดุทดแทนไม้.pdf

สลิล ศิริอุดมภาส. (7 กันยายน 2560). โรคติดเชื้อนิวโมคอกคัส โรคไอพีดี. **หาหมอ แหล่งรวมข้อมูลสุขภาพ โรงพยาบาล และแพทย์**. สืบค้นเมื่อ 9 มีนาคม 2560, จาก http://haamor.com/th/

สยามเคมี. (2559). **ฟีนอล (Phenol)**. สืบค้นเมื่อ 6 เมษายน 2559, จาก http://www.Siamchemi.com/%E0%B8%9F%E0%B8%B5%E0%B8%99%E0%B8%AD%E0%B8%A5/

สุปรีณา ศรีใสคา. (2552). **ผลของการใช้ใบและก้านสะเดาในอาหารแพะเนื้อต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมักและสมรรถนะการผลิต**. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา

สำนักหอสมุดและศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มีนาคม 2553. **ซาโปนิน**. สืบค้นเมื่อ 9 กรกฎาคม 2558, จาก http://siweb.dss.go.th/repack/fulltext/IR10.pdf

ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์, วรางคณา สบายใจ และสิริมาส นิยมไทย. (2556). การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมี และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของใบข่อยดำ, **วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น**, 41(3), 723–730.

ศูนย์ปฏิบัติการโครงการหลวงภาคเหนือ กรมพัฒนาที่ดิน. (มิถุนายน 2548). **คู่มือการใช้ประโยชน์จากหญ้าแฝกในการอนุรักษ์น้ำและดิน**. สืบค้นเมื่อ 9 กรกฎาคม 2558, จาก http://ag-ebook.lib.ku.ac.th/index.php/component/content/article/77-org -14/956-2011-014-001.1

อัญชลี สงวนพงษ์. (2545). สารทุติยภูมิจากพืชพื้นเมืองในการป้องกันและกำจัดศัตรูทางการเกษตร, **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**, 33(4), 101-109.

อริศร์ เทียนประเสริฐ. (2555). **บริโภคไขมันอย่างไรให้สุขภาพดี**. ม.ป.ท.: โรงพิมพ์ องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก ในพระบรมราชูปถัมภ์.

อุดมพร แพ่งนคร. (2539). การทดสอบความเป็นพิษของรากหญ้าแฝกต่อหนอนใยผัก, **วารสารเกษตร**, 12(2), 140-145.

Adeshina, G., Kunle, O., Onaolapo, J., Ehinmidu, J. and Odama, L. (2012). Phytochemical and antibacterial studies of the hexane extract of *Alchornea cordifolia* leaf. **Phytochemicals as Nutraceuticals-Global Approaches to Their Role in Nutrition and Health**. Retrieved July 13, 2015, from https: //www. Intechopen .com/books/phytochemicals-as-nutraceuticals-global-approaches-to-their-role-in-nutrition-and-health/phytochemical-and-antibacterial-studies-of-hexane-extract-of-alchornea-cordifolia-leaf

Agostini, T., Vieira F.R., Bizzo R.H., Silver, D. and Gimenes A.M. (2012). Secondary Metabolites. **Chromatography and Its Applications**. Retrieved July 13, 2015, from https://www. intechopen.com /books /chromatography-and-its-applications /secondary-metabolites

Akhlaghi, M., Abbasi, M., Safari, Y., Amiri, R. and Yoosefpour, N. (2018). Data set on the antibacterial effects of the hydro-alcoholic extract of *Ferula assafoetida* plant on Listeria monocytogenes. **Data in Brief**, 20, 667–671.

Andersen, O. M. and Markham, K. R. (Eds) (2005). **Flavonoids chemistry biochemistry and applications,** Boca Raton: CRC press.

Ayandele, A. and Adebiyi, A. (2007). The phytochemical analysis and antimicrobial screening of extracts of *Olax subscorpioidea*. **African Journal of Biotechnology**, 6(7), 868-870.

Biswas, B., Rogers, K., McLaughlin, F., Daniels, D. and Yadav, A. (2013). Antimicrobial Activities of Leaf Extracts of Guava (*Psidium guajava* L.) on Two Gram–Negative and Gram–Positive Bacteria. **International Journal of Microbiology**, Retrieved July 13, 2015, from https://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2013/746165/

Buchanan, R. L., Gorris, L. G. M., Hayman, M. M., Jackson, T. C. and Whiting, R. C. (2017). A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose–response, ecology, and risk assessments. **Food Control**, 75, 1–13.

Camara, M., Dieng, A. and Boye, C. S. B. (2013). Antibiotic Susceptibility of *Streptococcus pyogenes* Isolated from Respiratory Tract Infections in Dakar, Senegal. **Microbiology Insights**, 6, 71–75.

Calderon–Montano, M.J., Burgos–Moron, E., Orta, M.L., Maldonado–Navas, D., Garcia–Dominguez, I. and Lopez–Lazaro, M. (2014). Evaluating the Cancer Therapeutic Potential of Cardiac Glycosides. **BioMed Research International**, Retrieved July 13, 2015, from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24895612

Cavalier, J.S., Rankin, D.I., Harbeck, J.R., Sautter, L.R., McCarter, Y. S., Sharp, S.E., et al., (2005). Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. Departments **of Laboratory Medicine and Microbiology University of Washington Seattle ,Washington 98195.** Retrieved July 13, 2015, from https://www.asm. org/ccLibraryFiles/FILENAME/000000002484/Manual%20of%20Antimicrobial%20 Susceptibility% 20Testing.pdf

Centers for Disease Control and Prevention. (May 8, 2013). Pneumococcal Disease (*Streptococcus pneumoniae*). **Travelers' Health**. Retrieved July 13, 2015, from http://wwwnc.cdc.gov/travel/diseases/pneumococcal–disease–streptococcus–pneumoniae.

Choi, O., Cho, S. K., Kim, J., Park, C. G. and Kim, J. (2016). In vitro antibacterial activity and major bioactive components of Cinnamomum verum essential oils against cariogenic bacteria, *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sorbinus*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 6(4), 308–314.

Conrads, G., de Soet, J. J., Song, L., Henne, K., Sztajer, H., Wagner–Dobler, I. and Zeng, A.–P. (2014). Comparing the cariogenic species *Streptococcus sorbinus* and *S. mutans* on whole genome level. **Journal of Oral Microbiology**, 6, 1–13.

Coburn, B., Grassl, A.G. and Finlay, B. (2007). *Salmonella*, the host and disease: a brief review. **Immunology and Cell Biology**, 85, 112–118.

Cunningham, M.W. (2000). Pathogenesis of Group A *Streptococcal* Infections. **Clinical Microbiology Reviews**, 13(3), 470–511.

Denyer, S. P. and Maillard, J. Y. (2002). Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram–negative bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, 92(1), 35S–45S.

Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N. A. and Kumar, S. (2017). Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. **Arabian Journal of Chemistry**, 10(1), S1193–S1199.

Erwin, A. L. and Smith, A. L. (2007). Nontypeable Haemophilus influenzae: understanding virulence and commensal behavior. **Trends in Microbiology**, 15(8), 355–362.

Farjana, A., Zerin, N. and Kabir, M. S. (2014). Antimicrobial activity of medicinal plant leaf extracts against pathogenic bacteria. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, 4, S920–S923.

General Bacteriology. (n.d.). **BACTERIAL GROWTH**. Retrieved July 13, 2015, from. http:// generalbacteriology.weebly.com/bacterial–growth.html.

Goss, H.C. and Muhlebach, S.M. (2011). Review: *Staphylococcus aureus* and MRSA in cystic fibrosis. **Journal of Cystic Fibrosis**, 10, 298–306.

Gershenzon, J. and Dudareva, N. (2007). The function of terpene natural products in the natural world. **Nature Chemical Biology**, 3(7), 408–414.

Handa, S.S., Khanuja, S.P., Longo, G. and Rakesh, D.D. (2008). **Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants**. Retrieved July 13, 2015, from https://www.unido.org/sites/default/files/2009–10/Extraction_ technologies_ for_medicinal_and_aromatic_plants_0.pdf

Jafari, A., Aslani, M.M. and Bouzari, S. (2012). *Escherichia coli*: a brief review of diarrheagenic pathotypes and their role in diarrheal diseases in Iran. **Iranian Journal of Microbiology**, 4(3), 102–117.

Jorgensen, J. H. and Ferraro, M.J. (2009). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. **Medical Microbiology**, 49, 1749–1755.

Karalus, R. and Campagnari, A. (2000). *Moraxella catarrhalis*: a review of an important human mucosal pathogen. **Microbes and Infection**, 2(5), 547–559.

Kawada–Matsuo, M. and Komatsuzawa, H. (2017). Role of *Streptococcus mutans* two–component systems in antimicrobial peptide resistance in the oral cavity. **Japanese Dental Science Review**, 53(3), 86–94.

Khoddami, A., Wilkes, M.A. and Roberts, T.H. (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. **Molecules**. 18, 2328–2375.

Kidak, R. and Nilsun, H.I. (2006). Ultrasonic destruction of phenol and substituted phenols: A review of current research. **Ultrasonics Sonochemistry**. 13, 195–199.

Lis-Balchin, M. and Deans, S. G. (1997). Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. **Journal of Applied Microbiology**, 82(6), 759–762.

Iovino, F., Seinen, J., Henriques–Normark, B. and van Dijl, J. M. (2016). How Does *Streptococcus pneumoniae* Invade the Brain? **Trends in Microbiology**, 24(4), 307–315.

Lowy, F.D. (1998). *Staphylococcus aureus* Infections. **The New England Journal of Medicine**, 339(8), 520–532.

Matsumoto–Nakano, M. (2018). Role of *Streptococcus mutans* surface proteins for biofilm formation. **Japanese Dental Science Review**, 54(1), 22–29.

Maffei, M. (2003). **Vetiveria: the genus Vetiveria: CRC Press**. N.P.: n.p.

Michalak, A. (2005). Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. **Journal of Environmental Studies**, 15(4), 532–530.

Mikucka, A., Janicka, G., Krawiecka, D. and Kochanowska, J. (2000). Antibiotic–sensitivity of *Moraxella catarrhalis* isolated from clinical materials in 1997–1998. **Medical Science Monitor**, 6(2), 300–304.

Mitchell, A. M. and Mitchell, T. J. (2010). *Streptococcus pneumoniae*: virulence factors and variation. **Clinical Microbiology and Infection**, 16(5), 411–418.

Nizet, V. and Arnold, J. C. (2018). 118 – *Streptococcus pyogenes* (Group A Streptococcus). In S. S. Long, C. G. Prober, and M. Fischer (Eds.), **Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases** Retrieved July 13, 2015, from https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323401814001183

Pereira, D.M., Valentao, P., Pereira A.J. and Andrade B.P. (2009). Phenolics: From Chemistry to Biology. **Molecules**, 14, 2202–2211.

Phalipon, A. and Sansonetti, P. J. (2007). *Shigella*'s ways of manipulating the host intestinal innate and adaptive immune system: a tool box for survival. **Immunol Cell Biol**, 85(2), 119–129.

Portillo, M. E., Corvec, S., Borens, O. and Trampuz, A. (2013). ***Propionibacterium acnes*: an underestimated pathogen in implant–associated infections**. Retrieved July 13, 2015, from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24308006.

Pui, C.F., Wong, W. C., Chai, L.C., Tunung, R., Jeyaletchumi, P., Noor Hidayah, M. S., et al. (2011). Review Article *Salmonella*: A foodborne pathogen. **International Food Research Journal**, 1, 465–473.

Razafintsalama, V. E., Ralambonirina Rasoarivelo, S. T., Randriamialinoro, F., Ranarivelo, L., Rakotonandrasana, S. R., Petit, T., et al. (2017). Antibacterial activities of fourteen medicinal plants from the endemic plant diversity of Madagascar. **South African Journal of Botany**, 112, 303–306.

Sangeetha, D. (2012). Screening of antimicrobial activity of vetiver extracts against certain pathogenic microorganisms. **International Journal of Pharmaceutical & Biological Archive**, 3(1), 197–203.

Schoner, W. (2002). Endogenous cardiac glycosides, a new class of steroid hormones. **European Journal of Biochemistry**. 269, 2440–2448.

Schuppler, M. and Loessner, J.M. (2010). The Opportunistic Pathogen *Listeria monocytogenes* : Pathogenicity and Interaction with the Mucosal Immune System. **International Journal of Inflammation** 2010, Retrieved July 13, 2015, from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21188219

Singh, R., Narzary, D., Bhardwaj, J., Singh, A.K., Kumar S. and Kumar, A. (2014). Molecular diversity and SSR transferability studies in Vetiver grass (*Vetiveria zizanioides* L. Nash). **Industrial Crops and Products**, 53, 187– 198.

Sousa, A.M. and Pereira, M.O. (2014). *Pseudomonas aeruginosa* Diversification during Infection Development in Cystic Fibrosis Lungs–A Review. **Pathogens 2014**, 3, 680–703.

Sosnowski, M., Lachtara, B., Wieczorek, K. and Osek, J. (2019). Antimicrobial resistance and genotypic characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from food in Poland. **International Journal of Food Microbiology**, 289, 1–6.

Suliman Mohamed, M., Timan Idriss, M., Khedr, A. I. M., Abd AlGadir, H., Takeshita, S., Shah, M. M., et al. (2014). **Activity of *Aristolochia bracteolata* against *Moraxella catarrhalis***. Retrieved July 13, 2015, from https://www.hindawi. com/ journals/ijb/ 2014 /481686/

Sweety, M. (July 28, 2012). Classification of Alkaloids . **pharmaxchange**. Retrieved July 13, 2015, from https://pharmaxchange.info/2012/07/classification–of–alkaloids/.

Thompat, W. and Sudjaroen, Y. (2009). Characterization and antibiotic susceptibility profile of nosocomial pathogens isolated from cancer patients. **Thai Cancer J**, 29, 176–183.

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G. and Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. **Internationale Pharmaceutica Sciencia**, 1(1), 98–106.

Veldkamp, J. F. (1999). A revision of *Chrysopogon* Trin. including *Vetiveria* Bory (Poaceae) in Thailand and Maleysia with notes on some other species from Africa and Australia. **Austrobaileya**, 5(3), 503–533.

Verhoef, J. and Gillissen, A. (2003). Resistant *Haemophilus influenzae* in community–acquired respiratory tract infections: a role for cefixime. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 21(6), 501–509.

Wendakoon, C., Calderon, P. and Gagnon, D. (2012). Evaluation of Selected Medicinal Plants Extracted in Different Ethanol Concentrations for Antibacterial Activity against Human Pathogens. **Journal of Medicinally Active Plants**. 1(2), 61–68.

Yadav, R. and Agarwalav, M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. **Journal of Phytology**. 3(12), 10–14.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Brain heart broth (BHI broth) (Merck, Germany) ชั่งอาหาร 37 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 7.4±0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

2. Brain heart agar (BHI agar) (Merck, Germany) ชั่งอาหาร 37 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 7.4±0.2 เติมผงวุ้นไป 15 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

3. BBL™ Blood agar Base Infusion agar ชั่งอาหาร 40 กรัมละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 7.4±0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว รอให้อาหารเย็นลงประมาณ 45–50 องศาเซลเซียส แล้วจึงเติมเลือดลงไป 50 มิลลิลิตร

4. Tryptic soy broth (TSB) (Merck, Germany) ชั่งอาหาร 30 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 7.3±0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

5. Mueller hinton broth (MHB) (Merck) ชั่งอาหาร 21 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 7.4±0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

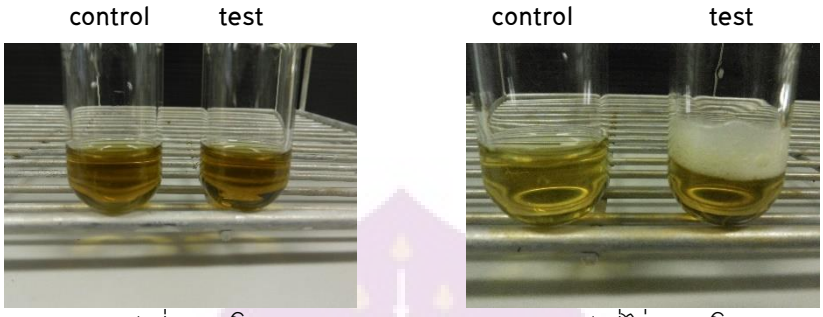
6. Mueller hinton agar (MHA) (Merck, Germany) ชั่งอาหาร 21 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 7.4±0.2 เติมผงวุ้นไป 15 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

7. Fluid thioglycolate medium broth (Merck, Germany) ชั่งอาหาร 30 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 7.4±0.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

8. Fluid thioglycolate medium agar (Merck, Germany) ชั่งอาหาร 30 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 7.4±0.2 เติมผงวุ้นไป 15 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

ภาคผนวก ข ภาพผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัด

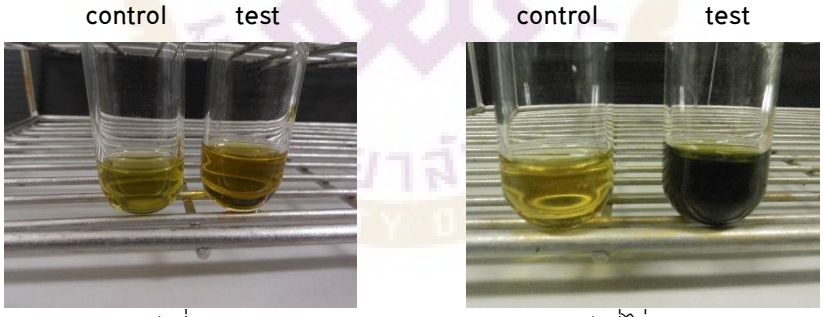
1. การทดสอบซาโปนิน ดูดสารสกัดใส่ลงในหลอดทดลองจากนั้นเขย่าแรง ๆ แล้วสังเกตฟองที่เกิดขึ้นดังภาพ



สารสกัดที่พบซาโปนิน สารสกัดที่ไม่พบซาโปนิน

ภาพ 10 การทดสอบซาโปนิน

2. การทดสอบแทนนิน ดูดสารสกัดใส่ลงในหลอดทดลองจากนั้นสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็น หากสารสกัดมีแทนนินจะเกิดสีเขียวแกมน้ำเงินดังภาพ

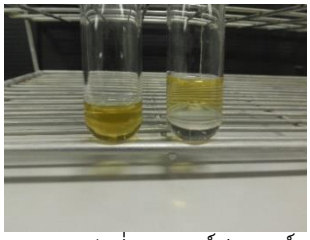


สารสกัดที่พบแทนนิน สารสกัดที่ไม่พบแทนนิน

ภาพ 11 การทดสอบแทนนิน

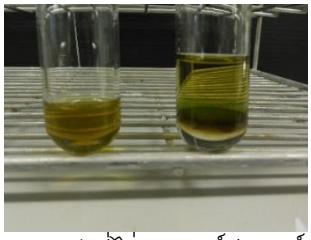
3. การทดสอบเทอร์ปีนอยด์ ดูดสารสกัดใส่ลงในหลอดทดลอง ทำการหยดคลอโรฟอร์มลงไปจะทำให้เกิดการแยกชั้นระหว่างสารสกัดและชั้นของคลอโรฟอร์ม จากนั้นทำการหยดกรดซัลฟิวริกลง หากสารสกัดมีซาโปนินจะเกิดสีน้ำตาลระหว่างชั้นของสารสกัดและของคลอโรฟอร์ม

control test



สารสกัดที่พบเทอร์ปีนอยด์

control test

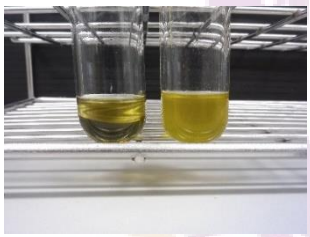


สารสกัดที่ไม่พบเทอร์ปีนอยด์

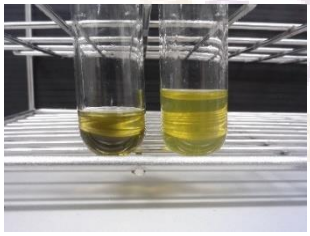
ภาพ 12 การทดสอบเทอร์ปีนอยด์

4. การทดสอบฟลาโวนนอยด์ ดูดสารสกัดใส่ลงในหลอดทดลอง หยดโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไปจะทำให้สารสกัดมีสีที่เข้มขึ้น จากนั้นทำการหยดไฮโดรคลอริคลงไป หากสารสกัดมีฟลาโวนอยด์สีของสารสกัดจะจางลงดังภาพ

control test



กรด

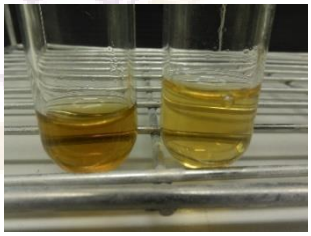


เบส

สารสกัดที่พบฟลาโวนนอยด์

control test

กรด



เบส

สารสกัดที่ไม่พบฟลาโวนนอยด์

ภาพ 13 การทดสอบฟลาโวนอยด์

ภาคผนวก ค สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (Ferric chloride) ชั่งเฟอร์ริกคลอไรด์ 2 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

2. wagner's reagent ชั่งไอโอดีน 2 กรัมและโพแทสเซียมไอโอได 6 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

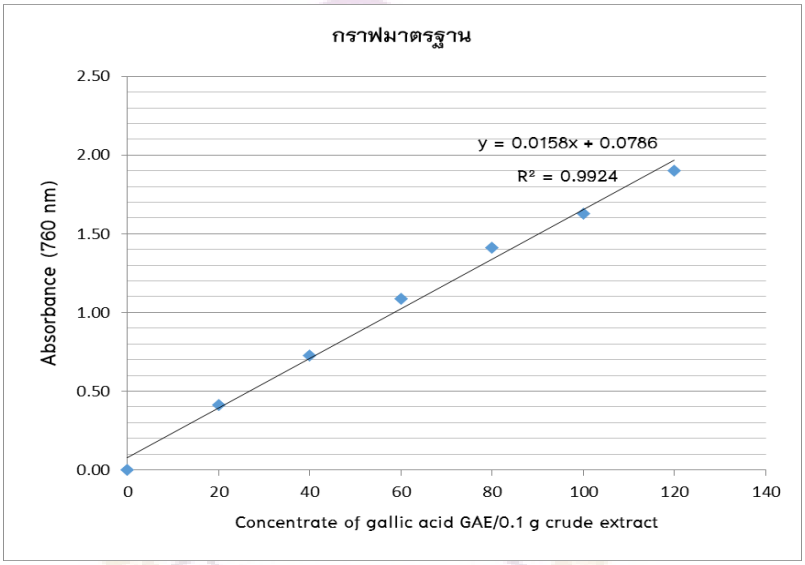
3. Folin Ciocalteu reagent ตวง Folin Ciocalteu reagent 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร

4. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate) ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 6 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

5. สารมาตรฐาน 0.5 Mcfarland standard ดูดสารละลาย Barium chloride ความเข้มข้น 1.175 เปอร์เซ็นต์ มา 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับกรดซัลฟิวริก (sulfuric acid) 1 เปอร์เซ็นต์ เก็บใส่หลอดฝาเกลียว ใช้อะลูมิเนียมฟอยล์ปิดให้มิด และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยความขุ่นของสารมาตรฐาน 0.5 Mcfarland standard จะมีค่าเท่ากับความขุ่นของเชื้อที่ $1.5x10^8$ CFU/ml

ภาคผนวก ง การเตรียมกราฟมาตรฐาน gallic acid

เตรียม gallic acid ให้มีความเข้มข้น 120, 100, 80, 60, 40 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นดูดแต่ละความเข้มข้นมา 0.5 มิลลิลิตรผสมกับ Folin Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาทีที่มืด จากนั้นผสมกับโซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate:Na_2CO_3) ความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 90 นาทีในที่มืด และนำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร จากนั้นนำมา plot กราฟโดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel



ภาพ 14 กราฟมาตรฐาน Gallic acid

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล ธารินทร์ ศรีวิโรจน์

วัน เดือน ปี เกิด 14 ตุลาคม 2534

ที่อยู่ปัจจุบัน 449/59 หมู่ 5 ตำบลบ้านคลอง อำเภอเมือง จังหวัด พิษณุโลก

ประวัติการศึกษา

พ.ศ.2556 วท.บ. (เทคโนโลยีชีวภาพ), มหาวิทยาลัยพะเยา, พะเยา

ผลงานตีพิมพ์

ที่เกี่ยวข้องกับวิทยานิพนธ์

ธารินทร์ ศรีวิโรจน์ และพนิตนาฏ อู่พุฒินันท์. (8 มีนาคม 2560). ผลของสารสกัดจากหญ้าแฝกต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค. ใน **การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 42** (หน้า 43-50). มหาวิทยาลัยเชียงใหม่: บัณฑิตวิทยาลัย.

ผลงานตีพิมพ์อื่น ๆ

Srewirot, T. and Auputinan, P. (January 26, 2017). Phytochemical Analysis and Antibacterial Activities of Vetiver Grass Extracts. In **The 2nd International Conference on Herbal and Traditional Medicine (HTM2017)** (p. 193). Khon kean university: Faculty of pharmaceutical sciences.