

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษา

3.1.1 อุปกรณ์ภาคสนาม

การเก็บข้อมูลสมุนไพรพื้นบ้าน ได้แก่ อุปกรณ์ที่ใช้ในการสัมภาษณ์เกี่ยวกับสมุนไพรพื้นบ้านของชนเผ่ากะเหรี่ยง สมุดบันทึก แผ่นกระดาษตารางลงรหัสชื่อพรรณไม้ ชื่อวิทยาศาสตร์และวงศ์พืช ดินสอ ปากกา ปากกาเมจิกและแบบเก็บข้อมูลสมุนไพรพื้นบ้าน เครื่องบันทึกเสียงและเครื่องบันทึกภาพ

อุปกรณ์การเก็บตัวอย่างพรรณไม้ ได้แก่ กรรไกรตัดกิ่งไม้แบบพกพาและแบบมีด้ามยาว 2 เมตร ถุงพลาสติกขนาดเล็กและใหญ่ ป้ายกระดาษบันทึกชื่อหมายเลขพรรณไม้ กล้องถ่ายรูปดิจิทัล (digital camera) และแอลกอฮอล์ (ethanol 95%)

อุปกรณ์ในการทำตัวอย่างพรรณไม้แห้ง ได้แก่ แผงอัดพรรณไม้ เชือกฟาง เชือกมัดแผง กระดาษหนังสือพิมพ์และกระดาษลูกฟูกขนาดเท่าแผงไม้

อุปกรณ์ในการเตรียมตัวอย่างพรรณไม้แห้งเพื่ออัดการทำตัวอย่างพรรณไม้อัดแห้ง ได้แก่ กระดาษแข็ง ขนาดความกว้าง 30 x 40 เซนติเมตร กระดาษสีเทา-ขาว และกระดาษสีขาว สำหรับทำข้อมูลของพรรณไม้ เข็ม ด้าย เทปกาวและกาวสำหรับผนึกตัวอย่างพรรณไม้ ซึ่งอุปกรณ์นี้ใช้จัดทำในภาคสนามหรือนำกลับมาทำในห้องปฏิบัติการทางเคมี

3.1.2 อุปกรณ์ศึกษาในห้องปฏิบัติการ

อุปกรณ์ในการเตรียมตัวอย่างพรรณไม้แห้งเพื่ออัดทำตัวอย่างพรรณไม้อัดแห้ง

อุปกรณ์ในการตรวจสอบเอกลักษณ์พืช ได้แก่ กล้องจุลทรรศน์ เข็มเขี่ย ใบมีดโกน ปากคีบ เอกสารทางพฤกษศาสตร์และสมุนไพรของพรรณไม้ชนิดต่าง ๆ ตัวอย่างพรรณไม้แห้งจากหอพรรณไม้แห่งชาติ

รายการสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง ประกอบด้วยสารดังนี้

- ลำดับที่ 1 acetic anhydride
- ลำดับที่ 2 กรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4 conc.)
- ลำดับที่ 3 Kedde's A (3,5-dinitrobenzoic acid 2 กรัม + เอทิลแอลกอฮอล์ (ethanol) 100 มิลลิลิตร)
- ลำดับที่ 4 Kedde's B (โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 5 กรัม + เอทิลแอลกอฮอล์ (ethanol) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร)
- ลำดับที่ 5 Raymond A (1,3-dinitrobenzene 2 กรัม + เอทิลแอลกอฮอล์ (ethanol) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร)
- ลำดับที่ 6 Raymond B (โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 5 กรัม เอทิลแอลกอฮอล์ (ethanol) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร)
- ลำดับที่ 7 สารละลายเฟอริกคลอไรด์ (FeCl_3) = 0.07 กรัม + กรดเกลี้ยงอะซิติก 100 มิลลิลิตร)
- ลำดับที่ 8 กรดซัลฟูริกเข้มข้น 10% (10% H_2SO_4)
- ลำดับที่ 9 สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (10% NH_4OH)
- ลำดับที่ 10 สารละลายดราเจนดอร์ฟ (dragendorff) (A = bismuth subnitrate 0.85 กรัม + กรดเกลี้ยงอะซิติก 10 มิลลิลิตร + น้ำ 40 มิลลิลิตร) (B = potassium iodide 8 กรัม + น้ำ 20 มิลลิลิตร) (C = กรดอะซิติก (acetic acid) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร + น้ำ 80 มิลลิลิตร) A ปริมาตร 5 มิลลิลิตร + B 5 มิลลิลิตร + C 100 มิลลิลิตร เท้ากับสารละลาย dragendorff สารละลาย
- ลำดับที่ 11 lead acetate = lead acetate เติมน้ำจนกว่าจะอิ่มตัว
- ลำดับที่ 12 1% สารละลายเฟอริกคลอไรด์ (FeCl_3) เท้ากับ 1 กรัม ของเฟอริกไตรคลอไรด์ + น้ำ 100 มิลลิลิตร
- ลำดับที่ 13 Mg ribbon
- ลำดับที่ 14 กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (HCl conc.)
- ลำดับที่ 15 95% เอทิลแอลกอฮอล์
- ลำดับที่ 16 เมทานอล (methanol)
- ลำดับที่ 17 ไตคลอโรฟอร์ม (CH₂Cl₂)
- ลำดับที่ 18 5% โซเดียมไฮดรอกไซด์ (5% NaOH = 5 กรัม ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ + น้ำ 100 มิลลิลิตร)
- ลำดับที่ 19 10% โซเดียมคาร์บอเนต (10% sodium carbonate = 10 กรัมของโซเดียมคาร์บอเนต + น้ำ 100 มิลลิลิตร)

รายการอุปกรณ์ที่ใช้ มีดังนี้

- ลำดับที่ 1 water bath
- ลำดับที่ 2 ปีกเกอร์ (beaker)
- ลำดับที่ 3 ถ้วยตะไล
- ลำดับที่ 4 test pate
- ลำดับที่ 5 หลอดทดลอง (test tube)
- ลำดับที่ 6 หลอดหยดสาร (dropper และลูกยาง)
- ลำดับที่ 7 แท่งแก้ว
- ลำดับที่ 8 สำลี
- ลำดับที่ 9 กระดาษกรอง
- ลำดับที่ 10 กระดาษฟิชชู
- ลำดับที่ 11 กรวยแยกสาร (funnel)

การทดสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น

การทดสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดเมทานอล (methanol)

จากพืชได้เลือกใช้วิธีการทดลองดังต่อไปนี้

ลำดับที่ 1 Dragendorff's reagent

ใช้ในการทดสอบสารกลุ่มอัลคาลอยด์ ซึ่งเป็นสารที่มีธาตุไนโตรเจนอยู่ในสูตรโครงสร้าง มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่อระบบต่าง ๆ ในร่างกายหลายอย่าง จึงเป็นสารกลุ่มหนึ่งที่มีประโยชน์ทางยาหลายอย่าง

ผลบวกกับการทดสอบนี้ สังเกตได้ตะกอนสีส้มที่เกิดขึ้น

ลำดับที่ 2 Shinoda test

ใช้ในการทดสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid compounds) ซึ่งมักพบเป็นสารสีในพืช หรือพบเป็นสารที่พืชสร้างขึ้นเพื่อป้องกันอันตรายจากสิ่งมีชีวิตอื่นที่อาจรุกราน

ผลบวกกับการทดสอบนี้ สังเกตจากการเกิดฟองสีชมพูที่เกิดขึ้น

ลำดับที่ 3 Ferric chloride test

ใช้ในการทดสอบสารเคมีที่มีส่วนหนึ่งของสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นสองหรือสามหมู่ของ ไฮดรอกซีฟีนอลิก di- หรือ trihydroxyphenolic group

ผลบวกกับการทดสอบนี้ สังเกตจากการเกิดสีเขียวหรือสีน้ำเงินที่เกิดขึ้น

ลำดับที่ 4 Kedde's และ Raymond's reagent

สารละลายทั้งสองชนิดนี้ต่างก็ใช้ในการทดสอบสารกลุ่มคาร์ดิเอคกลัยโคไซด์ (cardiac glycoside)

ผลบวกกับการทดสอบนี้ สังเกตจากการเกิดสีม่วงที่เกิดขึ้น

ลำดับที่ 5 Liebermann-Burchard test (L-B)

เป็นการทดสอบสารกลุ่มสเตียรอยด์และไตรเทอร์ปีนอยด์ สารทั้งสองชนิดนี้พบอยู่ได้ทั่วไปในพืช

ผลบวกกับการทดสอบนี้ สังเกตจากการเกิดสีเขียว น้ำเงิน ม่วง ม่วงแดงหรือน้ำตาลแดงที่เกิดขึ้น

ลำดับที่ 6 Anthraquinone test (Borntrager's test)

เป็นการทดสอบเพื่อค้นหาสารในกลุ่มแอนทราควิโนน (anthraquinone) ซึ่งเป็นสารที่มีสีตั้งแต่สีเหลือง สีแดง สีส้ม สีแดง จนถึงสีม่วงแดง

ผลการทดสอบที่เป็นบวก สังเกตได้จากการเกิดสีชมพูหรือสีแดงในชั้นล่าง

ผลการทดสอบที่ได้ จะแสดงโดยเครื่องหมาย ตั้งแต่ (-) ซึ่งหมายถึงได้ผลเป็นลบ และ (+) จนถึง (++++) ตามปริมาณความชัดเจนของผลการทดสอบที่ได้ผลเป็นบวก ตามลำดับ

3.2 วิธีการวิจัย

3.2.1 รวบรวมและศึกษาเอกสารที่เกี่ยวข้องกับสมุนไพรพื้นบ้านในอุทยานพุเตย บริเวณป่าไม่ถูกทำลายและอยู่ห่างจากหมู่บ้านพอสมควร เพื่อต้องการพบพืชสมุนไพรที่ไม่ใช่พืชสมุนไพรที่ปลูกไว้เพื่อการรับประทาน เช่น พริก ใบมะกรูดและมะนาว เป็นต้น

3.2.2 กำหนดพื้นที่ที่จะทำการศึกษา โดยเลือกชุมชนเฉพาะเจาะจง โดยมีข้อมูล ดังนี้ เป็นที่ยังพึ่งตนเองด้านสุขภาพและการรักษาพยาบาลด้วยภูมิปัญญาท้องถิ่น คือ หมู่บ้านชนเผ่ากะเหรี่ยง บ้านตะเพินคี อยู่ในเขตอุทยานแห่งชาติพุเตย จังหวัดสุพรรณบุรี เนื่องจากเป็นหมู่บ้านของชนเผ่ากะเหรี่ยงเชื้อสายจีน ที่อยู่ห่างไกลตัวเมืองสุพรรณบุรีระยะทางประมาณ 100 กิโลเมตร การคมนาคมไม่สะดวก ไม่มีไฟฟ้าใช้ ไม่มีสัญญาณโทรศัพท์มือถือ ไม่มีสถานบริการสาธารณสุข ทำให้ชาวบ้านส่วนใหญ่ต้องพึ่งพาตนเองในการรักษาความเจ็บไข้ได้ป่วย โดยการใช้สมุนไพรและการแพทย์พื้นบ้าน และรวบรวมข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับชนเผ่ากะเหรี่ยงบ้านตะเพินคี จังหวัดสุพรรณบุรี ได้แก่ ประวัติความเป็นมา ประเพณีและวัฒนธรรม ซึ่งรายละเอียดทั้งหมดเป็นที่น่าสนใจศึกษาวิจัยจากการสังเกตและการสัมภาษณ์

3.2.3 การรวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับพรรณพืชสมุนไพรพื้นบ้านของชนเผ่ากะเหรี่ยงในพื้นที่ทำการศึกษา

1) การสัมภาษณ์ผู้นำชุมชน (Key informants; KI) จำนวน 3 คน เจ้าหน้าที่ป่าไม้ เจ้าหน้าที่สาธารณสุข เกี่ยวกับข้อมูลพื้นฐานของหมู่บ้าน ประวัติ ประชากร สภาพการณ์ด้านสุขภาพ ความเจ็บป่วย และการดูแลรักษาโรค

2) สัมภาษณ์หมอยาพื้นบ้าน (Casual informants; CI) ผู้ที่มีความรู้และชาวบ้านผู้ที่มีการใช้สมุนไพรเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากพรรณพืชสมุนไพร ทั้งรูปแบบยาเดี่ยวและตำรับ โดยเน้นสอบถามเพื่อให้ได้ความรู้เกี่ยวกับ ชื่อพืชสมุนไพรในภาษากะเหรี่ยง สรรพคุณ ส่วนที่ใช้ วิธีการใช้ ความรู้ในแต่ละเรื่องจะสอบถามจากผู้รู้ในชุมชนอย่างน้อย 2 คน เพื่อความแน่นอนว่ามีการใช้สมุนไพรในชุมชนจริง และในการสัมภาษณ์แต่ละครั้งแต่ละครั้งจะมีล่ามภาษากะเหรี่ยง เพราะชนเผ่ากะเหรี่ยงบางคนพูดไทยไม่ได้ บางครั้งพูดได้แต่เข้าใจความหมายได้ยาก และเพื่อความชัดเจนในการออกเสียงเป็นภาษาไทยจึงใช้ล่ามคนเดียวตลอดการศึกษาในครั้งนี้

3) สัมภาษณ์บุคคลทั่วไป (General informants; GI) คือคนที่อยู่ในหมู่บ้าน จำนวนทั้งสิ้น 14 คน เป็นชาวบ้านโดยทั่วไปที่สามารถใช้พืชสมุนไพรเป็นยารักษาโรคได้ หรือเป็นบุคคลที่เคยใช้สมุนไพรในการรักษาตนเองจนหายป่วย หรือเป็นบุคคลที่เคยแนะนำผู้อื่นให้ใช้สมุนไพรที่เช่นเดียวกับตนเอง

3.2.3.1 การสังเกตโดยตรง เพื่อศึกษาการใช้ประโยชน์จากพรรณไม้สมุนไพรในชีวิตประจำวันของชนเผ่ากะเหรี่ยง

3.2.3.2 ร่วมทำการเดินป่ากับหมอพื้นบ้านและผู้รู้เพื่อเก็บพรรณพืชสมุนไพรในบริเวณป่าที่ชาวบ้านใช้ประโยชน์อยู่จริง ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างพรรณไม้สมุนไพรพื้นบ้านในภาคสนาม พร้อมทั้งบันทึกภาพพรรณพืชสมุนไพรนั้นอย่างละเอียด และนำตัวอย่างบางส่วนมาอัดแห้ง เพื่อรอการศึกษาในห้องปฏิบัติการต่อไป

3.2.3.4 วิธีการเก็บตัวอย่างพรรณพืชสมุนไพร

ก่อนทำการเก็บตัวอย่างพรรณพืชสมุนไพรทุกครั้ง จะทำการถ่ายภาพไว้เพื่อความสะดวกในการตรวจสอบเอกลักษณ์พืช

ทำการบันทึกลักษณะสำคัญต่างๆ ของพืชที่อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อนำมาอัดเป็นตัวอย่างแห้งหรือดองด้วยสารเคมี อาทิเช่น สีของเปลือกไม้ ใบ ดอกและผล รวมทั้งบันทึกลักษณะนิสัยและสภาพนิเวศน์ของพรรณไม้เอาไว้ด้วย

การเก็บตัวอย่างพรรณพืชสมุนไพรจะทำการเก็บอย่างสมบูรณ์ที่สุดเท่าที่จะทำได้ คือ ควรเก็บทั้งใบ ดอก ผลและเมล็ด ขึ้นส่วนตัวอย่างมีขนาดเหมาะสมกับแผงอัดพรรณไม้ ถ้าเป็นพืชล้มลุกหรือพืชขึ้นต่ำจะทำการถอนรากหรือเหง้าติดมาด้วย เพื่อประโยชน์ในการตรวจสอบเอกลักษณ์พืช

การอัดตัวอย่างพรรณพืชสมุนไพร

นำตัวอย่างพรรณพืชสมุนไพรมาตัดแต่งกิ่งให้สวยงาม มีขนาดเหมาะสม จัดใบให้มีทั้งคว่ำและหงาย จากนั้นอัดตัวอย่างพรรณไม้ลงในหนังสือพิมพ์พับครึ่ง คั่นแต่ละตัวอย่าง ด้วยกระดาษแข็งลูกฟูก เพื่อระบายอากาศและความร้อน จากนั้นอัดตัวอย่างพรรณพืชสมุนไพรด้วยแผงไม้และรัดด้วยเชือกให้แน่น

นำแผงอัดตัวอย่างพรรณพืชสมุนไพรที่รัดด้วยเชือกแล้วมาตากแดดจัดให้แห้งสนิทหรืออบในตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิประมาณ 40 องศาเซลเซียส (°C) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เปิดแผงอัดตัวอย่างพรรณพืชสมุนไพรเพื่อจัดแต่งกิ่ง ใบ ดอก และส่วนอื่นๆ พร้อมทั้งเปลี่ยนกระดาษหนังสือพิมพ์ใหม่ แล้วนำไปอบอีกครั้งเป็นเวลา 48–72 ชั่วโมง กรณีที่ไม่สามารถตรวจสอบเอกลักษณ์พืชได้ทันที จะนำตัวอย่างดอกพืชแต่ละชนิดลงใน 95% เอทิลแอลกอฮอล์เพื่อนำไปตรวจสอบเอกลักษณ์ต่อไป

การอบน้ำยาตัวอย่างพรรณพืชสมุนไพร

เมื่อตัวอย่างพรรณพืชสมุนไพรแห้งสนิทดีแล้ว จะนำตัวอย่างแห้งมาอบน้ำยาเมอร์คิวรีคลอไรด์ เพื่อป้องกันและกำจัดเชื้อรา และหลังจากอบน้ำยาตัวอย่างพรรณพืชสมุนไพรแล้ว จะนำตัวอย่างอัดลงในแผ่นอัดพรรณไม้เหมือนเดิมแล้วนำไปผึ่งแดดให้แห้ง น้ำยาที่อบตัวอย่างประกอบด้วย (เลือกทำเพียงบางตัวอย่างเท่านั้น)

Mercuric chloride	25	มิลลิกรัม
Phenol	50	มิลลิกรัม
95% Ethyl alcohol	1,000	มิลลิลิตร

การติดตัวอย่างพรรณพืชสมุนไพรแห้งที่ผ่านการอบน้ำยาแล้วมาติดบนกระดาษแข็งขนาด 30 x 40 เซนติเมตร จัดรูปทรงให้สวยงามและง่ายต่อการตรวจสอบเอกลักษณ์ยึดติดด้วยกาว พร้อมทั้งติดป้ายบอกรายละเอียดของพืชไว้ที่มุมขวาล่างของกระดาษ

3.2.3.5 การศึกษาพรรณไม้ในห้องปฏิบัติการ

ศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาของพรรณไม้ที่เก็บรวบรวมมาได้ในห้องปฏิบัติการนำพรรณไม้สมุนไพรตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้มาศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาอย่าง

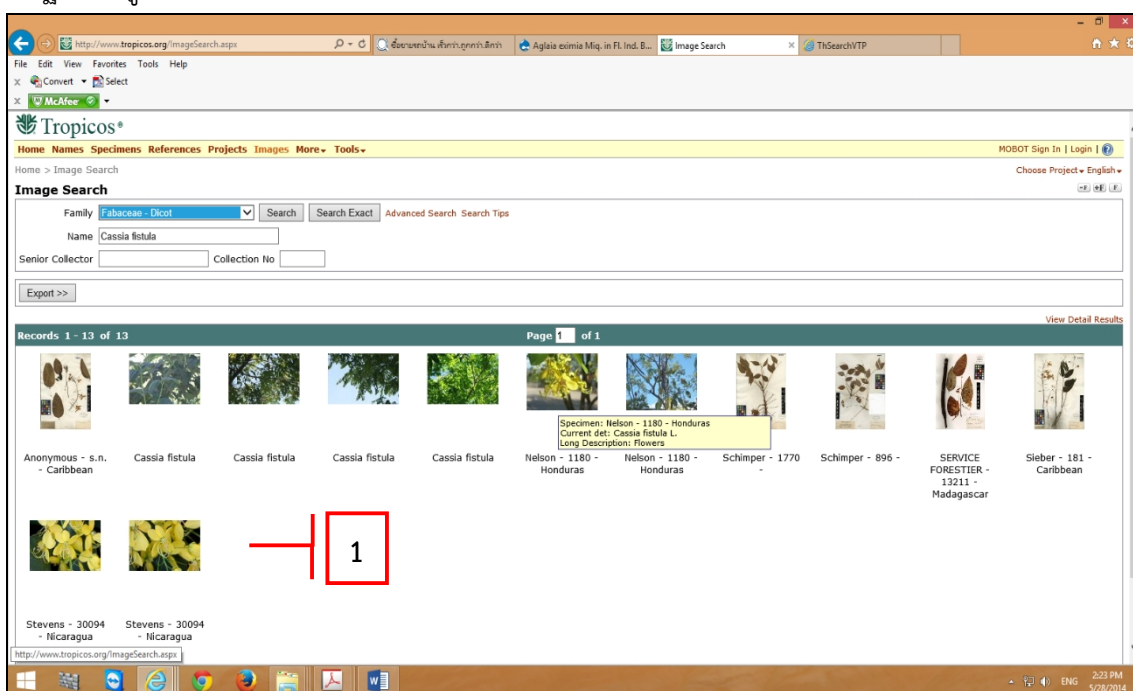
ละเอียด ทำการตรวจสอบเอกลักษณ์และตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องของตัวอย่างพรรณพืช สมุนไพรและจัดทำเป็นตัวอย่าง พรรณไม้อัดแห้ง เพื่อใช้ในการตรวจสอบยืนยันกรณีที่ไม่แน่ใจ

ตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องของตัวอย่างพรรณพืชสมุนไพรแต่ละชนิด ลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาของพรรณไม้ โดยอาศัยเอกสารพฤกษศาสตร์อนุกรมวิธานของพรรณไม้ ในภูมิภาคใกล้เคียง โดยชื่อวิทยาศาสตร์ (botanical name) จะใช้ชื่อตามแหล่งอ้างอิง

3.3 การตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องของพรรณไม้

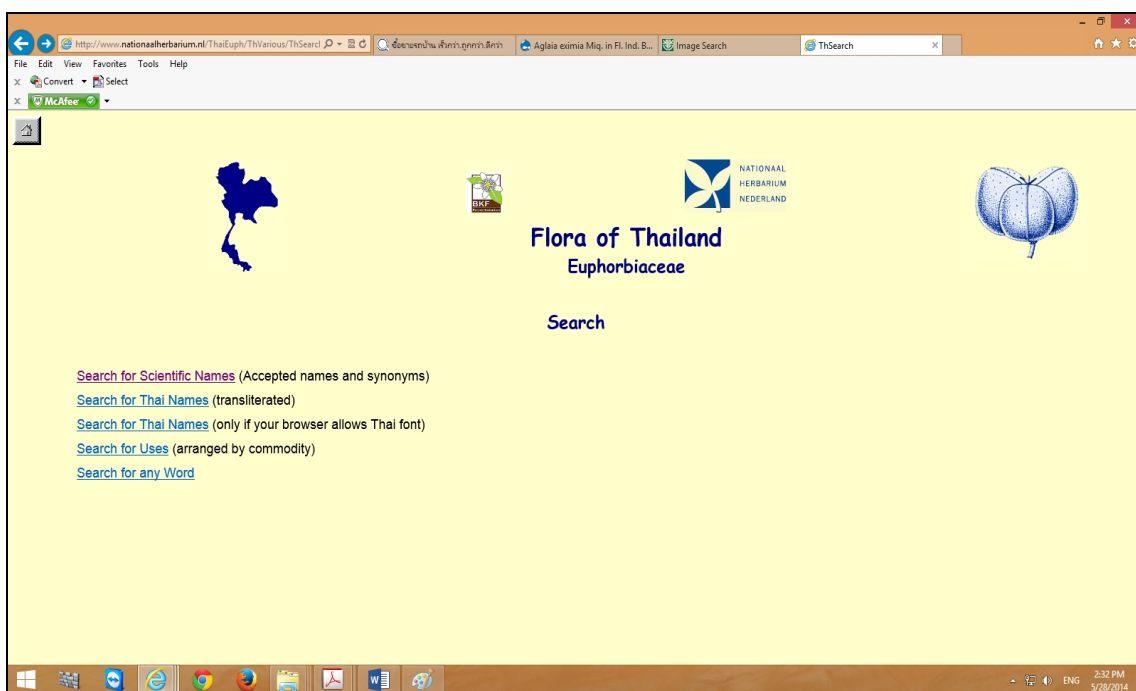
การตรวจสอบชื่อวิทยาศาสตร์ของพรรณพืชสมุนไพรแต่ละชนิด ลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาของพรรณไม้ โดยชื่อวิทยาศาสตร์ (botanical name) จะใช้ชื่อตามแหล่งอ้างอิง ได้แก่ ชื่อพรรณไม้ของจีน (The Flora of China) ชื่อพรรณไม้ของไทย (The Flora of Thailand) ฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้ของอินเดีย (The Flora of British India) ฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้ของมาเลเซีย (The Flora of Malaya) ชื่อพรรณไม้ของอินโดนีเซีย (Flora of Java) ฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้ National Herbarium Nederland Online และอื่นๆ มีการพิสูจน์เอกลักษณ์ยืนยันโดยการดูจากพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ (Bangkok Herbarium: BK)

ฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้ของจีน (The Flora of China)



ภาพที่ 3.1 แสดงการใช้ฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้ของจีน (The Flora of China)
ภาพดอกคุณ 1) ในฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้ของจีน

ฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้ของไทย (The Flora of Thailand)



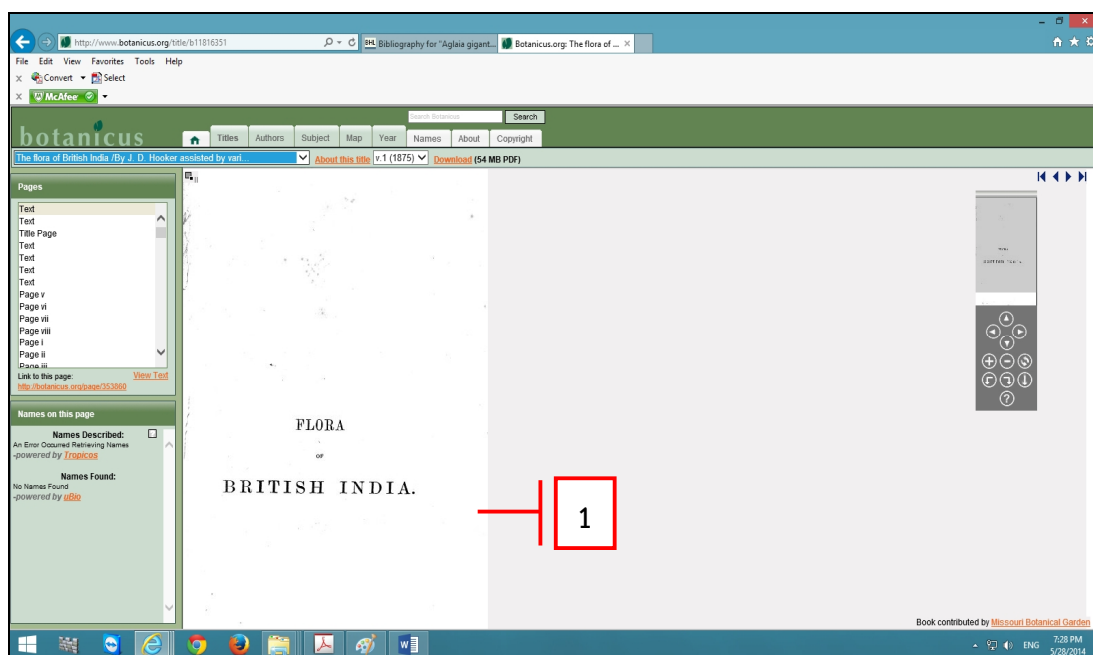
ภาพที่ 3.2 แสดงหน้าหลักฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้ของไทย (The Flora of Thailand)



ภาพที่ 3.3 แสดงการใช้ฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้ของไทย (The Flora of Thailand)

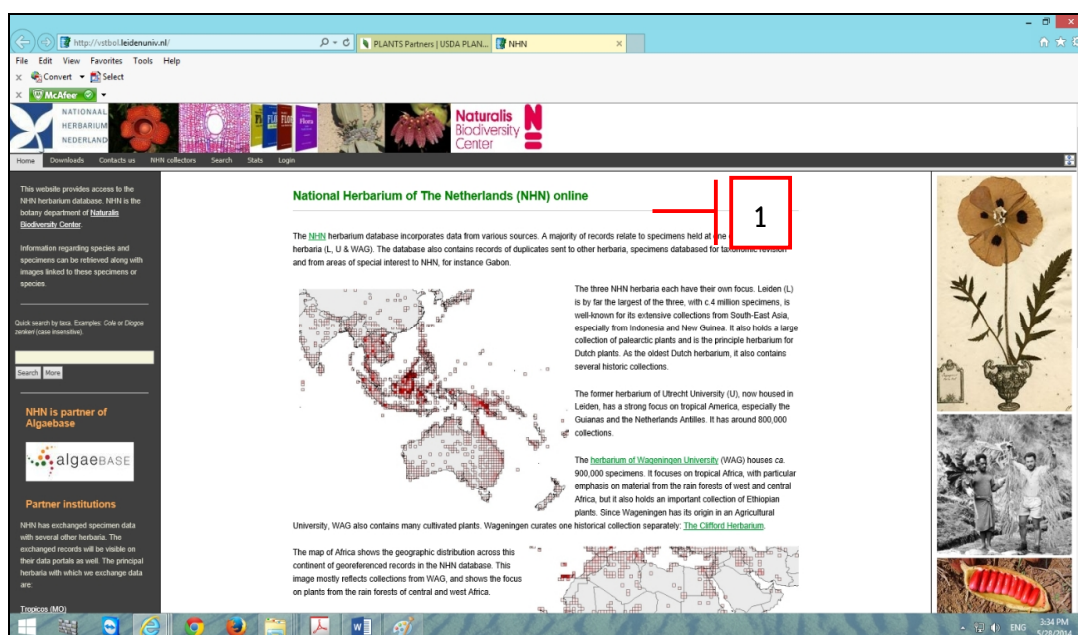
ระบุชื่อวิทยาศาสตร์ 1) ระบุชื่อไทยมะขามป้อม 2)

ฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้ของอินเดีย (The Flora of British India)



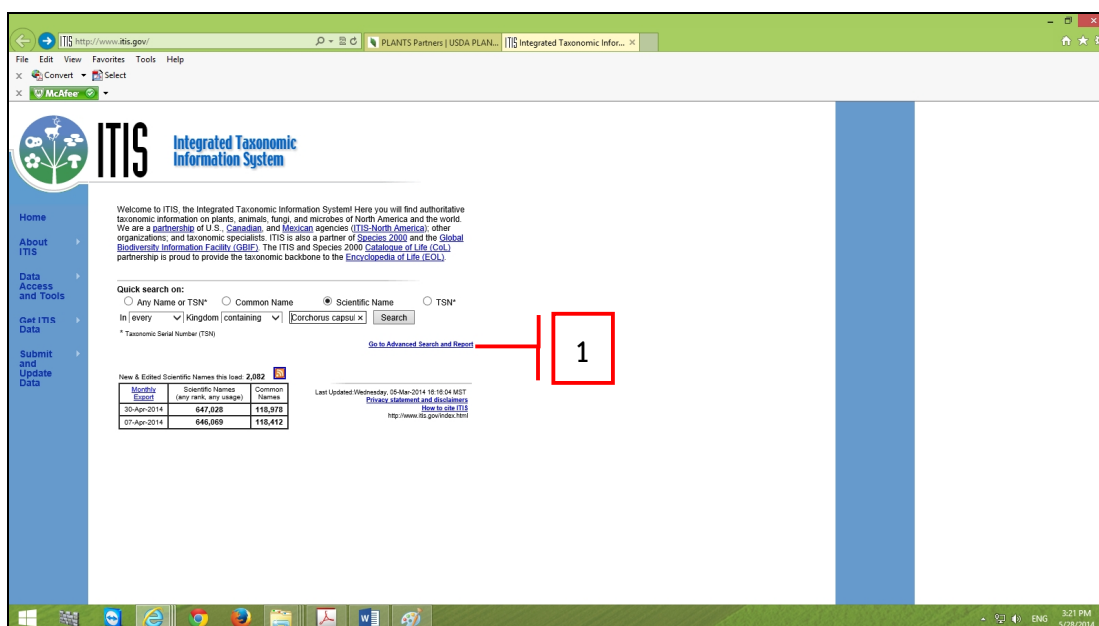
ภาพที่ 3.4 แสดงหน้าหลักฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้ของอินเดีย (The Flora of British India)

ฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้ของเนเธอร์แลนด์ออนไลน์ National Herbarium of The Netherland (NHN)

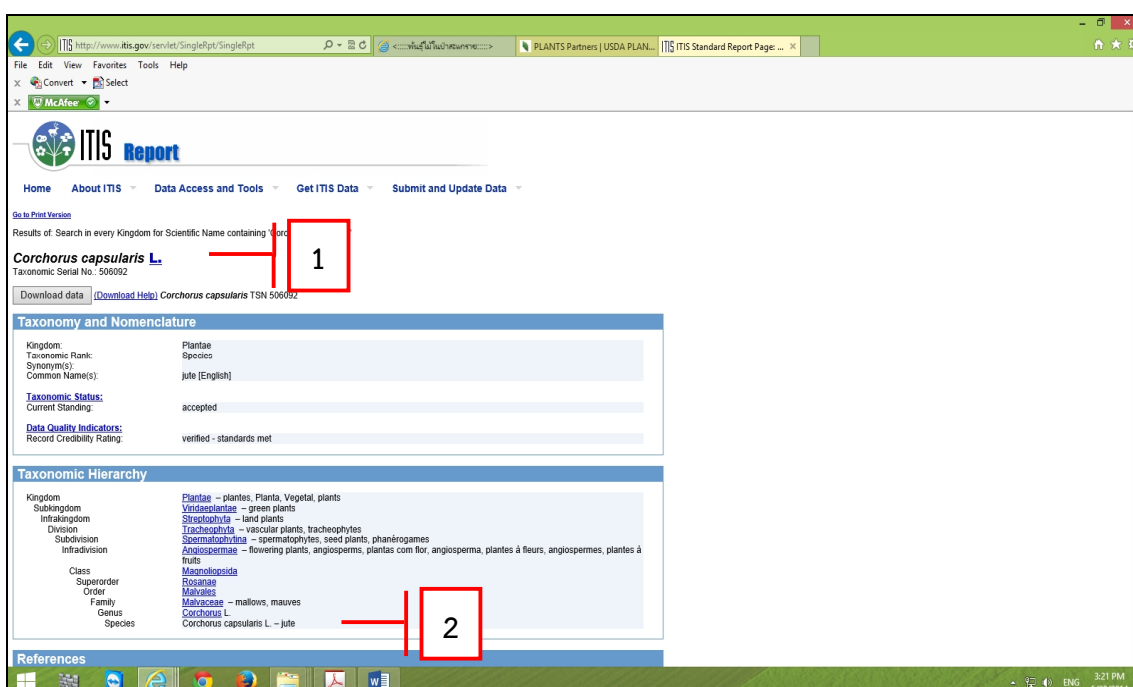


ภาพที่ 3.5 แสดงหน้าหลักฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้ National Herbarium of The Netherland 1)

ฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้และการจัดจำแนกทางพฤกษศาสตร์



ภาพที่ 3.6 แสดงหน้าหลักฐานข้อมูล Integrated Taxonomic Information System

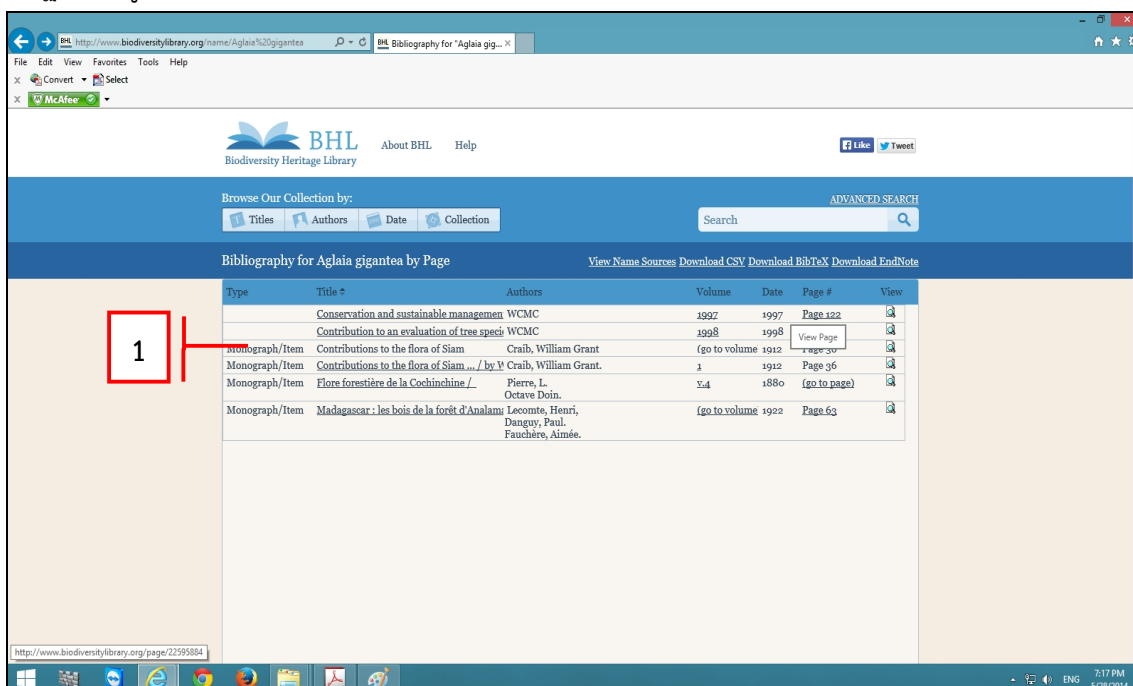


ภาพที่ 3.7 แสดงการใช้งานฐานข้อมูล Integrated Taxonomic Information System

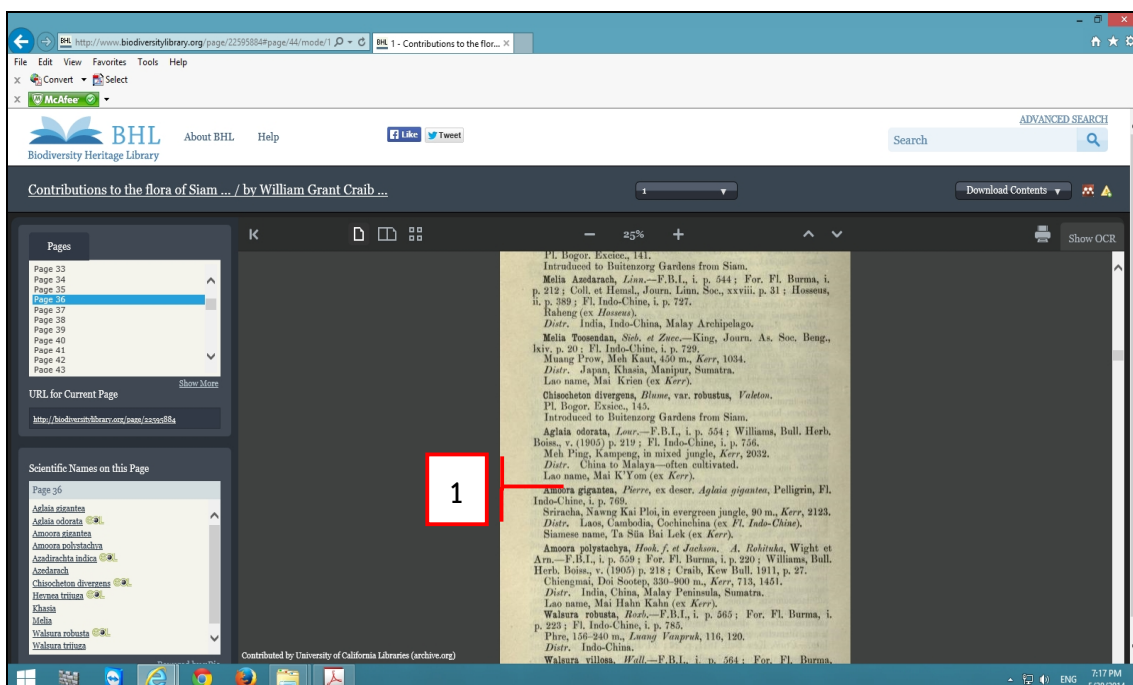
การเพิ่มคำค้น Corchorus capsularis 1)

ระบุชนิดของพืชได้ Corchorus capsularis L. 2)

ฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้ Biodiversity Heritage Library



ภาพที่ 3.8 แสดงหน้าหลักฐานข้อมูล Biodiversity Heritage Library



ภาพที่ 3.9 แสดงการใช้งานฐานข้อมูลชื่อพรรณไม้ Biodiversity Heritage Library