

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบฟักข้าว

ลักษณะของสารสกัดจากเฮกเซนที่ได้จากรากมีสีน้ำตาลอ่อนใสและเหนียวข้น สารสกัดที่ได้จากลำต้นมีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลค่อนข้างเข้ม สารสกัดที่ได้จากใบมีสีเขียวเข้มและเหนียวข้นและสารสกัดที่ได้จากเยื่อมีสีส้มคล้ายน้ำมัน ดังรูปที่ 4.1



(ก) (ข) (ค) (ง)

รูปที่ 4.1 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดที่สกัดจากเฮกเซน

(ก) ราก (ข) ลำต้น (ค) ใบ และ (ง) เยื่อหุ้มเมล็ด

ลักษณะของสารสกัดจากเมทานอล สารสกัดที่ได้จากรากมีสีน้ำตาลอมแดงและเหนียวข้น สารสกัดจากลำต้น มีสีน้ำตาลไหม้ เหนียวเนื้อสารสกัดค่อนข้างหยาบ สารสกัดจากใบมีสีค่อนข้างเขียว เหนียวคล้ายสารสกัดจากราก และสารสกัดจากเยื่อ มีสีน้ำตาลแดงออกส้ม เนื้อสารค่อนข้างเหนียวกว่าสารสกัดอื่น ดังรูปที่ 4.2



(ก) (ข) (ค) (ง)

รูปที่ 4.2 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดที่สกัดจากเมทานอล

(ก) ราก (ข) ลำต้น (ค) ใบ และ (ง) เยื่อหุ้มเมล็ด

สารสกัดที่ได้สังเกตเห็นว่ามีลักษณะต่างกันสามแบบ คือ สารเหนียว น้ำมัน และผง ซึ่งสารประกอบพวกที่มีลักษณะเป็นน้ำมันซึ่งน้ำมันจะสะสมอยู่ที่ผลหรือเปลือกของพืชเป็นส่วนมาก ส่วนสารประกอบที่มีลักษณะทางกายภาพเป็นไขมัน เป็นสารประกอบจำพวก ไช คิวทิน และซูเบอร์ิน ที่มักจะพบในราก ลำต้น และใบ ของพืช (นิตย, 2541) และลักษณะทางกายภาพที่เป็นผง เป็นสารประกอบจำพวกโปรตีนและน้ำตาล พบได้ในส่วนของรากและลำต้นของพืช (เทียมใจ, 2541)

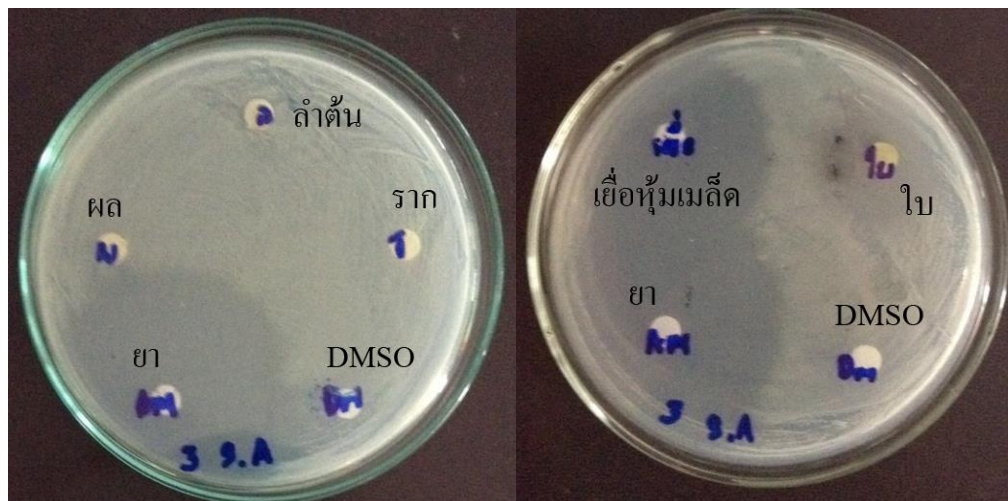
4.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ

นำสารสกัดจากราก ลำต้น ใบและเยื่อฟักข้าวที่สกัดได้และสารสกัดจากผลที่ได้จากงานวิจัยของสุชาติ และอิสรา (2554) ที่สกัดด้วยเฮกเซนและเมทานอลมาละลายด้วย DMSO ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หยดปริมาณ 10 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ที่วางบนอาหารแข็ง Nutrient Agar ซึ่งมีเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* (แกรมบวก) และ *E. coli* (แกรมลบ) อยู่บนผิวแล้วนำไปบ่ม 24 ชั่วโมง อ่านค่าบริเวณการยับยั้งแบคทีเรียได้ผลการทดสอบ ดังนี้

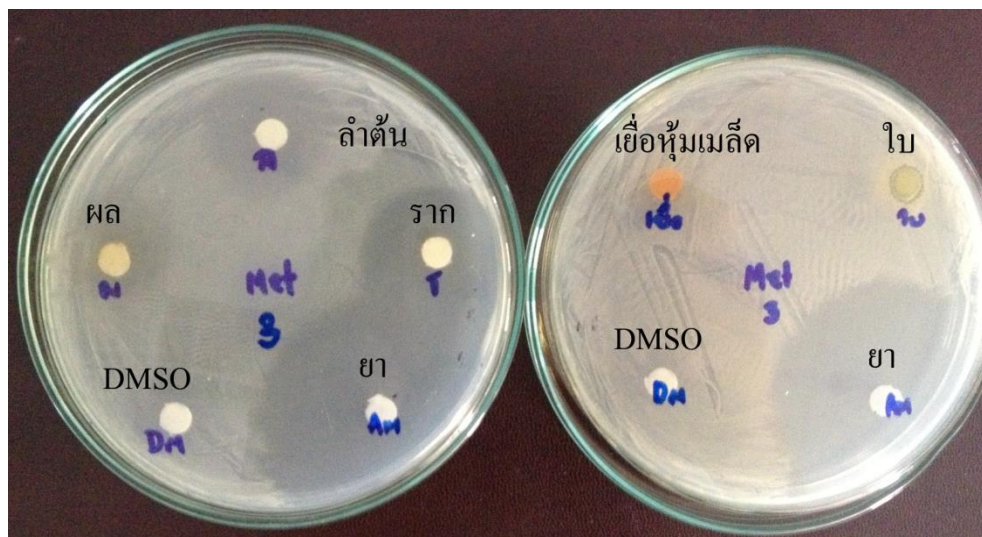
4.2.1 ผลบริเวณยับยั้งเชื้อ *S. aureus* จากสารสกัดฟักข้าวที่สกัดด้วยเฮกเซนและเมทานอล

สารสกัดจากราก ลำต้น ผล ใบฟักข้าว และเยื่อหุ้มเมล็ดที่สกัดด้วยเฮกเซน และเมทานอลที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดจากราก ลำต้น ใบ และเยื่อหุ้มเมล็ดที่สกัดด้วยเฮกเซนมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ซึ่งสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากใบ ดังรูปที่ 4.3 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ พรสวรรค์ ดิษยบุตร (2518) และ บงกชวรรณและบรรยง (2554) ที่พบว่าสารสกัดจากใบฟักข้าวที่สกัดด้วยเฮกเซนสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้

ส่วนสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอล พบว่าส่วนรากและลำต้นมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยส่วนรากมีฤทธิ์ยับยั้งดีที่สุด ดังรูปที่ 4.4 และจากงานวิจัยของบงกชวรรณและบรรยง (2554) แม้จะพบว่าใบฟักข้าวที่สกัดด้วยเฮกเซนมีฤทธิ์ยับยั้งแต่สารสกัดใบฟักข้าวจากเมทานอลไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ซึ่งมีความสอดคล้องกันกับผลการทดลอง



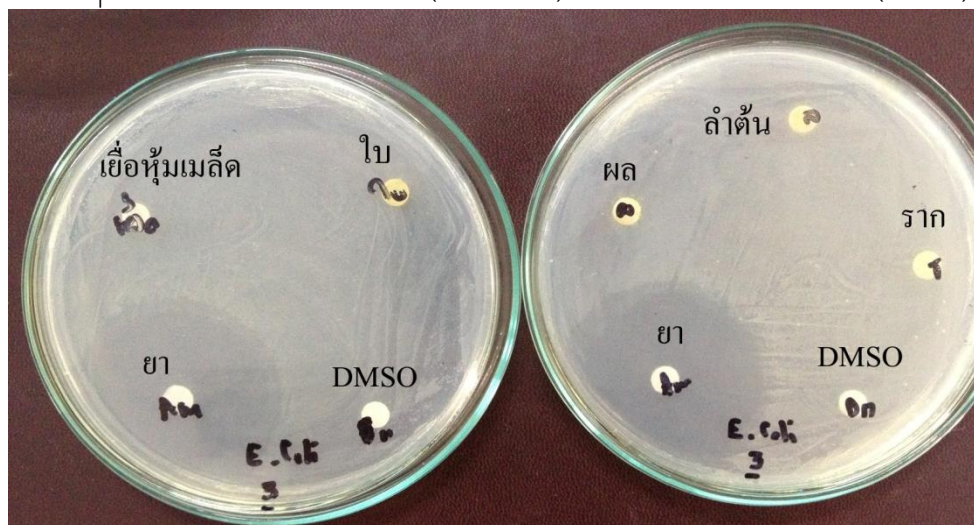
รูปที่ 4.3 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *S.aureus* ของสารสกัดจากราก ลำต้น ผล ใบและเยื่อหุ้มเมล็ดสกัดด้วยเฮกเซน



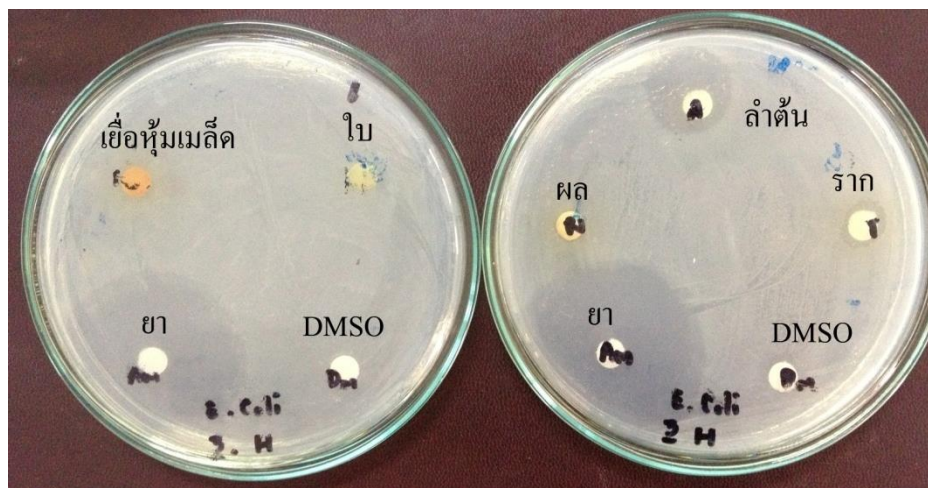
รูปที่ 4.4 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดจากราก ลำต้น ผล ใบและเยื่อหุ้มเมล็ดสกัดด้วยเมทานอล

4.2.2 ผลบริเวณการยับยั้งเชื้อ *E. coli* จากสารสกัดหยาบพืชข้าวที่สกัดด้วยเฮกเซนและเมทานอล

สารสกัดจากราก ลำต้น ผล ใบพืชข้าวและเยื่อหุ้มเมล็ดที่สกัดด้วยเฮกเซน และเมทานอลที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเฮกเซน ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังรูปที่ 4.5 ส่วนสารสกัดที่สกัดจากเมทานอล พบว่าต้นและรากพืชข้าวสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งได้ โดยส่วนลำต้นพืชข้าวออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด ดังรูปที่ 4.6 ซึ่งโดยทั่วไปเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบจะมีเยื่อหุ้มชั้นนอกล้อมรอบผนังเซลล์ไว้ เยื่อหุ้มนี้เป็นชั้นไขมันมากถึง 11 - 22 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งของผนังเซลล์เยื่อหุ้มชั้นนอกนี้จะทำหน้าที่เสมือนเครื่องกันสารเคมีและเอนไซม์จากภายนอกไม่ให้เข้าไปทำลายเซลล์ดังนั้นแบคทีเรียแกรมลบจึงถูกทำลายได้ยากกว่าของแบคทีเรียแกรมบวก (นงลักษณ์, 2541) สอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (*S. aureus*) ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ (*E. coli*)



รูปที่ 4.5 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดจากราก ลำต้น ผล ใบและเยื่อหุ้มเมล็ดสกัดด้วยเฮกเซน



รูปที่ 4.6 ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *E.coli* ของสารสกัดจาก ราก ลำต้น ผล ใบและเปลือกหุ้มเมล็ดสกัดด้วยเมทานอล

4.3 ผลการทดสอบสิ่งทอที่ผ่านการพิมพ์ด้วยสีจากเปลือกมังคุดและกัมจากมะขาม

เมื่อนำทดสอบสิ่งทอที่ได้จากงานวิจัยของน้ำฟ้า สุวรรณสุทธิ์, ยุติพงศ์ แก่นจัน (2556) ที่ผ้ากระบวนการพิมพ์ด้วยกัมและสีจากเปลือกมังคุด มาทำการประเมินการต้านจุลชีพของสิ่งทอเชิงคุณภาพ ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเล่มที่ 29 จำนวน 10 ตัวอย่าง แสดงให้เห็นดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ผลการประเมินการต้านเชื้อ *S.aureus* ของสิ่งทอที่จะนำมาทดสอบ

สิ่งทอที่ใช้ทดสอบ	ขอบการยับยั้ง (มิลลิเมตร)
1. ผ้าฝ้ายพิมพ์กัมปรับปรุงทางนกงูไทย 3%	1.17 ± 0.29
2. ผ้าฝ้ายพิมพ์กัมปรับปรุงทางนกงูฝรั่ง 6%	0.67 ± 0.58
3. ผ้าไหมพิมพ์กัมปรับปรุงทางนกงูฝรั่ง 5%	1.17 ± 1.04
4. ผ้าไหมพิมพ์กัมปรับปรุงทางนกงูไทย 5%	0.50 ± 0.50
5. ผ้าไหมพิมพ์ทิมมารีนกัมทางการค้า 5% เต็มกรด	1.83 ± 0.29
6. ผ้าไหมพิมพ์ทิมมารีนกัมทางการค้า 5% เต็มเบส	0.17 ± 0.29
7. ผ้าฝ้ายพิมพ์ทิมมารีนกัมทางการค้า 5% เต็มเบส	0.33 ± 0.58
8. ผ้าไหมพิมพ์กัมคาร์บอกซี 5% เต็มกรด	0
9. ผ้าไหมพิมพ์กัมคาร์บอกซี 5% เต็มเบส	0
10. ผ้าฝ้ายพิมพ์กัมคาร์บอกซี 5% เต็มกรด	0.67 ± 0.58

จากผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าตัวอย่างที่ 1. ผ้าม้ายพิมพ์กัมปรับปรุงทางนกยูงไทย 3%, 2. ผ้าม้ายพิมพ์กัมปรับปรุงทางนกยูงฝรั่ง 6%, 3. ผ้าไหมพิมพ์กัมปรับปรุงทางนกยูงฝรั่ง 5%, 5. ผ้าไหมพิมพ์กัมรีนกันทางการค้า 5% เดิมกรด และ 10. ผ้าม้ายพิมพ์กัมคาร์บอกซี 5% เดิมกรด มีประสิทธิภาพในการต้านจุลชีพตามมาตรฐานวิธีทดสอบสิ่งทอเล่ม 29 การประเมินการต้านจุลชีพของสิ่งทอ เชิงคุณภาพ เนื่องจากสีที่พิมพ์ลงบนสิ่งทอเป็นสีจากเปลือกมังคุดซึ่งสามารถออกฤทธิ์ต้านจุลชีพได้ตามข้อมูลจากสถาบันพัฒนาอุตสาหกรรมสิ่งทอ, 2556 ซึ่งผลที่มีความแตกต่างกันเกิดจากการเติมสีจากเปลือกมังคุดในปริมาณไม่เท่ากัน (น้ำฟ้า และยุติพงศ์, 2556) แต่สิ่งทอที่ 1 และ 3 ที่มีผลการต้านใกล้เคียงกันเนื่องมาจากชนิดของกัมที่อาจส่งผลให้สิ่งทอที่ 1 ซึ่งมีปริมาณสีน้อยกว่าสิ่งทอที่ 3 ออกฤทธิ์ด้านเชื้อได้ดีขึ้น โดยสิ่งทอที่ 9 และ 10 ที่ไม่ออกฤทธิ์ต้านจุลชีพ เนื่องจากปริมาณของยูเรียและเบสที่เติมในปริมาณที่มากกว่าสูตรอื่นจากสูตรการเตรียมสีพิมพ์ของ น้ำฟ้า และยุติพงศ์, 2556 นอกจากนี้พบว่าสิ่งทอทั้ง 10 ชนิดข้างต้นไม่ออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *E.coli*

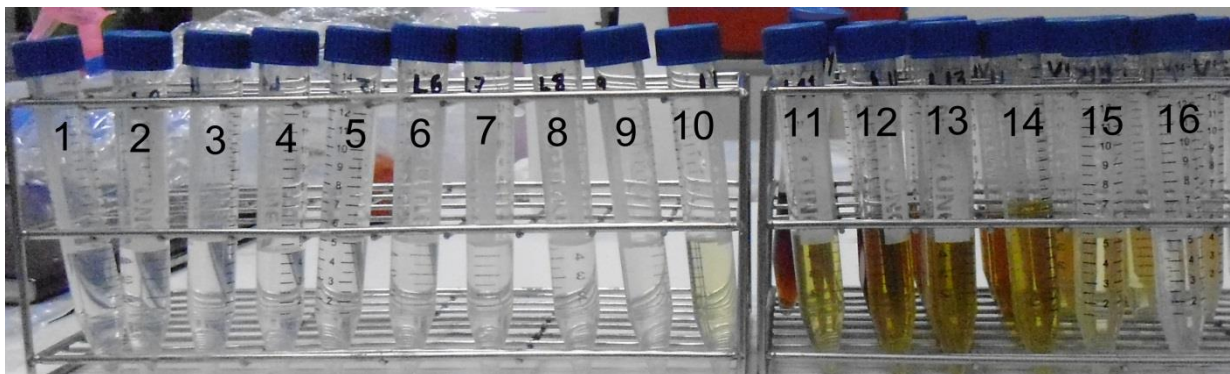
นอกจากนี้เมื่อนำสิ่งทอที่ย้อมสีดังกล่าวมาเคลือบด้วยสารสกัดจากผักข่าวกก็ไม่พบการเพิ่มผลในการยับยั้งเชื้อจุลชีพทั้งสองชนิดอาจเนื่องมาจากสารที่ใช้อยู่เป็นสารสกัดหยาบซึ่งมีสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลชีพอยู่ในความเข้มข้นที่ต่ำ

4.4 การแยกสารสกัดลำดับส่วนของสารสกัดหยาบผักข่าด้วยเทคนิคเจลฟิเลตรชันโครมาโตกราฟี

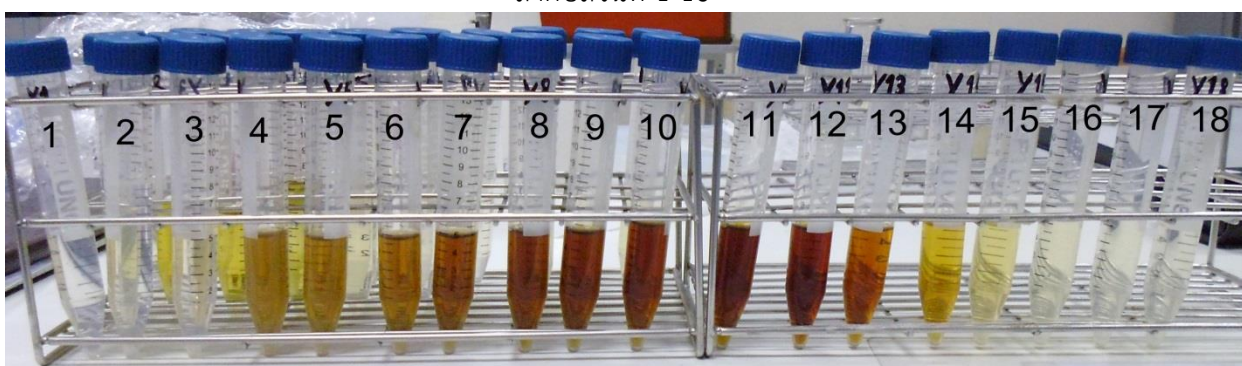
จากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าสารสกัดหยาบส่วนใบและเยื่อหุ้มเมล็ดที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (สุชาติ และอิสรา, 2555; พชริน, 2555) จึงนำสารสกัดหยาบดังกล่าวมาแยกด้วยเทคนิคเจลฟิเลตรชันโครมาโตกราฟี ตัวทำละลายที่ใช้ในการชะคือ น้ำต่อเมทานอล (1:1 มิลลิลิตร/มิลลิลิตร) ในการทำเจลฟิเลตรชันโครมาโตกราฟีมีวัฏภาคคงที่ คือ เซฟาเดกซ์ G-100 (Sephadex G-100) ดังรูปที่ 4.7 โดยเก็บสารที่ถูกชะออกจากคอลัมน์ทุก 5 มิลลิลิตร จนสารชะออกมาหมดคอลัมน์ (เทียบกับการแยกสารละลาย โปรแตสเซียมไดโครเมต) โดยสามารถแยกลำดับส่วนของสารสกัดหยาบผักข่าส่วนใบได้ 16 ลำดับส่วน (รูปที่ 4.8) และแยกลำดับส่วนของสารสกัดหยาบผักข่าส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดได้ 18 ลำดับส่วน (รูปที่ 4.9) นำสารแต่ละลำดับส่วน (Fraction) ระบายจนได้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารแต่ละลำดับส่วนไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย



รูปที่ 4.7 โครมาโตกราฟีชนิดคอลัมน์ในการแยกสารประกอบของสารสกัดหยาบผักข่า



ภาพที่ 4.8 สารสกัดลำดับส่วนจากสารสกัดหยาบฟักข้าวส่วนใบที่แยกด้วยเทคนิคเจลฟิลเตรชันโครมาโทกราฟี ลำดับส่วนที่ 1-16



รูปที่ 4.9 สารสกัดลำดับส่วนจากสารสกัดหยาบฟักข้าวส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดที่แยกด้วยเทคนิคเจลฟิลเตรชันโครมาโทกราฟีลำดับส่วนที่ 1-18

4.4.1 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ

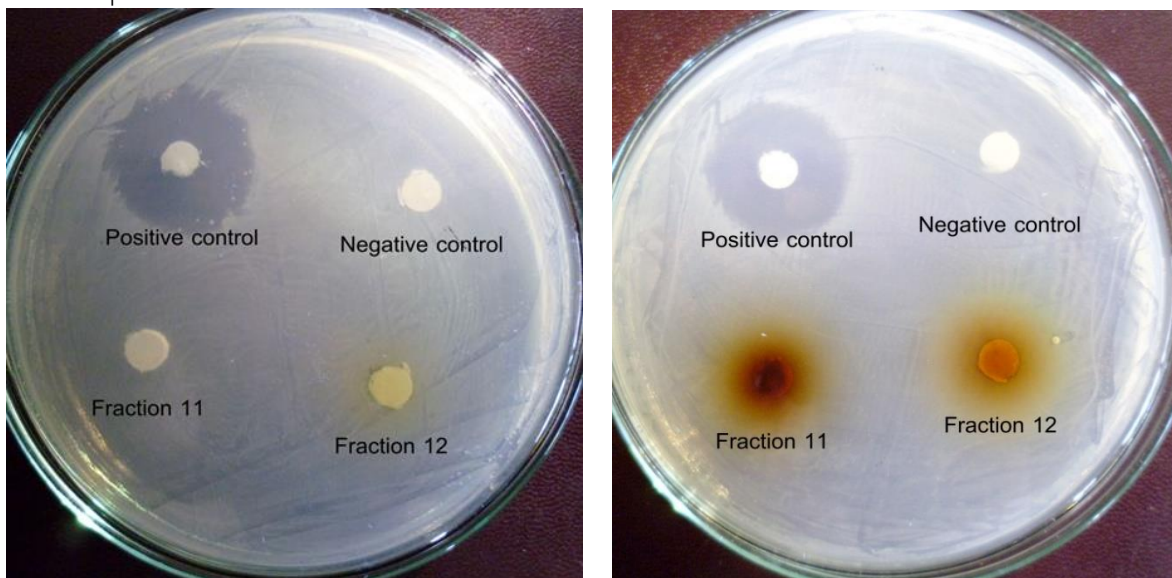
นำสารสกัดลำดับส่วนที่ได้จากข้อ 4.2 หยดสารครั้งละ 5 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรองปราศจากเชื้อ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร จนครบ 15 ไมโครลิตร วางบนอาหารแข็งที่มีเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ที่เตรียมไว้ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง สังเกตบริเวณการยับยั้งเชื้อ ให้ผลการทดสอบดังนี้

4.4.1.1 ผลการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดลำดับส่วน

สารสกัดลำดับส่วนจากใบและเยื่อฟักข้าวที่สกัดด้วยเมทานอลที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย พบว่า สารสกัดลำดับส่วนที่ 12 จากสารสกัดส่วนใบ และสารสกัดลำดับส่วนที่ 11, 12 และ 13 จากสารสกัดส่วนเยื่อหุ้มเมล็ดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้ โดยสารสกัดลำดับส่วนจากสารสกัดส่วนใบจะมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อได้ดีกว่าส่วนอื่นๆ โดยสังเกตจากขนาดของเคลียร์โซนที่กว้างกว่า ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.10

เชื้อ *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียรูปร่างแท่ง แกรมลบที่ก่อโรกระเพาะปัสสาวะอักเสบ กรวยไตอักเสบ โรคอุจจาระร่วง โรคอาหารเป็นพิษ เป็นต้น นงลักษณ์ และธิดา (2532) กล่าวว่า ยาไซโปรฟลอกซาซิน (Ciprofloxacin) ออกฤทธิ์ยับยั้งเซลล์แบคทีเรีย *E. coli* ซึ่งจะไปยับยั้งการสร้าง DNA โดยยาไซโปรฟลอกซาซิน เป็นยาที่มีขั้ว จากผลการทดลองสารสกัดลำดับส่วนที่ได้จากใบ (Fraction 12) และเยื่อหุ้มเมล็ด (Fraction 11,

12 และ 13) ที่สกัดด้วยเมทานอลซึ่งเป็นสารที่มีขั้ว สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้ ซึ่งคาดว่าน่าจะมีการออกฤทธิ์เช่นเดียวกับยาดังกล่าว



(ก)

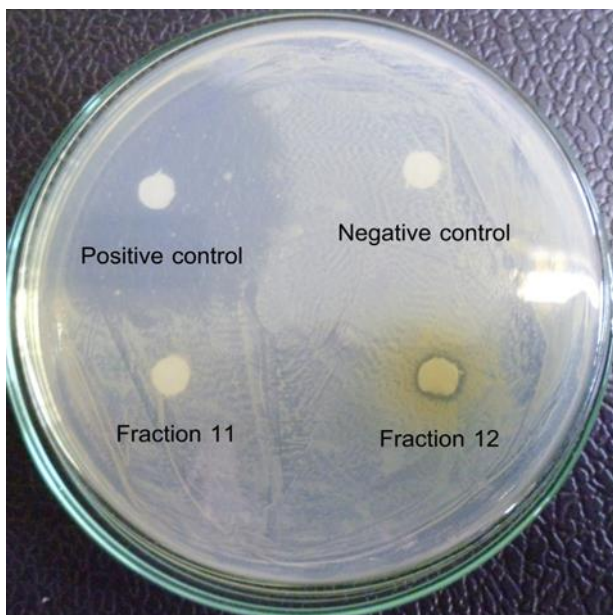
(ข)

รูปที่ 4.10 ผลการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ของสารสกัดลำดับส่วน (ก) สารสกัดลำดับส่วนที่ได้จากใบ (ข) สารสกัดลำดับส่วนที่ได้จากเยื่อหุ้มเมล็ด

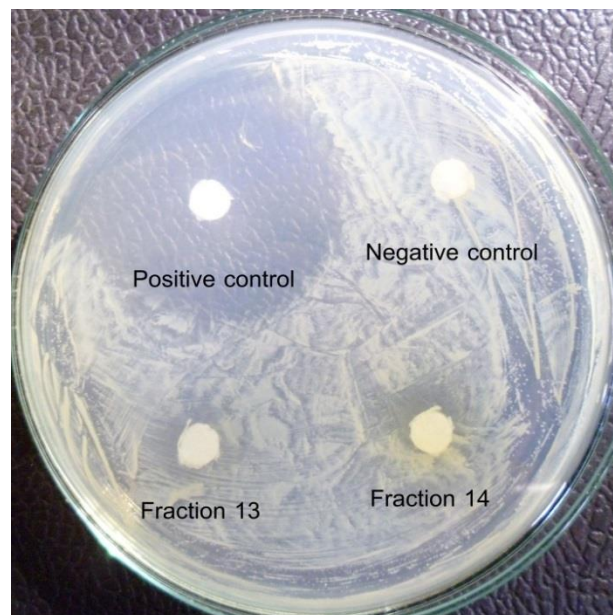
4.4.1.2 ผลการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดลำดับส่วน

เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดลำดับส่วนพบว่า สารสกัดลำดับส่วนที่ 12, 13 และ 14 จากสารสกัดส่วนใบ และสารสกัดลำดับส่วนที่ 11, 12 และ 13 จากสารสกัดส่วนเยื่อหุ้มเมล็ด ดังรูปที่ 4.11 พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ได้ จากการทดลองนี้เห็นว่าสารสกัดลำดับส่วนจากสารสกัดส่วนใบมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ดีกว่าสารสกัดลำดับส่วนจากเยื่อหุ้มเมล็ด

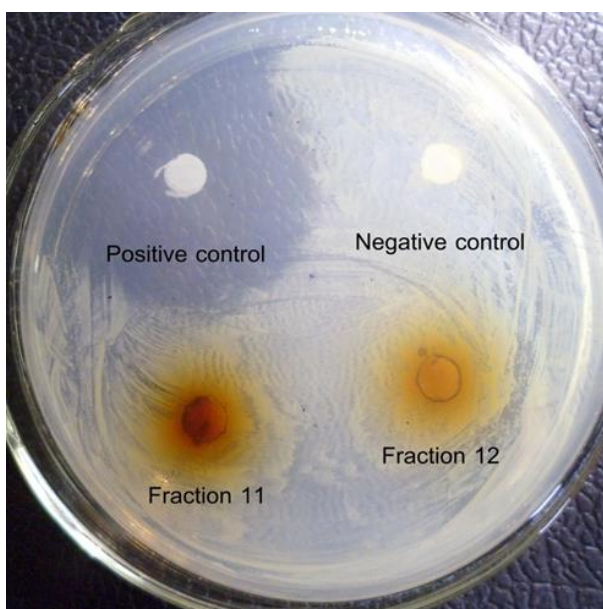
เชื้อ *S. aureus* เป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่พบได้บ่อยในโรงพยาบาล เช่น โรคปอดบวม โรคติดเชื้อทางผิวหนัง เป็นต้น นิติงษ์ และเอกชัย (2552) กล่าวว่า ยาแวนโคมัยซิน (Vancomycin) เป็นยาปฏิชีวนะที่สามารถรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวได้ โดยยาแวนโคมัยซินเป็นยาที่ใช้รักษาโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และเป็นกลุ่มสารที่มีขั้ว สอดคล้องกับผลการทดลองพบว่าสารสกัดลำดับส่วนที่สกัดด้วยเมทานอลเป็นสารที่มีขั้วเช่นกันจึงสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้



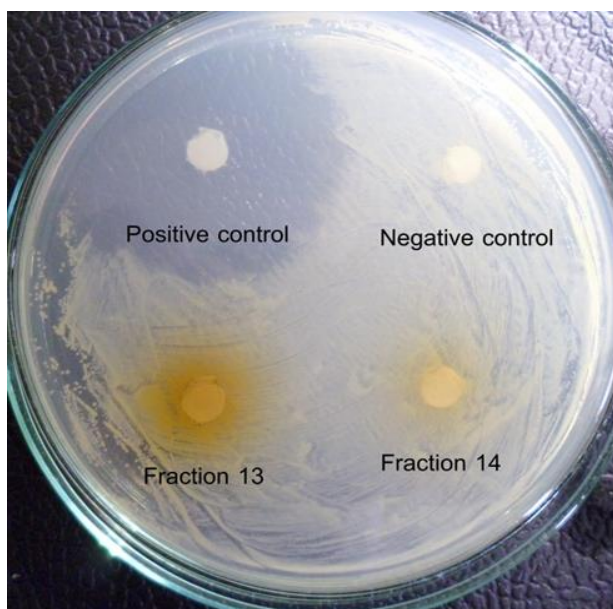
(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

รูปที่ 4.11 ผลการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดลำดับส่วน (ก), (ข) สารสกัดลำดับส่วนที่ได้จากใบ (ค), (ง) สารสกัดลำดับส่วนที่ได้จากเยื่อหุ้มเมล็ด