

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 การเตรียมสารสกัดหยาบจากดอกดาวเรือง

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์และองค์ประกอบสำคัญจากใบดาวเรือง โดยนำใบดาวเรืองแห้งมาสกัดด้วยวิธีการหมักในตัวทำละลายเมทานอล เตรียมสารสกัดหยาบชั้นเมทานอลได้เท่ากับ 216.10 กรัม และผลได้ร้อยละคิดเป็น 18.00 เปรียบเทียบกับน้ำหนักดอกดาวเรืองแห้ง 1.20 กิโลกรัม จากนั้นแบ่งสารสกัดหยาบเมทานอล ทำการสกัดแบบแบ่งส่วน (Solvent Partitioning Extraction) ได้สารสกัดหยาบ 4 ชนิดคือสารสกัดหยาบเฮกเซน สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน สารสกัดหยาบเอทิล แอซิเตต และสารสกัดบิวทานอล มีน้ำหนักเท่ากับ 62.40, 8.04, 8.45 และ 41.72 กรัม ตามลำดับ และผลได้เป็นร้อยละคิดเป็น 28.87, 3.72, 3.91 และ 41.72 ตามลำดับ

5.1.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบดาวเรือง

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากใบดาวเรือง พบว่าสารสกัดหยาบเฮกเซนมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* 6 ชนิด มีบริเวณยับยั้งในช่วง 8-15 มิลลิเมตร และแบคทีเรียแกรมลบ *B. pertussis* มีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 8 มิลลิเมตร และสารสกัดหยาบเมทานอลมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์แบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* 6 ชนิด มีบริเวณยับยั้งในช่วง 8-15 มิลลิเมตร และแบคทีเรียแกรมลบ *B. pertussis* มีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 8 มิลลิเมตร สารสกัดหยาบจากใบดาวเรืองทุกชนิดไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา

5.1.3 การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารส่วนย่อยจากสารสกัดหยาบเฮกเซน

สารสกัดหยาบเฮกเซนของใบดาวเรืองถูกนำมาแยกสารส่วนย่อยด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟี สามารถแยกสารส่วนย่อยได้ 6 ส่วนย่อย (H_1-H_6) และเมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียพบว่าส่วนย่อย H_4 และ H_5 ให้ผลทดสอบดีที่สุด สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกในระดับที่ 4 ชนิด คือ *S. aureus* (MRSA) 20625, *S. aureus* (MRSA) 20636, *S. aureus* (VRSA) 20622, *S. aureus* (VRSA) 20623 และ *S. aureus* (VRSA) 20683 มีบริเวณการยับยั้งประมาณ 14-17 มิลลิเมตร และยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *B. pertussis* ได้เล็กน้อย มีบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 8 มิลลิเมตร

เมื่อนำสารสกัดหยาบเฮกเซนและส่วนย่อย H_4 และ H_5 มาหาค่า MIC (Minimum inhibitory concentration) โดยเลือกทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 5 ชนิด ได้แก่ *S. aureus* (MRSA) 20625, *S. aureus* (MRSA) 20636, *S. aureus* (VRSA) 20622, *S. aureus* (VRSA) 20623 และ *S. aureus* (VRSA) 20683 พบว่าสารสกัดหยาบเฮกเซนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเชื้อมีค่า MIC เท่ากับ 5-10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่ส่วนย่อย H_4 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียมีค่า MIC เท่ากับ 2.5-5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และส่วนย่อย H_5 สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียมีค่า MIC เท่ากับ 2.5-10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยใช้ตัวยารับเทียบคือ penicillin และ amoxicillin

5.1.4 การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารส่วนย่อย H4 และ H5 จากสารสกัดหยาบเฮกเซน

เมื่อนำสารส่วนย่อย H₄ มาแยกสารออกฤทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีได้ทั้งหมด 7 ส่วนย่อย แล้วนำไปทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่คัดเลือกเฉพาะ 5 ชนิด ได้แก่ *S. aureus* (MRSA) 20625, *S. aureus* (MRSA) 20636, *S. aureus* (VRSA) 20622, *S. aureus* (VRSA) 20623 และ *S. aureus* (VRSA) 20683 โดยเฉพาะสารส่วนย่อย H₄F₄ สามารถยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* (VRSA) 20622 ได้ดีเท่ากับตัวยามาตรฐาน penicillin มีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 32 มิลลิเมตร และส่วนย่อย H₄F₅ และ H₄F₇ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ 4 ชนิดคือ *S. aureus* (MRSA) 20625, *S. aureus* (MRSA) 20636, *S. aureus* (VRSA) 20622 และ *S. aureus* (VRSA) 20683 มีบริเวณยับยั้ง 8-10 มิลลิเมตร แต่ไม่แสดงการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* (VRSA) 20623

เมื่อนำส่วนย่อย H₅ มาแยกสารออกฤทธิ์ด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีได้สารส่วนย่อยทั้งหมด 5 ส่วนย่อย แล้วนำไปทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่คัดเลือกเฉพาะ 5 ชนิด ได้แก่ *S. aureus* (MRSA) 20625, *S. aureus* (MRSA) 20636, *S. aureus* (VRSA) 20622, *S. aureus* (VRSA) 20623 และ *S. aureus* (VRSA) 20683 ส่วนย่อย H₅F₄ และ H₅F₅ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด มีบริเวณการยับยั้งตั้งแต่ 8-14 มิลลิเมตร และส่วนย่อย H₅F₂ สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ 2 ชนิดคือ *S. aureus* (VRSA) 20623 และ *S. aureus* (VRSA) 20683 มีบริเวณการยับยั้ง 9 และ 10 มิลลิเมตร

5.1.5 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบจากใบดาวเรือง

องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบจากใบดาวเรืองใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทเมตรี พบว่าสารสกัดหยาบเฮกเซนมีสารประกอบหลักที่มีเปอร์เซ็นต์มากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ได้แก่ ethyl linoleolate **39** (33.33%), palmitic acid **40** (20.32%) และ neophytadiene **41** (14.37%) ส่วนสารประกอบที่พบในเปอร์เซ็นต์น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ได้แก่ linoleic acid **42**, phytol **43**, 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol **44**, methyl palmitate **45** และ 7-hexadecyn-1-ol **46** และสารประกอบอื่นๆที่มีเปอร์เซ็นต์น้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ได้แก่ *p*-cymen-8-ol **44**, piperitone **45**, piperitenone **46**, caryophyllene **47**, 2-cyclopropylthiophene **48**, dihydroactinidiolide **49**, 3,7,11-trimethyl-2,6,10-dodecatriene-1-ol **50**, 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol **51**, methyl palmitate **52**, methyl linoleate **53**, methyl-9,12,15-octadecatrienoate **54**, and 7-hexadecyn-1-ol **55** ส่วนสารที่ถูกแยกด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีได้แก่ stigmasterol **38** ผลได้ร้อยละเป็น 3.06 เมื่อเทียบกับน้ำหนักของสารสกัดหยาบเฮกเซน และพบว่า linoleic acid **42** เป็นสารประกอบหลักที่พบในสารส่วนย่อย H₄ และ H₅ ของสารสกัดหยาบเฮกเซน

องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบไคคโลโรมีเทนได้แก่ loliolide **57** (22.71%) และ syringic acid **35** (9.33%) และสารประกอบที่พบในปริมาณน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ได้แก่ methyl paraben **58**, 4-(hydroxyl-2, 2, 6-trimethyl-7-oxabicyclo[4.1.0]hept-1-yl)-3-Buten-2-one **59** และ 3-(2-pentenyl)-1,2,4-cyclopentatriene **60**

5.1.6 การออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารบริสุทธิ์จากใบดาวเรือง

การทดสอบการออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารประกอบจากใบดาวเรืองได้ถูกทดสอบกับสารบริสุทธิ์ได้แก่ palmitic acid **40**, linoleic acid **42** และ caryophyllene **47** โดยทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย 14 ชนิด แบ่งออกเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 12 ชนิด ได้แก่ *S. milleri* group, *S. pneumonia*, *S. aureus* (MRSA) 20625, *S. aureus* (MRSA) 20626, *S. aureus* (MRSA) 20627, *S. aureus* (MRSA) 20630, *S. aureus* (MRSA) 20633, *S. aureus* (MRSA) 20636, *S. aureus* (VRSA) 20622, *S. aureus* (VRSA) 20623 และ *S. aureus* (VRSA) 20683 แบคทีเรียแกรมลบ 2 ชนิด ได้แก่ *B. pertussis* และ *V. cholera* พบว่าสารประกอบกลุ่มกรดไขมัน palmitic acid **40** ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *B. pertussis* และ *V. cholera* ส่วน linoleic acid **42** มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 10 ชนิด ได้แก่ *S. aureus* (MRSA) 20625, *S. aureus* (MRSA) 20626, *S. aureus* (MRSA) 20627, *S. aureus* (MRSA) 20630, *S. aureus* (MRSA) 20633, *S. aureus* (MRSA) 20636, *S. aureus* (VRSA) 20622, *S. aureus* (VRSA) 20623 และ *S. aureus* (VRSA) 20683 มีบริเวณการยับยั้งในช่วง 10-20 มิลลิเมตร โดยเฉพาะ *S. aureus* (MRSA) 20636 มีบริเวณการยับยั้งเท่ากับ 20 มิลลิเมตร มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *B. pertussis* เล็กน้อยโดยมีบริเวณยับยั้งเท่ากับ 8 มิลลิเมตร แต่ไม่มีฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *V. cholera* ส่วนสารประกอบกลุ่มน้ำมันหอมระเหย caryophyllene **47** ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ ยกเว้น *S. aureus* (MRSA) 20626 มีฤทธิ์ยับยั้งเพียงเล็กน้อยให้บริเวณยับยั้งเท่ากับ 8 มิลลิเมตร ผลจากการทดลองกล่าวได้ว่า linoleic acid **42** คือสารสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจากใบดาวเรือง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kim และคณะ [25] ได้กล่าวถึงฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของกรดไขมันที่มีสายโซ่เป็น long-chain unsaturated fatty acid เช่น linoleic acid **42** ถูกพบว่าเป็นสารสำคัญที่ใช้ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร

5.2 ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากใบดาวเรืองประกอบไปด้วยองค์ประกอบหลักได้แก่ สารกลุ่มกรดไขมัน และน้ำมันหอมระเหย ในงานวิจัยนี้ใช้ใบดาวเรืองแห้งในการศึกษาจึงอาจทำให้น้ำมันหอมระเหยบางชนิดสลายตัวไปกับสถานะแวดล้อมระหว่างการสกัดหรือภายใต้สภาวะการเก็บรักษา การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารและการออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ควรทดลองใช้ใบดาวเรืองสดในการสกัดสารออกฤทธิ์ อาจจะทำให้ได้โดยการกลั่นด้วยไอน้ำและนำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยทันที และควรนำใบดาวเรืองศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพทางด้านอื่นโดยยึดหลักการออกฤทธิ์ของกรดไขมันและน้ำมันหอมระเหย