สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ๒๔๗๗

# รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของฝาง

**The Study of Chemical Components of *Caesalpinia sappan* L.**

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ: การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสมุนไพร ชา และสีผสมอาหารจากฝาง : พืชสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ

**The Study of Chemical Components, Product Development of Herbal Drink, Tea and Food Coloring from *Caesalpinia sappan* L.: Medicinal Plants Listed in the National Essential Medicine**

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี2559

จำนวน 223,200 บาท

หัวหน้าโครงการ รุ่งทิพย์ กาวารี

ผู้ร่วมโครงการ ภาวิณี อารีศรีสม

นรินทร์ ท้าวแก่นจันทร์

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

9/พ.ค./2560

MAEJO UNIVERSITY

# กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของฝาง (The Study of Chemical Components of *Caesalpinia sappan* L.) สำเร็จลุล่วงโดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2559 ผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ที่อนุเคราะห์เรื่องสถานที่ และเครื่องมือบางอย่างที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยให้เสร็จสิ้นสมบูรณ์

รุ่งทิพย์ กาวารี

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| กิตติกรรมประกาศ | ก |
| สารบัญ | ข |
| สารบัญตาราง | ค |
| สารบัญภาพ | ง |
| บทคัดย่อ | 1 |
| Abstract | 2 |
| คำนำ | 3 |
| วัตถุประสงค์ของการวิจัย | 5 |
| ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 5 |
| การตรวจเอกสาร | 5 |
| งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง | 18 |
| อุปกรณ์และวิธีการวิจัย | 20 |
| วิธีดำเนินการวิจัย | 24 |
| ผลการวิจัยและวิจารณ์ | 31 |
| สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ | 55 |
| เอกสารอ้างอิง | 58 |


MAEJO UNIVERSITY

## สารบัญตาราง


| | | หน้า |
|---|---|---|
| ตารางที่ 1 | ผลของลักษณะสีตัวอย่างฝาง | 33 |
| ตารางที่ 2 | ผลร้อยละผลผลิตของสารสกัดตัวอย่างฝางด้วยตัวทำละลายเฮกเซน | 36 |
| ตารางที่ 3 | ผลร้อยละผลผลิตของสารสกัดตัวอย่างฝางด้วยตัวทำละลายเอทานอล | 37 |
| ตารางที่ 4 | แสดงองค์ประกอบทางเคมี และปริมาณขององค์ประกอบในสารสกัดเฮกเซนส่วนเปลือก | 38 |
| ตารางที่ 5 | แสดงองค์ประกอบทางเคมี และปริมาณขององค์ประกอบในสารสกัดเฮกเซนส่วนเนื้อไม้ | 40 |
| ตารางที่ 6 | องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณขององค์ประกอบในสารสกัดเฮกเซนส่วนแก่น | 42 |
| ตารางที่ 7 | องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณขององค์ประกอบในสารสกัดเฮกเซนส่วนใบ กิ่งใบ ฝัก และเมล็ด | 44 |
| ตารางที่ 8 | ผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดส่วนเอทานอล | 48 |
| ตารางที่ 9 | ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารมาตรฐานวิตามินซี | 50 |
| ตารางที่ 10 | ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดฝาง | 51 |
| ตารางที่ 11 | บริเวณการยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ของสารสกัดจากฝางส่วนเอทานอล | 53 |
| ตารางที่ 12 | ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากฝางส่วนเอทานอล | 54 |


MAEJO UNIVERSITY

# สารบัญภาพ


| | | หน้า |
|---|---|---|
| ภาพที่ 1 | ลักษณะของต้นฝาง | 31 |
| ภาพที่ 2 | รากของฝาง | 32 |
| ภาพที่ 3 | ลำต้นของฝางส่วนที่ 1 | 32 |
| ภาพที่ 4 | ลำต้นของฝางส่วนที่ 2 | 32 |
| ภาพที่ 5 | ลำต้นของฝางส่วนที่ 3 | 32 |
| ภาพที่ 6 | กิ่งต้นของฝาง | 32 |
| ภาพที่ 7 | ใบของฝาง | 32 |
| ภาพที่ 8 | ใบย่อยของฝาง | 32 |
| ภาพที่ 9 | กิ่งใบของฝาง | 32 |
| ภาพที่ 10 | ฝักของฝาง | 32 |
| ภาพที่ 11 | เปลือกผล | 32 |
| ภาพที่ 12 | เมล็ดของฝาง | 32 |
| ภาพที่ 13 | ลักษณะของตัวอย่างฝางส่วนต่างๆ | 34 |
| ภาพที่ 14 | ลักษณะสารสกัดส่วนเฮกเซน | 36 |
| ภาพที่ 15 | ลักษณะสารสกัดส่วนเอทานอล | 37 |
| ภาพที่ 16 | กราฟมาตรฐานของวิตามินซี | 50 |

# การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของฝาง

## The Study of Chemical Components of *Caesalpinia sappan* L.

**รุ่งทิพย์ กาวารี [1*] ภาวิณี อารีศรีสม [2] และนรินทร์ ท้าวแก่นจันทร์ [2]**

**Rungthip Kawaree [1*] Pawinee Arereesrisom [2] and Narin Thaokhenchan [2]**

[1] คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

[2] คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ 50290

.................................................

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจากฝาง โดยนำตัวอย่างฝางจำนวน 19 ส่วน มาสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนแล้ววิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีส่วนน้ำมันด้วยเทคนิค GC-MS นำส่วนกากที่เหลือมาสกัดต่อด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 95% แล้ววิเคราะห์หากลุ่มขององค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นด้วยปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีหรือการตกตะกอน และทำการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS assay และศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจำนวน 8 สายพันธุ์ คือ *Listeria monocytogenes* DMST 17303 *Bacillus cereus* DMST 5040 *Staphylococcus aureus* DMST 8840 *Salmonella Typhi* DMST 5784 *Salmonella enteritidis group B* *Shigella sonnei* *Escherichia coli* DMST 4212 และ*Vibrio parahaemolyticus* ด้วยวิธี disc diffusion

จากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีส่วนน้ำมันด้วยเทคนิค GC-MS พบว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นสารประกอบประเภทเทอร์ปีน และเทอร์ปีนอยด์ ส่วนกลุ่มขององค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดเอทานอล พบว่า สารสกัดส่วนเปลือก เนื้อไม้ ใบ เปลือกผล และเมล็ด พบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ สารสกัดส่วนแก่น พบสารกลุ่มสเตอรอล แอนโทรไซยานิน และกลุ่มแทนนินและฟีนอลิก ในการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดเอทานอล พบว่า สารสกัดส่วนแก่นรากมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงที่สุด โดย 1 มิลลิกรัมตัวอย่างมีฤทธิ์เทียบเท่าวิตามินซี เท่ากับ 0.68 $\pm$0.11 มิลลิกรัมวิตามินซี การศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย พบว่า สารสกัดส่วนแก่นรากมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 8840 ได้ดีที่สุด วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยังยั้งได้ 31.2$\pm$0.6 มิลลิเมตร มีค่า MIC เท่ากับ 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า MBC เท่ากับ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการศึกษาข้างต้นสารสกัดเอทานอลจากส่วนแก่นของฝางพบสารกลุ่มสเตอรอล แอนโทรไซยานิน และกลุ่มแทนนินและฟีนอลิก และมีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดส่วนอื่นๆ สามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไปได้

คำสำคัญ : องค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฝาง

**Abstract**

The objectives of this research were to study the chemical components, antioxidant and antibacterial activities of the extracts from *Caesalpinia sappan* L. 19 samples were extract oil fraction by hexane and analyzed the chemical components by GC-MS. The residues were extract by 95% ethanol and analyzed the chemical components with changes color reaction or precipitation. Antioxidant activity studied by ABTS assay. Furthermore, antibacterial activity was determined by disc diffusion method using 5 species : *Listeria monocytogenes* DMST 17303, *Bacillus cereus* DMST 5040, *Staphylococcus aureus* DMST 8840, *Salmonella Typhi* DMST 5784, *Salmonella enteritidis group B, Shigella sonnei*, *Escherichia coli* DMST 4212 and *Vibrio parahaemolyticus*.

The study was found that, hexane extracts from 19 parts were found the main to contain terpene and terpenoid compounds. The 95% ethanol extracts from bark, wood, leave, fruit walls and seed contain alkaloids group. The 95% ethanol extracts from heartwood contain sterol glycosides, flavonoid, tannin and phenolic group. The antioxidant activity showed that the root heartwood extract has an antioxidation high of 0.68 $\pm$0.11 mg of vitamin C per 1 mg of sample. The antibacterial activity showed that the root heartwood extract showed the most inhibition on the growth of *Staphylococcus aureus* DMST 8840 with the clear zones of inhibition of 31.2$\pm$0.6 mm. Minimum inhibitory concentration (MIC) values was 0.06 mg/ml and minimum bactericidal concentration (MBC) values was 2 mg/ml. Moreover, The study showed that the extracts from root heartwood could provide the basis of anti-bacterial and anti-oxidant products in the future.

keywords : chemical components, antibacterial activity, antioxidant activity, *Caesalpinia sappan* L.

# คำนำ

## ความสำคัญของปัญหา

จากปัญหาอุปสรรคที่เกี่ยวข้องกับการใช้ยาจากสมุนไพรในปัจจุบัน ทำให้มีแนวคิดเรื่องการพัฒนาบัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2551 ขึ้น โดยมีปรัชญา คือ เพื่อเป็นการฟื้นฟูและส่งเสริมการใช้ภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทยและสมุนไพรในระบบสุขภาพแห่งชาติ การจัดทำบัญชียาจากสมุนไพรจึงมุ่งคัดเลือกยาจากสมุนไพรที่มีข้อบ่งใช้ชัดเจนในการแก้ปัญหาสุขภาพของชาวไทย สำหรับป้องกันโรคหรือรักษาผู้ป่วยของแพทย์แผนไทย หรือใช้เป็นทางเลือกในการป้องกันหรือรักษาผู้ป่วยร่วมกับการรักษาแบบตะวันตกในสถานพยาบาล และการสาธารณสุขมูลฐาน โดยต้องมีหลักประกันด้านคุณภาพ ประสิทธิผล และความปลอดภัย (ตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลก) การพัฒนาบัญชียาหลักแห่งชาติ มีหลักการที่สำคัญข้อหนึ่งกำหนดไว้ว่า บัญชียาจากสมุนไพรจะเกิดประโยชน์อย่างสูงสุดก็ต่อเมื่อมีการพัฒนามาตรการด้านอื่น ๆ ควบคู่ไปด้วย เพื่อให้เกิดการพัฒนาที่ครบวงจร

สมุนไพรสำหรับงานสาธารณสุขมูลฐานส่วนใหญ่เป็นพืชสมุนไพร พืช หรือ ต้นไม้ มีองค์ประกอบสำคัญ 5 ส่วน คือ ราก ลำต้น ใบ ดอก และผล ส่วนของพืชเหล่านี้มีรูปร่าง ลักษณะโครงสร้าง และบทบาทต่อพืชที่แตกต่างกัน การนำสมุนไพรมาใช้เป็นยาต้องคำนึงถึงธรรมชาติของสมุนไพรแต่ละชนิด พันธุ์สมุนไพร ชื่อสามัญ ชื่อท้องถิ่น ชื่อวิทยาศาสตร์ สภาวะแวดล้อมในการปลูก ฤดูกาล และช่วงเวลาที่เก็บสมุนไพร นับเป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดคุณภาพของสมุนไพร และสิ่งสำคัญ คือ ต้องมีการตรวจสอบเอกลักษณ์ว่าใช่สมุนไพรที่ต้องการ การเก็บตัวอย่างในระยะเวลาที่เหมาะสม ระวังการปนเปื้อน ระวังเรื่องพืชเป็นโรค และการตากสมุนไพรต้องไม่ใช้อุณหภูมิสูงเกินไป ระวังเรื่องการเก็บรักษาให้สะอาด แห้ง การระบายดี และ ป้องกันเชื้อรา การนำสมุนไพรไปใช้ให้เกิดประโยชน์อย่างเหมาะสมจึงอาจจะไม่ได้เกิดจากสารสำคัญเพียงชนิดเดียว แต่เกิดจากการทำงานหรือเกิดจากการออกฤทธิ์ของสารประกอบหลายชนิดร่วมกัน ถ้าสมุนไพรที่ใช้ไม่ใช่พืชอาหารควรต้องดูหลักฐานว่าปลอดภัยหรือไม่ โดยพิจารณาดูจากการทดสอบความเป็นพิษ ขนาดที่ใช้ และระยะเวลาที่ปลอดภัยก่อนนำสัตว์สู่ผู้บริโภค (ประสาทพร และคณะ, 2551)

ในกระบวนการสกัดสมุนไพรมีสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึง คือ ควรทราบว่าตัวทำละลายชนิดใดที่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการสกัดเพื่อให้ได้สารสำคัญที่สนใจในปริมาณมาก และที่สำคัญไปกว่านั้นคือต้องสามารถกำจัดตัวทำละลายดังกล่าวออกจากสารสกัดสมุนไพรจนหมด หรือ เหลือตกค้างน้อยที่สุด และควรเป็นกรรมวิธีที่มีผลทำให้เกิดการสูญเสียสารออกฤทธิ์น้อยที่สุดด้วย ตัวอย่างการสกัดสมุนไพร เช่น การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอทานอล (ประสาทพร และคณะ, 2551)

โดยทั้งนี้ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ได้เริ่มดำเนินการ โครงการอนุรักษ์ศึกษาและพัฒนาบ้านโปงขึ้นในปี พ.ศ. 2534 เพื่ออนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติให้เป็นไปตามพระราชดำริ และในปี พ.ศ. 2537 มหาวิทยาลัยแม่โจ้ได้ร่วมสนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี โดยจัดพื้นที่บางส่วนของโครงการอนุรักษ์ศึกษาและพัฒนาบ้านโปง เพื่อวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพ การอนุรักษ์ภูมิปัญญาชาวบ้าน และการใช้ประโยชน์จากพืช

จากการดำเนินงานสนองพระราชดำริในโครงการฯ ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ที่ผ่านมา พบว่า **ฝาง** ซึ่งเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็กหรือไม้พุ่มรอเลื้อย สูงประมาณ 8-10 เมตร มีหนามแข็ง ทั่วทั้งลำต้น ผลัดใบและผลิใบไว เปลือกนอกสีเทาออกเหลือง สามารถขยายพันธุ์ได้ง่ายโดยการเพาะเมล็ด จัดเป็นพืชสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติกลุ่มยาแผนไทยหรือยาแผนโบราณที่รักษากลุ่มอาการทางระบบไหลเวียนโลหิต

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่าฝางมีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ขยายหลอดเลือด ฤทธิ์ยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์ และฤทธิ์ยับยั้งการสะสมของไขมันบริเวณหลอดเลือด ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลภูมิปัญญาที่กล่าวว่า คนไทยรู้จักใช้แก่นและเนื้อไม้ฝางซึ่งมีสีเหลืองอมส้ม ย้อมผ้าฝ้าย และผ้าไหม ให้เป็นสีแดงอย่างสวยงามมาแต่โบราณ ตำรายาไทยใช้แก่นฝางเป็นยาบำรุงโลหิต ขับประจำเดือน ใช้เป็นยาภายนอกรักษาน้ำกัดเท้าและแก้คุดทะราด

ปัจจุบันมีการนำสมุนไพรที่มีจำนวนมากและหลากหลายชนิดมาทำการวิจัยและประยุกต์ใช้แทนยาปฏิชีวนะเพื่อช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพและเพิ่มมูลค่าให้กับสมุนไพรนั้นๆ นอกจากนี้ยังได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในการหาสารเคมีที่มีอยู่ในพืชสมุนไพรเพื่อที่จะนำตัวยาที่ค้นพบมาผลิตเป็นยาตัวใหม่เพื่อใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะ หรือนำไปเป็นข้อมูลเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ ต่อไป

สารสกัดจากพืชสมุนไพรมีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และความเป็นพิษต่อเซลล์ เป็นต้น ดังนั้นก่อนนำสารสกัดมาใช้จำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยเพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่ชัดเจนและเชื่อถือได้ว่าในสารสกัดเหล่านั้นมีองค์ประกอบของสารตัวใดบ้าง เพื่อเป็นข้อมูลยืนยันถึงฤทธิ์ของสารสกัดเหล่านั้น องค์ประกอบของสารสกัดมีส่วนเกี่ยวข้องอย่างมากต่อความเข้ากันได้หรือไม่ได้กับตัวยา หรือองค์ประกอบอื่นๆ ในสูตรตำรับผลิตภัณฑ์เป็นตัวบ่งชี้ถึงความคงสภาพของสารสกัด นำไปสู่ความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นมาด้วย ฝางเป็นพืชสมุนไพรชนิดหนึ่งที่ได้รับความสนใจในการทดสอบและศึกษาฤทธิ์ แม้ว่าจะมีรายงานการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับฝางมาก่อนหน้านี้บ้าง แต่ในงานวิจัยส่วนใหญ่ยังไม่ได้ศึกษาฝางให้ครบทุกส่วนของต้น ดังนั้นในการศึกษานี้จึงจะทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของฝาง การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อนำข้อมูลพื้นฐานที่ได้นี้ไปประยุกต์ใช้เพื่อทำผลิตภัณฑ์ เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับฝางอย่างยั่งยืนต่อไป

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาวิจัย พัฒนาศักยภาพของฝางให้เกิดแนวทางการใช้ประโยชน์สูงสุดของมหาวิทยาลัย และชุมชน

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาศักยภาพของฝาง
2. ทราบข้อมูลปริมาณสารสกัด และองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากส่วนต่างๆ ของฝาง
3. สามารถใช้เป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยค้นหาสารชนิดใหม่จากธรรมชาติที่ไม่เป็นอันตราย
4. ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ของพืชสมุนไพรในการพัฒนาสารสกัดและผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

## การตรวจเอกสาร

### ฝาง

ฝาง มีชื่อสามัญว่า Sappan หรือ Sappan tree มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Caesalpinia sappan* Linn. มีชื่อพ้องวิทยาศาสตร์ว่า *Biancaea sappan* (L.) Tod. จัดอยู่ในวงศ์ถั่ว Fabaceae หรือ Leguminosae – Caesalpinioideae และอยู่ในวงศ์ย่อยราชพฤกษ์ Caesalpinioide หรือ Caesalpiniaceae มีชื่อท้องถิ่นอื่นๆ ว่า ขวาง, ฝางแดง,หนามโค้ง (แพร่), ฝางส้ม (กาญจนบุรี), ฝางเสน (ทั่วไป, กรุงเทพฯ, ภาคกลาง), ง้าย (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน), ลำฝาง (ลั้วะ), สะมั่วะ (เมี่ยน), โซปั้ก (จีน), ซูมู่ ซูฟังมู่ (จีนกลาง) เป็นต้น

### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ฝางเป็นไม้ต้นขนาดเล็กหรือไม้พุ่มรอเลื้อย สูง 8-10 เมตร มีหนามแข็งๆ ทั่วทั้งลำต้น ผลัดใบและผลิใบไว จะแตกกิ่งแขนงชิดพื้นดิน เลื้อยพาดเกาะไม้อื่นไปได้ถึง 10 เมตร เปลือกนอกสีเทาออกเหลือง มีปมใหญ่ขนาดปลายนิ้วชี้ทั่วทั้งเถา ส่วนปลายกิ่งจะมีหนามแหลมสีดำ ถ้าปมหนามหลุดจะเป็นรอยแผลเป็น ฝางมี 2 ชนิด ชนิดหนึ่งแก่นสีแดงเข้มเรียกว่า ฝางเสน อีกชนิดหนึ่งแก่นสีเหลืองเรียกว่า ฝางส้ม

### การใช้ประโยชน์ทางด้านสมุนไพร

เนื้อไม้และแก่นฝางมีรสขมฝาด **แก่น** ใช้บำรุงโลหิตสตรี แก้ปอดพิการขับหนอง แก้คุดทะราด ทำให้โลหิตเย็น แก้โลหิตออกทางทวารหนักและทวารเบา แก้เลือดกำเดา แก้โรคท้องร่วง แก้ไข้สำปะชวร แก้

ไอ รักษาโรคผิวหนังบางชนิด แก้ธาตุพิการ แก้ร้อนแก้เสมหะ รักษามะเร็งเพลิง คุมกำเนิด แก้ไข้ แก้สะอึก แก้หอบ แก้ช้ำ ฟอกโลหิต **เนื้อไม้** แก้ท้องเสีย แก้บิด ทำให้ประจำเดือนมาตามปกติ แก้ไข้ รักษาโรคทั่วไป เช่น โรคเกิดจากเสมหะ เป็นยาขับระดูอย่างแรง แก้เลือดตกหนัก **ไม่ระบุส่วนที่ใช้** ขับหนอง รักษาอาโปธาตุไม่ให้ร้อน บำรุงโลหิต แก้ปอดพิการ แก้ลม แก้เสมหะ แก้ดีพิการ ขับเลือด แก้คุดทะราด แก้มุตกิตระดูขาว แก้คุดทะราด แก้ธาตุพิการ แก้ร้อน แก้โลหิตตกทางทวารหนักและทวารเบา

**การใช้ประโยชน์ทางด้านอื่นๆ**

เนื้อไม้หรือแก่นไม้ให้สีแดง มีสาร sappanin ซึ่งเป็นสารให้สีประเภท brazilin ใช้ทำน้ำยาอุทัยผสมน้ำดื่ม กลิ่นหอมชื่นใจแก้กระหายน้ำ สีผสมอาหาร และชาวบ้านนิยมนำมาย้อมสีผ้าไหม ผ้าฝ้ายและผ้าขนสัตว์ สาร haematexylin ใช้ย้อมสี Nuclei ของเซลล์ **ผล**ให้สีดำ **ราก**ให้สีเหลือง เปลือกต้นและเปลือกผลมีสารแทนนินสูงให้น้ำฝาดชนิด pyrogallol และ catechol สีจากเปลือกต้นและเปลือกผลใช้เป็นสีใส่อาหารและเครื่องดื่ม

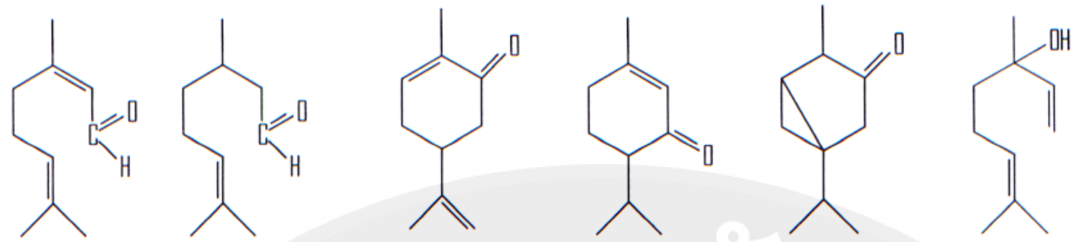
**องค์ประกอบทางเคมี**

สารประกอบทางเคมีที่เป็นตัวยาสำคัญในพืชสมุนไพร จำแนกได้เป็น 2 พวกใหญ่ๆ คือ

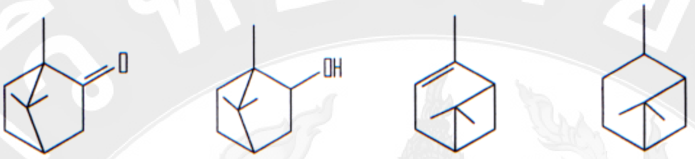
1. **สารปฐมภูมิ (primary metabolite)** เป็นสารที่มีอยู่ในพืชชั้นสูงทั่วไป พบในพืชเกือบทุกชนิด เป็นผลิตผลที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) เช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน เม็ดสี (pigments) และเกลืออนินทรีย์ (inorganic salts) เป็นต้น สารบางตัวก็มีสรรพคุณทางยา ออกฤทธิ์ในการรักษาได้

2. **สารทุติยภูมิ (secondary metabolite)** เป็นสารประกอบที่มีลักษณะค่อนข้างพิเศษ พบต่างกันในพืชแต่ละชนิด คาดว่าสารเหล่านี้เกิดจากกระบวนการชีวะสังเคราะห์ (biosynthesis) ในพืชที่มีเอนไซม์ (enzyme) เข้าร่วม ส่วนใหญ่จะสรรพคุณทางยา หรือออกฤทธิ์เป็นสารพิษที่เห็นได้ชัดเจน ตัวอย่างสารทุติยภูมิที่สำคัญได้แก่

- **น้ำมันหอมระเหย (Volatile oil หรือ Essential oil)** เป็นสารที่มีอยู่ในพืช มีลักษณะเป็นน้ำมันที่ได้จากการกลั่นตัวด้วยไอน้ำ (steam distillation) มีกลิ่นรสเฉพาะตัว ระเหยได้ง่ายในอุณหภูมิปกติ เบากว่าน้ำ น้ำมันนี้เป็นส่วนผสมของสารเคมีหลายชนิด มักเป็นส่วนประกอบของพืชสมุนไพรที่เป็นเครื่องเทศ คุณสมบัติทางเภสัชวิทยา มักเป็นด้านขับลมและฆ่าเชื้อโรคและเชื้อรา (flatulence และ antibacterial, antifungal) พบในพืชสมุนไพร เช่น กระเทียม ขิง ข่า ตะไคร้ มะกรูด ไพร ขมิ้น เป็นต้น



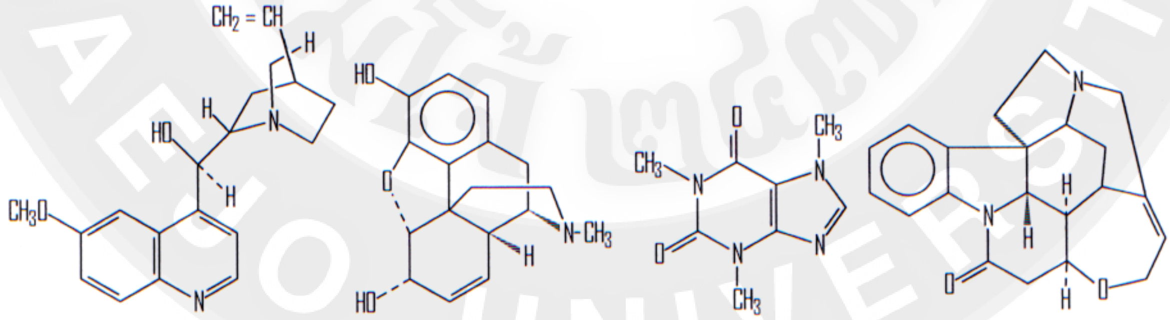
citral citronellal carvone piperitone thujone linalool



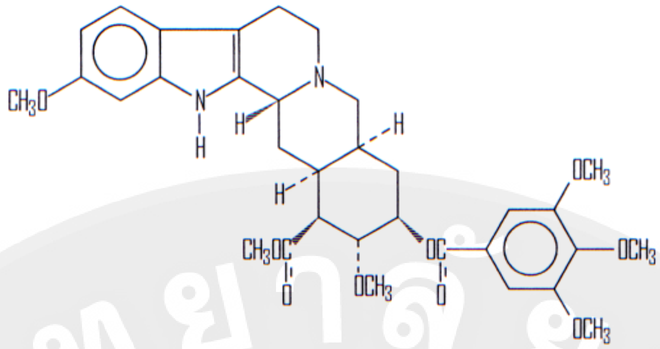
camphor borneol alpha-pinene beta-pinene

**ตัวอย่าง โครงสร้างของสารสำคัญในกลุ่มของน้ำมันหอมระเหย**

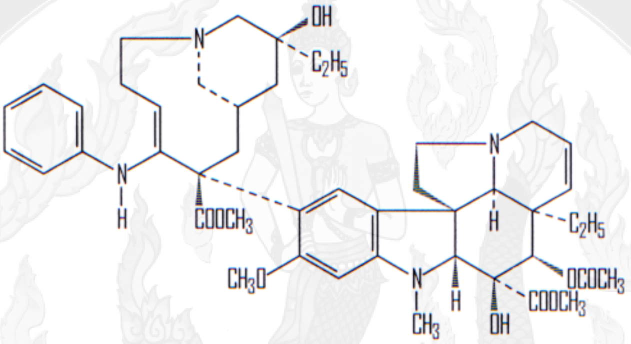
- **แอลคาลอยด์ (Alkaloid)** เป็นสารอินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นด่าง และมีไนโตรเจน (nitrogen) เป็นส่วนประกอบ มีรสขม ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำลายอินทรีย์ (organic solvent) เป็นสารที่พบมากในพืชสมุนไพร แต่ปริมาณสารจะต่างกันไปตามฤดูกาล สารประเภทนี้จะมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในหลายระบบ ตัวอย่างเช่น reserpine ในรากระย่อม สรรพคุณลดความดันเลือด สาร quinine ในเปลือกต้นซิงโคนา (cinchona) มีสรรพคุณรักษาโรคมาเลเรีย และสาร morphine ในยางของผลฝิ่น มีสรรพคุณระงับอาการปวด เป็นต้น



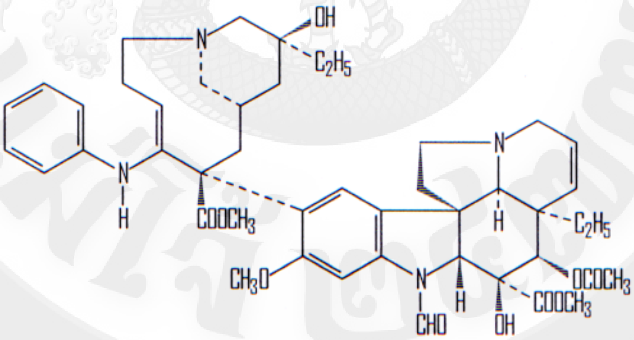
quinine morphine caffeine strychnine



reserpine



vinblastine

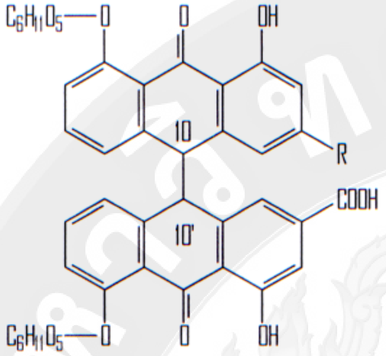


vincristine

**ตัวอย่างโครงสร้างของสารสำคัญในกลุ่มของแอลคอลอยด์**

- **ไกลโคไซด์ (Glycoside)** เป็นสารประกอบที่พบมากในพืชสมุนไพร มีโครงสร้างแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นน้ำตาล กับส่วนที่ไม่ได้เป็นน้ำตาล ที่เรียกชื่อว่า aglycone (หรือ genin) การที่มีน้ำตาลทำให้สารนี้ละลายน้ำได้ดี ส่วน aglycone เป็นสารอินทรีย์ ซึ่งมีสูตรโครงสร้างและเภสัชวิทยาแตกต่างกันไป และส่วนนี้เองที่ทำให้คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของไกลโคไซด์แตกต่างกันไป และทำให้แบ่งไกลโคไซด์ได้เป็นหลายประเภท เช่น

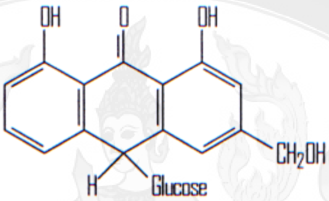
• **แอนทราซีน หรือ แอนทราควิโนน (Anthracene หรือ Antraquinone glycoside)** เป็นกลุ่มสารที่ออกฤทธิ์เป็นยาถ่ายและยาระบาย ตัวอย่างเช่น สารเซนโนไซด์ (sennosides) ในใบและฝักมะขามแขก สารอะโล-อีโมดิน (aloe-emodm) ในโกฐน้ำเต้าและฝักคูน สารบาบาโลอิน (barbaloin) ในเปลือกใบว่านหางจระเข้ เป็นต้น



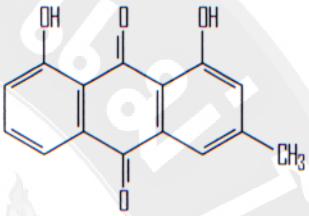

R 10-10'

sennoside A COOH *trans*

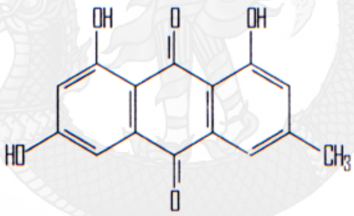
sennoside B COOH *meso*




aloin



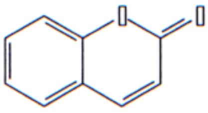

chrysophanol



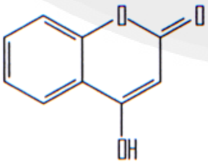

emodin

**ตัวอย่างโครงสร้างของสารสำคัญในกลุ่มของแอนทราควิโนน**

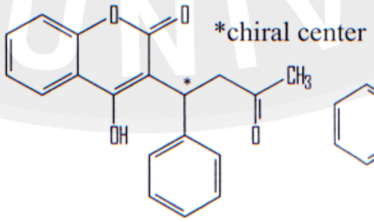
• **คูมาริน (Coumarin glycoside)** เป็นสารที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น benzo-pyrone หรือ phenylpropanoid lactone หรือ benzopyran-2-one



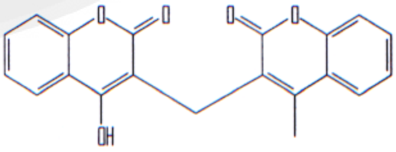
coumarin



4-hydroxycoumarin



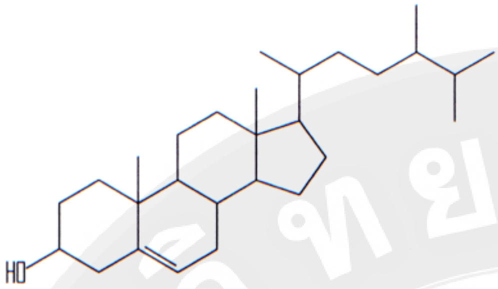

warfain



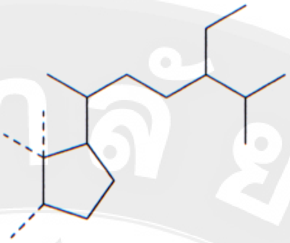
bishydroxycoumarin

**ตัวอย่างโครงสร้างของสารสำคัญในกลุ่มของคูมาริน**

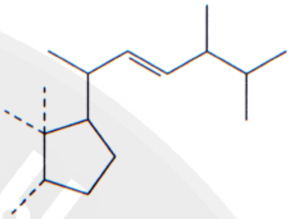
• **สเตอรอล (Sterol glycoside)** steryl glycosides (SG) และ acyl steryl glycosides (ASG) เป็นอนุพันธ์หลักของ sterols



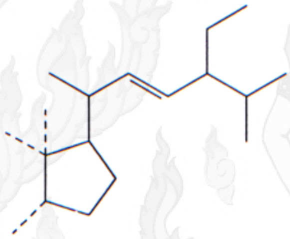

campesterol



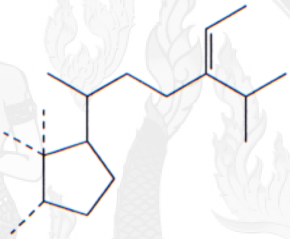
sitosterol



brassicasterol



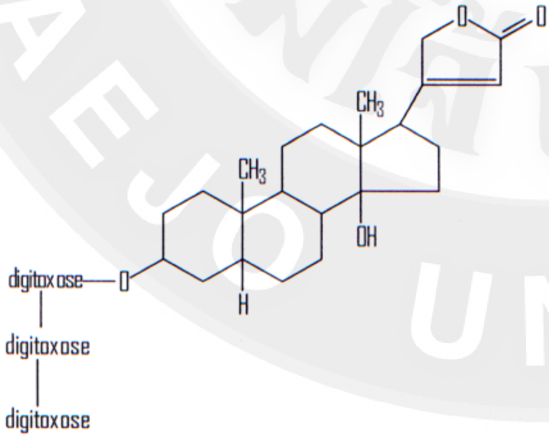
stigmasterol



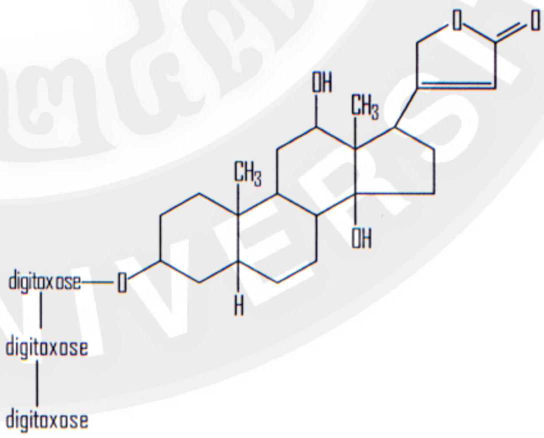
avenasterol

**ตัวอย่างโครงสร้างของสารสำคัญในกลุ่มของสเตอรอล**

• **คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiac glycoside)** เป็นไกลโคไซด์ ที่ออกฤทธิ์ต่อกล้ามเนื้อหัวใจ เช่น digitoxin และ digoxin ใช้เป็นยาบำรุงหัวใจ



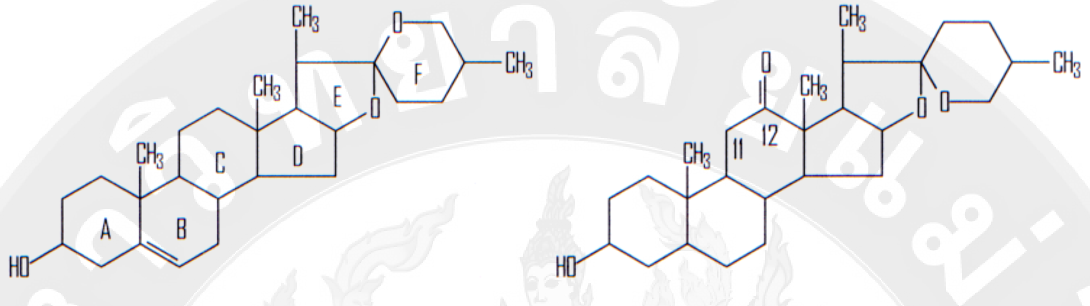

digitoxin




digoxin

**ตัวอย่างโครงสร้างของสารสำคัญในกลุ่มของคาร์ดิแอกไกลโคไซด์**

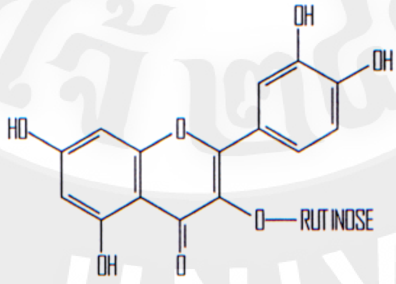
• **ซาโปนิน (Saponin glycoside)** เป็นสารที่ทำให้เกิดฟองเมื่อเขย่ากับน้ำ เป็นสารที่ลดแรงตึงผิวที่ดี และมีคุณสมบัติทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้ สารในกลุ่มนี้ใช้ประโยชน์เป็นสารชะล้างแทนสบู่ได้ ใช้เป็นสารพ่นดับไฟ ใช้เป็นยาเบื่อปลา และประโยชน์ที่สำคัญที่สุดคือ ใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ยาจำพวกสเตียรอยด์ ฮอร์โมน (steroid hormones)




diosgenin hecogenin

**ตัวอย่างโครงสร้างของสารสำคัญในกลุ่มของของซาโปนิน**

• **ฟลาโวนอยด์ (Flavonol glycoside หรือ Flavonoids)** เป็นสารมีสี (pigments) ที่พบในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น กลีบดอก กลีบเลี้ยง ใบไม้ ผลไม้ เป็นต้น สารนี้แบ่งออกได้เป็นหลายชนิด เช่น ในดอกไม้สีเหลือง มักจะพบสารจำพวก ฟลาโวนส์ (flavones) ฟลาโวนอล (flavonols) ชาลโคนส์ (chalcones) หรือ ออโรนส์ (aurones) ในดอกไม้สีแดง ม่วง น้ำเงิน มักจะพบสารจำพวกแอนโธไซยานินส์ (anthocyanins) สารฟลาโวนอยด์หลายชนิดใช้เป็นยาได้ เช่น รูทิน (rutin) ใช้รักษา โรคเส้นโลหิตฝอยเปราะบางชนิดใช้ฆ่าแมลง แก้อักเสบ ขับปัสสาวะ เป็นต้น

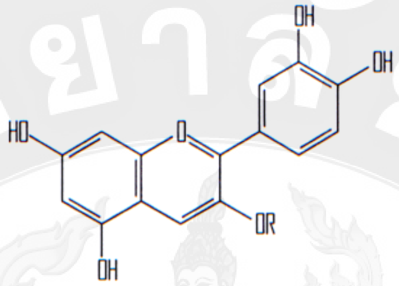



rutin (buckwheat)

**ตัวอย่างโครงสร้างของสารสำคัญในกลุ่มของฟลาโวนอยด์**

• **แอนโทรไซยานิน (Anthocyanin)** จัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) กลุ่มพอลิฟีนอล (polyphenol) เป็นรงควัตถุหรือสารสี (pigment) ที่ให้สีแดง ม่วง และน้ำเงิน ใช้เป็นสารให้สี (coloring agent) ธรรมชาติในอาหาร สารสกัดแอนโทไซยานิน มีสมบัติเป็นโภชนะเภสัช

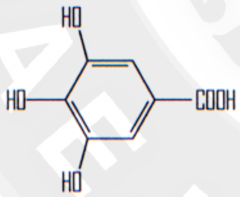
(nutraceutical) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ ช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและเส้นเลือดอุดตันในสมอง ด้วยการยับยั้งไม่ให้เลือดจับตัวเป็นก้อน ชะลอความเสื่อมของดวงตา ช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) อีโคไล (*Escherichia coli*) ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงและอาหารเป็นพิษด้วย



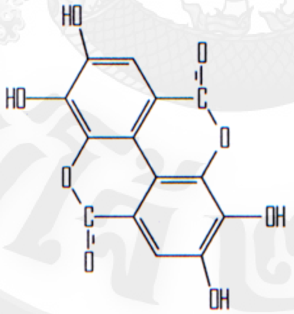

anthocyanin

**ตัวอย่างโครงสร้างของแอนโทรไซยานิน**

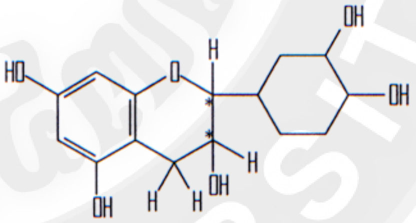
• **แทนนิน (Tannin)** เป็นสารจำพวกพอลิฟีนอล (polyphenol) ที่มีโมเลกุลใหญ่ และโครงสร้างซับซ้อน มีสูตรโมเลกุล ($C_{75}H_{52}O_{46}$) เป็นกรดอ่อน ประกอบด้วย gallic acid จำนวน 9 โมเลกุล และน้ำตาลกลูโคส จำนวน 1 โมเลกุล มีสูตรโครงสร้างดังนี้




gallic acid



ellagic acid



catechin

**ตัวอย่างโครงสร้างของสารสำคัญในกลุ่มของสารจำพวกแทนนิน**

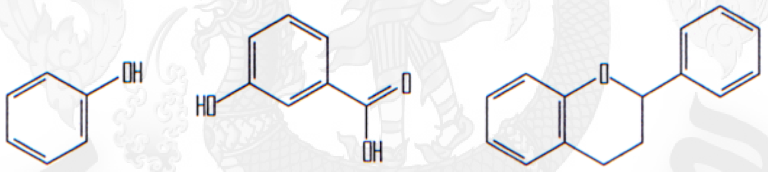
แทนนินมีจำหน่ายเป็นการค้าในรูปของกรดแทนนิก (tannic acid) แทนนินเป็นสารให้รสฝาด (astringency) และรสขม (bitter) พบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ใบชา ใบฝรั่ง ใบพลู ใบชุมเห็ด ผลไม้ดิบ เช่น กล้วยดิบ ในเปลือกและเมล็ดของผลไม้ เช่น เปลือกมังคุด องุ่น เม็ดในของมะขาม เปลือกมะพร้าวอ่อน และพบในไวน์แดง แทนนินมีส่วนสำคัญ เป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (enzymetic browning reaction) ของผลไม้ มีฤทธิ์เป็นสารกันเสีย (preservative) ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

สารแทนนินที่พบในชาที่สำคัญ คือ catechin ชาดำ (black tea) และชาอู่หลง (oolong tea) จะมีปริมาณแทนนินสูงกว่าชาเขียว (green tea)

ประเภทของแทนนิน มี 2 ชนิด คือ

1) คอนเดนส์แทนนิน (condensed tannins) หรือเรียกว่า โปรแอนโทรไซยานิน (proanthrocyanin) หรือ flavan-3-ols
2) สารไฮโดรไลซ์แทนนิน (hydrolysable tannins) คือแทนนินที่สามารถถูกแยกออกเป็นโมเลกุลเล็กๆ ได้แก่ glycosylated gallic acids, catechin, gallo catechin, epicatechinn, epigallocatechin, kaempferol, querectin เป็นต้น แทนนิน มีสมบัติเป็นสารตกตะกอนโปรตีน มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและเชื้อราได้ ใช้เป็นยาแก้ท้องร่วง แก้บิด สมานแผล แผลเปื่อย

• **ฟีนอลิค (Phenolic)** เป็นสารที่พบได้ตามธรรมชาติพบในพืชหลายชนิด ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพคือ มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สามารถละลายได้ในน้ำ มีสูตรโครงสร้างดังนี้




phenol phenolic acids flavonoids

**ตัวอย่างโครงสร้างของสารสำคัญในกลุ่มของสารจำพวกฟีนอลลิก**

สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignin) กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoid)

สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) และพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น (พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, 2560)

ดังกล่าวข้างต้นแล้วนั้น พืชสมุนไพร ซึ่งเป็นสิ่งที่เป็นยารักษาโรคมานาน ประกอบด้วยสารประกอบทางเคมีหลายชนิด แต่ละส่วนของพืชสมุนไพรมีสารประกอบที่แตกต่างกันออกไป สารเหล่านั้นเป็นตัวกำหนดสรรพคุณของพืชสมุนไพร ชนิดและปริมาณของสารจะแปรตามชนิดของพันธุ์สมุนไพร สภาพแวดล้อมที่ปลูกและช่วงเวลาที่เก็บพืชสมุนไพร

นักวิทยาศาสตร์ได้นำความรู้ และวิธีการทางเคมีมาค้นคว้าวิจัย สารเคมีที่มีฤทธิ์ในพืชสมุนไพร ทำให้ทราบรายละเอียดเกี่ยวกับโครงสร้าง ลักษณะวิธีการสกัด การจำแนกและการตรวจสอบสารเหล่านั้น นอกจากนี้ยังใช้ขบวนการทางวิทยาศาสตร์มาค้นคว้าสมุนไพร ด้านเภสัชวิทยา พิษวิทยา การพัฒนารูปแบบยา การทดสอบทางเภสัชจลนศาสตร์ และการวิจัยทางคลินิกอีกด้วย ทั้งนี้เพื่อให้ได้ยาที่มีประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการรักษาโรค (กมลชนก, 2560)

สารที่พบในแก่นฝาง มี 3 กลุ่ม ได้แก่ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) 8 ชนิด ได้แก่ 7 - hydroxyl -3-(4’-hydroxybenzylidene)-chroman-4–one, 3,7-dihydroxy-3-(4’-hydroxybenzyl)-chroman-4–one, 3,4,7-trihydroxy-3-(4’-hydroxybenzyl)–chroman, 4,4’-dihydroxy-2’–methoxychalcone, 8-methoxybouducellin, quercetin, rhamnetin, ombuin (Namikoshi *et al*., 1987) พบสารกลุ่มสเตอรอล (sterols) ได้แก่ beta-sitosterol 69.9%, campesterol 11.2%, stigmasterol 18.9% (Oh *et al*., 1998) และสารกลุ่มอื่นๆ ได้แก่ brazilin, brazilein, protosappanin E, taraxerol (Yadava and Nigam, 1987) สารสกัดจากแก่นฝางด้วย 95% เอทานอล ได้แก่ protosappanin A, protosappanin B, and brazilein (Hu *et al.*, 2008)

ในใบพบ tannin (19%), alkalois และ phytosterol มีน้ำมันหอมระเหย 0.16-0.25% ซึ่งประกอบด้วย d-alpha-phellandrene, terpene และ methyl alcohol แต่ในงานวิจัยของทิพย์สุดา และคณะ (2552) มีน้ำมันหอมระเหย 1.00% มีองค์ประกอบหลัก ได้แก่ beta-caryophyllene (49.74%), myrcene (28.84 %), germacrene d (5.89%), alpha-humulene (4.07%) และ trans-beta-ocimene (3.15%) ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารประเภท terpene และ terpenoid นอกจากนี้ ในผนังของเปลือกผลไม้ฝางยังพบ tannin จำนวนมากถึง 44% และในฝักพบ tannin 40%

มีงานวิจัยที่ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในเมล็ดพบ n-triactone, lupeol, $\beta$-amyrin, stigmosterol, diterpenoidal alcoholic compounds (Garge and Oswal, 1993) 11 ไอโซเลต phanginin A–K (Yodsaoue *et al.*, 2008) cassane diterpenoids 4 ชนิด ได้แก่ phanginin L, phanginin M, phanginin I, phanginin G (Zhang *et al.*, 2012) เมื่อสกัดเมล็ดด้วยเอทิลอะซิเตตพบสาร cleistanthane diterpenes ใหม่ 3 ชนิด คือ tomocinon, tomocinol A และ tomocinol B (Nguyen *et al.*, 2013) เมื่อสกัดเมล็ดด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์พบน้ำมันพืช (fixed oil) สีส้ม

มีงานวิจัยที่ทดสอบฤทธิ์ของฝางจำนวนมาก ได้แก่ ฤทธิ์ต้านจุลชีพ (antimicrobial activity) กดระบบภูมิคุ้มกันที่ผิดปกติ (immunosuppressive component) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) ระงับอาการชัก (anticonvulsant) ฤทธิ์ยับยั้งการสร้างกรดยูริค (xanthine oxidase inhibitors) ฤทธิ์ต้านอาการภูมิแพ้ (anti-allergic) ฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือด (hypolipidemic) ภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ (hypoglycemic) ฤทธิ์ทางด้านการป้องกันเซลล์สมอง (neuroprotective) ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของรังไข่ (ovarian cancer growth inhibition) ฤทธิ์ยับยั้งเนื้องอกหรือเซลล์มะเร็ง (constituents/anti-tumor activities) ฤทธิ์ปกป้องเซลล์ตับ (hepatoprotective activity) ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ neuraminidase (neuraminidase inhibitory activity) ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง (cytotoxic activity) ฤทธิ์ต้านไวรัสไข้หวัดใหญ่ (anti-influenza virus) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-arthritic) ฤทธิ์ขับพยาธิ (anthelmintic activity) ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (antibacterial) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) เป็นต้น

**ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity)**

อนุมูลอิสระ (free radical) หมายถึง ธาตุหรือหมู่ธาตุที่มีอิเล็กตรอนที่ไม่ได้จับคู่ (unpaired electron) อยู่ในโครงสร้าง ตัวอย่างเช่น superoxide anion radical, hydroxyl radical, peroxide radical และ peroxyl radical เป็นต้น ปกติอนุมูลอิสระมีความว่องไวต่อการเข้าทำปฏิกิริยาต่อโมเลกุลอื่นๆ เช่น โครโมโซม โปรตีน กรดอะมิโน และเอนไซม์ เพื่อเข้าสู่สถานะเสถียร ทำให้เกิดผลเสียต่อร่างกาย แหล่งที่มาของอนุมูลอิสระสามารถแบ่งได้ง่ายๆ คือ อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเองในร่างกายและเกิดขึ้นจากภายนอกร่างกาย อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเองในร่างกายสามารถเกิดขึ้นได้ตลอดเวลา ซึ่งเป็นผลมาจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกายเอง เช่น กระบวนการเผาผลาญของร่างกาย อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากภายนอกของร่างกาย เช่น การติดเชื้อทั้งจากแบคทีเรียและไวรัส การอักเสบชนิดไม่ทราบสาเหตุของกลุ่มโรคภูมิต้านทานตัวเอง (autoimmune diseases) เช่น โรคข้ออักเสบ รูมาตอยด์ โรคเอสแอลอี โรคเก๊าท์ รังสีอัลตราไวโอเลตจากแสงแดดกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระบริเวณผิวหนัง สิ่งแวดล้อมที่เป็นมลพิษ เช่น ควันเสียและเขม่าจากเครื่องยนต์ ควันบุหรี่ ยาฆ่าแมลง การออกกำลังกายอย่างหักโหม (ประภาศรี, 2547)

หน้าที่ของสารต้านอนุมูลอิสระ คือ เป็นสารรีดิวซ์ (reducing agent) เป็นตัวขับไล่อนุมูลอิสระ เป็นตัวจับไอออนโลหะที่เร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ยับยั้งการเกิดออกซิเจนในรูปแอกทีฟในขั้นตอนอินนิทิเอชัน (initiation) ของปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยหน้าที่ต่างๆ เหล่านี้จึงทำให้มีผลในการชะลอ หรือยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน หรือสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยการทำปฏิกิริยากับอนุมูล peroxyl เพื่อให้เป็นสารที่มีความเสถียร หรือเป็นสารที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันอีกต่อไป หรือเป็นสารที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ (non-radical product) (Basu *et al.*, 1999) (Huang *et al.*, 2005)

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือ สารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ หรือทำลายฤทธิ์ของอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ จะทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ส่งผลให้อนุมูลอิสระมีความคงตัว หรือเกิดความเสถียร ทำให้อนุมูลหมดความสามารถในการเข้าจับกับสารชีวโมเลกุลตัวอื่น ตามปกติร่างกายจะมีสารที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำหน้าที่ทำลายอนุมูลอิสระที่พบในร่างกายและจัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่ Superoxide dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione peroxidedase (GPX), Glutathione reductase (GR), Glutathione S-transferase (GST) และที่ไม่จัดเป็นเอนไซม์ ได้แก่ glutathione, lipoic acid, ceruloplasmin, albumin, transferring, haptoglobin, hemopexin, uric acid, bilirubin, cysteine สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในอาหาร ได้แก่ tocopherols, carotenoids, ascorbic acid, steroids, ubiquinones, thiols, inosine, taurine, pyruvate, gallic acid, flavonoids, trolox, butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA) (พรทิพย์, 2549)

โดยทั่วไปสารต้านอนุมูลอิสระแบ่งเป็น 5 ประเภทใหญ่ๆ ดังนี้ (Hudson, 1990)

1. Primary antioxidant

สารในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ได้แก่ สารประกอบฟีโนลิค (phenolic substance) ทำหน้าที่หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน นอกจากนี้ยังรวมถึงสารโทโคฟีรอลธรรมชาติ และสังเคราะห์ (nature and synthetic tocopherol), gallate, butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA), tertiary butylhydroquinone (TBHQ) และอื่นๆ ซึ่งสารในกลุ่มดังกล่าวทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอน

2. Oxygen scavenger

สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก หรือวิตามินซี, ascorbyl palmitate, erythorbic acid (isoascorbic acid) และ sodium erythorbate เป็นต้น สารในกลุ่มนี้จะเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจน จึงเป็นการช่วยกำจัดออกซิเจนในระบบปิดได้

3. Secondary antioxidant

สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ dilauryl thiopropinoate และ thiopropionic acid ทำหน้าที่สลายโมเลกุลของ lipid hydroperoxide ให้เป็นสารที่มีความเสถียร

4. Enzymic antioxidant

สารกลุ่มนี้ ได้แก่ เอนไซม์ต่างๆ ซึ่งแบ่งเป็น primary antioxidant enzyme และ ancillary antioxidant enzyme สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่กำจัดออกซิเจน หรืออนุพันธ์ของออกซิเจน โดยเฉพาะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

5. Chelating agent หรือ Sequenatrant

สารในกลุ่มนี้ เช่น กรดซิตริค, กรดอะมิโน, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) เป็นต้น สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ไปจับกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก และทองแดง ซึ่งไอออนเหล่านี้เป็นไอออนที่ส่งเสริม และเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียร

แต่ถ้ามีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นมาก หรือฤทธิ์การทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระมีน้อยก็จะเกิดภาวะที่เรียกว่า oxidative stress มีอนุมูลอิสระไปทำอันตรายส่วนประกอบของเซลล์ และเนื้อเยื่อ ส่วนประกอบที่สำคัญที่จะถูกทำอันตราย คือ ดีเอนเอ โปรตีน และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเยื่อหุ้มเซลล์ ดังนั้นการเสริมสารต้านอนุมูลอิสระ โดยการกินในรูปของอาหารจะช่วยเสริมประสิทธิภาพของร่างกายในการทำลายอนุมูลอิสระ สำหรับพืชผักของไทยที่มีอยู่หลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นผักพื้นบ้านที่พบเฉพาะแต่ละท้องถิ่น และพืชผักที่พบทั่วไป นอกจากจะเป็นแหล่งของสารอาหารประเภทวิตามิน และเกลือแร่ชนิดต่างๆ แล้ว พืชผักพื้นบ้านบางชนิดยังมีสรรพคุณทางยาที่ใช้เป็นส่วนประกอบสำคัญในยาไทยแผนโบราณ และที่สำคัญคือให้สารต้านอนุมูลอิสระด้วย (ประภาศรี, 2547)

**ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial activity)**

การทดสอบและตรวจกรองฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดตัวอย่างในระดับหลอดทดลอง (*in vitro* assay) ทดสอบสารตัวอย่างที่เป็นสารสกัดหยาบในรูปของเหลว ในส่วนของการประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพนั้นมีการทดสอบหลายระดับ ได้แก่ การตรวจกรองเบื้องต้นเพื่อดูผลบวก (positive) หรือลบ (negative) การตรวจหาค่า $IC_{50}$ (50% inhibition concentration) เพื่อให้ทราบระดับความเข้มข้นของสารที่สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อได้ 50% เมื่อเทียบกับสภาวะควบคุม และการหาค่า MIC (minimal inhibition concentration) เพื่อให้ทราบระดับความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ตั้งแต่ 90% ขึ้นไป เมื่อเทียบกับสภาวะควบคุม

## งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แก่นฝาง ประกอบด้วยสารที่มีโครงสร้างเป็นสารฟีนอลิค เช่น flavones, homoisoflavonoids, protosappanins และ brazilins ใช้เป็นยาสมุนไพรในการต้านแบคทีเรีย (antibacterial) ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) บรรเทาปวด (analgesic agent) ในส่วนของเมล็ดมีรายงานว่าเป็นแหล่งของสาร cassane-type diterpenes ซึ่งเป็นคุณลักษณะสารธรรมชาติของพืชตระกูล *Caesalpinia* และมีความหลากหลายของฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ antimalarial, cytotoxic, anti-inflammatory, antibacterial และ antiviral (Xiao *et al.*, 2016)

ทางเภสัชวิทยาใช้แก่นฝางเป็นอินดิเคเตอร์วัดความเป็นกรดด่าง และใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ (Guleria *et al.*, 1997) ใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน และเพื่อปรับปรุงการไหลเวียนโลหิต (Xie, 2000)

ธีรวุฒิ และรัชนี (2550) ได้ศึกษาสารสกัดเอธานอลของลำต้นฝางส้มมีร้อยละการสกัด 4.4 มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* และ *B. cereus* ค่อนข้างสูงอย่างมีนัยสำคัญ แต่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus, B. cereus, E. coli* และ *S. typhimurium* ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เมื่อนำมาสกัดแยกส่วนด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ โดยเริ่มจาก เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอธิล อะซิเตท และเมทานอล ตามลำดับ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดแยกส่วน พบว่า สารสกัดเฮกเซน สารสกัดไดคลอโรมีเทน และสารสกัดเอธิลอะซิเตท มีฤทธิ์ค่อนข้างต่ำในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ส่วนสารสกัดเมทานอลพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีแต่จะมีประสิทธิภาพสูงมากในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกโดยให้บริเวณยับยั้งมากกว่า 23 มิลลิเมตร ในการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ในสารสกัดเมทานอล พบว่า สำหรับเชื้อ *B. cereus* ให้ค่า MIC เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับเชื้อ *S. aureus* ฝางให้ค่า MIC เท่ากับ 6.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การหาค่า $EC_{50}$ ของความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ พบว่า ให้ค่า 0.7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Ma *et al.* (2014) ได้ศึกษาวิจัยส่วนที่ละลายในคลอโรฟอร์มของสารสกัดเมธานอลจากเมล็ดฝาง พบสาร diterpenoids ชนิดใหม่ 3 ตัว ได้แก่ phanginins N, phanginins O, phanginins P และพบองค์ประกอบอื่นที่เป็นที่รู้จักกันอยู่แล้ว 4 ตัว ได้แก่ sucutinirane E, 6a-acetoxyvouaca-pane, phanginins I และ phanginins K

Deng *et al.* (2016) ได้ศึกษาวิจัยสารสกัดหยาบเมธานอลจากเมล็ดฝาง พบสาร diterpenoids ชนิดใหม่ 6 ตัว ได้แก่ 20a-methoxycaesanine A, 19a-hydroxy-20-O-methylphanginin A, 19-deoxo-20-oxophanginin E, 20-nor-10a-hydroperoxyphanginin K, methyl-20-hydroxyvinhaticoate, 18-acetoxycassa-12,15-diene-3-one และพบองค์ประกอบอื่นที่เป็นที่รู้จักกันอยู่แล้ว 15 ได้แก่ caesanine A, caesanine B,

caesanine C, phanginin A, phanginin D, phanginin E, phanginin F, phanginin I, phanginin J, phanginin K, vinhaticoic acid, caesaljapin, phanginin G, phanginin H และ tomocinol A

ใจนุช และคณะ (2554) ได้ศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรในตำรับยาสตรีแผนโบราณต่อการหดตัวของมดลูกในหลอดทดลอง พบว่าสารสกัดจากฝางด้วยเอทานอล 95% สามารถกระตุ้นให้มดลูกหดตัวได้ โดยให้แรงหดตัวสูงสุดร้อยละ 124.1 ของการตอบสนองต่อ KCl และมีค่า $EC_{50}$ เท่ากับ $1.58 \times 10^{-5}$ กรัมต่อมิลลิลิตร

จารวี และสุบงกช (2555) ได้ทำการศึกษาผลของตัวทำละลาย 2 ชนิด ในการสกัดแก่นฝาง คือ น้ำ และ 95% เอทานอล ได้ปริมาณของสารสกัดร้อยละ 6.80 และ 15.76 ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดพืชสมุนไพรมีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายได้แตกต่างกัน แล้วนำสารสกัดที่ได้มาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยังยั้งแบคทีเรีย พบว่าสารสกัดเอทานอลของฝางที่ความเข้มข้น 128 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีกว่าน้ำ โดยสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ได้ โดยมีค่าขนาดบริเวณใสที่เกิดขึ้น คือ 9.15 ± 0.28 และ 22.26 ± 0.39 มิลลิเมตร ตามลำดับ มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *S. aureus* เท่ากับ 16, 64 และ 16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* เท่ากับ 128 และ 32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่ไม่มีผลในการฆ่าเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ อาจเนื่องจากในฝางไม่มีสารออกฤทธิ์ที่มีผลในการฆ่าเชื้อ *P. aeruginosa* ได้ หรือมีสารออกฤทธิ์แต่อาจละลายได้ดีในตัวทำละลายอื่นที่ไม่ใช่ 95% เอทานอล สารสกัดด้วยน้ำไม่ยับยั้งเชื้อ *E. coli* แต่ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ โดย มีค่าขนาดบริเวณใสที่เกิดขึ้น 20.79 ± 1.62 มิลลิเมตร สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดการใช้ประโยชน์ในด้านการผลิตยาทดแทนยาต้านจุลชีพสังเคราะห์ ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้ต่อไปในอนาคต

Bukke *et al.* (2015) ได้ทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดฝางส่วนต่างๆ ได้แก่ ใบ เปลือก แก่น และเมล็ด โดยใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเธอร์ เมทานอล คลอโรฟอร์ม และน้ำ โดยใช้วิธี Soxhlet extraction แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบกับเชื้อ *Salmonella ebony* (MTCC 3384), *Klebsiella pneumoniae* (MTCC 432), *Escherichia coli* (MTCC 443) และ *Bacillus subtilis* (MTCC 10619) พบว่า สารสกัดแก่นฝางทุกตัวทำละลายมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสูงที่สุด มีค่า MIC เท่ากับ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยกเว้นในตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเธอร์มีค่า MIC เท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

# อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

## วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

1. ถาดแสตนเลส (stainless steel tray)
2. จานเพาะเชื้อ (plate)
3. คีมคีบ (forcep)
4. แท่งแก้วต้นตัวแอล (spreader)
5. ไม้พันสำลีฆ่าเชื้อแล้ว (cotton wool sterilized) ยี่ห้อ Hivan
6. บีกเกอร์ (beaker) ยี่ห้อ Duran ประเทศเยอรมัน
7. ขวดแก้วกลมฝาสีฟ้า (laboratory bottle) ยี่ห้อ Duran ประเทศเยอรมัน
8. กระดาษกรอง เบอร์ 1 (filter paper no.1) ยี่ห้อ Whatman ประเทศอังกฤษ
9. ขวดก้นกลม (evaporating flask) ยี่ห้อ Duran ประเทศเยอรมัน
10. กรวยแยก (separating funnel) ยี่ห้อ Witeg ประเทศเยอรมัน
11. แผ่นทดสอบยาปฏิชีวนะ (antibiotic test disks) ขนาด 6 มิลลิเมตร ยี่ห้อ Macherey-Nagel ประเทศเยอรมัน
12. แผ่นกรองตัวอย่าง (syringe filter) ชนิด Polyethersulphone ขนาด 0.2 ไมโครเมตร ยี่ห้อ Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา
13. แผ่นกรองตัวอย่าง (syringe filter) ชนิด polyethersulphone ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ยี่ห้อ Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา
14. จานเพาะเลี้ยงเซลล์ 96 หลุม (96 well cell culture plate) ยี่ห้อ Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา
15. เอบีทีเอส (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid หรือ ABTS) ≥98.0% (HPLC) ยี่ห้อ Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา
16. อะซิโตน (acetone: $C_3H_6O$) เกรด AR ยี่ห้อ RCI-Labscan ประเทศไทย
17. สารละลายแอมโมเนีย (ammonia: $NH_3$) 28-30% เกรด AR ยี่ห้อ Qrec ประเทศนิวซีแลนด์
18. คลอโรฟอร์ม (chloroform: $CH_2Cl_2$) ยี่ห้อ RCI-Labscan ประเทศไทย
19. ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane: $CH_2Cl_2$) ยี่ห้อ Fisher Scientific ประเทศอังกฤษ
20. กรดไดไนโตรเบนโซอิก (3,5-dinitrobenzoic acid) ≥98.0% (HPLC) ยี่ห้อ Fluka ประเทศสวีเดน
21. ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide, DMSO: $(CH_3)_2SO$) ≥99.9 % ยี่ห้อ Fisher Scientific ประเทศอังกฤษ

22. เอทานอล (ethanol: $C_2H_6O$) ยี่ห้อ Fisher Scientific ประเทศอังกฤษ
23. เจลาติน (gelatin: $C_6H_{12}O_6$) Food เกรด ยี่ห้อ Nitta Gelatin ประเทศญี่ปุ่น
24. เฮกเซน (hexane: $C_6H_{14}$) 99% เกรด AR ยี่ห้อ RCI-Labscan ประเทศไทย
25. กรดไฮโดรคลอริค (hydrochloric acid: HCl) 37% เกรด AR ยี่ห้อ RCI-Labscan ประเทศไทย
26. ไอโอดีน (iodine: $I_2$) ≥99.8% ยี่ห้อ Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา
27. แมกนีเซียม (magnesium: Mg) เกรด Lab ยี่ห้อ Ajax ประเทศออสเตรเลีย
28. เมทานอล (methanol: $CH_3OH$) ยี่ห้อ Fisher Scientific ประเทศอังกฤษ
29. เมอคิวรีคลอไรด์ (mercury chloride: $HgCl_2$) ยี่ห้อ Merck ประเทศไทย
30. โพแทสเซียมไอโอไดด์ (potassium iodide: KI) ยี่ห้อ Ajax ประเทศออสเตรเลีย
31. ปิโตรเลียมอีเทอร์ 40-60 (petroleum ether: $C_6H_{14}$) ยี่ห้อ RCI-Labscan ประเทศไทย
32. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (potassium hydroxide: KOH) ยี่ห้อ Ajax ประเทศออสเตรเลีย
33. โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride: NaCl) 99% ยี่ห้อ RCI-Labscan ประเทศไทย
34. โซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส (sodium sulfate anhydrous: $Na_2SO_4$) ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมัน
35. กรดซัลฟิวริค (sulfuric acid: $H_2SO_4$) ยี่ห้อ RCI-Labscan ประเทศไทย
36. เฟอริกคลอไรด์ (ferric chloride: $FeCl_3$) เกรด Lab ยี่ห้อ Ajax ประเทศออสเตรเลีย
37. วิตามินซี (Vitamin C หรือ L-Ascorbic acid) Ajax ประเทศออสเตรเลีย
38. อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar ยี่ห้อ Himedia ประเทศอินเดีย
39. อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth ยี่ห้อ Himedia ประเทศอินเดีย

**เครื่องมือ**

1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (balance) ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น PL3002 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
2. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (analytical balance) ยี่ห้อ Sartorius รุ่น ED224S ประเทศเยอรมัน
3. เครื่องบดตัวอย่าง (blender) ยี่ห้อ Sharp รุ่น EM-ICE power ประเทศไทย
4. ชุดกรองบุชเนอร์ (buchner Set)
    - buchner funnel ยี่ห้อ JIPO ประเทศเยอรมัน
    - filtering flask (Suction) ยี่ห้อ Duran ประเทศเยอรมัน
5. เครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (evaporator) ยี่ห้อ Buchi รุ่น R-205 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
6. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ยี่ห้อ Julabo EcoTemp รุ่น TW12 ประเทศเยอรมัน
7. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ/แมสสเปคโตรมิเตอร์ (gas chromatograph/mass spectrometer : GC-MS)

- เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟ (gas chromatograph) ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 plus ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องแมสสเปคโตรมิเตอร์ (mass selective detector: MSD) ยี่ห้อ Hewlett Packard รุ่น 5973 ประเทศสหรัฐอเมริกา

8. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ยี่ห้อ Thermo Fisher Scientific รุ่น Spectronic Genesys 20 ประเทศสหรัฐอเมริกา
9. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar) ยี่ห้อ Esi Flufrance รุ่น CYTOGARDE 95 ประเทศฝรั่งเศส
10. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ยี่ห้อ Hirayama รุ่น HVE-50 ประเทศญี่ปุ่น
11. ตู้บ่ม (incubator) ยี่ห้อ Memmert รุ่น BE200 ประเทศเยอรมัน
12. ตู้อบลมร้อน (hot air oven) ยี่ห้อ Memmert รุ่น UM500 ประเทศเยอรมัน
13. เวอร์เนียแสตนเลส (vernier caliper) 0-150 mm. ยี่ห้อ MACOH รุ่น Lucrative-E010 ประเทศไต้หวัน

**พืชตัวอย่าง**

ตัวอย่างฝางจากป่าบ้านโปง ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ ที่นำมาศึกษา จำนวน 19 ตัวอย่าง ได้แก่

**ส่วนราก**

1. เปลือกราก (root bark)
2. เนื้อไม้ราก (root wood)
3. แก่นราก (root heartwood)

**ส่วนลำต้น** แบ่งเป็น 3 ส่วนๆ ละ 100 ซม. จากด้านล่างขึ้นไปด้านบน

4. เปลือกลำต้นส่วนที่ 1 (stem 1 bark)
5. เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (stem 1 wood)
6. แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (stem 1 heartwood)
7. เปลือกลำต้นส่วนที่ 2 (stem 2 bark)
8. เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (stem 2 wood)
9. แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (stem 2 heartwood)
10. เปลือกลำต้นส่วนที่ 3 (stem 3 bark)
11. เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (stem 3 wood)
12. แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (stem 3 heartwood)

**กิ่งต้น**

13. เปลือกกิ่งต้น (branch bark)
14. เนื้อไม้กิ่งต้น (branch wood)
15. แก่นไม้กิ่งต้น (branch heartwood)

**ใบ**

16. ใบ (leave)
17. กิ่งใบ (leave branch)

**ฝัก**

18. เปลือกผล (fruit walls)
19. เมล็ด (seed)

**เชื้อที่ใช้ทดสอบ**

| | |
|---|---|
| 1. *Listeria monocytogenes* DMST 17303 | แกรมบวก |
| 2. *Bacillus cereus* DMST 5040 | แกรมบวก |
| 3. *Staphylococcus aureus* DMST 8840 | แกรมบวก |
| 4. *Salmonella* Typhi DMST 5784 | แกรมลบ |
| 5. *Salmonella enteritidis group B* | แกรมลบ |
| 6. *Shigella sonnei* | แกรมลบ |
| 7. *Escherichia coli* DMST 4212 | แกรมลบ |
| 8. *Vibrio parahaemolyticus* | แกรมลบ |

MAEJO UNIVERSITY

## วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของฝางได้กำหนดขอบเขตงานวิจัยวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของต้นฝางในพื้นที่ป่าบ้านโปง โดยวิเคราะห์ในส่วนต่างๆ ของฝาง จำนวน 19 ตัวอย่าง โดยดำเนินการวิจัย 6 ขั้นตอนดังนี้

**1. การตรวจสอบเอกลักษณ์ตัวอย่างฝางและถ่ายรูปไว้เป็นหลักฐาน**

เก็บตัวอย่างฝางจากป่าบ้านโปง ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ ที่มีอายุของต้น 8-9 ปี ทำการศึกษาตัวอย่างฝางจำนวน 19 ส่วน ได้แก่ **ส่วนราก**; เปลือกราก, เนื้อไม้ราก, แก่นราก **ส่วนลำต้น;** แบ่งเป็น 3 ส่วนๆ ละ 100 ซม. จากด้านล่างขึ้นไปด้านบน; เปลือกลำต้นส่วนที่ 1, เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1, แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 1, เปลือกลำต้นส่วนที่ 2, เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2, แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 2, เปลือกลำต้นส่วนที่ 3, เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3, แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 3 **ส่วนกิ่งต้น**; เปลือกกิ่งต้น, เนื้อไม้กิ่งต้น, แก่นไม้กิ่งต้น **ส่วนใบ**; ใบ, กิ่งใบ **ส่วนฝัก**; เปลือกผล, เมล็ด

**2. การเตรียมตัวอย่างฝาง**

นำฝางส่วนราก ส่วนลำต้น ส่วนกิ่งต้น มาผ่า/ตัดแยกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนเปลือก ส่วนเนื้อไม้ และส่วนแก่น จากนั้นจึงนำไปถากให้เป็นชิ้นเล็กๆ ส่วนใบนำมาแยกใบประดับออกจากกิ่งใบ ส่วนฝักนำมาแยกส่วนเปลือกผลและเมล็ด จากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมดไปผึ่งให้แห้ง แล้วบดให้เป็นชิ้นเล็กๆ หรือเป็นผง

**3. การสกัดสารสกัดหยาบจากตัวอย่างฝาง**

นำตัวอย่างฝาง 50 กรัมไปสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เพื่อแยกสารสกัดส่วนน้ำมันออกจากตัวอย่างก่อน จากนั้นนำกากไปผึ่งให้ตัวทำละลายเฮกเซนระเหยจนหมดจึงนำกากที่เหลือมาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้น 95% ปริมาตร 500 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วระเหยตัวทำละลายออกจะได้สารสกัดเอทานอล เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำเพื่อรอวิเคราะห์หาองค์ประกอบและฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

**4. ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดด้วยเทคนิค GC-MS**

ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเฮกเซน โดยใช้เครื่อง Gas Chromatography/Mass Spectrometer (GC-MS) โดยเครื่อง GC ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 plus เครื่องตรวจวิเคราะห์ (detector) ยี่ห้อ Hewlet Packard รุ่น 5973 mass selective detector (MSD) ชนิด electron impact (EI, 70 eV) ใช้คอลัมน์ชนิด

capillary column (HP-5MSI) และแปลผลการวิเคราะห์องค์ประกอบโดยเปรียบเทียบกับ mass spectra database (WILEY&NIST) และ spectroscopic data

**5. ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัด**

การตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากฝาง โดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน (Harborne, 1998) (Trease and Evans, 2002) เพื่อให้ทราบว่าในตัวอย่างพืชส่วนต่างๆ นั้นมีองค์ประกอบทางเคมีเป็นสารในกลุ่มใดบ้าง ได้แก่

1. กลุ่มแอลคาลอยด์ (Alkaloid)
2. กลุ่มไกลโคไซด์ (Glycoside)
    a. แอนทราซีน (Anthracene) หรือ แอนทราควิโนน (Antraquinone)
    b. คูมาริน (Coumarin)
    c. สเตอรอล (Sterol) หรือ ไตรเทอพีน (Triterpene)
    d. คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiac Glycoside)
    e. ซาโปนิน (Saponin)
    f. ฟลาโวนอยด์ (Flavonol) หรือ ฟลาโวน (Flavone)
    g. แอนโทรไซยานิน (Anthocyanin)
    h. แทนนิน (Tannin) และ สารฟีนอลิค (Phenolic)

**5.1 การทดสอบหาแอลคาลอยด์ (Alkaloid)**

นำสารสกัด 0.5 กรัม เติมกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) ความเข้มข้น 5% ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วคนบนหม้ออังไอน้ำประมาณ 10 นาที (ทำในตู้ดูดควัน) จากนั้นเติมโซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) 0.5 กรัม คนต่อจนละลายแล้วกรองเก็บเป็นน้ำยากรด แบ่งน้ำยากรดใส่หลอดทดลอง 4 หลอดๆ ละ 0.5 มิลลิลิตร

หลอดที่ 1 เติม Dragendroff's reagent 3 หยด

หลอดที่ 2 เติม Mayer's reagent 3 หยด

หลอดที่ 3 เติม Wagner's reagent 3 หยด

หลอดที่ 4 ไม่เติมน้ำยาใดๆ (เป็นหลอด control)

สังเกตการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นทั้งสีขอน้ำยาและตะกอน ถ้าเกิดการขุ่นหรือมีตะกอนเกิดขึ้นแสดงว่าน่าจะมีสารแอลคาลอยด์อยู่ ให้ทดสอบเพื่อยืนยันผลต่อไป แต่ถ้าไม่มีการขุ่นเกิดขึ้น แสดงว่าไม่มีสารแอลคาลอยด์

**5.2 การทดสอบหาไกลโคไซด์ (Glycoside)**

นำสารสกัดมา 1.0 กรัม เติมเอทานอล (ethanol) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร และกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ทำการรีฟลักซ์ (reflux) เป็นเวลา 30 นาที น้ำยาที่ได้นำมาทำให้เย็นลง แล้วสกัดในกรวยแยกด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์ (petrolium ether) 3 ครั้ง ครั้งละ 15 มิลลิลิตร รวมน้ำยาสกัดที่ได้ แล้วเติมโซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส (sodumsulfate anhydrous) เพื่อดูดน้ำออกจากชั้นอีเธอร์ ได้น้ำยาสกัดชั้นอีเธอร์ที่ปราศจากน้ำและชั้นน้ำยากรด นำมาทดสอบเพื่อหาสารประกอบไกลโคไซด์กลุ่มต่างๆ ต่อไป

**5.2.1 Antraquinone glycoside test**

การทดสอบแอนทราซีน (anthracene) หรือ แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ (antraquinone glycoside) นำน้ำยาสกัดชั้นอีเธอร์ ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ระเหยให้เข้มข้นเหลือ 2 มิลลิลิตร แล้วเติมแอมโมเนีย ความเข้มข้น 25% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน สังเกตสีที่เปลี่ยนแปลงในชั้นน้ำยาแอมโมเนีย ถ้าเกิดสีแดงในชั้นของน้ำยาแอมโมเนีย แสดงว่ามีกลุ่มอีโมดอล (emodol) ซึ่งเป็นส่วนของโมเลกุลที่ไม่ใช่น้ำตาลของสารประกอบแอนทราควิโนนไกลโคไซด์

**5.2.2 Coumarin test**

นำน้ำยาสกัดชั้นอีเธอร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ระเหยจนแห้ง แล้วละลายตะกอนในน้ำร้อน ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (ใช้ความร้อนช่วยในการละลาย ถ้าจำเป็น) แบ่งน้ำยาสกัดที่ได้ใส่หลอดทดลอง 2 หลอด

หลอดที่ 1 เติมน้ำยาแอมโมเนีย ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

หลอดที่ 2 ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ

นำไปส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต สังเกตการเรืองแสงของน้ำยา ถ้าน้ำยาสกัดเรืองแสงสีฟ้าหรือเขียว แสดงว่ามีคูมาริน

**5.2.3 Sterol glycoside หรือ Triterpene glycoside**

นำน้ำยาสกัดชั้นอีเธอร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ระเหยจนแห้ง แล้วละลายตะกอนที่เหลือด้วยอะซิติกแอนไฮไดรด์ (acetic anhydride) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และคลอโรฟอร์ม (chloroform) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ถ่ายใส่หลอดทดลองที่แห้งและสะอาด เติมกรดซัลฟูริก (sulfuric acid) เข้มข้น ปริมาตร 2 มิลลิลิตร โดยใช้หลอดหยดแตะข้างหลอดทดลองให้กรดไหลลงไปข้างหลอดช้าๆ

สังเกตสีที่เกิดขึ้นระหว่างชั้นของน้ำยาทั้งสองทันที และการเปลี่ยนแปลงของสีในระยะเวลา 5 นาที

15 นาที และ 30 นาที ถ้าปรากฏว่าเริ่มแรกมีสีแดงหรือน้ำตาลแดง แล้วเปลี่ยนเป็นสีม่วงจนสุดท้ายเปลี่ยนเป็นสีเขียวหรือเขียวปนฟ้า แสดงว่ามีกลุ่มสเตอรอล (sterol) ถ้าสีเปลี่ยนจากสีแดงหรือน้ำตาลแดงเป็นสีม่วงและคงอยู่ แสดงว่ามีกลุ่มไตรเทอร์พีน (triterpine)

**5.2.4 Cardiac glycoside test**

ระเหยน้ำยาสกัดชั้นอีเธอร์ ปริมาตร 4 มิลลิลิตร จนแห้ง ละลายตะกอนที่เหลือในเมทานอล (methanol) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำยาโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในเอทานอล (potassium hydroxide in ethanol) ความเข้มข้น 1 นอร์มอล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมน้ำยา 3,5-dinitrobenzoic acid in Ethanol ความเข้มข้น 1% จำนวน 5 หยด แล้วนำไปต้มบนหม้ออังไอน้ำ สังเกตสีของน้ำยา ถ้าเกิดสีม่วงขึ้นแสดงว่ามีคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (cardiac glycoside)

**5.2.5 Saponin test**

ระเหยน้ำยาสกัดชั้นอีเธอร์ ปริมาตร 4 มิลลิลิตร จนแห้ง ละลายตะกอนที่เหลือด้วยน้ำกลั่นถ่ายใส่หลอดทดลอง เขย่าแรงๆ สังเกตผล ถ้ามีฟองเกิดขึ้นชัดเจน แสดงว่ามีซาโปนิน (saponin glycoside)

**5.2.6 Flavonoid test**

ระเหยน้ำยาสกัดชั้นอีเธอร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จนแห้ง ละลายตะกอนที่เหลือในเมทานอล (methanol) ความเข้มข้น 50% ปริมาตร 1-2 มิลลิลิตร โดยใช้ความร้อนช่วย เติมโลหะแมกนีเซียม (magnesium) ชิ้นเล็กๆ 1 ชิ้น และกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) เข้มข้น จำนวน 5-6 หยด สังเกตการณ์เกิดสี ถ้าน้ำยามีสีแดง แสดงว่ามีกลุ่มฟลาโวนอล (flavonol) แต่ถ้ามีสีส้ม แสดงว่ามีฟลาโวน (flavone)

**5.2.7 Anthocyanin test**

นำน้ำยาสกัดชั้นกรดนำมาเติมแอมโมเนีย ความเข้มข้น 25% จนน้ำยามีฤทธิ์เป็นกลางและเป็นด่างตามลำดับ สังเกตสีของน้ำยาที่เปลี่ยนไป ถ้าปรากฏว่าในน้ำยากรดมีสีแดง แล้วเปลี่ยนเป็นสีม่วงในน้ำยาที่เป็นกลาง และเปลี่ยนเป็นสีเขียวหรือน้ำเงินเมื่อน้ำยามีฤทธิ์เป็นด่าง แสดงว่ามีกลุ่มแอนโทรไซยานิน

**5.2.8 การหาแทนนินและฟีนอลิก (Tannin and phenolic test)**

นำสารสกัด 0.5 กรัม เติมน้ำกลั่นร้อนปริมาตร 25 มิลลิลิตร คนจนกระทั่งเย็น เติมโซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) ความเข้มข้น 10% จำนวน 2-3 หยด เพื่อตกตะกอนสารที่ไม่ใช่แทนนินให้

ตกตะกอนแยกออกมา กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จนได้สารละลายใส แบ่งเป็น 4 ส่วน ส่วนละ 2 มิลลิลิตร ทดสอบดังนี้

ส่วนที่ 1 เติม 1% gelatin solution 5 หยด สังเกตการเกิดตะกอน

ส่วนที่ 2 เติม 1% gelatin solution + 10% sodium chloride 5 หยด สังเกตการเกิดตะกอน

ส่วนที่ 3 เติม 1% ferric chloride 5 หยด สังเกตสีและตะกอนที่เกิดขึ้น

ส่วนที่ 4 ไม่เติมน้ำยาใดๆ (ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ)

ทิ้งให้ตกตะกอนสักครู่ สังเกตการเปลี่ยนแปลง

- กรณีที่ไม่เกิดปฏิกิริยากับ ferric chloride แสดงว่าไม่มี tannin หรือ phenolic
- กรณีที่เกิดปฏิกิริยากับ ferric chloride เกิดเป็นสีเขียวอมฟ้า หรือสีเขียวเข้มเกือบดำ เมื่อเติม gelatin ตกตะกอน และเมื่อเติม gelatin + sodium chloride ตกตะกอน แสดงว่ามี tannin กลุ่ม catechol
- กรณีที่เกิดปฏิกิริยากับ ferric chloride เกิดเป็นสีน้ำเงินเข้ม เมื่อเติม gelatin ตกตะกอน และเมื่อเติม gelatin + sodium chloride ตกตะกอน แสดงว่ามี Tannin กลุ่ม pyrogallol หรือ gallic tannin
- กรณีที่เกิดปฏิกิริยากับ ferric chloride เกิดเป็นสีเขียวหรือน้ำเงิน แต่ไม่ตกตะกอน เมื่อเติม gelatin แสดงว่าไม่มี tannin แต่มีสารประกอบ phenolic ชนิดอื่น

**6. ตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด**

ตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่หลากหลาย ได้แก่ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย

**6.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน**

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธี ABTS assay เป็นวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Wongputtisin *et al.* (2014) โดยใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน ผสมสารสกัดส่วนเอทานอลที่ต้องการทดสอบ หรือสารมาตรฐานวิตามินซี จำนวน 10 ไมโครลิตร กับสารละลายอนุมูล ABTS ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ จำนวน 990 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ทดสอบตัวอย่างละ 5 ครั้ง คำนวณร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูล ABTS (% ABTS radical scavenging activity) จากสมการ % ABTS radical scavenging activity = $[(A_0 - A_S)/A_0] \times 100$ เมื่อ $A_0$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS และ $A_S$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS ผสมกับสารตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานวิตามินซี แล้วนำไปคำนวณฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของตัวอย่างเทียบเท่าวิตามินซี 1 มิลลิกรัม

**6.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย**

เชื้อ Bacterial food borne pathogens ที่ใช้ในการทดสอง 8 สายพันธุ์ได้แก่

1. *Listeria monocytogenes* DMST 17303 แกรมบวก
2. *Bacillus cereus* DMST 5040 แกรมบวก
3. *Staphylococcus aureus* DMST 8840 แกรมบวก
4. *Salmonella Typhi* DMST 5784 แกรมลบ
5. *Salmonella enteritidis group B* แกรมลบ
6. *Shigella sonnei* แกรมลบ
7. *Escherichia coli* DMST 4212 แกรมลบ
8. *Vibrio parahaemolyticus* แกรมลบ

**การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัด**

**1. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัด ด้วยวิธี Agar disc diffusion method**

เตรียมเชื้อที่จะใช้ทดสอบมาปรับความเข้มข้นให้มีปริมาณ $10^8$ CFU ต่อมิลลิลิตร โดยเทียบความขุ่นกับ 0.5 McFarland standards (~ $10^8$ CFU ต่อมิลลิลิตร) จากนั้นใช้ก้านพันสำลีปลอดเชื้อ (sterile cotton swab) จุ่มในสารละลายเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด มา swab ลงบนอาหาร Mueller Hinton agar (MHA) โดย swab เป็น 3 ระนาบ กระจายสารละลายเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหาร ใช้คีมคีบปลอดเชื้อ (sterile forceps) คีบเอา disc ที่ชุบสารสกัดในความเข้มข้น 512 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น positive control ซึ่งใช้ 1% DMSO เป็น negative control วางลงบนอาหารเพาะเชื้อให้แนบกับผิวหน้า นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกข้อมูลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้น

**2. การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรียได้ minimum inhibitory concentration (MIC)**

นำสารสกัดฝางส่วนเอทานอลมาละลายใน 1% DMSO จากนั้นกรองด้วย filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ปรับให้มีความเข้มข้น 512 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเจือจางใน 1% DMSO จากนั้นทดสอบใน 96 micro well plates โดยเริ่มจากการเติมอาหาร Mueller Hinton broth (MHB) 50 ไมโครลิตร ทุกหลุม ยกเว้นแถวที่ 1 เติมสารสกัดในแถวที่ 1 จำนวน 100 ไมโครลิตร จากนั้น dilution จากแถวที่ 1-11 ส่วนแถวที่ 12 เติม 1% DMSO เพื่อจะใช้เป็น control จากนั้นเติมเชื้อที่มีความเข้มข้นปริมาณ $10^6$ CFU ต่อมิลลิลิตร ทุกหลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 24 ชั่วโมง อ่านค่า MIC โดยดูจากความใสของเชื้อแบคทีเรีย

**3. การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ minimum bactericidal concentration (MBC)**

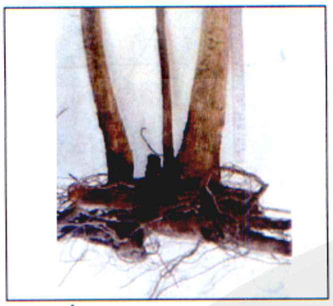
นำผลความเข้มข้นต่ำสุดของที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ (MIC) ในข้อ 2 มาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด (MBC) โดยนำหลุมที่ไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียมาเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton agar (MHA) หลุมละ 10 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตและบันทึกผลการทดลอง โดยถ้าความเข้มข้นที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ก็จะไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

# ผลการวิจัยและวิจารณ์

## 1. ผลการตรวจสอบเอกลักษณ์ตัวอย่างฝางและถ่ายรูปไว้เป็นหลักฐาน

เก็บตัวอย่างฝาง จากป่าบ้านโปง เมื่อวันที่ 10 พฤศจิกายน 2558 ซึ่งมีอายุของต้น 8-9 ปี จากการนับวงปีของลำต้น โดยต้นที่นำมาวิจัยมีความสูงต้น เท่ากับ 3 เมตร มีขนาดลำต้นที่ความสูงจากพื้น 1.2 เมตร มีขนาดเส้นรอบวง เท่ากับ 1.7 นิ้ว (ภาพที่ 1) ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างฝางทั้งหมด จำนวน 19 ส่วน ได้แก่ **ส่วนราก**; เปลือกราก, เนื้อไม้ราก, แก่นราก **ส่วนลำต้น;** แบ่งเป็น 3 ส่วนๆ ละ 100 ซม. จากด้านล่างขึ้นไปด้านบน**;** เปลือกลำต้นส่วนที่ 1, เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1, แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 1, เปลือกลำต้นส่วนที่ 2, เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2, แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 2, เปลือกลำต้นส่วนที่ 3, เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3, แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 3 **ส่วนกิ่งต้น**; เปลือกกิ่งต้น, เนื้อไม้กิ่งต้น, แก่นไม้กิ่งต้น **ส่วนใบ**; ใบ, กิ่งใบ **ส่วนฝัก**; เปลือกผล, เมล็ด ซึ่งมีลักษณะดังภาพที่ 2-12

**ภาพที่ 1** ลักษณะของต้นฝาง



**ภาพที่ 2** รากของฝาง

**ภาพที่ 3** ลำต้นของฝางส่วนที่ 1

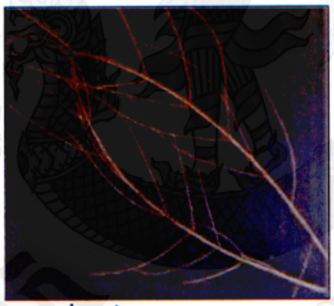
**ภาพที่ 4** ลำต้นของฝางส่วนที่ 2

**ภาพที่ 5** ลำต้นของฝางส่วนที่ 3

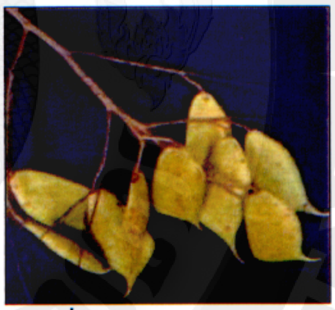
**ภาพที่ 6** กิ่งต้นของฝาง

**ภาพที่ 7** ใบของฝาง

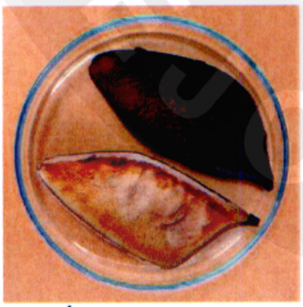
**ภาพที่ 8** ใบย่อยของฝาง



**ภาพที่ 9** กิ่งใบของฝาง



**ภาพที่ 10** ฝักของฝาง



**ภาพที่ 11** เปลือกผล

**ภาพที่ 12** เมล็ดของฝาง

**2. ผลการเตรียมตัวอย่างฝาง**

นำตัวอย่างฝางแต่ละส่วนมาแยกเป็น ส่วนเปลือก ส่วนเนื้อไม้ และส่วนแก่น แล้วทำการบันทึกน้ำหนักและลักษณะสีของตัวอย่างแต่ละส่วนไว้ ดังตารางที่ 1 จากนั้นจึงทำการผ่า และตัดให้เป็นชิ้นบางๆ เล็กๆ (ภาพที่ 13) เพื่อทำการบดให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่าง และทำการร่อนด้วยตะแกรงเพื่อให้มีขนาดของผงตัวอย่างให้มีขนาดเท่ากันก่อนทำการสกัดต่อไป

**ตารางที่ 1** ผลของลักษณะสีตัวอย่างฝาง

| ลำดับ | รหัส | ชื่อตัวอย่าง | ลักษณะตัวอย่างฝาง |
|---|---|---|---|
| 1 | RB | เปลือกราก | สีน้ำตาลเข้ม |
| 2 | S1B | เปลือกลำต้นส่วนที่ 1 | สีน้ำตาลเข้ม |
| 3 | S2B | เปลือกลำต้นส่วนที่ 2 | สีน้ำตาลเข้ม |
| 4 | S3B | เปลือกลำต้นส่วนที่ 3 | สีน้ำตาลเข้ม |
| 5 | BrB | เปลือกกิ่ง | สีน้ำตาลเข้ม |
| 6 | RW | เนื้อไม้ราก | สีน้ำตาล |
| 7 | S1W | เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1 | สีน้ำตาล |
| 8 | S2W | เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2 | สีน้ำตาล |
| 9 | S3W | เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3 | สีน้ำตาล |
| 10 | BrW | เนื้อไม้กิ่ง | สีน้ำตาล |
| 11 | RH | แก่นราก | สีส้ม |
| 12 | S1H | แก่นลำต้นส่วนที่ 1 | สีส้ม |
| 13 | S2H | แก่นลำต้นส่วนที่ 2 | สีส้ม |
| 14 | S3H | แก่นลำต้นส่วนที่ 3 | สีส้ม |
| 15 | BrH | แก่นกิ่ง | สีน้ำตาลอ่อน |
| 16 | L | ใบ | สีเขียวขี้ม้า |
| 17 | LBr | กิ่งใบ | สีน้ำตาล |
| 18 | FW | เปลือกผล | สีน้ำตาลเข้ม |
| 19 | S | เมล็ด | สีน้ำตาลอ่อน |

**ภาพที่ 13** ลักษณะของตัวอย่างฝางส่วนต่างๆ

MAEJO UNIVERSITY

**3. ผลการสกัดสารสกัดหยาบจากตัวอย่างฝาง**

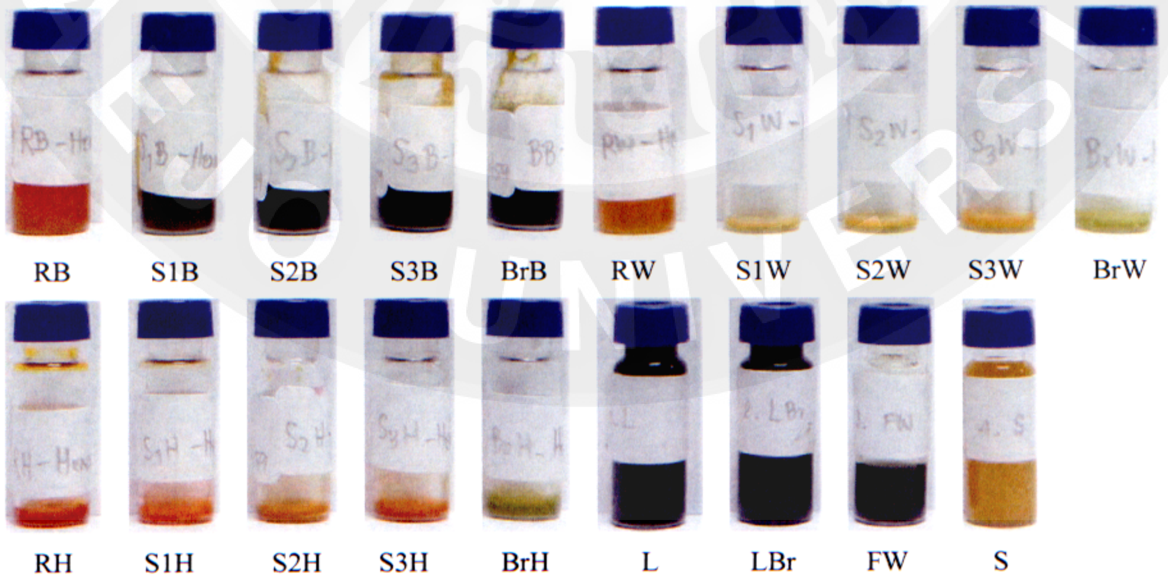
ทำการเปรียบเทียบถึงปริมาณร้อยละผลผลิต (% yield) ของสารสกัดที่สกัดได้จากส่วนต่างๆ ของฝางเหล่านั้น โดยนำส่วนต่างๆ ของฝางน้ำหนัก 50.00 กรัม สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เพื่อแยกส่วนน้ำมันออกจากตัวอย่างก่อน เรียกว่า ส่วนสกัดเฮกเซน (hexane fraction) พบว่า สารสกัดส่วนเมล็ด (S) มีปริมาณน้ำมันสูงที่สุด คือ มีร้อยละผลผลิต เท่ากับ 9.86 รองลงมาได้แก่ สารสกัดส่วนเปลือกราก (RB) มีร้อยละผลผลิต เท่ากับ 2.33, สารสกัดส่วนใบ (L) มีร้อยละผลผลิต เท่ากับ 2.16 และสารสกัดส่วนเปลือกลำต้นส่วนที่ 3 (S3B) มีร้อยละผลผลิต เท่ากับ 1.65 ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดส่วนเฮกเซนมีสีเหลืองใส ดังตารางที่ 2 และมีลักษณะของสารสกัดดังภาพที่ 14

ผลการสกัดกากตัวอย่างที่ผ่านการแยกน้ำมันออกด้วยเฮกเซนแล้ว มาสกัดต่อด้วยด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 95% ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เพื่อดึงเอาสารสำคัญออกมา เรียกว่า ส่วนสกัดเอทานอล (ethanol fraction) พบว่าสารสกัดส่วนเปลือกลำต้นส่วนที่ 2 มีร้อยละผลผลิต (% yield) สูงที่สุด คือ 19.52 % รองลงมาได้แก่ สารสกัดส่วนเปลือกลำต้นส่วนที่ 1 (19.23%), สารสกัดส่วนเปลือกลำต้นส่วนที่ 3 (17.51%) และสารสกัดส่วนใบ (17.05%) ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดส่วนเอทานอลเป็นผงสีเหลืองเข้มออกน้ำตาล ดังตารางที่ 3 และมีลักษณะของสารสกัดดังภาพที่ 15

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด พบว่า เอทานอลสามารถสกัดสารสกัดหยาบออกมาจากตัวอย่างฝางได้มากกว่าเฮกเซน ซึ่งมีงานวิจัยส่วนใหญ่ระบุว่า เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด และสามารถสกัดสารได้ปริมาณสูงที่สุดเมื่อเทียบกับปริมาณของตัวอย่างเริ่มต้นก่อนทำการสกัด เนื่องจากเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีขั้ว (polar protic) มีค่า polarity index = 5.2 สามารถสกัดเอาสารที่มีคุณสมบัติทั้งที่มีขั้วและไม่มีขั้วออกมา ส่วนเฮกเซนเป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (non-polar) มีค่า polarity index = 0 ดังนั้นจึงสามารถสกัดเอาสารที่มีคุณสมบัติไม่มีขั้วเหมือนกันออกมา นอกจากนี้ ในการสกัดด้วยเฮกเซนก่อนนั้นเพื่อเป็นการป้องกันมิให้สารสกัดแยกชั้นกัน ทำให้การสุ่มตัวอย่างมาทดสอบฤทธิ์หรือการหาองค์ประกอบนั้นมีความผิดพลาดสูง

**ตารางที่ 2** ผลร้อยละผลผลิตของสารสกัดตัวอย่างฝางด้วยตัวทำละลายเฮกเซน

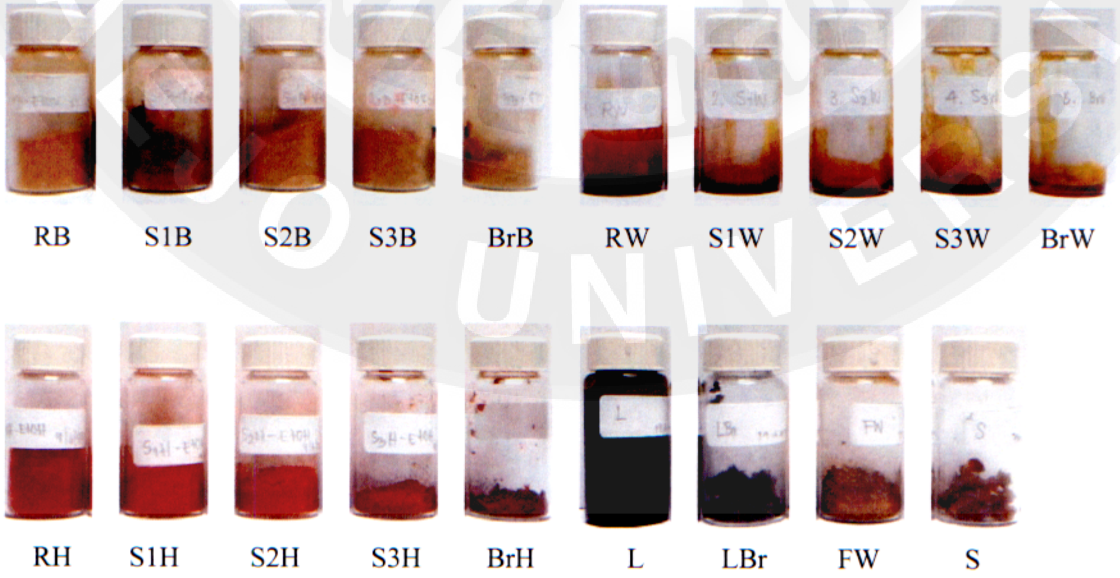
| ลำดับ | รหัส | ชื่อตัวอย่าง | น้ำหนักน้ำมัน (กรัม) | ร้อยละผลผลิต (%) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | RB | เปลือกราก | 1.1650 | 2.33 |
| 2 | S1B | เปลือกลำต้นส่วนที่ 1 | 0.5715 | 1.14 |
| 3 | S2B | เปลือกลำต้นส่วนที่ 2 | 0.6982 | 1.40 |
| 4 | S3B | เปลือกลำต้นส่วนที่ 3 | 0.8274 | 1.65 |
| 5 | BrB | เปลือกกิ่ง | 0.5896 | 1.18 |
| 6 | RW | เนื้อไม้ราก | 0.3327 | 0.67 |
| 7 | S1W | เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1 | 0.0720 | 0.14 |
| 8 | S2W | เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2 | 0.1376 | 0.28 |
| 9 | S3W | เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3 | 0.0969 | 0.19 |
| 10 | BrW | เนื้อไม้กิ่ง | 0.0643 | 0.13 |
| 11 | RH | แก่นราก | 0.0916 | 0.18 |
| 12 | S1H | แก่นลำต้นส่วนที่ 1 | 0.0498 | 0.10 |
| 13 | S2H | แก่นลำต้นส่วนที่ 2 | 0.0305 | 0.06 |
| 14 | S3H | แก่นลำต้นส่วนที่ 3 | 0.0620 | 0.12 |
| 15 | BrH | แก่นกิ่ง | 0.1360 | 0.27 |
| 16 | L | ใบ | 1.0808 | 2.16 |
| 17 | LBr | กิ่งใบ | 0.5469 | 1.09 |
| 18 | FW | เปลือกผล | 0.1597 | 0.32 |
| 19 | S | เมล็ด | 4.9293 | 9.86 |




**ภาพที่ 14** ลักษณะสารสกัดส่วนเฮกเซน

**ตารางที่ 3** ผลร้อยละผลผลิตของสารสกัดตัวอย่างฝางด้วยตัวทำละลายเอทานอล

| ลำดับ | รหัส | ชื่อตัวอย่าง | น้ำหนักสารสกัด (กรัม) | ร้อยละผลผลิต (%) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | RB | เปลือกราก | 7.8802 | 15.76 |
| 2 | S1B | เปลือกลำต้นส่วนที่ 1 | 9.6156 | 19.23 |
| 3 | S2B | เปลือกลำต้นส่วนที่ 2 | 9.7610 | 19.52 |
| 4 | S3B | เปลือกลำต้นส่วนที่ 3 | 8.7541 | 17.51 |
| 5 | BrB | เปลือกกิ่ง | 7.6455 | 15.29 |
| 6 | RW | เนื้อไม้ราก | 2.3359 | 4.67 |
| 7 | S1W | เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1 | 1.1028 | 2.21 |
| 8 | S2W | เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2 | 1.3089 | 2.62 |
| 9 | S3W | เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3 | 1.3800 | 2.76 |
| 10 | BrW | เนื้อไม้กิ่ง | 1.1647 | 2.33 |
| 11 | RH | แก่นราก | 5.3970 | 10.79 |
| 12 | S1H | แก่นลำต้นส่วนที่ 1 | 3.9959 | 7.99 |
| 13 | S2H | แก่นลำต้นส่วนที่ 2 | 3.1204 | 6.24 |
| 14 | S3H | แก่นลำต้นส่วนที่ 3 | 1.6697 | 3.34 |
| 15 | BrH | แก่นกิ่ง | 1.5181 | 3.04 |
| 16 | L | ใบ | 8.5242 | 17.05 |
| 17 | LBr | กิ่งใบ | 4.2417 | 8.48 |
| 18 | FW | เปลือกผล | 3.6288 | 7.26 |
| 19 | S | เมล็ด | 6.1693 | 12.3 |




**ภาพที่ 15** ลักษณะสารสกัดส่วนเอทานอล

**4. ผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดด้วยเทคนิค GC-MS**

ทำการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารส่วนสกัดเฮกเซน ด้วยเทคนิค GC-MS โดยใช้เครื่อง Gas Chromatography/Mass Spectrometer (GC-MS) โดยเครื่อง GC ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 plus เครื่องตรวจวิเคราะห์ (detector) ใช้ยี่ห้อ HP รุ่น 5973 mass selective detector (MSD) ชนิด electron impact (EI, 70 eV) ใช้ capillary column (HP5-MSI) และวิเคราะห์องค์ประกอบโดยเปรียบเทียบกับ mass spectra database (WILEY&NIST) และ spectroscopic data ได้ GC chromatogram แสดงองค์ประกอบหลักและปริมาณดังแสดงในตารางที่ 4 ถึง 7

**ตารางที่ 4** แสดงองค์ประกอบทางเคมี และปริมาณขององค์ประกอบในสารสกัดเฮกเซนส่วนเปลือก

| No. | RT | Component | %Area | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | **RB** | **S1B** | **S2B** | **S3B** | **BrB** |
| 1 | 20.59 | cyperene | 2.03 | 2.12 | 0.29 | - | - |
| 2 | 21.43 | beta-caryophyllene | 0.58 | **5.45** | **4.60** | 4.40 | 5.05 |
| 3 | 22.90 | unidentified | 2.66 | 0.24 | - | - | - |
| 4 | 23.66 | 1H-cycloprop[e]azulene | 2.83 | 0.32 | - | - | - |
| 5 | 23.96 | germacrene-D | 2.36 | 1.52 | 0.48 | 0.49 | 0.98 |
| 6 | 24.24 | 8,8-dimethyl-9-methylene-1,5-cycloundecadiene | 3.84 | 0.80 | - | - | - |
| 7 | 27.89 | caryophyllene oxide | 0.01 | **4.17** | 1.68 | 1.62 | 2.89 |
| 8 | 41.60 | palmitic acid / hexadecanoic acid | 2.86 | 2.39 | 1.57 | 0.62 | 0.69 |
| 9 | 45.03 | octadecanoic acid | **8.59** | **8.60** | **6.89** | 3.87 | 2.82 |
| 10 | 46.01 | palmitoyl chloride | 2.46 | 2.17 | 2.25 | 1.45 | 1.17 |
| 11 | 46.13 | unidentified | 0.08 | 0.36 | 0.83 | 2.16 | 4.08 |
| 12 | 46.49 | (Z)-9-octadecenamide | **4.64** | **11.05** | **16.07** | **7.93** | **7.61** |
| 13 | 46.87 | gamma-stosterol / clionasterol | 0.33 | 0.33 | 0.55 | **8.63** | **5.87** |
| 14 | 47.06 | isopropyl linoleate | **12.00** | **11.31** | **13.95** | **7.88** | 4.68 |
| 15 | 47.10 | 3-ethenyl-cyclooctene / bicyclo[[7.1.0]dec-2-ene | **5.02** | 3.24 | **6.96** | 4.06 | 2.75 |
| 16 | 47.14 | tetradecanal | - | 2.56 | - | - | - |
| 17 | 47.21 | n,2-dimethyl-n-nitroso-1-propanamine | 4.13 | 2.60 | 4.82 | 2.54 | 1.89 |
| 18 | 47.49 | friedelan-y-al | 2.78 | 4.22 | 5.50 | 4.86 | **14.93** |
| 19 | 47.64 | unidentified | - | 0.65 | 0.70 | 1.00 | 9.33 |
| 20 | 47.74 | unidentified | 1.22 | 2.72 | 0.82 | 1.15 | - |
| 21 | 47.93 | unidentified | - | 2.04 | 1.31 | 0.53 | - |
| 22 | 48.11 | benzenepropanoic acid | 3.24 | 2.66 | 1.32 | 0.53 | 0.91 |
| 23 | 48.24 | 2-chloro-4-fluoroaniline | **11.05** | 1.67 | 0.47 | 0.67 | 0.22 |
| 24 | 48.55 | lupeol / fagarsterol | - | - | 4.52 | **17.55** | **11.09** |
| 25 | 48.80 | (5.alpha)-androstan-6-one | - | 0.70 | 1.45 | **13.46** | **13.40** |
| 26 | 49.63 | 3-methoxy-6-azaestra-1,3,5(10),6,8-pentaen-17-one | 4.15 | 1.59 | 1.36 | 1.06 | - |
| | | **รวม Area ที่แปลผลได้** | **76.86** | **75.48** | **78.39** | **86.46** | **90.36** |

RT คือ Retention time

%Area คือ ร้อยละพื้นที่ใต้พีค

จากการวิเคราะห์สารสกัดเฮกเซนส่วนเปลือก พบว่า ทั้งเปลือกราก เปลือกลำต้น และเปลือกกิ่งต้น มีองค์ประกอบทางเคมีที่เหมือนกัน คือ beta-caryophyllene, octadecanoic acid, (Z)-9-octadecenamide, isopropyl linoleate และ 3-ethenyl-cyclooctene / bicyclo[[7.1.0]dec-2-ene แต่มีปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งสารที่มีปริมาณสูงที่สุดคือ (Z)-9-octadecenamide

**beta-caryophyllene** พบในสารสกัดเปลือกลำต้นส่วนที่ 1 (S1B) ปริมาณสูงที่สุด คือ 5.45% รองลงมาคือ เปลือกกิ่ง (BrB) 5.05%, เปลือกลำต้นส่วนที่ 2 (S2B) 4.60%, เปลือกลำต้นส่วนที่ 3 (S3B) 4.40% เปลือกราก (RB) 0.58% ตามลำดับ

**octadecanoic acid** พบในสารสกัดเปลือกลำต้นส่วนที่ 1 (S1B) ปริมาณสูงที่สุด คือ 8.60% รองลงมาคือ เปลือกราก (RB) 8.59%, เปลือกลำต้นส่วนที่ 2 (S2B) 6.89%, เปลือกลำต้นส่วนที่ 3 (S3B) 3.87%, เปลือกกิ่ง (BrB) 2.82% ตามลำดับ

**(Z)-9-octadecenamide** พบในสารสกัดเปลือกลำต้นส่วนที่ 2 (S2B) ปริมาณสูงที่สุด คือ 16.07% รองลงมาคือ เปลือกลำต้นส่วนที่ 1 (S1B) 11.05%, เปลือกลำต้นส่วนที่ 3 (S3B) 7.93%, เปลือกกิ่ง (BrB) 7.61% เปลือกราก (RB) 4.64%, ตามลำดับ

**isopropyl linoleate** พบในสารสกัดเปลือกลำต้นส่วนที่ 2 (S2B) ปริมาณสูงที่สุด คือ 13.95% รองลงมาคือ เปลือกราก (RB) 12.00%, เปลือกลำต้นส่วนที่ 1 (S1B) 11.31%, เปลือกลำต้นส่วนที่ 3 (S3B) 7.88%, เปลือกกิ่ง (BrB) 4.68% ตามลำดับ

**3-ethenyl-cyclooctene / bicyclo[[7.1.0]dec-2-ene** พบในสารสกัดเปลือกลำต้นส่วนที่ 2 (S2B) ปริมาณสูงที่สุด คือ 6.96% รองลงมาคือ เปลือกราก (RB) 5.02%, เปลือกลำต้นส่วนที่ 3 (S3B) 4.06%, เปลือกลำต้นส่วนที่ 1 (S1B) 3.24%, เปลือกกิ่ง (BrB) 2.75% ตามลำดับ

ในส่วนขององค์ประกอบหลักที่พบในเปลือกราก (RB) ได้แก่ isopropyl linoleate (12.00%), 2-chloro-4-fluoroaniline (11.05%), octadecanoic acid (8.59%), 3-ethenyl-cyclooctene / bicyclo[[7.1.0]dec-2-ene (5.02%), (Z)-9-octadecenamide (4.64%) ตามลำดับ องค์ประกอบหลักที่พบในเปลือกลำต้นส่วนที่ 1 (S1B) ได้แก่ isopropyl linoleate (11.31%), (Z)-9-octadecenamide (11.05%), octadecanoic acid (8.60%), beta-caryophyllene (5.45%), caryophyllene oxide (4.17%) ตามลำดับ องค์ประกอบหลักที่พบในเปลือกลำต้นส่วนที่ 2 (S2B) ได้แก่ (Z)-9-octadecenamide (16.07%), isopropyl linoleate (13.95%), 3-ethenyl-cyclooctene / bicyclo[[7.1.0]dec-2-ene (6.96%), octadecanoic acid (6.89%), beta-caryophyllene (4.60) ตามลำดับ องค์ประกอบหลักที่พบในเปลือกลำต้นส่วนที่ 3 (S3B) ได้แก่ lupeol / fagarsterol (17.55%), (5.alpha)-androstan-6-one (13.46%), gamma-sitosterol / clionasterol (8.63%), (Z)-9-octadecenamide (7.93%), isopropyl linoleate (7.88%) ตามลำดับ องค์ประกอบหลักที่พบในเปลือกกิ่ง (BrB) ได้แก่ friedelan-y-al (14.93%), (5.alpha)-androstan-6-one (13.40%), lupeol / fagarsterol (11.09%), (Z)-9-octadecenamide (7.61%), gamma-sitosterol / clionasterol (5.87%) ตามลำดับ

**ตารางที่ 5** แสดงองค์ประกอบทางเคมี และปริมาณขององค์ประกอบในสารสกัดเฮกเซนส่วนเนื้อไม้

| No. | RT | Component | %Area | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | RW | S1W | S2W | S3W | BrW |
| 1 | 6.42 | 2-chlorocyclohexanol | 0.14 | 0.47 | 0.52 | 0.31 | 0.30 |
| 2 | 41.72 | hexadecanoic acid | **11.87** | **11.71** | **14.16** | **12.22** | **9.91** |
| 3 | 44.87 | (Z)-9-octadecenoic acid | **41.81** | **39.35** | **42.15** | **19.11** | **19.81** |
| 4 | 45.07 | octadecanoic acid | **10.90** | **10.04** | - | - | 5.57 |
| 5 | 45.24 | (Z,Z)-9,12-octadecadienoic acid | 3.64 | **8.15** | 1.65 | **6.65** | **5.66** |
| 6 | 45.46 | cis,cis-1,5-cyclodecadiene | 1.27 | 2.90 | - | 3.00 | - |
| 7 | 45.57 | linoleic acid / (Z,Z)-9,12-octadecadienoic acid | 1.47 | 2.56 | 2.08 | 1.31 | 1.26 |
| 8 | 46.01 | oleic acid | 0.70 | 0.68 | 0.95 | 1.15 | 0.71 |
| 9 | 46.14 | 1-(1,1-dimethyl-6-indanyl)-4-pheny | 2.26 | 1.04 | 1.47 | 1.72 | 1.78 |
| 10 | 46.49 | (Z)-9-octadecenamide | 2.41 | **6.67** | **4.01** | **6.62** | **3.71** |
| 11 | 46.68 | stigmast-5-en-3-ol | - | - | 0.36 | 0.51 | 0.29 |
| 12 | 46.90 | stigmasterol | **9.23** | 6.17 | **3.45** | **9.31** | **7.33** |
| 13 | 47.06 | isopropyl linoleate | **4.59** | 2.80 | - | - | - |
| 14 | 47.21 | unidentified | 1.42 | 0.34 | 0.79 | 1.88 | 0.37 |
| 15 | 47.47 | friedelan-y-al | 1.11 | 1.89 | 1.36 | 2.64 | 1.09 |
| 16 | 48.55 | (3.beta.)-lup-20(29)-en-3-ol | 1.06 | 0.85 | 1.94 | 1.20 | 0.67 |
| 17 | 49.71 | (3.beta.)-ergost-5-en-3-ol | - | - | **2.57** | 1.91 | 3.48 |
| 18 | 46.42 | 2-chlorocyclohexanol | 0.14 | 0.47 | 0.52 | 0.31 | 0.30 |
| | | **รวม Area ที่แปลผลได้** | 93.74 | 95.15 | 76.94 | 69.23 | 61.64 |

RT คือ Retention time

%Area คือ ร้อยละพื้นที่ใต้พีค

จากการวิเคราะห์สารสกัดเฮกเซนส่วนเนื้อไม้ พบว่า ทั้ง เนื้อไม้ราก เนื้อไม้ลำต้น และเนื้อไม้กิ่งต้น มีองค์ประกอบทางเคมีที่เหมือนกัน คือ hexadecanoic acid, (Z)-9-octadecenoic acid, (Z,Z)-9,12-octadecadienoic acid, (Z)-9-octadecenamide และ stigmasterol แต่มีปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งสารที่มีปริมาณสูงที่สุดคือ (Z)-9-octadecenoic acid

**hexadecanoic acid** พบในสารสกัดเนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2W) ปริมาณสูงที่สุด คือ 14.16% รองลงมาคือ เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3W) 12.22%, เนื้อไม้ราก (RW) 11.87%, เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1W) 11.71% เนื้อไม้กิ่ง (BrW) 9.91% ตามลำดับ

**(Z)-9-octadecenoic acid** พบในสารสกัดเนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2W) ปริมาณสูงที่สุด คือ 42.15% รองลงมาคือ เนื้อไม้ราก (RW) 41.81%, เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1W) 39.35%, เนื้อไม้กิ่ง (BrW) 19.81, เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3W) 19.11% ตามลำดับ

**(Z,Z)-9,12-octadecadienoic acid** พบในสารสกัดเนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1W) ปริมาณสูงที่สุด คือ 8.15% รองลงมาคือ เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3W) 6.65%, เนื้อไม้กิ่ง (BrW) 5.66%, เนื้อไม้ราก (RW) 3.64%, เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2W) 1.65% ตามลำดับ

**(Z)-9-octadecenamide** พบในสารสกัดเนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1W) ปริมาณสูงที่สุด คือ 6.67% รองลงมาคือ เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3W) 6.62%, เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2W) 4.01%, เนื้อไม้กิ่ง (BrW) 3.71%, เนื้อไม้ราก (RW) 2.41% ตามลำดับ

**stigmasterol** พบในสารสกัดเนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3W) ปริมาณสูงที่สุด คือ 9.31% รองลงมาคือ เนื้อไม้ราก (RW) 9.23%, เนื้อไม้กิ่ง (BrW) 7.33%, เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1W) 6.17%, เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2W) 3.45% ตามลำดับ

ในส่วนขององค์ประกอบหลักที่พบในเนื้อไม้ราก (RW) ได้แก่ (Z)-9-octadecenoic acid (41.81%), hexadecanoic acid (11.87%), octadecanoic acid (10.90%), stigmasterol (9.23%), isopropyl linoleate (4.59%) ตามลำดับ องค์ประกอบหลักที่พบในเนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1W) ได้แก่ (Z)-9-octadecenoic acid (39.35%), hexadecanoic acid (11.71%), octadecanoic acid (10.04%), (Z,Z)-9,12-octadecadienoic acid (8.15%), (Z)-9-octadecenamide (6.67%) ตามลำดับ องค์ประกอบหลักที่พบในเนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2W) ได้แก่ (Z)-9-octadecenoic acid (42.15%), hexadecanoic acid (14.16%), (Z)-9-octadecenamide (4.01%), stigmasterol (3.45%), (3.beta.)-ergost-5-en-3-ol (2.57) ตามลำดับ องค์ประกอบหลักที่พบในเนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3W) ได้แก่ (Z)-9-octadecenoic acid (19.11%), hexadecanoic acid (12.22%), stigmasterol (9.31%), (Z,Z)-9,12-octadecadienoic acid (6.65%), (Z)-9-octadecenamide (6.62%) ตามลำดับ องค์ประกอบหลักที่พบในเนื้อไม้กิ่ง (BrW) ได้แก่ Z)-9-octadecenoic acid (19.81%), hexadecanoic acid (9.91%), stigmasterol (7.33%), (Z,Z)-9,12-octadecadienoic acid (5.66%), (Z)-9-octadecenamide (3.71%) ตามลำดับ

**ตารางที่ 6** องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณขององค์ประกอบในสารสกัดเฮกเซนส่วนแก่น

| No. | RT | Component | %Area | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | RH | S1H | S2H | S3H | BrH |
| 1 | 21.42 | beta-caryophyllene | - | - | - | 0.82 | 0.16 |
| 2 | 27.87 | caryophyllene oxide | - | - | - | 1.00 | 2.04 |
| 3 | 41.66 | hexadecanoic acid | 4.96 | **7.11** | 2.56 | 3.54 | 2.93 |
| 4 | 44.21 | beta-stigmasterol | 0.48 | - | - | 0.28 | 0.57 |
| 5 | 44.42 | 3.beta.stigmasta-5,22-dien-3-ol | 1.09 | - | - | - | 0.33 |
| 6 | 44.81 | (Z)-9-octadecenoic acid | **16.68** | **22.47** | **12.34** | **14.03** | **7.10** |
| 7 | 45.03 | octadecanoic acid | **5.16** | **14.59** | 6.10 | **5.60** | 3.83 |
| 8 | 45.18 | hexadecanamide | 4.26 | 6.59 | 6.00 | 5.09 | 4.18 |
| 9 | 45.46 | cis,cis-1,5-cyclodecadiene | 1.06 | 0.58 | - | 0.40 | 0.65 |
| 10 | 46.01 | oleic acid | 0.79 | 1.42 | 0.70 | 0.19 | 0.44 |
| 11 | 46.14 | 1-(1,1-dimethyl-6-indanyl)-4-pheny | 3.45 | 0.66 | 0.56 | 1.88 | **4.75** |
| 12 | 46.36 | E,Z-7,11-hexadecadien-1-ol acetate | 0.54 | - | - | 0.15 | 0.47 |
| 13 | 46.49 | (Z)-9-octadecenamide | **9.07** | **14.34** | **26.00** | **19.28** | **4.75** |
| 14 | 46.68 | stigmast-5-en-3-ol | 1.42 | 2.20 | 3.83 | 2.32 | 1.39 |
| 15 | 46.85 | (3.beta.,24S)-stigmast-5-en-3-ol | - | 1.08 | - | - | 0.68 |
| 16 | 46.96 | gamma-sitosterol | **25.45** | - | **12.46** | **28.47** | **23.30** |
| 17 | 47.06 | isopropyl linoleate | **8.14** | **11.67** | **8.36** | 3.38 | 2.14 |
| 18 | 47.20 | 2-hydroxy-1,3-p octadecanoic acid | 3.37 | 3.54 | 3.18 | 0.55 | 0.32 |
| 19 | 47.47 | friedelan-y-al | 1.37 | 4.13 | 3.50 | 3.20 | 3.31 |
| 20 | 48.24 | unidentified | 0.67 | 0.34 | 0.38 | 0.19 | 0.25 |
| 21 | 48.55 | (3.beta.)-lup-20(29)-en-3-ol | 2.92 | - | 1.90 | 1.19 | 1.60 |
| 22 | 48.78 | D:B-friedo-B | - | 0.82 | - | - | - |
| 23 | 49.29 | 2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene | 1.00 | 1.27 | 0.63 | 0.62 | 0.60 |
| 24 | 49.71 | (3.beta.)-ergost-5-en-3-ol | 2.61 | 4.31 | **10.98** | **7.30** | **8.80** |
| | | **รวม Area ที่แปลผลได้** | **94.49** | **97.12** | **99.48** | **99.48** | **74.59** |

RT คือ Retention time

%Area คือ ร้อยละพื้นที่ใต้พีค

จากการวิเคราะห์สารสกัดเฮกเซนส่วนแก่น พบว่า ทั้ง แก่นราก แก่นลำต้น และแก่นกิ่งต้น มีองค์ประกอบทางเคมีที่เหมือนกัน คือ hexadecanoic acid, (Z)-9-octadecenoic acid, octadecanoic acid, (Z)-9-octadecenamide และ gamma-sitosterol แต่มีปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งสารที่มีปริมาณสูงที่สุดคือ (Z)-9-octadecenoic acid

**hexadecanoic acid** พบในสารสกัดแก่นลำต้นส่วนที่ 1 (S1H) ปริมาณสูงที่สุด คือ 7.11% รองลงมาคือ แก่นราก (RH) 4.96%, แก่นลำต้นส่วนที่ 3 (S3H) 3.54%, แก่นกิ่ง (BrH) 2.93%, แก่นลำต้นส่วนที่ 2 (S2H) 2.56% ตามลำดับ

**(Z)-9-octadecenoic acid** พบในสารสกัดแก่นลำต้นส่วนที่ 1 (S1H) ปริมาณสูงที่สุด คือ 22.47% รองลงมาคือ แก่นราก (RH) 16.68%, แก่นลำต้นส่วนที่ 3 (S3H) 14.03%, แก่นลำต้นส่วนที่ 2 (S2H) 12.34%, แก่นกิ่ง (BrH) 7.10% ตามลำดับ

**octadecanoic acid** พบในสารสกัดแก่นลำต้นส่วนที่ 1 (S1H) ปริมาณสูงที่สุด คือ 14.59% รองลงมาคือ แก่นลำต้นส่วนที่ 2 (S2H) 6.10%, แก่นลำต้นส่วนที่ 3 (S3H) 5.60%, แก่นราก (RH) 5.16%, แก่นกิ่ง (BrH) 3.83% ตามลำดับ

**(Z)-9-octadecenamide** พบในสารสกัดแก่นลำต้นส่วนที่ 2 (S2H) ปริมาณสูงที่สุด คือ 26.00% รองลงมาคือ แก่นลำต้นส่วนที่ 3 (S3H) 19.28%, แก่นลำต้นส่วนที่ 1 (S1H) 14.34%, แก่นราก (RH) 9.07%, แก่นกิ่ง (BrH) 4.75% ตามลำดับ

**gamma-sitosterol** พบในสารสกัดแก่นลำต้นส่วนที่ 3 (S3H) ปริมาณสูงที่สุด คือ 28.47% รองลงมาคือ แก่นราก (RH) 25.45%, แก่นกิ่ง (BrH) 23.30%, แก่นลำต้นส่วนที่ 2 (S2H) 12.46% ตามลำดับ

ในส่วนขององค์ประกอบหลักที่พบในแก่นราก (RH) ได้แก่ gamma-sitosterol (25.45%), (Z)-9-octadecenoic acid (16.68%), (Z)-9-octadecenamide (9.07%), isopropyl linoleate (8.14%), octadecanoic acid (5.16%) ตามลำดับ องค์ประกอบหลักที่พบในแก่นลำต้นส่วนที่ 1 (S1H) ได้แก่ (Z)-9-octadecenoic acid (22.47%), octadecanoic acid (14.59%), (Z)-9-octadecenamide (14.34%), isopropyl linoleate (11.67%), hexadecanoic acid (7.11%) ตามลำดับ องค์ประกอบหลักที่พบในแก่นลำต้นส่วนที่ 2 (S2H) ได้แก่ (Z)-9-octadecenamide (26.00%), gamma-sitosterol (12.46%), (Z)-9-octadecenoic acid (12.34%), (3.beta.)-ergost-5-en-3-ol (10.98%), isopropyl linoleate (8.36) ตามลำดับ องค์ประกอบหลักที่พบในแก่นลำต้นส่วนที่ 3 (S3H) ได้แก่ gamma-sitosterol (28.47%), (Z)-9-octadecenamide (19.28%), (Z)-9-octadecenoic acid (14.03%), (3.beta.)-ergost-5-en-3-ol (7.30%), octadecanoic acid (5.60%) ตามลำดับ องค์ประกอบหลักที่พบในแก่นกิ่ง (BrH) ได้แก่ gamma-sitosterol (23.30%), (3.beta.)-ergost-5-en-3-ol (8.80%), (Z)-9-octadecenoic acid (7.10%), 1-(1,1-dimethyl-6-indanyl)-4-pheny (4.75%), (Z)-9-octadecenamide (4.75%) ตามลำดับ

**ตารางที่ 7** องค์ประกอบทางเคมีและปริมาณขององค์ประกอบในสารสกัดเฮกเซนส่วนใบ กิ่งใบ ฝัก และเมล็ด

| No. | RT | Component | %Area | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | L | LBr | FW | S |
| 1 | 23.51 | trans-caryophyllene | 1.03 | 2.86 | - | - |
| 2 | 30.01 | Carryophyllene oxide | 1.14 | 2.18 | 0.71 | - |
| 3 | 45.24 | (Z,Z)-9,12-octadecadienoic acid | - | - | 1.58 | - |
| 4 | 45.80 | linoleic acid / (Z,Z)-9,12-octadecadienoic acid | 1.07 | 2.03 | 3.02 | - |
| 5 | 45.89 | 1-(1,1-dimethyl-6-indanyl)-4-pheny | - | - | 2.37 | - |
| 6 | 46.14 | unidentified | 1.01 | **5.31** | 3.93 | 3.10 |
| 7 | 46.36 | E,Z-7,11-hexadecadien-1-ol acetate | 2.05 | - | 3.32 | 0.79 |
| 8 | 46.68 | stigmast-5-en-3-ol | - | 2.92 | 4.85 | **8.85** |
| 9 | 46.71 | unidentified | - | - | 3.44 | - |
| 10 | 46.81 | (3.beta,24S)-stigmast-5-en-3-ol | 4.75 | **4.84** | 3.51 | 1.95 |
| 11 | 46.85 | unidentified | 1.30 | - | 3.40 | - |
| 12 | 46.96 | gamma-sitosterol | - | - | 4.48 | - |
| 13 | 47.05 | Isopropyl linoleate | **8.51** | **20.81** | **6.23** | **15.22** |
| 14 | 47.19 | (Z)-9-Octadecenamide | 2.32 | **6.36** | 4.91 | 2.17 |
| 15 | 47.23 | unidentified | - | - | **8.73** | 2.95 |
| 16 | 47.32 | unidentified | 2.19 | 1.03 | **9.98** | - |
| 17 | 47.40 | unidentified | 2.68 | 4.53 | - | **6.05** |
| 18 | 47.47 | friedelan-y-al | **5.78** | - | - | 4.54 |
| 19 | 47.59 | unidentified | 3.32 | **6.81** | - | - |
| 20 | 47.67 | friedelan-y-al | 3.73 | 2.20 | 2.57 | **24.88** |
| 21 | 47.73 | unidentified | **5.47** | 3.41 | 2.73 | **9.68** |
| 22 | 47.87 | unidentified | **5.65** | 3.34 | 2.81 | 4.97 |
| 23 | 47.97 | unidentified | 7.88 | 5.32 | **5.35** | - |
| 24 | 48.15 | unidentified | 4.21 | 2.71 | - | - |
| 25 | 48.24 | unidentified | 6.46 | 4.29 | - | 5.23 |
| 26 | 48.41 | unidentified | **7.64** | - | **5.45** | - |
| 27 | 49.36 | unidentified | 0.48 | 1.76 | 2.53 | 2.16 |
| | | **รวม Area ที่แปลผลได้** | **78.67** | **85.79** | **88.75** | **92.54** |

RT คือ Retention time

%Area คือ ร้อยละพื้นที่ใต้พีค

จากการวิเคราะห์สารสกัดเฮกเซนส่วนใบ กิ่งใบ ฝัก และเมล็ด พบว่า มีองค์ประกอบทางเคมีที่เหมือนกัน คือ unidentified 2 ตัว, (3.beta,24S)-stigmast-5-en-3-ol, isopropyl linoleate และ friedelan-y-al แต่มีปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งสารที่มีปริมาณสูงที่สุดคือ isopropyl linoleate

**unidentified ตัวที่ 1**พบในสารสกัดกิ่งใบ (LBr) ปริมาณสูงที่สุด คือ 5.31% รองลงมาคือ ฝัก (FW) 3.93%, เมล็ด (S) 3.10%, ใบ (L) 1.01% ตามลำดับ

**(3.beta,24S)-stigmast-5-en-3-ol** พบในสารสกัดกิ่งใบ (LBr) ปริมาณสูงที่สุด คือ 4.84% รองลงมาคือ ใบ (L) 4.75%, ฝัก (FW) 3.51%, เมล็ด (S) 1.95% ตามลำดับ

**isopropyl linoleate** พบในสารสกัดกิ่งใบ (LBr) ปริมาณสูงที่สุด คือ 20.81% รองลงมาคือ เมล็ด (S) 15.22%, ใบ (L) 8.51%, ฝัก (FW) 6.23% ตามลำดับ

**friedelan-y-al** พบในสารสกัดเมล็ด (S) ปริมาณสูงที่สุด คือ 24.88% รองลงมาคือ ใบ (L) 3.73%, ฝัก (FW) 2.57%, กิ่งใบ (LBr) 2.20% ตามลำดับ

**unidentified ตัวที่ 2**พบในสารสกัดเมล็ด (S) ปริมาณสูงที่สุด คือ 9.68% รองลงมาคือ ใบ (L) 5.47%, กิ่งใบ (LBr) 3.41%, ฝัก (FW) 2.73% ตามลำดับ

ในส่วนขององค์ประกอบหลักที่พบในใบ (L) ได้แก่ isopropyl linoleate (8.51%), unidentified (7.64%), friedelan-y-al (5.78%), unidentified (5.65%), unidentified (5.47%) ตามลำดับ องค์ประกอบหลักที่พบในกิ่งใบ (LBr) ได้แก่ isopropyl linoleate (20.81%), unidentified (6.81%), Z)-9-octadecenamide (6.36%), unidentified (5.31%), (3.beta,24S)-stigmast-5-en-3-ol (4.84%) ตามลำดับ องค์ประกอบหลักที่พบในฝัก (FW) ได้แก่ unidentified (9.98%), unidentified (8.73%), isopropyl linoleate (6.23%), unidentified (5.45%), unidentified (5.35%) ตามลำดับ องค์ประกอบหลักที่พบในเมล็ด (S) ได้แก่ friedelan-y-al (24.88%), isopropyl linoleate (15.22%), unidentified (9.68%), stigmast-5-en-3-ol (8.85%), unidentified (6.05%) ตามลำดับ

เมื่อตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดด้วยเทคนิค GC-MS พบว่าส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มเทอร์ปีน และเทอร์ปีนอยด์

**5. ผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดส่วนเอทานอล**

ทำการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้น โดยสังเกตสีและตะกอนจากการทำปฏิกิริยา ของสารสกัดฝางส่วนเอทานอล จำนวน 19 ตัวอย่าง ได้แก่ เปลือกราก (RB), เปลือกลำต้นส่วนที่ 1 (S1B), เปลือกลำต้นส่วนที่ 2 (S2B), เปลือกลำต้นส่วนที่ 3 (S3B), เปลือกกิ่งต้น (BrB), เนื้อไม้ราก (RW), เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1W), เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2W), เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3W), เนื้อไม้กิ่งต้น (BrW), แก่นราก (RH), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1H), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2H), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3H), แก่นไม้กิ่งต้น (BrH), ใบ (L), กิ่งใบ (LBr), เปลือกผล (FW), เมล็ด (S) ดังแสดงในตารางที่ 8

**สารกลุ่มแอลคาลอยด์ (Alkaloids)** พบในสารสกัดเอทานอลส่วนเปลือก, เนื้อไม้, ใบ (L), กิ่งใบ (LBr), เปลือกผล (FW), และ เมล็ด (S) เมื่อทดสอบกับน้ำยา Dragendroff's reagent, Mayer's reagent และ Wagner's reagent เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งสีของน้ำยาและตะกอน ขุ่นและมีตะกอนเกิดขึ้น แสดงว่าน่าจะมีสารแอลคาลอยด์อยู่ ให้ทดสอบเพื่อยืนยันผลต่อไป แต่ถ้าไม่มีการขุ่นเกิดขึ้น ส่วนสารสกัดเอทานอลส่วนแก่นไม่มีการขุ่นเกิดขึ้น แสดงว่าไม่มีสารแอลคาลอยด์

**สารกลุ่มไกลโคไซด์ (Glycoside)**

- **กลุ่มแอนทราซีน (Anthracene) หรือ แอนทราควิโนน (Antraquinone)** ทดสอบโดยวิธี Antraquinone glycoside test พบว่า สารสกัดเอทานอลส่วนเปลือกราก (RB), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1H), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2H), และเมล็ด (S) เกิดการเปลี่ยนแปลงในชั้นน้ำยาแอมโมเนีย เกิดเป็นสีแดงในชั้นของน้ำยาแอมโมเนีย แสดงว่ามีกลุ่มอีโมดอล (emodol) ซึ่งเป็นส่วนของโมเลกุลที่ไม่ใช่น้ำตาลของสารประกอบแอนทราควิโนนไกลโคไซด์

- **กลุ่มคูมาริน (Coumarin)** พบในสารสกัดเอทานอลส่วนเปลือก, เนื้อไม้ราก (RW), เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2W), เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3W), เนื้อไม้กิ่งต้น (BrW), แก่นราก (RH), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3H), แก่นไม้กิ่งต้น (BrH), ใบ (L), กิ่งใบ (LBr), เมล็ด (S) เมื่อนำไปส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต เกิดการเรืองแสงสีฟ้าหรือเขียว

- **กลุ่มสเตอรอล (Sterol) หรือ ไตรเทอพีน (Triterpene)** ทดสอบโดยวิธี Liebermann Burchard's test พบว่า สารสกัดเอทานอลส่วนเปลือก, เนื้อไม้, แก่น เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีทันทีเป็นสีแดงหรือน้ำตาลแดง และในระยะเวลา 5 นาที 15 นาที และ 30 นาที เปลี่ยนเป็นสีม่วง จนสุดท้ายเปลี่ยนเป็นสีเขียวหรือเขียวปนฟ้า แสดงว่ามีกลุ่มสเตอรอล (sterol) สารสกัดเอทานอลส่วนเมล็ด สุดท้ายเป็นสีม่วงและคงอยู่ แสดงว่ามีกลุ่มไตรเทอร์พีน (triterpine)

**- กลุ่มคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiac glycoside)** พบในสารสกัดเอทานอลส่วนเนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1W), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1H) และแก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2H) ซึ่งเกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของสีน้ำยาสกัดเป็นสีม่วง

**- กลุ่มซาโปนิน (Saponin)** ไม่พบในสารสกัดส่วนเอทานอลของฝาง

**- กลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)** พบในสารสกัดเอทานอลส่วนแก่นเท่านั้น ได้แก่ แก่นราก (RH), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1H), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2H), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3H), แก่นไม้กิ่งต้น (BrH) โดยแก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1H) สีของน้ำยาเกิดเป็นสีแดง แสดงว่ามีกลุ่มฟลาโวนอล (flavonol) ส่วนแก่นราก (RH), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2H), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3H), แก่นไม้กิ่งต้น (BrH) สีของน้ำยาเกิดเป็นสีส้ม แสดงว่ามีกลุ่มฟลาโวน (flavone)

**- กลุ่มแอนโทรไซยานิน (Anthocyanin)** พบในสารสกัดเอทานอลทุกส่วน ยกเว้นสารสกัดเอทานอลส่วนใบ กล่าวคือพบกลุ่มแอนโทรไซยานินในส่วนเปลือกราก (RB), เปลือกลำต้นส่วนที่ 1 (S1B), เปลือกลำต้นส่วนที่ 2 (S2B), เปลือกลำต้นส่วนที่ 3 (S3B), เปลือกกิ่งต้น (BrB), เนื้อไม้ราก (RW), เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1W), เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2W), เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3W), เนื้อไม้กิ่งต้น (BrW), แก่นราก (RH), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1H), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2H), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3H), แก่นไม้กิ่งต้น (BrH), กิ่งใบ (LBr), เปลือกผล (FW), เมล็ด (S) ซึ่งมีการเปลี่ยนไปของสีน้ำยาจากสีแดงเปลี่ยนเป็นสีม่วงแล้วเป็นสีเขียวหรือน้ำเงิน เมื่อน้ำยามีฤทธิ์เป็นกรด กลาง และด่าง ตามลำดับ

**- กลุ่มแทนนิน (Tannin) หรือ ฟีนอลิค (Phenolic)** พบในสารสกัดเอทานอลจากฝางทุกส่วน ยกเว้นสารสกัดเอทานอลส่วนเนื้อไม้ กล่าวคือ สารสกัดเอทานอลส่วนเปลือกราก (RB), เปลือกลำต้นส่วนที่ 1 (S1B), เปลือกลำต้นส่วนที่ 2 (S2B), เปลือกลำต้นส่วนที่ 3 (S3B), เปลือกกิ่งต้น (BrB) มีแทนนินกลุ่ม กลุ่ม Catechol แก่นราก (RH), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1H), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2H), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3H), แก่นไม้กิ่งต้น (BrH) มีแทนนินกลุ่ม pyrogallol หรือ gallic tannin สารสกัดเอทานอลส่วนใบ (L), กิ่งใบ (LBr), เปลือกผล (FW), เมล็ด (S) มีแทนนินกลุ่ม กลุ่ม catechol เมื่อเติม gelatin ไม่ตกตะกอน แสดงว่าไม่มี tannin แต่มีสารประกอบ phenolic ชนิดอื่น

**ตารางที่ 8** ผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดส่วนเอทานอล

| Sample | Alkaloids | | | Glycoside | | | | | | | Tannin and phenolic test | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Dragendroff's test | Mayer's test | Wagner's test | Antraquinone glycoside test | Courmarin test | Liebermann Burchard's test | Cardiac glycoside test | Saponin test | Flavonoid test | Anthocyanin test | gelatin solution | gelatin solution + NaCl | Ferric chloride |
| **RB** | ++ | + | ++ | + | + | +++ | - | - | - | ++ | ++ | ++ | + |
| **S1B** | ++ | +++ | +++ | - | + | + | - | - | - | +++ | +++ | +++ | ++ |
| **S2B** | + | + | + | - | + | ++ | - | - | - | +++ | +++ | +++ | ++ |
| **S3B** | ++ | ++ | +++ | - | + | + | - | - | - | +++ | +++ | +++ | ++ |
| **BrB** | +++ | ++ | +++ | - | + | + | - | - | - | +++ | +++ | +++ | ++ |
| **RW** | + | + | + | - | + | +++ | - | - | - | ++ | - | - | - |
| **S1W** | ++ | ++ | ++ | - | - | ++ | + | - | - | +++ | - | - | - |
| **S2W** | ++ | ++ | ++ | - | + | ++ | - | - | - | +++ | - | - | - |
| **S3W** | ++ | ++ | ++ | - | + | ++ | - | - | - | +++ | - | - | - |
| **BrW** | ++ | ++ | ++ | - | + | ++ | - | - | - | + | - | - | - |
| **RH** | - | - | - | - | + | ++ | - | - | + | +++ | +++ | +++ | +++ |
| **S1H** | - | - | - | + | - | + | + | - | ++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| **S2H** | - | - | - | + | - | + | + | - | + | +++ | +++ | +++ | +++ |
| **S3H** | - | - | - | - | + | ++ | - | - | + | +++ | + | + | ++ |
| **BrH** | - | - | - | - | + | ++ | - | - | + | +++ | + | + | ++ |

**ตารางที่ 8** ผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดส่วนเอทานอล (ต่อ)

| Sample | Alkaloids | | | Glycoside | | | | | | | Tannin and phenolic test | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Dragendorff's test | Mayer's test | Wagner's test | Antraquinone glycoside test | Courmarin test | Liebermann Burchard's test | Cardiac glycoside test | Saponin test | Flavonoid test | Anthocyanin test | gelatin solution | gelatin solution + NaCl | Ferric chloride |
| **L** | + | - | - | - | ++ | - | - | - | - | - | +++ | +++ | +++ |
| **LBr** | ++ | - | - | - | ++ | - | - | - | - | + | ++ | ++ | ++ |
| **FW** | + | - | - | - | - | - | - | - | - | +++ | +++ | +++ | +++ |
| **S** | +++ | ++ | - | + | + | + | - | - | - | ++ | +++ | +++ | +++ |

**Key:**

- = Negative (absent) ++ = Positive (moderately present)

\+ = Positive (slightly present) +++ = Positive (extremely present)

MAEJO UNIVERSITY

## 6. ผลการตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด

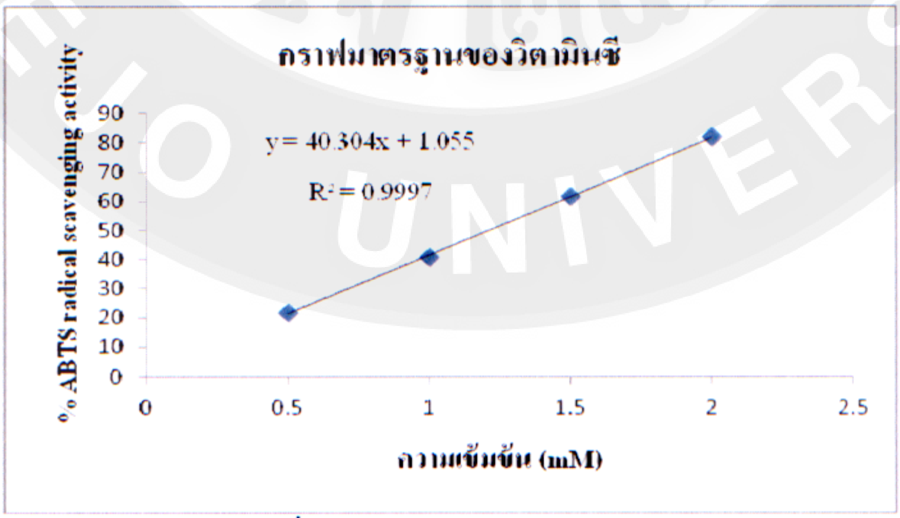
### 6.1 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดฝางส่วนเอทานอล จำนวน 19 ตัวอย่าง ได้แก่ เปลือกราก (RB), เปลือกลำต้นส่วนที่ 1 (S1B), เปลือกลำต้นส่วนที่ 2 (S2B), เปลือกลำต้นส่วนที่ 3 (S3B), เปลือกกิ่งต้น (BrB), เนื้อไม้ราก (RW), เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1W), เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2W), เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3W), เนื้อไม้กิ่งต้น (BrW), แก่นราก (RH), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1H), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2H), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3H), แก่นไม้กิ่งต้น (BrH), ใบ (L), กิ่งใบ (LBr), เปลือกผล (FW), เมล็ด (S)

ทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธี ABTS assay โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานวิตามินซีที่ความเข้มข้น 0.50, 1.00, 1.50 และ 2.00 มิลลิโมลาร์ ได้ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารมาตรฐานวิตามินซี โดยมี % ABTS radical scavenging activity ดังตารางที่ 9 และได้กราฟมาตรฐานดังภาพที่ 16

**ตารางที่ 9** ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารมาตรฐานวิตามินซี

| ความเข้มข้น (mM) | น้ำหนักตัวอย่างในปริมาตร 10 μl (mg) | ความเข้มข้นสุดท้าย (mM) | ค่าการดูดกลืนแสง | | % ABTS radical scavenging activity |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | นาทีที่ 0 | นาทีที่ 1 | |
| 0.50 | 0.000001 | 0.005 | 0.714 | 0.560 | 21.57 |
| 1.00 | 0.000002 | 0.010 | 0.714 | 0.423 | 40.76 |
| 1.50 | 0.000003 | 0.015 | 0.714 | 0.274 | 61.62 |
| 2.00 | 0.000004 | 0.020 | 0.714 | 0.130 | 81.79 |




**ภาพที่ 16** กราฟมาตรฐานของวิตามินซี

การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยวิธี ABTS assay โดยเตรียมสารสกัดให้มีความเข้มข้น 220 ไมโครกรัมในปริมาตร 100 ไมโครลิตร ยกเว้นสารสกัดส่วนแก่น เตรียมให้มีความเข้มข้น 0.55 ไมโครกรัมในปริมาตร 100 ไมโครลิตร พบว่าสารสกัดส่วนแก่นของรากมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงที่สุด โดย 1 มิลลิกรัมตัวอย่างมีฤทธิ์เทียบเท่าวิตามินซี เท่ากับ 0.684 ± 0.107 มิลลิกรัมวิตามินซี ดังตารางที่ 10

**ตารางที่ 10** ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดฝาง

| สารสกัดหยาบ | น้ำหนักสารสกัดในปริมาตร 100 ul (ug) | % ABTS radical scavenging activity | mg of Vitamin C per 1 mg of sample |
|---|---|---|---|
| RB | 220.00 | 89.01 | 0.002 ± 0.000 |
| S1B | 220.00 | 25.74 | 0.000 ± 0.000 |
| S2B | 220.00 | 97.90 | 0.002 ± 0.000 |
| S3B | 220.00 | 82.49 | 0.002 ± 0.000 |
| BrB | 220.00 | 93.74 | 0.002 ± 0.000 |
| RW | 220.00 | 81.75 | 0.002 ± 0.000 |
| S1W | 220.00 | 79.43 | 0.002 ± 0.000 |
| S2W | 220.00 | 97.78 | 0.002 ± 0.000 |
| S3W | 220.00 | 78.10 | 0.002 ± 0.000 |
| BrW | 220.00 | 51.25 | 0.001 ± 0.000 |
| RH | 0.55 | 86.13 | 0.684 ± 0.107 |
| S1H | 0.55 | 95.00 | 0.755 ± 0.054 |
| S2H | 0.55 | 82.60 | 0.656 ± 0.016 |
| S3H | 0.55 | 51.84 | 0.412 ± 0.033 |
| BrH | 0.55 | 45.83 | 0.337 ± 0.011 |
| L | 220.00 | 81.32 | 0.002 ± 0.000 |
| LBr | 220.00 | 80.55 | 0.002 ± 0.000 |
| F | 220.00 | 84.69 | 0.002 ± 0.000 |
| S | 220.00 | 60.32 | 0.001 ± 0.000 |

จากผลการหาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดส่วนเอทานอล ส่วนแก่น พบว่ามีสารกลุ่มแอนโทรไซยานิน แทนนิน และฟีนอลิก เป็นองค์ประกอบนั้น ซึ่งสัมพันธ์กับการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดฝางซึ่งมี % ABTS radical scavenging activity ที่ความเข้มข้นของ

สารสกัด 0.55 นาโนกรัมต่อ 100 ไมโครลิตร พบว่าสารสกัดจากแก่นมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงที่สุด ได้แก่ แก่นราก (RH), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 1 (S1H), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 2 (S2H), แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 3 (S3H), แก่นไม้กิ่งต้น (BrH) โดย 1 มิลลิกรัมตัวอย่างมีฤทธิ์เทียบเท่าวิตามินซี เท่ากับ 0.684 $\pm$ 0.107, 0.755 $\pm$ 0.054, 0.656 $\pm$ 0.016, 0.412 $\pm$ 0.033 และ0.337 $\pm$ 0.011 มิลลิกรัมวิตามินซี ตามลำดับ

**6.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย**

**การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัด**

**1. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดฝาง ด้วยวิธี disc diffusion method**

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจากสารสกัดฝางส่วนเอทานอล ด้วยวิธี disc diffusion method (ตารางที่ 11) พบว่า สารสกัดฝางที่ความเข้มข้น 512 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใน 1% DMSO ส่วนแก่น (ราก, ลำต้นส่วนที่ 1, ลำต้นส่วนที่ 2) สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกชนิด มีฤทธิ์การยับยั้ง *B. cereus* DMST 5040 และ *S. aureus* DMST 8840 ได้มากที่สุด

สารสกัดเอทานอลจากแก่นราก (RH) มีฤทธิ์การยับยั้ง *B. cereus* DMST 5040 โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยังยั้งได้ 27.50 $\pm$ 0.50 มิลลิเมตร แก่นลำต้นส่วนที่ 1 (S1H) วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยังยั้งได้ 25.19 $\pm$ 2.13 มิลลิเมตร และแก่นลำต้นส่วนที่ 2 (S2H) วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยังยั้งได้ 24.83 $\pm$ 1.04 มิลลิเมตร

สารสกัดเอทานอลจากแก่นราก (RH) มีฤทธิ์การยับยั้ง *S. aureus* DMST 8840 โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยังยั้งได้ 31.17 $\pm$ 0.58 มิลลิเมตร แก่นลำต้นส่วนที่ 1 (S1H) วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยังยั้งได้ 24.33 $\pm$ 2.25 มิลลิเมตร และแก่นลำต้นส่วนที่ 2 (S2H) วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยังยั้งได้ 26.00 $\pm$ 3.04 มิลลิเมตร

**2. การหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรีย**

ผลการตรวจสอบค่า MIC และ MBC ของสารสกัดจากฝางส่วนเอทานอล (ตารางที่ 12) พบว่า สารสกัดฝางที่ความเข้มข้น 512 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรใน 1% DMSO ส่วนแก่นราก ยับยั้งและฆ่าเชื้อ *B. cereus* DMST 5040 ได้ดีสุด มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.06/0.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ ยับยั้งและฆ่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *S. aureus* DMST 8840 มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.25/0.25 และ 0.06/2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

**ตารางที่ 11** บริเวณการยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) ของสารสกัดจากฝางส่วนเอทานอล

| เชื้อที่ใช้ทดสอบ | Inhibition zone (mm) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | สารสกัดหยาบส่วนเปลือก | | | | | สารสกัดหยาบส่วนเนื้อไม้ | | | | | สารสกัดหยาบส่วนแก่น | | | | | สารสกัดหยาบส่วนใบและฝัก | | | | Control |
| | **RB** | **S1B** | **S2B** | **S3B** | **BrB** | **RW** | **S1W** | **S2W** | **S3W** | **BrW** | **RH** | **S1H** | **S2H** | **S3H** | **BrH** | **L** | **LBr** | **FW** | **S** | |
| 1. LM DMST 17303 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 26.33 ±0.29 | 20.33 ±3.18 | 22.50 ±1.80 | 13.00 ±0.87 | 11.67 ±1.61 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2. BC DMST 5040 | 6.83 ±0.29 | 9.50 ±0.50 | 10.50 ±0.50 | 10.00 ±0.00 | 9.17 ±0.76 | 7.83 ±0.58 | 9.17 ±1.04 | 11.67 ±0.76 | 8.33 ±0.76 | 7.17 ±0.76 | 27.50 ±0.50 | 25.19 ±2.13 | 24.83 ±1.04 | 17.83 ±2.52 | 13.17 ±1.89 | 0 | 0 | 7.50 ±0.00 | 0 | 0 |
| 3. SA DMST 8840 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9.00 ±1.50 | 11.67 ±0.29 | 0 | 0 | 31.17 ±0.58 | 24.33 ±2.25 | 26.00 ±3.04 | 15.50 ±0.87 | 13.33 ±2.36 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4. ST DMST 5784 | 0 | 9.67 ±0.58 | 9.83 ±1.04 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13.67 ±0.29 | 10.83 ±0.29 | 11.83 ±1.04 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5. SE Gr.B | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10.83 ±0.58 | 8.50 ±0.50 | 8.00 ±0.87 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6. SS | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7.17 ±0.29 | 11.17 ±0.29 | 8.17 ±0.29 | 8.17 ±0.29 | 0 | 16.83 ±1.26 | 13.50 ±1.32 | 12.83 ±2.25 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7. EC DMST 4212 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11.83 ±1.04 | 9.17 ±0.29 | 9.50 ±0.00 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8. VP | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 27.50 ±0.00 | 23.00 ±0.00 | 25.00 ±0.00 | 13.00 ±0.00 | 8.50 ±0.00 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

LM DMST 17303: *Listeria monocytogene* DMST 17303, BC DMST 5040: *Bacillus cereus* DMST 5040, SA DMST 8840: *Staphylococcus aureus* DMST 8840, ST DMST 5784: *Salmonella Typhi* DMST 5784, SE Gr.B: *Salmonella enteritidis* group B., SS: *Shigella sonnei*, EC DMST 4212: *Escherichia coli* DMST 4212, VP: *Vibrio parahaemolyticus*

MAEJO UNIVERSITY

**ตารางที่ 12** ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากฝางส่วนเอทานอล

| เชื้อที่ใช้ทดสอบ | MIC/MBC (mg/ml) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ส่วนเปลือก | | | | | ส่วนเนื้อไม้ | | | | | ส่วนแก่น | | | | | ส่วนใบและฝัก | | | | Control |
| | RB | S1B | S2B | S3B | BrB | RW | S1W | S2W | S3W | BrW | RH | S1H | S2H | S3H | BrH | L | LBr | FW | S | |
| 1. LM 17303 | 8/ >16 | 4/ >16 | 4/ >16 | 4/ >16 | 4/ >16 | 8/ >16 | >16/ >16 | 8/ >16 | 16/ >16 | 16/ >16 | 0.125/ 2 | 0.125/ 1 | 0.25/ 4 | 2/ 8 | 1/ 16 | 16/ >16 | 16/ >16 | 16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 |
| 2. BC 5040 | 16/ 16 | 4/ 4 | 4/ 4 | 4/ 8 | 4/ 4 | 8/ 8 | 8/ 16 | 8/ 16 | 8/ >16 | 16/ >16 | 0.06/ 0.125 | 0.25/ 8 | 0.25/ 8 | 2/ 2 | 1/ 2 | 16/ 16 | 16/ 16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 |
| 3. SA 8840 | >16/ >16 | 8/ 8 | 8/ 8 | 8/ 16 | 8/ >16 | >16/ >16 | 8/ 8 | 8/ 8 | 8/ 16 | 16/ >16 | 0.06/ 2 | 0.125/ 1 | 0.125/ 0.5 | 2/ 16 | 0.25/ 1 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 |
| 4. ST 5784 | >16/ >16 | 8/ >16 | 8/ >16 | 8/ >16 | 8/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | 0.5/ 1 | 1/ 2 | 1/ 1 | 8/ 8 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 |
| 5. SE Gr.B | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | 2/ 16 | 2/ 4 | 2/ 4 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 |
| 6. SS | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | 1/ 1 | 2/ 2 | 2/ 2 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 |
| 7. EC4212 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | 2/ 2 | 2/ 2 | 2/ 2 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 | >16/ >16 |
| 8. VP | 16/ 16 | 8/ 8 | 8/ 8 | 8/ 8 | 8/ 8 | 8/ 8 | 8/ 16 | 4/ 16 | 8/ 8 | 8/ 16 | 0.25/ 0.25 | 0.5/ 0.5 | 0.25/ 0.25 | 2/ 2 | 2/ 2 | 16/ 16 | 4/ 16 | 2/ 16 | >16/ >16 | >16/ >16 |

LM DMST 17303: *Listeria monocytogene* DMST 17303, BC DMST 5040: *Bacillus cereus* DMST 5040, SA DMST 8840: *Staphylococcus aureus* DMST 8840, ST DMST 5784: *Salmonella Typhi* DMST 5784, SE Gr.B: *Salmonella enteritidis* group B., SS: *Shigella sonnei*, EC DMST 4212: *Escherichia coli* DMST 4212, VP: *Vibrio parahaemolyticus*

# สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

## สรุปผลการวิจัย

ปริมาณร้อยละผลผลิต (% yield) ของสารสกัดที่สกัดได้จากส่วนต่างๆ ของฝาง 19 ส่วน โดยนำตัวอย่างฝางน้ำหนัก 50.00 กรัม สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เพื่อแยกส่วนน้ำมันออกจากตัวอย่างก่อน เรียกว่า ส่วนสกัดเฮกเซน (hexane fraction) พบว่า สารสกัดส่วนเมล็ด มีปริมาณน้ำมันสูงที่สุด คือ มีร้อยละผลผลิต เท่ากับ 9.86 รองลงมาได้แก่ สารสกัดส่วนเปลือกราก มีร้อยละผลผลิต เท่ากับ 2.33 สารสกัดส่วนใบ มีร้อยละผลผลิต เท่ากับ 2.16 และสารสกัดส่วนเปลือกลำต้นส่วนที่ 3 มีร้อยละผลผลิต เท่ากับ 1.65 ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดส่วนเฮกเซนมีสีเหลืองใส

การสกัดกากตัวอย่างที่ผ่านการแยกน้ำมันออกด้วยเฮกเซนแล้ว มาสกัดต่อด้วยด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 95% ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เพื่อดึงเอาสารสำคัญออกมา เรียกว่า ส่วนสกัดเอทานอล (ethanol fraction) พบว่าสารสกัดส่วนเปลือกลำต้นส่วนที่ 2 มีร้อยละผลผลิต สูงที่สุด คือ 19.52 % รองลงมาได้แก่ สารสกัดส่วนเปลือกลำต้นส่วนที่ 1 (19.23%), สารสกัดส่วนเปลือกลำต้นส่วนที่ 3 (17.51%) และสารสกัดส่วนใบ (17.05%) ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดส่วนเอทานอลเป็นผงสีเหลืองเข้มออกน้ำตาล

การวิเคราะห์สารสกัดเฮกเซนส่วนเปลือกราก เปลือกลำต้น และเปลือกกิ่งต้น มีองค์ประกอบทางเคมีที่เหมือนกัน คือ beta-caryophyllene, octadecanoic acid, (Z)-9-octadecenamide, isopropyl linoleate และ 3-ethenyl-cyclooctene / bicyclo[[7.1.0]dec-2-ene สารสกัดเฮกเซนส่วนเนื้อไม้ราก เนื้อไม้ลำต้น และเนื้อไม้กิ่งต้น มีองค์ประกอบทางเคมีที่เหมือนกัน คือ hexadecanoic acid, (Z)-9-octadecenoic acid, (Z,Z)-9,12-octadecadienoic acid, (Z)-9-octadecenamide และ stigmasterol สารสกัดเฮกเซนส่วนแก่นราก แก่นลำต้น และแก่นกิ่งต้น มีองค์ประกอบทางเคมีที่เหมือนกัน คือ hexadecanoic acid, (Z)-9-octadecenoic acid, octadecanoic acid, (Z)-9-octadecenamide และ gamma-sitosterol สารสกัดเฮกเซนส่วนใบ กิ่งใบ ฝัก และเมล็ด พบว่า มีองค์ประกอบทางเคมีที่เหมือนกัน คือ unidentified 2 ตัว, (3.beta,24S)-stigmast-5-en-3-ol, isopropyl linoleate และ friedelan-y-al

สารกลุ่มแอลคาลอยด์พบในสารสกัดเอทานอลส่วนเปลือก เนื้อไม้ ใบ กิ่งใบ เปลือกผลและเมล็ด สารกลุ่มไกลโคไซด์ในส่วนของกลุ่มแอนทราซีน หรือ แอนทราควิโนน พบในสารสกัดเอทานอลส่วนเปลือกราก แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 1 แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 2 และเมล็ด สาร กลุ่มคูมารินพบในสารสกัดเอทานอลส่วนเปลือก เนื้อไม้ราก เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 2 เนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 3 เนื้อไม้กิ่งต้น แก่นราก แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 3 แก่นไม้กิ่งต้น ใบ กิ่งใบ เมล็ด สารกลุ่มสเตอรอล หรือ ไตร

เทอพีน พบในสารสกัดเอทานอลส่วนเปลือก เนื้อไม้ แก่น และเมล็ด กลุ่มคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ พบในสารสกัดเอทานอลส่วนเนื้อไม้ลำต้นส่วนที่ 1 แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 1 และแก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 2 สารกลุ่มฟลาโวนอยด์พบในสารสกัดเอทานอลส่วนแก่นเท่านั้น สารกลุ่มแอนโทรไซยานินพบในสารสกัดเอทานอลทุกส่วน ยกเว้นส่วนใบ สาร กลุ่มแทนนินหรือฟีนอลิคพบในสารสกัดเอทานอลจากฝางทุกส่วน ยกเว้นส่วนเนื้อไม้ การหาองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดส่วนเอทานอลส่วนแก่นพบว่ามีสารกลุ่มแอนโทรไซยานิน แทนนิน และฟีนอลิก เป็นองค์ประกอบนั้น ซึ่งสัมพันธ์กับการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดฝางซึ่งมี % ABTS radical scavenging activity ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 0.55 นาโนกรัมต่อ 100 ไมโครลิตร พบว่าสารสกัดจากแก่นมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงที่สุด ได้แก่ แก่นราก แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 1 แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 2 แก่นไม้ลำต้นส่วนที่ 3 แก่นไม้กิ่งต้น โดยมี มี % ABTS radical scavenging activity เท่ากับ 86.13, 95.00, 82.60, 51.84 และ 45.83% ตามลำดับ และมีค่า 1 มิลลิกรัมตัวอย่างมีฤทธิ์เทียบเท่าวิตามินซี เท่ากับ 0.684 $\pm$ 0.107, 0.755 $\pm$ 0.054, 0.656 $\pm$ 0.016, 0.412 $\pm$ 0.033 และ0.337 $\pm$ 0.011 มิลลิกรัมวิตามินซี ตามลำดับ

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจากสารสกัดฝางส่วนเอทานอล ด้วยวิธี disc diffusion method พบว่า สารสกัดฝางที่ความเข้มข้น 512 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใน 1% DMSO ส่วนแก่น (ราก, ลำต้นส่วนที่ 1, ลำต้นส่วนที่ 2) สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกชนิด มีฤทธิ์การยับยั้ง *B. cereus* DMST 5040 และ *S. aureus* DMST 8840 ได้มากที่สุด ส่วนแก่นรากสามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อ *B. cereus* DMST 5040 ได้ดีที่สุด มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.06/0.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือยับยั้งและฆ่าเชื้อ *V. parahaemolyticus* และ *S. aureus* DMST 8840 มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 0.25/0.25 และ 0.06/2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

**ข้อเสนอแนะ**

การทำวิจัยเรื่องนี้ สามารถนำข้อมูลวิธีการสกัด และข้อมูลองค์ประกอบทางเคมี ข้อมูลด้านพฤกษเคมีของพืชสมุนไพร และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดไปต่อยอด และใช้เป็นข้อมูลในการพัฒนาต่อยอดด้านการพัฒนาสารสกัดจากฝางเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ด้านสุขภาพและเครื่องเวชสำอางต่อไป

**การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์**

นำความรู้ที่ได้จากงานวิจัย เช่น องค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของฝางให้ชุมชนบ้านโปง จัดฝึกอบรม หัวข้อ เรื่อง “คุณสมบัติและสาระสำคัญของฝาง” ของโครงการการฝึกอบรม เรื่อง “การใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรฝาง” ในวันที่ 26 พฤศจิกายน 2559 ณ ศาลาชุมชน บ้านป่าโปง ตำบลป่าไผ่ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อประชาชนทั่วไปหรือชุมชนได้รับทราบในประโยชน์และคุณค่าดังกล่าว และได้นำไปประยุกต์ใช้เองได้อย่างง่าย ในการสร้างผลิตภัณฑ์ของชุมชนใหม่ๆ เพิ่มขึ้น เช่น น้ำสมุนไพรจากฝาง ทำให้มูลค่าของฝางเพิ่มมากขึ้น

**ผลลัพธ์ที่ได้จากการทดลอง**

ได้องค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของฝาง

# เอกสารอ้างอิง


กมลชนก โพธิ์เกษม. 2560. สารประกอบทางเคมีและเภสัชวิทยาของพืชสมุนไพร. จาก *https://sites.google.com/site/kamonchanokeiei/sarprakxb-thang-khemi-laea-phesachwithya-khxng-phuch-smunphir* [25 เมษายน 2560].

จารวี สุขประเสริฐ และสุบงกช ทรัพย์แตง. 2555. การศึกษาผลของตัวทำละลายในการสกัดสมุนไพรที่มีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรีย. **วารสารผลงานวิชาการ กรมวิทยาศาสตร์บริการ.** 1(1): 99-100.

ใจนุช กาญจนภู, รวิวรรณ แก้มอมตะวงศ์, สุภารัตน์ คำแดง, กัลยาภัทร ชินทราย, ศิรินุช อุบลวัฒน์ และขวัญเรือน จันดี. 2554. ศึกษาฤทธิ์ของสมุนไพรในตำรับยาสตรีแผนโบราณต่อการหดตัวของมดลูก. **วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ.** 6(3):202-208.

ทิพย์สุดา ตั้งตระกูล, รุ่งทิพย์ กาวารี และนงคราญ พงศ์ตระกุล. 2551. **รายงานผลการดำเนินงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ประจำปี พ.ศ. 2551.** งาน 402 การศึกษาสารออกฤทธิ์ในน้ำมันหอมระเหยจากใบฝาง. หน้า 73-82.

ธีรวุฒิ หวังอำนวยพร และรัชนี ไสยประจง. 2550. **ความสามารถในการต้านจุลินทรีย์และต้านสารอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรไทยบางชนิด.** รายงานการวิจัยมหาวิทยาลัยหอการค้าไทย. 76 หน้า

ประภาศรี เลาหเวชวานิช. 2547. อาหารต้านอนุมูลอิสระ. **หมอชาวบ้าน.** 26(306): 50-51.

ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร, พิทัย กาญบุตร และสาธร พรตระกูลพิพัฒน์. 2551. การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ. **รายงานการประชุมวิชาการสัตวแพทย์ศาสตร์ มข. ครั้งที่ 9 "สัตวแพทย์ทางเลือกวันนี้"** คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 11-12 มิถุนายน: 91-101.

พรทิพย์ วิรัชวงศ์. 2549. อนุมูลอิสระ/สารต้านอนุมูลอิสระ. วิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์. จาก *http://www.gpo.or.th/rdi/htmls/antioxidants.html* [14 มกราคม 2549].

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. 2560. Phenolic compounds / สารประกอบฟีนอล. ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร. จาก *http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compound* [9 เมษายน 2560].

Basu, U., Good, A.G., Aung, T., Slaski, J.J., Basu, A., Briggs, K.G. and Taylor, G.J. 1999. A 23-kDa, root exudate polypeptide co-segregates with aluminum resistance in *Triticum aestivum*. **Physiol. Plant.** 106:53-61.

Bukke, A.N., Hadi, F.N. and Produtur, C.S. 2015. Comparative study of *in vitro* antibacterial activity of leaves, bark, heart wood and seed extracts of *Caesalpinia sappan* L. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease.** 5(11):903-907.

Deng, Z.T., Su, J., Ding, L.F., Tu, W.C., Yang, H., Peng, L.Y., Zhao, Q.S., Song, L.D. and Wu, X.D. 2016. Six new cassane diterpenoids from the seeds of *Caesalpinia sappan*. **Phytochemistry Letters.** 16:207–212.

Garge, S.C. and Oswal, V.B. 1993. Unsaponifiable Matter of fixed oil from the seeds of *Caesalpinia sappan* Linn. **Asian. J. Chemistry.** 5(3): 676-678.

Guleria, B.S., Manav, A.K. and Indrayan, A.K. 1997. Isolation and extraction of medicinally useful dye from the heart wood of *Caesalpinia sappan* Linn. using different solvents. **Asian J. Chem.** 9(4):816-818.

Harborne, J.B. 1998. **Phytochemical Methods. A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis.** 3rd ed. London: Chapman & Hall. pp. 182-190.

Hu, J., Yan, X., Wang, W., Wu, H., Hua, L. and Du, L. 2008. Antioxidant activity *in vitro* of Three Constituents from *Caesalpinia sappan* L. **Tsinghua Science & Technology**. 13(4): 474-479.

Huang, D., Ou, B. and Prior, R.L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 53: 1841-1856

Hudson, B.J.F. 1990. **Food Antioxidants. London**: Elsevier Applied Science Ltd.

Ma, G.X., Zhu, Y.D., Sun, Z.H., Yuan, J.Q., Xie, Y., Zhang, X.P., Tian, Y., Yang, J.S., Wu, H.F. and Xu, X.D. 2014. Three new cassane diterpenes from the seeds of *Caesalpinia sappan*. **Phytochemistry Letters.** 8:141–144.

Namikoshi, M., Nakata, H. and Saitoh, T. 1987. Homoisoflavonoids from *Caesalpinia sappan*. **Phytochemistry.** 26(6): 1831-1833.

Nguyen, H.X., Nguyen, M.T.T., Nguyen, T.A., Nguyen, N.Y.T., Phan, D.A.T., Thi, P.H., Nguyen, T.H.P., Dang, P.H., Nguyen, N.T., Ueda, J. and Awal, S. 2013. Cleistanthane