

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

4.1. สารสกัดจากชะครามและผักแพว

4.1.1. ปริมาณสารสกัดจากชะครามและผักแพว

จากการศึกษาเปรียบเทียบการสกัดสารสกัดจากชะครามและผักแพว โดยการกลั่นด้วยไอน้ำของตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง และการสกัดด้วยตัวทำละลายครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ดังตารางที่ 4.1 พบว่าสารสกัดชะครามจากการสกัดด้วย ethanol ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ให้ปริมาณของสารสกัดสูงที่สุด ได้แก่ 11.911% และ 12.683% ตามลำดับ อาจเนื่องจาก ethanol ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสูงและสามารถทำลาย cell membranes ของพืชได้ จึงทำให้ประสิทธิภาพในการสกัดสารได้ดีที่สุด โดยเฉพาะสารที่มีความมีขั้วสูงและสารกลุ่ม polyphenols (Shahidi และ Nacz, 2003) ส่วนการสกัดด้วย acetone และ petroleum ether ให้ปริมาณของสารสกัดรองลงมา ตามลำดับ อาจเนื่องจาก acetone และ petroleum ether เป็นตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลางถึงต่ำ ซึ่งเหมาะสำหรับการสกัดสารให้สีที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วต่ำ จากที่กล่าวมาแล้วนั้นสรุปได้ว่าประสิทธิภาพของการสกัดด้วยตัวทำละลายนั้น ขึ้นอยู่กับความมีขั้วของตัวทำละลายและองค์ประกอบของสารสำคัญในพืชนั้นๆ ส่วนสารสกัดจากชะครามโดยสารสกัดชะครามไม่มีน้ำมันหอมระเหยและผักแพวจากการกลั่นด้วยไอน้ำของตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้งให้ปริมาณของสารสกัดต่ำที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.120% และ 0.057% ตามลำดับ และจากการเปรียบเทียบการสกัดด้วยตัวทำละลายพบว่าได้ปริมาณของสารสกัดสูงกว่าการกลั่นด้วยไอน้ำ เนื่องจากตัวทำละลายสามารถสกัดได้สารสกัดหลายชนิดที่มีองค์ประกอบอื่นๆ หลายชนิด เช่น น้ำมันหอมระเหย รงควัตถุ คาร์โบไฮเดรต ส่วนการกลั่นด้วยไอน้ำสามารถสกัดได้น้ำมันหอมระเหย (Benedict, 2009)

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารสกัด (% yield) ของชะครามและผักแพวที่สกัดด้วยการกลั่นด้วยไอน้ำของตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง และการสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน

ชนิดพืช	วิธีการสกัด		% yield (% w/w)
	ตัวทำละลาย	การสกัด	
ชะคราม	การกลั่นด้วยไอน้ำ	ตัวอย่างแห้ง	0.000
		ตัวอย่างสด	0.000
	ethanol	การสกัดครั้งที่ 1	11.911
		การสกัดครั้งที่ 2	12.683
	petroleum ether	การสกัดครั้งที่ 1	1.691
		การสกัดครั้งที่ 2	3.360
	acetone	การสกัดครั้งที่ 1	3.854
		การสกัดครั้งที่ 2	5.066
ผักแพว	การกลั่นด้วยไอน้ำ	ตัวอย่างแห้ง	0.120
		ตัวอย่างสด	0.057
	ethanol	การสกัดครั้งที่ 1	4.492
		การสกัดครั้งที่ 2	8.509
	petroleum ether	การสกัดครั้งที่ 1	0.697
		การสกัดครั้งที่ 2	0.905
	acetone	การสกัดครั้งที่ 1	2.802
		การสกัดครั้งที่ 2	6.335

4.1.2. ค่าการหักเหแสงของสารสกัดจากชะครามและผักแพว

จากค่าการหักเหแสงของสารสกัดจากชะครามและผักแพวโดยการกลั่นด้วยไอน้ำของตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง และการสกัดด้วยตัวทำละลายครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ดังตารางที่ 4.2 พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้งครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 มีค่าอยู่ในช่วงใกล้เคียงกันคือ 1.358-1.361 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์สูงเนื่องจากทำขั้นตอนการล้าง wax ออกจากสารสกัด ส่วนค่าการหักเหแสงของสารสกัดจากผักแพวโดยการกลั่นด้วยไอน้ำของตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้งเท่ากับ 1.472 และ 1.471 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ศึกษาสารสกัดจากพืชและสมุนไพรโดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.462-1.600 (Singhal และคณะ, 2001)

ตารางที่ 4.2 ค่าการหักเหแสงของสารสกัดจากชะครามและผักแพวโดยการกลั่นด้วยไอน้ำของตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง และการสกัดด้วยตัวทำละลาย

ชนิดพืช	วิธีการสกัด		$\mu\text{mol/mg TE}$
	ตัวทำละลาย	การสกัด	
ชะคราม	การกลั่นด้วยไอน้ำ	ตัวอย่างแห้ง	not detect
		ตัวอย่างสด	not detect
	ethanol	การสกัดครั้งที่ 1	1.360
		การสกัดครั้งที่ 2	1.360
	petroleum ether	การสกัดครั้งที่ 1	1.361
		การสกัดครั้งที่ 2	1.360
	acetone	การสกัดครั้งที่ 1	1.360
		การสกัดครั้งที่ 2	1.361
ผักแพว	การกลั่นด้วยไอน้ำ	ตัวอย่างแห้ง	1.472
		ตัวอย่างสด	1.471
	ethanol	การสกัดครั้งที่ 1	1.361
		การสกัดครั้งที่ 2	1.361
	petroleum ether	การสกัดครั้งที่ 1	1.358
		การสกัดครั้งที่ 2	1.358
	acetone	การสกัดครั้งที่ 1	1.361
		การสกัดครั้งที่ 2	1.361

4.1.3. ค่า optical rotation ของสารสกัดจากชะครามและผักแพว

จากค่าการหักเหคลื่นแสงของสารสกัดจากชะครามและผักแพวโดยการกลั่นด้วยไอน้ำของตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง และการสกัดด้วยตัวทำละลายครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ดังตารางที่ 4.3 พบว่าสารสกัดชะครามที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้งครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 มีค่าอยู่ในช่วงคือ -15.95° ถึง -22.85° ส่วนค่าการหักเหคลื่นแสงของสารสกัดจากผักแพวโดยการกลั่นด้วยไอน้ำและการสกัดด้วยตัวทำละลายของตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้งมีค่าอยู่ในช่วงคือ -17.65° ถึง -32.75°

ตารางที่ 4.3 ค่า optical rotation ของสารสกัดจากชะครามและผักแพวโดยการกลั่นด้วยไอน้ำของตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง และการสกัดด้วยตัวทำละลาย

ชนิดพืช	วิธีการสกัด		optical rotation
	ตัวทำละลาย	การสกัด	
ชะคราม	การกลั่นด้วยไอน้ำ	ตัวอย่างแห้ง	not detect
		ตัวอย่างสด	not detect
	ethanol	การสกัดครั้งที่ 1	-21.10°
		การสกัดครั้งที่ 2	-22.85°
	petroleum ether	การสกัดครั้งที่ 1	-19.80°
		การสกัดครั้งที่ 2	-15.95°
	acetone	การสกัดครั้งที่ 1	-21.50°
		การสกัดครั้งที่ 2	-20.05°
ผักแพว	การกลั่นด้วยไอน้ำ	ตัวอย่างแห้ง	-23.90°
		ตัวอย่างสด	-21.55°
	ethanol	การสกัดครั้งที่ 1	-21.40°
		การสกัดครั้งที่ 2	-23.50°
	petroleum ether	การสกัดครั้งที่ 1	-32.75°
		การสกัดครั้งที่ 2	-32.25°
	acetone	การสกัดครั้งที่ 1	-17.65°
		การสกัดครั้งที่ 2	-19.65°

4.1.4. สารสำคัญของสารสกัดจากชะครามและผักแพวจากการวิเคราะห์ด้วย GC-MS

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการวิเคราะห์สารสำคัญของสารสกัดชะครามจากการสกัดด้วยตัวทำละลายครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ด้วยเครื่อง GC-MS พบว่าการสกัดด้วย acetone ให้จำนวนสารสำคัญสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับ การสกัดด้วยตัวทำละลายอื่น เท่ากับ 9 ชนิด สารจากการสกัดครั้งที่ 2 รองลงมาคือ การสกัดด้วย acetone พบ 8 ชนิด สารจากการสกัดครั้งที่ 1 และการสกัดด้วย ethanol มีจำนวนสาร 6 ชนิด และ 5 ชนิด จากการสกัดครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ตามลำดับ นอกจากนั้นการสกัดด้วย petroleum ether ของการสกัดครั้งที่ 1 พบสารสำคัญจำนวน 4 ชนิด ส่วนการสกัดด้วย ethanol ครั้งที่ 2 มีจำนวนน้อยที่สุดโดยพบสารสำคัญจำนวน 3 ชนิด ซึ่งเห็นได้ว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดจากการสกัดครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบ phytol เป็นองค์ประกอบหลัก โดยสารสกัดชะครามด้วย acetone พบสาร coumaran, alpha-copaene, caryophyllene, 3,5-di-tert-butylphenol, myristicin, methyl hexadecanoate, hexadecanoic acid และ alpha linolenic acid เป็นองค์ประกอบ ส่วนสารสกัดชะครามด้วย ethanol พบสาร tetradecane, 3,5-di-tert-butylphenol, hexadecanol, ethyl hexadecanoate และ ethyl linolenate เป็นองค์ประกอบ สารสกัดชะครามด้วย petroleum ether พบสาร coumaran, tetradecane และ 2,4-di-tert-butylphenol เป็นองค์ประกอบ

ตารางที่ 4.5 แสดงผลการวิเคราะห์สารสำคัญของสารสกัดผักแพวจากการกลั่นด้วยไอน้ำของตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้งด้วยเครื่อง GC-MS โดยเทียบ spectrum ของสารสำคัญในสารสกัดผักแพวด้วย Wiley 275 และ NIST library พบว่า eupatoriochromene มีปริมาณสูงสุดในสารสกัดผักแพวจากการกลั่นด้วยไอน้ำของทั้งตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้งเท่ากับ 21.71% และ 20.94% ตามลำดับ รองลงมาคือ dodecanal มีปริมาณ 19.96% และ 18.72% จากการกลั่นด้วยไอน้ำของตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้งตามลำดับ นอกจากนั้นยังพบสารสำคัญอื่นๆ ได้แก่ caryophyllene, decanal, alpha-caryophyllene, drimenol, eucalyptol, alpha-curcumene และ isophytol ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Starkenmann และคณะ. (2006)

การวิเคราะห์สารสำคัญของสารสกัดผักแพวจากการสกัดด้วยตัวทำละลายครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ด้วยเครื่อง GC-MS (ตารางที่ 4.6) พบว่าการสกัดด้วย ethanol ให้จำนวนสารสำคัญสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับ การสกัดด้วยตัวทำละลายอื่น เท่ากับ 13 ชนิด จากการสกัดครั้งที่ 1 รองลงมาคือ การสกัดด้วย acetone มีจำนวน 12 ชนิด และ 11 ชนิด จากการสกัดครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ตามลำดับ นอกจากนั้นการสกัดด้วย petroleum ether ของการสกัดครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบสารสำคัญจำนวน 7 ชนิด ส่วนการสกัดด้วย ethanol ครั้งที่ 2 มีจำนวนน้อยที่สุด โดยพบสารสำคัญจำนวน 6 ชนิด เห็นได้ว่าการสกัดด้วย petroleum ether ครั้งที่ 2 ไม่มีผลต่อจำนวนสารในสารสกัดจากผักแพว และยังมี dodecanal เป็นองค์ประกอบหลัก แต่ปริมาณ

สารสำคัญลดลงคือ 53.12% และ 38.36% จากการสกัดครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ตามลำดับ ส่วนการสกัดด้วย ethanol ให้ผลที่ต่างไปคือ องค์ประกอบหลักของการสกัดด้วย ethanol ครั้งที่ 1 คือสาร ocimene (26.44%) แต่สารนี้และสารอื่นๆ เช่น beta-pinene, beta-cis-ocimene, decanal, methyl hydrocinnamate, ethyl dihydrocinnamate และ copaene ไม่พบในการสกัดครั้งที่ 2 แต่อย่างไรก็ตามการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดพบว่ามีสาร decanal, dodecanal, caryophyllene, neophytadiene และ ethyl hexadecanoate เป็นองค์ประกอบ

ตารางที่ 4.4 สารสำคัญของสารสกัดชะครามจากการสกัดด้วยตัวทำละลายโดยวิเคราะห์ด้วย GC-MS

No.	สารสำคัญ	RI ^a	ปริมาณสารสำคัญ (%)					
			A	B	C	D	E	F
1.	coumaran	1446	12.13	-	-	2.80	-	-
2.	alpha-copaene	1541	-	-	9.47	3.68	-	-
3.	tetradecane	1544	9.09	14.46	-	-	2.50	-
4.	caryophyllene	1565	-	-	6.84	2.62	-	-
5.	2,4-di-tert-butylphenol	1597	22.80	30.65	-	-	-	-
6.	3,5-di-tert-butylphenol	1597	-	-	8.79	3.49	7.03	4.03
7.	myristicin	1607	-	-	10.66	6.24	-	-
8.	hexadecanol	1776	-	-	-	-	3.57	2.39
9.	methyl hexadecanoate	1776	-	-	3.30	1.65	-	-
10.	hexadecanoic acid	1790	-	-	11.42	15.21	-	-
11.	ethyl hexadecanoate	1803	-	-	-	-	6.34	5.53
12.	phytol	1852	55.98	54.89	14.00	8.36	69.53	77.57
13.	alpha linolenic acid	1862	-	-	35.54	55.95	-	-
14.	ethyl linolenate	1873	-	-	-	-	11.02	10.48

^a Retention indices calculated based on n-alkane standard (C₁₀-C₂₀)

A: 1st petroleum ether
extraction

C: 1st acetone
extraction

E: 1st ethanol
extraction

B: 2nd petroleum ether
extraction

D: 2nd acetone
extraction

F: 2nd ethanol
extraction

ตารางที่ 4.5 สารสำคัญของสารสกัดผักแพวจากการกลั่นด้วยไอน้ำของตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง โดยวิเคราะห์ด้วย GC-MS

No.	สารสำคัญ	RI ^a	ปริมาณสารสำคัญ (%)	
			ตัวอย่างสด	ตัวอย่างแห้ง
1.	eucalyptol	1051	0.31	-
2.	undecane	1108	-	0.14
3.	1-nonanol	1174	-	0.09
4.	decanal	1212	7.32	4.47
5.	decanol	1274	-	3.34
6.	undecanal	1311	0.58	0.57
7.	n-decanoic acid	1358	0.21	-
8.	1-nonene	1374	-	2.02
9.	beta-elemene	1401	0.64	-
10.	dodecanal	1417	19.96	18.72
11.	caryophyllene	1441	11.07	11.40
12.	allo-aromadendren	1456	0.49	-
13.	alpha-caryophyllene	1476	12.57	11.62
14.	alpha-curcumene	1490	3.16	4.49
15.	eremophillene	1508	6.89	4.20
16.	7-epi-alpha-selinene	1537	-	2.59
17.	ledol	1550	5.99	-
18.	nerolidol	1564	-	3.67
19.	globulol	1587	0.95	-
20.	caryophyllene oxide	1601	2.04	5.64
21.	cubenol	1640	0.08	-
22.	eupatoriochromene	1664	21.71	20.94
23.	drimenol	1790	4.74	4.34
24.	hexahydro farnesyl acetone	1842	-	0.60
25.	isophytol	1945	0.39	0.17
26.	n-hexadecanoic acid	1959	0.91	0.99

^a Retention indices calculated based on n-alkane standard (C10-C20)

ตารางที่ 4.6 สารสำคัญของสารสกัดผักแพวจากการสกัดด้วยตัวทำละลายโดยวิเคราะห์ด้วย GC-MS

No.	สารสำคัญ	RI ^a	ปริมาณสารสำคัญ (%)					
			A	B	C	D	E	F
1	Beta-pinene	981	-	-	8.06	16.55	13.10	-
2	3-carene	1037	-	-	-	2.08	-	-
3	Beta-cis-ocimene	1025	-	-	-	-	1.61	-
4	ocimene	1050	-	-	17.90	36.46	26.44	-
5	Decanal	1208	18.43	12.09	7.73	4.64	4.42	-
6	Methyl hydrocinnamate	1278	-	-	-	-	2.57	-
7	Ethyl dihydrocinnamate	1351	-	-	1.77	4.24	2.71	-
8	copaene	1388	-	-	-	8.52	6.00	-
9	Dodecanal	1409	53.12	38.36	27.14	8.06	7.21	11.35
10	Caryophyllene	1435	5.42	8.07	6.26	6.49	7.07	11.01
11	Cyclododecane	1472	6.13	6.47	-	-	-	-
12	1,1-Diethoxydecane	1472	-	-	8.10	-	-	19.03
13	Germacrene D	1495	-	-	2.40	3.06	-	-
14	3,5-di-tert-butylphenol	1505	-	-	5.78	4.81	9.16	10.70
15	Dehydro-cyclolongifolene	1657	8.21	16.48	-	-	-	-
16	eupatoriochromene	1657	-	-	5.52	-	8.00	19.49
17	Neophytadiene	1834	2.88	5.30	4.71	5.09	6.08	-
18	Ethyl hexadecanoate	1989	5.80	13.24	4.62	-	5.61	28.43

^a Retention indices calculated based on n-alkane standard (C10-C20)

A: 1st petroleum ether
extraction

B: 2nd petroleum ether
extraction

C: 1st acetone
extraction

D: 2nd acetone
extraction

E: 1st ethanol
extraction

F: 2nd ethanol
extraction

4.2. ประสิทธิภาพของสารสกัดเพื่อประเมินคุณสมบัติการเป็นสาร antibacterial ของชะครามและผักแพว

4.2.1 Disc diffusion assay

จากการทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสาร antibacterial ของสารสกัดชะครามและผักแพวโดยใช้วิธี disc diffusion โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย 4 สายพันธุ์คือ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. และ *Bacillus cereus* แสดงในตาราง 4.7 พบว่าสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากการกลั่นด้วยไอน้ำของตัวอย่างแห้งมีประสิทธิภาพในการเป็นสาร antibacterial ต่อเชื้อแบคทีเรียชนิด *S. aureus* สูงที่สุด โดยสารสกัดจากผักแพวมีประสิทธิภาพในการเป็นสาร antibacterial สูงสุด ส่วนสารสกัดจากชะครามมีประสิทธิภาพในการเป็นสาร antibacterial ต่ำสุด ซึ่งสารสกัดจากพืชทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพสูงในการเป็นสาร antibacterial ชนิด gram positive bacteria ได้แก่ *S. aureus* และ *B. cereus* แต่มีประสิทธิภาพต่ำหรือไม่มีประสิทธิภาพในการเป็นสาร antibacterial ชนิด gram negative bacteria ได้แก่ *E. coli* และ *Salmonella* จะเห็นได้ว่า gram negative bacteria มีความคงทนกว่า gram positive bacteria เนื่องจากโครงสร้าง cell wall ของ gram negative bacteria มีทั้ง outer และ inner membrane ซึ่งซับซ้อนกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ cell membrane ของ gram positive bacteria (Anonymous, 1999) นอกจากนั้น gram negative bacteria มี lipopolysaccharide (LPS) ใน outer membrane โดยส่วนหนึ่งของ LPS เป็น O antigen ซึ่งมีคุณสมบัติต้านทานแอลกอฮอล์ (Pui และคณะ, 2011) โดยใน volatile compound มี hydroxyl group ได้แก่ eupatorichromene ที่เกิดการจับและทำให้เกิดการขัดขวางบน cell wall ของแบคทีเรีย

4.2.2 MIC value

จากการทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสาร antibacterial ของสารสกัดชะครามและผักแพวโดยมีค่า MIC แสดงดังตาราง 4.8 ซึ่งใช้ความเข้มข้นของสารสกัดอยู่ในช่วง 6.25-50.00 $\mu\text{L/mL}$ พบว่าสารสกัดผักแพวทั้งแบบสดและแบบแห้งจากการสกัดด้วย petroleum ether ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 ที่ความเข้มข้น 6.25 $\mu\text{L/mL}$ สามารถต้านทานเชื้อแบคทีเรียชนิด *S. aureus* ได้ โดยสารสกัดผักแพวทั้งสดและแห้งจากการกลั่นด้วยไอน้ำ สามารถต้านทานเชื้อแบคทีเรียชนิด gram positive bacteria ได้แก่ *S. aureus* และ *B. cereus* และ gram negative bacteria ได้แก่ *E. coli* และ *Salmonella* spp. มีค่า MIC เท่ากับ 6.25, 12.50, 12.50 และ 25 $\mu\text{L/mL}$

ตารางที่ 4.7 ประสิทธิภาพการเป็นสาร antibacterial ของสารสกัดชะครามและผักแพวโดยใช้วิธี disc diffusion assay

ชนิดพืช	วิธีการสกัด		Inhibition zone (mm)			
	ตัวทำละลาย	การสกัด	<i>S.aureus</i>	<i>B.cereus</i>	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i> <i>a spp.</i>
ชะคราม	การกลั่นด้วยไอน้ำ	ตัวอย่างแห้ง	nd*	nd*	nd*	nd*
		ตัวอย่างสด	nd*	nd*	nd*	nd*
	ethanol	การสกัดครั้งที่ 1	0	7	9	0
		การสกัดครั้งที่ 2	8	8	10	0
	petroleum ether	การสกัดครั้งที่ 1	8	8	0	0
		การสกัดครั้งที่ 2	7	7	0	0
	acetone	การสกัดครั้งที่ 1	8	6	9	0
		การสกัดครั้งที่ 2	8	7	8	0
	การกลั่นด้วยไอน้ำ	ตัวอย่างแห้ง	26	24	19	15
		ตัวอย่างสด	21	22	13	13
ผักแพว	ethanol	การสกัดครั้งที่ 1	12	18	0	8
		การสกัดครั้งที่ 2	12	15	8	10
	petroleum ether	การสกัดครั้งที่ 1	24	17	0	0
		การสกัดครั้งที่ 2	24	17	0	0
	acetone	การสกัดครั้งที่ 1	12	18	8	7
		การสกัดครั้งที่ 2	12	17	7	10
	DMSO		0	0	0	0
	(negative control)					
	Streptomycin (5mg/ml)		23	22	20	18
	(positive control)					

* nd : not detect

ตารางที่ 4.8 ค่า MIC ที่มีประสิทธิภาพการเป็นสาร antibacterial ของสารสกัดชะครามและผักแพว

ชนิดพืช	วิธีการสกัด		MIC value (µl/ml)			
	ตัวทำละลาย	การสกัด	<i>S.aureus</i>	<i>B.cereus</i>	<i>E.coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.
ชะคราม	การกลั่นด้วยไอน้ำ	ตัวอย่างแห้ง	nd*	nd*	nd*	nd*
		ตัวอย่างสด	nd*	nd*	nd*	nd*
	ethanol	การสกัดครั้งที่ 1	>50	>50	>50	>50
		การสกัดครั้งที่ 2	>50	>50	>50	>50
	petroleum ether	การสกัดครั้งที่ 1	>50	>50	>50	>50
		การสกัดครั้งที่ 2	>50	>50	>50	>50
	acetone	การสกัดครั้งที่ 1	>50	>50	>50	>50
		การสกัดครั้งที่ 2	>50	>50	>50	>50
ผักแพว	การกลั่นด้วยไอน้ำ	ตัวอย่างแห้ง	6.25	12.50	12.50	25.00
		ตัวอย่างสด	6.25	12.50	12.50	25.00
	ethanol	การสกัดครั้งที่ 1	25.00	25.00	>50	>50
		การสกัดครั้งที่ 2	25.00	25.00	>50	>50
	petroleum ether	การสกัดครั้งที่ 1	6.25	50.00	>50	>50
		การสกัดครั้งที่ 2	6.25	50.00	>50	>50
	acetone	การสกัดครั้งที่ 1	25.00	25.00	>50	>50
		การสกัดครั้งที่ 2	25.00	25.00	>50	>50

* nd : not detect

4.3. ประสิทธิภาพของสารสกัดเพื่อประเมินคุณสมบัติการเป็นสาร antioxidant ของชะครามและผักแพว

4.3.1. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay

ตาราง 4.9 แสดงผลการทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสาร antioxidant ของสารสกัดชะครามและผักแพว โดยใช้วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay พบว่าผักแพวที่สกัดด้วย ethanol ครั้งที่ 1 มีค่า % scavenging activity และ $\mu\text{mol}/\text{mg}$ Trolox Equivalent (TE) สูงสุดเท่ากับ 87.065% and 6.534 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ TE ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากผักแพวสดที่สกัดได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำมีค่า ค่า % scavenging activity และ $\mu\text{mol}/\text{mg}$ Trolox Equivalent (TE) ต่ำสุดเท่ากับ 1.891% และ 0.656 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ TE

4.3.2. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) assay

การทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสาร antioxidant ของสารสกัดชะครามและผักแพวโดยใช้วิธี 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) assay แสดงผลดังตารางที่ 4.10 พบว่าสารสกัดผักแพวที่สกัดด้วย ethanol ครั้งที่ 1 มีประสิทธิภาพการเป็นสาร antioxidant สูงที่สุดโดยมีค่า $\mu\text{mol}/\text{mg}$ Trolox Equivalent (TE) สูงสุดเท่ากับ 2.75 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ TE ส่วนสารสกัดชะครามที่สกัดด้วย petroleum ether ครั้งที่ 2 มีประสิทธิภาพการเป็นสาร antioxidant ต่ำที่สุดโดยมีค่า $\mu\text{mol}/\text{mg}$ Trolox Equivalent (TE) เท่ากับ 0.44 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ TE

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสาร antioxidant ทั้ง 2 วิธี ของสารสกัดชะครามและผักแพว ให้ผลสอดคล้องกัน การที่สารสกัดชะครามและผักแพว ที่สกัดด้วย ethanol มีประสิทธิภาพการเป็นสาร antioxidant สูงที่สุด สอดคล้องกับปริมาณ phenolic เนื่องจาก ethanol สามารถสกัดสาร phenolic ได้ปริมาณมาก ซึ่งสาร phenolic มีหมู่ OH ที่สามารถให้อิเลคตรอนกับอนุมูลอิสระ (free radicle)

ตารางที่ 4.9 ประสิทธิภาพการเป็นสาร antioxidant ของสารสกัดชะครามและผักแพวโดยใช้วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay

ชนิดพืช	วิธีการสกัด		antioxidant activity	
	ตัวทำละลาย	การสกัด	% scavenging	μmol/mg TE
ชะคราม	การกลั่นด้วยไอน้ำ	ตัวอย่างแห้ง	not detect	not detect
		ตัวอย่างสด	not detect	not detect
	ethanol	การสกัดครั้งที่ 1	39.269	3.247
		การสกัดครั้งที่ 2	35.332	2.947
	petroleum ether	การสกัดครั้งที่ 1	7.393	0.814
		การสกัดครั้งที่ 2	2.493	0.520
	acetone	การสกัดครั้งที่ 1	7.435	0.817
		การสกัดครั้งที่ 2	3.472	0.657
ผักแพว	การกลั่นด้วยไอน้ำ	ตัวอย่างแห้ง	2.778	0.719
		ตัวอย่างสด	1.891	0.656
	ethanol	การสกัดครั้งที่ 1	87.065	6.534
		การสกัดครั้งที่ 2	67.646	5.213
	petroleum ether	การสกัดครั้งที่ 1	4.903	0.809
		การสกัดครั้งที่ 2	5.234	0.770
	acetone	การสกัดครั้งที่ 1	63.757	4.889
		การสกัดครั้งที่ 2	64.102	4.802

ตารางที่ 4.10 ประสิทธิภาพการเป็นสาร antioxidant ของสารสกัดชะครามและผักแพวโดยใช้วิธี 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) assay

ชนิดพืช	วิธีการสกัด		$\mu\text{mol/mg TE}$
	ตัวทำละลาย	การสกัด	
ชะคราม	การกลั่นด้วยไอน้ำ	ตัวอย่างแห้ง	not detect
		ตัวอย่างสด	not detect
	ethanol	การสกัดครั้งที่ 1	1.65
		การสกัดครั้งที่ 2	1.61
	petroleum ether	การสกัดครั้งที่ 1	0.91
		การสกัดครั้งที่ 2	0.44
	acetone	การสกัดครั้งที่ 1	0.84
		การสกัดครั้งที่ 2	0.64
ผักแพว	การกลั่นด้วยไอน้ำ	ตัวอย่างแห้ง	0.50
		ตัวอย่างสด	0.58
	ethanol	การสกัดครั้งที่ 1	2.75
		การสกัดครั้งที่ 2	2.66
	petroleum ether	การสกัดครั้งที่ 1	0.73
		การสกัดครั้งที่ 2	0.52
	acetone	การสกัดครั้งที่ 1	2.48
		การสกัดครั้งที่ 2	2.55

4.4. ปริมาณ Total phenolic โดยการวิเคราะห์ด้วย Folin-ciocateau methods

ปริมาณ Total phenolic ของสารสกัดจากชะครามและผักแพว มีค่าอยู่ในช่วง 1.75-9.03 μg GAE/mg หรือ 0.88-4.50 mg/g ของสารสกัด (ตารางที่ 4.11) จากการสกัดด้วย ethanol ครั้งที่ 1 ของผักแพวพบว่า มีปริมาณ Total phenolic สูงที่สุด เท่ากับ 9.03 μg GAE/mg ซึ่งปริมาณต่ำกว่างานวิจัยก่อนหน้านี้โดย รายงานว่าผักแพวมีปริมาณ Total phenolic เท่ากับ 52.0 μg GAE/mg ของตัวอย่างแห้ง อาจเป็นเพราะวิธีการสกัดแตกต่างกัน โดยงานวิจัยก่อนหน้านี้ใช้ freeze drying method ในการทำให้ตัวอย่างพืชแห้ง แต่ในงานวิจัยนี้ใช้ oven drying ซึ่งอาจทำให้ phenolic compounds สูญเสียหรือสลายตัวไปในขั้นตอนนี้ ส่วนในกรณีลักษณะของตัวอย่างที่นำมาใช้สกัดโดยจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้อธิบายว่าพื้นที่ผิวสัมผัสของ ตัวอย่างที่เป็นลักษณะผงมีพื้นที่มากกว่าลักษณะที่หั่นเป็นชิ้น ซึ่งพื้นที่ผิวสัมผัสมากทำให้เพิ่มความสามารถในการสกัดมากขึ้น นอกจากนั้นกระบวนการล้าง wax เพื่อให้ได้สารสกัดที่เป็น absolute อาจทำให้เกิดการสูญเสีย phenolic compounds ในกระบวนการนี้ด้วย (Nanasombat และ Tekchuen, 2009)

ตารางที่ 4.11 ปริมาณ total phenolic ของสารสกัดจากชะครามและผักแพวโดยการกลั่นด้วยไอน้ำของตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง และการสกัดด้วยตัวทำละลาย โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-ciocateau

ชนิดพืช	วิธีการสกัด		ปริมาณ total phenolic	
	ตัวทำละลาย	การสกัด	µg GAE/mg	mg/g plant extract
ชะคราม	การกลั่นด้วยไอน้ำ	ตัวอย่างแห้ง	not detect	not detect
		ตัวอย่างสด	not detect	not detect
	ethanol	การสกัดครั้งที่ 1	4.44	2.22
		การสกัดครั้งที่ 2	4.35	2.18
	petroleum ether	การสกัดครั้งที่ 1	1.92	0.97
		การสกัดครั้งที่ 2	0.99	0.50
	acetone	การสกัดครั้งที่ 1	2.05	1.03
		การสกัดครั้งที่ 2	1.41	0.71
	การกลั่นด้วยไอน้ำ	ตัวอย่างแห้ง	3.27	1.62
		ตัวอย่างสด	3.55	1.77
ผักแพว	ethanol	การสกัดครั้งที่ 1	9.03	4.50
		การสกัดครั้งที่ 2	6.84	3.41
	petroleum ether	การสกัดครั้งที่ 1	2.59	1.28
		การสกัดครั้งที่ 2	2.79	1.38
	acetone	การสกัดครั้งที่ 1	6.17	3.07
		การสกัดครั้งที่ 2	6.54	3.26