บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ข้อมูลพืชสมุนไพร

เร่วหอม

พงษ์ศักดิ์ พลเสนา (2550, หน้า 25-26) ได้กล่าวถึงเร่วหอมเกี่ยวกับลักษณะทั่วไป และสรรพคุณไว้ดังนี้

เร่วหอม มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Etlingera pavieana* (Pierre ex Gagnep.) R.M. Smith อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae พบครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ.1870 ที่ประเทศกัมพูชา โดยนักพฤกษศาสตร์ชาวฝรั่งเศสชื่อ Pierre J. B. L. โดยได้ให้ชื่อทางพฤกษศาสตร์ว่า *Amomum pavieanum* Pierre ex Gagnep. ต่อมา Loesener L. E. T. ได้ย้ายเร่วหอมจากสกุล *Amomum* มาอยู่ในสกุล *Achasma* แล้วได้ตั้งชื่อใหม่ว่า *Achasma pavieanum* (Pierre ex Gagnep.) Loes. และล่าสุดเมื่อ ค.ศ.1986 Smith R. M. ได้ทำการย้ายเร่วหอมมาอยู่ในสกุล*Etlingera* ดังที่ปรากฏในปัจจุบัน (พงษ์ศักดิ์ พลเสนา, หน้า 25-26 อ้างถึงใน Burtt & Smith, 1986) ซึ่งจากการศึกษาของ Dr. Axel Dalberg Poulsen ผู้เชี่ยวชาญพันธุ์ไม้สกุล *Etlingera* จากสวนพฤกษศาสตร์หลวงเอดินบะระ ได้ทำการศึกษาร่วมกับ นายพงษ์ศักดิ์ พลเสนา นักวิชาการป่าไม้กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช พบว่ายังไม่มีรายงานทางพฤกษศาสตร์ว่าเคยพบพืชชนิดนี้ในประเทศไทยมาก่อน จึงถือว่าเร่วหอมนั้นเป็นพันธุ์ไม้ชนิดใหม่ของไทย โดยชาวสวนในจังหวัดจันทบุรีและจังหวัดตราด นำเร่วหอมจากป่ามาปลูกตามสวนหลังบ้าน หรือปลูกแซมในสวนผลไม้ เพื่อนำเหง้ามาใส่แกงเนื้อ หรือใส่ในหม้อก๋วยเตี๋ยวเพื่อดับกลิ่นคาว เพิ่มรสชาติ และช่วยขับลม ส่วนหน่ออ่อนนำมาต้มหรือแกงเป็นอาหาร

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ เร่วหอม หรือ *Etlingera pavieana* (Pierre ex Gagnep.) R.M. Smith เป็นพรรณไม้วงศ์ Zingiberaceae อยู่ในสกุลเดียวกับดาหลาและปุด ช่อดอกของเร่วหอมแทงออกจากเหง้าใต้ดิน กลีบดอกสีแดงสด ทุกส่วนมีกลิ่นหอมแรงเฉพาะตัว ชอบขึ้นในป่าดิบชื้นที่มีดินอุดมสมบูรณ์ มีความชื้นสูง และมีร่มเงาของไม้ใหญ่ เร่วหอมมีเขตการกระจายพันธุ์อยู่ในประเทศกัมพูชา ลาว และเวียดนาม (พงษ์ศักดิ์ พลเสนา, หน้า 25-26 อ้างถึงใน Larsen, 1981) และในประเทศไทยพบมากในภาคตะวันออก บริเวณเขาชะเมาในจังหวัดระยอง เขาสอยดาวในจังหวัดจันทบุรี และเกาะช้างในจังหวัดตราด

สำหรับสรรพคุณของเร่วหอมนั้น พบว่ามีสรรพคุณช่วยในการขับปัสสาวะ ขับลมในลำไส้ ช่วยย่อยอาหาร และแก้อาการท้องอืดท้องเฟ้อ จุกเสียดแน่นท้อง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาพที่ 2-1 เหง้าเร่วหอม

กระวาน

กระวาน มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Amomum krevanh* Pierre อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae เป็นพืชเมืองร้อนวงศ์เดียวกับขิงและข่า โดยต้นกระวานจะขึ้นรวมกันเป็นกอ และมีเหง้าอยู่ใต้ดิน ดอกออกเป็นช่อแทงจากโคนต้นซึ่งต่อมาจะกลายเป็นผล ในแต่ละช่อจะมีผลรวม 10-20 ผล กระวานชอบขึ้นในที่ร่มหรือใต้ร่มไม้อื่นที่มีความชื้นสูง มีฝนตกชุก และอยู่สูงจากระดับน้ำทะเลอย่างน้อย 800 ฟุต มักพบกระวานขึ้นอยู่ทั่วไปตามไหล่เขาบริเวณป่าดงดิบ สำหรับส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์คือผลแก่ซึ่งภายในมีเมล็ดที่มีกลิ่นหอม รสเผ็ดร้อน ใช้ประโยชน์ได้ทั้งในด้านอาหารและด้านยารักษาโรค

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกระวาน คือ มีลำต้นเป็นเหง้าหรือหัวใต้ดิน มีข้อประมาณ 8-20 ข้อ กระวานเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ก้านใบโค้งมีกาบใบติดกัน ใบออกสลับกันที่โคนต้น ใบมีสีเขียวเป็นมัน ปลายใบเรียวแหลม โคนใบมน ผิวใบเรียบ ใบสูงจากพื้นดินประมาณ 2-12 ฟุต ดอกออกเป็นช่ออยู่ใกล้โคนต้นบริเวณผิวดิน กลีบดอกสีเหลือง ออกผลเป็นช่อ ผลกลม ช่อหนึ่ง ๆ มีผลประมาณ 10-20 ผล รูปกลม ภายในผลมีเมล็ดประมาณ 9-18 เมล็ด เมล็ดมีกลิ่นหอมฉุนคล้ายการบูร มีรสเผ็ด

สรรพคุณของกระวาน กระวานเป็นสมุนไพรที่มีฤทธิ์ขับลมในกระเพาะอาหาร ใช้แก้อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ จุกเสียดแน่นท้อง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาพที่ 2-2 เมล็ดกระวาน

การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร

การสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรทำได้หลายวิธีการ สำหรับการสกัดเบื้องต้นจะได้องค์ประกอบเป็นของผสมหรือสารสกัดหยาบ ซึ่งสารสกัดหยาบเป็นสิ่งที่ได้จากการสกัดสมุนไพรโดยใช้ตัวทำละลาย สารสกัดหยาบนี้เป็นของผสมขององค์ประกอบทางเคมีของสมุนไพร ซึ่งจะมีทั้งองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาซึ่งมักเรียกว่าสารสำคัญ และองค์ประกอบที่ไม่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ซึ่งเรียกว่าสารเฉื่อย โดยชนิดและสัดส่วนขององค์ประกอบในสารสกัดจะเปลี่ยนไปตามสภาพของสมุนไพรที่ใช้และสภาวะที่ใช้ในการสกัด สำหรับการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยทำการสกัดด้วยวิธีการสกัดมาเซอเรชัน ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

วิธีการสกัดมาเซอเรชัน (Maceration)

มาเซอเรชัน เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชโดยการหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายจนกระทั่งเนื้อเยื่อของสมุนไพรอ่อนนุ่ม และตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในผงสมุนไพรออกมาได้ โดยการหมักสมุนไพรควรทำในภาชนะที่มีฝาปิดสนิท ในการสกัดจะใช้เวลานาน 7 วัน หรือตามกำหนดในเภสัช หรือจนกระทั่งองค์ประกอบที่ต้องการละลายออกมาหมด ระหว่างทำการหมักนั้นควรเขย่าหรือคนเป็นครั้งคราวเพื่อเพิ่มอัตราเร็วของการสกัด เมื่อครบกำหนดเวลาจึงกรองแยกกากออกจากตัวทำละลาย การสกัดแบบนี้เหมาะสมกับพืชสมุนไพรที่มีโครงสร้างหรือเนื้อเยื่อที่ไม่แข็งแรงมากนัก เช่น ใบ ดอก ซึ่งทำให้อ่อนนุ่มได้ง่าย จัดเป็นวิธีการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายปริมาณน้อย จึงเป็นวิธีการที่ประหยัดและคุ้มค่า

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม

ในการสกัดสารสำคัญจากพืชนั้น จะต้องเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสมกับสารที่ต้องการจะแยก ซึ่งมีหลักที่ควรพิจารณาในการเลือกตัวทำละลาย ดังต่อไปนี้

1. คุณสมบัติของสารที่ต้องการสกัด เช่น ความมีขั้วของสาร ความคงตัวของสารในตัวทำละลายนั้นในอุณหภูมิสูง
2. มีความสามารถในการละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี
3. ไม่ละลายปนเป็นเนื้อเดียวกันกับสารละลายของสารผสมที่ถูกสกัดนั้น
4. ไม่ควรละลายสิ่งเจือปนหรือสารที่ไม่ต้องการ
5. สามารถแยกออกจากตัวถูกละลายได้ง่ายภายหลังที่สกัดแล้ว
6. ไม่ควรทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด
7. ตัวทำละลายควรมีราคาไม่แพงมาก

ความมีขั้วของตัวทำละลายต่าง ๆ ที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญจากพืช แสดงดังตารางที่ 2-1

ตารางที่ 2-1 แสดงความมีขั้วของตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

ความมีขั้ว	ตัวทำละลาย
ไม่มีขั้ว	ปิโตรเลียมอีเทอร์
	เฮกเซน
	คาร์บอนเตตระคลอไรด์
	เบนซีน
	ไดคลอโรมีเทน
	คลอโรฟอร์ม
	ไดเอทิลอีเทอร์
	เอทิลแอซิเตต
	อะซิโตน
	1- โพรพานอล
	เอทานอล
มีขั้ว	เมทานอล
	น้ำ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโทรเมตรี

หลักการแก๊สโครมาโทกราฟี

แก๊สโครมาโทกราฟี เป็นเทคนิคที่ใช้แก๊สเฉื่อยทำหน้าที่เป็นแก๊สพา เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่เหมาะที่จะนำมาประยุกต์ใช้แยกสารที่ระเหยง่าย และมีความเสถียรภาพทางความร้อน ในเทคนิคนี้ตัวอย่างจะถูกนำเข้าสู่ระบบและเกิดการระเหยเป็นไอที่จุดฉีดสาร โดยใช้คอมพิวเตอร์ควบคุมและสื่อสารกับส่วนประกอบต่าง ๆ รับสัญญาณข้อมูลจากดีเทคเตอร์ตลอดจนใช้ประมวลผล และการออกรายงานผลไปที่เครื่องพิมพ์

หลักการแมสสเปกโทรเมตรี

แมสสเปกโทรเมตรี เป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่ใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารประกอบที่ไม่ทราบชนิด และใช้ในการศึกษาโครงสร้างของโมเลกุลได้เป็นอย่างดี โดยอาศัยหลักการเคลื่อนที่ของมวลที่มีประจุ ซึ่งหมายถึงไอออนในสนามไฟฟ้าหรือสนามแม่เหล็ก พฤติกรรมการเคลื่อนที่ดังกล่าวขึ้นอยู่กับค่ามวลต่อประจุของไอออน นอกจากนี้การทราบประจุของไอออนจะทำให้สามารถทราบค่ามวลของไอออนนั้น ๆ ได้

ภาพที่ 2-3 แก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโทรเมตรี

หลักการแก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโทรเมตรี

เป็นเทคนิคในการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสาร เป็นเทคนิคร่วมที่ได้รวมข้อดี 2 ประการไว้ด้วยกัน คือ ประการแรก มีความสามารถในการแยกสารผสมซึ่งกลายเป็นไอได้ง่าย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ให้ออกเป็นองค์ประกอบเดี่ยว ๆ ด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี ซึ่งมีความสามารถในการแยกสูง และอีกประการหนึ่ง คือ องค์ประกอบของสารแต่ละชนิดที่ผ่านการแยกแล้วจะถูกตรวจวัดด้วยวิธีแมสสเปกโทรเมตรี ที่มีความจำเพาะต่อการตรวจวัด มีสภาพไวในการตรวจวัดสูง และให้ข้อมูลแมสสเปกตรัมของสารที่สามารถใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์สารได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เป็นการเชื่อมต่อของสองเทคนิค คือ แก๊สโครมาโทกราฟี ซึ่งเป็นเทคนิคการแยกสาร กับแมสสเปกโทรเมตรี ซึ่งเป็นเทคนิคตรวจวัดที่ใช้ในการพิสูจน์หาเอกลักษณ์และหาปริมาณสาร การรวมกันของสองเทคนิคดังกล่าวนี้ ก่อให้เกิดผลดีหลายประการ ดังนี้

1. ทำให้สามารถแยกองค์ประกอบของสารผสมที่ซับซ้อน
2. ได้แมสสเปกตรัมของแต่ละองค์ประกอบเพื่อประโยชน์ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสาร
3. สามารถให้ข้อมูลเพื่อการวิเคราะห์หาปริมาณสารแต่ละชนิดที่ผสมกันอยู่
4. มีสภาพไวในการตรวจวัดสารสูง สามารถให้ข้อมูลแมสสเปกตรัมที่สมบูรณ์ถึงแม้ว่าสารมีปริมาณเล็กน้อยเพียง 1 พิโกโมล
5. สามารถให้หลักฐานด้านมวลโมเลกุลของสาร ตลอดจนให้ข้อมูลด้านรูปแบบการแตกของโครงสร้างเป็นส่วนย่อย ๆ ซึ่งเป็นเอกลักษณ์เฉพาะของสารเปรียบเสมือนลายพิมพ์นิ้วมือที่สามารถใช้เป็นพื้นฐานในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของสารได้ (แม้น อมรสิทธิ์ และคณะ, 2555, หน้า 330 - 332)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งต่อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพร

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งต่อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากสมุนไพร ได้ดัดแปลงวิธีการมาจากการทดสอบความไวของเชื้อจุลินทรีย์ต่อสารต้านจุลินทรีย์หรือยาปฏิชีวนะ (Koneman et al., 1994, pp. 285-286) ซึ่งสามารถแบ่งการทดสอบออกเป็น 2 วิธี คือ Dilution Method และ Diffusion Method มีรายละเอียด ดังนี้

Dilution Method

Dilution Method เป็นวิธีหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลินทรีย์ที่ใช้ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยจะเรียกความเข้มข้นต่ำสุดของสารต้านจุลินทรีย์ที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์นี้ว่า Minimal Inhibition Concentration หรือ MIC ซึ่งการวิเคราะห์หา MIC สามารถทำได้โดยการเจือจางสารต้านจุลินทรีย์ ให้มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 2 วิธี (Ingraham & Ingraham, 1995, pp. 498-499) คือ การเจือจางสารต้านจุลินทรีย์ในของเหลว (Broth Dilution Method) และการเจือจางสารต้านจุลินทรีย์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ในอาหารแข็ง (Agar Dilution Method) ซึ่ง Dilution Method จะให้ผลที่ละเอียดกว่า Diffusion Method แต่ขณะเดียวกันก็ต้องใช้เวลา เครื่องมือ และแรงงานในการทำการทดลองมากกว่า

Diffusion Method

Diffusion Method เป็นวิธีการทดสอบความไวของสารต้านจุลินทรีย์ ในการยับยั้งต่อเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งอาศัยหลักการที่ว่าสารจะซึมจากที่มีความเข้มข้นสูงไปยังที่มีความเข้มข้นต่ำ ดังนั้นจึงนำสารต้านจุลินทรีย์ซึ่งอยู่ในรูปแผ่นยาที่เป็นกระดาษกรองหรือเม็ดยาวางบนอาหารเลี้ยงเพื่อซึมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์อยู่ ซึ่งที่นิยมมากที่สุดก็คือ วิธีที่ใช้แผ่นกระดาษกรอง (Disc Diffusion Method หรือ Filler Paper Disc) และการยับยั้งจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นสามารถสังเกตได้จากการที่จุลินทรีย์จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในบริเวณโดยรอบที่มีสารต้านจุลินทรีย์อยู่ (Tortora, Berdell, & Christine, 1995, p. 508) Diffustion Method เป็นที่นิยมกันมาก เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวกประหยัดค่าใช้จ่าย และใช้เวลาทดลองน้อย แต่วิธีนี้ไม่สามารถอ่านผลได้โดยตรงเป็นค่าความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

จากที่กล่าวมาแล้วนั้น จะเห็นได้ว่าการที่จะเลือกการทดสอบวิธีใดนั้น จะต้องพิจารณาจากความละเอียดที่ผู้ทดลองต้องการจำนวนสารสกัดที่จะทดสอบ ปริมาณของสารสกัดที่มีอยู่ ตลอดจนแรงงานงบประมาณในการทดลอง โดยการศึกษาครั้งนี้ได้เลือกวิธีที่เหมาะสมกับการทดลองคือ Diffusion Method

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งต่อจุลินทรีย์โดย Diffusion Method

Diffusion Method เป็นวิธีที่ใช้ในการทดสอบความไวในการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารต้านจุลินทรีย์ วิธีการนี้โดยทั่วไปมักทำการทดสอบกับสารต้านจุลินทรีย์เพียงความเข้มข้นเดียวเท่านั้น โดยอาศัยหลักการที่ว่า เมื่อใส่สารต้านจุลินทรีย์ปริมาณหนึ่งไว้ในภาชนะบรรจุ (Reservoir) ซึ่งอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Agar Medium) ที่เพาะเชื้อจุลินทรีย์ไว้ ภายหลังจากการบ่มเพาะเชื้อให้สังเกตดูรอบบริเวณภาชนะ ที่ตัวสารต้านจุลินทรีย์ซึมไปนั้นจะมีบริเวณใส (Clear Zone) ที่ไม่มีเชื้อเจริญเติบโต โดยบริเวณใสนี้เรียกว่า Inhibition Zone แล้ววัดขนาดบริเวณใสที่เกิดขึ้น เพราะขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสที่เกิดขึ้นจะมีขนาดแคบกว้างแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสที่เกิดขึ้นนั้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความไวของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบอีกด้วย (Mckane, Larry, & Kandel, 1996, pp. 397-399)

ในอดีตนั้น Diffusion Method เริ่มต้นด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยจุลินทรีย์ชนิดเดียวกัน แล้วใช้แท่งแก้วหรือแท่งเหล็กเจาะบนผิววุ้นให้มีช่องเกิดขึ้น จากนั้นเติมสารละลายของสารต้านจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ ใส่ลงไปในช่องวุ้นเหล่านั้นสารต้านจุลินทรีย์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จะแพร่กระจายไปในเนื้อวุ้น โดยสารต้านจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการยับยั้งต่อจุลินทรีย์ชนิดนั้น จุลินทรีย์จะไม่เจริญบริเวณรอบ ๆ บริเวณที่มีสารต้านจุลินทรีย์ดังกล่าวอยู่ ซึ่งหากมีบริเวณที่ถูกยับยั้งมากนั้น หมายถึงสารต้านจุลินทรีย์หรือยาชนิดนั้นมีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดนั้นมาก ต่อมาในปี ค.ศ. 1960 ได้มีการพัฒนาวิธีการใหม่ โดย Alcamo (1997, p. 713) โดยใช้แผ่นกระดาษกรองหรือกระดาษกรองวงกลม (Filter Paper Disc) ซึ่งปัจจุบันนิยมใช้กันมาก บางครั้งอาจเรียกวิธีการทดสอบที่ใช้แผ่นกระดาษดังกล่าวนี้ว่า Kirby-Bauer Test หรือ Disc Sensitivity Test

ดังจะเห็นได้ว่า Diffusion Method เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากในการทดสอบความไวต่อจุลินทรีย์ของสารต้านจุลินทรีย์ เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวก ใช้ค่าใช้จ่าย แรงงานและเวลาในการทำการทดลองน้อย แต่วิธีนี้ยังมีข้อจำกัดหลายประการด้วยกัน อาทิเช่น วิธีนี้ไม่สามารถใช้ในการทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งมีอัตราเร็วในการเจริญเติบโตต่ำ หรือเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโต และเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโตได้เฉพาะแต่ในอาหารเลี้ยงเชื้อบางชนิด เป็นต้น นอกจากนี้วิธีการทดสอบนี้ยังไม่สามารถอ่านผลเป็นค่าความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ที่ผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้โดยตรง

ปัจจัยที่มีผลต่อการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งต่อจุลินทรีย์โดย Diffusion Method

ปัจจัยหลายชนิดที่มีผลต่อขนาดบริเวณใสที่เกิดจากสารต้านจุลินทรีย์นั้น โดยบางปัจจัยจะรบกวนการออกฤทธิ์หรือการดูดซึมของสารต้านจุลินทรีย์ หรือบางปัจจัยที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์มากก็จะทำให้ขนาดบริเวณใสลดลงได้ ส่วนบางปัจจัยที่ส่งเสริมการออกฤทธิ์หรือการดูดซึมสารต้านจุลินทรีย์ หรือพวกที่รบกวนการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก็จะทำให้บริเวณใสนี้เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงควรตระหนักถึงปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ ซึ่งปัจจัยที่สำคัญ มีดังนี้

อาหารเลี้ยงเชื้อ

สารต้านจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ นั้น จะถูกกระทบจากส่วนประกอบต่าง ๆ ที่มีในอาหารเลี้ยงเชื้อแตกต่างกัน โดยมีตัวอย่างดังนี้

1. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์ส่วนมากจะเจริญเติบโตได้ดีที่ pH 6.8-7.2 แต่ถ้า pH ต่ำหรือสูงกว่าระดับนี้ จะมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (Pelezar, 1958, p. 79)

2. บัฟเฟอร์ (Buffer) ในอาหารเลี้ยงเชื้อบางชนิดนั้น อาจมีผลกระทบต่อการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์บางชนิดได้ เช่น การทดสอบ Gentamicin ในอาหารซึ่งมีความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ต่างกันก็จะทำให้ได้ผลการตรวจสอบความไวที่แตกต่างกัน นอกจากนี้จุลินทรีย์

บางชนิดก็สามารถอยู่ได้ในที่ที่มี pH ในช่วงแคบ ๆ ถ้า pH สูงหรือต่ำกว่านี้ก็จะทำให้ตายได้ เช่น *Legionella pneumophia* สามารถอยู่ได้ที่ pH 6.85-7.00 ดังนั้นจึงต้องใช้บัฟเฟอร์ช่วย เพื่อไม่ให้ค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น ๆ เปลี่ยนแปลงไปมากนัก (Nester, Evans, & Martha, 1995, p. 97)

3. ปริมาณอิออนที่ปรากฏในอาหารเลี้ยงเชื้อ มีผลกระทบต่อความไวของเชื้อและการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์ต่อเชื้อจุลินทรีย์ได้ เช่น ผลของ Aminoglycoside ที่ทำให้บริเวณใสของเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ลดลง นอกจากนี้สำหรับยา Tetracyclines ฤทธิ์ของยาจะลดลงเมื่อปริมาณของ Divalent Cation เช่น Ca^{2+} และ Mg^{2+} เพิ่มขึ้น (Koneman et al., 1994, pp. 292-293)

4. วุ้น (Agar) วุ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นสารประกอบของ Polysaccharides ซึ่งสารต้านจุลินทรีย์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลเป็น Cationic จะสามารถจับกับหมู่ Acidic Sulfate ของ Polysaccharides ในวุ้นได้ จึงมีผลทำให้การออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์นั้นลดลงได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับยาในกลุ่ม Polymyxins (Brown & Gilbert, 1995, p. 281)

5. ความหนาของอาหารเลี้ยงเชื้อ (Agar Medium) โดยทั่วไปจะกำหนดให้มีความหนาประมาณ 4 มิลลิเมตร ซึ่งไม่ทำให้กระทบต่อขนาดบริเวณใสที่เกิดขึ้นมากนัก โดยการเทอาหารเลี้ยงเชื้อ ขนาด 25 และ 60 มิลลิลิตร ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Plate) ที่เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 9 และ 15 เซนติเมตร ตามลำดับ จะทำให้ได้ความหนาดังกล่าว ส่วน Plate ที่เท Agar ไว้แล้ว ถ้าต้องการเก็บไว้ใช้เกิน 5 วัน ควรใส่ถุงพลาสติกแล้วไว้ในที่มีอุณหภูมิ 4-8 °C แต่ไม่ควรเก็บเกิน 2 สัปดาห์ และก่อนใช้ควรให้พื้นผิว Agar แห้งเสียก่อน (Collins, Lyne, & Grange, 1989, pp. 52-83)

6. ความชื้นหรือน้ำของอาหารเลี้ยงเชื้อ มีบทบาทโดยตรงต่อจุลินทรีย์เกี่ยวกับแรงดันออสโมซิสของเซลล์ เพราะผลของแรงดันออสโมซิสที่มีต่อจุลินทรีย์นั้นจะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายและชนิดของจุลินทรีย์นั้น ๆ เช่น เซลล์ของ *Escherichia coli* น้ำจะแพร่ออกนอกเซลล์ (Plasmolysis) เมื่อเจริญในสารละลายซูโครสเข้มข้น 12 % เป็นเวลานาน 5-20 นาที ส่วนเซลล์ของแบคทีเรียพวก *Bacillus* มีความสามารถทนต่อสารละลายของเกลือเข้มข้น 10-15 % หรือสารละลายน้ำตาลเข้มข้น 30-60 % ได้ดี (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2536, หน้า 170)

ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ

ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบนั้น มีผลต่อการทดสอบเป็นอย่างมาก เช่น การใช้เชื้อจุลินทรีย์มากเกินไปจะทำให้บริเวณใสมีขนาดเล็กเกินไปได้ ดังนั้น การทดสอบทุกครั้งจึงต้องมีการปรับปริมาณของเชื้อทดสอบให้อยู่ในปริมาณที่แน่นอน และเป็นมาตรฐาน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เช่น การปรับปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบให้ความเข้มข้นประมาณ 1.5×10^9 เซลล์/มิลลิลิตร โดยเทียบกับ 0.5 McFarland Standard (Koneman et al., 1994, p. 316)

ความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ใน Disc ที่ใช้ทดสอบ

ในกรณีที่ใช้แผ่นกระดาษกรอง (Disc) ที่มีสารต้านจุลินทรีย์ที่เตรียมขึ้นเอง โดยการชุบ Disc ลงในสารต้านจุลินทรีย์ อาจจะมีผลทำให้ปริมาณความเข้มข้นของสารต้านจุลินทรีย์ใน Disc แต่ละอันแตกต่างกัน และจะส่งผลต่อขนาดของบริเวณใสที่เกิดจากสารต้านจุลินทรีย์ได้โดยตรง

อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเชื้อ

อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเชื้อมีผลกระทบอย่างมากต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งโดยปกติจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิที่กว้าง ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียที่เจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 0 °C (Psychrophilic Bacteria) และแบคทีเรียที่เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูงกว่า 75 °C (Thermophilic Bacteria) และแบคทีเรียที่เจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิประมาณ 20-45 °C (Mesophilic Bacteria) ซึ่งได้แก่ แบคทีเรียที่สามารถก่อให้เกิดโรคต่อมนุษย์ เช่น *Salmonella typhi* และ *Staphylococcus aureus* เป็นต้น (Pelezar, 1958, p. 203) ดังนั้นแล้วอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเชื้อ จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แต่ละชนิด จึงควรปรับอุณหภูมิให้เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แต่ละชนิด โดยในกรณีที่ทดสอบความไวของจุลินทรีย์ที่สามารถทำให้เกิดโรคในมนุษย์ จะใช้อุณหภูมิในการบ่มเชื้อประมาณ 35-37 °C ซึ่งเป็นอุณหภูมิเฉลี่ยของสัตว์เลือดอุ่น (Kleyn & Bicknell, 1999, p. 5)

เวลาที่ใช้ในการบ่มเชื้อ

เวลาที่ใช้ในการบ่มเชื้อมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์และการซึมของสารต้านจุลินทรีย์ใน Agar Medium ได้ ดังนั้นภายหลังวาง Disc แล้วควรนำ Plate ที่ได้เข้าตู้บ่มเชื้อทันที แล้วบ่มเชื้อเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง (Collins, Lyne, & Grange, 1989, p. 166)

บรรยากาศขณะบ่มเชื้อ

บรรยากาศขณะบ่มเชื้อมีผลต่อการทดสอบเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะเมื่อบ่มเชื้อที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ จะทำให้เกิด Carbonic Acid บนพื้นผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ (Agar) ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเกิดสภาวะกรดขึ้น ซึ่งจะมีผลต่อจุลินทรีย์ และการออกฤทธิ์ของสารต้านจุลินทรีย์บางชนิด (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2536, หน้า 173-175)

การวัดขนาดบริเวณใสที่เกิดขึ้น

การวัดขนาดบริเวณใสที่เกิดขึ้น มีความสำคัญอย่างมากที่จะทำให้ผลที่แปรออกมาผิดหรือถูกได้เช่นกัน โดยทั่วไปการวัดขนาดบริเวณใสต้องการความละเอียดเป็นค่ามิลลิเมตร ซึ่งจะวัดได้โดยใช้ไม้บรรทัดคาลิปเปอร์ หรือเครื่องมือไฟฟ้า นอกจากนี้การที่ขอบบริเวณส่วนใสไม่ชัดเจน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

คือ ขอบริม ๆ ที่ยังมีเชื้อจุลินทรีย์ยังเจริญประปรายหรือเชื้อจุลินทรีย์ถูกยับยั้งไม่หมด การวัดขนาดบริเวณใสในลักษณะนี้จะต้องวัดเฉพาะขอบนอกที่ใสสม่ำเสมอ (Ingraham & Ingraham, 1995, pp. 498-499)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Sabulal et al. (2006, p. 473) ได้ทำการศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากผลของ *Amomum canicarpum* (Zingiberaceae) โดยการกลั่นด้วยไอน้ำ และตรวจสอบลักษณะโดยใช้เครื่อง Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS) พบว่าองค์ประกอบหลักประกอบด้วย β-Pinene (14.00 %), Elemol (10.45 %) และ α-Cadinol (8.5 %) โดยสารทั้ง 33 ชนิด คิดเป็น 91.48 % ของสารทั้งหมด 41 ชนิด องค์ประกอบทั้งหมดสามารถถูกแยกโดยเครื่อง GC/MS และทดสอบการต้านฤทธิ์ทางชีวภาพของแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ และเชื้อราบางชนิด ทดสอบโดยใช้ Disc Diffusion Assay โดยน้ำมันหอมระเหยที่ให้ผลการยับยั้งแบคทีเรียได้ดี ได้แก่ *Salmonella thyphimurium, Pseudomonas aeruginosa* และ *Proteus vulgaris* และน้ำมันหอมระเหยที่ยับยั้งเชื้อราได้ดี ได้แก่ *Candida albicans* และ *Candida glabrata*

Sokovic et al. (2007, Abstract) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และการยับยั้งแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยในพืชที่มีกลิ่น 10 ชนิด ที่สามารถต้านแบคทีเรียที่ก่อโรคในมนุษย์ (Human Pathogenic Bacteria) ได้แก่พืช *Matricaria chamommilla*, *Mentha piperita*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, *Ocimum basilicum*, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, *Salvia officinalis*, *Citrus limon* และ *Citrus aurantium* โดยตรวจพบว่ามีน้ำมันที่สามารถยับยั้ง ได้แก่ Linalyl acetate, Linalool, Limonene, α-Pinene, β-Pinene, 1,8-Cineole, Camphor, Carvacrol, Trymol และ Menthol มีการต้านที่หลากหลายของแบคทีเรียที่ก่อโรคในมนุษย์ซึ่ง *Origanum vulgare* ให้ค่าสูงที่สุดและในส่วนของ Carvacrol มีการต้านเชื้อราได้สูงสุดของสารองค์ประกอบที่นำมาทดสอบ

Tadtong et al. (2009, p. 77) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหยจากรากของ *Etlingera punicea* (Roxb.) R. M. Smith รากของพืชชนิดนี้เป็นส่วนผสมของก๋วยเตี๋ยวและแกงกะหรี่ในประเทศไทย โดยน้ำมันหอมระเหยของรากพืชชนิดนี้ถูกสกัดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ และวิเคราะห์โดย GC/MS พบว่าองค์ประกอบหลักทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยคือ Methyl Chavical ซึ่งน้ำมันหอมระเหยสามารถต้านเชื้อรา ชนิด *Candida albicans* และต้านแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus, Esherichia coli, Salmonella albany*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แต่ไม่พบว่ามีการต้านแบคทีเรียแกรมลบ ชนิด *Pseudomonas* โดยวิธี Agar Disc Diffusion Assay และทดสอบ Minimal Inhibitory Concentration (MIC) ต้าน *Candida albicans* โดยวิธี Microdilution เข้มข้น 45 % v/v

จักรพันธ์ จุลศรีไกวัล (2550, บทคัดย่อ) ได้ศึกษาว่านสาวหลง (*Ampmum uliginosum* Koen) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Zingiberaceae ที่มีการใช้ตามสรรพคุณโบราณในด้านเมตตามหานิยมสำหรับผู้ชาย โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้เก็บตัวอย่างว่านสาวหลงจากแหล่งต่าง ๆ ในภาคเหนือจำนวน 5 แหล่ง เมื่อนำส่วนใบ ก้านใบ และลำต้นใต้ดิน มาทำการกลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธีการกลั่นด้วยน้ำ พบว่าค่าเฉลี่ยของร้อยละน้ำมันหอมระเหยของใบ ลำต้นใต้ดิน และก้านใบ มีค่าเท่ากับ 0.98, 0.41 และ 0.25 ตามลำดับ น้ำมันหอมระเหยจากแต่ละส่วนนำมาศึกษาคุณสมบัติตามวิธีการที่ระบุใน Thai Herbal Pharmacopia ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าค่าเฉลี่ยความหนาแน่นสัมพันธ์ของน้ำมันหอมระเหยจากใบมีค่าเท่ากับ 0.9558 โดยค่าเฉลี่ยของดัชนีหักเหของแสงของน้ำมันหอมระเหยจากใบ ก้านใบ และลำต้นใต้ดินมีค่าเท่ากับ 1.5466, 1.5452 และ 1.5409 ตามลำดับ สำหรับค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์น้ำของลำต้นใต้ดิน ก้านใบ และใบมีค่า 83.53 %, 83.18 % และ74.36 % ตามลำดับ นอกจากนี้องค์ประกอบสำคัญของน้ำมันหอมระเหยจากแต่ละส่วน โดยวิธี GC/MS พบว่ามี *p*-(1-Butenyl) anisole เป็นองค์ประกอบหลัก และผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจากส่วนใบ ลำต้นใต้ดิน และก้านใบ ด้วยวิธี ABTS มีค่าเท่ากับ 1.34, 0.29 และ 0.16 mg Trolox/ml และเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP มีค่าเท่ากับ 0.28, 0.04, 0.03 mg Trolox/ml และ 0.65, 0.12, 0.09 mg Iron sulfate/ml เมื่อศึกษาฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลางโดยวิธี Open Field พบว่าน้ำมันหอมระเหยในส่วนของใบมีฤทธิ์ลด Locomotor Activities ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนการทดสอบด้วยวิธี Pentobarbital Induced Sleeping Time พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากว่านสาวหลงไม่มีผลต่อการทดลองนี้

ปริยานุช อินทร์รอด (2551, บทคัดย่อ) ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของส่วนสกัดย่อยเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ ของต้นเร่วหอม (*Etlingera pavieana*) และว่านสาวหลง (*Amomum biflorum*) โดยนำมาทำการทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH ทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ และความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ในการทดสอบการกำจัดฤทธิ์อนุมูล DPPH เปรียบเทียบกับสารต้านออกซิเดชันมาตรฐาน คือกรดแอสคอร์บิก และบีเอชที (BHT) จากการทดสอบพบว่า ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของต้นเร่วหอมและว่านสาวหลง มีฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH สูงที่สุด รองลงมาคือส่วนสกัดย่อยน้ำ และส่วนสกัดย่อยเฮกเซนตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทของต้นเร่วหอมและว่านสาวหลงมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงที่สุด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ส่วนความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ พบว่าส่วนสกัดย่อยเฮกเซนของต้นเร่วหอม และส่วนสกัดย่อยน้ำของต้นว่านสาวหลงมีความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะสูงที่สุด เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม พบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่วหอม และว่านสาวหลงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม ด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9731

พิมลพร เที่ยงธรรม (2549, บทคัดย่อ) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของรากและใบของจันทน์ชะมด โดยทำการศึกษาฤทธิ์ต้านการเกิดฮิสทามีนเบื้องต้นโดยใช้เซลล์ RBL-2H3 ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดไดคลอโรมีเทนจากรากและใบ แสดงฤทธิ์ต้านการเกิดอาการแพ้ในระดับสูง ซึ่งจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรากจันทน์ชะมด พบสารบริสุทธิ์ 9 ชนิด นอกจากนี้สามารถหาโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้โดยอาศัยสมบัติทางกายภาพและข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีได้ 8 ชนิดได้แก่ 2,5-Dimethoxy-1,4-benzoquinone, Mansonone T และ Stigmastane-3β,6α-diol สาร Mansonone T พบว่าเป็นสารใหม่ ซึ่งจากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของใบจันทน์ชะมดสามารถแยกได้สารบริสุทธิ์เพิ่มอีก 3 ชนิด สามารถหาโครงสร้างโดยอาศัยสมบัติทางกายภาพ และข้อมูลทางสเปกโทรสโกปีได้ 2 ชนิด คือ 3,11-Dioxo-β-amyrin, 11α-Hydroxy-β-amyrin และของผสม 2 ชนิด ได้แก่ ของผสมของไฮโดรคาร์บอนโซ่ตรง และของผสมของกรดคาร์บอกซิลิกโซ่ตรง Mansonones G และ C นอกจากนี้แสดงฤทธิ์ต้านฮีสทามีนสูงสุดเมื่อเทียบกับสารชนิดอื่น โดยมีค่า IC_{50} 212 μm และ 222 μm ตามลำดับ

เวียงทอง นุ่นภักดี (2550, บทคัดย่อ) ได้ศึกษาการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของรากพังคี ซึ่งพังคีเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่พบได้ทั่วไปในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรากพังคี พบว่าได้สาร 4 ชนิด คือ Cyperenoic Acid, Chettaphanin-I, Acetylaleuritolic Acid และ β-Amyrin แต่ยังไม่เคยมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารที่สกัดได้จากรากของพังคี วิทยานิพนธ์นี้ มีความมุ่งหมายเพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดและสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากรากของต้นพังคี โดยเริ่มจากนำรากของต้นพังคีที่แห้งและบดละเอียดน้ำหนัก 5 กิโลกรัม มาทำการสกัดด้วยเฮกเซน เมทธิลลีนคลอไรด์ และเมทานอล ตามลำดับ ได้สารสกัดจากเฮกเซน สารสกัดจากเมทธิล-ลีนคลอไรด์ และสารสกัดจากเมทานอล เมื่อนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพดังต่อไปนี้ การต้านมะเร็ง การต้านเชื้อวัณโรค การต้านเชื้อมาลาเรีย การต้านเชื้อรา การต้านเชื้อไวรัส และความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่าสารสกัดจากเมทธิลลีนคลอไรด์มีฤทธิ์ต้านเชื้อมาลาเรีย โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 6.8 μg/ml และต้านเชื้อวัณโรค โดยมีค่า MIC เท่ากับ 100 μg/ml เมื่อนำเอาสารสกัดเมทธิล-ลีนคลอไรด์ มาแยกหาสารบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคคอลัมน์โครมาโทรกราฟี พบว่า ได้สารบริสุทธิ์ 2 ชนิด คือ Cyperenoic Acid และ Chettaphanin-I ซึ่งโครงสร้างของสารทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวสามารถ

ยืนยันได้ด้วยวิธีทางสเปกโทรสโกปีและเมื่อนำสาร Cyperenoic Acid ไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าสามารถต้านเชื้อวัณโรคได้ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 100 µg/ml นอกจากนี้ ยังสามารถต้านเชื้อไวรัสได้เล็กน้อย ส่วน Chettaphanin-I ไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยสรุปพบว่าองค์ประกอบทางเคมีได้แก่ สาร 2 ชนิด คือ Cyperenoic Acid และ Chettaphanin-I โดยพบว่า Cyperenoic Acid มีฤทธิ์ในการต้านต้านเชื้อวัณโรคให้ค่า MIC เท่ากับ 100 µg/ml และสามารถต้านเชื้อไวรัสได้เล็กน้อย ส่วน Chettaphanin-I ไม่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University