การหาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี และสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของส่วนสกัดหยาบจากใบและเปลือกของต้นผักเหมียง

พรรณทิพย์ นาคศรีคำ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเคมีศึกษา
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
พฤษภาคม 2558
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของ พรรณทิพย์ นาคศรีคำ ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จเร จรัสจรูญพงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธาน
(ดร. โสภณัฐ คงศรีประพันธุ์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จเร จรัสจรูญพงศ์)

.....กรรมการ
(ดร.อนันต์ อธิพรชัย)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จอมใจ สุกใส)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา ของมหาวิทยาลัยบูรพา

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกรัฐ ศรีสุข)
วันที่ 29 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2558

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจาก ผศ.ดร.จเร จรัสจรูญพงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางที่ถูกต้อง ช่วยเหลือในทุกปัญหาการวิจัยพร้อมทั้งให้กำลังใจ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความละเอียดถี่ถ้วนและเอาใจใส่ด้วยดีเสมอมา ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ประจำภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ทุกท่าน ที่ช่วยสอนวิชาเคมีในส่วนของเนื้อหา และปฏิบัติการเคมีอย่างเข้มข้น เพื่อปลูกฝังให้ข้าพเจ้าเป็นนักวิทยาศาสตร์ และเป็นครูวิทยาศาสตร์ที่มีความรู้ในภาคทฤษฎี และภาคปฏิบัติวิชาเคมีเป็นอย่างดี

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อประนอม นาคศรีคำ คุณแม่สายพิณ นาคศรีคำ และสมาชิกในครอบครัวทุกคนที่ให้กำลังใจ และสนับสนุนข้าพเจ้าเสมอมา

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบเป็นกตัญญูกตเวทิตาแด่บุพการี บูรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษา และประสบความสำเร็จมาจนตราบเท่าทุกวันนี้

พรรณทิพย์ นาคศรีคำ

53990118: สาขาวิชา: เคมีศึกษา; วท.ม.(เคมีศึกษา)
คำสำคัญ: ผักเหมียง / สมบัติยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย / การวิเคราะห์โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี – แมสสเปกโทรเมทรี

พรรณทิพย์ นาคศรีคำ: การหาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี – แมสสเปกโทรเมทรี และสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของส่วนสกัดหยาบจากใบและเปลือกของต้นผักเหมียง (DETERMINATION OF CHEMICAL COMPOSITION BY GC-MS ANALYSIS AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF CRUDE EXTRACTS FROM THE LEAVES AND BARK OF *GNETUM GNEMON* L.) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: จเร จรัสจรูญพงศ์, Ph.D. 63 หน้า. ปี พ.ศ. 2558.

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์การวิจัยเพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพทางการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของใบและเปลือกของต้นผักเหมียง ผลการทดลองพบร้อยละของสารสกัดหยาบในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอลของใบ ที่ 0.07, 2.34, และ 6.27 ตามลำดับ และของเปลือกที่ 0.52, 3.09, และ 7.96 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี–แมสสเปกโทรเมทรี พบสารประเภทกรดไขมันเป็นองค์ประกอบหลัก โดยองค์ประกอบหลักที่พบในส่วนของสารสกัดหยาบจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล คือ linoleic acid, 9,12,15-octadecatrien-1-ol และ linoleic acid ตามลำดับ ในขณะที่องค์ประกอบหลักในส่วนของสารสกัดหยาบจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล คือ 9,12-octadecadien-1-ol, linoleic acid และ gamma-sitosterol ตามลำดับ นอกจากนี้ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือก และใบในตัวทำละลายเมทานอลไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* แต่ในส่วนสารสกัดหยาบจากใบในตัวทำละลายเฮกเซน สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ ในขณะที่สารสกัดหยาบของใบในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนสามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ได้

53990118: MAJOR: CHEMICAL EDUCATION; M.Sc. (CHEMICAL EDUCATION)
KEYWORDS: *GNETUM GNEMON* L / Antibacterial Properties / GC-MS analysis

PHANTHIP NAKSRIKUM: DETERMINATION OF CHEMICAL COMPOSITION BY GC/MS ANALYSIS AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF CRUDE EXTRACTS FROM THE LEAVES AND BARK OF *GNETUM GNEMON* L. ADVISORY COMMITTEE: JARAY JARATJAROONPHONG, Ph.D. 63 P. 2015.

This research aimed to study the chemical composition and antibacterial properties of the crude hexane, dichloromethane and methanol extracts of the leaves and bark of *Gnetum gnemon L*. Using solvent extraction method, the yield of the crude hexane, dichloromethane, and methanol extracts of the leaves were 0.07%, 2.34%, and 6.27%, respectively. While, the crude hexane, dichloromethane, and methanol extracts of the bark were obtained in 0.52%, 3.09%, and 7.96%, respectively. The chemical compositions of the six crude extracts of *Gnetum gnemon* L. were determined by GC-MS analysis. It was found that the major phytochemicals obtained are fatty acids. The major phytochemical of the hexane, dichloromethane, and methanol extracts of the leaves of *Gnetum gnemon* L. are linoleic acid, 9,12,15-octadecatrien-1-ol, and linoleic acid, respectively. On the other hand, the major phytochemical of the hexane, dichloromethane, and methanol extracts of the bark of *Gnetum gnemon* L. are 9,12-octadecadien-1-ol, linoleic acid and gamma-sitosterol, respectively. The obtained crude hexane, dichloromethane, and methanol extracts of the leaves and bark of *Gnetum gnemon* L. were also examined the antibacterial activity against two species of bacteria i.e. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by agar disc diffusion method. The results showed that all crude extracts of bark as well as the crude methanol extract of leaves had no inhibitory effect on the growth of both *Escherichia coli* and *Stephylococcos aureus*. However, the crude hexane extract of leaves was potent inhibitor of *Stephylococcos aureus* growth. Whereas, the crude dichloromethane extract of leaves was found active against gram negative bacteria; *Escherichia coli.*

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ง

สารบัญ..... จ

สารบัญตาราง..... ช

สารบัญภาพ..... ซ

บทที่

1 บทนำ..... 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 2

สมมติฐานของการวิจัย..... 2

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย..... 2

ขอบเขตของการวิจัย..... 2

นิยามศัพท์เฉพาะ..... 3

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

ผักเหมียง..... 4

การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม..... 13

แก๊สโครมาโทกราฟี - แมสสเปกโทรเมตรี..... 14

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งต่อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพร..... 15

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งต่อจุลินทรีย์โดย Diffusion Method..... 16

ปัจจัยที่มีผลต่อการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งต่อจุลินทรีย์โดย Diffusion Method..... 18

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 20

3 วิธีดำเนินการวิจัย 24

เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี..... 24

ขั้นตอนการดำเนินงาน..... 24

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 ผลการวิจัย	30
การสกัด……	30
การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดหยาบจากใบและเปลือกของต้นผักเหมียงด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี - แมสสเปกโทรเมตรี……	31
ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี Agar disc diffusion ของสารสกัดหยาบจากใบและเปลือกต้นผักเหมียง……	37
5 สรุปและอภิปรายผล	41
สรุปและอภิปรายผล……..	41
ข้อเสนอแนะ……..	41
บรรณานุกรม……..	42
ภาคผนวก……...	44
ภาคผนวก ก……	45
ภาคผนวก ข……	60
ประวัติย่อของผู้วิจัย……	63

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2-1	ผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารของต้นผักเหมียง วิเคราะห์โดยภาควิชาอุตสาหกรรมอาหาร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.....	11
2-2	ผลการเปรียบเทียบคุณค่าทางอาหารของใบยอดอ่อนต้นผักเหมียงกับผักทั่วไปในท้องตลาดโดย ทวนทวี และคณะ.....	12
2-3	ผลการเปรียบเทียบคุณค่าทางอาหารของใบอ่อนต้นผักเหมียงกับผักทั่วไปในท้องตลาด	13
2-4	แสดงความมีขั้วของตัวทำละลายชนิดต่างๆ.....	14
4-1	ร้อยละของสารสกัดหยาบจากใบ และเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล.....	30
4-2	องค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด และองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรกของสารสกัดหยาบจากใบและเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน.....	31
4-3	องค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด และองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรกของสารสกัดหยาบจากใบและเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน.....	33
4-4	องค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด และองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรกของสารสกัดหยาบจากใบและเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล.....	35
4-5	ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และเปลือกของต้นผักเหมียง.....	37
4-6	แสดงภาพการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และเปลือกผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน.....	38
4-7	แสดงภาพการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และเปลือกผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน.....	39
4-8	แสดงภาพการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และเปลือกผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล.....	40

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2-1	ต้นผักเหมียงที่เจริญมาจากตาที่ราก……	5
2-2	ต้นผักเหมียงที่ขึ้นในสภาพธรรมชาติ……..	6
2-3	ใบผักเหมียง แสดงด้านหลังใบ (รูปบน) และด้านท้องใบ (รูปล่าง)……..	6
2-4	ใบผักเหมียงที่ติดอยู่กับลำต้น……..	7
2-5	สตรอบิลัสเพศผู้……..	7
2-6	สตรอบิลัสเพศเมีย……	8
2-7	เมล็ดผักเหมียงที่ยังไม่สุก…….	8
2-8	เมล็ดผักเหมียงที่สุก…….	9
2-9	เมล็ดผักเหมียงที่สุก ผ่าตามยาวแสดงชั้นของเปลือกหุ้มเมล็ด…….	9
2-10	แก๊สโครมาโทกราฟี - แมสสเปกโทรเมตรี…….	14
4-1	โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบจากใบของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซนที่ได้จากเครื่อง GC-MS……...	32
4-2	โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซนที่ได้จากเครื่อง GC-MS……	32
4-3	โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบจากใบของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS…….	34
4-4	โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS……	34
4-5	โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบจากใบของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอลที่ได้จากเครื่อง GC-MS……	36
4-5	โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอลที่ได้จากเครื่อง GC-MS……	36

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

ก-1 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 15.965 minute, Quality: 95 %, Total: 15.82 %, ID: 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-(CAS), Linoleic acid, Linoleic, Unifac 6550, Linoleic acid, Telfairic acid, Grape seed oil, Polylin No.515, cis,cis-Linoleic acid, 9,12-Octadecadienoic acid, cis-9,cis-12-Octadecadienoic acid, 9,12-O 46

ก-2 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 15.055 minute, Quality: 99 %, Total: 7.84 %, ID: Hexadecanoic acid (CAS), Palmitic acid, Palmitinic acid, n-Hexadecoic acid, n-Hexadecanoic acid, Pentadecanecarboxylic acid, 1-Pentadecanecarboxylic acid, Coconut oil fatty acids, Cetylic acid, Emersol 140, Emersol 143 47

ก-3 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 23.682 minute, Quality: 98 %, Total: 6.55 %, ID: Heneicosane (CAS), n-Heneicosane 48

ก-4 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 15.947 minute, Quality: 99 %, Total: 18.25 %, ID: 9,12-Octadecadien-1-ol (CAS), OCTADECA 9,12-DIEN-1-OL 48

ก-5 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 17.331 minute, Quality: 70 %, Total: 7.65 %, ID : gamma-Sitosterol 49

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

ก-6 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 17.547 minute, Quality: 98 %, Total: 7.28 %, ID: Pentacosane (CAS), n-Pentacosane……..... 49

ก-7 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 15.965 minute, Quality: 93 %, Total: 17.43 %, ID: 9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)-…….. 50

ก-8 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 17.354 minute, Quality: 99 %, Total: 13.06 %, ID: gamma-Sitosterol 50

ก-9 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 14.346 minute, Quality: 99 %, Total: 13.02 %, ID: Neophytadiene, 2,6,10-Trimethyl, 14-Ethylene-14-Pentadecne..... 51

ก-10 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 15.942 minute, Quality: 96 %, Total : 15.33 %, ID: 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-(CAS), Linoleic acid, Linoleic, Unifac 6550, Linoleic acid, Telfairic acid, Grape seed oil, Polylin No.515, cis,cis- Linoleic acid, 9,12-Octa-decadienoic acid, cis-9,cis-12-Octadecadienoic acid, 9,12-O 52

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

ก-11 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 15.061 minute, Quality: 99 %, Total : 9.73 %, ID: Hexadecanoic acid (CAS), Palmitic acid, Palmitinic acid, n-Hexadecoic acid, n-Hexadecanoic acid, Pentadecanecarboxylic acid, 1-Pentadecanecarboxylic acid, Coconut oil fatty acids, Cetylic acid, Emersol 140, Emersol 143 53

ก-12 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 18.851 minute, Quality: 96 %, Total : 5.92 %, ID: Heptacosane, n-Heptacosane……... 54

ก-13 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 15.905 minute, Quality: 93 %, Total: 8.75 %, ID: 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-(CAS), Linoleic acid, Linoleic, Unifac 6550, Linoleic acid, Telfairic acid, Grape seed oil, Polylin No.515, cis,cis- Linoleic acid, 9,12-Octadecadienoic acid, cis-9,cis-12-Octadecadienoic acid, 9,12-O 55

ก-14 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 3.363 minute, Quality: 91 %, Total: 7.01 %, ID: Ethanol, 2-(dimethyamino)-(CAS), N,N- Dimethylethanolamine, Dmae, Deanol, Liparon, Bimanol, Kalpur p, Norcholine, Propamine a, Dimethylethanolamine, (Dimethylethano)ethanol, N,N-Dimethylethanolamine, Dim 56

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

ก-15 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียง ในตัวทำละลายเมทานอล ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 15.021 minute, Quality: 99 %, Total: 6.75 %, ID: Hexadecanoic acid (CAS), Palmitic acid $$ Palmitinic acid, n-Hexadecoic acid, n-Hexadecanoic acid, Pentadecanecarboxylic acid, 1-Pentadecanecarboxylic acid, Coconut oil fatty acids, Cetylic acid, Emersol 140, Emersol 143 57

ก-16 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 17.270 minute, Quality: 99 %, Total : 15.78 %, ID: gamma-Sitosterol…….. 58

ก-17 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 9.484 minute, Quality: 72 %, Total: 13.30 %, ID: Glycerin 58

ก-18 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 20.724 minute, Quality: 60 %, Total: 12.09 %, ID: Nonacosane..... 59

ข-1 ภาพการสกัดสารสำคัญในใบและเปลือกของต้นผักเหมียงโดยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย..... 61

ข-2 ภาพการสกัดสารสำคัญในใบและเปลือกของต้นผักเหมียงโดยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน……..... 61

ข-3 ภาพการสกัดสารสำคัญในใบและเปลือกของต้นผักเหมียงโดยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน……..... 62

ข-4 ภาพการสกัดสาระสำคัญในใบและเปลือกของต้นผักเหมียงโดยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายเมทานอล…….. 62

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การปลูกพืชผักแบบเกษตรอุตสาหกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับผักที่ไม่ใช่ผักพื้นบ้าน มักมีโรคและแมลงรบกวน เกษตรกรจึงแก้ปัญหาโดยการใช้ยาฆ่าแมลงส่งผลให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภคได้ การรณรงค์ให้บริโภคผักพื้นบ้านซึ่งเป็นผักที่มีความแข็งแรงทนทานต่อโรคแมลง ทำให้ไม่มีความจำเป็นในการใช้สารเคมีเพื่อดูแลพืช จึงช่วยให้ผู้บริโภคลดโอกาสที่จะสัมผัสกับสารเคมีลงได้ ผักเหมียงเป็นพืชชนิดหนึ่งที่น่าจะนำมาใช้ในกรณีนี้ได้ ผักเหมียงนับว่าเป็นราชินีผักพื้นบ้านทางภาคใต้ของประเทศไทย ลักษณะเป็นไม้ยืนต้นพุ่มเตี้ย อยู่ในวงศ์ Gnetaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Gnetum gnemon* Linn. (Kubitzki, 1990) ในประเทศไทยพบเฉพาะเขตจังหวัดระนอง พังงา ชุมพร และสุราษฎร์ธานี มีชื่อพื้นเมืองหลายชื่อ เช่น ต้นผักเหลียง (ระนอง) ผักเหมียง (พังงา) เขรียง และกระเหรี่ยง (ชุมพร และสุราษฎร์ธานี) เจริญเติบโตได้ดีในสภาพร่มเงาไม้ใหญ่ ชอบดินร่วนมีความชื้น ระบายน้ำได้ดี มีความสูง 3 เมตร ออกดอกในเดือนมกราคมถึงกุมภาพันธ์ ติดผลในเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนมีนาคม (ศรัณย์ พินิจพลนิกร, 2545; สุธาชีพ ศุภเกษร, 2527) ในปัจจุบันการบริโภคผักเหมียงยังอยู่ในวงแคบ ส่วนมากจะบริโภคกันภายในท้องถิ่นที่มีพืชชนิดนี้ขึ้นอยู่ตามธรรมชาติ สามารถนำมาบริโภคได้ในหลายรูปแบบ ประชาชนส่วนใหญ่นิยมนำส่วนของใบอ่อน ซึ่งมีรสชาติหวานมันมารับประทานเป็นผักจิ้มน้ำพริก และประกอบอาหารได้หลายชนิด เช่น ต้มกะทิ แกงเลียง ห่อหมก ผัด เป็นต้น ของเหลวใส ๆ จากเปลือกเป็นยาสมุนไพรช่วยลอกฝ้า และใบแก้กระหายน้ำได้ (กัญจนา ดีวิเศษ และคณะ, 2542) ใบอ่อนมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงกว่าผักทั่วไปในท้องตลาด (กูล จุลแก้ว, 2539) และนอกจากนี้สามารถปลูกเป็นไม้ดอกไม้ประดับได้ เนื่องจากมีใบเขียวเป็นมัน สวยงาม และไม่ผลัดใบ (ศรัณย์ พินิจพลนิกร, 2545) แต่อย่างไรก็ตามพืชชนิดนี้ในปัจจุบันคนส่วนใหญ่จะไม่ค่อยรู้จัก อีกทั้งรายละเอียดต่าง ๆ เกี่ยวกับพืชชนิดนี้ ยังมีผู้ทำการศึกษาไว้น้อยมาก การวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะทำให้พืชพื้นบ้านชนิดนี้เป็นที่รู้จักอย่างกว้างขวาง ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดหยาบจากใบ และเปลือกของผักเหมียงด้วยตัวทำละลายเฮกเซน (hexane) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) และเมทานอล (methanol) โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี /แมสสเปกโทรเมทรี (GC-MS) และศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรียแกรมลบ *Escherichia coli* ของส่วนสกัดหยาบที่ได้จากใบและเปลือกของต้นผักเหมียง

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดหยาบจากใบ และเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายที่ต่างกันได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทนและเมทานอล โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี

2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรีย แกรมลบ *Escherichia coli* ของส่วนสกัดหยาบจากใบและเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทนและเมทานอล

สมมติฐานของการวิจัย

1. ค้นพบองค์ประกอบหลักทางเคมีที่สำคัญ และเป็นสารเคมีซึ่งมีปริมาณมากอยู่ในใบและเปลือกของต้นผักเหมียง

2. สารสกัดจากใบ และเปลือกของต้นผักเหมียง มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทำให้ทราบองค์ประกอบทางเคมีของใบ และเปลือกของต้นผักเหมียง

2. ทำให้ทราบฤทธิ์ทางชีวภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของใบ และเปลือกของต้นผักเหมียง

3. ส่งเสริมให้พืชพื้นบ้านเป็นที่รู้จัก และมีความสำคัญในทางเศรษฐกิจ

ขอบเขตของการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างของใบและเปลือกของต้นผักเหมียง จากบ้านเลขที่ 406/1 หมู่ 4 ตำบลหงษ์เจริญ อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร

2. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี (GC-MS) ของส่วนสกัดหยาบจากใบและเปลือกของต้นผักเหมียง ในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล

3. ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphyllococcus aureus* และแบคทีเรียแกรมลบ *Escherichia coli* ของส่วนสกัดหยาบจากใบและเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. GC-MS คือ เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี

2. Crude Extract คือ สารสกัดหยาบ ในงานวิจัยนี้ คือสารสกัดหยาบของใบผักเหมียงและเปลือกของต้นผักเหมียงแห้งในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ผักเหมียง

ผักเหมียงมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Gnetum gnemon* Linn. var.tenerum จัดอยู่ในอันดับ (order) Gentales วงศ์ (family) Gentaceae มีชื่อพื้นเมืองหลายชื่อ เช่น เหลียง เขรียง ผักกะเหรี่ยง ผักเมี่ยง (เต็ม สมิตินันท์, 2533)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ผักเหมียงเป็นไม้พุ่ม (shrub) สูงประมาณ 3-4 เมตร เนื้อไม้เหนียว ผิวลำต้นที่ยังอ่อนเรียบเป็นมันสีเขียว ลำต้นที่แก่สีน้ำตาลอ่อน ข้อของลำต้นนูนเห็นเด่นชัด ต้นที่งอกจากเมล็ดมีรากแก้วที่ใหญ่แข็งแรงและหยั่งลึกในดินมาก มีรากแขนงที่สามารถชอนไชไปในดินในระยะไกล ๆ ผักเหมียงจึงเป็นพืชที่ทนแล้งได้ดี นอกจากนี้รากแขนงยังมีตา (bud) ที่เจริญแทงหน่อขึ้นมาเหนือดินเป็นต้นผักเหมียงต้นใหม่ได้ ใบเป็นใบเดี่ยวออกเป็นคู่ตรงข้ามกันที่แต่ละข้อของลำต้น รูปร่างใบคล้ายรูปหอกเชิงขอบขนาน (oblong - lanceolate) ลักษณะคล้ายใบยางพารา ใบกาแฟ ปลายใบแหลม (acuminate) เส้นใบสานกันเป็นร่างแห ใบยาว 10 – 20 เซนติเมตร กว้าง 4 – 10 เซนติเมตร ก้านใบยาว 5 – 15 มิลลิเมตร ใบมีสีเขียวสดเมื่ออยู่ในสภาพร่มเงา แต่อยู่ที่โล่งได้รับแสงจ้า สีของใบจะจางลงหรืออาจขาวหมดทั้งใบ (กูล จุลแก้ว, 2539 ; Jacquat, 1990) โครงสร้างที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธ์มีลักษณะเป็นช่อ เรียกสตรอบิลัส (strobilus) และเป็นแบบเชิงประกอบ (compound strobilus) (จันทนา สุขปรีดี, ม.ม.ป) แบ่งเป็นสตรอบิลัสเพศผู้ (male strobilus) สตรอบิลัสเพศเมีย (female strobilus) ซึ่งจะเกิดอยู่คนละต้น สตรอบิลัสเพศเมียจะมีโครงสร้างที่ต่อไปจะเจริญพัฒนาไปเป็นเมล็ด ต้นผักเหมียงที่สร้างสตรอบิลัสได้จะต้องมีอายุประมาณ 5 – 6 ปี สตรอบิลัสทั้งสองเพศจะออกประมาณเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม เมล็ดมีรูปร่างกลมรี (ellipsoid) ขนาดยาว 1.5 เซนติเมตร กว้าง 1 เซนติเมตร เมล็ดอ่อนเปลือกสีเขียว เมื่อสุกจะเป็นสีเหลืองหรือสีส้มแล้วแต่สายพันธุ์ เมล็ดจะสุกเต็มที่ประมาณเดือนมีนาคม – เมษายน (กูล จุลแก้ว, 2539; Jacquat, 1990)

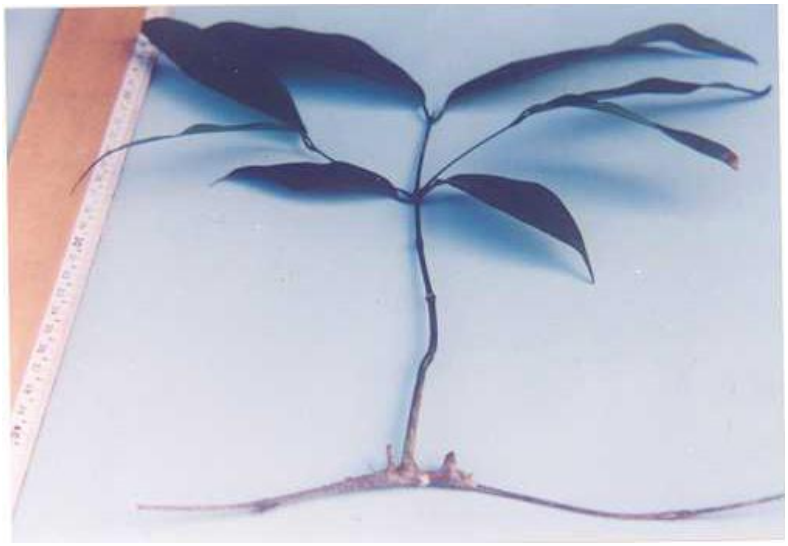
ลักษณะทางสัญฐานวิทยา

อุบลวรรณ อุโพธิ์ (2539) ได้กล่าวถึงลักษณะทางสัญฐานวิทยาของ ผักเหมียง (*Gnetum gnemon* Linn. var.tenerum) พบว่ามีลักษณะต่าง ๆ ดังนี้

ราก เป็นระบบรากแก้ว (ภาพที่ 2-1) ลักษณะคล้ายรากพืชใบเลี้ยงคู่ทั่วไป ผิวนอกมีสีน้ำตาลอ่อนรากแก้วมีลักษณะเหนียว หยั่งลึกลงไปในดินมาก ที่รากแก้วมีรากแขนงแตกออก รากแขนงที่อยู่ใกล้ระดับผิวดินจะมีตาที่เจริญแทงหน่อขึ้นเหนือดิน

ลำต้น เป็นไม้พุ่มที่มีความสูง 3–4 เมตร (ภาพที่ 2-2) แตกกิ่งก้านในระดับใกล้โคนต้น กิ่งก้านมีเนื้อไม้แข็งเกือบตลอดยกเว้นบริเวณยอดอ่อนเพียงเล็กน้อย กิ่งอ่อนเห็นลักษณะเป็นข้อปล้องได้ชัดเจน บริเวณข้อจะโป่งออกและมีใบติดอยู่ 2 ใบ ออกตรงข้ามกัน ผิวลำต้นที่อ่อนเรียบเป็นมันสีเข้ม ส่วนลำต้นแก่ผิวแห้งสีน้ำตาลอ่อนมีรอยแตกขนาดเล็ก

ใบ เป็นใบเดียว (ภาพที่ 2-3 และ 2-4) ออกตรงกันข้ามกันที่แต่ละข้อของลำต้น ก้านใบเป็นแท่งกลมยาวไม่มีร่อง ยาว 1–1.5 เซนติเมตร ใบอ่อนมีสีน้ำตาลแดง แผ่แบนไม่พับหรือม้วน ใบแก่มีสีเข้ม ผิวใบเรียบเป็นมันทั้งสองด้าน เนื้อใบบางแต่เหนียว รูปร่างใบคล้ายรูปหอกเชิงขอบขนาน (oblong - lanceolate) ขนาดยาว 10–20 เซนติเมตร กว้าง 4–10 เซนติเมตร ขอบใบเรียบ ปลายใบเรียวแหลม การจัดระเบียบของเส้นใบเป็นแบบร่างแหขนนก (pinnately netted venation) คล้ายกับใบพืชใบเลี้ยงคู่ส่วนใหญ่



ภาพที่ 2-1 ต้นผักเหมียงที่เจริญมาจากตาที่ราก
(ที่มา อุบลวรรณ อุโพธิ์, 2539)

ภาพที่ 2-2 ต้นผักเหมียงที่ขึ้นในสภาพธรรมชาติ
(ที่มา อุบลวรรณ อุโพธิ์, 2539)

ภาพที่ 2-3 ใบผักเหมียง แสดงด้านหลังใบ (รูปบน) และด้านท้องใบ (รูปล่าง)
(ที่มา อุบลวรรณ อุโพธิ์, 2539)

ภาพที่ 2-4 ใบผักเหมียงที่ติดอยู่กับลำต้น
(ที่มา อุบลวรรณ อุโพธิ์, 2539)

สตรอบิลัส หรืออาจเรียกว่า โคน (cone) คือ ส่วนที่มองดูคล้ายดอกสำหรับทำหน้าที่คล้ายดอกเนื่องจากผักเหมียงเป็นพืชไร้ดอก ซึ่งหมายถึงอวัยวะสร้างสปอร์ (spore) ของพืชที่เมล็ดไม่มีเครื่องห่อหุ้ม (naked seed) สตรอบิลัสของผักเหมียงแบ่งออกเป็น 2 แบบ ได้แก่ สตรอบิลัสเพศผู้ (ภาพที่ 2-5) และสตรอบิลัสเพศเมีย (ภาพที่ 2-6)

ภาพที่ 2-5 สตรอบิลัสเพศผู้
(ที่มา อุบลวรรณ อุโพธิ์, 2539)

ภาพที่ 2-6 สตรอบิลัสเพศเมีย
(ที่มา อุบลวรรณ อุโพธิ์, 2539)

เมล็ด ของผักเหมียงมีรูปร่างกลมรี ปลายด้านหนึ่งแหลม ขณะยังอ่อนมีสีเขียว เมื่อสุกสีเหลือง ผิวเรียบเป็นมัน (ภาพที่ 2-7 และ 2-8) ขนาดยาว 1.5 – 1.8 เซนติเมตร กว้าง 1.2 เซนติเมตร ลักษณะภายในของเมล็ดตัดตามยาว (ภาพที่ 2 - 9) พบว่ามีเยื่อหุ้ม 3 ชั้น ชั้นนอกสุดเมื่อเมล็ดยังอ่อนเป็นเนื้อหนา อวบน้ำ และมีสีเขียว เมื่อเมล็ดสุกจะเป็นเนื้อนิ่มสีเหลืองและลอกออกได้ง่าย เยื่อชั้นที่สองเป็นเยื่อสีขาวค่อนข้างแข็ง ส่วนเยื่อชั้นที่สามเป็นเยื่อบางสีขาว แต่เมื่อสุกจะเป็นเยื่อบาง แห้ง สีน้ำตาล และลอกออกได้ง่าย

ภาพที่ 2-7 เมล็ดผักเหมียงที่ยังไม่สุก
(ที่มา อุบลวรรณ อุโพธิ์, 2539)

ภาพที่ 2-8 เมล็ดผักเหมียงที่สุก
(ที่มา อุบลวรรณ อุโพธิ์, 2539)

ภาพที่ 2-9 เมล็ดผักเหมียงที่สุก ผ่าตามยาวแสดงชั้นของเปลือกหุ้มเมล็ด
(ที่มา อุบลวรรณ อุโพธิ์, 2539)

การใช้ประโยชน์

ผักเหมียงเป็นพืชที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายกรณี ได้แก่

1. ใช้เป็นอาหาร โดยผลผลิตหลักของผักเหมียงได้แก่ ใบอ่อน ซึ่งนำมาใช้เป็นอาหารได้อย่างดี มีคุณค่าทางโภชนาการสูง จากผลการวิเคราะห์ของภาควิชาอุตสาหกรรมอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พบว่าใบของผักเหมียงมีสารอาหารต่าง ๆ ได้แก่โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน แร่ธาตุต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย รวมทั้งวิตามินที่สำคัญ (ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2-1, 2-2 และ 2-3) การนำใบผักเหมียงมาเป็นอาหารนั้น อาจจะใช้รับประทานเป็นผักสดหรือลวกจิ้มน้ำพริก ใช้ประกอบอาหารชนิดต่าง ๆ เช่น แกงเลียง แกงส้ม ห่อหมก แกงจืด ผัดน้ำมัน เป็นต้น นอกจากนี้สตรอบิลัสที่อ่อน เมล็ดอ่อน ก็ใช้ประกอบอาหารได้เช่นเดียวกับใบอ่อน เมล็ดแก่นำไปคั่วหรือต้มสุก รับประทานเหมือนถั่ว

ตารางที่ 2-1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารของต้นผักเหมียง วิเคราะห์โดยภาควิชาอุตสาหกรรมอาหาร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (กูล จุลแก้ว, 2536)

ธาตุอาหาร	ปริมาณธาตุอาหารของต้นผักเหมียง (%)	
	เมล็ด*	ยอดใบอ่อน (ส่วนกินได้)
น้ำ (water)	38.48	76.41
โปรตีน (protine)	3.25	5.27
ไขมัน (fat)	2.41	1.49
คาร์โบไฮเดรต (carbohydrates)	54.94	14.91
สารเยื่อใย (fiber)	11.10	5.40
เถ้า (ash)	1.18	1.92
พลังงาน**	252.08	91.14

<u>หมายเหตุ</u>

* ส่วนของเมล็ดที่นำมาวิเคราะห์บดทั้งเปลือก

** หน่วยเป็น calories / 100 gm.

ตารางที่ 2-2 ผลการเปรียบเทียบคุณค่าทางอาหารของใบยอดอ่อนผ้นผักเหมียงกับผักทั่วไปในท้องตลาด โดย ทวนทวี และคณะ (กูล จุลแก้ว, 2536)

ชื่อผัก	เหล็ก (มก.)	ฟอสฟอรัส (มก.)	วิตามินเอ (หน่วยสากล)	ไธอะมีน (มก.)	ไรโบฟลาวิน (มก.)	ไนอะซีน (มก.)
ผักเหมียง*	2.15	224.37	10,889	0.18	1.25	1.73
คะน้า	2.70	92.00	10,000	0.16	0.2	2.10
กะหล่ำปลี	0.40	29.00	130	0.05	0.05	0.03
บร็อคโคลี่	1.10	78.00	2,500	0.10	0.23	0.90
ผักกาดขาว	0.60	40.00	150	0.05	0.08	0.04
ผักกาดหอม (ใบ)	1.40	25.00	1,900	0.05	0.08	0.40
ฟักทอง	0.80	44.00	1,600	0.05	0.11	0.60
มะเขือ	0.70	26.00	10	0.05	0.05	0.60
มะเขือเทศ(เขียว)	0.50	27.00	270	0.06	0.04	0.50
มะเขือเทศ(สุก)	0.50	27.00	900	0.06	0.04	0.70

<u>หมายเหตุ</u>

* ใช้ผลการวิเคราะห์ของภาควิชาอุตสาหกรรมอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จากตารางที่ 2-1 มาเปรียบเทียบ

ตารางที่ 2-3 ผลการเปรียบเทียบคุณค่าทางอาหารของใบอ่อนต้นผักเหมียงกับผักทั่วไปในท้องตลาด

ชื่อผัก	น้ำ	พลังงาน (แคลอรี่)	โปรตีน (กรัม)	ไขมัน (กรัม)	คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	แคลเซียม (มก.)
ผักเหมียง*	75.13	91.40	6.56	1.17	14.91	150.56
คะน้า	83.00	53.00	6.00	0.80	9.00	249.00
กะหล่ำปลี	96.00	64.00	1.30	0.60	5.40	49.00
บร็อคโคลี่	89.00	36.00	3.60	0.30	5.90	103.00
ผักกาดขาว	95.00	14.00	1.60	0.10	3.00	43.00
ผักกาดหอม(ใบ)	94.00	18.00	1.30	0.30	3.50	68.00
ฟักทอง	92.00	66.00	1.00	0.10	6.50	21.00
มะเขือ	92.00	65.00	1.60	0.60	5.60	12.00
มะเขือเทศ(เขียว)	93.00	64.00	1.60	0.60	5.10	13.00
มะเขือเทศ(สุก	94.00	66.00	1.10	0.6	4.70	13.00

<u>หมายเหตุ</u>

* ใช้ผลการวิเคราะห์ของภาควิชาอุตสาหกรรมอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จากตารางที่ 2-1 มาเปรียบเทียบ

2. ใช้เป็นยาสมุนไพร ของเหลวใส ๆ จากเปลือกต้นผักเหมียงนำมาผสมกับน้ำ ทำเป็นยาสมุนไพรใช้ทาหน้า ช่วยลอกฝ้าทำให้หน้าขาว

3. ใช้เป็นไม้ประดับ เนื่องจากผักเหมียงเป็นไม้พุ่ม มีการเจริญทางใบมากกว่าลำต้น ไม่มีการสลัดกิ่ง หรือผลัดใบ สามารถนำมาตกแต่งทรงพุ่มใช้ประดับอาคารบ้านเรือนได้

4. ช่วยอนุรักษ์ธรรมชาติ เนื่องจากผักเหมียงเป็นพืชที่มีใบหนาแน่น การปลูกแซมในสวนยางพารา ในสวนผลไม้ จะช่วยคลุมหน้าดินไว้ช่วยรักษาความชุ่มชื้นของหน้าดิน นอกจากนี้รากของผักเหมียงที่หยั่งลึกและแผ่กระจายในดินจะช่วยยึดดินมิให้พังทลายในช่วงหน้าฝน ทำให้ดินร่วนซุยและดูดซับน้ำได้ดีเป็นการบรรเทาภัยจากน้ำไหลหลากในช่วงหน้าฝน (กูล จุลแก้ว, 2539)

5. เส้นใย (fiber) จากเปลือกลำต้นนำมาใช้ทำเชือก ด้าย และกระดาษ เป็นต้น (Jacquat, 1990; Tem et al., 1975)

การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม

ในการสกัดสารสำคัญจากพืชนั้น จะต้องเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสมกับสารที่ต้องการจะแยก ซึ่งมีหลักที่ควรพิจารณาในการเลือกตัวทำละลาย ดังต่อไปนี้

1. คุณสมบัติของสารที่ต้องการสกัด เช่น ความมีขั้วของสาร ความคงตัวของสารในตัวทำละลายนั้นในอุณหภูมิสูง
2. มีความสามารถในการละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี
3. ไม่ละลายปนเป็นเนื้อเดียวกันกับสารละลายของสารผสมที่ถูกสกัดนั้น
4. ไม่ควรละลายสิ่งเจือปนหรือสารที่ไม่ต้องการ
5. สามารถแยกออกจากตัวถูกละลายได้ง่ายภายหลังที่สกัดแล้ว
6. ไม่ควรทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด
7. ตัวทำละลายควรมีราคาไม่แพงมาก

ความมีขั้วของตัวทำละลายต่าง ๆ ที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญจากพืช แสดงดังตารางที่ 2-4

ตารางที่ 2-4 แสดงความมีขั้วของตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ความมีขั้ว	ตัวทำละลาย
ไม่มีขั้ว	ปิโตรเลียมอีเทอร์
	เฮกเซน
	คาร์บอนเตตระคลอไรด์
	เบนซีน
	ไดคลอโรมีเทน
	คลอโรฟอร์ม
	ไดเอทิลอีเทอร์
	เอทิลแอซิเตต
	อะซิโตน
	1-โพรพานอล
	เอทานอล
มีขั้ว	เมทานอล
	น้ำ

แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี

หลักการแก๊สโครมาโทกราฟี

แก๊สโครมาโทกราฟี เป็นเทคนิคที่ใช้แก๊สเฉื่อยทำหน้าที่เป็นแก๊สพา เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่เหมาะที่จะนำมาประยุกต์ใช้แยกสารที่ระเหยง่าย และมีความเสถียรภาพทางความร้อน ในเทคนิคนี้ตัวอย่างจะถูกนำเข้าสู่ระบบและเกิดการระเหยเป็นไอที่จุดฉีดสาร โดยใช้คอมพิวเตอร์ควบคุมและสื่อสารกับส่วนประกอบต่าง ๆ รับสัญญาณข้อมูลจากดีเทคเตอร์ตลอดจนใช้ประมวลผล และการออกรายงานผลไปที่เครื่องพิมพ์

หลักการแมสสเปกโทรเมตรี

แมสสเปกโทรเมตรี เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารประกอบที่ไม่ทราบชนิด และใช้ในการศึกษาโครงสร้างของโมเลกุลได้เป็นอย่างดี โดยอาศัยหลักการเคลื่อนที่ของมวลที่มีประจุ ซึ่งหมายถึงไอออนในสนามไฟฟ้าหรือสนามแม่เหล็ก พฤติกรรมการเคลื่อนที่ดังกล่าวขึ้นอยู่กับค่ามวลต่อประจุของไอออน นอกจากนี้การทราบประจุของไอออนจะทำให้สามารถทราบค่ามวลของไอออนนั้น ๆ ได้

ภาพที่ 2-10 แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี
(ที่มี แม้น อมรสิทธิ์, 2555)

หลักการแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี

เป็นเทคนิคในการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสาร เป็นเทคนิคร่วมที่ได้รวมข้อดี 2 ประการไว้ด้วยกัน คือ ประการแรก มีความสามารถในการแยกสารผสมซึ่งกลายเป็นไอได้ง่ายให้ออกเป็นองค์ประกอบเดี่ยว ๆ ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี ซึ่งมีความสามารถในการแยกสูง และอีกประการหนึ่ง คือ องค์ประกอบของสารแต่ละชนิดที่ผ่านการแยกแล้วจะถูกตรวจวัดด้วยวิธีแมสสเปกโทรเมตรี ที่มีความจำเพาะต่อการตรวจวัด มีสภาพไวในการตรวจวัดสูง และให้ข้อมูลแมสสเปกตรัมของสารที่สามารถใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์สารได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เป็นการเชื่อมต่อของสองเทคนิค คือ แก๊สโครมาโทกราฟี ซึ่งเป็นเทคนิคการแยกสารกับแมสสเปกโทรเมตรี ซึ่งเป็นเทคนิคตรวจวัดที่ใช้ในการพิสูจน์หาเอกลักษณ์และหาปริมาณสาร การรวมกันของสองเทคนิคดังกล่าวนี้ ก่อให้เกิดผลดีหลายประการ ดังนี้

1. ทำให้สามารถแยกองค์ประกอบของสารผสมที่ซับซ้อน
2. ได้แมสสเปกตรัมของแต่ละองค์ประกอบเพื่อประโยชน์ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร
3. สามารถให้ข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์หาปริมาณสารแต่ละชนิดที่ผสมกันอยู่
4. มีสภาพไวในการตรวจวัดสารสูง สามารถให้ข้อมูลแมสสเปกตรัมที่สมบูรณ์ถึงแม้ว่าสารมีปริมาณเล็กน้อยเพียง 1 พิโกโมล
5. สามารถให้หลักฐานด้านมวลโมเลกุลของสาร ตลอดจนให้ข้อมูลด้านรูปแบบการแตกของโครงสร้างเป็นส่วนย่อย ๆ ซึ่งเป็นเอกลักษณ์เฉพาะของสารเปรียบเสมือนลายพิมพ์นิ้วมือที่สามารถใช้เป็นพื้นฐานในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารได้ (แม้น อมรสิทธิ์ และคณะ, 2555)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งต่อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพร

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งต่อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพร ได้ดัดแปลงวิธีการมาจากการทดสอบความไวของเชื้อจุลินทรีย์ต่อสารต้านจุลินทรีย์หรือยาปฏิชีวนะ (Koneman et al., 1994) ซึ่งสามารถแบ่งการทดสอบออกเป็น 2 วิธี คือ Dilution Method และ Diffusion Method มีรายละเอียด ดังนี้

Dilution Method

Dilution Method เป็นวิธีหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยจะเรียกความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลินทรีย์ที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์นี้ว่า Minimal Inhibition Concentration หรือ MIC ซึ่งการวิเคราะห์หา MIC สามารถทำได้โดยการเจือจางสารต้านจุลินทรีย์ ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งสามารถ

แบ่งออกเป็น 2 วิธี (Ingraham, Ingraham, & Harriett, 1995) คือ การเจือจางสารต้านจุลินทรีย์ในของเหลว (Broth Dilution Method) และการเจือจางสารต้านจุลินทรีย์ในอาหารแข็ง (Agar Dilution Method) ซึ่ง Dilution Method จะให้ผลที่ละเอียดกว่า Diffusion Method แต่ขณะเดียวกันก็ต้องใช้เวลา เครื่องมือ และแรงงานในการทำการทดลองมากกว่า

Diffusion Method

Diffusion Method เป็นวิธีการทดสอบความไวของสารต้านจุลินทรีย์ ในการยับยั้งต่อเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งอาศัยหลักการที่ว่าสารจะซึมจากที่มีความเข้มข้นสูงไปยังที่มีความเข้มข้นต่ำ ดังนั้นจึงนำสารต้านจุลินทรีย์ซึ่งอยู่ในรูปแผ่นยาที่เป็นกระดาษกรองหรือเม็ดยาวางบนอาหารเลี้ยงเพื่อซึมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์อยู่ ซึ่งที่นิยมมากที่สุดก็คือ วิธีที่ใช้แผ่นกระดาษกรอง (Disc Diffusion Method หรือ Filler Paper Disc) และการยับยั้งจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นสามารถสังเกตได้จากการที่จุลินทรีย์จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในบริเวณโดยรอบที่มีสารต้านจุลินทรีย์อยู่ (Tortora, Berdell & Christine, 1995) Diffustion Method เป็นที่นิยมกันมาก เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวกประหยัดค่าใช้จ่าย และใช้เวลาทดลองน้อย แต่วิธีนี้ไม่สามารถอ่านผลได้โดยตรงเป็นค่าความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

จากที่กล่าวมาแล้วนั้น จะเห็นได้ว่าการที่จะเลือกการทดสอบวิธีใดนั้น จะต้องพิจารณาจากความละเอียดที่ผู้ทดลองต้องการจำนวนสารสกัดที่จะทดสอบ ปริมาณของสารสกัดที่มีอยู่ ตลอดจนแรงงานงบประมาณในการทดลอง โดยการศึกษาครั้งนี้ได้เลือกวิธีที่เหมาะสมกับการทดลองคือ Diffusion Method

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งต่อจุลินทรีย์โดย Diffusion Method

Diffusion Method เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากเป็นวิธีซึ่งสามารถปฏิบัติได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว รวมทั้งสามารถให้ผลที่แน่นอนและถูกต้อง การทดสอบนี้ใช้หลักการแพร่โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เติมลงบนกระดาษกรอง (filter paper disc) ซึ่งวางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ใช้ในการตรวจสอบไว้ จะแพร่จากจุดเริ่มต้นไปในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นเมื่อระยะทางที่สารแพร่ออกไปเพิ่มขึ้น ความเข้มข้นของสารนั้นจะลดลงทำให้เกิดความแตกต่างของความเข้มข้นของสาร ณ จุดต่าง ๆ กันรอบแผ่นกระดาษกรอง ในขณะเดียวกันจุลินทรีย์บนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ถูกยับยั้งโดยสารออกฤทธิ์ ณ ความเข้มข้นของสารที่จุดใด ๆ (ไกลกระดาษกรอง) ก็จะเจริญและเพิ่มจำนวนขึ้นจนเห็นได้ชัด แต่บริเวณใกล้กระดาษกรองซึ่งมีความเข้มข้นของสารมากพอที่จะยับยั้งเชื้อได้ จะไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อให้เห็นจึงเกิดเป็นโซนใส (inhibition zone) ขึ้น อัตราการแพร่ของสารออกฤทธิ์ผ่านไปในอาหาร

เลี้ยงเชื้อมีอิทธิพลต่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใส ซึ่งบอกถึงความสามารถของสารที่นำมาทดสอบว่าสามารถยับยั้งเชื้อได้มากหรือน้อยเพียงใด ผลการยับยั้ง จุลินทรีย์ วัดได้จากขนาดของโซนใสโดยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใสจะแปรผกผันกับค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration หรือ MIC) โดยทั่วไปมักทำการทดสอบกับสารต้านจุลินทรีย์เพียงความเข้มข้นเดียวเท่านั้น โดยอาศัยหลักการที่ว่า เมื่อใส่สารต้านจุลินทรีย์ปริมาณหนึ่งไว้ในภาชนะบรรจุ (Reservoir) ซึ่งอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Agar Medium) ที่เพาะเชื้อจุลินทรีย์ไว้ ภายหลังจากการบ่มเพาะเชื้อให้สังเกตดูรอบบริเวณภาชนะ ที่ตัวสารต้านจุลินทรีย์ซึมไปนั้นจะมีบริเวณใส (Clear Zone) ที่ไม่มีเชื้อเจริญเติบโต โดยบริเวณใสนี้เรียกว่า Inhibition Zone แล้ววัดขนาดบริเวณใสที่เกิดขึ้น เพราะขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสที่เกิดขึ้นจะมีขนาดแคบกว้างแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสที่เกิดขึ้นนั้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบอีกด้วย (Mckane, Larry, & Kandel, 1996)

ในอดีตนั้น Diffusion Method เริ่มต้นด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยจุลินทรีย์ชนิดเดียวกัน แล้วใช้แท่งแก้วหรือแท่งเหล็กเจาะบนผิววุ้นให้มีช่องเกิดขึ้น จากนั้นเติมสารละลายของสารต้านจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ ใส่ลงไปในช่องวุ้นเหล่านั้นสารต้านจุลินทรีย์จะแพร่กระจายไปในเนื้อวุ้น โดยสารต้านจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการยับยั้งต่อจุลินทรีย์ชนิดนั้น จุลินทรีย์จะไม่เจริญบริเวณรอบ ๆ บริเวณที่มีสารต้านจุลินทรีย์ดังกล่าวอยู่ ซึ่งหากมีบริเวณที่ถูกยับยั้งมากนั้น หมายถึงสารต้านจุลินทรีย์หรือยาชนิดนั้นมีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดนั้นมาก ต่อมาในปี ค.ศ. 1960 ได้มีการพัฒนาวิธีการใหม่ โดย Alcamo (1997) โดยใช้แผ่นกระดาษกรองหรือกระดาษกรองวงกลม (Filter Paper Disc) ซึ่งปัจจุบันนิยมใช้กันมาก บางครั้งอาจเรียกวิธีการทดสอบที่ใช้แผ่นกระดาษดังกล่าวนี้ว่า Kirby-Bauer Test หรือ Disc Sensitivity Test

ดังจะเห็นได้ว่า Diffusion Method เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากในการทดสอบความไวต่อจุลินทรีย์ของสารต้านจุลินทรีย์ เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวก ใช้ค่าใช้จ่าย แรงงานและเวลาในการทำการทดลองน้อย แต่วิธีนี้ยังมีข้อจำกัดหลายประการด้วยกัน อาทิเช่น วิธีนี้ไม่สามารถใช้ในการทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งมีอัตราเร็วในการเจริญเติบโตต่ำ หรือเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโต และเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตได้เฉพาะแต่ในอาหารเลี้ยงเชื้อบางชนิดเป็นต้น นอกจากนี้วิธีการทดสอบนี้ยังไม่สามารถอ่านผลเป็นค่าความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ที่ผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้โดยตรง

ปัจจัยที่มีผลต่อการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งต่อจุลินทรีย์โดย Diffusion Method

ปัจจัยหลายชนิดที่มีผลต่อขนาดบริเวณใสที่เกิดจากสารต้านจุลินทรีย์นั้น โดยบางปัจจัยจะรบกวนการออกฤทธิ์หรือการดูดซึมของสารต้านจุลินทรีย์ หรือบางปัจจัยที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์มากก็จะทำให้ขนาดบริเวณใสลดลงได้ ส่วนบางปัจจัยที่ส่งเสริมการออกฤทธิ์หรือการดูดซึมสารต้านจุลินทรีย์ หรือพวกที่รบกวนการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก็จะทำให้บริเวณใสนี้เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงควรตระหนักถึงปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ ซึ่งปัจจัยที่สำคัญ มีดังนี้

อาหารเลี้ยงเชื้อ

สารต้านจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ นั้น จะถูกกระทบจากส่วนประกอบต่าง ๆ ที่มีในอาหารเลี้ยงเชื้อแตกต่างกัน โดยมีตัวอย่างดังนี้

1. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์ส่วนมากจะเจริญเติบโตได้ดีที่ pH 6.8-7.2 แต่ถ้า pH ต่ำหรือสูงกว่าระดับนี้ จะมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (Pelezar, 1958)

2. บัฟเฟอร์ (Buffer) ในอาหารเลี้ยงเชื้อบางชนิดนั้น อาจมีผลกระทบต่อการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์บางชนิดได้ เช่น การทดสอบ Gentamicin ในอาหารซึ่งมีความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ต่างกันก็จะทำให้ได้ผลการตรวจสอบความไวที่แตกต่างกัน นอกจากนี้จุลินทรีย์บางชนิดก็สามารถอยู่ได้ในที่ที่มี pH ในช่วงแคบ ๆ ถ้า pH สูงหรือต่ำกว่านี้ก็จะทำให้ตายได้ เช่น *Legionella pneumophia* สามารถอยู่ได้ที่ pH 6.85-7.00 ดังนั้นจึงต้องใช้บัฟเฟอร์ช่วยเพื่อไม่ให้ค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น ๆ เปลี่ยนแปลงไปมากนัก (Nester, Evans, & Martha, 1995)

3. ปริมาณอิออนที่ปรากฏในอาหารเลี้ยงเชื้อ มีผลกระทบต่อความไวของเชื้อและการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์ต่อเชื้อจุลินทรีย์ได้ เช่น ผลของ Aminoglycoside ที่ทำให้บริเวณใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ลดลง นอกจากนี้สำหรับยา Tetracyclines ฤทธิ์ของยาจะลดลงเมื่อปริมาณของ Divalent Cation เช่น Ca^{2+} และ Mg^{2+} เพิ่มขึ้น (Koneman et al., 1994)

4. วุ้น (Agar) วุ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นสารประกอบของ Polysaccharides ซึ่งสารต้านจุลินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลเป็น Cationic จะสามารถจับกับหมู่ Acidic Sulfate ของ Polysaccharides ในวุ้นได้ จึงมีผลทำให้การออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์นั้นลดลงได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับยาในกลุ่ม Polymyxins (Brown & Gilbert, 1995)

5. ความหนาของอาหารเลี้ยงเชื้อ (Agar Medium) โดยทั่วไปจะกำหนดให้มีความหนาประมาณ 4 มิลลิเมตร ซึ่งไม่ทำให้กระทบต่อขนาดบริเวณใสที่เกิดขึ้นมากนัก โดยการเทอาหาร

เลี้ยงเชื้อ ขนาด 25 และ 60 มิลลิลิตร ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Plate) ที่เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 9 และ 15 เซนติเมตร ตามลำดับ จะทำให้ได้ความหนาดังกล่าว ส่วน Plate ที่เท Agar ไว้แล้ว ถ้าต้องการเก็บไว้ใช้เกิน 5 วัน ควรใส่ถุงพลาสติกแล้วไว้ในที่มีอุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียส แต่ไม่ควรเก็บเกิน 2 สัปดาห์ และก่อนใช้ควรให้พื้นผิว Agar แห้งเสียก่อน (Collins, Lyne, & Grange, 1989)

6. ความชื้นหรือน้ำของอาหารเลี้ยงเชื้อ มีบทบาทโดยตรงต่อจุลินทรีย์เกี่ยวกับแรงดันออสโมซิสของเซลล์ เพราะผลของแรงดันออสโมซิสที่มีต่อจุลินทรีย์นั้นจะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายและชนิดของจุลินทรีย์นั้น ๆ เช่น เซลล์ของ *Escherichia coli* น้ำจะแพร่ออกนอกเซลล์ (Plasmolysis) เมื่อเจริญในสารละลายซูโครสเข้มข้น 12 % เป็นเวลานาน 5-20 นาที ส่วนเซลล์ของแบคทีเรียพวก *Bacillus* มีความสามารถทนต่อสารละลายของเกลือเข้มข้น 10-15 % หรือสารละลายน้ำตาลเข้มข้น 30-60 % ได้ดี (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2536)

ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ

ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบนั้น มีผลต่อการทดสอบเป็นอย่างมาก เช่น การใช้เชื้อจุลินทรีย์มากเกินไปจะทำให้บริเวณใสมีขนาดเล็กเกินไปได้ ดังนั้น การทดสอบทุกครั้งจึงต้องมีการปรับปริมาณของเชื้อทดสอบให้อยู่ในปริมาณที่แน่นอน และเป็นมาตรฐาน เช่น การปรับปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบให้ความเข้มข้นประมาณ 1.5×10^9 เซลล์/มิลลิลิตร โดยเทียบกับ 0.5 McFarland Standard (Koneman et al., 1994)

ความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ใน Disc ที่ใช้ทดสอบ

ในกรณีที่ใช้แผ่นกระดาษกรอง (Disc) ที่มีสารต้านจุลินทรีย์ที่เตรียมขึ้นเอง โดยการชุบ Disc ลงในสารต้านจุลินทรีย์ อาจจะมีผลทำให้ปริมาณความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ใน Disc แต่ละอันแตกต่างกัน และจะส่งผลต่อขนาดของบริเวณใสที่เกิดจากสารต้านจุลินทรีย์ได้โดยตรง

อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเชื้อ

อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเชื้อมีผลกระทบอย่างมากต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งโดยปกติจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่กว้าง ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียที่เจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส (Psychrophilic Bacteria) และแบคทีเรียที่เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูงกว่า 75 องศาเซลเซียส (Thermophilic Bacteria) และแบคทีเรียที่เจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิประมาณ 20-45 องศาเซลเซียส (Mesophilic Bacteria) ซึ่งได้แก่ แบคทีเรียที่สามารถก่อให้เกิดโรคต่อมนุษย์ เช่น *Salmonella typhi* และ *Staphylococcus aureus* เป็นต้น (Pelezar, 1958) ดังนั้นแล้วอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเชื้อ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แต่ละชนิด จึงควรปรับอุณหภูมิให้เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แต่ละชนิด โดยใน

กรณีที่ทดสอบความไวของจุลินทรีย์ที่สามารถทำให้เกิดโรคในมนุษย์ จะใช้อุณหภูมิในการบ่มเชื้อประมาณ 35-37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิเฉลี่ยของสัตว์เลือดอุ่น (Kleyn & Bicknell, 1999)

เวลาที่ใช้ในการบ่มเชื้อ

เวลาที่ใช้ในการบ่มเชื้อมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และการซึมของสารต้านจุลินทรีย์ใน Agar Medium ได้ ดังนั้นภายหลังวาง Disc แล้วควรนำ Plate ที่ได้เข้าตู้บ่มเชื้อทันที แล้วบ่มเชื้อเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง (Collins, Lyne and Grange, 1989)

บรรยากาศขณะบ่มเชื้อ

บรรยากาศขณะบ่มเชื้อมีผลต่อการทดสอบเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะเมื่อบ่มเชื้อที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ จะทำให้เกิด Carbonic Acid บนพื้นผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ (Agar) ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเกิดสภาวะกรดขึ้น ซึ่งจะมีผลต่อจุลินทรีย์ และการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์บางชนิด (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2536)

การวัดขนาดบริเวณใสที่เกิดขึ้น

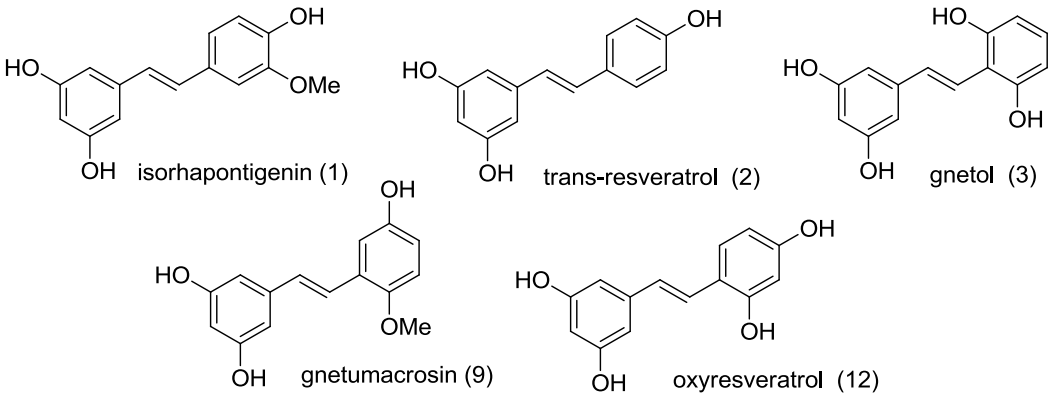
การวัดขนาดบริเวณใสที่เกิดขึ้น มีความสำคัญอย่างมากที่จะทำให้ผลที่แปรออกมาผิดหรือถูกได้เช่นกัน โดยทั่วไปการวัดขนาดบริเวณใสต้องการความละเอียดเป็นค่ามิลลิเมตร ซึ่งจะวัดได้โดยใช้ไม้บรรทัดคาลิปเปอร์ หรือเครื่องมือไฟฟ้า นอกจากนี้การที่ขอบบริเวณส่วนใสไม่ชัดเจน คือ ขอบริม ๆ ที่ยังมีเชื้อจุลินทรีย์ยังเจริญประปรายหรือเชื้อจุลินทรีย์ถูกยับยั้งไม่หมด การวัดขนาดบริเวณใสในลักษณะนี้จะต้องวัดเฉพาะขอบนอกที่ใสสม่ำเสมอ (Ingraham & Ingraham, 1995)

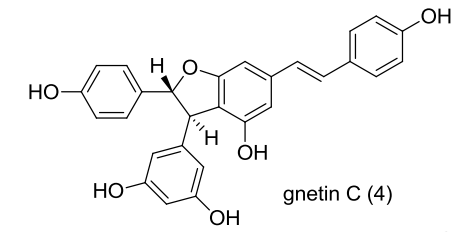
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

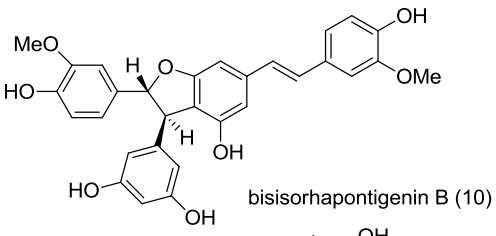
บังอร วงศ์รักษ์ (2549, บทคัดย่อ) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้านจำนวน 6 ชนิดได้แก่ ผักกูด ผักติ้ว ผักปลังขาว ย่านาง ผักเหมียง และผักหวานบ้าน สกัดสารสำคัญจากผักแต่ละชนิดโดยการหมักด้วย methanol นาน 3 วัน แล้วนำไประเหยแห้งด้วยความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส นำสารสกัดที่ได้มาแยกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ละลายในน้ำ และส่วนที่ไม่ละลายในน้ำซึ่งนำมาละลายกลับด้วย methanol ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักทั้ง 6 ชนิด ด้วยวิธี DPPH assay โดยผสมตัวอย่างที่ทดสอบกับสารละลาย 2,2–diphenyl–1–picryl-hydrazyl (DPPH) แล้ววัดการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm เปรียบเทียบกับ control วิตามินซี และวิตามินอี (Trolox) ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากผักติ้วแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด โดยสารสกัดส่วนที่ละลายในน้ำและส่วนที่ไม่ละลายในน้ำให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 205.96 µg/ml และ 101.79 µg/ml ตามลำดับ รองลงมาคือ สารสกัดจากย่านางให้ค่า IC_{50} 499.24 µg/ml (ส่วนที่ละลายในน้ำ) และ 772.63 µg/ml (ส่วนที่ไม่ละลายในน้ำ) สำหรับ

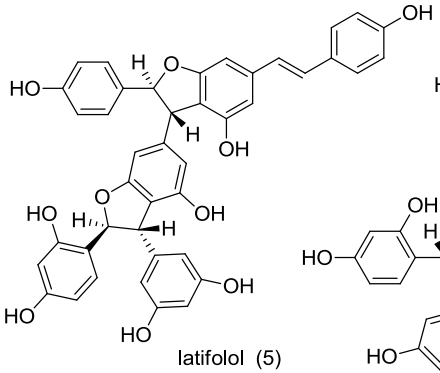
วิตามินซี และวิตามินอี ให้ค่า IC_{50} 9.34 µg/ml และ 15.91 µg/ml ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากผักอีก 4 ชนิดมีค่า IC_{50} มากกว่า 1,000 µg/ml การตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้นพบว่าสารสกัดผักติ้วมี hydrolysable tannin ส่วนสารสกัดย่านางมี phenolic compounds

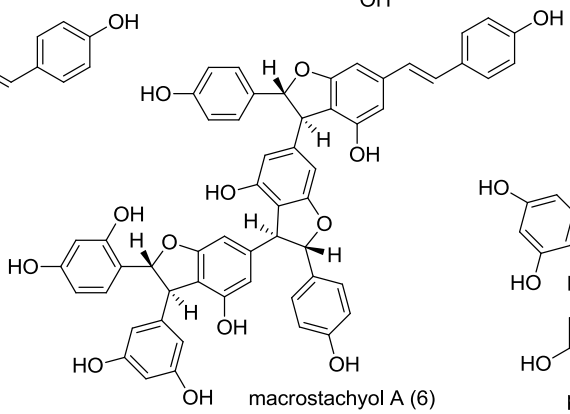
ปิยวิทย์ ศรีอินทร์ (2550, บทคัดย่อ) ได้ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชสมุนไพรไทยในวงศ์ Gentaceae โดยใช้ส่วนที่สกัดในตัวทำละลายอะซิโตนจากรากเมื่อยดูก (*Gnetum macrostachyum*) มาทำให้บริสุทธิ์ และหาสูตรโครงสร้างจากการแยกสารจากสิ่งที่สกัดได้ในตัวทำละลายอะซิโตนนี้ โดยวิธีทางโครมาโทกราฟี ได้สารสติลบินอยด์ชนิดใหม่ 5 ชนิด คือ macrostachyol A (6), B (7), C (11), D (13) และ gnetumacrosin (9) พร้อมกับสติบินอยด์ที่มีรายงานมาแล้ว 8 ชนิดคือ isorhapontigenin (1), *trans-resveratrol* (2), gnetol (3), gnetin C (4), latifolol (5), parvifolol A (8), bisisorhapontigenin B (10), และ oxyresveratrol (12), พิสูจน์โครงสร้างของสารทั้งหมดที่แยกได้ โดยวิธีทางสเปกโทรสโกปี และเปรียบเทียบกับข้อมูลที่มีการรายงานแล้ว นำสารที่แยกได้ไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน) ฤทธิ์ยับยั้งการรวมตัวของเกล็ดเลือด และความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งชนิด HeLa และ KB พบว่า สาร 1, 3, 4, 5 และ 6 แสดงฤทธิ์ที่ดีในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ด้วยค่า IC_{50} = 0.28, 0.21, 0.24, 0.32 และ 0.33 mM ตามลำดับ สาร 5 และสาร 6 (IC_{50} = 0.02 mM) มีฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมันมากที่สุด สำหรับฤทธิ์ยับยั้งการรวมตัวของเกล็ดเลือดพบว่าสาร 1 – 8 (IC_{50} = 0.18 – 1.26 mM) มีฤทธิ์ที่สูงกว่า ibuprofen (IC_{50} = 1.12 mM) ซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐาน นอกจากนั้นพบว่าสาร 1, 2, 9 และ10 แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งชนิด KB ที่ IC_{50} = 6.90, 8.00, 8.50 และ 12.50 และ HeLa ที่ IC_{50} = 15.00, 15.50, 11.00 และ 14.00 µg/mL ตามลำดับ

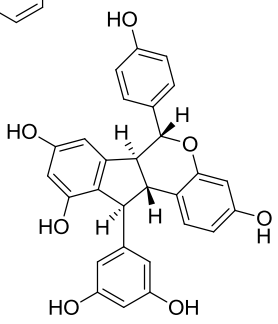


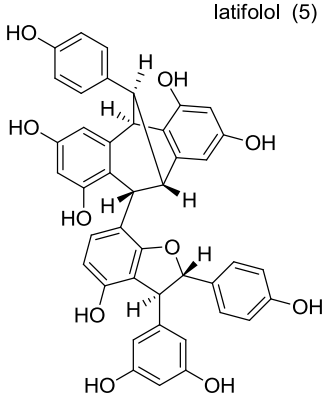


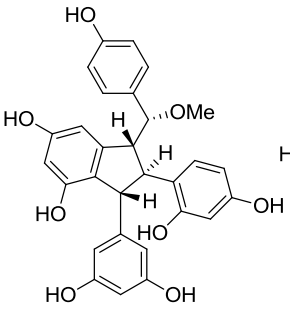


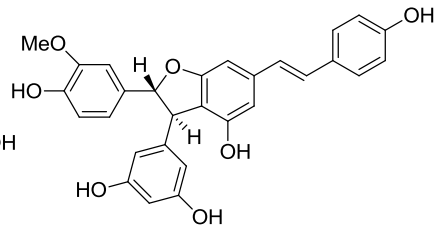












มยูร หลำสุบ (2555) ได้ทำการศึกษาปริมาณเหล็ก ทองแดงและสังกะสีในผักพื้นบ้านภาคใต้บางชนิดโดยวิธีเฟลมอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมทรี พบว่า ลำเพ็ง ผักกูด ผักกาดนกเขา ผักเหมียง เนียง ขี้เหล็ก เหรียง สะตอ มันปูและปรงแดง จากการวัด 9 ครั้งพบว่าปริมาณเหล็กมีค่าเท่ากับ 65.17, 186.71, 47.68, 11.35, 150.09, 32.67, 54.74, 31.60, 29.71 และ 71.89 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ปริมาณทองแดงมีค่าเท่ากับ 40.85, 21.33, 4.45, 7.70, 38.95, 10.02, 9.40, 13.30, 9.99 และ 17.13 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ปริมาณสังกะสีมีค่าเท่ากับ 58.12, 106.98, 27.76, 10.50, 61.56, 15.25, 19.60, 26.60, 32.26 และ 45.44 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ผักที่มีปริมาณเหล็กมากที่สุดและน้อยที่สุดคือ ผักกาดนกเขา และ เนียง (ลูกเนียง) ตามลำดับ ผักที่มีปริมาณทองแดงมากที่สุดและน้อยที่สุดคือ ลำเพ็งและผักเหมียง ตามลำดับ ส่วนผักที่มีปริมาณสังกะสีมากที่สุดและน้อยที่สุดคือ ผักกาดนกเขาและเนียง (ลูกเนียง) ตามลำดับ

เยาวดี รุ่งเรือง (2552,บทคัดย่อ)ได้ทำการศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดคลอโรฟิลล์ ด้วยเอทานอลจากใบผักเหมียง (Gnetum gnemon Linn.) 3 ส่วน ได้แก่ยอดอ่อน ใบอ่อน และใบแก่ โดยศึกษาปริมาณคลอโรฟฟิลล์ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดคลอโรฟิลล์ ด้วยวิธี ABTS DPPH และ FRAP ผลการทดลองพบว่าใบแก่มีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุด คือ มีค่า 14.66 mg/g dw และพบว่าสารประกอบฟีนอลิกในใบผักเหมียงทั้ง 3 ส่วนไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (26.68 ± 3.15- 33.87 ± 1.89 mg GAE/g dw) การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าใบอ่อนและใบแก่มีคุณสมบัติในการกำจัดอนุมูล DPPH ได้ดีกว่ายอดอ่อน โดยมีค่า IC50 เท่ากับ 51.67 ± 1.19 และ 52.23 ± 1.08 μg/ml ตามลำดับ ในขณะที่ยอดอ่อนมีคุณสมบัติในการกำจัดอนุมูล ABTS และจับกับโลหะได้ดีที่สุด โดยมีค่า 537.79 ± 6.17 และ 364.66 ± 5.80 μmol TE/g dw ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดคลอโรฟิลล์จากใบผักเหมียงที่สกัดด้วยเอทานอล จึงมีศักยภาพสามารถในการใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติได้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

วัตถุดิบที่ใช้ในการวิจัย

1. ใบผักเหมียง
2. เปลือกผักเหมียง

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง บริษัท Mettler Toledo รุ่น AG203-S
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง บริษัท Mettler Toledo รุ่น AG245
3. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโทรเมตรี รุ่น Agilent 7890A
4. เครื่องระเหยสุญญากาศ บริษัท Buchi รุ่น R-124
5. ขวดรีเอเจนต์สีชา ขนาด 500 มิลลิลิตร
6. บีกเกอร์ ขนาด 100, 500 มิลลิลิตร
7. อลูมิเนียมฟอยล์
8. แท่งแก้วคนสาร
9. มีด

สารเคมี

1. Dichloromethane	Analytical grade
2. Methanol	Analytical grade
3. Hexane	Analytical grade

ขั้นตอนการดำเนินงาน

การเก็บตัวอย่างใบ และเปลือกผักเหมียง

ผู้วิจัยเก็บตัวอย่างใบ และเปลือกของต้นผักเหมียง จากบ้านเลขที่ 406/1 หมู่ 4 ตำบลหงษ์เจริญ อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร ในวันที่ 15 เดือนธันวาคม พ.ศ. 2555

การสกัดสารจากใบและเปลือกผักเหมียง และการนำสารสกัดหยาบที่ได้ไปทดสอบ

ใบผักเหมียง

นำใบผักเหมียงสดมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ยาวประมาณ 0.5 – 1.0 เซนติเมตร นำมาตากแดดให้แห้ง และนำมาชั่งด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง ให้มีจำนวนน้ำหนัก 200 กรัม จากนั้นนำมาแช่ในตัวทำละลายที่เตรียมไว้ โดยแช่เรียงลำดับความมีขั้วน้อยไปหาความมีขั้วมาก ดังนี้คือ เฮกเซน (hexane) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) และเมทานอล (methanol) โดยมีวิธีการดังนี้คือ

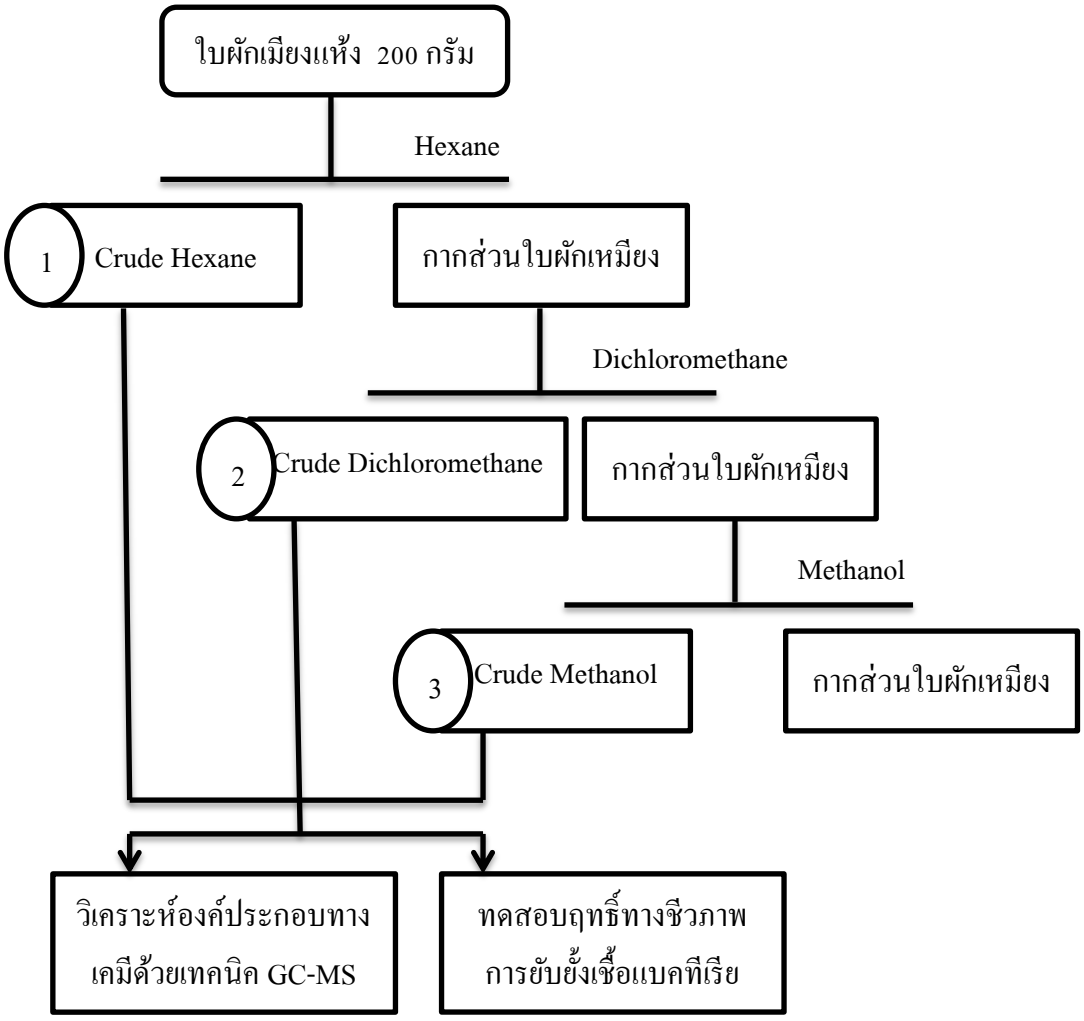
1. เทสารละลายเฮกเซนลงในใบผักเหมียงแห้งจนท่วมปิดฝาทิ้งไว้เป็นเวลา 5 วัน นำมากรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นสารละลาย นำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary vaccuum evaporator) ที่อุณหภูมิ 40–50 องศาเซลเซียส จนกระทั่ง crude ที่ได้แห้งสนิทจะได้สารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน นำสารสกัดหยาบที่ได้แบ่งเป็น 2 ส่วน ใส่ไว้ในขวดรีเอเจนต์สีชา แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์

2. เทสารละลายไดคลอโรมีเทน ลงในกากใบผักเหมียงที่เหลือจนท่วมปิดฝาทิ้งไว้เป็นเวลา 5 วัน นำมากรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นสารละลาย นำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 40–50 องศาเซลเซียส จนกระทั่ง crude ที่ได้แห้งสนิทจะได้สารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทน นำสารสกัดหยาบที่ได้แบ่งเป็น 2 ส่วน ใส่ไว้ในขวดรีเอเจนต์สีชา แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์

3. เทสารละลายเมทานอล ลงในกากใบผักเหมียงที่เหลือจนท่วมปิดฝาทิ้งไว้เป็นเวลา 5 วัน นำมากรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นสารละลาย นำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 40–50 องศาเซลเซียส จนกระทั่ง crude ที่ได้แห้งสนิทจะได้สารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทน นำสารสกัดหยาบที่ได้แบ่งเป็น 2 ส่วน ใส่ไว้ในขวดรีเอเจนต์สีชา แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์

4. นำสารสกัดหยาบส่วนที่ 1 มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโทรเมตรี และนำสารสกัดหยาบส่วนที่ 2 มาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Staphyllococcus aureus* และแบคทีเรียแกรมลบ *Escherichia coli*

ขั้นตอนการทำวิจัย (การสกัดสารจากใบผักเหมียง)



ภาพที่ 3-1 แผนผังขั้นตอนการทำวิจัยการสกัดสารจากใบผักเหมียง

เปลือกของต้นผักเหมียง

นำเปลือกของต้นผักเหมียงสดมาหั่นเป็นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ยาวประมาณ 1.0 – 1.5 เซนติเมตร นำมาตากแดดให้แห้ง และนำมาชั่งด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง ให้มีจำนวนน้ำหนัก 200 กรัม จากนั้นนำมาแช่ในตัวทำละลายที่เตรียมไว้ โดยแช่เรียงลำดับความมีขั้วน้อยไปหาความมีขั้วมาก ดังนี้คือ เฮกเซน (hexane) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) และเมทานอล (methanol) โดยมีวิธีการดังนี้คือ

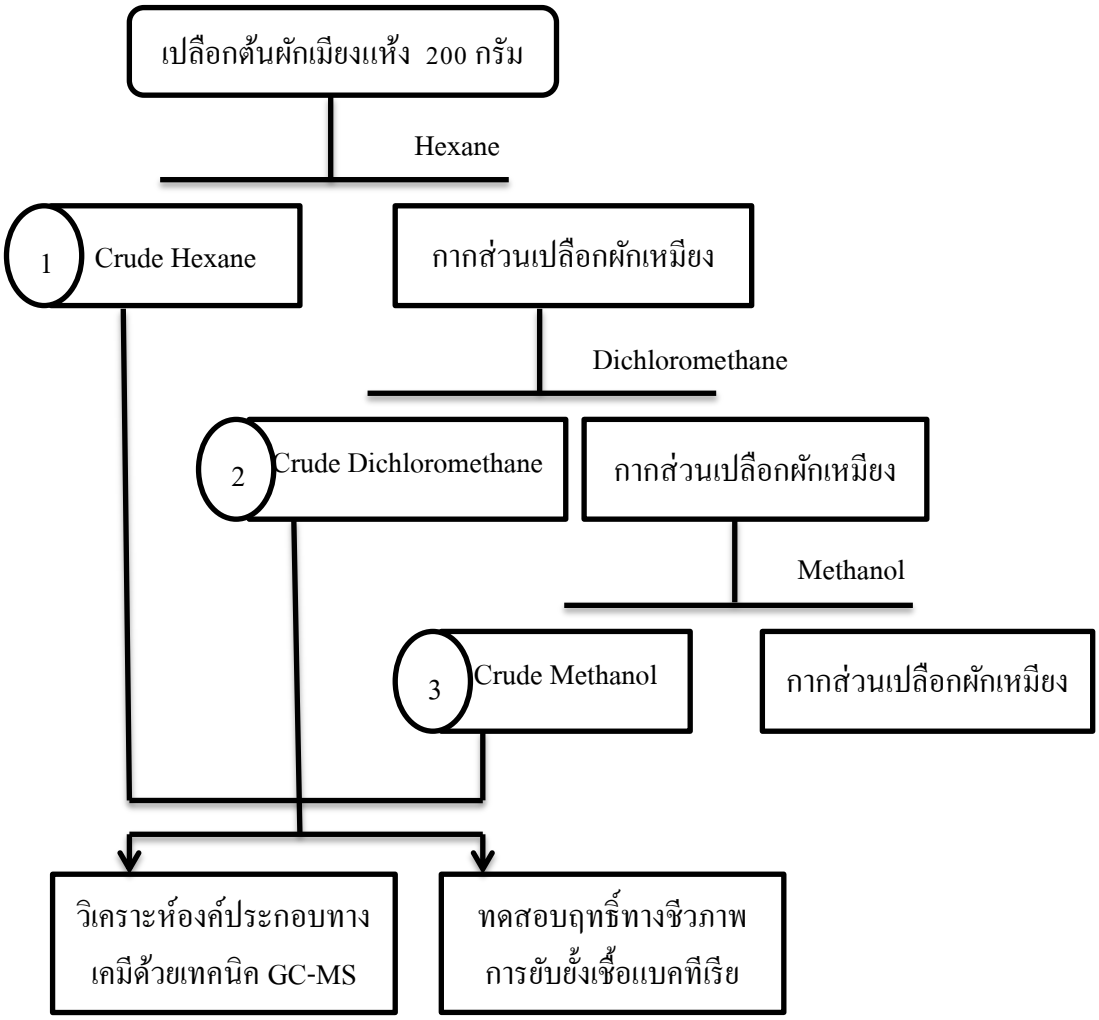
1. เทสารละลายเฮกเซนลงในเปลือกผักเหมียงแห้งจนท่วมปิดฝาทิ้งไว้เป็นเวลา 5 วัน นำมากรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นสารละลาย นำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary vaccuum evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 – 50 องศาเซลเซียส จนกระทั่ง crude ที่ได้แห้งสนิทจะได้สารสกัดหยาบในชั้นเฮกเซน นำสารสกัดหยาบที่ได้แบ่งเป็น 2 ส่วน ใส่ไว้ในขวดรีเอเจนต์สีชา แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 2-8 $^{\circ}$C เพื่อรอการวิเคราะห์

2. เทสารละลายไดคลอโรมีเทน ลงในกากเปลือกผักเหมียงที่เหลือจนท่วมปิดฝาทิ้งไว้เป็นเวลา 5 วัน นำมากรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นสารละลาย นำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 40 – 50 องศาเซลเซียส จนกระทั่ง crude ที่ได้แห้งสนิทจะได้สารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทน นำสารสกัดหยาบที่ได้แบ่งเป็น 2 ส่วน ใส่ไว้ในขวดรีเอเจนต์สีชา แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 2-8 $^{\circ}$C เพื่อรอการวิเคราะห์

3. เทสารละลายเมทานอล ลงในกากเปลือกผักเหมียงที่เหลือจนท่วมปิดฝาทิ้งไว้เป็นเวลา 5 วัน นำมากรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นสารละลาย นำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 40 – 50 องศาเซลเซียส จนกระทั่ง crude ที่ได้แห้งสนิทจะได้สารสกัดหยาบในชั้นไดคลอโรมีเทน นำสารสกัดหยาบที่ได้แบ่งเป็น 2 ส่วน ใส่ไว้ในขวดรีเอเจนต์สีชา แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 2-8 $^{\circ}$C เพื่อรอการวิเคราะห์

4. นำสารสกัดหยาบส่วนที่ 1 มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโทรเมตรี และนำสารสกัดหยาบส่วนที่ 2 มาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ขั้นตอนการทำวิจัย(การสกัดสารจากเปลือกของต้นผักเหมียง)



ภาพที่ 3-2 แผนผังขั้นตอนการทำวิจัยการสกัดสารจากเปลือกผักเหมียง

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโทรเมตรี

1. การเลือกสภาวะของเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์สารสกัดจากผักเหมียง ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโทรเมตรี รุ่น Agilent 7890A Gas Chromatography ต่อเข้ากับ Mass Selective Detector รุ่น 5975C ใช้คอลัมน์ DB-5MS 30 m x 250 μm x 0.25 μm ใช้ดีเทคเตอร์เป็น Mass Spectrometer อุณหภูมิ heater 280 °C ที่ 50 °C เป็นเวลา 5 นาที แล้วใช้ 20 °C/min จนถึง 280 °C เป็นเวลา 10 นาที

MS ACQUISITION PARAMETERS

Low Mass : 30.0

High Mass : 650.0

Plot 2 low mass : 50.0

Plot 2 high mass : 550.0

MS Source : 230 °C maximum 250 °C

MS Quad : 150 °C maximum 200 °C

การศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของส่วนสกัดหยาบจากใบและเปลือกของลำต้นผักเหมียง

1. การเตรียมสารสกัด

ทำให้ปราศจากเชื้อที่ผิวหน้าตัวอย่างด้วยแสงยูวีนานด้านละ 15 นาที

2. การเตรียมจุลินทรีย์สำหรับทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญโดยวิธี Agar disc diffusion แบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli* เลี้ยงในอาหาร Tryptic soy broth (Oxoid, England) หรือ Tryptic soy agar (Oxoid, England) 37 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นใช้ไม้พันสำลีปลอดเชื้อป้ายแบคทีเรียแขวนลอยลงบนจานอาหารแข็ง Mueller Hinton Agar (Oxoid, England)

3. การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งของจุลินทรีย์ โดยการ หยดสารสกัดประมาณ 20 ไมโครลิตรลงบนแผ่นกระดาษกรองวงกลม (disk) เส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร แล้วนำไปวางบนจานอาหารแข็ง (MHA) ที่ป้ายจุลินทรีย์ (swab) ไว้เรียบร้อย โดยแบคทีเรียแกรมบวกใช้ Vancomycin เป็น Positive Control แบคทีเรียแกรมลบใช้ Gentamicin เป็น Positive Control หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม คืออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 24 ชั่วโมง

วิธีการประเมินประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ให้พิจารณาที่เส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง (Inhibition Zone) ซึ่งจะปรากฏเป็นวงใสไม่มีโคโลนีของจุลินทรีย์เจริญ แล้ววัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนยับยั้ง โดยจุดศูนย์กลางคือจุดศูนย์กลางของกระดาษกรอง

บทที่ 4
ผลการวิจัย

การสกัด

ใบและเปลือกของต้นผักเหมียงแห้ง จำนวน 200 กรัม นำมาสกัดโดยแช่ตัวทำละลาย เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล ตัวทำละลายละ 5 วัน นำมาระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) ได้สารสกัดหยาบของใบ และเปลือกของต้นผักเหมียงที่มีลักษณะข้นหนืด และมีสีน้ำตาลเข้ม มีร้อยละของสารสกัดหยาบของใบและเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 4-1

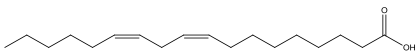
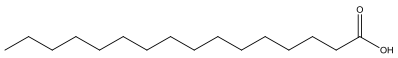
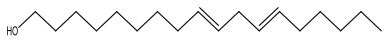
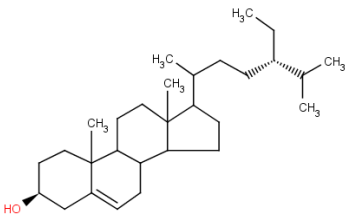
ตารางที่ 4-1 ร้อยละของสารสกัดหยาบจากใบ และเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล

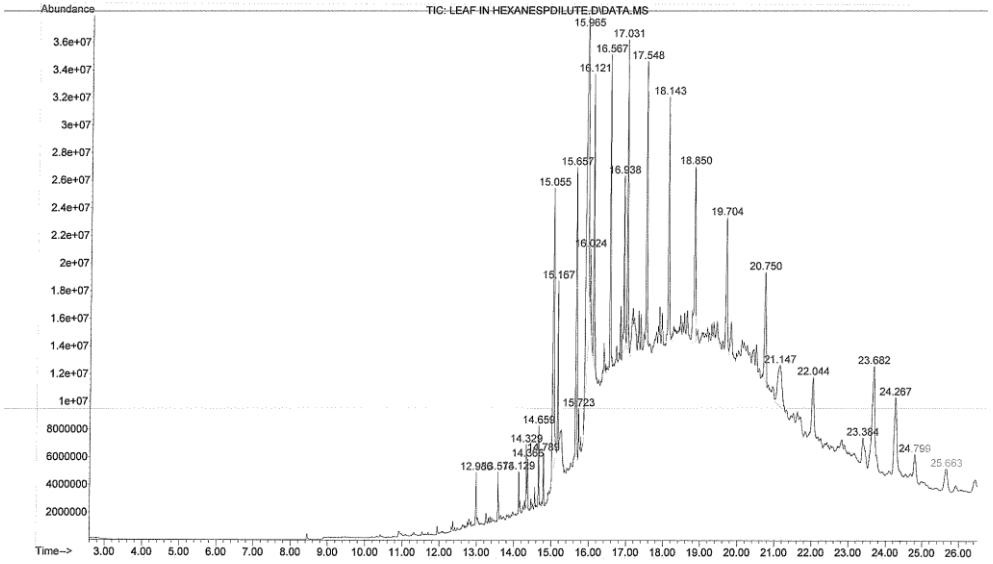
ส่วนตัวอย่าง	ชนิดตัวทำละลาย	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (กรัม)	ร้อยละของสารสกัดหยาบ *
ใบ	เฮกเซน	0.1304	0.07
	ไดคลอโรมีเทน	4.6871	2.34
	เมทานอล	12.5450	6.27
เปลือก	เฮกเซน	1.0488	0.52
	ไดคลอโรมีเทน	6.1887	3.09
	เมทานอล	15.9154	7.96

* ค่าร้อยละของสารสกัดหยาบ คิดจากน้ำหนักแห้งของสารตัวอย่างชนิดละ 200 กรัม

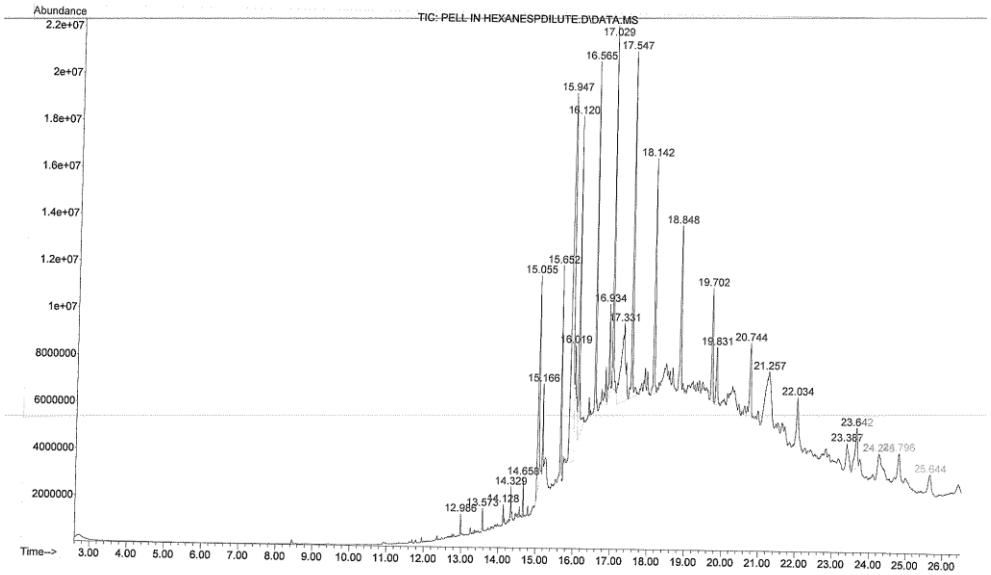
การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดหยาบจากใบ และเปลือกของต้นผักเหมียง ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมตรี

ตารางที่ 4-2 องค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด และองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรกของสารสกัดหยาบจากใบและเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน

ส่วนของผักเหมียงที่ศึกษา/ตัวทำละลายที่ใช้สกัด	จำนวนองค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด	อันดับที่พบ/ร้อยละ	ชื่อองค์ประกอบหลัก	สูตรโครงสร้างทางเคมี
ใบ / เฮกเซน	29 ชนิด	1 / 15.82	Linoleic acid	
		2 / 7.84	Palmitic acid	
		3 / 6.55	Heneicosane	
เปลือก / เฮกเซน	28 ชนิด	1 / 18.25	9,12-Octadecadien -1-ol	
		2 / 7.65	gamma-Sitosterrol	
		3 / 7.28	Pentacosane	

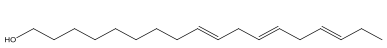
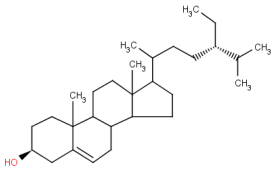
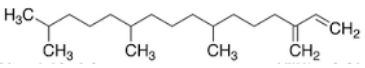
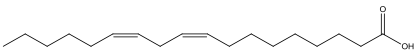
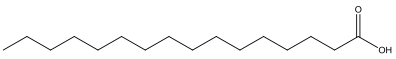


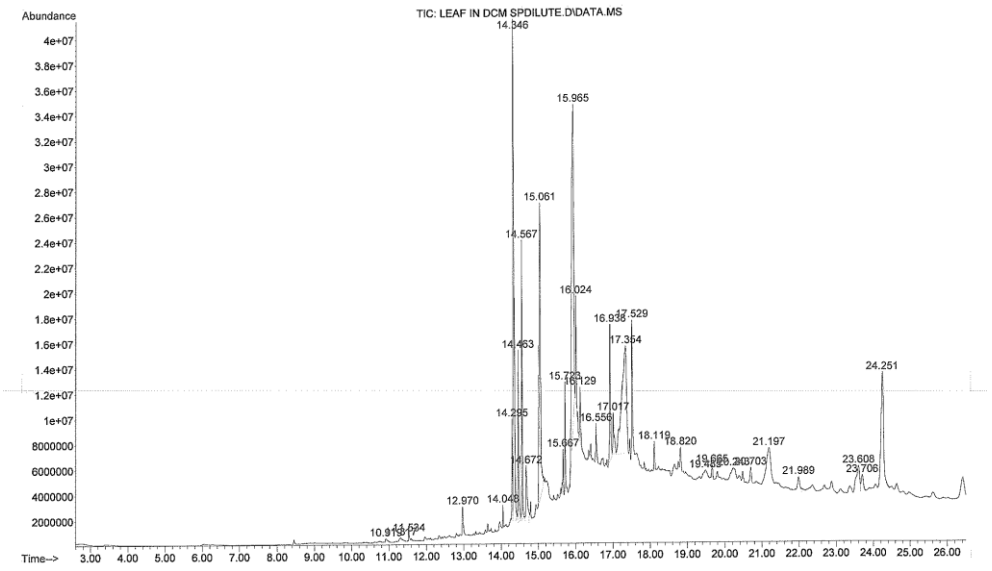
ภาพที่ 4-1 โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบจากใบของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซนที่ได้จากเครื่อง GC-MS



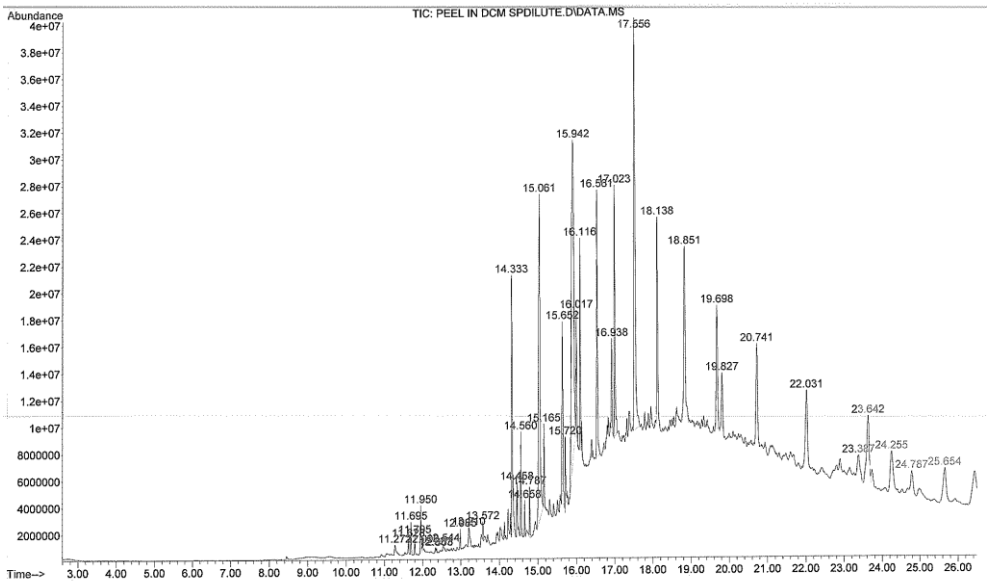
ภาพที่ 4-2 โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซนที่ได้จากเครื่อง GC-MS

ตารางที่ 4-3 องค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด และองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรกของสารสกัดหยาบจากใบและเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน

ส่วนของผักเหมียงที่ศึกษา/ตัวทำละลายที่ใช้สกัด	จำนวนองค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด	อันดับที่พบ/ร้อยละ	ชื่อองค์ประกอบหลัก	สูตรโครงสร้างทางเคมี
ใบ / ไดคลอโรมีเทน	32 ชนิด	1 / 17.43	9,12,15-Octadecatrien-1-ol	
		2 / 13.06	gamma-Sitosterol	
		3 / 13.02	Neophytadiene	
เปลือก / ไดคลอโรมีเทน	39 ชนิด	1 / 15.33	Linoleic acid	
		2 / 9.73	Palmitic acid	
		3 / 5.92	Heptacosane	

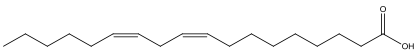
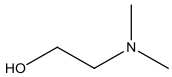
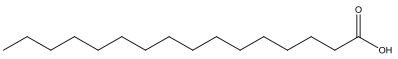
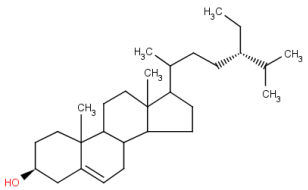
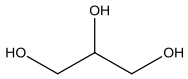


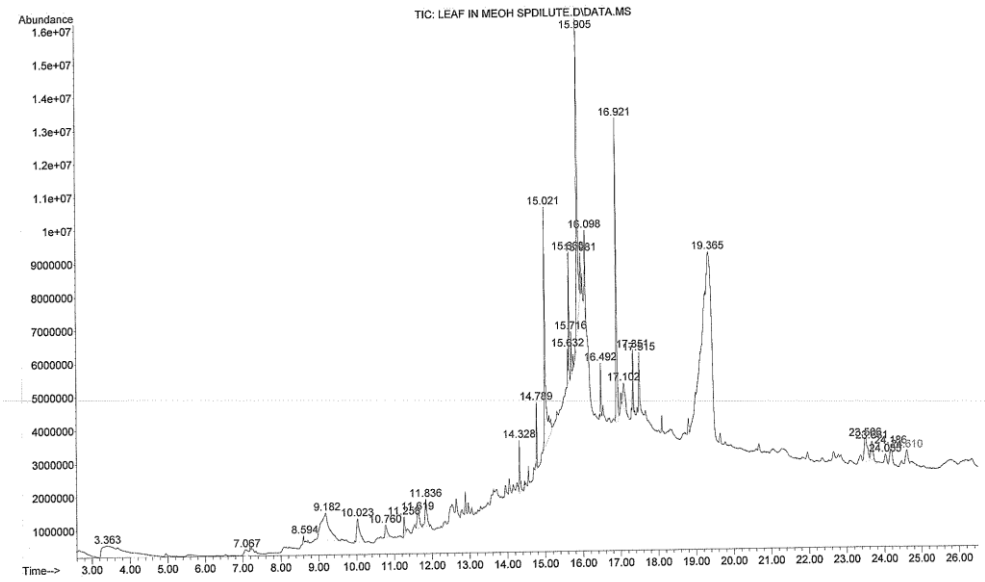
ภาพที่ 4-3 โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบจากใบของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS



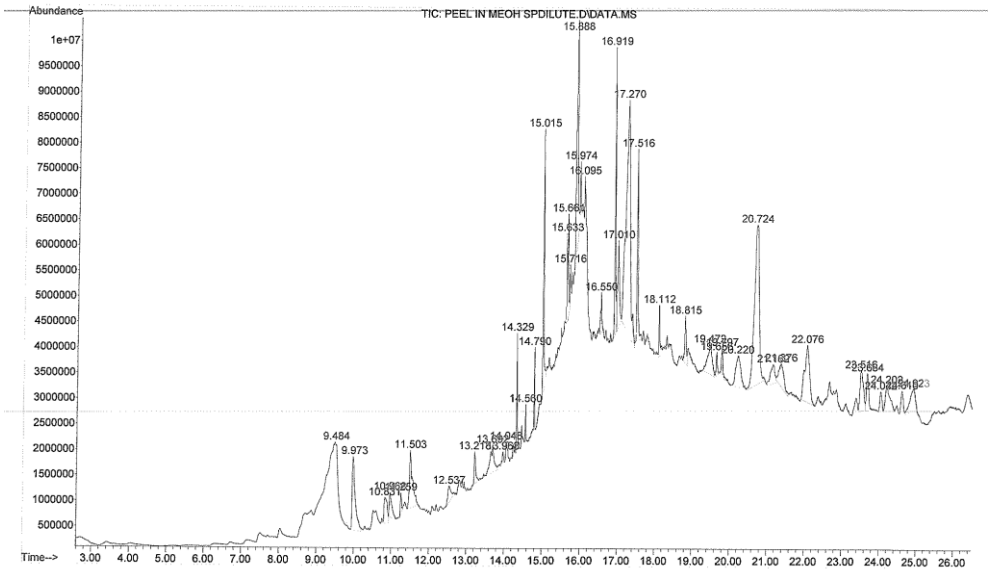
ภาพที่ 4-4 โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS

ตารางที่ 4-4 องค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด และองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรกของสารสกัดหยาบจากใบและเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล

ส่วนของผักเหมียงที่ศึกษา/ตัวทำละลายที่ใช้สกัด	จำนวนองค์ประกอบทางเคมีทั้งหมด	อันดับที่พบ/ร้อยละ	ชื่อองค์ประกอบหลัก	สูตรโครงสร้างทางเคมี
ใบ / เมทานอล	29 ชนิด	1 / 8.75	Linoleic acid	
		2 / 7.01	*N*,*N*-dimethylethanolamine	
		3 / 6.75	Palmitic acid	
เปลือก / เมทานอล	42 ชนิด	1 / 15.78	gamma-Sitosterol	
		2 / 13.30	Glycerin	
		3 / 12.09	Nonacosane	



ภาพที่ 4-5 โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบจากใบของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอลที่ได้จากเครื่อง GC-MS



ภาพที่ 4-6 โครมาโตแกรมของสารสกัดหยาบจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอลที่ได้จากเครื่อง GC-MS

ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี Agar disc diffusion ของสารสกัดหยาบจากใบ และเปลือกต้นผักเหมียง

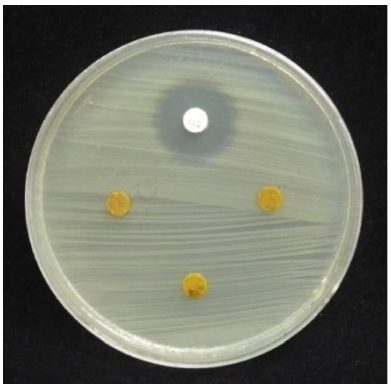
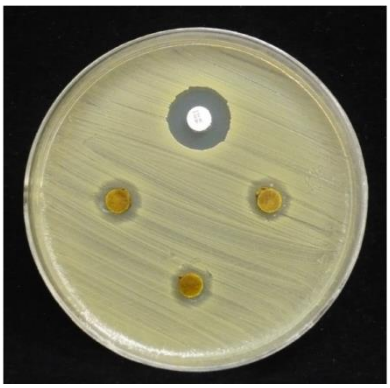
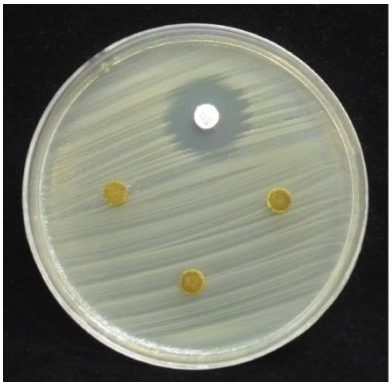
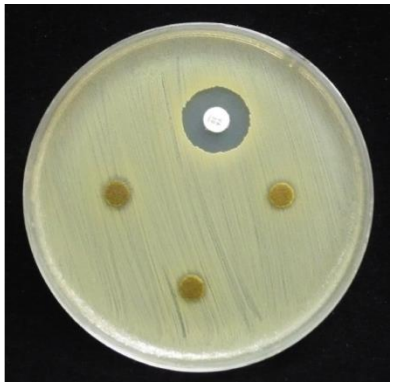
สรุปผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี Agar disc diffusion ของสารสกัดหยาบจากใบ และเปลือกต้นผักเหมียง แสดงดังตารางที่ 4-5 และภาพการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* แสดงดังตารางที่ 4-6 -4-8

ตารางที่ 4-5 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และเปลือกของต้นผักเหมียง

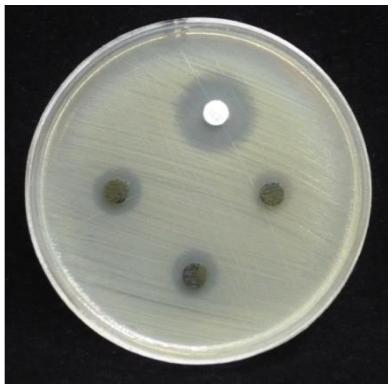
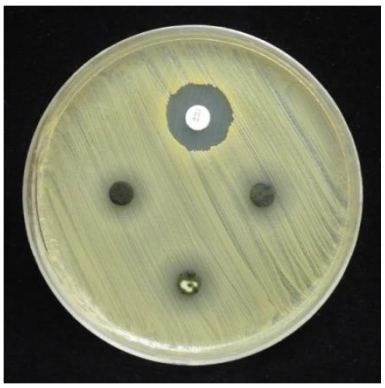
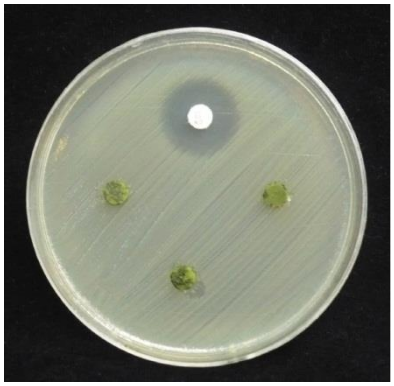
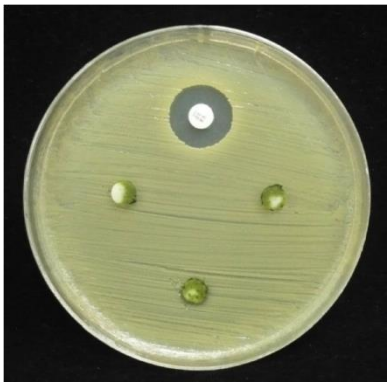
ชนิดสารสกัดหยาบ	พื้นที่ยับยั้งเชื้อ (มิลลิเมตร)	
	Escherichia coli	***Staphylococcus aureus***
ใบผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน	0.0	2.5
เปลือกผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน	0.0	0.0
ใบผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน	2.5	0.0*
เปลือกผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน	0.0	0.0
ใบผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล	0.0	0.0
เปลือกผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล	0.0	0.0

* มีโซนเกิดขึ้นบาง ๆ แต่ยังไม่ clear

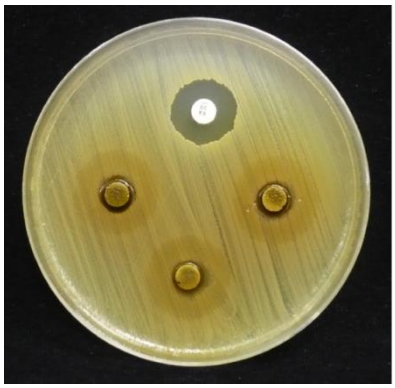
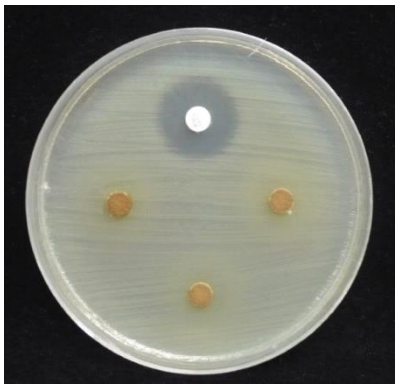
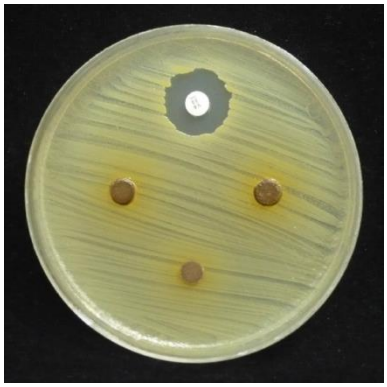
ตารางที่ 4-6 แสดงภาพการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และเปลือกผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน

ชนิดสารสกัดหยาบ	*Escherichia coli*	*Staphylococcus aureus*
สารสกัดหยาบจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน		
สารสกัดหยาบจากเปลือกผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน		

ตารางที่ 4-7 แสดงภาพการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และเปลือกผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน

ชนิดสารสกัดหยาบ	*Escherichia coli*	*Staphylococcus aureus*
สารสกัดหยาบจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน		
สารสกัดหยาบจากเปลือกผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน		

ตารางที่ 4-8 แสดงภาพการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ของสารสกัดหยาบจากใบ และเปลือกผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล

ชนิดสารสกัดหยาบ	*Escherichia coli*	*Staphylococcus aureus*
สารสกัดหยาบจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล		
สารสกัดหยาบจากเปลือกผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล		

บทที่ 5
สรุปและอภิปรายผล

สรุปและอภิปรายผล

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของใบ และเปลือกของต้นผักเหมียง จำนวนน้ำหนักแห้งชนิดละ 200 กรัม แช่ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอลนำตัวทำละลายไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศได้สารสกัดหยาบมีลักษณะข้น หนืด สีน้ำตาลเข้ม พบร้อยละของสารสกัดหยาบในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอลของใบ ที่ 0.07, 2.34 และ 6.27 ตามลำดับ และของเปลือกที่ 0.52, 3.09 และ 7.96 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบ ทางเคมีด้วย GC-MS พบสารพวกกรดไขมันเป็นองค์ประกอบหลักในส่วนของสารสกัดหยาบจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล คือ linoleic acid, 9,12,15-Octadecatrien-1-ol และ linoleic acid ตามลำดับ ในทางกลับกันพบองค์ประกอบหลักในส่วนของสารสกัดหยาบจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล คือ 9,12-Octadecadien-1-ol, linoleic acid และ gamma-sitosterol ตามลำดับ

ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี Agar disc diffusion พบว่าสารสกัดหยาบจากเปลือก และใบในตัวทำละลายเมทานอลไม่มีผลในการยับยั้งยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* แต่ในส่วนสารสกัดหยาบจากใบในตัวทำละลายเฮกเซน สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ ในขณะที่สารสกัดหยาบของใบในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนสามารถยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ได้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาการสกัดใบและเปลือกของผักเหมียงด้วยตัวทำละลายและเทคนิคการสกัดในรูปแบบอื่น ๆ เช่นการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยเครื่องซอกห์เล็ต (Soxhlet Apparatus) หรือการสกัดด้วยการกลั่นด้วยไอน้ำ เป็นต้น เพื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีที่ได้แต่ละวิธี
2. ควรศึกษาการแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี และนำสารบริสุทธิ์ที่ได้มาวิเคราะห์หาสูตรโครงสร้างทางเคมี

บรรณานุกรม

กัญจนา ตีวิเศษ, ไฉน น้อยแสง และจิรัชยา แก้วสนธยา. (2542). *ผักพื้นบ้านภาคใต้*. กรุงเทพฯ: สถาบันการแพทย์แผนไทย มูลนิธิการแพทย์แผนไทยพัฒนา.

กูล จุลแก้ว. (2539). *ผักเหมียงราชินีแห่งผักพื้นบ้านภาคใต้*. กรุงเทพฯ: พิมพ์ดี.

จันทนา สุขปรีดี. (ม.ป.ป.). *อาณาจักรพืช*. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพฤกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เต็ม สมิตินันท์. (2523) *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์ – ชื่อพื้นเมือง)*. กรุงเทพฯ: ฟันนี่พับบลิชชิ่ง.

บังอร วงศ์รักษ์ และศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ์. (2549). *ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน*. กรุงเทพฯ: โครงการพิเศษเภสัชศาสตรบัณฑิต, มหาวิทยาลัยมหิดล.

บัญญัติ สุขศรีงาม. (2536). *จุลชีววิทยา*. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.

ปิยวิทย์ ศรีอินทร์. (2550). *สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากรากเมื่อยกระดูก Gnetum macrostachyum*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเคมี, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มยูร หลำสุบ และสราวุธ เดชมณี. (2555). *ปริมาณเหล็ก ทองแดง และสังกะสีในผักพื้นบ้านภาคใต้บางชนิด*. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช.

แม้น อมรสิทธิ์, อมร เพชรสม, พลกฤษณ์ แสดงวณิช, ภควดี สุทธิ์ไวยกิจ, มานพ สิทธิเดช, สายสุนีย์ เหลี่ยวเรืองรัตน์, อุมาพร สุขม่วง และวัญเพ็ญ ช้อนแก้ว. (2555). *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ*. กรุงเทพฯ : ชวนพิมพ์ 50.

เยาวดี รุ่งเรือง และสุพิชญา จันทะชุม. (2552). *กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดคลอโรฟิลล์ด้วยเอทานอลจากผักเหมียง*. สงขลา: ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ศรัณย์ พินิจพลนิกร. (2545). ผักเหลียงยอดอาหารจากโลกล้านปี. *เทคโนโลยีชาวบ้าน, 14*, 82-83.

สุธาชีพ ศุภเกษร. (2527). ต้นผักเหลียงผักพื้นเมืองที่น่าสนใจ. *กสิกร*, 57, 5-11.

สมพร ภูติยานันต์ และเกสร นันทจิต. (2526). *การตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเภสัชเวชและฤทธิ์ต้านจุลชีพของหญ้าแฝก*.เอกสารวิจัย. เชียงใหม่. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อุบลวรรณ อุโพธิ์.(2539). *การศึกษาทางสัญฐานวิทยาและทางกายวิภาคของผักเหมียง*. โครงการวิจัยชีววิทยาของผักเหมียง. สงขลา: ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ภาคใต้.

Alcamo, E. J. (1997). *Fundamentals of Microbiology* (5th ed.). California : Addision Wesley Longman.

Brown, Micheal, R. W., & Gilbert, P. (1995). *Microbiological Quality Assurance*. Boca Raton : CRC Press.

Collins, C. H., Lyne, M. P., & Grange, J. M. (1989). *Collins and Lyne' s Microbiological Methods* (6th ed.). Oxford : Buterworth-Heinemann.

Ingraham, J. L., & Ingraham, C. A. (1995). *Introduction to Microbiology.* Belmont, CA : Wadsworth.

Jecquat, C. (1990). *Plants From The Markets of Thailand.* Bangkok: Editons Duang Kamol.

Kleyn, J., & Bicknell, M. (1999). *Microbiology Experiments* : *A Health Science Perspective* (2nd ed.). Boston : McGraw-Hill.

Koneman, W. E., Allen, D. S., Janda, M. W., Schreckenberger, C. P., & Washington, C. (1994). *Introduction to Diagnostic Microbiology*. Philadelphia : J. B. Lippincott.

Kubitzki, K. (1990). Gnetaceae. In K. Kubitzki, K.U. Kramer, & P.S. Green (Eds.), The Families and Genera of Vascular Plants: Pteridophytes and Gymnosperms (pp. 383-886), New York: Springer-Verlag.

Mckane, L., & Kandel, J. (1996). *Microbiology* (2nd ed.). New York : McGraw-Hill.

Nester, E. W., Evans, C. R., & Martha, T. N. (1995). *Microbiology*. Dudugue : Wm. C. Browm.

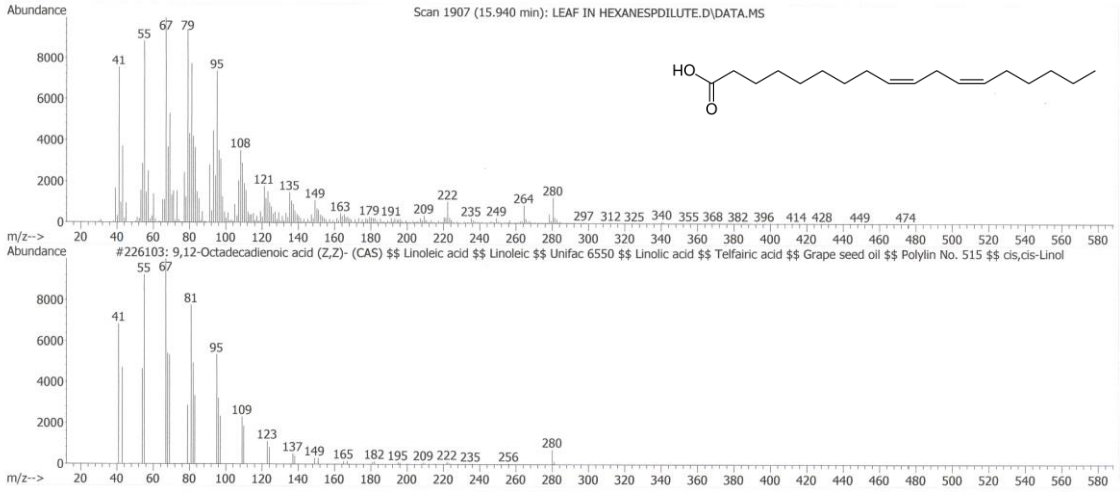
Pelezar, M. J. (1958). *Laboratory Exercises in Microbiology* (2nd ed.). New York : McGraw-Hill.

Tortora, G. J., Berdell, R. F., & Christine, L. C. (1995). *Microbiology* (5th ed.). California : Benjamin/Cummings.

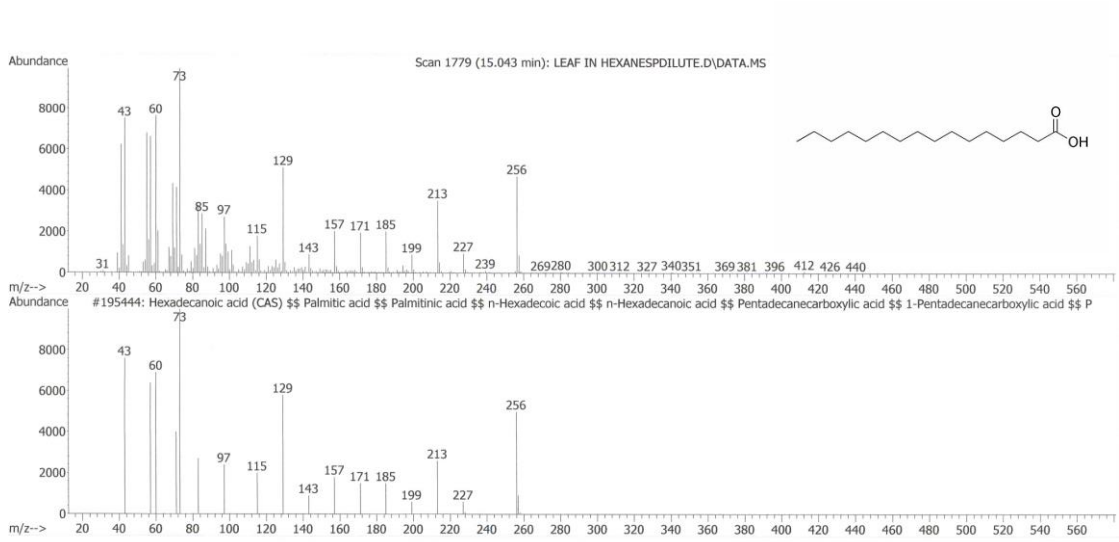
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

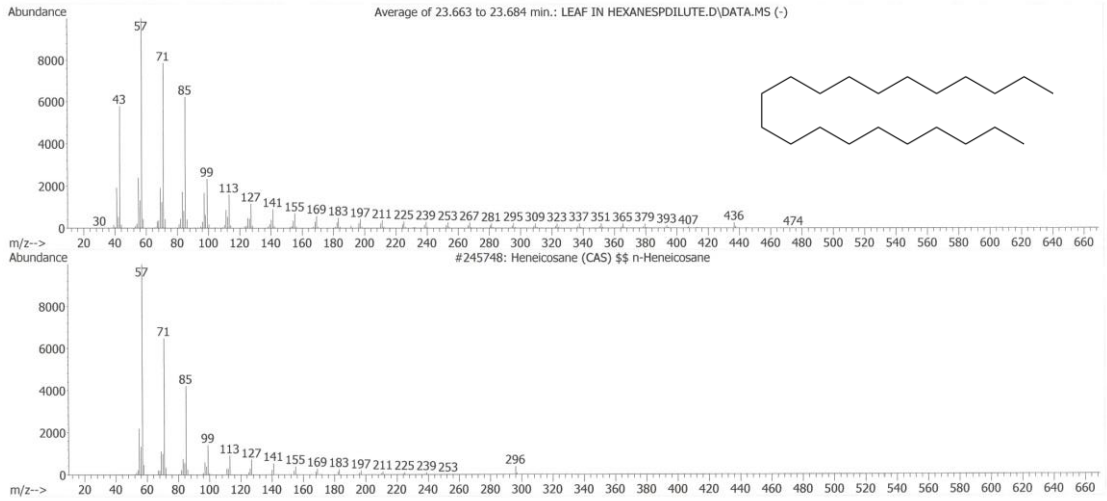
โครมาโตแกรมและสูตรโครงสร้างทางเคมีองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบ และเปลือกของต้นผักเหมียง ในตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล



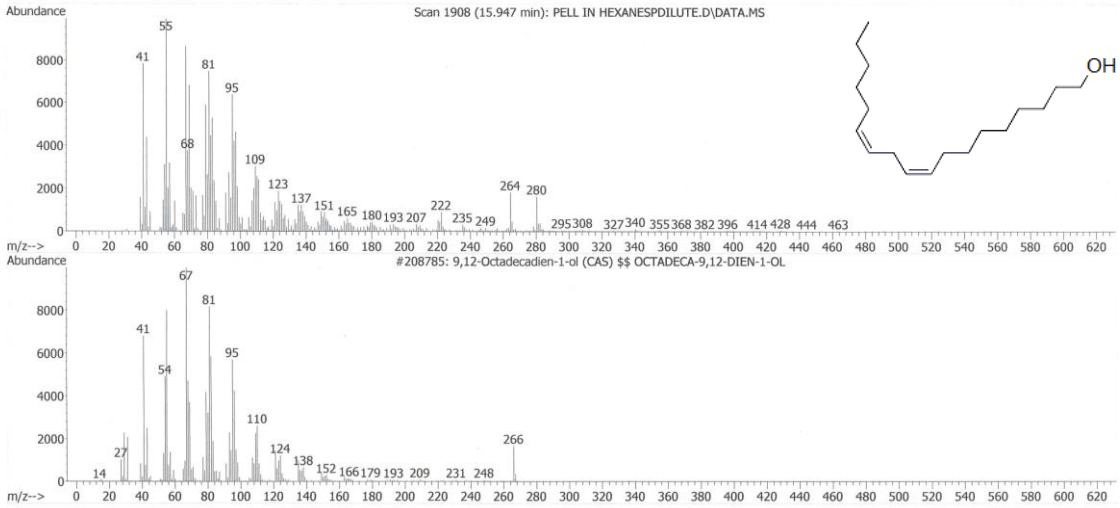
ภาพที่ ก-1 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 15.965 minute, Quality: 95 %, Total: 15.82 %, ID: 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-(CAS), Linoleic acid, Linoleic, Unifac 6550, Linoleic acid, Telfairic acid, Grape seed oil, Polylin No.515, cis,cis-Linoleic acid, 9,12-Octadecadienoic acid, cis-9,cis-12- Octadecadienoic acid, 9,12-O



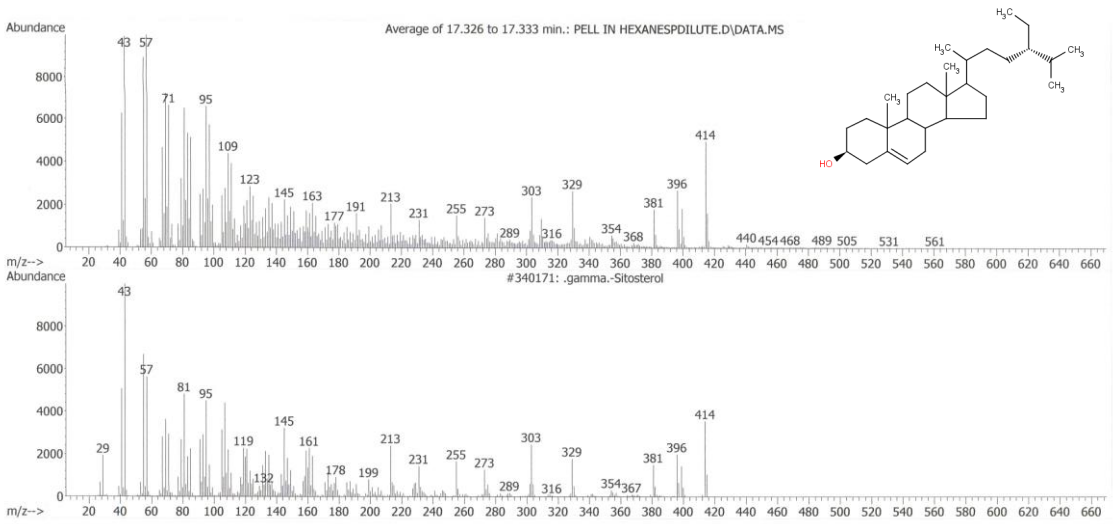
ภาพที่ ก-2 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 15.055 minute, Quality: 99 %, Total: 7.84 %, ID: Hexadecanoic acid (CAS), Palmitic acid, Palmitinic acid, n-Hexadecoic acid, n-Hexadecanoic acid, Pentadecanecarboxylic acid, 1-Pentadecanecarboxylic acid, Coconut oil fatty acids, Cetylic acid, Emersol 140, Emersol 143



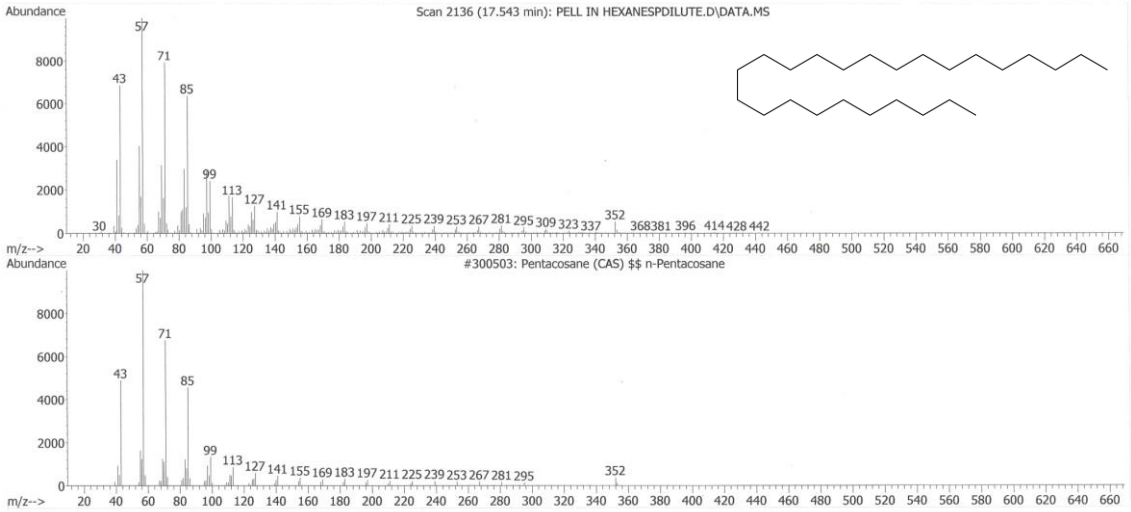
ภาพที่ ก-3 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 23.682 minute, Quality: 98 %, Total: 6.55 %, ID: Heneicosane (CAS), n-Heneicosane



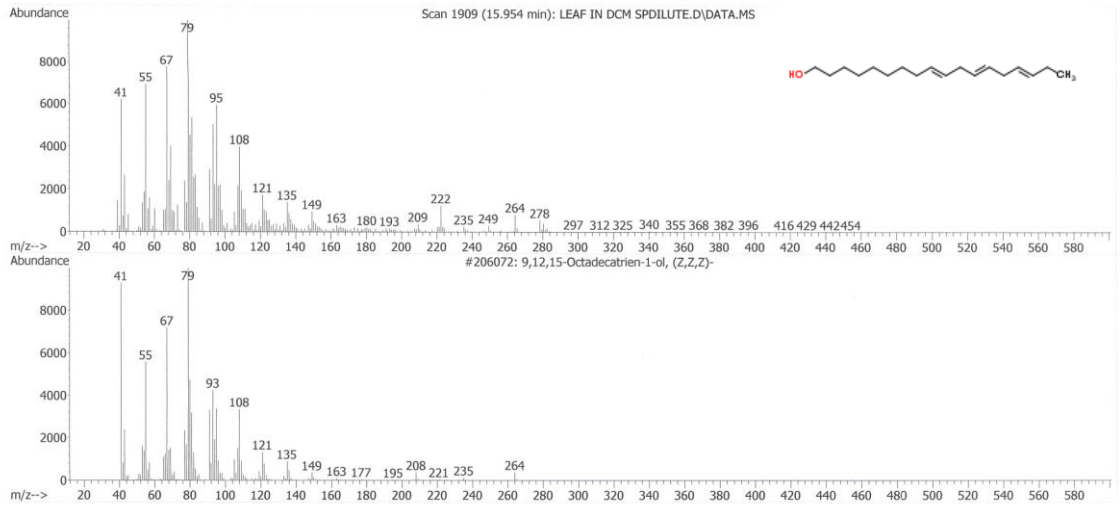
ภาพที่ ก-4 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 15.947 minute, Quality: 99 %, Total: 18.25 %, ID: 9,12-Octadecadien-1-ol (CAS), OCTADECA 9,12-DIEN-1-OL



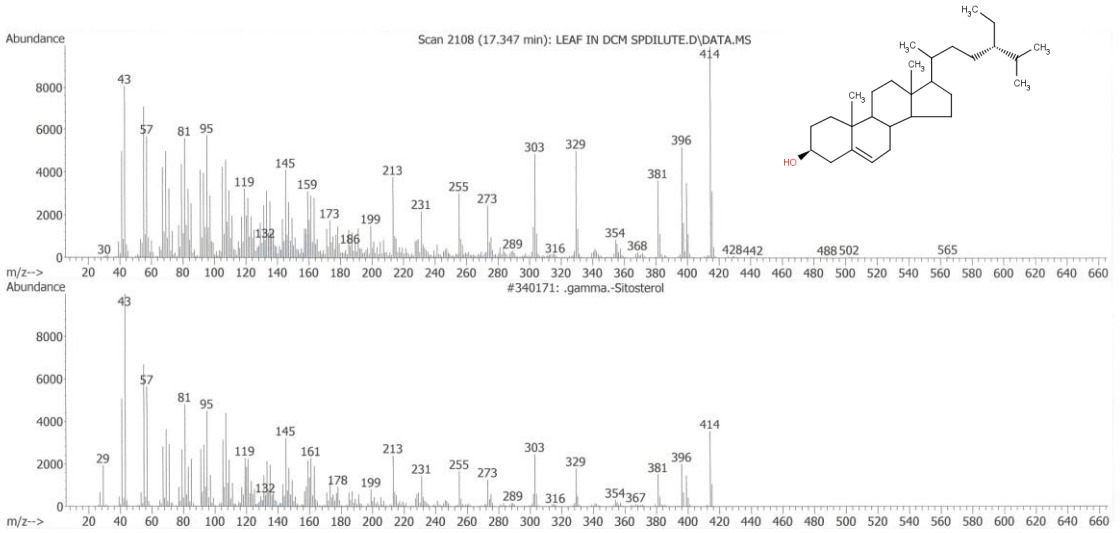
ภาพที่ ก-5 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 17.331 minute, Quality: 70 %, Total: 7.65 %, ID : gamma-Sitosterol



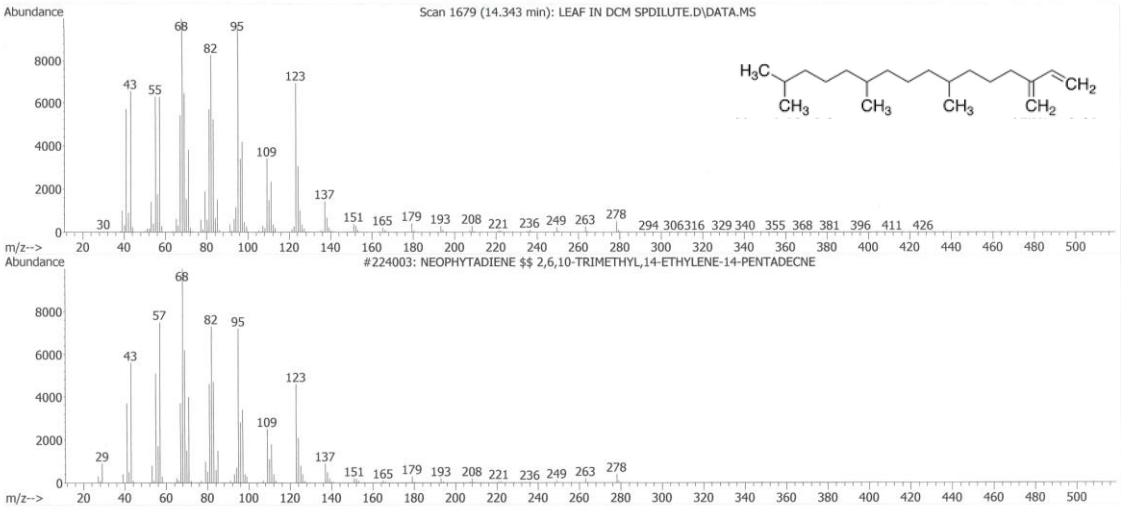
ภาพที่ ก-6 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเฮกเซน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 17.547 minute, Quality: 98 %, Total: 7.28 %, ID: Pentacosane (CAS), n-Pentacosane



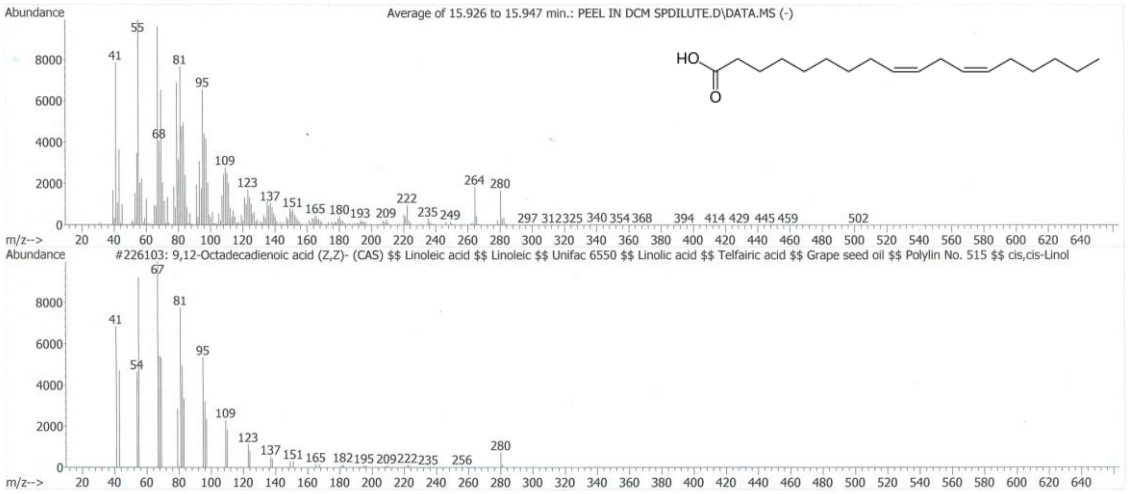
ภาพที่ ก-7 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 15.965 minute, Quality: 93 %, Total: 17.43 %, ID: 9,12,15-Octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z)-



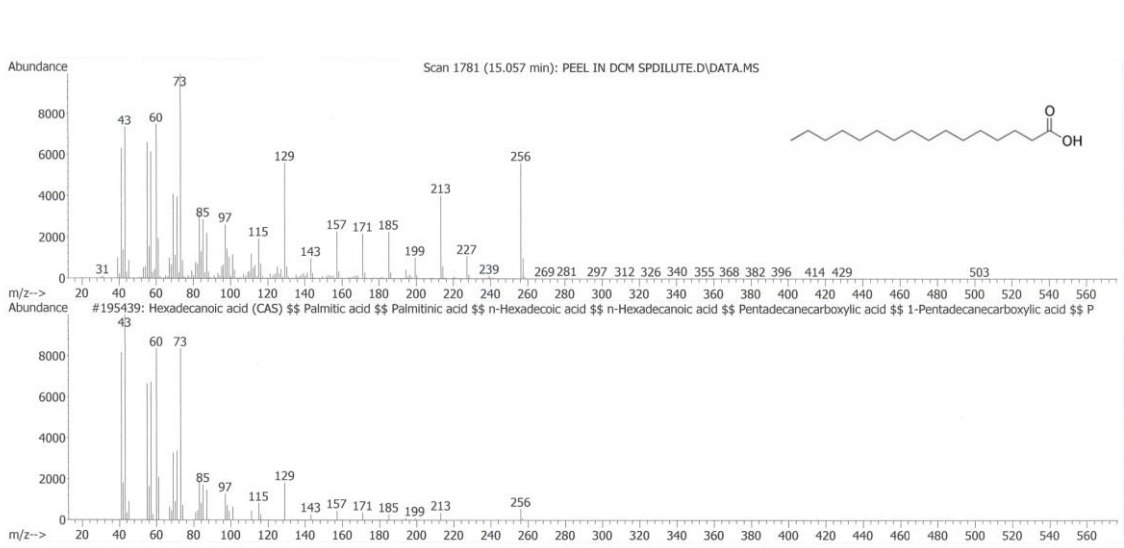
ภาพที่ ก-8 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched : Wiley7N edition, Retention Time 17.354 minute, Quality : 99 %, Total : 13.06 %, ID : gamma-Sitosterol



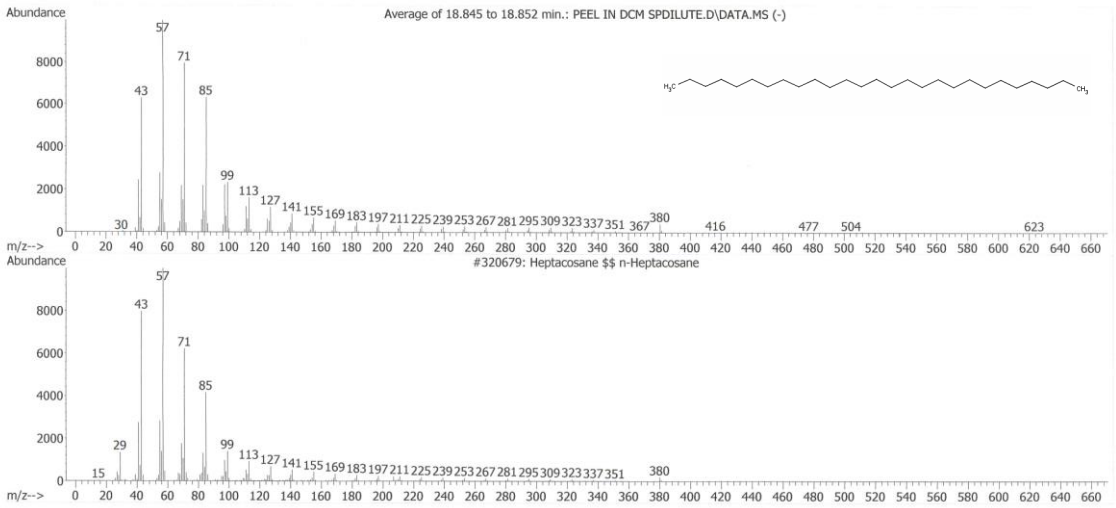
ภาพที่ ก-9 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 14.346 minute, Quality: 99 %, Total: 13.02 %, ID: Neophytadiene, 2,6,10-Trimethyl, 14-Ethylene-14-Pentadecne



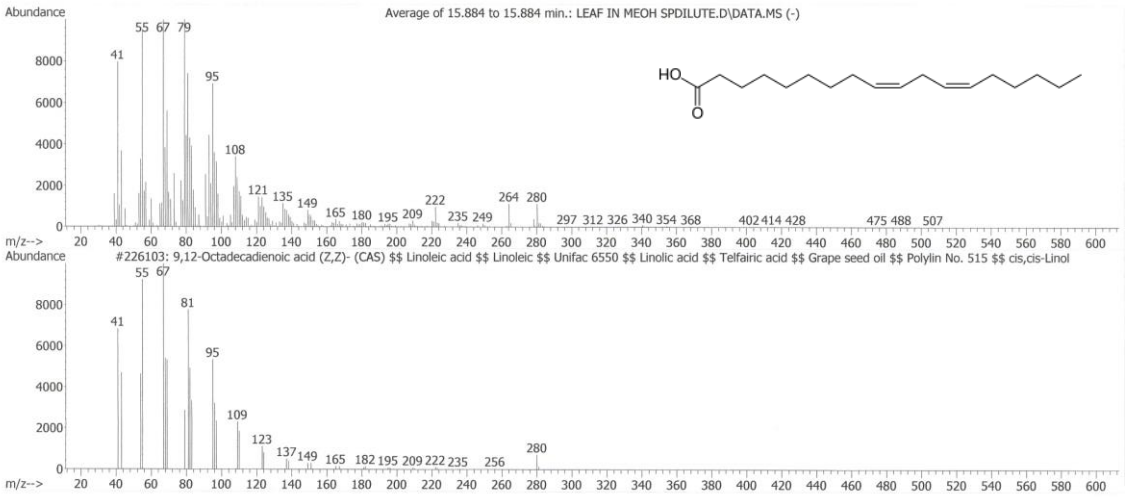
ภาพที่ ก-10 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 15.942 minute, Quality: 96 %, Total : 15.33 %, ID: 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-(CAS), Linoleic acid, Linoleic, Unifac 6550, Linoleic acid, Telfairic acid, Grape seed oil, Polylin No.515, cis,cis- Linoleic acid, 9,12-Octa-decadienoic acid, cis-9,cis-12-Octadecadienoic acid, 9,12-O



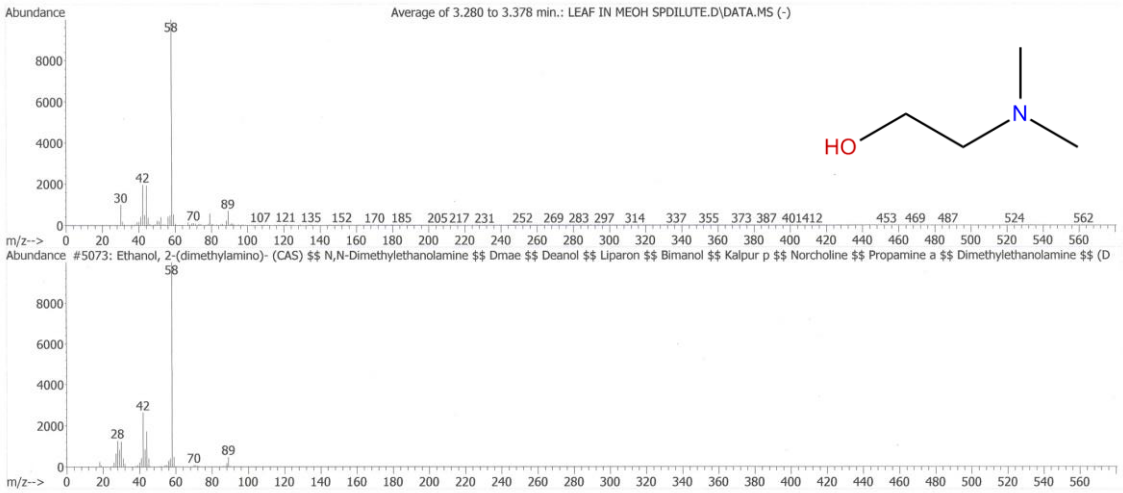
ภาพที่ ก-11 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 15.061 minute, Quality: 99 %, Total : 9.73 %, ID: Hexadecanoic acid (CAS), Palmitic acid, Palmitinic acid, n-Hexadecoic acid, n-Hexadecanoic acid, Pentadec-anecarboxylic acid, 1-Pentadecanecarboxylic acid, Coconut oil fatty acids, Cetylic acid, Emersol 140, Emersol 143



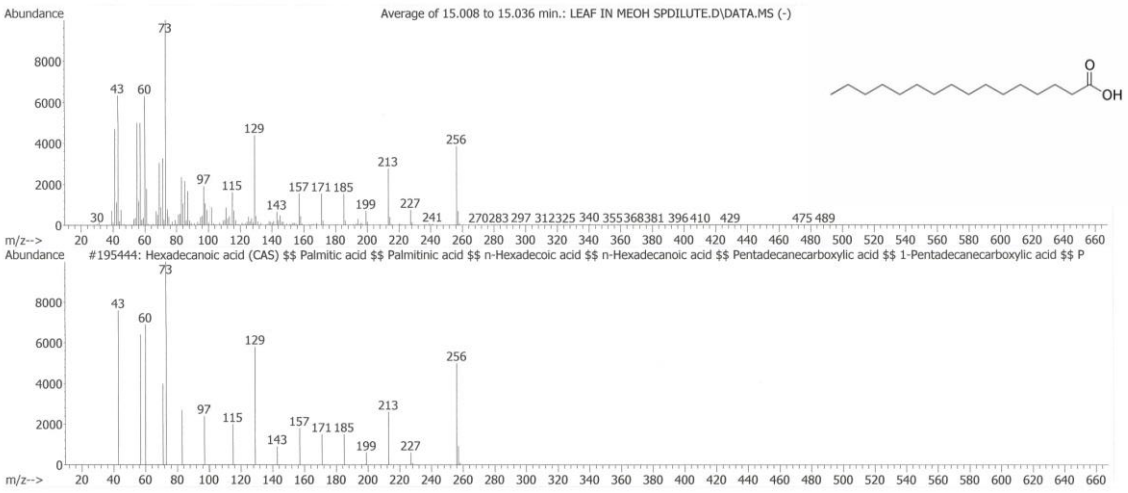
ภาพที่ ก-12 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 18.851 minute, Quality: 96 %, Total : 5.92 %, ID: Heptacosane, n-Heptacosane



ภาพที่ ก-13 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 15.905 minute, Quality: 93 %, Total: 8.75 %, ID: 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-(CAS), Linoleic acid, Linoleic, Unifac 6550, Linoleic acid, Telfairic acid, Grape seed oil, Polylin No.515, cis,cis- Linoleic acid, 9,12-Octadecadienoic acid, cis-9,cis-12-Octadecadienoic acid, 9,12-O

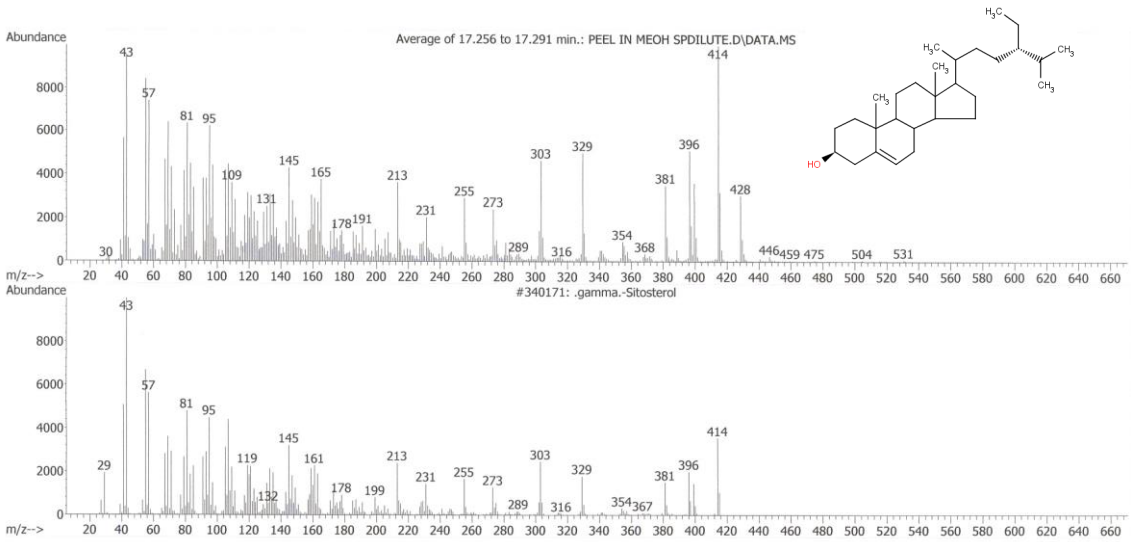


ภาพที่ ก-14 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 3.363 minute, Quality: 91 %, Total: 7.01 %, ID: Ethanol, 2-(dimethyamino)-(CAS), N,N- Dimethylethanolamine, Dmae, Deanol, Liparon, Bimanol, Kalpur p, Norcholine, Propamine a, Dimethylethanolamine, (Dimethylethano)ethanol, N,N- Dimethylethanolamine, Dim

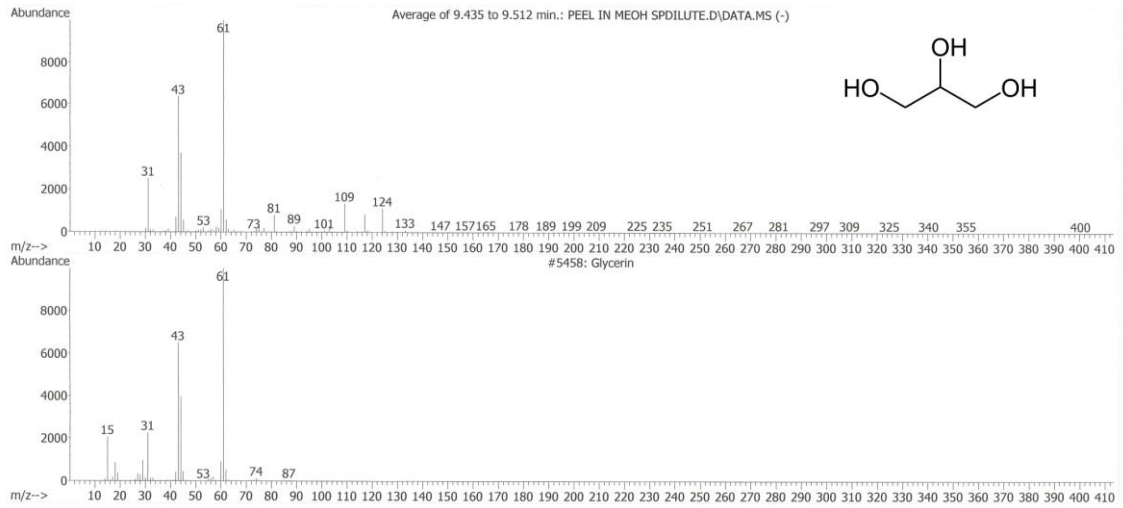


ภาพที่ ก-15 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากใบผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 15.021 minute, Quality: 99 %, Total: 6.75 %, ID: Hexadecanoic acid (CAS), Palmitic acid $$ Palmitinic acid, n-Hexadecoic acid, n-Hexadecanoic acid, Pentadecanecarboxylic acid, 1-Pentadecanecarboxylic acid, Coconut oil fatty acids, Cetylic acid, Emersol 140, Emersol 143

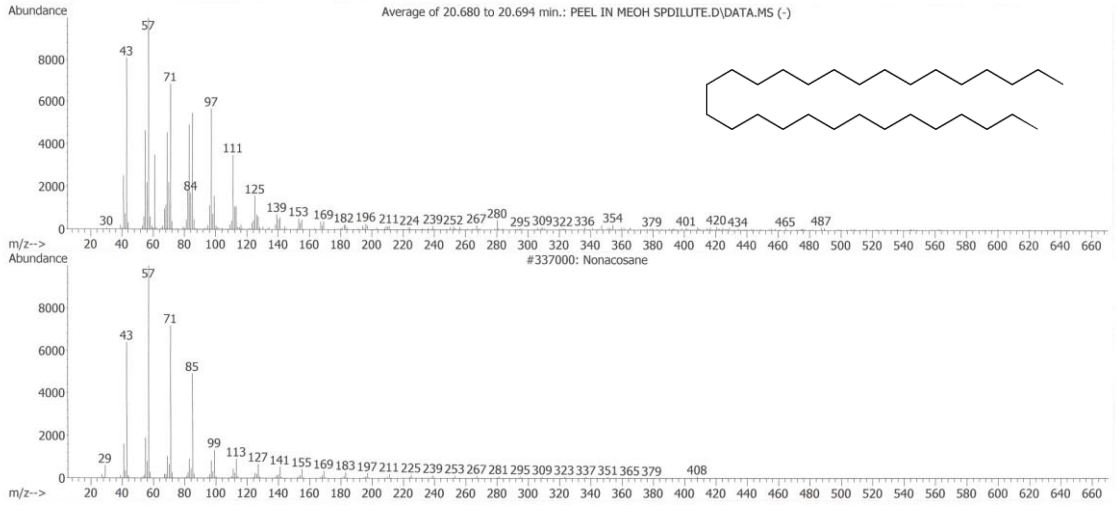
--



ภาพที่ ก-16 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 17.270 minute, Quality: 99 %, Total : 15.78 %, ID: gamma-Sitosterol



ภาพที่ ก-17 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 9.484 minute, Quality: 72 %, Total: 13.30 %, ID: Glycerin



ภาพที่ ก-18 โครมาโตแกรมองค์ประกอบหลัก 3 อันดับแรก ของสารสกัดจากเปลือกของต้นผักเหมียงในตัวทำละลายเมทานอล ที่ได้จากเครื่อง GC-MS เทียบกับ Library Searched: Wiley7N edition, Retention Time 20.724 minute, Quality: 60 %, Total: 12.09 %, ID: Nonacosane

ภาคผนวก ข

ภาพการสกัดสารในใบและ เปลือกของต้นผักเหมียงโดยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย

ภาพที่ ข-1 ภาพการสกัดสารสำคัญในใบและเปลือกของต้นผักเหมียงโดยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย

ภาพที่ ข-2 ภาพการสกัดสารสำคัญในใบและเปลือกของต้นผักเหมียงโดยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน

ภาพที่ ข-3 ภาพการสกัดสารสำคัญในใบและเปลือกของต้นผักเหมียงโดยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน

ภาพที่ ข-4 ภาพการสกัดสาระสำคัญในใบและเปลือกของต้นผักเหมียงโดยวิธีแช่ด้วยตัวทำละลายเมทานอล