ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่มีสารสกัดจากสมุนไพรไทย

นายพิเชษฐ์ ดวงศรี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี
คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2554
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ได้ฝากในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF COTTON FABRIC TREATED WITH THAI HERBAL EXTRACTS

Mr. Pichet Duangsri

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Engineering Program in Chemical Engineering

Department of Chemical Engineering

Faculty of Engineering

Chulalongkorn University

Academic Year 2011

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่มีสารสกัดจากสมุนไพรไทย
โดย	นายพิเชษฐ์ ดวงศรี
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	อาจารย์ ดร. ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล

คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร. บุญสม เลิศหิรัญวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มนตรี วงศ์ศรี)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(อาจารย์ ดร. ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรเทพ เขียวหอม)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วันเชิง สิทธิกิจโยธิน)

พิเชษฐ์ ดวงศรี: ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่มีสารสกัดจากสมุนไพรไทย. (ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF COTTON FABRIC TREATED WITH THAI HERBAL EXTRACTS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อ. ดร. ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล, 97 หน้า.

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย คือ เบญกานี สมอพิเภก หญ้างวงช้าง และใบหนาด ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis* และ *S. aureus*) และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) ด้วยวิธี Disc diffusion method โดยใช้ตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วที่แตกต่างกัน พบว่าสารสกัดจากเอทานอลสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทุกสายพันธุ์ที่ทำการทดสอบ สารสกัดหยาบของเบญกานีแสดงผลยับยั้งจุลินทรีย์ได้สูงสุด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยที่วัดได้จากสารสกัดเบญกานีมีค่าตั้งแต่ 6.2 ถึง 17.7 มิลลิเมตร ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อของสารสกัดมีค่าตั้งแต่ 12.5 ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารประกอบที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของสารสกัดของเบญกานีระบุได้เป็นสารประกอบฟีนอลิก 47.394 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสกัดคือ ที่เวลา 24 ชั่วโมง ณ อุณหภูมิห้อง ขนาดอนุภาค 75 ไมโครเมตร อัตราส่วนตัวทำละลายต่อของแข็งเป็น 10:1 และใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย การศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดแสดงภาพของการสูญเสียโดยสมบูรณ์ของผิวเซลล์และการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ทดสอบทั้งหมดโดยสารสกัดของเบญกานี

การศึกษาการย้อมผ้าฝ้ายด้วยสารสกัดจากสมุนไพร โดยใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก รวมทั้งการใช้สารมอร์แดนท์อะลูมิเนียมและเหล็ก ที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักก่อนการชุบสารสกัด แล้วนำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ จากผลการทดลองพบว่าการใช้สารสกัดจะเพิ่มฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของผ้าฝ้าย แต่การใช้สารมอร์แดนท์จะไม่มีผลเสริมฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์แต่ช่วยเพิ่มการคงทนของสารสกัดต่อการขัดถู

ภาควิชา วิศวกรรมเคมี ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

ปีการศึกษา 2554

5270785021: MAJOR CHEMICAL ENGINEERING

KEYWORDS: THAI HERBAL EXTRACTS / ANTIMICROBIAL / COTTON FABRIC

PICHET DUANGSRI: ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF COTTON FABRIC TREATED WITH THAI HERBAL EXTRACTS. ADVISOR: CHUTIMON SATIRAPIPHATKUL, D. Eng 97 pp.

This study evaluated the antimicrobial activities of crude extracts of traditional Thai herbs i.e. *Quercus infectoria* galls, *Terminalia bellerica* Roxb, *Heliotropium indicum* and *Blumea balsamifera* against both gram-positive bacteria (*B. subtilis* and *S. aureus*) and gram-negative bacteria (*E. coli*) by Disc diffusion method using solvents of different polarities. The results showed that the methanolic extracts can inhibit all the tested microbial strains. The crude extracts of *Q. infectoria* galls exhibited the highest antimicrobial activity. The average clear zone of the inhibition of *Q. infectoria* galls ranged from 6.2 to 17.7 mm. The minimum inhibition concentration values of the extracts ranged from 12.5 to100 µg/L. The antimicrobial compounds in the extracts of *Q. infectoria* galls were identified as phenolic compounds of 47.394 % by weight. The optimum conditions for the extraction were found at 24 h extraction time, room temperature, particle size of 75 µm, solvent to solid ratio of 10:1 and using ethanol as solvent. Scanning electron microscopy illustrated a complete loss of cell surface and morphological changes of all the test microbial strains by the extracts of *Q. infectoria* galls.

Treatment of cotton fabric with the extract of Thai herbs at room temperature for 45 min was studied. The results showed that treated cotton fabric can inhibit all the tested microbial strains. The fabric treated with extracts of *Q. infectoria* galls exhibited the highest antimicrobial activity. The effects of aluminum and iron mordant in concentration of 0.5 % o. w.f. were investigated. It revealed that adding of mordant has no effect on the antimicrobial efficiency of treated cotton fabric but increased the exhaustion to rubbing.

Department: Chemical Engineering Student's Signature .....

Field of Study: Chemical Engineering Advisor's Signature .....

Academic Year: 2011 .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีโดยได้รับความอนุเคราะห์ช่วยเหลือที่ดีจากบุคคลต่างๆ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ชุติมณฑน์ สถิรพิพัฒน์กุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำแนวทางการวิจัย และให้ข้อคิดเห็นในการแก้ไขปัญหาต่างๆ ตลอดจนช่วยแก้ไขและเพิ่มเติมวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตั้งแต่ต้นจนสำเร็จเป็นรูปเล่ม

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ซึ่งประกอบด้วย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มนตรี วงศ์ศรี ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรเทพ เขียวหอม และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วันเซ็ง สิทธิกิจโยธิน กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณเพื่อน พี่และน้องๆ ทุกคนที่ได้ให้ความช่วยเหลือให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี ท้ายที่สุด ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ทุกคนในครอบครัว และท่านผู้มีพระคุณทุกท่าน ที่ได้ให้ความสนับสนุนและเป็นกำลังใจแก่ข้าพเจ้าในการศึกษามาโดยตลอด

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญรูป	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ข้อมูลทั่วไปของเบญกานี	3
2.1.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากเบญกานี ในการยับยั้งจุลินทรีย์	4
2.2 ข้อมูลทั่วไปของสมอพิเภก	5
2.2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากสมอพิเภก ในการยับยั้งจุลินทรีย์	6
2.3 ข้อมูลทั่วไปของหญ้างวงช้าง	7
2.3.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากหญ้างวงช้าง ในการยับยั้งจุลินทรีย์	8
2.4 ข้อมูลทั่วไปของหนาด	9
2.4.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากใบหนาด ในการยับยั้งจุลินทรีย์	10

หน้า

2.5 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compound) 11
2.5.1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิก 11
2.5.2 ตัวอย่างสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืช 12
2.6 การสกัดของแข็งด้วยตัวทำละลาย 15
2.6.1 หลักการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช 16
2.6.2 กระบวนการสกัดสารสำคัญจากพืช 17
2.6.3 หลักการเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสม 18
2.6.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด 20
2.7 จุลินทรีย์ 21
2.7.1 แบคทีเรีย 21
2.7.2 ยีสต์ 22
2.7.3 รา 23
2.8 การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลินทรีย์ 24
2.8.1 Dilution test 24
2.8.2 Diffusion test 24
2.9 เส้นใยฝ้าย 25
2.9.1 ส่วนประกอบทางเคมีของเส้นใยฝ้าย 25
2.10 สารมอร์แดนท์ (Mordant) 26
2.10.1 กลไกที่ช่วยในการยึดติดของสารมอร์แดนท์ 26
2.10.2 ชนิดของสารมอร์แดนท์ 27
2.10.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพร สำหรับการย้อมย้งจุลินทรีย์ในเส้นใยผ้า 28

บทที่ 3 อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย 29
3.1 อุปกรณ์ 29
3.2 เคมีภัณฑ์ 30
3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ 30
3.4 สมุนไพรที่ใช้ในการทดสอบ 31

หน้า

3.5 วิธีดำเนินงานวิจัย 31

บทที่ 4: ผลการทดลอง วิเคราะห์ผลการทดลอง 37
4.1 ผลการศึกษาปริมาณสารสกัดหยาบของสมุนไพรไทย 37
4.2 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสมุนไพรไทย 42
4.3 ผลการศึกษาขนาดอนุภาคที่มีต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ 45
4.4 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย 48
4.4.1 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี
Disc diffusion method 48
4.4.2 ผลการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต
ของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย 55
4.5 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์
ที่ถูกฤทธิ์ยับยั้งจากสารสกัดจากสมุนไพรไทย 61
4.5.1 การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *E. coli* 61
4.5.2 การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *B. subtilis* 62
4.5.3 การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *S. aureus* 63
4.6 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา
ของสมุนไพรที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย 64
4.7 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของตัวอย่างผ้าฝ้าย
ที่ชุบด้วยสารสกัดสมุนไพร และสารมอร์แดนท์ 67
4.8 ผลการศึกษาความคงทนต่อการซักล้างของตัวอย่างผ้าฝ้าย
ที่ชุบด้วยสารสกัด 73
4.9 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของผ้าฝ้าย 76

บทที่ 5: สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 80
5.1 สรุปผลการวิจัย 80
5.2 ข้อเสนอแนะ 82
รายการอ้างอิง 83

หน้า

ภาคผนวก 88
ภาคผนวก ก 89
ภาคผนวก ข 91
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 97

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากเบญกานีที่ใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์	4
2.2	งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากสมอพิเภกที่ใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์	6
2.3	งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากหญ้างวงช้างที่ใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์	8
2.4	งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากใบหนาดที่ใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์	10
2.5	คุณสมบัติของตัวทำละลายบางชนิดที่ใช้ในการสกัดสมุนไพร	19
2.6	งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรสำหรับการยับยั้งจุลินทรีย์ในเส้นใยผ้า	28
4.1	ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อเชื้อ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus*	54
4.2	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเบญกานีด้วยเอทานอลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เข้มข้น 10^6 เซลล์ ใน 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารสกัด 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	57
4.3	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอพิเภกด้วยเอทานอลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เข้มข้น 10^6 เซลล์ ใน 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารสกัด 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	58
4.4	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดใบหนาดด้วยอะซิโตนยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เข้มข้น 10^6 เซลล์ ใน 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารสกัด 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	59
4.5	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหญ้างวงช้างด้วยเอทิลอะซิเตทที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เข้มข้น 10^6 เซลล์ ใน 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารสกัด 1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	60
4.6	ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบด้วยสารสกัดจากสมุนไพรและมอร์แดนท์	73
4.7	ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบด้วยสารสกัดจากสมุนไพรและมอร์แดนท์ หลังจากทำการซัก 2 ครั้ง	75

ตารางที่ หน้า

4.8 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบด้วยสารสกัดจากสมุนไพร และมอร์แดนท์ หลังจากทำการซัก 5 ครั้ง 76
ข-1 ปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ 91
ข-2 สารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากสมุนไพรจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ 92
ข-3 สารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากเบญกานีที่ขนาดอนุภาคต่างๆ ด้วยเอทานอล ที่อุณหภูมิห้อง 93
ข-4 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยด้วย ตัวทำละลายชนิดต่างๆ 95
ข-5 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบด้วยสารสกัดจากสมุนไพร และมอร์แดนท์ 96

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	รูปเบญกานี	3
2.2	รูปสมอพิเภก	5
2.3	รูปหญ้างวงช้าง	7
2.4	รูปใบหนาด	9
2.5	รูปโครงสร้างทางเคมีของหมู่ฟีนอล	11
2.6	รูปกลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารจำพวกฟีนอลิก	12
2.7	รูปโครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์	12
2.8	รูปโครงสร้างแอนโทไซยานิน (Anthocyanin)	14
2.9	รูปโครงสร้างคูมาริน (Coumarin)	14
2.10	รูปโครงสร้างกรดแกลลิก (Gallic acid)	15
2.11	รูปกระบวนการสกัดสารจากพืช	16
2.12	รูปกระบวนการสกัดสารจากพืชด้วยวิธีต่าง ๆ	17
2.13	รูปลักษณะแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus*	22
2.14	รูปลักษณะยีสต์ *Saccharomyces*	22
2.15	รูปลักษณะรากลุ่ม *Aspergillus*	23
2.16	รูปลักษณะรากลุ่ม *Penicillium*	23
2.17	รูปลักษณะของเส้นใยฝ้าย	25
2.18	รูปการเกิดพันธะโควาเลนท์และพันธะโคออร์ดิเนตระหว่างโลหะกับสารอินทรีย์	26
2.19	รูปการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะกับสี และเส้นใย	27
4.1	รูปลักษณะสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง	39
4.2	รูปสารสกัดสมุนไพรที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ	40
4.3	รูปค่าผลได้สารสกัดหยาบของสมุนไพรที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ	41
4.4	รูปค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิห้อง	44

รูปที่		หน้า
4.5	รูปค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากเบญกานีด้วยเอทานอล	47
4.6	รูปฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเบญกานีจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ	50
4.7	รูปฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดสมอพิเภกจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ	51
4.8	รูปฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดใบหนาดจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ	52
4.9	รูปฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหญ้างวงช้างจาก ตัวทำละลายชนิดต่างๆ	53
4.10	รูปเชื้อ *E. coli*	61
4.11	รูปเชื้อ *B. subtilis*	62
4.12	รูปเชื้อ *S. aureus*	63
4.13	รูปเบญกานีก่อนการสกัด	64
4.14	รูปเบญกานีหลังการสกัดด้วยเอทานอล	65
4.15	รูปเบญกานีหลังสกัดด้วยน้ำกลั่น	65
4.16	รูปเบญกานีหลังสกัดด้วยอะซิโตน	66
4.17	รูปเบญกานีหลังสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต	66
4.18	รูปเบญกานีหลังสกัดด้วยเฮกเซน	67
4.19	รูปฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดเบญกานี	69
4.20	รูปฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดสมอพิเภก	70
4.21	รูปฤทธิ์ยับยั้งเชื้อเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดใบหนาด	71
4.22	รูปฤทธิ์ยับยั้งเชื้อเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดหญ้างวงช้าง	72
4.23	รูปลักษณะของผ้าฝ้ายที่ผ่านการซักล้าง 1 และ 5 รอบ	77
4.24	รูปแสดงภาพถ่ายผ้าฝ้ายที่สภาวะต่างๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด	78
4.25	รูปแสดงภาพถ่ายผ้าฝ้ายที่ผ่านการซักล้างที่สภาวะต่างๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด	79
ก-1	รูปกราฟมาตรฐานสารประกอบฟีนอลิก	90

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

วัสดุสิ่งทอที่ทำจากเส้นใยธรรมชาติเป็นแหล่งอาศัยที่ดีสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เนื่องจากเส้นใยผ้ามีพื้นที่ผิวขนาดใหญ่ และมีความสามารถในการเก็บความชื้น จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ มีรายงานว่ามีการใช้สารเคมีหลายชนิดเพื่อให้ฤทธิ์ต้านจุลชีพในวัสดุสิ่งทอ เช่น เกลืออนินทรีย์ ฟีนอล ยาปฏิชีวนะ สารลดแรงตึงผิว ฟอร์มาลดีไฮด์ และสารประกอบไนไตร เป็นต้น แต่สารเคมีเหล่านี้มีความเป็นพิษต่อมนุษย์ และจะไม่เสื่อมสลายไปในสภาพแวดล้อม ในงานด้านอุตสาหกรรมสิ่งทอยังต้องการที่จะมองหากระบวนการที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมที่จะมาทดแทนการใช้สารเคมีที่เป็นพิษ ดังนั้นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช และสมุนไพรธรรมชาติจึงเป็นตัวเลือกที่ดีสำหรับอุตสาหกรรมสิ่งทอ เนื่องจากเป็นมิตรกับมนุษย์ และสิ่งแวดล้อม

จากการศึกษา และค้นคว้างานวิจัยต่างๆ พบว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรในธรรมชาติมีความสามารถในการออกฤทธิ์ยับยั้ง และทำลายเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสารสกัดจากพืชสมุนไพรในธรรมชาติเหล่านี้สามารถใช้ทดแทนการใช้สารเคมีในอุตสาหกรรมสิ่งทอ อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่พืชสมุนไพรได้อีกด้วย ดังนั้นการนำสารสกัดจากพืชสมุนไพรเหล่านี้มาเป็นส่วนผสมในการย้อม หรือผสมในเส้นใยผ้า จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสม และสามารถไปใช้ประโยชน์ได้จริง

ด้วยเหตุนี้ในการดำเนินงานวิจัยจึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาสารสกัดจากพืชสมุนไพรชนิดต่างๆ ทดแทนการใช้สารเคมีในอุตสาหกรรมสิ่งทอ โดยดูอิทธิพลของตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วแตกต่าง และขนาดของอนุภาคสมุนไพรที่มีผลต่อการสกัด เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มตัวอย่างที่สนใจ รวมทั้งศึกษาการนำสารสกัดที่ได้มาใช้กับตัวอย่างผ้า และการใช้สารมอร์แดนท์ร่วม ทำให้ได้ข้อมูลที่สำคัญต่อการพัฒนาสารสกัดจากพืชสมุนไพรธรรมชาติ ซึ่งสามารถผลิตใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยที่ได้จากตัวทำละลายชนิดต่างๆ

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของสารสกัด และสารตรึงต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดที่ชุบในผ้าฝ้าย

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1.3.1 สกัดสารจากสมุนไพรไทย คือ เบญกานี สมอพิเภก หญ้างวงช้าง และใบหนาด ตรวจหาสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ คือ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* จากสารสกัดที่ได้ ด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น เอทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน

1.3.2 ศึกษาสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดสมุนไพรที่ขนาดอนุภาคต่างๆ ตามเวลา

1.3.3 ศึกษาผลของสารสกัดจากสมุนไพรต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์จุลินทรีย์ โดยการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

1.3.4 ศึกษาการนำสารสกัดจากสมุนไพรที่ชุบในผ้าฝ้ายโดยตรวจสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

1.3.5 ศึกษาผลของสารตรึงต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดที่ชุบในผ้าฝ้ายหลังจากผ่านการซักล้างด้วยสบู่ และน้ำปราศจากไอออน (Deionized water)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงวิธีการที่เหมาะสมในการสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์จากสมุนไพรเบญกานี สมอพิเภก หญ้างวงช้าง และใบหนาด

1.4.2 ทราบถึงผลของสารสกัด และสารตรึงต่อการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในผ้าฝ้าย

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลทั่วไปของเบญกานี

รูปที่ 2.1 เบญกานี

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Quercus infectoria G. Olivier*

ชื่อสามัญ ได้แก่ aleppo galls, downy oak, nutgall, gallnut and oak white gall

ชื่อวงศ์ Fagaceae

ชื่อท้องถิ่น เบญกานี

ส่วนที่สามารถใช้เป็นยา ปูด

ลักษณะ เบญกานีเป็นไม้ยืนต้น ลำต้นขนาดกลาง ประกอบด้วยกิ่งอ่อน มีก้อนแข็งๆ ที่เจริญผิดปกติตรงส่วนกิ่งเรียกว่า ปูด (Gallnut, nutgall, Gall) มีลักษณะค่อนข้างกลม แสดงดังรูป 2.1 สร้างขึ้นมาเพื่อห่อหุ้มไข่ของแมลงชนิด Cynips tinctoria ซึ่งเมื่อการเจริญเข้าสู่ระยะ larva จะกระตุ้นส่วนเนื้อเยื่อให้มี cellular proliferation กลายเป็นปูดซึ่งจะมีแทนนินมาสะสมอยู่

สรรพคุณทางยา ในทางการแพทย์แผนไทยจะนำส่วนปูดของเบญกานีต้มกับน้ำ เพื่อใช้รักษาอาการท้องร่วง ท้องเสีย และอาการบิด หรือนำส่วนปูดของเบญกานีมาฝนกับน้ำเพื่อฆ่าเชื้อโรคในบริเวณผิวที่มีบาดแผล เนื่องจากเบญกานีมีฤทธิ์ทางชีวภาพสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และมีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระทั่วไป

2.1.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากเบญกานีในการยับยั้งจุลินทรีย์

ตารางที่ 2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากเบญกานีที่ใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์

ส่วนที่นำมาสกัด	ตัวทำละลาย	สภาวะที่ใช้ในการสกัด			จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ	ผลการทดสอบ	เอกสารอ้างอิง
		อัตราส่วน (กรัมต่อมิลลิลิตร)	เวลา	อุณหภูมิ			
ปูด	เอทิลแอลกอฮอล์	1:2	7 วัน	อุณหภูมิห้อง	*Erwiniacarotovora* subsp. *carotovora*	สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ดี โดยได้ค่า Inhibition zone 3.51 เซนติเมตร	(Vudhivanich 2004)
ปูด	เอทิลแอลกอฮอล์	1:2	3 วัน	อุณหภูมิห้อง	*R. solanacearum*	สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ดี โดยได้ค่า Inhibition zone 1.63 เซนติเมตร	(Vudhivanich and Supanuntorn 2005)
ปูด	เมทิลแอลกอฮอล์	1:5	1 วัน	30 องศาเซลเซียส	*C. cellulans*	ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (MBC) เท่ากับ 0.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	(Muskhazli 2008)
ปูด	เอทิลแอลกอฮอล์	1:5	7 วัน	อุณหภูมิห้อง	*S. aureus*	ค่า MIC อยู่ในช่วง 63 ถึง 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	(Voravuthikuncahi and Chusri 2009)
ปูด	เอทิลแอลกอฮอล์	-	7 วัน	อุณหภูมิห้อง	*E. coli*	ค่า MIC และ MBC อยู่ในช่วง 0.78 ถึง 1.56 และ 1.56 ถึง 3.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	(Suwalak and Voravuthikunchai 2009)

2.2 ข้อมูลทั่วไปของสมอพิเภก

รูปที่ 2.2 สมอพิเภก

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Terminalia bellerica* Roxb

ชื่อสามัญ Beleric myrobalan

ชื่อวงศ์ Combretaceae

ชื่อท้องถิ่น สมอพิเภก

ชื่ออื่น ลัน แหน แหนขาว แหนต้น สะคู้ และซิบะดู่

ส่วนที่สามารถใช้เป็นยา ราก เปลือกต้น แก่นต้น ใบ ดอก และผลอ่อน

ลักษณะ สมอพิเภกเป็นไม้ยืนต้น ลำต้นต้นขนาดใหญ่ มีพูนพอกขนาดใหญ่ กิ่งอ่อนจะมีขน ใบจะเรียงเดี่ยวสลับยาวประมาณ 7 ถึง 11 เซนติเมตร ออกดอกบริเวณซอกใบ แกนกลางมีสีเหลือง ดอกย่อยจะมีสีครีม ผลสดเป็นรูปกระสวยกว้างเกือบกลม บริเวณผิวจะมีขนนุ่มละเอียดเป็นสีเหลือง แสดงดังรูป 2.2

สรรพคุณทางยา ผลแก่จะมีรสฝาด สามารถใช้แก้โรคในตา บำรุงธาตุ แก้ไข้ แก้โรคริดสีดวงทวารหนัก โรคท้องร่วง และท้องเดิน เมล็ดภายในผลสามารถใช้แก้โรคบิด จนถึงบิดเป็นมูกเลือด ดอกสามารถใช้แก้โรคในตา เปลือกต้น นำมาต้มขับปัสสาวะ และแก่น ใช้แก้โรคริดสีดวง

2.2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากสมอพิเภกในการยับยั้งจุลินทรีย์

ตารางที่ 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากสมอพิเภกที่ใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์

ส่วนที่นำมาสกัด	ตัวทำละลาย	สภาวะที่ใช้ในการสกัด			จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ	ผลการทดสอบ	เอกสารอ้างอิง
		อัตราส่วน (กรัมต่อมิลลิลิตร)	เวลา	อุณหภูมิ			
ผล	เอทิลแอลกอฮอล์และเฮกเซน	1:5	3 วัน	อุณหภูมิห้อง	*B. subtilis*, *E. coli*, *S. typhimurium*.	สารสกัดสามารถแสดงกิจกรรมได้น่าสนใจในการต่อต้านเชื้อดังกล่าวได้ดี	(Ahmad, Mehmood et al. 1998)
ผล	เอทิลแอลกอฮอล์	1:2	7 วัน	อุณหภูมิห้อง	*Erwiniacarotovora* subsp. *carotovora*	สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ดี โดยได้ค่า Inhibition zone 2.80 เซนติเมตร	(Vudhivanich 2004)
ผล	เมทิลแอลกอฮอล์	2:5	2 วัน	อุณหภูมิห้อง	*S. aureus*, *S. typhi* *E. coli*, *C. albicans*, *S. pneumonia*, *S. typhimurium*,	โดยได้ค่า Inhibition zone อยู่ในช่วง 14.0 ถึง 30.0 มิลลิเมตร และ MIC อยู่ในช่วง 250 ถึง >2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	(Elizabeth 2005)
ผล	เอทิลแอลกอฮอล์	1:2	3 วัน	อุณหภูมิห้อง	*R. solanacearum*	สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าวได้ดี โดยได้ค่า Inhibition zone 1.83 เซนติเมตร	(Vudhivanich and Supanuntorn 2005)
ผล	เมทิลแอลกอฮอล์ เอทิลแอลกอฮอล์ อะซิโตน	-	-	-	*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*	สารสกัดจากสมอพิเภกสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้ทั้งหมด	(TAMBEKAR 2007)

2.3 ข้อมูลทั่วไปของหญ้างวงช้าง

รูปที่ 2.3 หญ้างวงช้าง

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Heliotropium indicum* L.

ชื่อสามัญ ALACRANSILLO, EYE BRIGHT, INDIAN HELIOTROPE, INDIAN TURNSOLE and TURNSOLE

ชื่อวงศ์ Boraginaceae

ชื่อท้องถิ่น หญ้างวงช้าง

ชื่ออื่น ผักแพวขาว หญ้างวงช้างน้อย กุนอกาโม หงายงวงช้าง ไต่บ่วยเอี้ยว เฉี่ยผี่เช่า และเงียวบ่วยเช่า

ส่วนที่สามารถใช้เป็นยา สามารถใช้ได้ทั้งต้น

ลักษณะ หญ้างวงช้างเป็นไม้ล้มลุก ลำต้นขนาดเล็ก อายุสั้นเพียงหนึ่งปี ลำต้นมีความสูงประมาณ 30 ถึง 70 เซนติเมตร กิ่งจะแตกแบบเวียนสลับ ใบเดี่ยวเป็นรูปไข่ ขอบใบมีลักษณะเป็นคลื่น ปลายใบแหลม ออกดอกสีขาวเป็นช่อที่บริเวณปลายยอด ส่วนปลายจะโค้งลงเหมือนงวงช้าง แสดงดังรูป 2.3

สรรพคุณทางยา หญ้างวงช้างทั้งต้นสามารถนำมาใช้เป็นยาได้ มีรสชาติขม ใช้แก้อาการกระหายน้ำ ดับร้อนใน ขับปัสสาวะ แก้อาการบวม แก้พิษจากอาการปอดอักเสบ หรือหนองในช่องหุ้มปอด เจ็บคอ เป็นนิ่วในกระเพาะปัสสาวะ ปากเปื่อย แผลบวม และแก้ตาฟาง

2.3.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากหญ้างวงช้างในการยับยั้งจุลินทรีย์

ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากหญ้างวงช้างที่ใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์

ส่วนที่นำมาสกัด	**ตัวทำละลาย**	**สภาวะที่ใช้ในการสกัด**			**จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ**	**ผลการทดสอบ**	**เอกสารอ้างอิง**
		อัตราส่วน (กรัมต่อมิลลิลิตร)	**เวลา**	**อุณหภูมิ**			
ทั้งต้น	เมทิลแอลกอฮอล์	1:10	-	-	*S. aureus*, *E. coli*, *S. typhi*, *P. aeruginosa*	สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าวได้โดยค่า MIC อยู่ในช่วง 2 ถึง 8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	(Jelager, Gurib-Fakim et al. 1998)
ทั้งต้น	เอทิลแอลกอฮอล์	-	12 ชม.	อุณหภูมิห้อง	*S. aureus*, *E. faecalis* *C. albicans*	พบว่าสกัดจากหญ้างวงช้างสามารถยับยั้งเชื้อที่ใช้ทดสอบได้ดีในระดับที่น่าสนใจ	(Atindehou, Kone et al. 2002)
ใบ	ปิโตรเลียมอีเธอร์ เมทิลแอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม น้ำ	-	2 วัน	60 องศาเซลเซียส	*B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, *A. sniger* *P. aeruginosa*, *C. albicans*	สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าวได้โดยค่า MIC อยู่ในช่วง 12.5 ถึง 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	(Dash and Murthy 2011)
ทั้งต้น	เมทิลแอลกอฮอล์	1:5	3 วัน	อุณหภูมิห้อง	*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella spp.*, *S. aureus*	สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าวได้โดยค่า MIC อยู่ในช่วง 50 ถึง 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	(Osungunna and Adedeji 2011)

2.4 ข้อมูลทั่วไปของหนาด

รูปที่ 2.4 ใบหนาด

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Blumea balsamifera* (L.) DC.

ชื่อวงศ์ Asteraceae

ชื่อท้องถิ่น หนาด

ชื่ออื่น หนาดหลวง ผักชีช้าง พิมเสน และใบหรม

ส่วนที่สามารถใช้เป็นยา ใบและยอดอ่อน

ลักษณะ หนาดเป็นไม้ยืนต้น มีกลิ่นหอมคล้ายการบูร ลักษณะลำต้นกลม กิ่ง และก้านมีขนยาวนุ่ม เปลือกของลำต้นมีสีน้ำตาลเทา ใบเดี่ยวลักษณะเป็นรูปวงรีแกมขอบขนาน ผิวของใบทั้งสองด้านจะมีขนขึ้นละเอียดหนาแน่น ปลายและโคนใบแหลม ก้านใบจะมีรยางค์ประมาณ 2 ถึง 3 อัน แสดงดังรูป 2.4 ดอกช่อจะออกที่ปลายกิ่งและตามซอกใบ ลักษณะเป็นช่อกลม ช่อดอกจะมีขนาดโตไม่เท่ากัน กลีบดอกจะมีสีเหลือง

สรรพคุณทางยา ในทางการแพทย์แผนไทยและพื้นบ้านจะใช้ ใบและยอดอ่อน ถ้ากลั่นด้วยไอน้ำจะได้พิมเสนที่ตกผลึกออกมา นำมาทำเป็นยาสำหรับรับประทานแก้อาการปวดท้อง ท้องร่วง และใช้ขับลม ถ้าใช้ภายนอกจะบดเป็นผงใส่บาดแผลแก้อาการแผลอักเสบ กลากเกลื้อน และแผลฟกช้ำ ใบและยอดอ่อนถ้านำมาต้มจะสามารถใช้เป็นยาแก้ไข้ ขับเหงื่อ แก้จุกเสียด แน่นเฟ้อ ปวดท้อง ขับเสมหะ แก้ริดสีดวงจมูก ขับลมในลำไส้ ขับพยาธิ แก้บิดและบำรุงกำลัง ในใบหนาดจะพบสาร cryptomeridion ที่มีฤทธิ์ลดการเกร็งของกล้ามเนื้อเรียบ เช่น กล้ามเนื้อหลอดลม

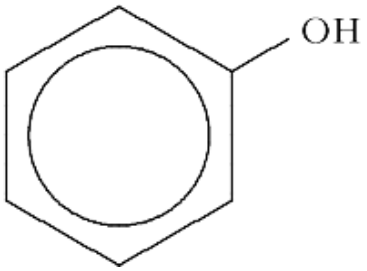
2.4.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากใบหนาดในการยับยั้งจุลินทรีย์

ตารางที่ 2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารสกัดจากใบหนาดที่ใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์

ส่วนที่นำมาสกัด	ตัวทำละลาย	สภาวะที่ใช้ในการสกัด			จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ	ผลการทดสอบ	เอกสารอ้างอิง
		อัตราส่วน (กรัมต่อมิลลิลิตร)	เวลา	อุณหภูมิ			
ใบ	เอทิลแอลกอฮอล์	-	-	-	*E. coli, S. Anatum, S. aureus, B. subtilis,*	สารสกัดจากใบหนาด มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก	(Ongsakul, Jindarat et al. 2009)
ใบ	เมทิลแอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม อะซิโตน	-	2 วัน	50 องศาเซลเซียส	*C. gloeosporioides*	โดยค่า MIC ของสารสกัดที่สกัดด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ คลอโรฟอร์ม และอะซิโตน มีค่าเท่ากับ 15.00 17.50 และ 17.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	(Johnny, Yusuf et al. 2010.)
ใบ	น้ำ	-	3 ชม.	-	*E. coli*, *B. subtilis S. aureus*	โดยมีค่า inhibition zone ตั้งแต่ 21.5 ถึง 23.8 มิลลิเมตร	(Zhu, Tian et al. 2011)
ใบ	เมทิลแอลกอฮอล์ เฮกเซน	3:8	2 วัน	อุณหภูมิห้อง	*S. aureus E. coli*, *B. subtilis, P. aeruginosa*	สารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อดังกล่าวได้ โดยค่า MIC อยู่ในช่วง 150 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	(Sakee, Maneerat et al. 2011)
ใบ	เอทิลอะซิเตต	-	-	-	*A. niger, C. albicans, T. mentagrophytes*	สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์โดยมีค่า inhibition zone ตั้งแต่ 13 ถึง 18 มิลลิเมตร	(Ragasa, Co et al. 2005)

2.5 **สารประกอบฟีนอลิก** (Phenolic Compound)

สารประกอบฟีนอลิก คือ อนุพันธ์ของเบนซินที่มีหมู่ไฮดรอกซิลต่ออยู่เป็นหลัก และมีหมู่แทนที่ต่าง ๆ แทนที่ในตำแหน่ง ออโท (orto) เมตา(meta) หรือพารา (para) โครงสร้างสารฟีนอลิกพื้นฐาน คือ ฟีนอล (phenol) ประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) 1 หมู่ แสดงดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 โครงสร้างทางเคมีของหมู่ฟีนอล

สารประกอบฟีนอลิกสามารถแบ่งได้เป็น 3 ชนิด ตามจำนวนของวงฟีนอล ได้แก่

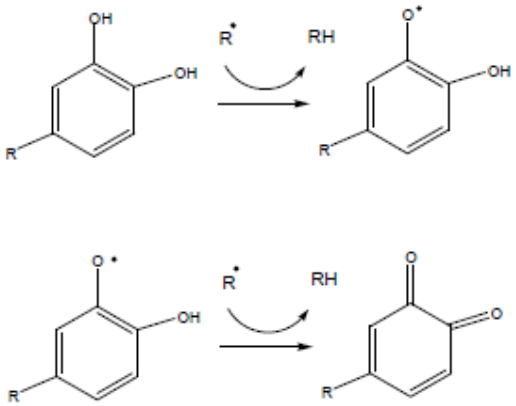
1. Monocyclic phenol ตัวอย่างเช่น Phenolic acid, Coumarin และ Benzoquinones
2. Dicyclic phenol ตัวอย่างเช่น Flavonoids, Lignans และ Neolignans
3. Polycyclic phenol หรือ polyphenol ตัวอย่างเช่น Lignins, Flavolans และ Tannic acid

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้โดยทั่วไปตามธรรมชาติในพืช เกิดขึ้นจากกระบวนการเมทาบอลิซึมในขั้นที่สองของพืช (secondary metabolites) พืชจะสังเคราะห์ขึ้นระหว่างการเจริญเติบโตและสามารถถูกกระตุ้นการสร้างจากปัจจัยอื่น เพื่อปกป้องฟื้นฟูจากการติดเชื้อ เพื่อซ่อมแซมส่วนที่เสียหาย และปกป้องยูวีจากแสงแดด รวมทั้งยังเป็นสารที่ทำให้เกิดสีในพืช สารประกอบนี้จะพบได้ในทุกส่วนของพืชไม่ว่าจะเป็นส่วนของใบ ลำต้น ดอก ผล และราก (Naczk and Shahidi 2004) อีกทั้งยังพบได้ทั่วไปในอาหาร และเครื่องดื่ม เช่น ผัก ผลไม้ ซีเรียล น้ำมัน มะกอก ชา กาแฟ เบียร์ และไวน์ เป็นต้น

2.5.1 **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิก**

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารกลุ่มใหญ่ที่พบได้มากในพืช เช่น ฟลาโวนอยด์ ที่มี catechol เป็นองค์ประกอบ stilbenes และแทนนินมีโครงสร้างหลักประกอบด้วย aromatic ring แทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซิล โดยมากเป็นสารที่มีขั้วละลายในตัวทำละลายแอลกอฮอล์ได้ดี กลไกของสารประกอบฟีนอลิกที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แสดงในรูปที่ 2.6 เมื่อมีอนุมูลอิสระมาดึง

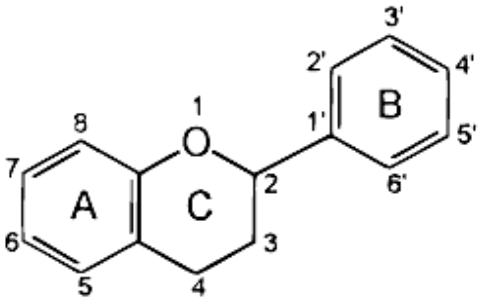
อิเล็กตรอนไป แต่ในโครงสร้างมีอิเล็กตรอนหนาแน่นจึงสามารถเกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไปทั่วโครงสร้าง (delocalization) ทำให้โครงสร้างเสถียรไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระต่อไป (Pietta 2000)



รูปที่ 2.6 กลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารจำพวกฟีนอลิก (Pietta 2000)

2.5.2. ตัวอย่างสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืช

2.5.2.1 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิก พบได้ในพืช ผัก และผลไม้ โครงสร้างหลักของฟลาโวนอยด์จะเป็นไดฟีนิลโพรเพน (diphenylpropane) ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอนทั้งหมด 15 อะตอมจัดเรียงเป็นวงแหวน 3 วงเรียงต่อกัน แสดงดังรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์ (Pietta 2000)

การจำแนกกลุ่มของฟลาโวนอยด์ สามารถจำแนกได้ตามโครงสร้างโดยฟลาโวนอยด์แต่ละกลุ่มจะมีโครงสร้างตรงบริเวณวงแหวน C แสดงตามรูปที่ 2.7 แตกต่างกันในขณะที่สารแต่ละชนิดในกลุ่มอื่นจะมีโครงสร้างบริเวณวงแหวน A และวงแหวน B ที่แตกต่างกัน โดยที่จะมีหมู่ ได้แก่ หมู่ไฮดรอกซิล และหมู่เมทอกซิล (methoxyl group) เข้ามาแทนที่ในตำแหน่งคาร์บอน ได้มีการ

จำแนกฟลาโวนอยด์ ออกเป็นกลุ่มไว้มากกว่า 13 กลุ่ม (Kris-Etherton, P. M. et al. 2002) แต่มีกลุ่มที่ได้รับความสนใจเนื่องจากพบได้ในปริมาณที่มากในพืช มี 6 กลุ่ม ดังนี้

1. ฟลาโวน (flavones) ได้แก่ luteolin และ apigenin สามารถพบได้มากในพวก เมล็ดพืช พืชสมุนไพรต่างๆ และในผลไม้ตระกูลส้ม

2. ฟลาโวนอล (flavonols) ได้แก่ quercetin, kaempferol และ myricetin สามารถพบในปริมาณมาก พบได้ทั่วไปในผัก และผลไม้หลายชนิด เช่นกระเทียมต้น หัวหอมใหญ่ และสตรอเบอรี่ เป็นต้น

3. ฟลาวาน-3-ออล (flavanols or flavan-3-ols) ได้แก่ (+)-catechin, (-)-epicatechin และ (-)-epigallocatechin สามารถพบได้มากในใบชา ในผลไม้เช่น องุ่น และแอปเปิ้ล

4. ฟลาวาโนน (flavanones) ได้แก่ hesperetin และ naringenin สามารถพบได้มาก ในพืชตระกูลส้ม และในมะเขือเทศ

5. แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) ได้แก่ anthocyanin สามารถพบมากใน ผลไม้ที่มีสีแดง เช่น แอปเปิ้ล องุ่นแดง สตรอเบอรี่ ราสเบอรี่ และ เชอรี่ เป็นต้น

6. ไอโซฟลาโวน (isofalvones) ได้แก่ genistein, genistin, daidzein และ daidzin สามารถพบได้มากใน Alfalfa, clover ผักตระกูล brassica และเมล็ดพืชต่างๆ

ประโยชน์ของฟลาโวนอยด์ ได้แก่

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidation) ทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชันหรือต้านอนุมูลอิสระ สามารถช่วยป้องกันการถูกทำลายของเซลล์ เนื้อเยื่อร่างกายจากอนุมูลอิสระและออกซิเจนอิสระ

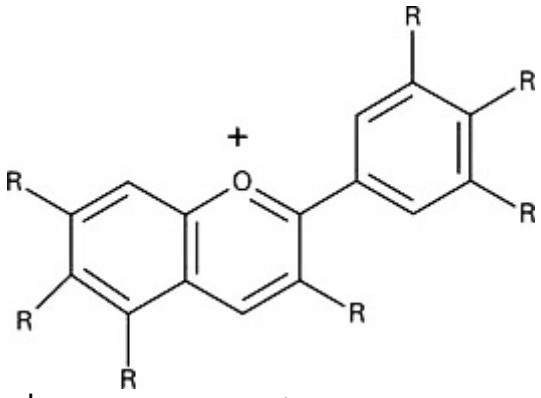
สารต้านจุลินทรีย์ เช่น สารเควอเซติน มีคุณสมบัติเป็นสารต้านเชื้อแบคทีเรีย สารโนบิลิติน แทนเจอเรติน และเฮสเพอริดิน มีคุณสมบัติเป็นสารต้านเชื้อรา

สารต้านเชื้อไวรัส เช่น สารเควอซิติน มอริน รูติน ไดไฮโดรเควอซิติน เอพิจีนิน คะเตชิน และเฮสเพอริดิน สามารถต้านทานไวรัสได้ถึง 11 ชนิด

สารต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) ทำหน้าที่ยับยั้งการอักเสบ เนื่องจากเมื่อเกิดการอักเสบจะเป็นการเพิ่มอนุมูลอิสระ และเร่งการพัฒนาอนุมูลอิสระ เช่น สารเคมเฟอรอล เควอซิติน ไมริเซติน และ ฟิเซอติน

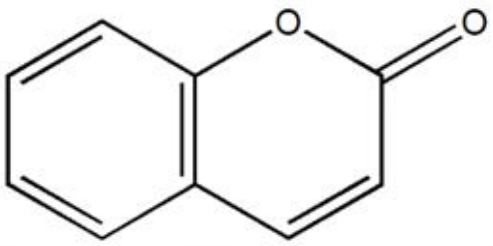
ลดปริมาณ LDL cholesterol ซึ่งเป็นคอเรสเตอรอลที่มีผลเสียต่อร่างกายถ้าหากร่างกายมีในปริมาณมาก ซึ่งถ้าร่างกายมีปริมาณของ LDL cholesterol มาก จะส่งผลให้เกิดอาการหลอดเลือดแดงตีบตัน

2.5.2.2 **แอนโทไซยานิน** (Anthocyanin) เป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่สามารถละลายได้ในน้ำ มีรงค์วัตถุที่มีสีแดงไปจนถึงสีฟ้าซึ่งจะขึ้นอยู่กับค่าพีเอช แอนโทไซยานินประกอบด้วยจำนวนคาร์บอน 15 อะตอม และประกอบไปด้วยวงเบนซีนสามวงโดยมีออกซิเจนเชื่อมอยู่สองอะตอมในวงเบนซีน แอนโทไซยานินสามารถพบได้ในเนื้อเยื่อของพืชรวมทั้งส่วนของใบ ลำต้น ราก ดอก และผล สารที่พบส่วนใหญ่จะเป็นพวกไกลโคไซด์ของแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) สารชนิดนี้ส่วนใหญ่พบได้ในผลไม้ที่มีสีแดง ม่วง และฟ้า โครงสร้างแอนโทไซยานินแสดงดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 โครงสร้างแอนโทไซยานิน (Anthocyanin)

2.5.2.3 **คูมาริน** (Coumarin) เป็นสารที่มีกลิ่นหอมคล้ายกลิ่นวนิลา โครงสร้างโดยทั่วไปคือ 2-**α**-benzopyrone พบในธรรมชาติทั้งรูปแบบไกลโคไซด์ และอะไกลโคน มีการจำแนกคูมารินตามลักษณะโครงสร้างแบ่งออกเป็น simple coumarins, furanocoumarins, pyrocoumarins, phenyl coumarins และ bicoumarins พบได้ในพืช เช่น พันธุ์ผักกาด และเมล็ดทอกา เป็นต้น โครงสร้างคูมารินแสดงดังรูปที่ 2.9



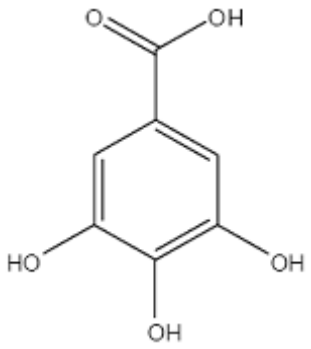
รูปที่ 2.9 โครงสร้างคูมาริน (Coumarin)

2.5.2.4 **กรดฟีนอลิก** (Phenolic acid) เป็นสารอินทรีย์ที่ประกอบด้วยวงของฟีนอลิก และเป็นฟังก์ชั่นของกรดคาร์บอกซิลิก (Carboxylic acid) กรดฟีนอลิกที่พบจะแบ่งได้ตามโครงสร้าง เช่น

1. monohydroxybenzoic acids ได้แก่ paraben, methyl paraben และpropyl paraben

2. dihydroxybenzoic acids ได้แก่ gentisic acid และ protocatechuic acid

3. trihydroxybenzoic acids ได้แก่ gallic acid และ phloroglucinol carboxylic acid ตัวอย่างโครงสร้างกรดฟีนอลิกแสดงดังรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 โครงสร้างกรดแกลลิก (Gallic acid)

2.5.2.5 **แทนนิน (Tannin)** เป็นสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิก ให้รสฝาดในพืช พบได้ในพืชหลายชนิด แทนนินมี 2 ชนิด ได้แก่

1. Condensed tannins พบได้ในส่วนเปลือกต้น และแก่นไม้เป็นส่วนใหญ่

2. Hydrolysable tannins พบมากในส่วนใบ ฝัก และส่วนที่ปูดออกมา (gall)

ประโยชน์ของแทนนิน แทนนินมีคุณสมบัติสามารถตกตะกอนโปรตีนทำให้หนังสัตว์ไม่เน่าเปื่อย มีฤทธิ์ฝาดสมาน จึงนิยมใช้เป็นยารักษาอาการท้องเสีย นอกจากนี้แทนนินยังมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ ในยาที่ต้องการฤทธิ์ Haemostatic และ anti-inflammatory เช่น ในน้ำยาบ้วนปาก ในทางเภสัชกรรมมักจะใช้ กรดแทนนิน (Tannic acid) แต่งรสยาลดกรด และช่วยลดกรดได้ด้วย แทนนินยังมีฤทธิ์รักษาแผล อาการอักเสบของผิวหนังและเยื่อบุผิวหนัง

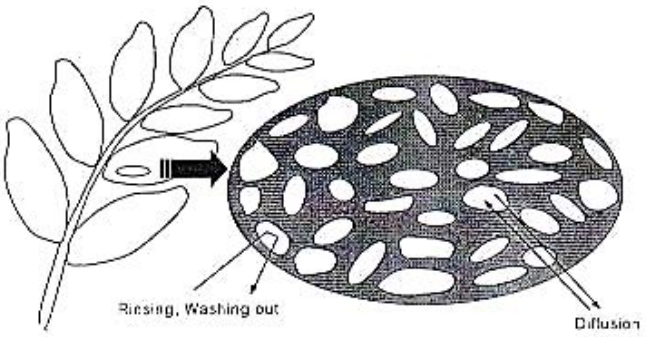
2.6 การสกัดของแข็งด้วยตัวทำละลาย

การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction) เป็นกระบวนการถ่ายโอนส่วนประกอบหนึ่งจากของแข็ง ของเหลวด้วยตัวทำละลายที่เป็นของเหลว สามารถแบ่งการสกัดด้วยของเหลวออกเป็นสองประเภท คือ การสกัดของแข็งด้วยของเหลว (solid - liquid extraction) หรือการชะละลาย (leaching) และการสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid - liquid extraction)

การสกัดของแข็งด้วยของเหลวเป็นการใช้ตัวทำละลายที่เป็นของเหลวละลายสารที่อยู่ในของแข็งที่ละลายได้ในตัวทำละลาย (Solute) ออกมาจากของผสมที่เป็นของแข็ง ซึ่งตัวทำละลายที่นิยมส่วนใหญ่ใช้ได้แก่ เฮกเซน อีเธอร์ เมธิลีนคลอไรด์ คลอโรฟอร์ม อะซีโตน แอลกอฮอล์ และน้ำ

2.6.1 **หลักการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช**

การแยกสารออกจากพืช โดยทั่วไปจะใช้วิธีการสกัดของแข็งด้วยตัวทำละลายจากสารที่ต้องการที่อยู่ในของแข็งจะถูกสกัดด้วยของเหลวออกมา เกิดการถ่ายเทมวลสารขึ้นเนื่องจากการพา (Convection) การแพร่เชิงโมเลกุล (Molecule diffusion) และการแพร่แบบเอ็ดดี้ (Eddy diffusion) ที่เกิดขึ้นจากการไหลแบบ Turbulence flow ซึ่งการพา และการแพร่แบบเอ็ดดี้ จะส่งผลต่อการสกัดมากกว่าการแพร่เชิงโมเลกุล แต่เนื่องจากภายในโมเลกุลของแข็งอยู่กระจัดกระจายไม่เป็นระเบียบ การแพร่ของสารที่เกิดขึ้นภายในโมเลกุลจะเป็นการแพร่แบบสุ่ม (Random Molecular Diffusion) ที่เป็นอิสระจากกัน จะมีผลอย่างมากในขั้นตอนการแพร่ของสารที่สกัดจากของแข็งไปยังตัวทำละลายใหม่ จึงกำหนดให้ การแพร่เชิงโมเลกุลในของแข็งเป็นขั้นกำหนดอัตรา (Rate limiting step) การสกัดสารที่มีอยู่ในพืชสามารถอธิบายได้จากรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 กระบวนการสกัดสารจากพืช (List and Schmidt 1989)

จากรูปที่ 2.11 ในการกระบวนการสกัดสารจากพืชจะมี 2 กระบวนการที่เกิดขึ้นคือ

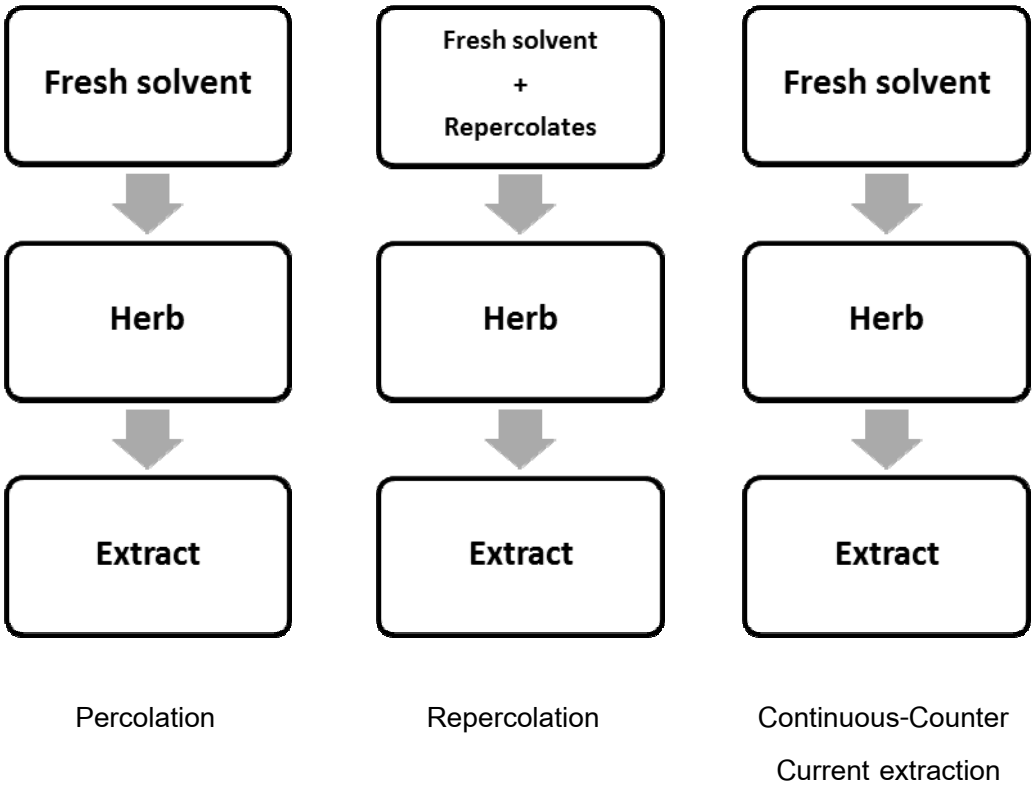
1. การชะล้าง (Rinsing) สารที่ถูกสกัดออกจากเซลล์พืช
2. การละลายหรือการสกัดโดยการแพร่ (Diffusion) ซึ่งกระบวนการนี้ต้องทำให้เซลล์เปียกและเต็มไปด้วยตัวทำละลายก่อน จึงจะซึมผ่านผนังเซลล์เข้าไปได้

จากงานวิจัยสามารถอธิบายขั้นตอนของการสกัดออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ

1. การซึมเข้าไปของตัวทำละลายในเซลล์พืชและการทำให้เซลล์เต็มไปด้วยตัวทำละลาย
2. การละลายสารที่สกัดออกมา
3. การแพร่ของสารที่ละลายออกมาจากเซลล์พืช (List and Schmidt 1989)

2.6.2 กระบวนการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช

เทคนิคการสกัดเอาสารตั้งต้นออกจากของแข็ง เช่น พืช และสมุนไพร เพื่อให้ได้สารออกมามากที่สุด จำเป็นต้องมีเทคนิคที่เหมาะสม โดยทั่วไปสามารถทำได้หลายวิธี แสดงดังรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.12 กระบวนการสกัดสารจากพืชด้วยวิธีต่าง ๆ (List and Schmidt 1989)

1. การแช่ (Percolation) คือ การแช่พืชทีผ่านการบดเป็นผงในตัวทำละลาย และมีการเติมตัวทำละลายใหม่ตลอดเวลา อาจจะทำในภาชนะที่เรียกว่า percolator มีข้อเสียคือ ใช้ตัวทำละลายเป็นจำนวนมากและใช้เวลานาน

2. การสกัดแบบหมุนเวียน (Repercolation) คือ การสกัดโดยนำตัวทำละลายใหม่กับสารที่สกัดจากการแช่มาหมุนเวียนการสกัด โดยที่วิธีนี้จะทำให้ได้สารที่ต้องการมีความเข้มข้นมากกว่าแบบแช่ (Percolation)

3. การสกัดต่อเนื่องแบบสวนทาง (Continuous-Counter current extraction) คือ กระบวนการสกัดโดยใช้วิธีการไหลสวนทางต่อเนื่องเป็นขั้นๆ ในหลายๆ เครื่องสกัดหรืออาจใช้เครื่องสกัดเป็นเพียงเครื่องเดียว โดยในการสกัดตัวทำละลายจะทำหน้าที่ละลายตัวถูกละลายทุกชนิดที่อยู่ในของแข็งที่ป่อนเข้ามา และไม่มีการดูดซึมของตัวทำละลายกับของแข็ง ดังนั้นการที่ตัวทำละลายเข้าไปทำละลายตัวถูกละลายอย่างสมบูรณ์ และเกิดจนสารละลายทั้งสองวัฏภาคมีความเข้มข้นเท่ากัน นั้นคือ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบในทั้งสองวัฏภาค

2.6.3 **หลักการเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสม**

ในการเลือกตัวทำละลายจะอาศัยหลักเกณฑ์ต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. ตัวทำละลายสามารถละลายสารที่ต้องการสกัดได้
2. ตัวทำละลายต้องไม่ละลายสารอื่นๆ ที่เราไม่ต้องการสกัด
3. ตัวทำละลายต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่เราต้องการสกัด
4. ตัวทำละลายต้องสามารถแยกออกจากสารที่เราต้องการสกัดได้ง่าย และมีจุดเดือดต่ำระเหยได้ง่าย
5. ตัวทำละลายไม่เป็นพิษ และมีราคาถูก

คุณสมบัติของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารจากสมุนไพรสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 คุณสมบัติของตัวทำละลายบางชนิดที่ใช้ในการสกัดสมุนไพร (Leela and Satirapipathkul 2010)

ตัวทำละลาย	คุณสมบัติ
แอลกอฮอล์	เมทานอล และเอทานอล เป็นที่นิยมใช้กันมาก เพราะมีความเป็นพิษต่ำ มีอำนาจในการละลายสารกว้างมาก ลดปฏิกิริยาการสลายตัวของน้ำ ขจัดออกได้ง่ายโดยไม่ต้องใช้ความร้อนสูง และยังใช้ทำละลายเอนไซม์ในพืชได้
น้ำกลั่น	เป็นตัวทำละลายที่สำคัญ ไม่ไวไฟ ไม่เป็นพิษ หาง่าย ราคาถูก และสกัดสารได้หลายชนิด แต่ไม่มีความคงตัว อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ง่าย ก่อนนำมาใช้ต้องผ่านกระบวนการกำจัดเชื้อให้เรียบร้อย
อะซิโตน	เป็นตัวทำละลายที่กำจัดไขมันได้ดีและสามารถละลายสารพื้นฐานในพืชได้บ้าง แต่มีข้อเสียคือ มีกลิ่นฉุน กำจัดออกได้ยาก
อีเทอร์	เป็นตัวทำละลายที่ละลายสารได้จำกัดชนิด ไม่ละลายสารพื้นฐานชนิดอื่นๆที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อสมุนไพร
คลอโรฟอร์ม	เป็นตัวทำละลายที่สามารถละลายได้ในสารเกือบทุกชนิด แต่มีข้อเสียคือ หากได้รับประทานเข้าไปจะเป็นสารก่อมะเร็ง
เฮกเซน	เหมาะสำหรับสารไม่มีขั้ว และราคาถูก
เอสเทอร์	เป็นตัวทำละลายในการสกัดยาสมุนไพร ทำให้ตัวยาสำคัญเข้มข้นและทำให้บริสุทธิ์
เมทิลีนคลอไรด์	เกิดอิมัลชัน แต่ทำให้แห้งหรือระเหยได้ยาก

2.6.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด

1. ระยะเวลาในการสกัด เป็นตัวแปรที่มีอิทธิพลมากต่ออัตราการสกัด โดยสารในของแข็งจะแพร่เข้าสู่ของเหลวระยะเวลาตั้งแต่เริ่มสัมผัสกันของของเหลวจนถึงความเข้มข้นทั้งสองสถานะมีความเข้มข้นเข้าสู่จุดสมดุล ซึ่งถ้าเวลาน้อยกว่าระยะที่เข้าสู่จุดสมดุลจะสกัดสารสำคัญได้น้อยลง

2. ขนาดของอนุภาคของแข็ง เป็นตัวแปรที่มีอิทธิพลต่ออัตราการสกัด โดยที่ขนาดของอนุภาคเล็กจะทำให้พื้นที่ผิวในการถ่ายเทมวลสารมากขึ้นและระยะทางของตัวทำละลายที่อยู่ภายในของแข็งจะแพร่กระจายออกสู่ตัวทำละลายได้ดี ซึ่งมีผลให้สกัดมีประสิทธิภาพสูงสุด

3. ชนิดตัวทำละลาย ตัวทำละลายมีผลต่อการสกัด โดยในการสกัดให้ได้ผลดีขึ้นอยู่กับการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวทำละลายที่ดีควรมีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายที่สามารถละลายสารที่เราต้องการสกัดได้ดีพอ ไม่ระเหยง่ายหรือยากจนเกินไป ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่เราต้องการสกัด ไม่เป็นพิษและราคาไม่แพงมากนัก

4. อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด กระบวนการสกัดทั่วไปจะกระทำที่อุณหภูมิสูง เนื่องจากการละลายของตัวทำละลายที่อุณหภูมิสูงเกิดขึ้นได้ดีกว่า จึงทำให้ความเข้มข้นของตัวทำละลายในส่วนที่สกัดสูงขึ้น อัตราการชะละลายจะเพิ่มขึ้น เนื่องจากความหนืดของของเหลวลดลงและการแพร่ของตัวทำละลายสูงกว่าค่าที่อุณหภูมิต่ำ อย่างไรก็ตามการใช้อุณหภูมิสูงอาจทำให้ได้สารที่ไม่ต้องการถูกสกัดออกมามากเกินไป หรือ ตัวทำละลายอาจสูญเสียไปมาก ดังนั้นจึงต้องอาศัยการพิจารณาความเหมาะสม

5. การปั่นกวน การกวนเป็นการเพิ่มการแพร่แบบเอ็ดดี้ (eddy diffusion) ทำให้เพิ่มการเคลื่อนที่ของอนุภาคและสารละลาย ช่วยป้องกันการตกตะกอนและการเพิ่มพื้นที่สัมผัสกับพื้นผิว

6. อัตราการป้อนตัวทำละลาย ในการสกัดแบบต่อเนื่องการป้อนตัวทำละลายจะส่งผลต่อการสกัด เนื่องจากการถ่ายเทมวลสารจะเกิดขึ้นมากเมื่อความแตกต่างความเข้มข้นของสารในบริเวณตัวทำละลายกับบริเวณพื้นที่ผิวของอนุภาคมีค่ามาก เมื่อป้อนตัวทำละลายใหม่แบบต่อเนื่องจะทำให้การถ่ายเทมวลสารโดยการพาเกิดขึ้นได้มากกว่าการสกัดแบบกะ แต่เมื่อเพิ่มอัตราการป้อนมากเกินไปอาจทำให้ไม่เกิดการถ่ายเทมวลสารที่มาก ดังนั้นควรเลือกใช้อัตราการป้อนที่เหมาะสม

2.7 จุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ให้เกิดการเน่าเสียมี 3 ประเภท ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ และรา

2.7.1 แบคทีเรีย

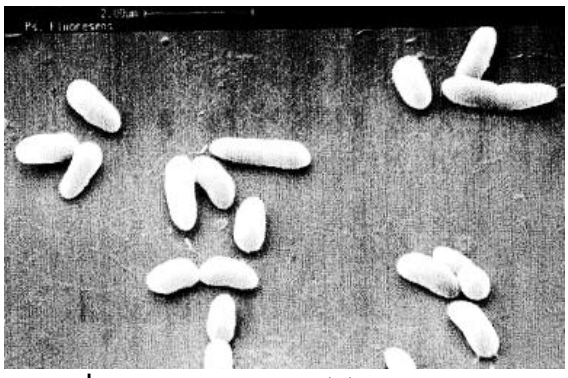
เป็นประเภทของสิ่งมีชีวิตประเภทใหญ่ประเภทหนึ่ง มีขนาดเล็ก มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น ส่วนใหญ่มีเซลล์เดียว และมีโครงสร้างเซลล์ที่ไม่ซับซ้อนมาก มีรูปร่างแตกต่างกัน เช่น มีลักษณะเกลียว กระบอก และเป็นท่อนกลม อาจเกาะเรียงตัวกันเป็นสายหรือกลุ่ม แบคทีเรียมีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนโดยการแบ่งเซลล์ เมื่ออยู่ในสภาวะเหมาะสมจะเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่าทุก 20 ถึง 30 นาที ดังนั้นหากในอาหารมีแบคทีเรียปนเปื้อนเพียง 1 เซลล์ ภายใน 10 ชั่วโมง จะมีจำนวนแบคทีเรียมากกว่า 1 ล้านเซลล์ หากในอาหารมีแบคทีเรียปนเปื้อนอยู่ในระดับนี้ จะทำให้อาหารเกิดการเน่าเสียเกิดขึ้น แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียอาจแบ่งเป็นกลุ่มได้ โดยอาจพิจารณาจากความสามารถในการย่อยสลายประเภทของอาหารและผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น เช่น

1. แบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายน้ำตาล แบคทีเรียเหล่านี้จะผลิตเอนไซม์ช่วยย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต เช่น แป้ง หรือ น้ำตาล

2. แบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายโปรตีน เช่น *Clostridium*, *Pseudomonas* และ *Proteus* แบคทีเรียเหล่านี้จะผลิตเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายโปรตีนทำให้เกิดการเน่าเสีย แบคทีเรียบางชนิดในกลุ่มนี้สามารถย่อยสลายโปรตีนในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน ทำให้เกิดสารที่มีกลิ่นเหม็น เช่น แก๊สไฮโดรเจนซัลไฟด์

3. แบคทีเรียที่ย่อยสลายเพกทิน แบคทีเรียกลุ่มนี้มีน้อยชนิด เช่น *Bacillus* (รูปที่ 2.13), *Clostridium* และ *Erwinia* เป็นต้น แบคทีเรียเหล่านี้จะผลิตเอนไซม์ออกมาย่อยสลายเพกทิน ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโครงสร้างซับซ้อนทำให้อาหารประเภทผักและผลไม้เกิดการเสียหายและเน่าเสียได้

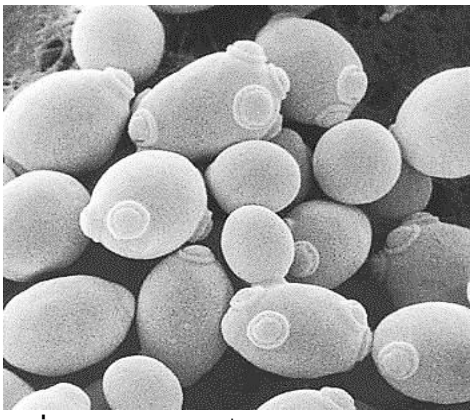
4. แบคทีเรียที่สามารถสร้างกรด เช่น กรดแอซิติก ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของอาหาร โดยเฉพาะเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ รสชาติจะเปลี่ยนไป เนื่องจากเกิดรสเปรี้ยวจากกรดแอซิติก ตัวอย่างแบคทีเรียที่สร้างกรดแอซิติก เช่น *Acetobacter* และ *Gluconobacter* เป็นต้น



รูปที่ 2.13 ลักษณะแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus*

2.7.2 **ยีสต์**

เป็นจุลินทรีย์ที่มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย เซลล์เดี่ยว มีรูปร่างหลายแบบ เช่น รูปร่างกลมรี สามเหลี่ยม รูปร่างแบบมะนาว และฝรั่ง เป็นต้น ส่วนใหญ่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เพิ่มจำนวนโดยการแตกหน่อ พบทั่วไปในธรรมชาติในดิน ในน้ำ ในส่วนต่างๆ ของพืช ยีสต์บางชนิดพบอยู่กับแมลง และในกระเพาะของสัตว์บางชนิด ยีสต์เจริญได้ดีในอาหารที่มีน้ำตาลสูง คือแหล่งที่มีน้ำตาลความเข้มข้นสูง เช่น น้ำผลไม้ที่มีรสหวาน ผลไม้แช่อิ่ม หรือแห้ง รวมทั้งอาหารที่มีปริมาณเกลือมาก เช่น ผักดอง แฮม เบคอน และเนื้อเค็ม ยีสต์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ มักจะปนลงไปในอาหาร เป็นเหตุให้อาหารเน่าเสียได้ สปอร์ของยีสต์ไม่ทนความร้อนเหมือนกับสปอร์ของแบคทีเรีย อาหารที่เกิดการเน่าเสียจากยีสต์มักเกิดกลิ่นหมัก เมือก หรือฝ้าบริเวณผิวหน้า รวมทั้งเกิดความขุ่นและแก๊สได้ ตัวอย่างยีสต์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย เช่น *Saccharomyces* (รูปที่ 2.14), *Pichia* และ *Torulopsis* เป็นต้น



รูปที่ 2.14 ลักษณะยีสต์ *Saccharomyces*

2.7.3 รา

เป็นเซลล์ยูแคริโอตที่อยู่ในอาณาจักรเห็ดรา มีโครโมโซมเพียงชุดเดียว (Haploid) มีผนังเซลล์ ส่วนใหญ่ประกอบด้วยไคติน (chitin) ไม่มีคลอโรฟิล ดำรงชีพแบบ saprophyte คือ หลั่งเอนไซม์ออกนอกเซลล์ เพื่อย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่และซับซ้อนให้ได้เป็นโมเลกุลที่เล็กที่สุดแล้วจึงดูดซับเข้าไปภายในเซลล์ เชื้อรามีความหลากหลายมาก มีรูปร่างลักษณะและสีแตกต่างกัน เช่น ยีสต์ เส้นใย และดอกเห็ด เส้นใยหรือไฮฟา (hypha) เมื่อรวมกลุ่มจำนวนมาก เรียกว่า mycelium (Alexopoylos and Mims. 1979)

ราเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผัก ผลไม้และอาหารเกิดการเน่าเสีย มีสี กลิ่น ที่ผิดปกติ โดยทั่วไปราเจริญได้ช้ากว่าแบคทีเรียและยีสต์ แต่เมื่อราเจริญได้สักระยะหนึ่ง ก็จะเจริญได้อย่างรวดเร็ว ราสามารถทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ดี เช่น มีความชื้นน้อย ความเป็นกรด จึงเป็นปัญหาในโรงงานอุตสาหกรรมอาหารมาก ตัวอย่างราที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหาร เช่น Aspergillus, Penicillium (รูปที่ 2.15 และ 2.16) และ Rhizopus เป็นต้น

รูปที่ 2.15 ลักษณะรากลุ่ม *Aspergillus*

รูปที่ 2.16 ลักษณะรากลุ่ม *Penicillium*

2.8 การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลินทรีย์

2.8.1 Dilution test

การทดสอบด้วยวิธีนี้สามารถแบ่งออกเป็น Broth dilution method และ Agar dilution method

1. Broth dilution method

วิธีนี้เป็นวิธีที่ละเอียดวิธีหนึ่งในการทดสอบนี้จะทำให้ทราบทั้งค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) และ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ของยาปฏิชีวนะกับเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบ หลักการทั่วไปของวิธี MIC คือ เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องทำการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวซึ่งในอาหารมียาปฏิชีวนะในปริมาณที่ต่างกันผสมอยู่ และทำการสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อในอาหารที่เลี้ยงเชื้อซึ่งมียาปฏิชีวนะในปริมาณต่างกันผสมอยู่ ค่าความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะที่เชื้อไม่เจริญ ถือว่าเป็นค่า MIC การหาค่า MBC ทำได้โดยนำ Broth จากหลอดที่ดูแล้วว่าไม่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง ตรวจผลโดยดูการเจริญเติบโตของเชื้อ ค่าความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของยาปฏิชีวนะซึ่งสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ให้ลดลงไม่น้อยกว่า ร้อยละ 99.9 ถือว่าเป็นค่า MBC

2. Agar dilution method

เป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบความไวของเชื้อแบบปริมาณวิเคราะห์ โดยมีหลักการทดสอบคล้ายคลึงกับ Broth dilution method ต่างกันเพียงชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่านั้น คือ การทดสอบโดยการเจือจางสารทดสอบในอาหารวุ้น และถ่ายเชื้อลงบนผิวของอาหารวุ้น เป็นวิธีที่เหมาะสมกับการทดลองเชื้อในปริมาณมาก ข้อดีของวิธีนี้คือ สามารถทำการทดสอบเชื้อหลายชนิดบนอาหารจานเดียวกันได้ ซึ่งวิธีนี้สามารถหาค่า MIC ได้ แต่ไม่สามารถหาค่า MBC ได้ ตรวจผลโดยดูการเจริญเติบโตของเชื้อ ค่าความเข้มข้นของสารที่เชื้อไม่เจริญถือว่าเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ MIC

2.8.2 Diffusion test

เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายมากที่สุดเนื่องจากสะดวก ประหยัดและใช้เวลาน้อยกว่าวิธีอื่น ๆ วิธีนี้เป็นการทดสอบในเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลได้ว่า เชื้อมีความไวต่อการทดสอบหรือไม่ และไม่อาจทราบค่า MIC หรือ MBC ได้ ไม่เหมาะในการทดสอบเชื้อที่เจริญช้า หลักการของวิธี Diffusion test คือ การทำให้ยาปฏิชีวนะบนแผ่น paper disc ซึมไปในอาหารเลี้ยง

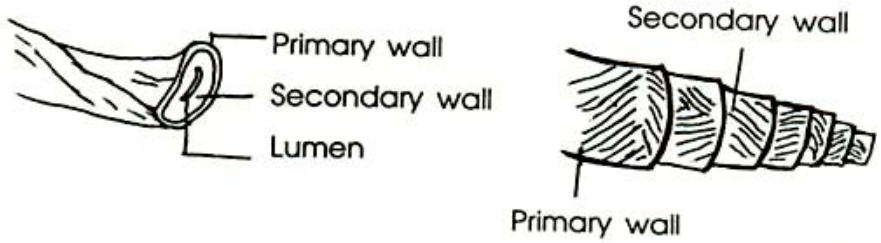
เชื้อที่ได้กระจายเชื้อในจำนวนที่เหมาะสมไว้ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงให้เชื้อเจริญเติบโต อ่านผลการทดสอบโดยการวัดขนาดของ zone of inhibition ซึ่งจะเห็นเป็นวงใสรอบแผ่น paper disc ขนาดของ zone of inhibition นอกจากจะขึ้นอยู่กับความไวของเชื้อต่อสารแล้วยังขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ขนาดโมเลกุลของยาปฏิชีวนะ ปริมาณอัตราการเจริญของเชื้อ ภาวะความเป็นกรดด่างและส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดจนระยะเวลาในการเพาะเชื้อ

2.9 **เส้นใยฝ้าย**

เป็นเส้นใยพืชชนิดหนึ่งที่ใช้มากที่สุดในอุตสาหกรรมสิ่งทอ เส้นใยฝ้ายผลิตจากใยของเมล็ดฝ้าย เกรดของเส้นใยฝ้ายในเชิงพาณิชย์ไม่ได้จัดตามแหล่งที่มาของฝ้าย แต่จัดตามคุณสมบัติ เช่น สี ความยาวของเส้นใย ความสะอาด ความละเอียด และความชื้น (Duff and Sinclair 1989) ผ้าที่ทำจากเส้นใยฝ้ายมีสมบัติที่ดีหลายอย่าง เช่น ความคงทน ราคาถูก สวมใส่สบาย และซักง่าย สมบัตินี้ทำให้ฝ้ายเป็นที่นิยมของคนที่อาศัยอยู่ในเขตร้อน และเขตอบอุ่นแม้ว่าจะมีใยประดิษฐ์อื่นๆ เข้ามาแข่งขัน แต่ก็ยังมีการใช้เส้นใยฝ้ายมาผสมกับเส้นใยชนิดอื่นมากถึง 65 เปอร์เซ็นต์ (Paul, Solans et al. 2004)

2.9.1 **ส่วนประกอบ และลักษณะของเส้นใยฝ้าย**

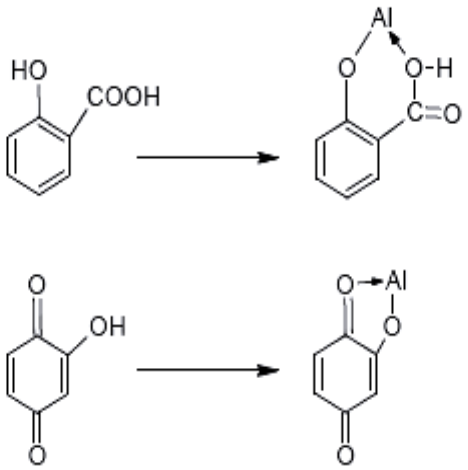
เส้นใยฝ้ายมีความละเอียดมาก เป็นเส้นใยสั้น สีของเส้นใยฝ้ายมีตั้งแต่ขาวไปจนถึงเหลืองเทา เมื่อทำการศึกษาเส้นใยด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นว่าเส้นใยของฝ้ายจะไม่เป็นเส้นตรงแต่จะมีลักษณะบิดเกลียวเป็นระยะ รูปด้านตัดขวางมีลักษณะคล้ายเมล็ดถั่ว แสดงดังรูปที่ 2.17 จากรูปตรงกลางมีช่อง เรียกว่าลูเมน (lumen) เส้นใยฝ้ายเป็นเซลโลไบโอส (cellobiose) ซึ่งประกอบด้วยหน่วยของกลูโคส 2 หน่วย และมีเซลลูโลสประมาณ 5,000 หน่วย หมู่ฟังก์ชันที่สำคัญของเส้นใยฝ้ายคือ หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ซึ่งจะมีหมู่เมธิออล ($-CH_2OH$) เนื่องจากเป็นหมู่ฟังก์ชันที่มีขั้วจึงทำให้มีพันธะที่สำคัญคือ พันธะไฮโดรเจนบริเวณหมู่ไฮดรอกซิลของพอลิเมอร์ที่อยู่ใกล้ และแรงแวนเดอร์วาลส์



รูปที่ 2.17 ลักษณะของเส้นใยฝ้าย (Smith and I 1982)

2.10 **สารมอร์แดนท์** (Mordant)

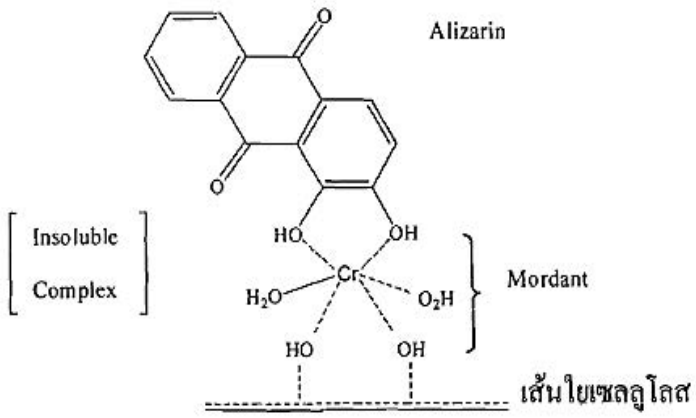
เป็นสารประกอบที่ใช้กันมากในการย้อมสีธรรมชาติ เพื่อช่วยในการยึดกันระหว่างตัวสีกับเส้นใยได้ดีขึ้น ทำให้สีมีความคงทนต่อการซักและทนต่อแสงได้ดีขึ้น สารมอร์แดนท์ที่ใช้ส่วนใหญ่จะเป็นเกลือของโลหะที่มีเวเลนซีอย่างน้อยสองบวกขึ้นไป โดยที่สารมอร์แดนท์จะรวมตัวกับสี และรวมตัวกับโมเลกุลของเส้นใย โดยยึดติดกันด้วยพันธะโคออร์ดิเนต และพันธะโควาเลนท์ ทำให้เกิดสิ่งที่ไม่ละลายน้ำเรียกว่า Color lake การเกิดพันธะระหว่างสีย้อมและสารมอร์แดนท์สามารถเกิดได้ 2 รูปแบบ แสดงดังรูปที่ 2.18



รูปที่ 2.18 การเกิดพันธะโควาเลนท์ และพันธะโคออร์ดิเนตระหว่างโลหะกับสารอินทรีย์ (stainsfile 2008)

2.10.1 **กลไกที่ช่วยในการยึดติดของสารมอร์แดนท์**

การย้อมด้วยสารมอร์แดนท์ เป็นการใช้สารมอร์แดนท์เพื่อช่วยในการติดของสีกับเส้นใย ทำให้สีมีความคงทน และไม่ซีดง่าย สารมอร์แดนท์ที่นิยมใช้ คือ สารละลายของเกลือโลหะ เช่น เกลือของอะลูมิเนียม ทองแดง ดีบุก เหล็ก และแทนนิน การย้อมสารมอร์แดนท์จะทำได้ 3 วิธี คือ การย้อมสารมอร์แดนท์ก่อนย้อมสี การย้อมสารมอร์แดนท์พร้อมกันกับสี และการย้อมสารมอร์แดนท์หลังจากย้อมสี การเกิดปฏิกิริยาในการย้อมด้วยสารมอร์แดนท์นี้ เกิดขึ้นเมื่อเส้นใยที่ได้ผ่านการย้อมสี และการย้อมด้วยสารละลายมอร์แดนท์แล้ว โลหะของสารละลายมอร์แดนท์จะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่แข็งแรง (Strong complex) กับสี และเส้นใย ซึ่งกลไกที่เกิดขึ้นในขณะย้อมแสดงดังรูป 2.19



รูปที่ 2.19 การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของโลหะกับสี และเส้นใย (RUKARN 2001)

จากรูปที่ 2.19 กลไกการยึดติดของสารมอร์แดนท์จะมี 3 กระบวนการที่เกิดขึ้นคือ

1. การเคลื่อนที่ของโมเลกุลกับสีย้อมผ่านสารละลายไปยังผิวของเส้นใย

2. การดูดซับสีที่ผิวของเส้นใยซึ่งจะเกิดขึ้นเมื่อโมเลกุลของสีย้อมเข้าไปสัมผัสกับโมเลกุลของเส้นใย

3. การแทรกซึมของสีย้อมเข้าไปภายในเส้นใย และสามารถเกาะติดบนเส้นใยได้

2.10.2 ชนิดของสารมอร์แดนท์

สารมอร์แดนท์ที่นิยมใช้ในงานสีย้อมนั้นมีอยู่มากมาย (Gurley 1995) โดยสารมอร์แดนท์ที่นิยมใช้ในการย้อมสีธรรมชาติ เช่น

1. สารส้ม (Potassium Aluminium Sulphate) มักจะใช้ในปริมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุ ในการย้อมผ้าฝ้ายมักจะใช้ร่วมกับโซดาแอช 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุ โดยสารส้มสามารถใช้ได้ทั้งก่อนย้อม และหลังย้อมสีจากธรรมชาติ การใช้สารส้มเป็นสารมอร์แดนท์นี้ เมื่อย้อมแล้วจะให้สีเหมือนกับสีที่สกัดได้ แต่สีที่ได้จะมีความสดใสกว่าสีเดิม

2. เกลือเหล็กหรือสนิมเหล็ก (Ferrous sulphate) มักจะใช้ในปริมาณ 3 ถึง 6 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุ ไม่นิยมใช้ร่วมกับสารใด การย้อมโดยใช้เกลือเหล็กเป็นสารมอร์แดนท์จะทำให้สีที่ย้อมได้คล้ำลง ถ้าใส่มากสีก็จะคล้ำยิ่งขึ้นจนเป็นสีดำ

3. คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulphate) มักจะใช้ในปริมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุ นิยมใช้ร่วมกับน้ำส้มสายชูปริมาณครึ่งหนึ่งของวัสดุ สามารถใช้คอปเปอร์ซัลเฟตเป็นสารมอร์แดนท์ได้ทั้งก่อนและหลังย้อมสี การใช้คอปเปอร์ซัลเฟตเป็นสารมอร์แดนท์จะให้สีที่ย้อมได้เป็นสีออกเขียว

2.10.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรสำหรับการยับยั้งจุลินทรีย์ในเส้นใยผ้า

ตารางที่ 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรสำหรับการยับยั้งจุลินทรีย์ในเส้นใยผ้า

วัสดุที่ใช้ทดสอบ	สารสกัด	วิธีย้อม	ผลการทดสอบ	เอกสารอ้างอิง
ผ้าฝ้าย	สะเดา และดอกเดซีเม็กซิกัน	pad-dry-cure method	สามารถต้านเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ได้ และหลังจากทำการซัก 15 ครั้ง ยังสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ได้	(Thilagavathi and Bala 2007)
ผ้าไหม	lithospermum erythrorhizon	ฟอกรวมกับสารส้ม	พบว่าผ้าไหมสามารถต้านเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่า *E. coli*	(Dhandapani and Sarkar, 2007)
ผ้าฝ้าย	หญ้าพันงูขาว	Micro-encapsulated	พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การลดลงของเชื้อแบคทีเรียจาก 92 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ต่อเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ตามลำดับ	(Thilagavathi and Kannaian 2008)
ผ้าฝ้าย	ว่านหางจระเข้	ฟอกรวมกับกรดซิตริก	พบว่าสามารถต้านเชื้อ *S. aureus* ได้ และพบว่าเมื่อผ่านการซักถึง 50 ครั้ง ก็ยังสามารถต้านเชื้อ *S. aureus* ได้	(Jothi 2009)
ผ้าฝ้าย	ใบกะเพรา และเปลือกทับทิม	Micro-encapsulated	พบว่าสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ และสารสกัดสามารถทนต่อการซักล้างได้ถึง 15 ครั้ง	(Sathianarayanan 2010)
ผ้าฝ้าย	ใบเจอเรเนียม	coacervation-spray drying และ direct spray drying techniques	พบว่าสามารถต้านเชื้อ *S. aureus* ได้ดีกว่า *E. coli* และยังพบว่าหลังจากการซัก 10 ครั้ง ยังคงมีกลิ่นหอมหลงเหลืออยู่ 50 ถึง 60 เปอร์เซ็นต์	(Thilagavathi and Kannaian 2010)
ผ้าฝ้าย	Chinese gall, honeysuckle และ dandelion	-	พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การลดลงของเชื้อ *E. coli* และ *B. subtilis* 100 เปอร์เซ็นต์ จากสารสกัดทั้งหมดยกเว้น scutellaria baicalensis	(Hui-chun and Hua 2010)

บทที่ 3

อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 กระดาษกรองเบอร์ 4 เส้นผ่านศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร (whatman)

3.1.2 กล่องใส่จานเพาะเชื้อ (Petri dish box)

3.1.3 กระบอกตวง

3.1.4 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (JSM-5400)

3.1.5 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) UV-2450, Shimadzu, Japan

3.1.6 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH Meter) MP220, Mettler Toledo, Switzerland

3.1.7 เครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum pump)

3.1.8 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer LMS รุ่น VTX-3000L)

3.1.9 เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Vacuum Evaporator)

3.1.10 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

3.1.11 ตู้อบ (Hot Air Oven) ULM 500, Memmert, Germany

3.1.12 บีกเกอร์ (Beaker)

3.1.13 ปิเปต

3.1.14 ปากคีบ

3.1.15 ปั๊มแบบ Peristatic (Peristatic Pump) Watson Marlow, 505U, Englandland

3.1.16 ไมโครปิเปต

3.1.17 ลูปเขี่ยเชื้อ

3.1.18 สำลีพันก้าน

3.1.19 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave) SS-325, TOMY, Japan

3.1.20 พาราฟิล์ม (Parafilm)

3.1.21 ผ้าฝ้าย ขนาด 1x1 เมตร

3.1.22 หลอดทดลอง

3.1.23 จานเพาะเชื้อ (Petri dish) ขนาด 90x15 มิลลิเมตร

3.1.24 Vertical Laminar flow VS-124, ISSCO, U.S.A.

3.2 เคมีภัณฑ์

3.2.1 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) (Ajax Finechem, Australia)

3.2.2 อะซิโตน (Acetone) (May & Baker, British)

3.2.3 เอทานอล (Ethanol) (May & Baker, British)

3.2.4 เอทิลอะซิเตท (Ethyl acetate) (May & Baker, British)

3.2.5 เฮกเซน (Hexane) (May & Baker, British)

3.2.6 โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) (Ajax Finechem, Australia)

3.2.7 อาหารวุ้นแข็ง Nutrient agar (Hi-media)

3.2.8 อาหารเหลว Nutrient broth

3.2.9 โมโนเบสิกโซเดียมฟอสเฟต (monobasic sodium phosphate)

3.2.10 ไดเบสิกโซเดียมฟอสเฟต (dibasic sodium phosphate)

3.2.11 Triptic soy broth (TSB)

3.2.12 ฟอลิน ซิโอแคลตูรีเอเจนต์ (Folin-ciocalteu) (Carlo Erba Reactifs SA, France)

3.2.13 ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide, DMSO)

3.2.14 อะลูมิเนียม ซัลเฟต ($AlK_2(SO_4)_3$) (Ajax Finechem, Australia)

3.2.15 ไอรอน (II) ซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) (Ajax Finechem, Australia)

3.2.16 น้ำปราศจากไอออน (Deionized water, DI)

3.2.17 สบู่เด็กสูตรออริจินัล (แคร์)

3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ

3.3.1 *Bacillus subtilis* ATCC 6633 จากคลังเก็บรักษาสายพันธุ์ ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ (ฝวช.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

3.3.2 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 จากคลังเก็บรักษาสายพันธุ์ ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ (ฝวช.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

3.3.3 *Escherichia coli* ATCC 25922 จากคลังเก็บรักษาสายพันธุ์ ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ (ฝวช.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

3.4 สมุนไพรที่ใช้ในการทดสอบ

เบญกานี (ร้านเจ้ากรมเป๋อ, กรุงเทพ)

สมอพิเภก (ร้านเจ้ากรมเป๋อ, กรุงเทพ)

หญ้างวงช้าง (ร้านเจ้ากรมเป๋อ, กรุงเทพ)

ใบหนาด (ร้านเจ้ากรมเป๋อ, กรุงเทพ)

3.5 วิธีดำเนินงานวิจัย

3.5.1 วิธีการสกัดสมุนไพร

นำสมุนไพรจากหัวข้อ 3.4 ทำความสะอาด แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดเป็นผง แล้วทำการสกัดหยาบเป็นเวลา 3 วัน ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 ของสมุนไพรต่อตัวทำละลายชนิดต่างๆ (น้ำกลั่น เอทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน) จากนั้นกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum pump) โดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 4 นำสารสกัดที่ได้ระเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Vacuum evaporator) เติมสารละลายไดเมทิลซัลฟอกไซด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ปรับให้สารสกัดมีความเข้มข้น 200 และ 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอนำไปใช้งาน

3.5.2 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสมุนไพรแต่ละชนิดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

การวัดค่าความเข้นข้นของสารประกอบฟีนอลิก จะเป็นการวัดค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compounds) ทำการวิเคราะห์ตามวิธี Folin Ciocalteau micro method (Waterhouse 2002) โดยนำตัวอย่างสารสกัดปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1.58 มิลลิลิตร และFolin ciocalteu phenol reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมเข้าด้วยกัน ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 8 นาที หลังจากนั้นเติมโซเดียมคลอไรด์ปริมาตร 300 ไมโครลิตรลงไปผสมเข้าด้วยกัน และปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกเพื่อหาค่าความเข้มข้นฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้

3.5.3 การศึกษาผลของเวลาที่ใช้ในการสกัดสมุนไพรอนุภาคขนาดต่าง ๆ ที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

ทำการสกัดอนุภาคสมุนไพรขนาด 75, 180, 300 และ 600 นาโนเมตร โดยใช้อัตราส่วนสมุนไพรผงต่อตัวทำละลาย เป็น 1 ต่อ 10 (กรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตรของตัวทำละลาย) ที่อุณหภูมิห้อง โดยเก็บตัวอย่างที่เวลา 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้วัดค่าสารประกอบฟีนอลิก

3.5.4 วิธีการเพาะจุลินทรีย์จากหลอดเชื้อแห้งแข็ง

ใช้กระดาษทิชชูชุบแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 พอหมาด เช็ดบริเวณรอบๆ หลอดจุลินทรีย์ (ampoule) จากนั้นใช้ตะไบเหล็กเลื่อยลงบนหลอดบริเวณกึ่งกลางสำลีให้เป็นรอยลึกลงไปในเนื้อแก้ว จากนั้นใช้ผ้าที่มีความหนาและสะอาดรองและมีกระดาษทิชชูชุบแอลกอฮอล์ร้อยละ 70 หุ้มหลอดจุลินทรีย์ไว้ แล้วทำการหักหลอดจุลินทรีย์ โดยใช้นิ้วหัวแม่มือทั้งสองกดเบาๆบริเวณด้านที่ตรงข้ามกับรอยเลื่อยนั้น ดึงปลายหลอดจุลินทรีย์และสำลีทิ้งในหลอดน้ำยาฆ่าเชื้อ ใช้ไมโครปิเปตดูดอาหารเหลวที่เหมาะสมกับจุลินทรีย์แต่ละชนิด ประมาณ 0.3 ถึง 0.4 มิลลิลิตร จากปริมาตร 5 มิลลิลิตร ถ่ายลงในหลอดจุลินทรีย์ เพื่อละลายสารผสมเซลล์จุลินทรีย์ในหลอด ต้องทำในสภาพที่ปลอดเชื้อ ดูดสารละลายผสมเซลล์จุลินทรีย์จากหลอดจุลินทรีย์ให้หมด พร้อมกับเขี่ยกระดาษรหัสเชื้อใส่ลงในหลอดอาหารเหลวเดิม จากนั้นหยดสารละลายเซลล์จุลินทรีย์ลงบนจานอาหารแข็ง (agar plate) จำนวน 1 หยด สารละลายเซลล์จุลินทรีย์ที่เหลือทั้งหมดถ่ายใส่ลงในอาหารเหลว สำหรับจุลินทรีย์ที่หยดลงบนจานอาหารแข็ง ใช้ห่วงเหล็ก (loop) ฆ่าเชื้อเขี่ยกระจายเชื้อ (streak plate) ให้ได้เป็นโคโลนีเดี่ยวๆ สำหรับจุลินทรีย์ที่ถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว (ทั้งในจานอาหารแข็งและในหลอดอาหารเหลว) นำไปบ่มที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมของจุลินทรีย์แต่ละชนิด เพื่อดูการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

3.5.5 วิธีการเตรียมสารละลายเชื้อเข้มข้น

นำเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการเพาะในอาหารเหลวถ่ายลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อวุ้นเอียง (Slant) 1 ลูป บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นล้างด้วยสารละลายน้ำเกลือผสม (สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำเกลือเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ 800 มิลลิลิตร) 3 มิลลิลิตร เหวี่ยงผสมให้เข้ากันแล้วดูดด้วยไมโครปิเปตปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ในขวดที่เตรียมน้ำเกลือไว้อยู่แล้ว 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ค่าที่ได้อยู่ระหว่าง 0.004 ถึง 0.006 จะได้สารละลายเชื้อเข้มข้น 10^6 เซลล์ ส่วน

การเตรียมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ทำการชั่งโมโนโซเดียมฟอสเฟต 27.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร และชั่งไดเบสิกโซเดียมฟอสเฟต 53.65 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำสารละลายทั้งสองผสมกันในอัตราส่วน โมโนโซเดียมฟอสเฟต 39 มิลลิลิตร ต่อไดเบสิกโซเดียมฟอสเฟต 61 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนกระทั่งได้สารละลายปริมาตร 200 มิลลิลิตร

3.5.6 วิธีทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc diffusion method

ใช้สำลีพันปลายไม้จุ่มเชื้อพอเปียกแล้ว swab เชื้อลงบนผิวอาหารวุ้นแข็ง 3 ระนาบ จากนั้นใช้ไมโครปิเปตดูดสารสกัดสมุนไพรปริมาตร 50 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำมาวางบนจานเพาะเชื้อโดยทำการทดลองเช่นนี้ 3 ซ้ำ แล้วนำจานเพาะเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตผลการทดลองโดยดูลักษณะ clear zone และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณวงใสที่เกิดขึ้น

3.5.7 วิธีหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดสมุนไพร

นำเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับแบคทีเรีย และ 48 ชั่วโมง สำหรับยีสต์ มาปรับความขุ่นในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากเชื้อ จนมีความขุ่นเท่ากับสารละลายมาตรฐาน 0.5 Mc farland และ เตรียม 2-fold serial dilution โดยนำหลอดทดลองขนาดเล็กมา 10 หลอด ใช้ปิเปตดูดอาหาร TSB ใส่ในหลอดที่ 2 จนถึงหลอดที่ 10 ปริมาณหลอดละ 1 มิลลิลิตร ทำให้ปราศจากเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อโรค อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารสกัดจากสมุนไพรที่เตรียมไว้สำหรับทดสอบ (ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ใส่ในหลอดที่ 1 และหลอดที่ 2 ปริมาตรหลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าหลอดที่ 2 ให้สารสกัดจากสมุนไพรรวมตัวกับอาหาร TSB จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารในหลอดที่ 2 ไปใส่ในหลอดที่ 3 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าหลอด และทำเจือจางต่อไปจนถึงหลอดที่ 9 จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารจากหลอดที่ 9 เขย่าแล้วทิ้งไป 1 มิลลิลิตร หลอดที่ 10 เป็นหลอดที่มีเฉพาะอาหาร TSB ใช้เป็นหลอดควบคุม ใช้ปิเปตดูดเชื้อที่เตรียมไว้ใส่ในหลอดทดลอง หลอดที่ 1 ถึง 10 หลอดละ 1 มิลลิลิตร นำไปบ่มเพาะในตู้เพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง รายงานผลจากความขุ่นของการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ใน

หลอดทดลอง ความเข้มข้นของหลอดทดลองสุดท้ายที่เชื้อไม่สามารถเจริญได้ คือ Minimal Inhibitory Concentration

3.5.8 วิธีศึกษาผลของสารสกัดจากสมุนไพรต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์จุลินทรีย์

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 1 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมเชื้อจุลินทรีย์ 10^6 เซลล์ 1 มิลลิลิตร และสารสกัดจากสมุนไพร 1 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง กรองเชื้อและนำไปศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงของเซลล์จุลินทรีย์โดยการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

3.5.9 วิธีศึกษาผลของตัวทำละลายต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของพืชสมุนไพร

นำสมุนไพรแห้งที่ได้รับการคัดเลือกว่ามีคุณสมบัติในการสกัดและยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด ศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสมุนไพรก่อนและหลังการสกัดเมื่อใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ โดยการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

3.5.10 การเตรียมผ้าฝ้ายสำหรับทดสอบ

ทำความสะอาดผ้าฝ้ายโดยใช้อัตราส่วนน้ำ 500 มิลลิลิตร ต่อผ้าฝ้าย 50 กรัม ต่อสบู่ 5 กรัม นำสบู่ที่ขูดเป็นฝอยผสมกับน้ำตามอัตราส่วนที่กำหนด นำมาต้มจนสารละลายใส ใส่ผ้าฝ้ายที่ต้องการทำความสะอาดลงไป ต้มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำผ้าฝ้ายขึ้นแล้วล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน (Deionized water, DI) จนแน่ใจว่าล้างสบู่ออกหมดบิดให้หมาดตากให้แห้ง เพื่อนำไปใช้ต่อไป

3.5.11 การเตรียมผ้าฝ้ายชุบสารสกัด

นำผ้าฝ้ายชั่งน้ำหนักวางลงในจานแก้ว จากนั้นเทสารสกัดที่เตรียมไว้ใส่ผ้าฝ้ายให้มีปริมาตร 12 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักผ้า ทิ้งไว้เป็นเวลา 45 นาที นำชิ้นตัวอย่างที่ได้ออกมาผึ่งให้แห้งเป็นเวลา 60 นาที เพื่อนำไปใช้ทดสอบต่อไป

3.5.12 ขั้นตอนการเตรียมผ้าฝ้ายชุบสารมอร์แดนท์ และสารสกัด

นำผ้าฝ้ายใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีสารมอร์แดนท์ (อะลูมิเนียม และเหล็ก) ในอัตราส่วนผ้าฝ้ายต่อสารมอร์แดนท์ 1 ต่อ 40 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักของผ้าฝ้าย ที่อุณหภูมิห้อง (30±5 องศาเซลเซียส) 60 นาที นำชิ้นตัวอย่างที่ได้ออกมาผึ่งให้แห้งเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นเทสารสกัดที่เตรียมไว้ลงใส่ผ้าฝ้ายที่มีสารมอร์แดนท์อยู่ให้มีปริมาตร 12 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักผ้า ทิ้งไว้เป็นเวลา 45 นาที นำชิ้นตัวอย่างที่ได้ออกมาผึ่งให้แห้งเป็นเวลา 60 นาที เพื่อนำไปใช้ทดสอบต่อไป

3.5.13 การทำความสะอาดผ้าฝ้ายที่ผ่านชุบสารสกัด และสารมอร์แดนท์ด้วยสบู่

นำผ้าฝ้ายชุบสารสกัด และสารมอร์แดนท์ ใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีสบู่ อัตราส่วนน้ำ 500 มิลลิลิตร ต่อผ้าฝ้าย 50 กรัม ต่อสบู่ 5 กรัม ใส่ผ้าฝ้ายที่ต้องการทำความสะอาดลงไป ทำการซักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 นาที กับเครื่องกวนสาร ที่ความเร็วรอบเบอร์ 3 นำผ้าฝ้ายขึ้น แล้วล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน จนแน่ใจว่าล้างสบู่ออกหมดจากนั้นนำมาตากให้แห้ง เพื่อนำไปใช้ต่อไป ทำการซักซ้ำอย่างนี้อีกประมาณ 5 ครั้ง

3.5.14 วิธีทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้าย

การศึกษาทำโดยนำตัวอย่างผ้าฝ้ายที่เตรียมไว้ นำไปฆ่าเชื้อด้วยรังสี UV เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ใช้สำลีพันปลายไม้จุ่มเชื้อพอเปียกแล้ว swab เชื้อลงบนผิวอาหารวุ้นแข็ง 3 ระนาบ จากนั้นนำผ้าฝ้ายตัวอย่างที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำมาวางบนจานเพาะเชื้อโดยทำการทดลองเช่นนี้ 3 ซ้ำ แล้วนำจานเพาะเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตผลการทดลองโดยดูลักษณะ clear zone และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณวงใสที่เกิดขึ้น

3.5.15 วิธีทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายชุบสารมอร์แดนท์ และสารสกัดที่ผ่านการซัก

การศึกษาทำโดยนำตัวอย่างผ้าฝ้ายที่เตรียมไว้ นำไปฆ่าเชื้อด้วยรังสี UV เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ใช้สำลีพันปลายไม้จุ่มเชื้อพอเปียกแล้ว swab เชื้อลงบนผิวอาหารวุ้นแข็ง 3 ระนาบ จากนั้นนำผ้าฝ้ายตัวอย่างที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำมาวางบนจานเพาะเชื้อโดยทำการทดลองเช่นนี้ 3 ซ้ำ แล้วนำจานเพาะเชื้อไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศา

เซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตผลการทดลองโดยดูลักษณะ clear zone และวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณวงใสที่เกิดขึ้น

3.5.16 **วิธีศึกษาผลของสารสกัดจากสมุนไพรต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของผ้าฝ้าย**

นำตัวอย่างชิ้นผ้าฝ้ายที่ผ่านการชุบด้วยสารสกัดจากสมุนไพร และทดสอบแล้วว่าสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด ไปศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลง โดยการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

บทที่ 4

ผลการทดลอง วิเคราะห์ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาปริมาณสารสกัดหยาบของสมุนไพรไทย

เมื่อทำการสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด คือ เบญกานี สมอพิเภก ใบหนาด และหญ้างวงช้าง (รูปที่ 4.1) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์โดยเรียงลำดับความมีขั้วจากตัวทำละลายมีขั้ว (polar solvent) จนถึงตัวทำละลายไม่มีขั้ว (non-polar solvent) คือ น้ำกลั่น เอทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน ตามลำดับ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 กรัมต่อมิลลิลิตร ระยะเวลา 3 วัน หลังจากระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (รูปที่ 4.2) จะได้สารสกัดหยาบ ซึ่งปริมาณของค่าผลได้สารสกัดหยาบที่ได้มีค่าตั้งแต่ 0.6 ถึง 75 กรัม ต่อ 100 กรัมสมุนไพรแห้ง ดังแสดงในรูปที่ 4.3

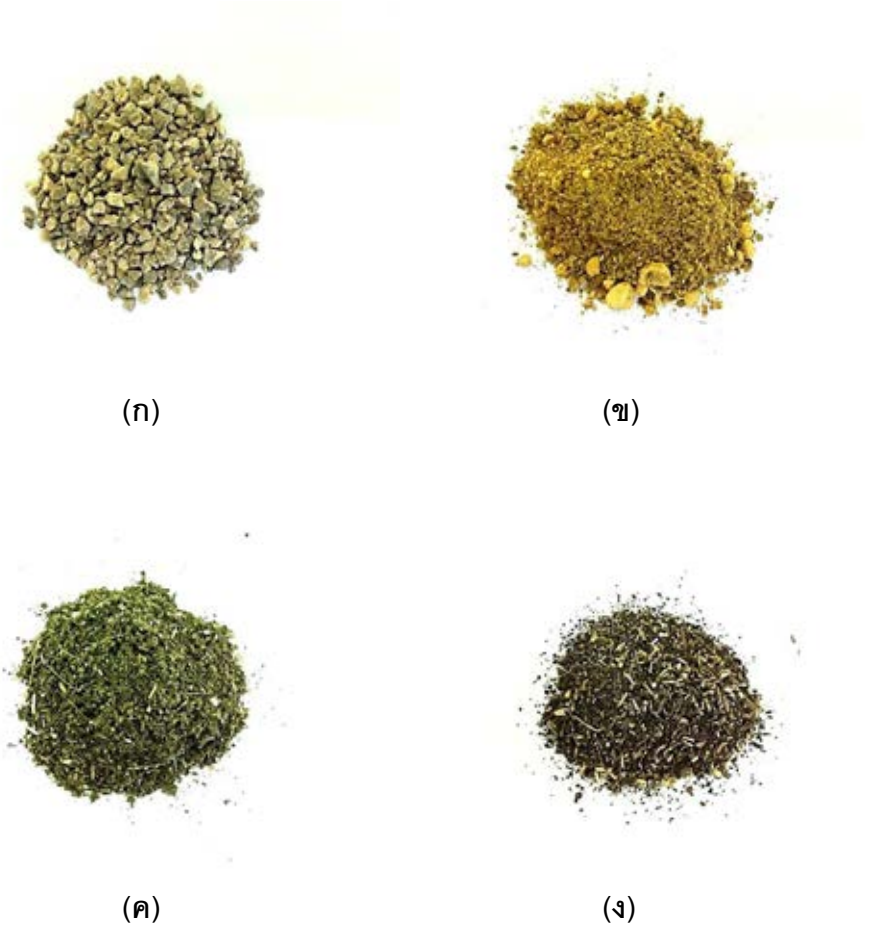
การสกัดเบญกานีด้วยน้ำกลั่น เอทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน พบว่าสารสกัดหยาบของเบญกานีที่ได้มีค่าเท่ากับ 70.333, 74.792, 65.144, 52.447 และ 0.62 กรัม ต่อ 100 กรัมสมุนไพรแห้ง ตามลำดับ โดยถือว่าตัวทำละลายทุกชนิดสามารถให้สารสกัดสูงมากที่สุดเมื่อเทียบกับพืชสมุนไพรทั้งหมดอีก 3 ชนิด โดยเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด สามารถสกัดได้สูงถึง 74.792 กรัม ต่อ 100 กรัมสมุนไพรแห้ง ซึ่งมากกว่าครึ่งของน้ำหนักสมุนไพรเริ่มต้น หรือเป็น 126.496 เท่าของสารสกัดด้วยเฮกเซน การสกัดด้วยน้ำกลั่นให้สารสกัดมากเป็นอันดับสอง รองลงมาคือ คือ อะซิโตน และเอทิลอะซิเตท ตามลำดับ และสารสกัดจากเฮกเซนมีค่าน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับสมุนไพรตัวอื่น เมื่อพิจารณาสารสกัดที่ได้หลังจากระเหยตัวทำละลาย จะมีลักษณะเป็นของเหลวที่มีความข้นเหนียว มีสีน้ำตาล เมื่อทิ้งไว้ให้เย็นจะจับตัวเป็นก้อนบางส่วนเป็นผลึกสีน้ำตาล และสีน้ำตาลปนขาว

การสกัดสมอพิเภกด้วยน้ำกลั่น เอทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน พบว่าสารสกัดหยาบของสมอพิเภกที่ได้มีค่าเท่ากับ 24.199, 31.505, 12.341, 7.585 และ 1.288 กรัม ต่อ 100 กรัมสมุนไพรแห้ง ตามลำดับ โดยเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด รองลงมาคือน้ำกลั่น อะซิโตน และเอทิลอะซิเตท ในส่วนของเฮกเซนได้สารสกัดน้อยที่สุด เพียง 1 ต่อ 30 เท่าของการสกัดด้วยเอทานอล สารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นของเหลวที่มีความข้นเหนียว เมื่อสกัดด้วยน้ำกลั่นจะเป็นสีน้ำตาลแดง เมื่อทิ้งไว้ให้เย็นจะจับตัวเป็นก้อนบางส่วนเป็นผลึกสีน้ำตาล และเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายอื่นๆ จะเป็นสีน้ำตาลจนถึงสีเหลืองเข้ม

การสกัดใบหนาดด้วยน้ำกลั่น เอทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน พบว่าสารสกัดหยาบของใบหนาดที่ได้มีค่าเท่ากับ 13.027, 7.273, 4.687, 4.881 และ 2.007 กรัม ต่อ 100 กรัมสมุนไพรแห้ง ตามลำดับ โดยการสกัดด้วยน้ำกลั่นให้สารสกัดมากที่สุด คือ 13 กรัม ต่อ 100 กรัมสมุนไพรแห้ง รองลงมา คือ เอทานอล ส่วนอะซิโตน เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน สามารถสกัดให้สารได้เพียง 2 ถึง 4 กรัม ต่อ 100 กรัมสมุนไพรแห้งเท่านั้น เมื่อสกัดด้วยน้ำกลั่นสารสกัดที่ได้จะเป็นสีน้ำตาลแดง ส่วนการสกัดด้วยตัวทำละลายอื่นๆ จะมีลักษณะเป็นสีเขียวเข้มไปจนถึงเหลืองเข้ม

การสกัดหญ้างวงช้างด้วยน้ำกลั่น เอทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน พบว่าสารสกัดหยาบของหญ้างวงช้างที่ได้มีค่าเท่ากับ 10.241, 4.519, 1.873, 2.877 และ 0.801 กรัม ต่อ 100 กรัมสมุนไพรแห้ง ตามลำดับ โดยน้ำกลั่นให้สารสกัดมากที่สุด รองลงมา คือ เอทานอล ส่วนการใช้อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน จะให้สารได้น้อยมากเพียง 0.8 ถึง 2 กรัม ต่อ 100 กรัมสมุนไพรแห้งเท่านั้น จากผลที่ได้ถือว่ามีค่าน้อยเมื่อเทียบกับสมุนไพรอื่น และลักษณะสารสกัดที่ได้จากน้ำกลั่นจะให้สีน้ำตาลแดง เมื่อเทียบกับการสกัดด้วยตัวทำละลายอื่น จะให้สีเขียวเข้มไปจนถึงเหลืองเข้ม

จากผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่า เอทานอล และน้ำกลั่น เป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด เมื่อพิจารณาคุณสมบัติของเอทานอล และน้ำ จะมีความสามารถในการละลายใกล้เคียงกัน เนื่องจากตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิดประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล ซึ่งเป็นหมู่ชอบน้ำ (hydrophilic) โดยเอทานอลเป็นตัวทำละลายอินทรีย์แต่น้ำเป็นตัวทำละลายอนินทรีย์ และสารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มของสารประกอบอินทรีย์หลายชนิด ที่มีส่วนโมเลกุลไฮโดรคาร์บอนขนาดใหญ่เป็นอินทรีย์ ซึ่งมีสภาพที่ไม่มีขั้ว จึงละลายได้ดีกว่าในเอทานอลรองลงมาคืออะซิโตน และเอทิลอะซิเตท ส่วนเฮกเซนซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วน้อยหรือไม่มีขั้วนั้นมีประสิทธิภาพการสกัดได้ต่ำ เพียง 0.6 ถึง 2 กรัม ต่อ 100 กรัมสมุนไพรแห้งเท่านั้น



(ก) **(ข)**

(ค) **(ง)**

รูปที่ 4.1 ลักษณะสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง
(ก)เบญกานี (ข)สมอพิเภก (ค)ใบหนาด (ง)หญ้างวงช้าง

น้ำกลั่น เอทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท เฮกเซน

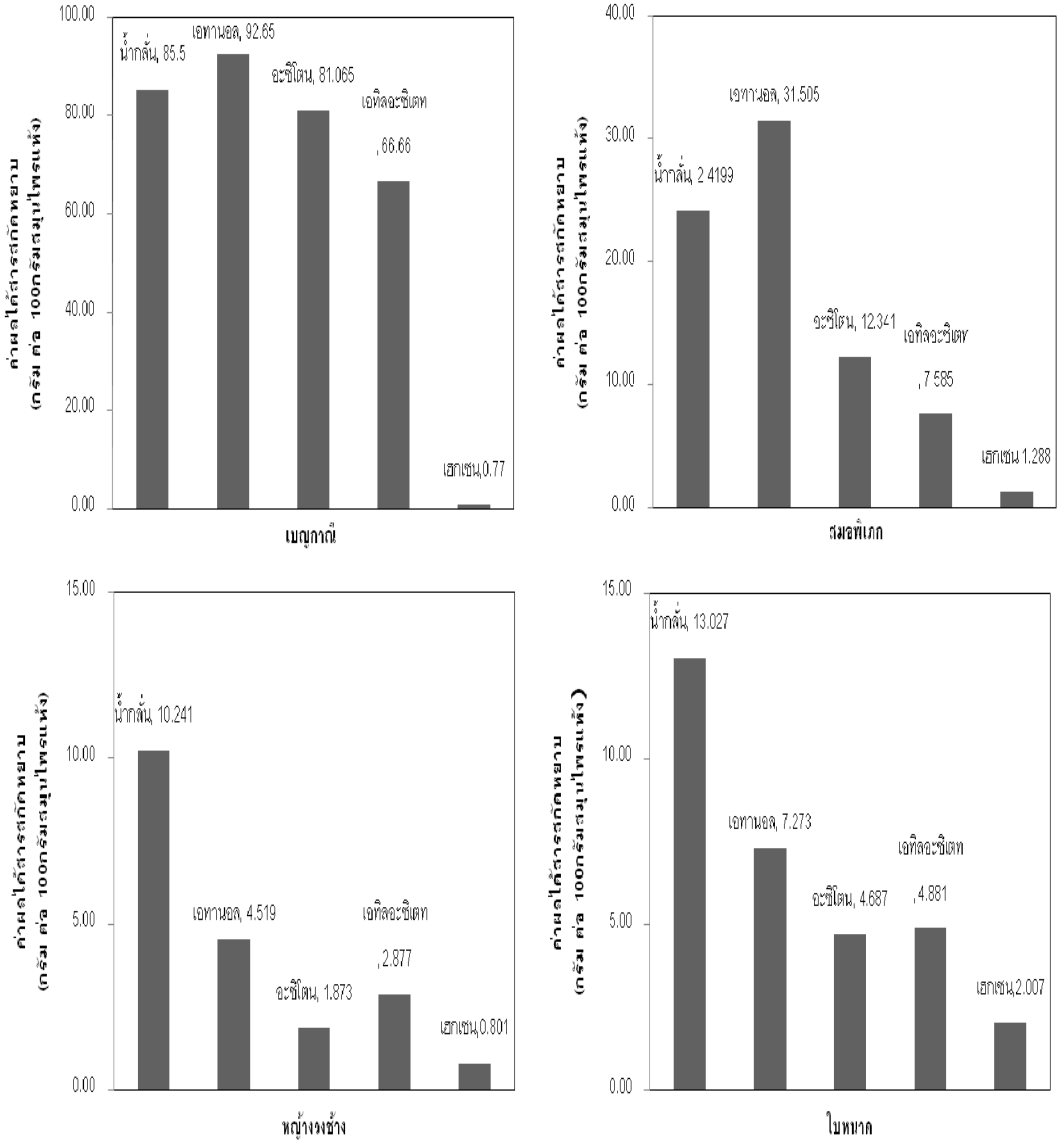
(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

รูปที่ 4.2 สารสกัดสมุนไพรที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ
(ก)เบญกานี (ข)สมอพิเภก (ค)ใบหนาด (ง)หญ้างวงช้าง



รูปที่ 4.3 ค่าผลได้สารสกัดหยาบของสมุนไพรที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±5 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในอัตราส่วน 1 ต่อ10 (กรัมสมุนไพรแห้งต่อมิลลิลิตรตัวทำละลาย)

4.2 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสมุนไพรไทย

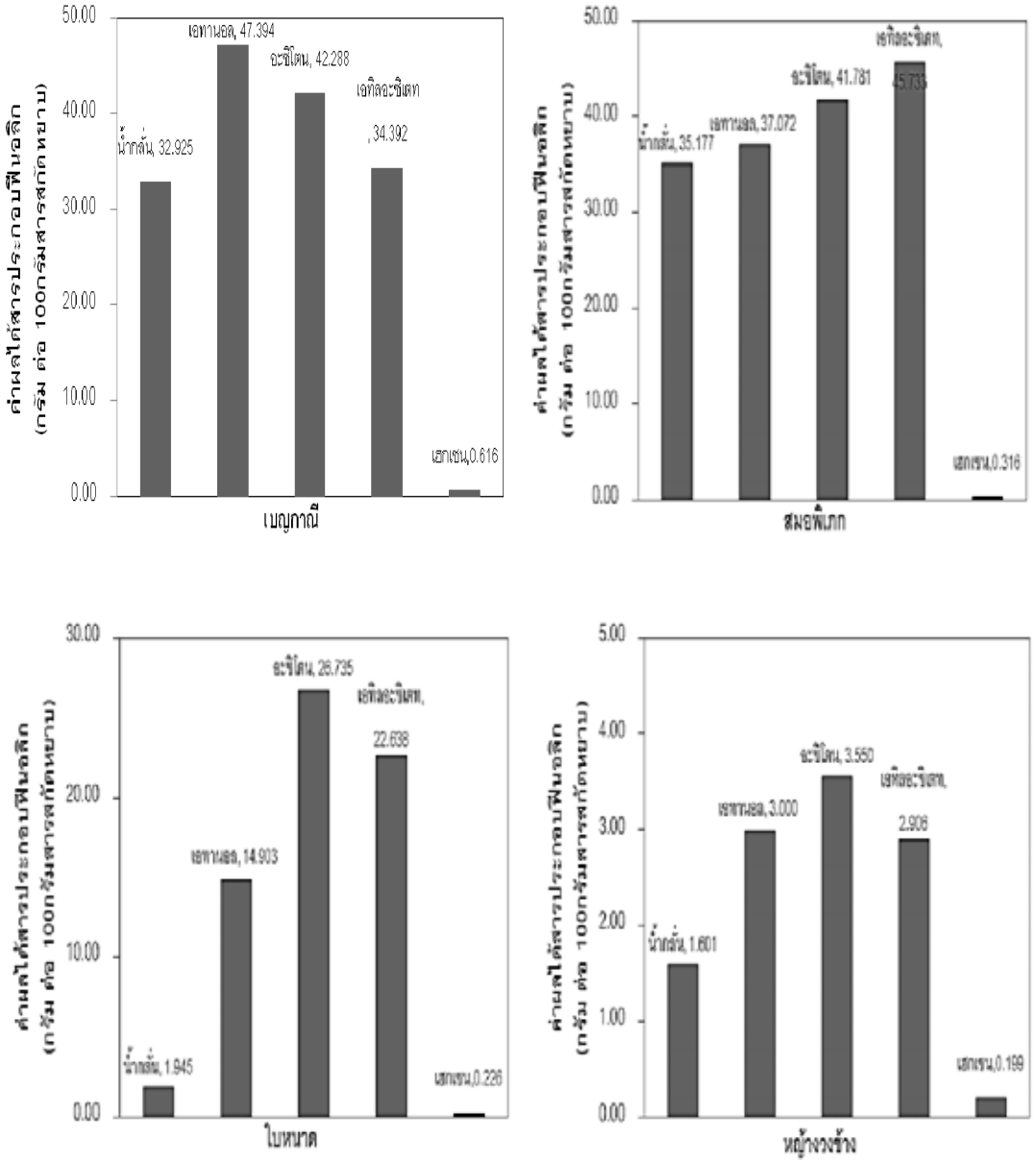
จากการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากการสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 กรัมต่อมิลลิลิตร ระยะเวลา 3 วัน หลังจากการระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ นำสารสกัดหยาบมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นสารประกอบฟีนอลิก ด้วยวิธีวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolics) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ที่สกัดได้มีค่าตั้งแต่ 0.199 ถึง 47.394 กรัม ต่อ 100 กรัมสารสกัดหยาบ ดังแสดงในรูปที่ 4.4

สารสกัดหยาบจากเบญกานีที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ เมื่อศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พบว่าสารสกัดเบญกานีที่สกัดด้วยน้ำกลั่น เอทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 32.925, 47.394, 42.288, 34.392 และ 0.616 กรัม ต่อ 100 กรัมสารสกัดหยาบ ตามลำดับ โดยสารสกัดจากเฮกเซนสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ปริมาณน้อยที่สุด ส่วนเอทานอลสกัดได้ปริมาณมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับ (Walter, P.A. et al.1979) ที่กล่าวว่าโดยส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลิกจะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสภาพขั้วสูง และจากผลการทดลองตัวทำละลายเอทานอลเป็นตัวทำละลายอินทรีย์มีสภาพขั้วสูงสุด และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิก พบว่าสารสกัดจากเบญกานีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด คือ 47.394 กรัม ต่อ 100 กรัมสารสกัดหยาบ (47.394 เปอร์เซ็นต์) ค่าที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับผลการวิเคราะห์ของ (Kaur, Athar et al. 2008) ที่ได้รายงานว่า มีมากถึง 20 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ค่าที่แตกต่างกันอาจเกิดจากแหล่งที่มาของเบญกานีที่ใช้ทดลอง

สารสกัดหยาบจากสมอพิเภกที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ เมื่อศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พบว่าสารสกัดด้วยน้ำกลั่น เอทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตต และเฮกเซนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 35.177, 37.072, 41.781, 45.733 และ 0.316 กรัม ต่อ 100 กรัมสารสกัดหยาบ ตามลำดับ โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตตจะมีค่ามากที่สุด รองลงมาเป็นอะซิโตน เอทานอล และน้ำกลั่น ส่วนเฮกเซนสกัดสารประกอบ ฟีนอลิกได้ปริมาณน้อยสุด ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกในสมอพิเภกส่วนใหญ่อาจมีคุณสมบัติการละลายในตัวทำละลายที่มีขั้วใกล้เคียงกับเอทิลอะซิเตท ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสมอพิเภกละลายออกมาได้มาก ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ (Saemah and Jirapakkul 2011) ที่ได้รายงานว่าส่วนสกัดของว่านสาวหลงด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทมีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกรวมมากกว่าตัวทำละลายเฮกเซน และน้ำ

สารสกัดใบหนาดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ เมื่อศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พบว่าสารสกัดใบหนาดที่สกัดน้ำกลั่น เอทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 1.945, 14.903, 26.735, 22.638 และ 0.226 กรัมต่อ 100 กรัมสารสกัดหยาบ ตามลำดับ โดยสารสกัดจากอะซิโตนสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ปริมาณมากที่สุดเมื่อเทียบกับตัวทำละลายชนิดอื่นๆ ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ (Zhou and Yu 2004) ที่ได้รายงานว่าการสกัดรำข้าวสาลีด้วยตัวทำละลาย 50 เปอร์เซ็นต์ อะซิโตนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากกว่าการสกัดด้วย 70 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล และ 70 เปอร์เซ็นต์ เมทานอลตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่ในใบหนาดอาจมีคุณสมบัติในการละลายในตัวทำละลายที่มีขั้วใกล้เคียงกับอะซิโตน

สารสกัดหญ้างวงช้างที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ เมื่อศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พบว่าสารสกัดหญ้างวงช้างด้วยน้ำกลั่น เอทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 1.601, 3.000, 3.550, 2.906 และ 0.199 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยสารสกัดจากอะซิโตนสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ปริมาณมากที่สุด ซึ่งผลที่ได้เป็นเช่นเดียวกับผลการทดลองของสารสกัดจากใบหนาด อาจเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่ในหญ้างวงช้างมีคุณสมบัติในการละลายในตัวทำละลายที่มีขั้วใกล้เคียงกับอะซิโตน



รูปที่ 4.4 ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±5 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 (กรัมสมุนไพรแห้งต่อมิลลิลิตรตัวทำละลาย)

4.3 ผลการศึกษาขนาดอนุภาคที่มีต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้

จากการศึกษาอิทธิพลของขนาดอนุภาคที่มีต่อการสกัดเบญกานี โดยใช้อัตราส่วนผงเบญกานี ต่อ เอทานอล เป็น 1 ต่อ 10 (กรัมสมุนไพรแห้งต่อมิลลิลิตรตัวทำละลาย) ที่อุณหภูมิห้อง โดยการแปรผันขนาดเป็น 75, 180, 300 และ 600 นาโนเมตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยวิเคราะห์จากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดที่วัดได้ที่เวลาต่างๆ ได้ผลทดสอบ ดังแสดงในรูปที่ 4.5

เมื่อพิจารณาค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกตามระยะเวลาของแต่ละขนาดอนุภาคสมุนไพร พบว่าให้ผลที่ได้เป็นแนวโน้มเดียวกัน ดังนี้ ในช่วงเริ่มต้นของการสกัดจนถึง 6 ชั่วโมงนั้นค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตามช่วงเวลาที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นผลจากการเกิดกระบวนการชะละลาย (leaching) โดยตัวทำละลายทำการสกัดสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่บนพื้นผิวนอกอนุภาคของเบญกานี ซึ่งอัตราการถ่ายเทมวลที่เกิดขึ้นของตัวทำละลายจากชั้นตัวทำละลายไปยังผิวของแข็งในขั้นตอนนี้จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว เนื่องจากความแตกต่างของความเข้มข้น (concentration gradient) ของสารประกอบฟีนอลิกที่บริเวณผิวอนุภาคเบญกานี และในชั้นของตัวทำละลาย มีค่ามาก ซึ่งขั้นตอนดังกล่าวจะถูกควบคุมด้วยอัตราการถ่ายเทมวลโดยการพา (convection)

ส่วนในช่วงระยะเวลา 8 ถึง 48 ชั่วโมง ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกจะมีค่าเพิ่มขึ้นในอัตราที่น้อยลง เนื่องจากตัวทำละลายจะแทรกซึมเข้าไปในอนุภาคเบญกานี โดยที่น้ำจะทำให้เซลล์อนุภาคบวม และเอทานอลจะถูกพาเข้าไปในอนุภาค จนกระทั่งอนุภาคของเบญกานีอิ่มไปด้วยตัวทำละลาย และจะปลดปล่อยหรือสกัดสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ภายในออกมาและละลายรวมอยู่ในตัวทำละลาย หลังจากนั้นจึงแพร่ผ่านมายังบริเวณผิวของอนุภาคเบญกานี ซึ่งในขั้นตอนดังกล่าวจะถูกควบคุมด้วยอัตราการแพร่ (diffusion) และสารประกอบฟีนอลิกที่ผิวอนุภาคเบญกานีจะถูกแลกเปลี่ยนไปยังชั้นของตัวทำละลายโดยการถ่ายเทมวล แต่เนื่องจากความแตกต่างความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกบริเวณผิวอนุภาคเบญกานี และชั้นของตัวทำละลายมีค่าน้อย ทำให้การถ่ายเทมวลโดยการพาไม่ส่งผลในช่วงเวลาดังกล่าว ซึ่งขั้นตอนดังกล่าวจะถูกควบคุมด้วยอัตราการแพร่ ส่งผลให้ค่าผลได้มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

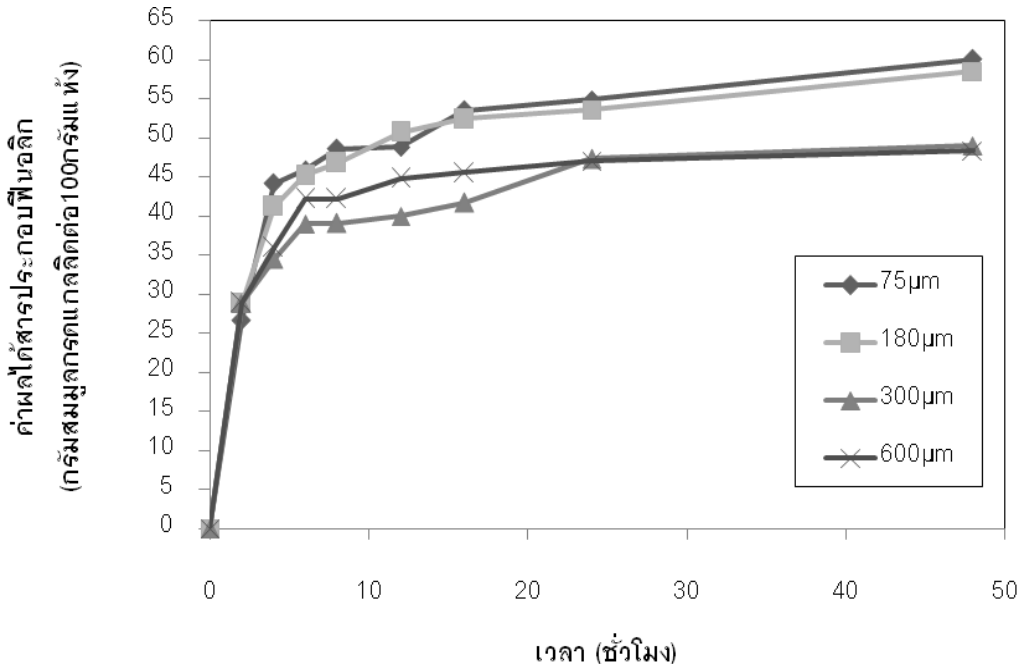
เมื่อพิจารณา ณ ที่เวลาเดียวกัน จะพบว่าการลดขนาดของอนุภาคจะส่งผลให้ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกที่สามารถสกัดได้จะมีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากขนาดอนุภาคที่ลดลง เป็นการทำให้ลดระยะทางที่ตัวทำละลายต้องแทรกซึมเข้าไปภายในอนุภาค มีผลให้สารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ภายในอนุภาคสามารถแพร่ออกมายังตัวทำละลายได้มากขึ้น อีกทั้งการที่อนุภาคมีขนาดเล็กลงนั้น

จะเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสในการถ่ายเทมวลสาร อนุภาคยิ่งมีขนาดเล็กยิ่งสามารถสกัดได้ดี ซึ่งในการทดลองนี้ขนาดอนุภาคที่ให้ค่าผลได้สูงสุด คือ อนุภาคขนาด 75 ไมโครเมตร และขนาดอนุภาคใหญ่ที่สุด 600 ไมโครเมตร ให้ค่าผลได้ต่ำที่สุด

จากตารางที่ 4.3 แสดงการเปรียบเทียบค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิกที่ขนาดอนุภาคต่างๆ คือ 75, 180, 300 และ 600 นาโนเมตร มีค่าผลได้สารสกัดที่เวลา 48 ชั่วโมง เป็น 60.060, 58.522, 49.010 และ 48.382 กรัม ต่อ 100กรัมสมุนไพรแห้ง ตามลำดับ

จากการศึกษาเวลาที่ใช้ในการสกัดสารสกัดจากเบญกานีช่วงระยะเวลา 2 ถึง 48 ชั่วโมง พบว่าเมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณสารประกอบฟินอลิกมีค่าเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ช่วงเวลา 2 ถึง 6 ชั่วโมง ที่ขนาดอนุภาค 75 และ180 ไมโครเมตร สารประกอบฟินอลิกที่สกัดได้มีค่าเพิ่มมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจน หลังจากชั่วโมงที่ 8 ถึง 24 สารสกัดที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจนเมื่อเวลาที่ 24 ชั่วโมง ปริมาณสารที่สกัดได้เริ่มเข้าสู่สภาวะสมดุล ส่วนที่ขนาดอนุภาค 300 และ 600 ไมโครเมตร สารประกอบฟินอลิกที่ได้ค่อยๆเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ แต่จะไม่เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเหมือนอนุภาคขนาดเล็ก จนถึงชั่วโมงที่ 24 และ 48 สารสกัดที่ได้เริ่มเข้าสู่สภาวะสมดุล เมื่อพิจารณาตามขนาดอนุภาค พบว่า อนุภาคขนาดใหญ่ (600 ไมโครเมตร) และอนุภาคขนาดกลาง (300 ไมโครเมตร) สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้เพียง 1.2 เท่าของอนุภาคเล็กสุด โดยสารประกอบที่สกัดได้เป็นสารประกอบที่อยู่ผิวนอก ส่วนสารประกอบที่อยู่ภายในต้องอาศัยการสกัดโดยการแพร่ของตัวทำละลายเข้าไปในอนุภาคสมุนไพร

ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ (Herodez, M.Hadolin et al. 2003) ได้ศึกษาผลของขนาดอนุภาคต่อการสกัดสาร antioxidant จาก Balm leaves พบว่า การลดขนาดอนุภาคทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดเพิ่มมากขึ้น และสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ ผกามาศและคณะ 2007 ที่ศึกษาผลของขนาดเมล็ดขนุนที่ส่งผลต่อการสกัดสารพรีไบโอติกส์ พบว่าขนาดของเมล็ดขนุนที่มีขนาดเล็กจะให้ปริมาณของสารสกัดที่สูงกว่า ทั้งนี้เนื่องจากพื้นที่สัมผัสระหว่างเมล็ดขนุนกับตัวทำละลายมีมากขึ้น และในขั้นตอนของการลดขนาดจะช่วยทำลายผนังเซลล์ที่หุ้มสารที่ต้องการสกัด ทำให้สารที่ต้องการสกัดเกิดการแพร่สู่ตัวทำละลายได้ง่ายขึ้น ทำให้อัตราการสกัดที่ได้เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ (maisuthisakul 2005)ได้รายงานว่า เวลามีผลต่อปริมาณสารสกัดที่ได้ โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วง 6 ชั่วโมงแรกของการสกัด หลังจากนั้นจะเริ่มคงที่



รูปที่ 4.5 ค่าผลได้ของสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากเบญกานีด้วยเอทานอลโดยใช้อัตราส่วน 1 ต่อ 10 (กรัมสมุนไพรแห้งต่อมิลลิลิตรตัวทำละลาย) ที่อุณหภูมิห้อง (30±5 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยการแปรผันขนาดอนุภาคสมุนไพร

4.4 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย

4.4.1 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc diffusion method

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากสมุนไพรคือ เบญกานี สมอพิเภก ใบหนาด และหญ้างวงช้าง ด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น เอทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อเชื้อ *E.coli, B.subtilis และ S.aureus* ได้ผลการทดลองแสดงดังในรูปที่ 4.6 ถึง 4.9 และสรุปผลในตารางที่ 4.1

สารสกัดเบญกานีมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด สูงที่สุดเมื่อเทียบกับพืชสมุนไพรทั้งหมดอีก 3 ชนิด ดังแสดงในรูปที่ 4.6 จากการทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยของสารสกัดจากตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด อยู่ในช่วง 6.2 ถึง 17.7 มิลลิเมตร เมื่อสกัดด้วยน้ำกลั่น เอทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน โดยพบว่า เมื่อสกัดด้วยเอทานอลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน เอทิลอะซิเตท และน้ำกลั่น ตามลำดับ ส่วนสารสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้น้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างชนิดของสายพันธุ์แบคทีเรีย สารสกัดหยาบของเบญกานีสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis และ S. aureus*) ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) ซึ่งเชื้อ *S. aureus* ถูกยับยั้งได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับ *B. subtilis* ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่พบว่า สารสกัดเบญกานีด้วยเอทานอลให้ผลยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดด้วยเฮกเซนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้น้อยและมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (DIGRAK, ILÇIM et al. 1999) ได้รายงานว่า สารสกัดเบญกานีด้วยด้วยแอลกอฮอล์สามารถยับยั้งเชื้อหลายชนิดเช่นกัน และงานวิจัยของ (Leela and Satirapipathkul 2010) ได้รายงานว่าสารสกัดจากเบญกานีมีฤทธิ์ต้านเชื้อดีที่สุดโดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยประมาณ 20 ถึง 21 มิลลิเมตร โดยสารที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ คือ สารประกอบกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งมีกรดแกคลิกเป็นองค์ประกอบหลัก

ผลทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดหยาบของสมอพิเภก ดังแสดงในรูปที่ 4.7 พบว่า สารสกัดหยาบของสมอพิเภกที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีผลยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ได้ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน และเอทิลอะซิเตท ซึ่งให้ประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน ส่วนสารสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน และน้ำกลั่นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้น้อยที่สุด เมื่อเทียบกันระหว่างชนิดของสายพันธุ์แบคทีเรีย สารสกัดหยาบของสมอพิเภก สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis และ S. aureus*) ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) ซึ่งเชื้อ *S. aureus* ถูกยับยั้งได้เท่ากับเชื้อ *B. subtilis*

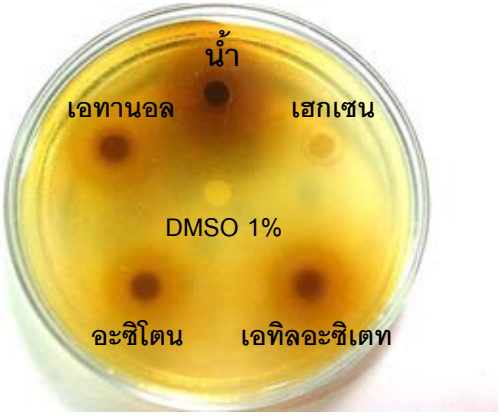
ผลทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของสารสกัดหยาบของใบหนาด ดังแสดงในรูปที่ 4.8 พบว่า สารสกัดหยาบใบหนาดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตนมีผลยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล และเอทิลอะซิเตท ตามลำดับ โดยยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis* และ *S. aureus*) ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) ซึ่งเชื้อ *S. aureus* ถูกยับยั้งได้เท่ากับเชื้อ *B. subtilis* ส่วนสารสกัดด้วยเฮกเซนมีประสิทธิ ภาพในการยับยั้งแบคทีเรียได้น้อย โดยยับยั้งแต่กลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis* และ *S. aureus*) เท่านั้น และสารสกัดด้วยน้ำกลั่นไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดได้เลย

ผลทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อของหญ้างวงช้าง ดังแสดงในรูปที่ 4.9 สารสกัดจากตัวทำละลาย 3 ชนิด ยกเว้นน้ำกลั่น และเฮกเซนสามารถยับยั้งแบคทีเรีย 3 ชนิดได้น้อย โดยให้แถบวงใสที่กว้าง และใกล้เคียงกัน ทั้งในแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis*) และแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) โดยเชื้อ *E. coli* ถูกยับยั้งได้มากที่สุด ส่วนสารสกัดด้วยน้ำกลั่น และเฮกเซนไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ได้เลย

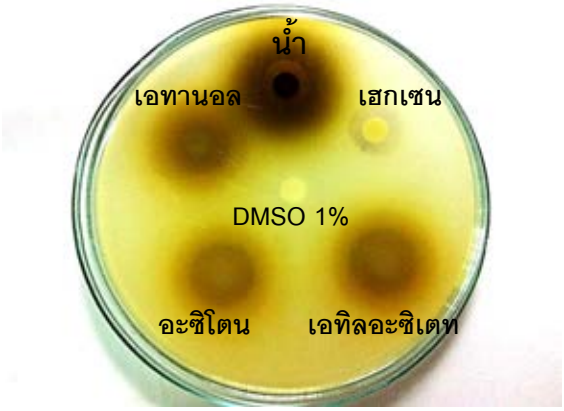
จากการทดลองจะพบว่าการสกัดสารจากสมุนไพรบางชนิดโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย จากคุณสมบัติของน้ำจะสกัดเอาสารเฉื่อยที่เป็นอาหารของจุลินทรีย์ออกมาด้วยทำให้เกิดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้สารสกัดเสื่อมคุณภาพ เมื่อนำมาทดสอบกับเชื้อจึงพบว่าไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

สารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรีย โดยส่วนใหญ่พบว่า สารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิดมีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ โดยสารที่เป็นองค์ประกอบหลักในพืชสมุนไพรที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ คือ 1′- Acetoxychavicol acetate, Eugenol, Geraniol และแทนนิน ซึ่งสารเหล่านี้จะเข้าไปควบคุมการสร้างโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย ขัดขวางการละลายของชั้นไขมันใน cytoplasmic membrane รวมทั้งยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ทำให้โปรตีนภายในเซลล์รวมตัวกัน

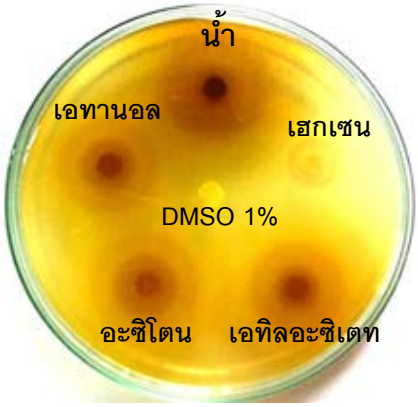
จากผลการทดลองส่วนนี้จะพบว่า ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ดี และมีค่าใกล้เคียงเมื่อเทียบกับผลการทดลองของงานวิจัยคนอื่นๆ



(ก)

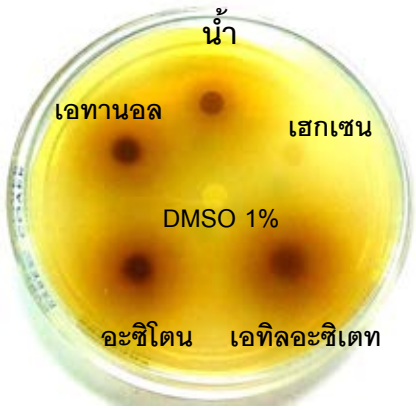


(ข)

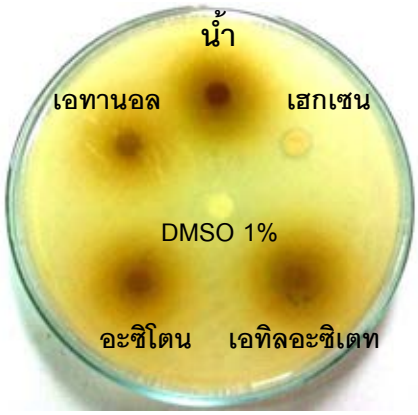


(ค)

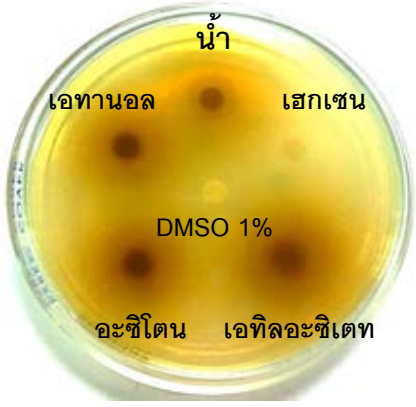
รูปที่ 4.6 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดเบญกานีจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร DMSO บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ก) *E. coli*, (ข) *B. subtilis* และ (ค) *S. aureus*



(ก)

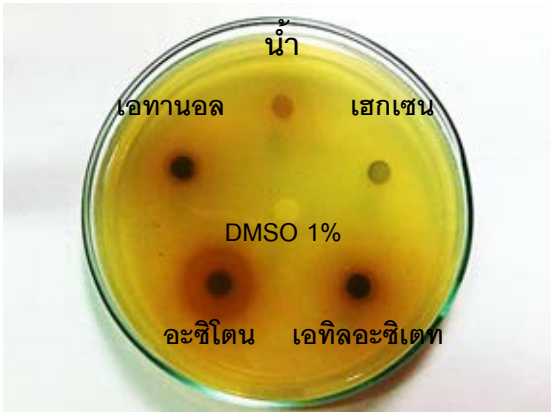


(ข)

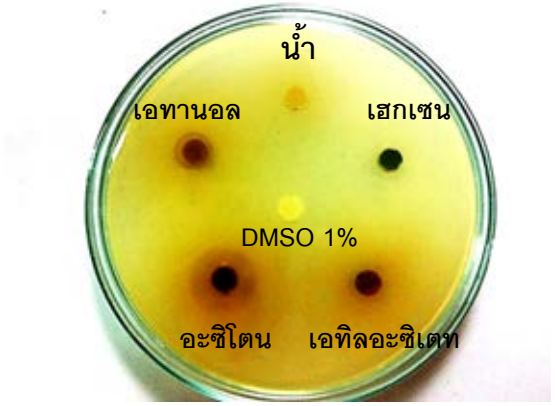


(ค)

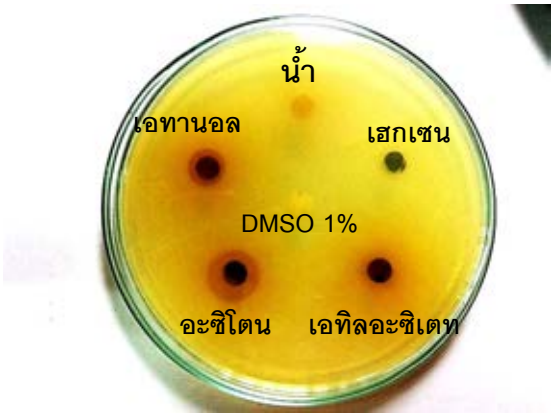
รูปที่ 4.7 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดสมอพิเภกจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร DMSO บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ก) *E. coli*, (ข) *B. subtilis* และ (ค) *S. aureus*



(ก)

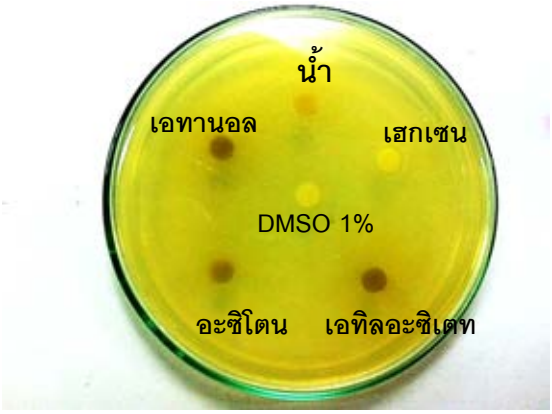


(ข)

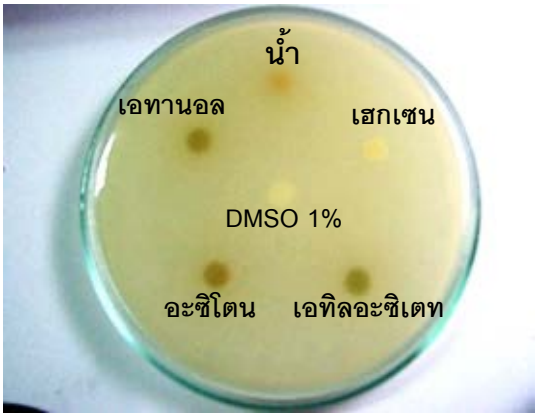


(ค)

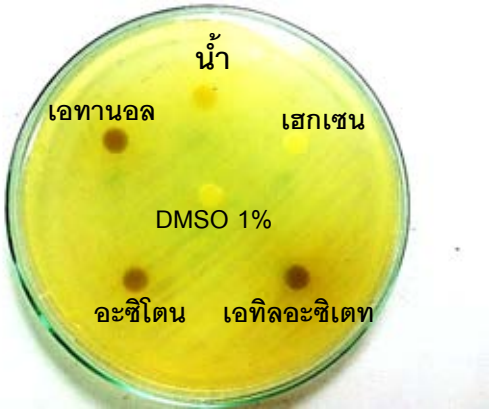
รูปที่ 4.8 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดใบหนาดจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร DMSO บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ก) *E. coli*, (ข) *B. subtilis* และ (ค) *S. aureus*



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 4.9 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหญ้างวงช้างจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร DMSO บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ก) *E. coli*, (ข) *B. subtilis* และ (ค) *S. aureus*

ตารางที่ 4.1 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อเชื้อ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus*

สมุนไพร	**ตัวทำละลาย**	**ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ± S.D.**[a]		
		E. coli	*B. subtilis*	*S. aureus*
เบญกานี	น้ำกลั่น	8.50±0.87	11.67±0.29	14.67±0.29
	เอทานอล	10.50±1.73	14.17±1.04	17.67±0.29
	อะซิโตน	8.67±0.76	12.83±1.44	17.17±0.29
	เอทิลอะซิเตท	7.83±0.29	13.83±1.53	16.17±0.29
	เฮกเซน	6.17±0.29	9.83±1.26	11.17±0.58
สมอพิเภก	น้ำกลั่น	6.83±0.29	7.33±1.26	8.17±0.58
	เอทานอล	8.00±1.73	10.83±0.58	12.33±0.29
	อะซิโตน	6.67±0.58	11.00±0.00	11.17±0.29
	เอทิลอะซิเตท	8.33±0.29	11.67±2.52	11.83±0.58
	เฮกเซน	6.33±0.58	7.00±1.32	6.50±0.50
ใบหนาด	น้ำกลั่น	-	-	-
	เอทานอล	9.17±0.29	11.17±1.76	10.33±1.16
	อะซิโตน	11.00±1.00	13.00±1.76	13.17±2.02
	เอทิลอะซิเตท	8.50±0.87	10.33±1.76	10.33±0.29
	เฮกเซน	-	8.67±1.76	8.67±1.16
หญ้างวงช้าง	น้ำกลั่น	-	-	-
	เอทานอล	7.00±0.87	6.33±0.58	6.00±0.00
	อะซิโตน	7.50±0.87	6.00±0.00	6.33±0.58
	เอทิลอะซิเตท	8.00±0.00	6.33±0.58	7.33±1.16
	เฮกเซน	-	-	-

หมายเหตุ : เส้นผ่าศูนย์กลางของวงแหวน 6.00 มิลลิเมตร

4.4.2 ผลการศึกษาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดจากสมุนไพรไทย

จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อของสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ด้วยวิธี Disc diffusion method พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรที่สกัดด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้แตกต่างกัน ในการทดลองนี้จึงคัดเลือกสารสกัดจากแต่ละสมุนไพรที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด จากตารางที่ 4.1 มาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด คือ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus* ในหลอดทดลอง โดยวิธี broth dilution method ตั้งแต่ความเข้มข้น 100 ถึง 0.39 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีความสามารถยับยั้งเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ถึง 4.5 คือ

สารสกัดเบญกานีที่สกัดด้วยเอทานอล มีความสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus* โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อมีค่าเท่ากับ 25, 12.5 และ 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดจากเบญกานีสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบในความเข้มข้นที่เจือจางกว่าสารสกัดจากสมุนไพรอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับกับผลงานวิจัยของ (Basri and Fan 2005) ที่รายงานว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus, B. subtilis, S. epidermidis* และ *P. aeruginosa*) หรือค่า MIC ที่วัดได้อยู่ในช่วง 0.0781 - 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ (Vermani, Navneet et al. 2009) ที่รายงานว่า สารสกัดเบญกานีที่สกัดด้วยเมทานอล และน้ำกลั่น ค่า MIC ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้มีค่าเท่ากับ 0.1563 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดสมอพิเภกที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตท มีความสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus* โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อมีค่าเท่ากับ 50, 12.5 และ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ โดยสารสกัดสมอพิเภกยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*B. subtilis* และ *S. aureus*) ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*) ดังแสดงในตารางที่ 4.3 ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ (Elizabeth 2005) พบว่าสารสกัดจากสมอพิเภกที่สกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus, S. pneumonia, S. typhi, S. typhimurium, E. coli (UTI), E. coli (EP), P. aeruginosa, Y. enterocolitica, C. albicans* โดยช่วง MIC มีค่าตั้งแต่ 250 ถึง 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดใบหนาดที่สกัดด้วยอะซิโตน มีความสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus* โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อมีค่าเท่ากับ 50, 25 และ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยสารสกัดใบหนาดสามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับ

เชื้อจุลินทรีย์อีก 2 สายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 4.4 ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ (Ongsakul, Jindarat et al. 2009) พบว่าสารสกัดจากใบหนาดสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ โดยช่วง MIC มีค่า 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหญ้างวงช้างที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตท มีความสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus* โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อมีค่าเท่ากับ 50, 25 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับ (Osungunna and Adedeji 2011) ที่พบว่าสารสกัดจากหญ้างวงช้างที่ความเข้มข้นสารสกัด 50, 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และที่ความเข้มข้นสารสกัด 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli*

จากการทดลองจะเห็นได้ว่า สารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีเนื้อเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกเป็นโมเลกุลของลิโปโพลีแซคคาไรด์ (Helander, Wright et al. 1997)เมื่อสารสกัดสัมผัสกับเชื้อแบคทีเรียแกรมลบจะต้องแพร่ผ่านชั้นของลิโปโพลีแซคคาไรด์ก่อนถึงจะสามารถเข้าไปทำลายเซลล์ได้ ทำให้การยับยั้งหรือฆ่าเชื้อทำได้ยากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก

ตารางที่ 4.2 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดเบญกานีด้วยเอทานอลที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	**เชื้อจุลินทรีย์**		
	E. coli	*B. subtilis*	*S. aureus*
100	-	-	-
50	-	-	-
25	-	-	-
12.5	+	-	-
6.25	+	+	+
3.13	+	+	+
1.56	+	+	+
0.78	+	+	+
0.39	+	+	+

หมายเหตุ - คือ ไม่พบเชื้อเจริญเติบโต, + คือ พบเชื้อเจริญเติบโต

ตารางที่ 4.3 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดสมอพิเภกด้วยเอทิลอะซิเตท ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	**เชื้อจุลินทรีย์**		
	E. coli	*B. subtilis*	*S. aureus*
100	-	-	-
50	-	-	-
25	+	-	-
12.5	+	-	+
6.25	+	+	+
3.13	+	+	+
1.56	+	+	+
0.78	+	+	+
0.39	+	+	+

หมายเหตุ - คือ ไม่พบเชื้อเจริญเติบโต, + คือ พบเชื้อเจริญเติบโต

ตารางที่ 4.4 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดใบหนาดด้วยอะซิโตนที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	**เชื้อจุลินทรีย์**		
	E. coli	*B. subtilis*	*S. aureus*
100	-	-	-
50	-	-	-
25	+	-	-
12.5	+	+	+
6.25	+	+	+
3.13	+	+	+
1.56	+	+	+
0.78	+	+	+
0.39	+	+	+

หมายเหตุ - คือ ไม่พบเชื้อเจริญเติบโต, + คือ พบเชื้อเจริญเติบโต

ตารางที่ 4.5 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหญ้างวงช้างด้วยเอทิลอะซิเตทที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

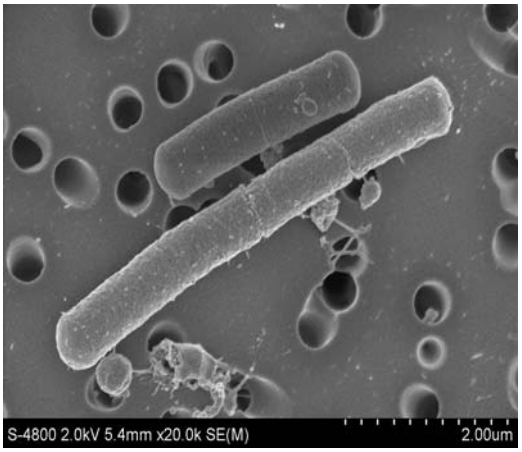
ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	**เชื้อจุลินทรีย์**		
	E. coli	*B. subtilis*	*S. aureus*
100	-	-	-
50	+	-	+
25	+	+	+
12.5	+	+	+
6.25	+	+	+
3.13	+	+	+
1.56	+	+	+
0.78	+	+	+
0.39	+	+	+

หมายเหตุ - คือ ไม่พบเชื้อเจริญเติบโต, + คือ พบเชื้อเจริญเติบโต

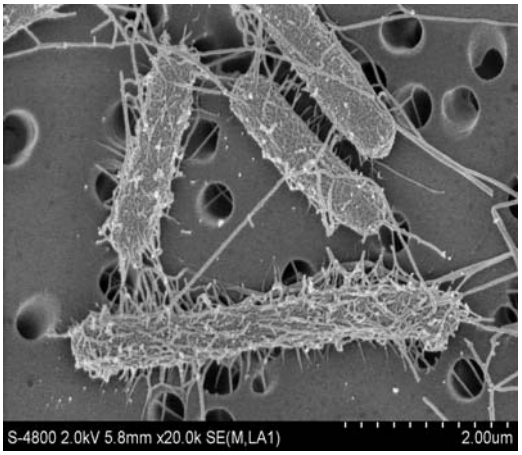
4.5 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่ถูกฤทธิ์ยับยั้งจากสารสกัดจากสมุนไพรไทย

4.5.1 การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *E. coli*

ผลของสารสกัดเบญกานีด้วยเอทานอลต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพพื้นผิวของเชื้อ *E. coli* เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) พบว่า เซลล์ปกติมีรูปร่างลักษณะเป็นแท่งและผิวของผนังมีลักษณะเรียบ เมื่อทำการเติมสารสกัดลงไป พบว่าสารสกัดจะออกฤทธิ์ทำลายผนังเซลล์เป็นส่วนใหญ่ ดังแสดงในรูปที่ 4.10



(ก)

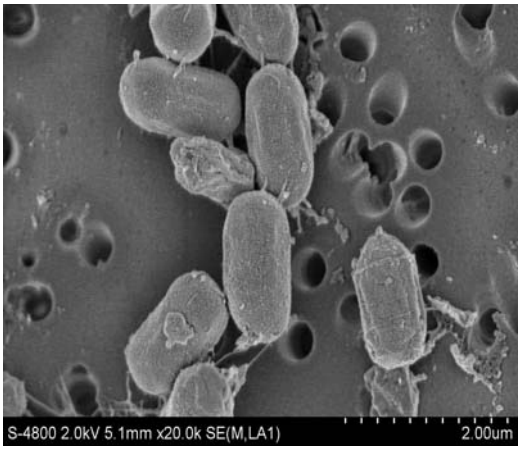


(ข)

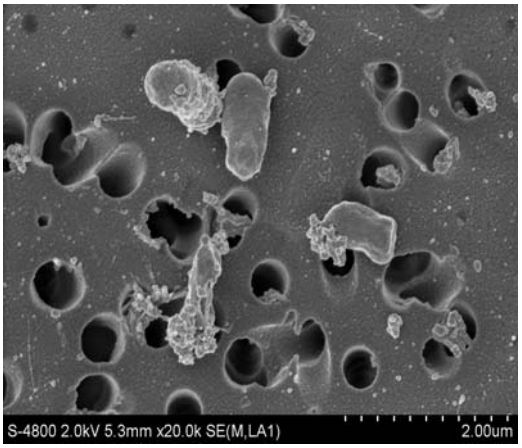
รูปที่ 4.10 เชื้อ *E. coli* (ก) ก่อนได้รับสารสกัด (ข) หลังได้รับสารสกัด

4.5.2 การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *B. subtilis*

ผลของสารสกัดเบญกานีด้วยเอทานอลต่อเชื้อ *B. subtilis* พบว่า ก่อนทำการเติมสารสกัดนั้น เซลล์ปกติมีความแข็งแรง มีลักษณะผิวเซลล์ที่ราบเรียบเช่นเดียวกับผิวเซลล์ของเชื้อ *E. coli* เมื่อมีการเติมสารสกัดลงไป จะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัด คือ เซลล์ของ *B. subtilis* มีลักษณะยืดยาวขึ้น และรูปร่างของผนังเซลล์มีการเปลี่ยนรูปไป โดยเกิดการยุบหรือสลายตัว ทำให้รูปร่างเซลล์ผิดปกติไปจากเดิม ดังแสดงในรูปที่ 4.11



(ก)

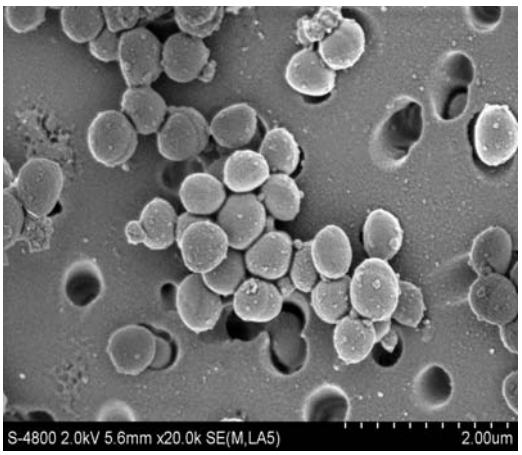


(ข)

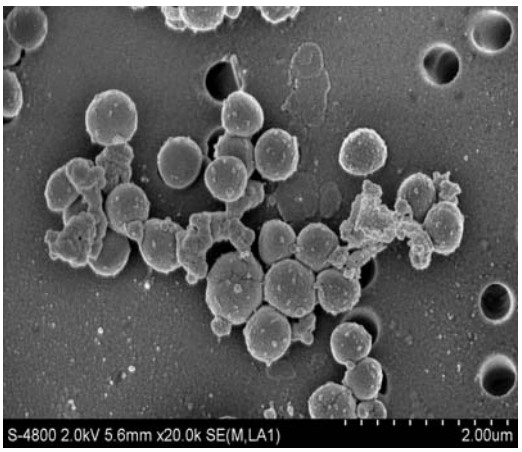
รูปที่ 4.11 เชื้อ *B. subtilis* (ก) ก่อนได้รับสารสกัด (ข) หลังได้รับสารสกัด

4.5.3 การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *S. aureus*

สำหรับผลของสารสกัดเบญกานีด้วยเมทานอลต่อการเปลี่ยนแปลงของเชื้อ *S. aureus* พบว่า ลักษณะรูปร่างของเชื้อปกติเป็นรูปทรงกลมผิวเรียบอยู่รวมกันเป็นกลุ่มก้อน ซึ่งเมื่อทำการเติมสารสกัดพบว่า ผนังเซลล์ของเชื้อถูกทำลายจากผิวเรียบกลายเป็นผิวขรุขระ และผนังเซลล์บางส่วนมีการฉีกขาดและหลุดออกมาเกาะรวมกันที่พื้นผิวภายนอก ดังแสดงในรูปที่ 4.12



(ก)



(ข)

รูปที่ 4.12 เชื้อ *S. aureus* (ก) ก่อนได้รับสารสกัด (ข) หลังได้รับสารสกัด

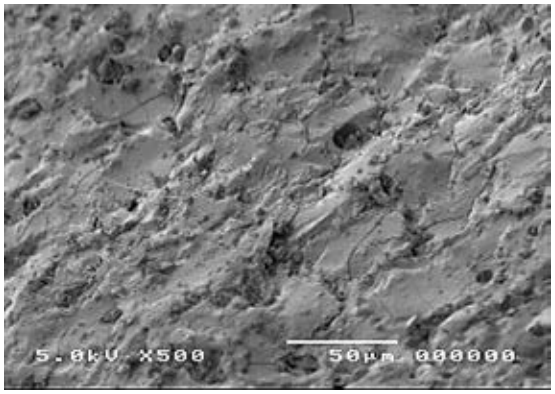
จากผลการถ่ายภาพของจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดเบญกานีนั้น ได้ผลเช่นเดียวกับการทดลองของ (Voravuthikuncahi and Chusri 2009) และงานวิจัยของของ (Leela and Satirapipathkul 2010) ที่ศึกษาการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ด้วยสารสกัดสมนุไพรจากเอทานอล โดยพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติการควบคุมสารเข้า-ออก ของเยื่อหุ้มเซลล์ เมื่อทำการ

ตรวจสอบการรั่วไหลของสารประกอบที่ดูดกลืนแสง UV ซึ่งอาจรั่วไหลจากเยื่อภายในที่ช่วงความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร แต่ทำให้เกิด pseudomulticellular aggregates ทำให้มีการเกาะตัวของกลุ่มเซลล์ที่มีผนังเซลล์หนา มีสาเหตุหลักจากสารกลุ่มแทนนิน ซึ่งลักษณะการเปลี่ยนแปลงเช่นนี้มีปรากฏในการทดลองของ (Hamilton-Miller and Shah 1999) เกี่ยวกับการยับยั้งเซลล์ของ *S. aureus* ด้วยสารสกัดจากชาเขียว ที่ประกอบด้วยสารชีวภาพออกฤทธิ์ในกลุ่มแทนนิน และกรดแกลลิก

นอกจากนี้ (Suwalak and Voravuthikunchai 2009) พบว่าเซลล์ของ *E. coli* ซึ่งปกติมีรูปร่างเป็น rod shape และมีผนังเซลล์ชั้นนอกประกอบด้วยเยื่อติดแน่นกับ cytoplasmic membrane เมื่อมีการใช้สารสกัดของเบญกานีชนิดที่ความเข้มข้น MIC ที่ค่า 0.78 ถึง 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะมีผลทำให้เกิดการเสียผิวหน้าเซลล์ของ *E. coli* และ cytoplasmic membrane เกิดการถูกทำลาย เซลล์บางเซลล์หยุดการแบ่งตัว และผนังเซลล์ชั้นนอกเกิดการแยกตัวออกจาก cytoplasmic membrane รวมทั้งมีการรั่วหรือฉีกขาดของผนังเซลล์ชั้นนอกและ cytoplasmic membrane

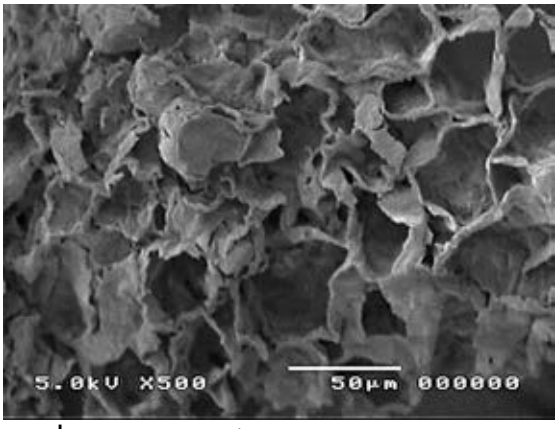
4.6 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของสมุนไพรที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลาย

การศึกษาผลของตัวทำละลายต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา โดยการใช้เบญกานีแห้งขนาดอนุภาค 300 ไมโครเมตร นำมาสกัดเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 กรัมสมุนไพรแห้งต่อมิลลิลิตรตัวทำละลาย ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ เมื่อสิ้นสุดการสกัด นำผงเบญกานีมาอบแห้งและนำไปถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดเพื่อเปรียบเทียบลักษณะก่อนและหลังการสกัด โดยสภาพพื้นผิวของเบญกานีก่อนการสกัด พบว่ามีลักษณะผิวหน้าขรุขระ เป็นระนาบค่อนข้างเสมอกัน ไม่มีรูพรุนดังแสดงในรูปที่ 4.13



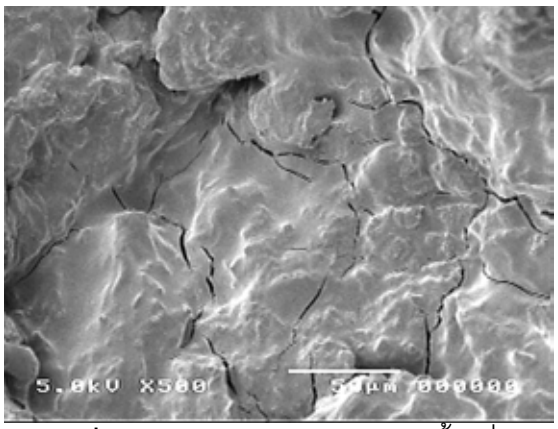
รูปที่ 4.13 เบญกานีก่อนการสกัด

สภาพพื้นผิวของเบญกานีที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลดังแสดงในรูปที่ 4.14 พบว่า มีลักษณะเป็นรูพรุนลึกและฉีกขาดค่อนข้างมากกว่า สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่นๆ แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายเอทานอลมีฤทธิ์ในการสกัดเบญกานี ได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับร้อยละของสารสกัดที่ได้ของเบญกานีที่มีค่ามากที่สุด



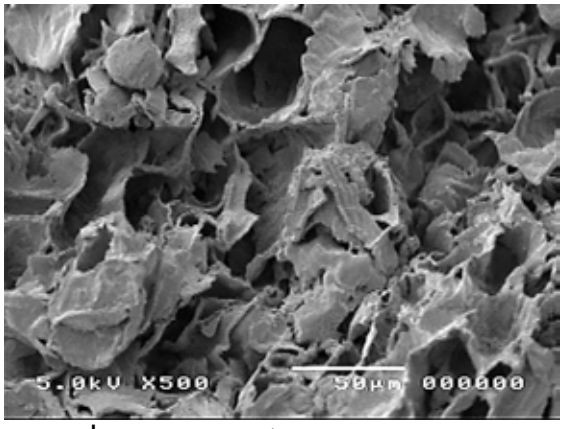
รูปที่ 4.14 เบญกานีหลังการสกัดด้วยเอทานอล

สภาพพื้นผิวของเบญกานีที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำพบว่า มีลักษณะผิวหน้าขรุขระ เป็นรูกว้าง และมีรอยแยกฉีกขาด แสดงในรูปที่ 4.15 แสดงให้เห็นว่าน้ำกลั่นมีฤทธิ์ในการสกัดเบญกานีได้ดีรองจากตัวทำละลายเอทานอล ซึ่งสอดคล้องกับร้อยละของสารสกัดที่ได้ของเบญกานีที่มีค่ามากเป็นอันดับ 2



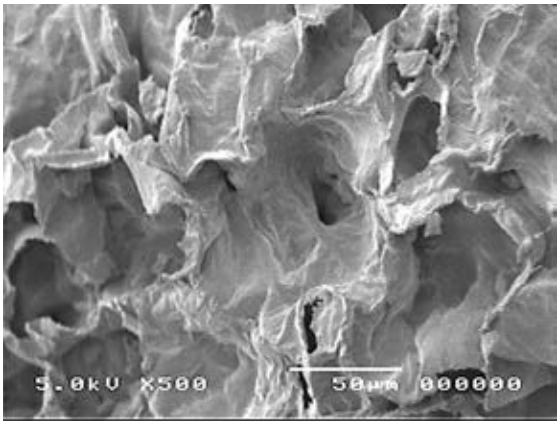
รูปที่ 4.15 เบญกานีหลังสกัดด้วยน้ำกลั่น

สภาพพื้นผิวของเบญกานีที่สกัดด้วยอะซิโตน พบว่ามีลักษณะเป็นรูพรุนลึกเช่นเดียวกับพื้นผิวที่สกัดด้วยเอทานอล แต่การฉีกขาดไม่กว้างเท่ากับการสกัดด้วยเอทานอล ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองหาร้อยละของสารสกัดที่ได้ของเบญกานีที่สกัดด้วยอะซิโตน พบว่ามีค่ามากเป็นอันดับที่สาม ดังแสดงในรูปที่ 4.16



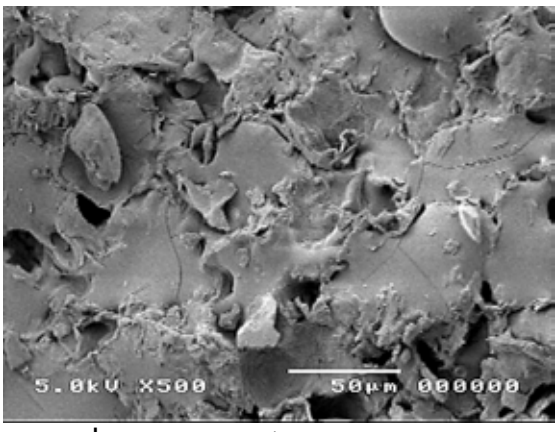
รูปที่ 4.16 เบญกานีหลังสกัดด้วยอะซิโตน

สภาพพื้นผิวของเบญกานีที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต พบว่าลักษณะของพื้นผิวไม่มีรูพรุนลึกเหมือนตัวทำละลายเอทานอลและอะซิโตน แต่ถูกกัดเซาะลงไปเล็กน้อยดังแสดงในรูปที่ 4.17 และจะเห็นว่าตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต มีฤทธิ์ในการสกัดค่อนข้างน้อย



รูปที่ 4.17 เบญกานีหลังสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต

ส่วนสภาพพื้นผิวของเบญกานีที่สกัดด้วยเฮกเซน พบว่าลักษณะของพื้นผิวไม่มีรูพรุนลึก แต่ถูกกัดเซาะลงไปเล็กน้อยดังแสดงในรูปที่ 4.18 และจะเห็นว่าเฮกเซนมีฤทธิ์ในการสกัดค่อนข้างน้อย ซึ่งสอดคล้องกับร้อยละของสารสกัดที่ได้ของเบญกานีที่มีค่าน้อยที่สุด



รูปที่ 4.18 เบญกานีหลังสกัดด้วยเฮกเซน

4.7 ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของตัวอย่างผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดสมุนไพร และสารมอร์แดนท์

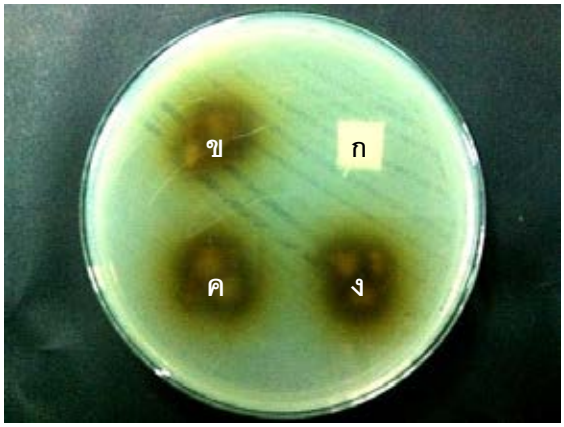
จากการทดลองโดยใช้ตัวอย่างผ้าเป็นผ้าฝ้ายบริสุทธิ์ (100%) มีน้ำหนัก 0.055 กรัม ต่อ 1 ตารางนิ้ว โดยมีเส้นด้ายยืน 90 เส้นต่อ 1 นิ้ว และเส้นด้ายพุ่ง 80 เส้นต่อ 1 นิ้ว ที่ผ่านการทำความสะอาด นำมาแช่ในสารสกัดที่ความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อลิตร คือสารสกัดด้วยเอทานอลของเบญกานี สารสกัดด้วยอะซีโตนของใบหนาด และสารสกัดเอทิลอะซิเตทของสมอพิเภกและหญ้างวงช้าง แช่ด้วยสารละลายมอร์แดนท์ 2 ชนิด ได้แก่ อะลูมิเนียมและเหล็ก ด้วยวิธี Post-mordanting ที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ต่อน้ำหนักของผ้าฝ้าย และนำผ้าฝ้ายทั้งหมดไปฆ่าเชื้อด้วยรังสี UV ก่อนนำไปใช้ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่อเชื้อ *E. coli*, *B. subtilis* และ *S. aureus* ได้ผลการทดลองแสดงดังในรูปที่ 4.19 ถึง 4.22 และสรุปผลในตารางที่ 4.6

จากผลการทดลองที่ได้พบว่า สารสกัดจากสมุนไพรเบญกานี และสมอพิเภก ที่ชุบลงบนผ้าฝ้ายโดยตรง สามารถแสดงผลออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *B. subtilis* และ *S. aureus* โดยผ้าฝ้ายชุบสารสกัดจากเบญกานีให้ประสิทธิภาพสูงกว่า โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยเมื่อยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *B. subtilis* และ *S. aureus* มีค่าเท่ากับ 13.25 15.25 และ 17.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าการใช้ผ้าฝ้ายชุบสารสกัดจากสมอพิเภก ที่ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยเมื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด มีค่าเท่ากับ 11.75 12.75 และ 14.00 มิลลิเมตรตามลำดับ โดยผ้าฝ้ายชุบสารสกัดหยาบจากสมุนไพรทั้งสองจะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ดีกว่า *E. coli* และ *B. subtilis* ส่วนผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดจากสมุนไพรใบหนาด และหญ้างวงช้างนั้นไม่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสามชนิดได้เลย แม้จะใช้ที่ความเข้มข้นสารสกัดหยาบเท่ากัน (300 µg/ml) ทั้งนี้เนื่องจากความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบนั้นมีน้อยกว่า จึงทำ

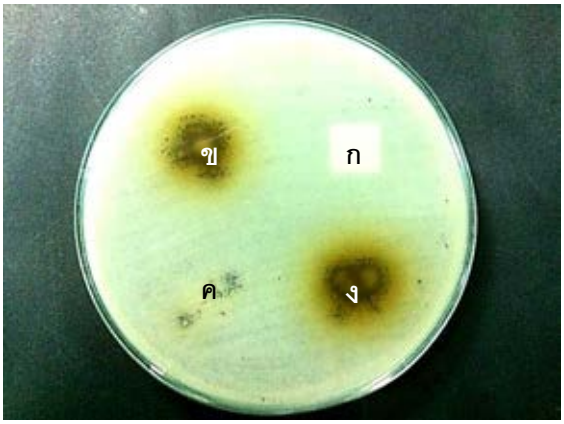
ให้มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ค่อนข้างน้อย ส่งผลให้ผ้าที่ชุบสารสกัดจากสมุนไพรทั้งสองชนิดไม่สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวได้

ส่วนฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดจากเบญกานี และสมอพิเภกร่วมกับการใช้สารละลายมอร์แดนท์ 2 ชนิด คือ เหล็กและอะลูมิเนียม พบว่าการใช้สารละลายมอร์แดนท์จะมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของผ้าที่ชุบสารสกัดเบญกานี และสมอพิเภกลดลง อาจเป็นผลจากขนาดของขอบเขตของการยับยั้งจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับอัตราการแพร่กระจายของสารสกัดที่ชุบลงบนผ้าฝ้าย ระดับของความไวของเชื้อจุลินทรีย์ และอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งโลหะของสารละลายมอร์แดนท์ที่ชุบลงบนผ้าฝ้ายจะเกิดจะรวมตัวกับสารสกัดและรวมตัวกับโมเลกุลของเส้นใย โดยยึดติดกันด้วยพันธะโคออร์ดิเนต ทำให้เกิดสิ่งที่ไม่ละลายน้ำเรียกว่า Color lake สามารถผนึกสารสกัดอยู่ในเส้นใยได้ดีขึ้น (stainsfile 2008) มีผลให้โมเลกุลของสารสกัดมีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้สารสกัดมีความคงทนต่อการละลายออกมามากขึ้น ส่งผลต่ออัตราการแพร่กระจายของสารสกัด ทำให้ขนาดของขอบเขตของการยับยั้งจุลินทรีย์ลดลง โดยผ้าฝ้ายชุบสารสกัดจากเบญกานีและเหล็กให้ประสิทธิภาพสูงกว่า และแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus* โดยให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยเท่ากับ 12.50 13.00 และ 15.50 มิลลิเมตรตามลำดับ ในขณะที่การใช้ผ้าฝ้ายชุบสารสกัดจากสมอพิเภกและเหล็ก ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยเท่ากับ 11.00 11.75 และ 13.00 มิลลิเมตร ทั้งนี้ผ้าชุบสารสกัดหยาบจากสมุนไพรทั้งสองจะมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ดีกว่าเชื้ออีก 2 ชนิด ส่วนผ้าฝ้ายชุบสารสกัดเบญกานีและอะลูมิเนียมนั้น ยังคงมีประสิทธิภาพสูงกว่าผ้าฝ้ายชุบสารสกัดจากสมอพิเภกและอะลูมิเนียม ทั้งผ้าชุบสารสกัดหยาบจากสมุนไพรทั้งสองชนิดสามารถแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้ โดยให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยของผ้าฝ้ายชุบสารสกัดจากเบญกานีและอะลูมิเนียม มีค่าเท่ากับ 11.25 13.00 และ 15.50 มิลลิเมตร และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยของผ้าฝ้ายชุบสารสกัดจากสมอพิเภกและอะลูมิเนียมมีค่าเท่ากับ 10.75 11.50 และ 11.75 มิลลิเมตรตามลำดับ

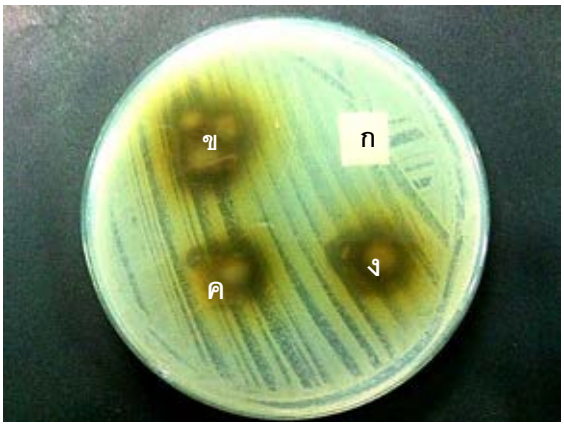
เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบประสิทธิภาพสารละลายมอร์แดนท์ 2 ชนิด จะเห็นว่าผ้าฝ้ายชุบสารสกัดและเหล็กนั้น สามารถแสดงผลออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าผ้าชุบสารสกัดและอะลูมิเนียม ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารมอร์แดนท์มีลำดับของโลหะอิออน (ปณิธาน 2552) ซึ่งเหล็กมีอิออนสูงกว่าอะลูมิเนียม ส่งผลให้เหล็กสามารถดูดซับสารสกัดได้มากกว่าอะลูมิเนียม ผลที่ได้คือผ้าชุบสารสกัดและเหล็กสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าผ้าชุบสารสกัดและอะลูมิเนียม



E. coli

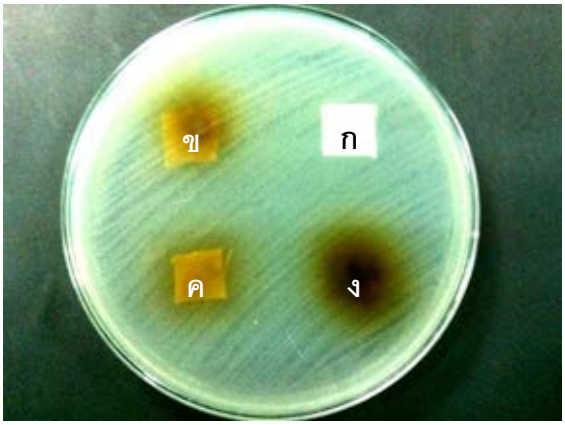


B. subtilis

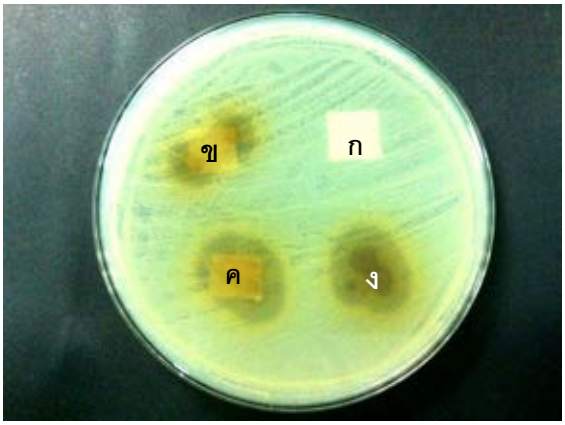


S. aureus

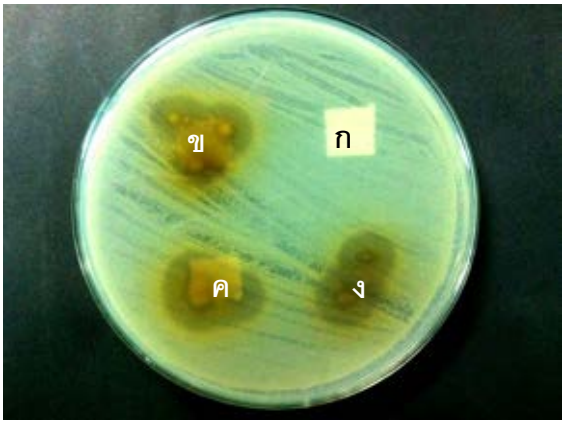
รูปที่ 4.19 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดจากเบญกานี บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ก) ผ้าที่ไม่ได้ชุบสารสกัด (ข) ผ้าที่ชุบสารสกัดอย่างเดียว (ค) ผ้าที่ชุบสารสกัดและอะลูมิเนียม (ง) ผ้าที่ชุบสารสกัดและเหล็ก



E. coli

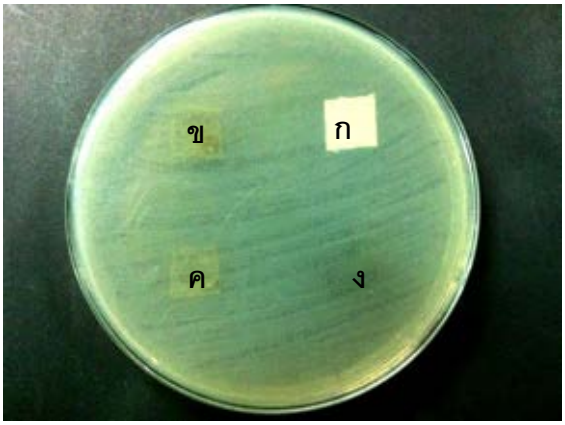


B. subtilis

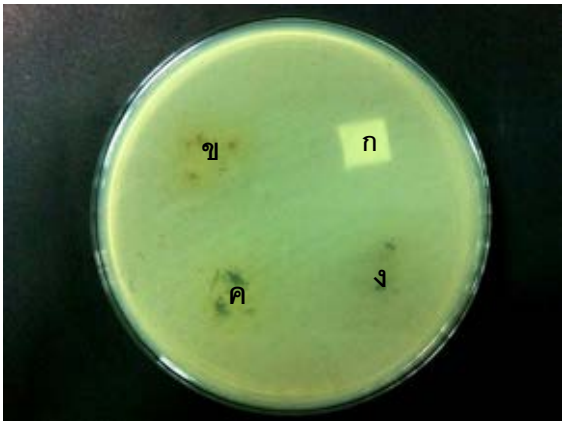


S. aureus

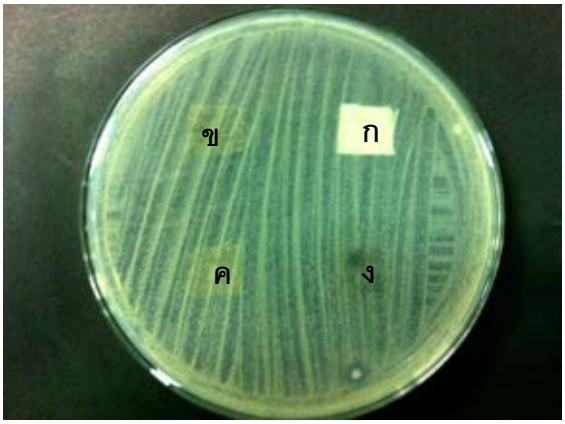
รูปที่ 4.20 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดจากสมอพิเภก บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ก) ผ้าที่ไม่ได้ชุบสารสกัด (ข) ผ้าที่ชุบสารสกัดอย่างเดียว (ค) ผ้าที่ชุบสารสกัดและอะลูมิเนียม (ง) ผ้าที่ชุบสารสกัดและเหล็ก



E. coli

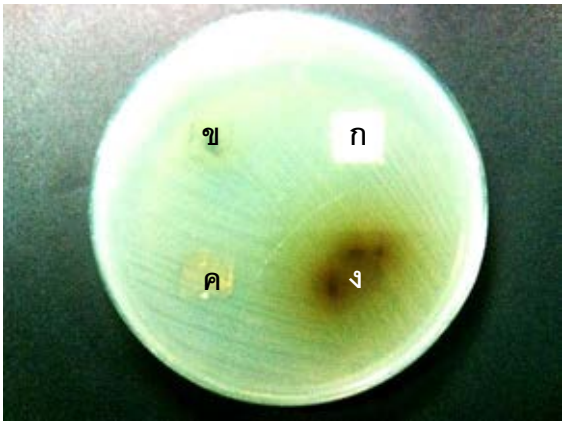


B. subtilis

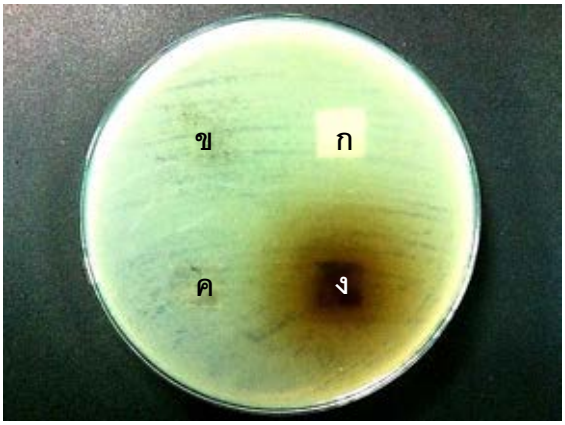


S. aureus

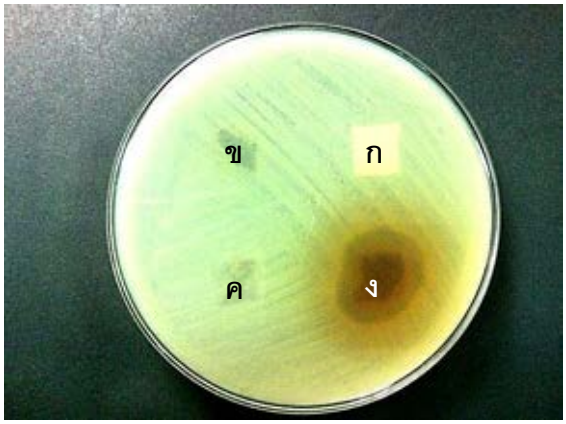
รูปที่ 4.21 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดจากใบหนาด บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ก) ผ้าที่ไม่ได้ชุบสารสกัด (ข) ผ้าที่ชุบสารสกัดอย่างเดียว (ค) ผ้าที่ชุบสารสกัดและอะลูมิเนียม (ง) ผ้าที่ชุบสารสกัดและเหล็ก



E. coli



B. subtilis



S. aureus

รูปที่ 4.22 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดจากหญ้างวงช้าง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ก) ผ้าที่ไม่ได้ชุบสารสกัด (ข) ผ้าที่ชุบสารสกัดอย่างเดียว (ค) ผ้าที่ชุบสารสกัดและอะลูมิเนียม (ง) ผ้าที่ชุบสารสกัดและเหล็ก

ตารางที่ 4.6 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบด้วยสารสกัดจากสมุนไพร และมอร์แดนท์

สมุนไพร	**ผ้าผ้าย**	**ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ± S.D.**[a]		
		E. coli	*B. subtilis*	*S. aureus*
เบญกานี	ไม่ใส่สารสกัด	-	-	-
	ใส่สารสกัด	13.25±0.35	15.25±0.35	17.00±0.00
	สารสกัด+อะลูมิเนียม	11.25±0.35	13.00±0.71	15.50±0.00
	สารสกัด+เหล็ก	12.50±0.00	14.00±0.00	16.25±0.35
สมอพิเภก	ไม่ใส่สารสกัด	-	-	-
	ใส่สารสกัด	11.75±0.35	12.75±0.35	14.00±0.00
	สารสกัด+อะลูมิเนียม	10.75±0.35	11.25±0.35	11.75±0.35
	สารสกัด+เหล็ก	11.00±0.00	11.75±0.35	13.00±0.71
ใบหนาด	ไม่ใส่สารสกัด	-	-	-
	ใส่สารสกัด	-	-	-
	สารสกัด+อะลูมิเนียม	-	-	-
	สารสกัด+เหล็ก	-	-	-
หญ้างวงช้าง	ไม่ใส่สารสกัด	-	-	-
	ใส่สารสกัด	-	-	-
	สารสกัด+อะลูมิเนียม	-	-	-
	สารสกัด+เหล็ก	-	-	-

หมายเหตุ : เส้นผ่านศูนย์กลางของผ้าฝ้าย 10.00 มิลลิเมตร

4.8 ผลการศึกษาความคงทนต่อการซักล้างของตัวอย่างผ้าฝ้ายที่ชุบด้วยสารสกัดจากสมุนไพรและมอร์แดนท์

ทำการศึกษาผลของมอร์แดนท์ 2 ชนิด ได้แก่ อะลูมิเนียมและเหล็ก ตามข้อ 4.7 นำมาทำความสะอาดโดยการซักด้วยสบู่ และน้ำปราศจากไอออน เพื่อนำไปใช้ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่อเชื้อ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus* โดยผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.7 ถึง 4.8

จากผลการทดลองที่ได้ พบว่าสารสกัดจากสมุนไพรเบญกานีและสมอพิเภกที่ชุบลงบนผ้าฝ้ายหลังจากผ่านการซักครั้งที่ 2 ผ้าฝ้ายที่ผ่านการชุบสารสกัดจากสมุนไพรทั้งสอง มีความคงทน

ของสารสกัดต่อการซักล้างในระดับต่ำลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของสารสกัดที่สูญเสียไปในระหว่างการซักล้างทำให้ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ลดลง ผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดจากเบญกานีให้ประสิทธิภาพสูงกว่าผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดจากสมอพิเภก โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยเมื่อยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *B. subtilis* และ *S. aureus* เท่ากับ 12.75 13.50 และ 14.00 มิลลิเมตร ในส่วนของผ้าฝ้ายที่ผ่านการชุบสารสกัดจากสมอพิเภกหลังการซักครั้งที่ 2 พบว่าสามารถคงสภาพการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้เช่นกัน โดยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 11.00 11.25 และ 12.50 มิลลิเมตรตามลำดับ และผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ดีกว่า *E. coli* และ *B. subtilis* เมื่อผ่านการซักครั้งที่ 5 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยของผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดจากเบญกานีให้ผลการยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *B. subtilis* และ *S. aureus* ลดลง มีค่าเท่ากับ 10.50 11.25 และ 11.75 มิลลิเมตร และผ้าฝ้ายที่ผ่านการชุบสารสกัดจากสมอพิเภก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยเท่ากับ 8.75 9.75 และ 10.00 มิลลิเมตรตามลำดับ

ส่วนฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดจากเบญกานี และสมอพิเภกร่วมกับการใช้สารละลายมอร์แดนท์ 2 ชนิด คือ อะลูมิเนียม และเหล็ก จากผลการทดลอง พบว่าหลังการซักครั้งที่ 2 ผ้าที่ผ่านการชุบสารสกัดจากเบญกานี สมอพิเภก และมอร์แดนท์ มีความคงทนต่อการซักล้างและประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ในระดับต่ำลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของสารสกัดที่สูญเสียไปในระหว่างการซักล้าง ซึ่งผลการทดลองที่ได้ผ้าฝ้ายชุบสารสกัดจากเบญกานีและเหล็กให้ประสิทธิภาพสูงกว่า โดยฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *B. subtilis* และ *S. aureus* ของผ้าฝ้ายชุบสารสกัดจากเบญกานีและเหล็กมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยเท่ากับ 12.25 12.50 และ 13.25 มิลลิเมตร ส่วนผ้าฝ้ายที่ผ่านการชุบสารสกัดจากสมอพิเภกและเหล็ก ให้ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus* ได้เช่นเดียวกันแต่ในระดับที่ต่ำกว่า โดยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 10.50 11.00 และ 12.25 มิลลิเมตรตามลำดับ ผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดจากเบญกานีและอะลมิเนียมยังคงสามารถให้ประสิทธิภาพในการแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli, B. subtilis* และ *S. aureus* ได้เช่นเดียวกันแต่ในระดับที่ต่ำกว่าผ้าฝ้ายชุบสารสกัดจากเบญกานีและเหล็ก โดยให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยเท่ากับ 10.50 11.50 และ 12.75 มิลลิเมตร ส่วนผ้าฝ้ายที่ผ่านการชุบสารสกัดจากสมอพิเภกและอะลูมิเนียม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยเท่ากับ 10.25 10.50 และ 11.00 มิลลิเมตรตามลำดับ

เมื่อผ่านการซักครั้ง 5 ประสิทธิภาพของผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดและสารละลายมอร์แดนท์ 2 ชนิด ก็ลดลง แต่ยังให้ประสิทธิภาพสามารถแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *B. subtilis* และ *S.*

aureus ได้ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยดังนี้ ผ้าชุบสารสกัดเบญกานีและเหล็ก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยเท่ากับ 10.25 10.50 และ 11.00 มิลลิเมตร ผ้าฝ้ายที่ผ่านการชุบสารสกัดจากสมอพิเภกและเหล็ก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยเท่ากับ 8.50 9.25 และ 9.75 มิลลิเมตรตามลำดับ และผ้าชุบสารสกัดเบญกานีและอะลูมิเนียม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยเท่ากับ 9.00 10.00 และ 10.50 มิลลิเมตร ส่วนผ้าฝ้ายที่ผ่านการชุบสารสกัดจากสมอพิเภกและอะลูมิเนียม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยเท่ากับ 7.50 8.75 และ 9.25 มิลลิเมตรตามลำดับ

ตารางที่ 4.7 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบด้วยสารสกัดจากสมุนไพร และมอร์แดนท์หลังจากทำการซัก 2 ครั้ง

สมุนไพร	**ผ้าผ้าย**	**ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ± S.D.**[a]		
		E. coli	*B. subtilis*	*S. aureus*
เบญกานี	ไม่ใส่สารสกัด	-	-	-
	ใส่สารสกัด	12.75±0.35	13.50±2.12	14.00±0.00
	สารสกัด+อะลูมิเนียม	10.50±0.71	11.50±1.41	12.75±1.77
	สารสกัด+เหล็ก	12.25±0.35	12.50±2.12	13.25±1.77
สมอพิเภก	ไม่ใส่สารสกัด	-	-	-
	ใส่สารสกัด	11.00±0.00	11.25±0.35	12.50±0.71
	สารสกัด+อะลูมิเนียม	10.25±0.35	10.50±0.71	11.00±0.00
	สารสกัด+เหล็ก	10.50±0.71	11.00±0.00	12.25±1.06

หมายเหตุ : เส้นผ่านศูนย์กลางของผ้าฝ้าย 10.00 มิลลิเมตร

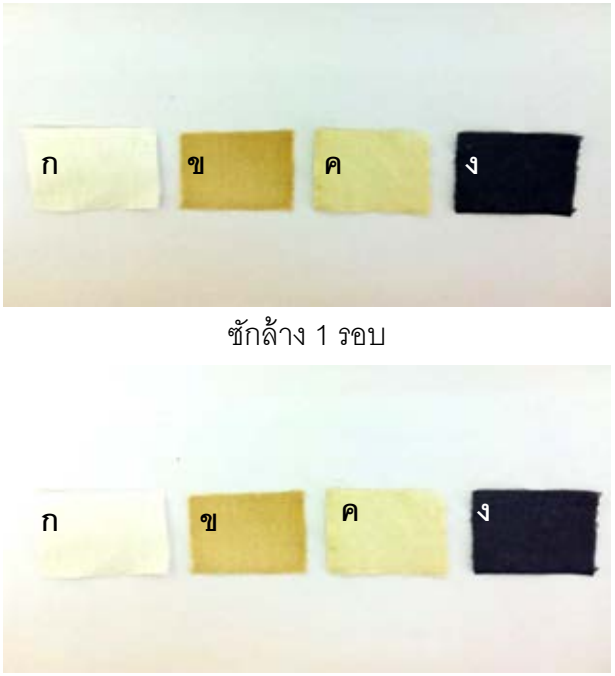
ตารางที่ 4.8 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบด้วยสารสกัดจากสมุนไพร และมอร์แดนท์หลังจากทำการซัก 5 ครั้ง

สมุนไพร	**ผ้าผ้าย**	**ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร) ± S.D.**[a]		
		E. coli	*B. subtilis*	*S. aureus*
เบญกานี	ไม่ใส่สารสกัด	-	-	-
	ใส่สารสกัด	10.50±0.00	11.25±0.35	11.75±0.35
	สารสกัด+อะลูมิเนียม	9.00±1.41	10.00±0.00	10.75±0.71
	สารสกัด+เหล็ก	10.25±0.35	10.50±0.71	11.25±0.00
สมอพิเภก	ไม่ใส่สารสกัด	-	-	-
	ใส่สารสกัด	8.75±0.35	9.75±0.35	10.00±0.00
	สารสกัด+อะลูมิเนียม	7.50±0.71	8.25±0.35	8.75±0.35
	สารสกัด+เหล็ก	8.50±0.71	9.25±1.06	9.75±0.35

หมายเหตุ : เส้นผ่านศูนย์กลางของผ้าฝ้าย 10.00 มิลลิเมตร

4.9 **ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของผ้าฝ้าย**

เมื่อนำผ้าฝ้ายที่ผ่านการชุบด้วยสารสกัดและมอร์แดนท์ มาทำการซักล้างด้วยสบู่และน้ำปราศจากไอออนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที และทำการซักทั้งหมด 5 รอบ จะได้ผ้าที่มีลักษณะแสดงดังรูปที่ 4.23

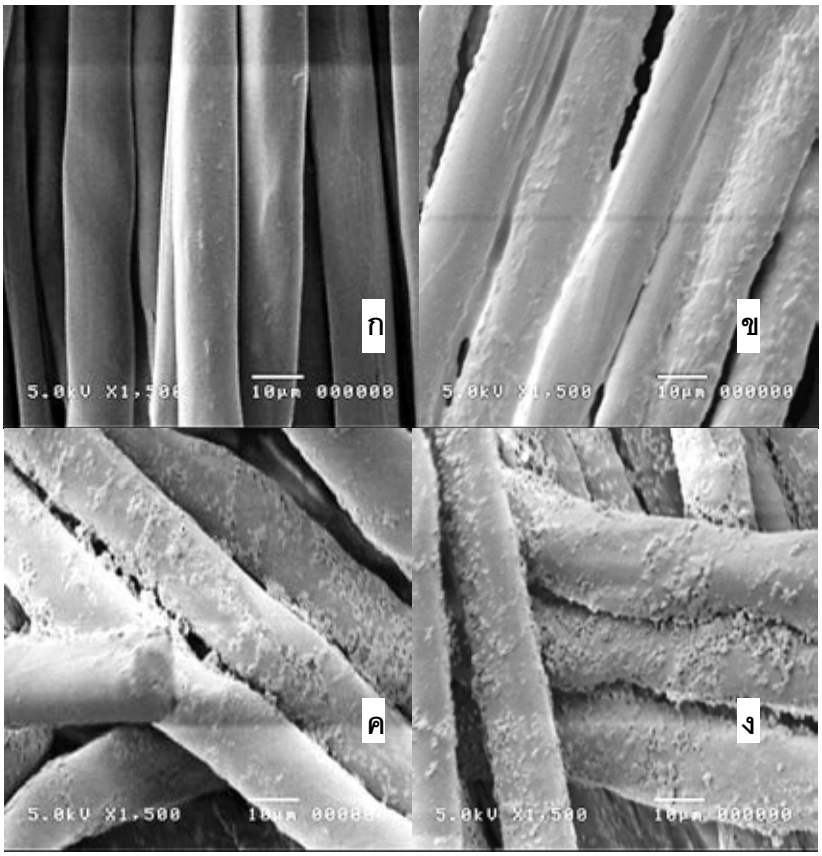


รูปที่ 4.23 ลักษณะของผ้าฝ้ายที่ผ่านการซักล้าง 1 และ 5 รอบ (ก) ผ้าที่ไม่ได้ผ่านการชุบสารสกัด (ข) ผ้าที่ผ่านการชุบสารสกัดโดยไม่ได้ใช้สารมอร์แดนท์ (ค) ผ้าที่ผ่านการชุบสารสกัดและอะลูมิเนียม (ง) ผ้าที่ผ่านการชุบสารสกัดและเหล็ก

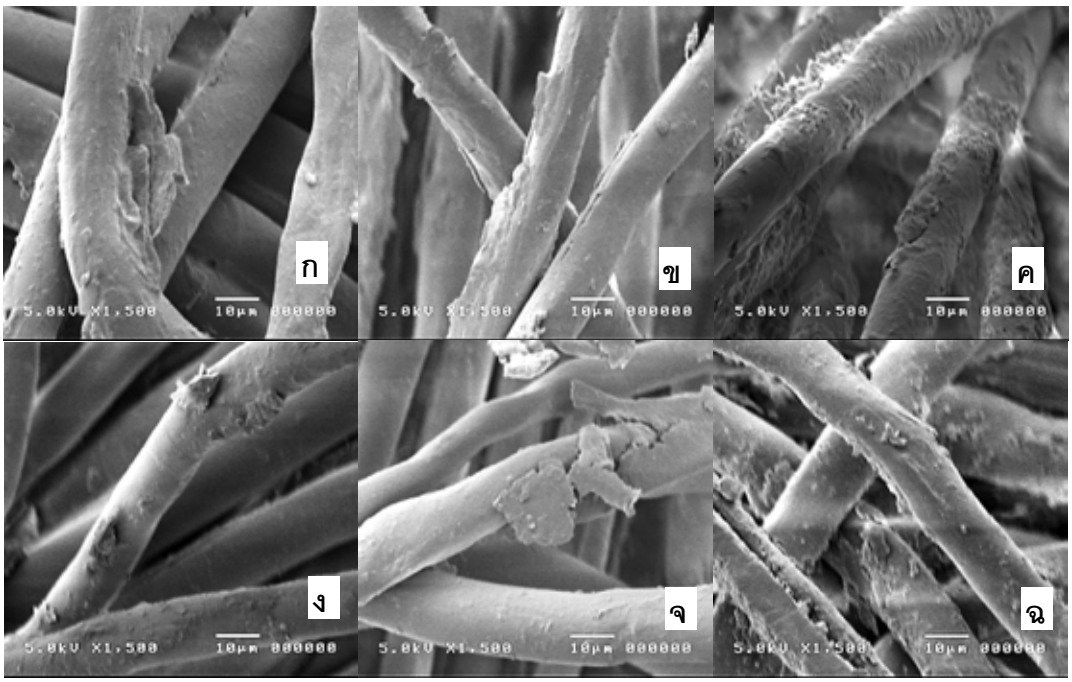
จากรูปที่ 4.23 จะพบว่า ผ้าฝ้ายที่ผ่านการซักล้าง 5 รอบ จะมีลักษณะของผ้าที่สะอาดมากกว่าผ้าที่ผ่านการซักล้างเพียง 1 ครั้ง ทั้งนี้สบู่จะช่วยกำจัดสิ่งปนเปื้อนออกจากเนื้อผ้าทำให้ผ้ามีความสะอาดมากขึ้น และเมื่อนำผ้าฝ้ายที่สภาวะต่างๆ มาศึกษาเปรียบเทียบการลักษณะสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงดังรูป 4.24 พบว่าผ้าฝ้ายที่ไม่ได้ผ่านการชุบสารสกัด (ในรูปที่ 4.24) จะมีลักษณะเส้นใยเป็นเส้นค่อนข้างตรงเรียงกันอย่างเป็นระเบียบ และไม่มีอนุภาคใดๆ เกาะอยู่บนเส้นใย เมื่อนำมาชุบสารสกัดสมุนไพรโดยไม่มีการใช้สารมอร์แดนท์ จะมีลักษณะเส้นใยผ้าที่ค่อนข้างตรง และมีสารสกัดยึดเกาะกระจายกันอยู่บนเส้นใย (ในรูปที่ 4.24) ส่วนผ้าฝ้ายที่ชุบสารสกัดสมุนไพรโดยมีการใช้สารมอร์แดนท์ จะมีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน แต่มีอนุภาคสารสกัดที่เกาะอยู่บนเส้นใยในปริมาณที่สูงกว่า (ในรูปที่ 4.24)

เมื่อนำมาผ่านการซักล้าง 1 รอบ พบว่าเส้นใยมีการยึดเรียงกันไม่เป็นระเบียบ และอนุภาคสารสกัดเกาะอยู่บนเส้นใยของผ้าทั้งที่ใช้สารมอร์แดนท์ และไม่ใช้สารมอร์แดนท์ มีปริมาณพอประมาณ (ในรูปที่ 4.25) โดยอนุภาคสารสกัดเกาะอยู่บนสารมอร์แดนท์เหล็ก จะมีปริมาณ

มากกว่าสารมอร์แดนท์อะลูมิเนียม ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่สารมอร์แดนท์เหล็ก แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารมอร์แดนท์อะลูมิเนียม และเมื่อผ่านการซัก 5 รอบ พบว่าเส้นใยมีการยืดเรียงกันไม่เป็นระเบียบ มีการฉีกขาด และปริมาณอนุภาคสารสกัดเกาะบนเส้นใยของผ้าจะเหลือน้อยลง (ในรูปที่ 4.25) โดยจำนวนรอบของการซักล้าง อาจเป็นสาเหตุให้การเชื่อมโยงโมเลกุลของสารสกัด และผ้าฝ้ายถูกชะล้างกำจัดออกไป



รูปที่ 4.24 แสดงภาพถ่ายผ้าฝ้ายที่สภาวะต่างๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (ก) ผ้าที่ไม่ได้ผ่านการชุบสารสกัด (ข) ผ้าที่ผ่านการชุบสารสกัดโดยไม่ได้ใช้สารมอร์แดนท์ (ค) ผ้าที่ผ่านการชุบสารสกัดและใช้สารมอร์แดนท์อะลูมิเนียม (ง) ผ้าที่ผ่านการชุบสารสกัดและใช้สารมอร์แดนท์เหล็ก



รูปที่ 4.25 แสดงภาพถ่ายผ้าฝ้ายที่ผ่านการซักล้างที่สภาวะต่างๆ ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

(ก) ผ้าที่ผ่านการชุบสารสกัดโดยไม่ได้ใช้สารมอร์แดนท์เมื่อผ่านการซักล้าง 1 รอบ

(ข) ผ้าที่ผ่านการชุบสารสกัดและใช้สารมอร์แดนท์อะลูมิเนียมเมื่อผ่านการซักล้าง 1 รอบ

(ค) ผ้าที่ผ่านการชุบสารสกัดและใช้สารมอร์แดนท์เหล็กเมื่อผ่านการซักล้าง 1 รอบ

(ง) ผ้าที่ผ่านการชุบสารสกัดโดยไม่ได้ใช้สารมอร์แดนท์เมื่อผ่านการซักล้าง 5 รอบ

(จ) ผ้าที่ผ่านการชุบสารสกัดและใช้สารมอร์แดนท์อะลูมิเนียมเมื่อผ่านการซักล้าง 5 รอบ

(ฉ) ผ้าที่ผ่านการชุบสารสกัดและใช้สารมอร์แดนท์เหล็กเมื่อผ่านการซักล้าง 5 รอบ

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 เมื่อทำการสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด คือ เบญกานี สมอพิเภก ใบหนาด และหญ้างวงช้าง ด้วยตัวทำละลายโดยเรียงลำดับความมีขั้วจากตัวทำละลายมีขั้วจนถึงตัวทำละลายไม่มีขั้ว คือ น้ำกลั่น เอทานอล อะซิโตน เอทิลอะซิเตท และเฮกเซน ตามลำดับ สมนุไพรเบญกานีและสมอพิเภกที่สกัดด้วยเอทานอล ใบหนาดและหญ้างวงช้างที่สกัดด้วยน้ำ ให้ปริมาณของสารสกัดหยาบมากที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด สารสกัดจากเบญกานีมีปริมาณสารสกัดหยาบมากกว่าสมุนไพรชนิดอื่นๆ

5.1.2 การทดสอบการหาบริเวณยับยั้งเชื้อด้วยวิธี Disc diffusion method พบว่าสารสกัดหยาบจากเบญกานีที่สกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิด ได้ดีกว่าตัวทำละลายชนิดอื่นๆ โดยยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจากสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด พบว่าสารสกัดจากเบญกานีมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด

5.1.3 เมื่อเปรียบเทียบสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) ของสารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด พบว่ายับยั้งเชื้อ *B. subtilis* และ *S. aureus* ได้ดีที่สุด และสารสกัดจากสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ

5.1.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด มีปริมาณแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ โดยสารสกัดหยาบจากเบญกานีที่สกัดด้วยเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด เมื่อเทียบกับตัวทำละลายอื่น ทั้งนี้เนื่องจากโดยส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลิกจะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสภาพขั้วสูง และเมื่อเปรียบเทียบสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด สารสกัดจากเบญกานีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าสมุนไพรชนิดอื่น

5.1.5 ขนาดอนุภาคของสมุนไพรมีอิทธิพลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิก โดยอนุภาคของสมุนไพรขนาด 75 ไมโครเมตร จะทำให้สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ในปริมาณสูง ในสภาวะที่ทดลองและปริมาณของสารสกัดที่ได้จะเข้าสู่สภาวะสมดุล หลังจากชั่วโมงที่ 12

5.1.6 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์จุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิด (*E. coli*, *B. subtilis* และ *S. aureus*) โดยส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าสารสกัดมีผลทำให้ลักษณะผนังเซลล์ของเชื้อทั้ง 3 ชนิด ถูกทำลาย และเกิดการบิดตัวผิดไปจากรูปร่างเดิม

5.1.7 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเบญกานีหลังการสกัดด้วยเอทานอล โดยส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่ามีลักษณะเป็นรูพรุนและฉีกขาดมากกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายเอทานอลมีความสามารถในการสกัดสารสกัดออกมาได้มาก ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของสารสกัดที่ได้ที่มีค่าสูงกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น

5.1.8 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบด้วยสารสกัดสมุนไพร พบว่ามีเพียงสารสกัดจากสมุนไพรเบญกานีและสมอพิเภก ที่ชุบลงบนผ้าฝ้ายโดยตรงที่สามารถแสดงผลออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *B. subtilis* และ *S. aureus* ได้ ส่วนผ้าฝ้ายที่ชุบด้วยสารสกัดจากสมุนไพรใบหนาดและหญ้างวงช้างไม่สามารถแสดงผลออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *B. subtilis* และ *S. aureus* ได้ เนื่องจากความเข้มข้นสารประกอบฟีนอลิกของสมุนไพรทั้งสองมีค่าน้อยเกินไป

5.1.9 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบด้วยสารละลายมอร์แดนท์ และสารสกัดจากสมุนไพรเบญกานีและสมอพิเภก พบว่าผลการใช้สารละลายมอร์แดนท์เหล็กจะช่วยในการดูดซับสารสกัดในผ้าฝ้ายได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับการใช้อะลูมิเนียม ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารมอร์แดนท์มีลำดับของโลหะอิออน ซึ่งสารละลายมอร์แดนท์เหล็กมีอิออนมากกว่าอะลูมิเนียม ส่งผลให้สารละลายมอร์แดนท์เหล็กสามารถดูดซับสารสกัดได้มากกว่าอะลูมิเนียม

5.1.10 ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์จะมีฤทธิ์การยับยั้งต่ำลง และให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ยเล็กลง ตามจำนวนรอบของการซักล้าง สาเหตุเพราะความเข้มข้นของสารสกัดที่สูญเสียไปในระหว่างการซักล้าง จากผลการทดลองผ้าฝ้ายที่ชุบด้วยสารสกัดสมุนไพรเบญกานีและสมอพิเภก ที่ชุบลงบนผ้าฝ้ายโดยตรงและชุบร่วมกับสารละลายมอร์แดนท์ทั้งสองชนิด มีความคงทนต่อการซัก และเมื่อผ่านการซักล้าง 5 ครั้ง ยังคงมีประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์

5.1.11 ลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของผ้าก่อน และหลังซักล้าง โดยส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าก่อนการซักล้างจะมีลักษณะเส้นใยเป็นเส้นตรงเรียงกันอย่างเป็นระเบียบ และมีอนุภาคสารสกัดที่เกาะอยู่บนเส้นใยในปริมาณที่สูง และเมื่อผ่านการซัก เส้นใยมีการยืดเรียงกันไม่เป็นระเบียบ มีการฉีกขาด และปริมาณอนุภาคสารสกัดเกาะบนเส้นใยของผ้าจะเหลือน้อยลง

5.2 **ข้อเสนอแนะ**

1. ควรมีการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้สมุนไพรสด และสมุนไพรแห้งแต่ละชนิด

2. ควรมีการวิเคราะห์ทางเคมีเพื่อระบุชนิดสารต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบใน สารสกัดหยาบที่ได้ ด้วยเครื่องวิเคราะห์ HPLC

3. เพื่อที่จะทำให้สารสกัดสามารถยึดเกาะได้ดีบนเส้นผ้าฝ้าย ทนต่อการซักล้างได้นานขึ้น และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี ควรหาวิธีการย้อม หรือใช้สารมอร์แดนท์อื่นมาทำการทดสอบ

รายการอ้างอิง

Ahmad, I., Z. Mehmood, et al. Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties. Journal of Ethnopharmacology 62 (1998): 183-193.

Alexopoylos, C. J. and C. W. Mims. Introductory Mycology. New York: John Wiley & Sons Publication,1979.

Atindehou, K. K., M. Kone, et al. Evaluation of the Antimicrobial Potential of Medicinal Plants from the Ivory Coast. Phytother. Res 16 (2002): 497-502.

Basri, D. F. and S. H. Fan. The potential of aqueous and acetone extracts of galls of *Queercus infectoria* as antibacterial agents. J. Pharm 37 (2005): 26-29.

Dash, G. K. and P. N. Murthy. ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF FEW SELECTED MEDICINAL PLANTS. INTERNATIONAL RESEARCH JOURNAL OF PHARMACY 2 (2011): 146-152.

DIGRAK, M., A. ILÇIM, et al. Antimicrobial Activites of the Extracts of Various Plants (valex, mimosa bark, gallnut powders, *Salvia sp. and Phlomis sp.*). J. of Biology 23 (1999): 241-248.

Duff, D. G. and R. S. Sinclair. Giles's Laboratory Course in Dyeing. England: Staples Printers Rochester, Ltd.,1989.

Elizabeth, K. M. ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF TERMINALIA BELLERICA. Indian Journal of Clinical Biochemistry 20 (2005): 150-153.

Gurley, S. Mordant composition for naturaldye processes. [Online]. 1995. Available from http://www.patentstorm.us/patents/5651795.html. [2012,Jan 18]

Hamilton-Miller, J. and S. Shah. Disorganization of cell division of methicillin-resistant Staphylococcus aureus by a component of tea (Camellia sinensis): a study by electron microscopy. FFMSMicrobiology Letters 176 (1999): 463-469.

Helander, IM., Wright AV. and Mattila S., Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobial against gram-negative bacteria. Trend in Food Science and Technology 8 (1997): 146-150.

Herodez, S. S., M.Hadolin, et al. Solvent extraction study of antioxidant from Balm (*Melissa officinalis L.*) leaves. Food Chem 80 (2003): 275-282.

Hui-chun, Z. and D. Hua. finishing of extracts from Chinese herbal medicine upon cotton fabric. Master's Thesis, Department of Environmental and Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Tianjin Polytechnic University, 2010.

Jelager, L., A. Gurib-Fakim, et al. ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF MEDICINAL PLANTS OF MAURITIUS. Pharmaceutical Biology 36 (1998): 153-161.

Johnny, L., U. K. Yusuf, et al. The effect of herbal plant extracts on the growth and sporulation of Colletotrichum gloeosporioides. Journal of Applied Biosciences 34 (2010): 2218-2224.

Jothi, D. Experimental study on antimicrobial activity of cottonfabric treated with aloe gel extract from Aloe vera plant for controlling the Staphylococcus aureus (bacterium). African Journal of Microbiology Research 3 (2009): 228-232.

Kaur, G., M. Athar, et al. Quercus infectoria galls possess antioxidant activity and abrogates oxidative stress-induced functional alterations in murine macrophages. Chem Biol Interact 171 (2008): 272-282.

Kris-Etherton, K. D. H. P. M., et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. Am. J. Med 113 (2002): 71-88.

Leela, T. and C. Satirapipathkul. ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF THAI HERBAL EXTRACTS. Master's Thesis, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Chulalongkorn University, 2010.

List, P. H. and P. C. Schmidt. (Eds.), Phytopharmaceutical Technology, pp.361-368 London: Heyden and son, 1989.

maisuthisakul, P. Extraction and Quantitative Analysis of Phenolic Compounds in Some Thai Herbs and Local Vegetables. Master's Thesis, Department of Food Science and Techology, Faculty of Science, The University of the Thai Chamber of Commerce. 2005.

Muskhazli, M., Y. Nurhafiza, A.A. Nor Azwady and E. Nor Dalilah. Comparative study on the in vitro antibacterial efficacy of aqueous and methanolic extracts of Quercus infectoria Gall`s against Cellulosimicrobium cellulans. Boil. Sci 8 (2008): 634-638.

Naczk, M. and F. Shahidi. Phenolics in Food and Nutraceuticals: Sources, Applications and Health Effects. Journal of Chromatography 1054 (2004): 95-111.

Ongsakul, M., A. Jindarat, et al. ANTIBACTERIAL EFFECT OF CRUDE ALCOHOLIC AND AQUEOUS EXTRACTS OF SIX MEDICINAL PLANTS AGAINST STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND ESCHERICHIA COLI. J Health Res 23 (2009): 153-156.

Osungunna, M. O. and K. A. Adedeji. Phytochemical and antimicrobial screening of methanol extract of Heliotropium indicum leaf. Journal of Microbiology and Antimicrobials 3 (2011): 213-216.

Paul, R., C. Solans, et al. Study of a natural dye solubilisation in o/w microemulsions and its dyeing behaviour. Colloids and Surfaces A 235 (2004): 175-181.

Pietta, P. G. Flavonoids as antioxidants. J.Nat. Prod. 63 (2000): 1035-1042.

Ragasa, C. Y., A. L. K. C. Co, et al. ANTIFUNGAL METABOLITES FROM BLUMEA BALSAMIFERA. Natural Product Research 19 (2005): 231-237.

RUKARN, S. Silk Dyeing rith Banana Leaves. Master's Thesis, Department of Home Economics for Community Development, Faculty of ARTS, RAMKHAMHAMHAENG UNIVERSITY, 2001.

Saemah, C. and W. Jirapakkul. Effect of Solvent Types on Volatile Compounds Extracted from Burnt Aromatic Coconut Water. Proceedings of 49th Kasetsart University Annual Conference: Agro-Industry 2011: 564-572.

Sakee, U., S. Maneerat, et al. Antimicrobial activity of Blumea balsamifera (Lin.) DC. extracts and essential oil. Natural Product Research 25 (2011): 1849-1856.

Sathianarayanan, M.P., S.S. Kokate, et al. Antibacterial finish for cotton fabric from herbal products. The Bombay Textile Research Association. 35 (2010): 50-58.

Smith, B. F. and B. I, (Eds.), Textiles in Perspective, pp.127-145. New Jarsey: Prentice-Hall, 1982.

stainsfile. Mordants [Online]. 2005. Available from: http://stainsfile.info/StainsFile/theory/mordant.html. [2012,Jan 27]

Suwalak, S. and S. Voravuthikunchai. Morphological and ultrastructural changes in the cell structure of enterohaemorrhagic Escherichia coli O157:H7 following treatment with Quercus infectoria nut galls. J Electron Microsc (Tokyo) 58 (2009): 315-320.

TAMBEKAR, D. H., B.S.KHANTE, S.B. DAHIKAR and V.M.ZAREY. ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF CONTENTS OF TRIPHALA: A TRADITIONAL INDIAN HERBAL PREPARATION. Continental J. Microbiology 1 (2007): 8-12.

Thilagavathi, G. and S. K. Bala. Microencapsulation of herbal extracts for microbial resistance in healthcare textiles. Master's Thesis, Department of textile Technology, Faculty of Engineering, PSG college of Technology, 2007.

Thilagavathi, G. and T. Kannaian. Application of Prickly Chaff (Achyranthes aspera Linn.) leaves as herbal antimicrobial finish for cotton fabric used in healthcare textiles. Master's Thesis, Department of textile Technology, Faculty of Engineering, PSG college of Technology, 2008.

Thilagavathi, G. and T. Kannaian. Combined antimicrobial and aroma finishing treatment for cotton, using micro encapsulated geranium (Pelargonium graveolens L' Herit. ex Ait.) leaves extract. Master's Thesis, Department of textile Technology, Faculty of Engineering, PSG college of Technology, 2010.

Vermani, A., Navneet, et al. Screening of Quercus infectoria gall extracts as anti-bacterial agents against dental pathogens. Indian J Dent Res 20 (2009): 337-339.

Voravuthikuncahi, S. P. and S. Chusri. Detailed studies on Quercus infectoria Olivier (nutgalls) as an alternative treatment for methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections. J. Appl. Microbiol 106 (2009): 89-96.

Vudhivanich, S. Efficacy of Medicinal Plant Crude Extracts on Growth Inhibition of Erwinia carotovora subsp. carotovora, the Vegetable Soft Rot Agent. Kamphaengsaen Acad 2 (2004): 72-81.

Vudhivanich, S. and S. Supanuntorn. Efficacy of Medicinal Plant Crude Extracts on Growth Inhibition of Ralstonia solanacearum, the Causal Agent of Bacterial Wilt of Tomato. Kamphaengsaen Acad 3 (2005): 11-27.

Zhu, L., Y.-J. Tian, et al. CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF ESSENTIAL OIL OF BLUMEA MEGACEPHALA. EXCLI Journal 10 (2011): 62-68.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ข้อมูล

1.วิเคราะห์ปริมาณผลผลิตของสารสกัดจากสมุนไพรนำสารสกัดที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออก เพื่อหาปริมาณผลผลิตที่ได้ด้วยเครื่องกลั่นระเหยระบบสุญญากาศ คำนวณโดยใช้สูตร ดังนี้

$$\%Yield\ (dry\ weight\ basis) = (W_1 \times 100) / W_2$$

W_1= น้ำหนัก (กรัม) สารสกัดหลังจากระเหยตัวทำละลายออก

W_2= น้ำหนักแห้ง (กรัม) ของตัวอย่าง

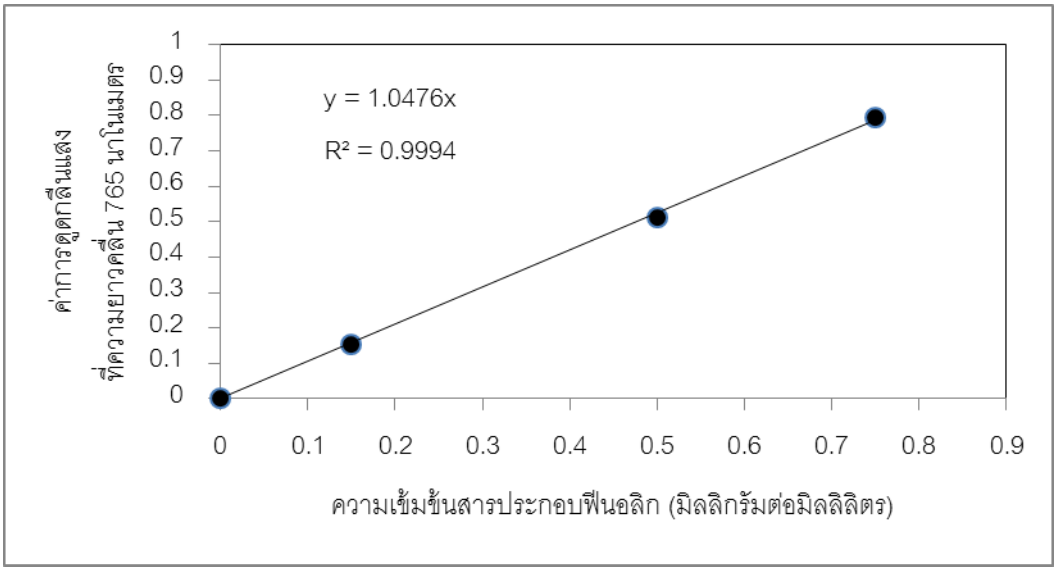
2. การวิเคราะห์หาความเข้นข้นของสารประกอบฟีนอลิก

การวัดค่าความเข้นข้นของสารประกอบฟีนอลิกจะเป็นการวัดค่าความเข้นข้นของสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic compounds) วิเคราะห์ตามวิธี Folin Ciocalteau micro method (Waterhouse (2002) โดยนำตัวอย่างสารสกัดที่กรองได้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1.58 มิลลิลิตร และ Folin-ciocalteu phenol reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมเข้าด้วยกันและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 8 นาที หลังจากนั้นเติมโซเดียมคลอไรด์ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ลงไปผสมเข้าด้วยกันและทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกเพื่อหาค่าความเข้มข้นฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้ในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3. การสร้างกราฟมาตรฐานสารประกอบฟีนอลิก

การสร้างกราฟมาตรฐานสารประกอบฟีนอลิก จะใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ ทำได้โดยเตรียมกรดแกลลิก 5 กรัมผสมกับเอทานอล 95 เปอร์เซนต์ (ปริมาตร ต่อปริมาตร) 10 มิลลิลิตรและทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยขวดปรับปริมาตร หลังจากนั้นนำสารละลายดังกล่าวมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในปริมาตร 1, 2, 5, 10 และ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 50, 100, 250, 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารละลายมาตรฐานแกลลิกที่เตรียมได้ จะทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงตาม

วิธีข้างต้น ที่ความเข้มข้นกรดแกลลิกต่างๆ เมื่อทราบค่าความเข้มข้นของกรดแกลลิกและค่าการดูดกลืนแสงนั้นมาพลอตกราฟ จะได้กราฟมาตรฐานฟีนอลิกแสดงดังรูปที่ ก-1



รูปที่ ก-1 กราฟมาตรฐานสารประกอบฟีนอลิก

4. การหาค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก

ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก สามารถหาได้จากค่าความเข้มข้นสารประกอบฟีนอลิก โดยนำมาแทนสูตรดังต่อไปนี้

$$C = c \cdot (V_2+V_3)\ (V_1/V_2) / M$$

โดยที่ C คือ ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก
(มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง)
c คือ ความเข้มข้นสารสกัดฟีนอลิก (มิลลิกรัมสมมูลแกลลิกต่อมิลลิลิตร)
V_1 คือ ปริมาตรที่สกัดได้ (มิลลิลิตร)
V_2 คือ ปริมาตรที่ดึงมาเจือจาง (มิลลิลิตร)
V_3 คือ ปริมาตรที่เติมเพื่อเจือจาง (มิลลิลิตร)
M คือ น้ำหนักสมุนไพรแห้งที่ใช้ในการสกัด (กรัม)

ภาคผนวก ข
ข้อมูลทางการทดลอง

ตารางที่ ข-1 การเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดสมุนไพรด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±5 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 วัน ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10

สมุนไพร	**ตัวทำละลาย**	**ปริมาณสารสกัดหยาบ** (กรัม ต่อ 25 กรัมสมุนไพรแห้ง)	**ค่าผลได้สารสกัดหยาบ** (กรัม ต่อ 100 กรัมสมุนไพรแห้ง)
เบญกานี	น้ำกลั่น	17.583±1.009	70.333
	เอทานอล	18.698±0.452	74.792
	อะซิโตน	16.286±1.795	65.144
	เอทิลอะซิเตท	13.112±0.656	52.447
	เฮกเซน	0.155±0.056	0.620
สมอพิเภก	น้ำกลั่น	6.050±0.065	24.199
	เอทานอล	7.876±0.308	31.505
	อะซิโตน	3.085±0.080	12.341
	เอทิลอะซิเตท	1.896±0.064	7.585
	เฮกเซน	0.322±0.082	1.288
ใบหนาด	น้ำกลั่น	3.257±0.447	13.027
	เอทานอล	1.818±0.094	7.273
	อะซิโตน	1.172±0.031	4.687
	เอทิลอะซิเตท	1.221±0.178	4.881
	เฮกเซน	0.502±0.009	2.007
หญ้างวงช้าง	น้ำกลั่น	2.560±0.447	10.241
	เอทานอล	1.130±0.094	4.519
	อะซิโตน	0.468±0.031	1.873
	เอทิลอะซิเตท	0.719±0.178	2.877
	เฮกเซน	0.200±0.009	0.801

ตารางที่ ข-2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากสมุนไพรจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิห้อง (30±5 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10

สมุนไพร	**ตัวทำละลาย**	**ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก** (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหยาบ)	**ค่าผลได้สารประกอบฟีนอลิก** (กรัม ต่อ 100กรัมสารสกัดหยาบ)
เบญกานี	น้ำกลั่น	329.245	32.925
	เอทานอล	473.939	47.394
	อะซิโตน	422.876	42.288
	เอทิลอะซิเตท	343.917	34.392
	เฮกเซน	6.165	0.616
สมอพิเภก	น้ำกลั่น	351.769	35.177
	เอทานอล	370.725	37.072
	อะซิโตน	417.812	41.781
	เอทิลอะซิเตท	457.326	45.733
	เฮกเซน	3.159	0.316
ใบหนาด	น้ำกลั่น	19.449	1.945
	เอทานอล	149.028	14.903
	อะซิโตน	267.354	26.735
	เอทิล อะซิเตท	226.383	22.638
	เฮกเซน	2.264	0.226
หญ้างวงช้าง	น้ำกลั่น	16.014	1.601
	เอทานอล	30.001	3.000
	อะซิโตน	35.496	3.550
	เอทิลอะซิเตท	29.057	2.906
	เฮกเซน	1.993	0.199

ตารางที่ ข-3 สารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากเบญกานีที่ขนาดอนุภาคต่างๆ ด้วยเอทานอล ที่อุณหภูมิห้อง

ขนาดอนุภาค (ไมโครเมตร)	**เวลา (ชั่วโมง)**	**ค่าดูดกลืนแสง**			**ปริมาตรที่สกัดได้** (มิลลิลิตร)	**ความเข้มข้นสารสกัด** (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
		1	2	3		
75	2	0.485	0.485	0.486	5.5	0.463
	4	0.589	0.589	0.588	7.5	0.562
	6	0.655	0.655	0.656	7	0.626
	8	0.648	0.648	0.648	7.5	0.619
	12	0.698	0.698	0.699	7	0.667
	16	0.892	0.892	0.892	6	0.851
	24	0.846	0.845	0.845	6.5	0.807
	48	0.924	0.924	0.924	6.5	0.882
180	2	0.48	0.48	0.48	6	0.458
	4	0.589	0.589	0.588	7	0.562
	6	0.754	0.754	0.753	6	0.719
	8	0.669	0.669	0.669	7	0.639
	12	0.676	0.676	0.677	7.5	0.646
	16	0.699	0.699	0.699	7.5	0.667
	24	0.825	0.825	0.825	6.5	0.788
	48	0.9	0.9	0.9	6.5	0.859
300	2	0.481	0.481	0.480	6	0.459
	4	0.531	0.531	0.531	6.5	0.507
	6	0.651	0.651	0.651	6	0.621
	8	0.601	0.601	0.601	6.5	0.574
	12	0.727	0.728	0.728	5.5	0.695
	16	0.696	0.696	0.696	6	0.664
	24	0.728	0.728	0.729	6.5	0.695
	48	0.754	0.754	0.754	6.5	0.720

ขนาดอนุภาค (ไมโครเมตร)	**เวลา (ชั่วโมง)**	**ค่าดูดกลืนแสง**			**ปริมาตรที่สกัดได้** (มิลลิลิตร)	**ความเข้มข้นสารสกัด** (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
		1	2	3		
600	2	0.965	0.965	0.965	3	0.921
	4	0.514	0.514	0.514	7	0.491
	6	0.703	0.703	0.703	6	0.671
	8	0.602	0.603	0.603	7	0.575
	12	0.641	0.641	0.641	7	0.612
	16	0.701	0.701	0.701	6.5	0.669
	24	0.724	0.724	0.724	6.5	0.691
	48	0.744	0.744	0.745	6.5	0.711

ตารางที่ ข-4 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (มิลลิเมตร)								
		E. coli			*B. subtilis*			*S. aureus*		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
เบญกานี	น้ำกลั่น	7.5	9.0	9.0	11.5	12.0	11.5	15.0	14.5	14.5
	เอทานอล	8.5	11.5	11.5	14.5	13.0	15.0	17.5	17.5	18.0
	อะซิโตน	8.0	9.5	8.5	12.0	12.0	14.5	17.5	17.00	17.0
	เอทิลอะซิเตท	7.5	8.0	8.0	13.5	12.5	15.5	16.5	16.00	16.0
	เฮกเซน	6.5	6.0	6.0	8.5	10.0	11.0	11.5	10.5	11.5
สมอพิเภก	น้ำกลั่น	6.5	7.0	7.0	6.0	7.5	8.5	8.5	7.5	8.5
	เอทานอล	9.0	6.0	9.0	10.5	10.5	11.5	12.5	12.0	12.5
	อะซิโตน	7.0	6.0	7.0	11.0	11.0	11.0	11.5	11.0	11.0
	เอทิลอะซิเตท	8.0	8.5	8.5	12.0	9.0	14.0	12.5	11.5	1.15
	เฮกเซน	7.0	6.0	6.0	6.5	0.6	8.5	6.0	6.5	7.0
ใบหนาด	น้ำกลั่น	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	เอทานอล	9.0	9.5	9.0	11.0	9.5	13.0	9.0	11.0	11.0
	อะซิโตน	12.0	11.0	10.0	12.5	11.5	15.0	12.0	15.5	12.0
	เอทิลอะซิเตท	7.5	9.0	9.0	10.0	10.0	11.0	10.0	10.5	10.5
	เฮกเซน	0.0	0.0	0.0	9.0	10.0	7.0	8.0	10.0	8.0
หญ้างวงช้าง	น้ำกลั่น	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	เอทานอล	6.0	7.5	7.5	7.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
	อะซิโตน	7.0	8.5	7.0	6.0	6.0	6.0	7.0	6.0	6.0
	เอทิลอะซิเตท	8.0	8.0	8.0	7.0	6.0	6.0	8.0	8.0	6.0
	เฮกเซน	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

ตารางที่ ข-5 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของผ้าฝ้ายที่ชุบด้วยสารสกัดจากสมุนไพร และมอร์แดนท์

สมุนไพร	**ผ้าฝ้าย**	**ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสเฉลี่ย (มิลลิเมตร)** ± S.D.[a]								
		E. coli			*B. subtilis*			*S. aureus*		
		1	2	3	1	2	3	1	2	3
เบญกานี	ไม่ใส่สารสกัด	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	ใส่สารสกัด	13.5	13.0	13.0	15.0	15.5	15.0	17.0	17.0	17.0
	สารสกัด+อะลูมิเนียม	11.0	11.5	11.0	13.0	13.5	12.5	15.5	15.0	15.5
	สารสกัด+เหล็ก	12.5	12.5	12.0	14.0	14.0	14.0	16.5	16.5	16.0
สมอพิเภก	ไม่ใส่สารสกัด	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	ใส่สารสกัด	12.0	11.0	11.5	13.5	12.5	13.0	14.0	14.0	14.0
	สารสกัด+อะลูมิเนียม	10.5	11.0	11.0	11.5	11.0	11.5	12.0	11.0	11.5
	สารสกัด+เหล็ก	11.0	11.0	12.0	11.5	12.0	10.0	13.5	12.5	13.0
ใบหนาด	ไม่ใส่สารสกัด	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	ใส่สารสกัด	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	สารสกัด+อะลูมิเนียม	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	สารสกัด+เหล็ก	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
หญ้างวงช้าง	ไม่ใส่สารสกัด	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	ใส่สารสกัด	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	สารสกัด+อะลูมิเนียม	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	สารสกัด+เหล็ก	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายพิเชษฐ์ ดวงศรี เกิดเมื่อวันที่ 7 มีนาคม พ.ศ. 2528 ในจังหวัดอุดรธานี สำเร็จการศึกษาระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียนอุดรพิทานุกูล จังหวัดอุดรธานี เมื่อปี พ.ศ. 2545 หลังจากนั้นได้รับปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี เมื่อปี พ.ศ. 2551 และได้ศึกษาต่อในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปี พ.ศ. 2552

ประวัติผลงาน Pichet Duangsri and Chutimon Satirapipathkul. HERBAL EXTRACTS FOR MICROBIAL RESISTANCE IN TEXTILES. THE 6th PURE AND APPLIED CHEMISTRY INTERNATIONAL CONFERENCE 2012