

ชื่อโครงการ	การประเมินฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และส่วนประกอบทางเคมีของใบดาวเรือง		
แหล่งเงิน	งบประมาณเงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์		
ประจำปีงบประมาณ	2556	จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน	50,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย	1 ปี	ตั้งแต่	ตุลาคม 2555 ถึง กันยายน 2556
หัวหน้าโครงการ	ผศ.ดร. พัทนิ เจริญยิ่ง		
หน่วยงานต้นสังกัด	สาขาวิชาเคมี	คณะวิทยาศาสตร์	

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เป็นการประเมินการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากส่วนใบของดาวเรือง ใบดาวเรืองแห้งถูกสกัดด้วยเมทานอล จากนั้นนำสารสกัดหยาบเมทานอลมาละลายด้วยน้ำ และสกัดด้วยวิธีแบ่งส่วนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิล แอซิเตต และบิวทานอล สารสกัดหยาบทั้งหมดถูกนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ และเชื้อรา ด้วยวิธี disc diffusion จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบเฮกเซนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบได้ดี ในขณะที่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา เมื่อนำสารสกัดหยาบเฮกเซนมาแยกสารส่วนย่อยด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีสามารถแยกสารส่วนย่อยได้ 6 ส่วนย่อย (H_1-H_6) จากนั้นนำสารส่วนย่อย (H_1-H_6) มาทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียพบว่า สารส่วนย่อย H_4 และ H_5 มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก โดยมีค่าต่ำสุดในการยับยั้ง (ค่า MIC) ในช่วง 2.5-5.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 5.0-10.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบเฮกเซนด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS) พบสารประกอบหลักที่สำคัญได้แก่ ethyl linoleolate **39**, palmitic acid **40**, neophytadiene **41**, linoleic acid **42**, phytol และ stigmasterol **38** และพบว่า linoleic acid **42** เป็นสารออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* ในระดับที่ดี

คำสำคัญ: ไบดาวเรือง ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์

Research Title: Assessment of Antimicrobial Activity and Chemical Composition of *Tagetes erecta* Linn Leaves
Researcher: Asst. Prof. Dr. Patchanee Charoenying
Faculty: Faculty of Science **Department:** Department of Chemistry

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate antimicrobial activity of extracts from *Tagetes erecta* Linn leaves. The air-dried leaves of *T. erecta* were extracted with methanol. The residue was redissolved in water which was then subjected to solvent-solvent partition with four organic solvents: hexane, dichloromethane, ethyl acetate and *n*-butanol. Each of these extracts was tested for their antimicrobial activity against gram positive and gram negative bacteria and yeast strains by disc diffusion method. The results found that the hexane extract revealed antimicrobial activity against gram positive and gram negative bacteria while no antifungal activity observed against tested strains of yeasts. Thus, the hexane fraction was fractionated by chromatography technique to obtain 6 fractions (H₁ to H₆). Each fraction was tested for their antimicrobial activity against bacteria strains. The results indicated that fractions F₄ and F₅ exhibited the greatest activity among the fractions. The minimal inhibitory concentrations (MIC values) of selected bacterial strains tested ranged from 2.5-10 mg/mL and 5-10 mg/mL. The composition of the hexane extract was investigated by GC/MS systems. The main components of the hexane extract were ethyl linoleoate **39**, palmitic acid **40**, neophytadiene **41**, linoleic acid **42**, phytol **43** and stigmasterol **38**. Linoleic acid **42** showed strong activity against gram positive *Staphylococcus aureus* bacteria.

Keywords: *Tagetes erecta* Linn Leaves Antimicrobial

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งในวิทยานิพนธ์ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตของ
คุณรัฐตะวัน พุทธิมัย และสามารถสำเร็จลุล่วงตามความตั้งใจในระดับหนึ่งด้วยการสนับสนุนเงินทุนวิจัย
จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประเภททุนรายได้คณะวิทยาศาสตร์
ประจำปีงบประมาณ 2556 ที่พิจารณาเห็นคุณค่าของงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัย คุณรัฐตะวัน พุทธิมัย ที่ตั้งใจและอดทนต่อการทำงานนี้ให้สำเร็จลุล่วงไป
ได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นันทนา อรุณฤกษ์ สาขาโษษฐวิทยา คณะทันตแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่กรุณาให้คำแนะนำในการทดสอบฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์

ขอขอบคุณ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
ลาดกระบัง และเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่เอื้อเฟื้อความสะดวกตลอดการทำงานวิจัยนี้

พัชนี เจริญยิ่ง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญภาพ	VII
รายการคำย่อและสัญลักษณ์	VIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย	2
1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย	3
1.6 คำสำคัญของการวิจัย	3
1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 สารสำคัญในพืชสมุนไพร	4
2.2 สารต้านเชื้อจุลินทรีย์	10
2.3 ดาวเรือง	10
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	17
3.1 แหล่งของพืชที่ใช้ในการทดลอง	17
3.2 สภาวะที่ใช้ในการทดลอง	17
3.3 ขั้นตอนการดำเนินงาน	17
3.4 การเตรียมสารสกัดหยาบเมทานอล	18
3.5 การแยกสารสกัดหยาบโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี	18
3.6 การเตรียมคอลัมน์และการแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี	19
3.7 การแยกสารส่วนย่อยจากชั้นสารสกัดหยาบโดยวิธีคอลัมน์โครมาโทกราฟี	19
3.8 การหาค่าประกอบทางเคมีของดอกดาวเรือง	20
3.9 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี Disc diffusion method	20

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัย	25
4.1 การเตรียมสารสกัดหยาดดอกดาวเรือง	25
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาดจากใบดาวเรือง	25
4.3 ผลการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารส่วนย่อยจากสารสกัดหยาดเฮกเซน	30
4.4 ผลการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารส่วนย่อย H_4 และ H_5 จากสารสกัดหยาดเฮกเซน	32
4.5 ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากใบดาวเรือง	35
4.6 ผลการออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารบริสุทธิ์จากใบดาวเรือง	40
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	42
5.1 สรุปผลการวิจัย	42
5.2 ข้อเสนอแนะ	44
บทที่ 6 สรุปผลผลิตงานวิจัย	45
บรรณานุกรม	48
ประวัตินักวิจัย	50

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 สภาวะของ GC-MS ที่ใช้ในการทดลอง	20
4.1 น้ำหนักของสารสกัดหยาบและผลได้เป็นร้อยละ	25
4.2 Zones of inhibition ของสารสกัดหยาบจากใบดาวเรือง	26
4.3 Zones of inhibition ของสารสกัดหยาบจากใบดาวเรือง	28
4.4 การแยกสารส่วนย่อยจากสารสกัดหยาบเฮกเซนจากใบดาวเรือง	30
4.5 Zones of inhibition ของสารส่วนย่อยจากสารสกัดหยาบเฮกเซน	31
4.6 ค่า MIC ของสารสกัดหยาบเฮกเซนและสารส่วนย่อย H ₄ และ H ₅	32
4.7 Zones of inhibition ของสารส่วนย่อย H ₄	33
4.8 Zones of inhibition ของสารส่วนย่อย H ₅	34
4.9 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทเมตรี ของสารสกัดหยาบเฮกเซน	36
4.10 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทเมตรี ของสารส่วนย่อย H ₄ และ H ₅	38
4.11 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทเมตรี ของสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน	39

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ดอกดาวเรือง	10
2.2 <i>C. arvensis</i> L. (GWM) และ <i>C. officinalis</i> L. (CM)	13
3.1 ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดด้วยวิธี Solvent Partitioning Extraction	23
3.2 ตัวอย่างของบริเวณของการยับยั้ง (Zone of inhibition)	24
3.3 วิธีการวัด Zone of inhibition	24
4.1 Zones of inhibition ของสารสกัดจากใบดาวเรือง	29
4.2 Zones of inhibition ของสารส่วนย่อยจากสารสกัดหยาบเฮกเซน (H ₁ -H ₆)	31
4.3 Zone of inhibition ของสารส่วนย่อย H ₄ F ₁ - H ₄ F ₇	33
4.4 Zones of inhibition ของสารส่วนย่อย H ₅ F ₁ - H ₅ F ₅	34
4.5 Zones of inhibition ของ Stigmasterol 38 และ Linoleic acid 42	41

รายการคำย่อและสัญลักษณ์

^{13}C NMR	^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
DCM	Dichloromethane
DMSO	Dimethyl sulfoxide
^1H NMR	^1H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
MIC	Minimum Inhibition Concentration
R_f	Retardation factor