ล.114297

สัญญาเลขที่ 22 / 2550
รหัสโครงการวิจัย 5007050022

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น และการยับยั้งจุลชีพโดยสารสกัดใบกะเพรา โหระพา และแมงลัก

The Study of Oxidation Reaction and Antimicrobial Activities of *Ocimum tenuiflorum* L., *Ocimum basilicum* L., and *Ocimum americanum* L. Extracts

โดย

นาย พหล แสนสมชัย สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
นางสาว มยุรมาศ แสงเงิน สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ประจำปี พ.ศ.2550

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาทดลองครั้งนี้ สำเร็จลุล่วงไปด้วยความกรุณาจากทุนมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ผู้ให้การสนับทุนแหล่งทุนทรัพย์ ในการวิจัยเพื่อความก้าวหน้าในสาขาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางในงาสุขภาพ ผู้เขียนขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ผู้เขียนขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ วันชัย ศิริชนะ อธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง รองศาสตราจารย์ นสพ. เทิด เทศประทีป รองอธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ศาสตราจารย์ สุจินต์ จินายนต์ ที่ปรึกษาอธิการบดี มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง และรองศาสตราจารย์ พรรณวิภา กฤษฎาพงษ์ คณบดี สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง ที่ได้ให้การสนับสนุน และส่งเสริมการศึกษาวิจัยครั้งนี้ตลอดมา ขอขอบคุณผู้ร่วมงานวิจัย เจ้าหน้ามหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และกำลังใจตลอดมา

ขอขอบคุณ อาจารย์ มยุรมาศ แสงเงิน ดร. พยุงศักดิ์ ตันติไพบูลย์วงศ์ ดร. ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ และนางสาว อัญชลี เขื่อนเพชร ที่ได้ให้กำลัง การแนะแนวประกอบการทำวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่าผลการศึกษาครั้งนี้ จะเป็นประโยชน์เพื่อพัฒนาสถาบันการศึกษา และต่อผู้บริหารสถานศึกษา ตลอดจนหน่วยงานต่างๆ ที่มีบทบาทและหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง หากมีสิ่งใดผิดพลาด หรือข้อบกพร่องประการใด ผู้เขียนขอน้อมรับ และขออภัยไว้ ณ ที่นี่ด้วย

พหล แสนสมชัย หัวหน้าโครงการวิจัย
มยุรมาศ แสงเงิน ผู้ร่วมโครงการวิจัย
15 กรกฎาคม 2551

บทสรุปผู้บริหาร

1. บทนำ

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

พืชมีความสำคัญในชีวิตประจำวันของมนุษย์มากมายเช่น ใช้เป็นเครื่องปรุงแต่งในอาหาร เครื่องดื่ม เครื่องสำอาง สีย้อม และยารักษาโรค พืชมีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์เรา เนื่องจากพืชเป็นแหล่งรวมสารสำคัญนานาชนิดที่มีฤทธิ์ในการบำบัดรักษาโรคได้ทั้งในมนุษย์และสัตว์ สารธรรมชาติที่ได้จากพืชสมุนไพรที่ช่วยขจัดความเจ็บป่วยในมนุษย์มีฤทธิ์ทางชีวภาพและกลไกในการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันไป

ที่น่าสนใจประการหนึ่ง พืชหลายชนิดสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เมื่อร่างกายเกิดการติดเชื้อจากเชื้อโรคต่างๆ หรือเมื่อร่างกายเป็นโรคที่เรื้อรัง พืชในไทยหลายชนิดมีสารที่สำคัญที่มีคุณสมบัติในการต้านมะเร็ง ต้านการเกิดการต้านภูมิคุ้มกันต่อตนเอง การแพ้ และการเกิดเชื้อโรคเอดส์

กะเพรา (*Ocimum tenuiflorum* L.) โหระพา (*Ocimum basilicum* L.) และแมงลัก (*Ocimum canum* L.) วงศ์ Labiatae โดยมีสารสำคัญหลายชนิดเช่น แคโรทีน (บีต้า-แคโรทีน) ไวตามิน เอ และฟลาโวนอยด์ ซึ่งสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้ นอกจากนี้พบว่าสารสกัดส่วนใหญ่ที่ได้จากพืชทั้งสามชนิดนี้เป็นสารจำพวกน้ำมันหอมระเหย ลิโปโพลีแซคคาไรด์ โดยสารจำพวกลิโปโพลีแซคคาไรด์มีคุณสมบัติคล้ายผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งสารกลุ่มนี้สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดหยาบเอธานอลจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก
2. เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่ได้จากพืชทั้ง 3 ชนิด
3. เพื่อเป็นแนวทางส่งเสริมการปลูกกะเพรา โหระพา และใบแมงลักเพื่อให้ได้สารที่มีคุณภาพ

1.3 คำถามหลักของงานวิจัย

พืช 3 ชนิด ได้แก่ กะเพรา โหระพา และแมงลัก สามารถมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันผ่านระบบเอนไซม์ไนตริคออกไซด์ และสามารถฆ่าเชื้อจุลชีพได้หรือไม่

1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน หรือกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

กะเพรา โหระพา และแมงลักเป็นพืชสมุนไพรที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั้งในอินเดีย เอเชีย และอัฟริกา โดยส่วนใช้ส่วนใบเพื่อประกอบอาหาร จากตำราสมุนไพรพื้นบ้านพืชทั้ง 3 ชนิดนี้มีคุณสมบัติลดการอักเสบ ขับน้ำดี ลดการบีบตัวของลำไส้ ต้านการเกิดแผลในกระเพาะ ขับลม แก้ปวด สารสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านฮีสตามีน ฤทธิ์ปกป้องตับ และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดอาการท้องเสีย โดยใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก มีสาร eugenol มีฤทธิ์ลดการอักเสบ โดยยับยั้งการสังเคราะห์ prostaglandin สารสกัด 50% เอทานอลของใบกะเพรา ขนาด 100 มิลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำมันหอมระเหย และ fixed oil จากเมล็ดกะเพรา ขนาด 0.1 มิลลิลิตร ต่อ 100 กรัม ทดสอบโดยการป้อนครั้งเดียวให้หนูตะเภาที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าด้วยสารคาราจีแนน เซราโตนิน และฮีสตามีน Fixed oil จากเมล็ดกะเพรา ขนาด 3 มิลลิลิตร ต่อ กิโลกรัม ทดสอบในหนูขาว โดยฉีดเข้าทางช่องท้องของหนูที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าด้วยสารคาราจีแนน กรดไขมันจาก fixed oil ของเมล็ดกะเพรา โหระพา และแมงลัก ได้แก่ stearic, palmitic, oleic, linoleic และ linolenic acids สามารถลดการอักเสบ เมื่อทดสอบในหนูถีบจักรและหนูขาวที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าด้วยสารคาราจีแนน มากไปกว่านั้นสารสกัดจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ได้แก่ cirsilineol, cirsimaritin, isothymonin, apigenin, rosmaric acid และ eugenol ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมล ทดสอบในหลอดทดลอง มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบได้ โดยยับยั้งการสังเคราะห์สารที่ทำให้เกิดการอักเสบ นอกจากนี้ fixed oil จากเมล็ดกะเพรา ขนาด 3 มิลลิลิตร ต่อ กิโลกรัม สามารถยับยั้งการอักเสบของข้อเข่าของหนูขาวได้ โดยมีผลยับยั้งเทียบเท่ากับยา aspirin ขนาด 100 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม และตำรับยาที่มีกะเพราเป็นส่วนประกอบหนึ่งขนาด 300 และ 500 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม ทดสอบกับอุ้งเท้าหนูขาวที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยสารคาราจีแนน และ ฟอร์มาลีน มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบได้ เนื่องจากไปยับยั้งการสังเคราะห์สารที่ทำให้เกิดการอักเสบ เนื่องจากยังไม่พบรายงานการศึกษาในประเทศไทยของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ดังนั้นผู้วิจัยมีความสนใจที่จะทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่แยกได้จากการสกัดจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก

1.5 ขอบเขตการวิจัย

1. สกัดสารจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก
2. ทดสอบฤทธิ์การเกิดภาวะอนุมูลอิสระมากเกินจากส่วนสกัดหยาบที่ได้จากเอธานอล และศึกษาชนิดของสารที่ได้จากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก
3. ทดสอบฤทธิ์การเหนี่ยวนำการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืชทั้งสามชนิดเช่น ฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพ
4. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการออกฤทธิ์ของสารสกัดที่มีในใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก

2. ทฤษฎี และแนวคิด

2.1 แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้องและครอบคลุมงานวิจัย

กะเพรา โหระพา และแมงลักเป็นพืชสมุนไพรที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั้งในอินเดีย เอเชีย และอัฟริกา โดยส่วนใช้ส่วนใบเพื่อประกอบอาหาร จากตำราสมุนไพรพื้นบ้านพืชทั้ง 3 ชนิดนี้มีคุณสมบัติลดการอักเสบ ขับน้ำดี ลดการบีบตัวของลำไส้ ต้านการเกิดแผลในกระเพาะ ขับลม แก้ปวด สารสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านฮีสตามีน ฤทธิ์ปกป้องตับ และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดอาการท้องเสีย โดยใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก มีสาร Eugenol มีฤทธิ์ลดการอักเสบ โดยยับยั้งการสังเคราะห์ prostaglandin สารสกัด 50% เอทานอลของใบกะเพรา ขนาด 100 มิลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำมันหอมระเหย และ fixed oil จากเมล็ดกะเพรา ขนาด 0.1 มิลลิลิตร ต่อ 100 กรัม ทดสอบโดยการป้อนครั้งเดียวให้หนูตะเภาที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าด้วยสารคาราจีแนน เซราโตนิน และฮีสตามีน Fixed oil จากเมล็ดกะเพรา ขนาด 3 มิลลิลิตร ต่อ กิโลกรัม ทดสอบในหนูขาว โดยฉีดเข้าทางช่องท้องของหนูที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าด้วยสารคาราจีแนน กรดไขมันจาก fixed oil ของเมล็ดกะเพรา โหระพา และแมงลัก ได้แก่ stearic, palmitic, oleic, linoleic และ linolenic acids สามารถลดการอักเสบ เมื่อทดสอบในหนูถีบจักรและหนูขาวที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าด้วยสารคาราจีแนน มากไปกว่านั้นสารสกัดจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ได้แก่ cirsilineol, cirsimaritin, isothymonin, apigenin, rosmaric acid และ eugenol ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมล ทดสอบในหลอดทดลอง มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบได้ โดยยับยั้งการสังเคราะห์สารที่ทำให้เกิดการอักเสบ นอกจากนี้ fixed oil จากเมล็ดกะเพรา ขนาด 3 มิลลิลิตร ต่อ กิโลกรัม สามารถยับยั้งการอักเสบของข้อเข่าของหนูขาวได้ โดยมีผลยับยั้งเทียบเท่ากับยา aspirin ขนาด 100 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม และตำรับยาที่มีกะเพราเป็นส่วนประกอบหนึ่งขนาด 300 และ 500 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม ทดสอบกับอุ้งเท้าหนูขาวที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยสารคาราจีแนน และ ฟอร์มาลีน มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบได้ เนื่องจากไปยับยั้งการสังเคราะห์สารที่ทำให้เกิดการอักเสบ เนื่องจากยังไม่พบรายงานการศึกษาในประเทศไทยของฤทธิ์ทางชีวภาพ

ของสารสกัดใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ดังนั้นผู้วิจัยมีความสนใจที่จะทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่แยกได้จากการสกัดจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก

3. วิธีการวิจัย

3.1 ระเบียบวิธีวิจัย

1. ทางด้านเคมี

แยกองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดหยาบที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพให้บริสุทธิ์ โดยวิธีทางโครมาโทรกราฟี จากนั้นวิเคราะห์ประเภทของสารสกัดหยาบที่แยกได้ โดยใช้ข้อมูลทางสเปกโทสโกปีของสารสกัดที่แยกได้

วิธีการดำเนินงาน

1. เตรียมตัวอย่างพืช
2. แยกสกัดด้วยตัวทำละลายเอธานอลอย่างละ 2 ครั้งๆ
3. ระเหยเอาตัวทำละลายออก
4. แบ่งสารสกัดที่ได้ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ
5. วิเคราะห์ประเภทของสารสกัดที่แยกได้ โดยใช้ข้อมูลทางสเปกโทสโกปี

การเตรียมสารละลายเพื่อการทดสอบปฏิกิริยาภาวะอนุมูลอิสระมากเกินและฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพ

1. นำส่วนสกัดหยาบจากเอธานอลที่ได้ในแต่ละส่วนเตรียมเป็นสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเอธานอลบริสุทธิ์ เก็บที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อรอทดสอบปฏิกิริยาภาวะอนุมูลอิสระมากเกิน และทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพ
2. เตรียมสารสกัดที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมจากสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด เพื่อรอทดสอบปฏิกิริยาภาวะอนุมูลอิสระมากเกิน และทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพ

2. การตรวจเอกลักษณ์ของสารสกัดพืชตัวอย่างโดยวิธีทางโครมาโตกราฟี ด้วยโครมาโตกราฟีสมรรถนะสูง (HPLC) และ โครมาโตกราฟีผิวบาง (TLC)

3. การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพ

การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพ (*Candida albicans*) โดยตรวจวัดจำนวนเชื้อที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Sabouraud dextrose agar) เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมกับสารสกัดที่สกัดจากตัวทำลายทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ

4. การทดสอบปฏิกิริยาภาวะอนุมูลอิสระมากเกินด้วย Griess reaction

การทดสอบฤทธิ์ปฏิกิริยาภาวะอนุมูลอิสระมากเกินด้วย Griess reaction อาศัยหลักการการตรวจจับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นด้วยสาร Sulfanilamide และ *N-1*-napthylenediaminedihydrochloride (NED) แล้ววัดความเข้มสีที่เกิดขึ้นตามความเข้มข้นของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น เปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่างชุดทดลองที่ไม่มีสารสกัดพืชตัวอย่าง ชุดการทดลองที่มีสารสกัดพืชตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ และชุดทดลองที่มีสารมาตรฐาน ณ ความเข้มข้นต่างๆ (โซเดียมไนไตรท์) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

สารสกัดจากกะเพรา โหระพา และแมงลัก

4. ผลการศึกษาวิจัย

สารสกัดกะเพรา โหระพา และแมงลักที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E.Coli* ได้สูงสุด

สารสกัดกะเพรา และแมงลักที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และ *Ps. aeruginosa* ได้สูงสุด และสารสกัดโหระพาที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และ *Ps. aeruginosa* ได้สูงสุด

สารสกัดกะเพรา โหระพา และแมงลักที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ได้สูงสุด

ส่วนการวัดปริมาณภาวะอนุมูลอิสระมากเกิน เป็นการวัดจากปริมาณไนติคออกไซด์ที่เกิดขึ้น พบว่าสารสกัดแมงลักเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์สูงสุดที่ 95.134 ไมโครโมล รองลงมาคือ สารสกัดกะเพราเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์สูงสุดที่ 83.318 ไมโครโมล และสารสกัดโหระพาเข้มข้น 500

ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์สูงสุดที่ 76.028 ไมโครโมล ซึ่งเป็นลำดับที่สาม

ในการหาปริมาณสารสำคัญ คือ สารสกัดจากใบโหระพาปริมาณ Eugenol มากที่สุดซึ่งมีปริมาณ 34.987 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ พบ Methyl Eugenol ปริมาณ 8.962 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากใบกะเพราพบปริมาณน้ำมันหอมระเหยรองลงมา คือพบ Eugenol ปริมาณ 13.584 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ พบ Methyl Eugenol ที่ปริมาณ 0.159 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสุดท้ายน้ำมันหอมระเหยพบว่าสารสกัดใบแมงลักพบ Eugenol ปริมาณ 5.473 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ พบ Methyl Eugenol ปริมาณ 0.320 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

5. สรุปและข้อเสนอแนะ

สารสกัดทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ กะเพรา โหระพาและแมงลัก มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลชีพ โดยพบว่า สารสกัดโหระพาและสารสกัดแมงลักความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ *E.coli* จากการทดลองพบว่าสารสกัดกะเพราและสารสกัดแมงลักความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ส่วนสารสกัดแมงลักความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ *Ps. aeruginosa* และสารสกัดโหระพาและสารสกัดแมงลักความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรให้ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans*

จากการทดลองสารสกัดพืชทั้ง 3 ชนิดคือ กะเพรา โหระพา และแมงลัก สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างก๊าซไนตริคออกไซด์ โดยวิธี Griess reaction จึงสามารถกล่าวได้ว่าฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดนั้นมาจากการสร้างปริมาณอนุมูลอิสระมากเกินทำให้อนุมูลอิสระนี้สามารถทำลายเชื้อจุลชีพได้

ยิ่งไปกว่านั้นในการทดลองเพื่อหาสารสำคัญที่เป็นสารออกฤทธิ์ที่เด่นชัดของสารสกัดหยาบเอธานอลของพืชทั้ง 3 ชนิดคือ การใช้เทคนิค TLC และ HPLC พบว่าสารสำคัญที่เป็นสารออกฤทธิ์คือ สารEugenol และ Methyl Eugenol โดยสารสกัดหยาบเอธานอลจากแมงลักพบ ณ friction b9 ส่วนสารสกัดหยาบเอธานอลจากกะเพราพบ ณ fraction S10 และสารสกัดหยาบเอธานอลจากโหระพาพบ ณ fraction T6 โดยพบว่าสารสกัดหยาบเอธานอลจากโหระพามีความเข้มข้นของสารสำคัญคือ Eugenol และ Methyl Eugenol ปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบเอธานอลจากกะเพรา และพบว่าสารสกัดหยาบเอธานอลจากแมงลักมีปริมาณสาระสำคัญน้อยที่สุด

6. เอกสารอ้างอิง

1. Mukherjee, R., Dask, P.K. and Ram, G.C. (2005) Immunotherapeutic potential of *Ocimum sanctum* (L.) in bovine subclinical mastitis. *Resarch in Verterinary Science*, 79, 37-43.
2. Punturee, K. (2005) Effects of *Centella asiatica* and *Rhinacanthus nasutus* extracts on mycotoxin-induced immunomodulation. Ph.D. Thesis.
3. See, D.M., Broumand, N., Sahl L. and Tilles, J.G. (1997) In vitro effects of Echinacea and gingseng on natural killer and antibody dependent cell cytotoxicity in healthy subjects and chronic fatigue syndrome or acquired immunodeficiency patients. *Immunopharmacology*, 35, 229–235.
4. Ernst E. and Casileth B.R. (1998) The prevalence of complementary/alternative medicine in cancer: a systematic review. *Cancer*, 83(4), 777-82.
5. Phadke, S.A. and KulKarni, S.D. (1989) Screening of *in vitro* antibacterial activity of *Terminalia chebula*, *Eclipta alba* and *Ocimum sanctum*. *Ind J Med Sci*, 45, 113-117.
6. Babior, B.M. (2000) Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med*, 109(1), 33-44.
7. Ernst E. (1997) Risks and benefits of vegetarianism. *Br J Hosp Med.*, 58(8):372-4.
8. Craig W. J. (1999) Health-promoting properties of common herbs. *Am J Clin Nutr.*, 70(3), 491S-499S.
9. Mediratta, P.K., Dewan, V., Bhattacharya, S.K. Gupta, V.S., Maiti, P.C. and Sen, P. (1988) Effect of *Ocimum Sanctum* L. on humoral immune responses. *Indian J Med Res*, 4, 384-386.
10. Sukari, M.A. and Takahashi, S. (1988) Biological activity of some Malaysian plant extracts. *Pertaniks*, 11, 249-253.
11. Lal, R.N., Sen, T.K. and Nigam, M.C. (1978) Gas chromatography of the essential oil of *Ocimum sanctum L. Parfumerie und Kosmetiks*, 59, 230-231.
12. Maheshwari, M.L. *et al.* (1987) Essential oil of sacred basil (*Ocimum sanctum*). *Indian Perfumer*, 31, 137-145.
13. Singh, S. and Agrawal, S.S. (1991) Anti-asthmatic and anti-inflammatory activity of *Ocimum sanctum* L. *J Res & Edu Ind Med*, 10, 23-28.
14. Singh, S., Majumdar, D.K. and Yadav, M.R. (1996) Chemical and pharmacological studies on fixed oil of *Ocimum sanctum*. *Ind J Exp Biol*, 34, 1212-1215.
15. Phadke, S.A. and KulKarni, S.D. (1989) Screening of *in vitro* antibacterial activity of *Terminalia chebula*, *Eclipta alba* and *Ocimum sanctum*. *Ind J Med Sci*, 45, 113-117.

16. Godhwani, S. *et al.* (1988). *Ocimum sanctum*: a preliminary study evaluating its immuno-regulatory profile in abino rats. *J Ethnophamacol*, 65, 301-302.

17. Ross M.S.F., Brain KK. (1977) An Introduction to phytopharmacy. London: Pithman Medical Publishing Co. Ltd., p. 258-176.

18. Bhargava KP, Singh N. (1981) Anti-stress activity of *Ocimum sanctum* Linn. Indian *J Med Res*, 73, 443-51.

19. Dharmani P *et al.* (2004) Evaluation of anti-ulcerogenic and ulcer-healing properties of *Ocimum sanctum* Linn. *J Ethnopharmacol*, 93,197-206.

20. Singh S. and Majumdar D.K. (1999) Evaluation of gastric antiulcer activity of fixed oil of *Ocimum sanctum* (Holy Basil). *J Ethnopharmacol*, 65, 13-9.

ชื่อเรื่อง **การศึกษาการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น และการยับยั้งจุลชีพโดยสารสกัดใบกะเพรา โหระพา และแมงลัก**

คณะผู้ทำวิจัย **1. พหล แสนสมชัย หัวหน้าโครงการวิจัย**

2. มยุรมาศ แสงเงิน ผู้ร่วมโครงการวิจัย

บทคัดย่อ

พืชมีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์เรา เนื่องจากพืชเป็นแหล่งรวมสารสำคัญนานาชนิดที่มีฤทธิ์ในการบำบัดรักษาโรคได้ทั้งในมนุษย์และสัตว์ สารธรรมชาติที่ได้จากพืชสมุนไพรที่ช่วยขจัดความเจ็บป่วยในมนุษย์มีฤทธิ์ทางชีวภาพและกลไกในการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันไป กะเพรา (*Ocimum tenuiflorum* L.) โหระพา (*Ocimum basilicum* L.) และแมงลัก (*Ocimum canum* L.) วงศ์ Labiatae โดยมีสารสำคัญหลายชนิดเช่น แคโรทีน (บีต้า-แคโรทีน) ไวตามิน เอ และฟลาโวนอยด์ ซึ่งสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้ นอกจากนี้พบว่าสารสกัดส่วนใหญ่ที่ได้จากพืชทั้งสามชนิดนี้เป็นสารจำพวกน้ำมันหอมระเหย ซึ่งสารกลุ่มนี้สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยการศึกษาในครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดหยาบเอธานอลจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก เปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่ได้จากพืชทั้ง 3 ชนิด และอาจเป็นแนวทางส่งเสริมการปลูกกะเพรา โหระพา และใบแมงลัก เพื่อให้ได้สารที่มีคุณภาพ จากการทดลองโดยทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลชีพ *Escherichia coli Straphylococus aureus Pseudomonas aeruginosa* และ*Candida albicans* ด้วยสารสกัดใบกะเพราะ โหระพา และแมงลัก ด้วยเอธานอล ณ ความเข้มข้น100 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม พบว่าสารสกัดจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ณ ความเข้มข้นดังกล่าวมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลชีพ *Escherichia coli Straphylococus aureus Pseudomonas aeruginosa* และ*Candida albicans* เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำกลั่น ($p < 0.05$) เมื่อทดสอบการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระไนตริคออกไซด์ โดยเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐานพบว่าสารสกัดใบแมงลัก ณ ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิตรให้ปริมาณไนตริคออกไซด์สูงที่สุด ส่วนการหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยจากสารสกัดใบกะเพราพบสาร Eugenol ปริมาณ13.584 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ พบ Methyl Eugenol ปริมาณ 0.159 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดใบโหระพาพบสาร Eugenol ปริมาณ 34.987 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ พบ Methyl Eugenol ปริมาณ 8.962 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดใบแมงลักพบสาร Eugenol ปริมาณ 5.473 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ พบ Methyl Eugenol ปริมาณ 0.320 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นสารสกัดใบกะเพรา โหระพา และแมงลักจึงเป็นสารสกัดสมุนไพรที่น่าสนใจ และอาจนำมาช่วยในการรักษาโรคได้

Project Title **The Study of Oxidation Reaction and Antimicrobial Activities of *Ocimum tenuiflorum* L., *Ocimum basilicum* L., *Ocimum americanum* L. Extracts**

Members **1. Pahol Sansomchai Head of the project**

2. Mayuramas Sang-Ngern Member

Abstract

Plants have played a significant role in maintaining human health and improving the quality of human life, as several medicinal plants have been exploited for centuries by various communities for their activities against a wide spectrum of diseases in man and animals. Among these, *Ocimum tenuiflorum* L., *Ocimum basilicum* L., *Ocimum americanum* L. are Labiatae family that have many active compounds such as Carotine (β-carotine) vitamin A and flavonoids. These active compounds may evoke the human immune system. Moreover, the extracts derived form three kinds of these plants are essential oil. These essential oils are evoking the human immune system. This study aimed to study the bioactivities of *Ocimum tenuiflorum* L., *Ocimum basilicum* L., *Ocimum americanum* L. leave extracts by ethanol that may stimulate the immune system, to compare the bioactivities of three kinds of these medicinal plants, and to promote the cultivation of *Ocimum tenuiflorum* L., *Ocimum basilicum* L., *Ocimum americanum* L. for active ingredients. From the results, the inhibition of *Escherichia coli Straphylococus aureus Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* by *Ocimum tenuiflorum* L., *Ocimum basilicum* L., *Ocimum americanum* L. ethanol leave extracts at the concentration 100 μg/mL, 500 μg/mL, and 1000 μg/mL were significantly inhibit the growth of *Escherichia coli Straphylococus aureus Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* when compared to distilled water ($p < 0.05$). The enhance of nitric oxide production by the extracts when compare to standard nitric oxide found that the *Ocimum americanum* L. ethanol leave extracts at the concentration 500 μg/mL gave the highest production of nitric oxide. For the essential oil measurement, Eugenol and methyl Eugenol were found in *Ocimum tenuiflorum* L. at concentration 13.584 μg/mL and 0.159 μg/mL. Eugenol and methyl Eugenol were found in *Ocimum basilicum* L. at concentration 34.987 μg/mL and 8.9629 μg/mL. Eugenol and methyl Eugenol were found in *Ocimum americanum* L.. at concentration 5.473 μg/mL and 0.320 μg/mL. The immunostimulatory effect of the ethanol extracts of *Ocimum tenuiflorum* L., *Ocimum basilicum* L., *Ocimum americanum* L. might be a new attractive medicinal plant for the treatment of infectious diseases.

สารบัญ

		หน้า
กิตติกรรมประกาศ		**ข**
บทสรุปผู้บริหาร		**ค**
บทคัดย่อภาษาไทย		**ฎ**
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		**ฎ**
บทที่ 1 บทนำ		**1**
1.1	ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2	วัตถุประสงค์ของโครงการ	1
1.3	ผลที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.4	คำถามหลักของงานวิจัย	2
1.5	ทฤษฎี สมมติฐาน หรือกรอบแนวคิดขอโครงงานวิจัย	2
1.6	ขอบเขตการวิจัย	3
1.7	ระยะเวลาในการดำเนินงาน	4
1.8	นิยามศัพท์	4
1.9	คณะนักวิจัยและที่ปรึกษางานวิจัย	5
บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎี และเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง		**6**
2.1	แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้องและครอบคลุมงานวิจัย	6
2.2	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย		**9**
3.1	ระเบียบวิธีการวิจัย	9
3.2	ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง	10
3.3	กิจกรรมวิจัย ขั้นตอนการดำเนินงาน การวิเคราะห์ทดสอบ การติดตามผล	10
3.4	สถิติที่ใช้ในการวิจัย	11
บทที่ 4 ผลการศึกษาวิจัย		**12**
บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ		**27**

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1-1	ระยะเวลาในการดำเนินงาน	4

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 4-1	The Growth Curve of Microorganism	12
ภาพที่ 4-2	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli*	13
ภาพที่ 4-3	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*	15
ภาพที่ 4-4	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ps. aeruginosa*	17
ภาพที่ 4-5	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans*	19
ภาพที่ 4-6	กราฟมาตรฐานไนตริคออกไซด์	21
ภาพที่ 4-7	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดแมงลัก ต่อความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์	22
ภาพที่ 4-8	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดกะเพรา ต่อความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์	23
ภาพที่ 4-9	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดโหระพา ต่อความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์	24
ภาพที่ 4-10	กราฟมาตรฐานระหว่าง Eugenol และ Methyl Eugenol	25
ภาพที่ 4-11	กราฟแสดงปริมาณ Eugenol และ Methyl Eugenol ที่ได้จากสารสกัดแมงลัก	25
ภาพที่ 4-12	กราฟแสดงปริมาณ Eugenol และ Methyl Eugenol ที่ได้จากสารสกัดกะเพรา	26
ภาพที่ 4-13	กราฟแสดงปริมาณ Eugenol และ Methyl Eugenol ที่ได้จากสารสกัดโหระพา	26

บรรณานุกรม

1. Mukherjee, R., Dask, P.K. and Ram, G.C. (2005) Immunotherapeutic potential of *Ocimum sanctum* (L.) in bovine subclinical mastitis. *Resarch in Verterinary Science*, 79, 37-43.
2. Punturee, K. (2005) Effects of *Centella asiatica* and *Rhinacanthus nasutus* extracts on mycotoxin-induced immunomodulation. Ph.D. Thesis.
3. See, D.M., Broumand, N., Sahl L. and Tilles, J.G. (1997) In vitro effects of Echinacea and gingseng on natural killer and antibody dependent cell cytotoxicity in healthy subjects and chronic fatigue syndrome or acquired immunodeficiency patients. *Immunopharmacology*, 35, 229–235.
4. Ernst E. and Casileth B.R. (1998) The prevalence of complementary/alternative medicine in cancer: a systematic review. *Cancer*, 83(4), 777-82.
5. Phadke, S.A. and KulKarni, S.D. (1989) Screening of *in vitro* antibacterial activity of *Terminalia chebula*, *Eclipta alba* and *Ocimum sanctum*. *Ind J Med Sci*, 45, 113-117.
6. Babior, B.M. (2000) Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med*, 109(1), 33-44.
7. Ernst E. (1997) Risks and benefits of vegetarianism. *Br J Hosp Med.*, 58(8):372-4.
8. Craig W. J. (1999) Health-promoting properties of common herbs. *Am J Clin Nutr.*, 70(3), 491S-499S.
9. Mediratta, P.K., Dewan, V., Bhattacharya, S.K. Gupta, V.S., Maiti, P.C. and Sen, P. (1988) Effect of *Ocimum Sanctum* L. on humoral immune responses. *Indian J Med Res*, 4, 384-386.
10. Sukari, M.A. and Takahashi, S. (1988) Biological activity of some Malaysian plant extracts. *Pertaniks*, 11, 249-253.
11. Lal, R.N., Sen, T.K. and Nigam, M.C. (1978) Gas chromatography of the essential oil of *Ocimum sanctum L. Parfumerie und Kosmetiks*, 59, 230-231.
12. Maheshwari, M.L. *et al.* (1987) Essential oil of sacred basil (*Ocimum sanctum*). *Indian Perfumer*, 31, 137-145.
13. Singh, S. and Agrawal, S.S. (1991) Anti-asthmatic and anti-inflammatory activity of *Ocimum sanctum* L. *J Res & Edu Ind Med*, 10, 23-28.
14. Singh, S., Majumdar, D.K. and Yadav, M.R. (1996) Chemical and pharmacological studies on fixed oil of *Ocimum sanctum*. *Ind J Exp Biol*, 34, 1212-1215.
15. Phadke, S.A. and KulKarni, S.D. (1989) Screening of *in vitro* antibacterial activity of *Terminalia chebula*, *Eclipta alba* and *Ocimum sanctum*. *Ind J Med Sci*, 45, 113-117.

16. Godhwani, S. *et al.* (1988). *Ocimum sanctum*: a preliminary study evaluating its immuno-regulatory profile in abino rats. *J Ethnophamacol*, 65, 301-302.
17. Ross M.S.F., Brain KK. (1977) An Introduction to phytopharmacy. London: Pithman Medical Publishing Co. Ltd., p. 258-176.
18. Bhargava KP, Singh N. (1981) Anti-stress activity of *Ocimum sanctum* Linn. Indian *J Med Res*, 73, 443-51.
19. Dharmani P *et al.* (2004) Evaluation of anti-ulcerogenic and ulcer-healing properties of *Ocimum sanctum* Linn. *J Ethnopharmacol*, 93,197-206.
20. Singh S. and Majumdar D.K. (1999) Evaluation of gastric antiulcer activity of fixed oil of *Ocimum sanctum* (Holy Basil). *J Ethnopharmacol*, 65, 13-9.

ประวัตินักวิจัย และคณะ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิสินี จันทร์มหสเถียร ที่ปรึกษาโครงการวิจัย

สัดส่วนที่ทำวิจัย	-
ที่อยู่	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตำบลสุเทพ อำเภอเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์	0-5394-4343

2. นายพหล แสนสมชัย หัวหน้าโครงการวิจัย

สัดส่วนงานที่ทำวิจัย	ร้อยละ 90
ที่อยู่	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง อำเภอเมือง เชียงราย 57100
โทรศัพท์	0-5391-6833

3. นางสาวมยุรมาศ แสงเงิน ผู้ร่วมโครงการวิจัย

สัดส่วนงานที่ทำวิจัย	ร้อยละ 10
ที่อยู่	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง อำเภอเมือง เชียงราย 57100
โทรศัพท์	0-5391-6833

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

พืชมีความสำคัญในชีวิตประจำวันของมนุษย์มากมายเช่น ใช้เป็นเครื่องปรุงแต่งในอาหาร เครื่องดื่ม เครื่องสำอาง สีย้อม และยารักษาโรค พืชมีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพของมนุษย์เรา เนื่องจากพืชเป็นแหล่งรวมสารสำคัญนานาชนิดที่มีฤทธิ์ในการบำบัดรักษาโรคได้ทั้งในมนุษย์และสัตว์ สารธรรมชาติที่ได้จากพืชสมุนไพรที่ช่วยขจัดความเจ็บป่วยในมนุษย์มีฤทธิ์ทางชีวภาพและกลไกในการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันไป

ที่น่าสนใจประการหนึ่ง พืชหลายชนิดสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เมื่อร่างกายเกิดการติดเชื้อจากเชื้อโรคต่างๆ หรือเมื่อร่างกายเป็นโรคที่เรื้อรัง พืชในไทยหลายชนิดมีสารที่สำคัญที่มีคุณสมบัติในการต้านมะเร็ง ต้านการเกิดการต้านภูมิคุ้มกันต่อตนเอง การแพ้ และการเกิดเชื้อโรคเอดส์

กะเพรา (*Ocimum tenuiflorum* L.) โหระพา (*Ocimum basilicum* L.) และแมงลัก (*Ocimum canum* L.) วงศ์ Labiatae โดยมีสารสำคัญหลายชนิดเช่น แคโรทีน (บีต้า-แคโรทีน) ไวตามิน เอ และฟลาโวนอยด์ ซึ่งสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้ นอกจากนี้พบว่าสารสกัดส่วนใหญ่ที่ได้จากพืชทั้งสามชนิดนี้เป็นสารจำพวกน้ำมันหอมระเหย ลิโปโพลีแซคคาไรด์ โดยสารจำพวกลิโปโพลีแซคคาไรด์มีคุณสมบัติคล้ายผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งสารกลุ่มนี้สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย

จากการรายงานทางวิชาการยังไม่พบรายงานการศึกษา การส่งเสริมการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นโดยสารสกัดใบกะเพรา โหระพา และแมงลัก เนื่องจากภาวะอนุมูลอิสระมากเกินเป็นสิ่งที่เม็ดเลือดขาวใช้ทำลายเชื้อโรคที่เข้ารุกรานต่อร่างกายมนุษย์ การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเช่น การต้านเชื้อจุลชีพ การศึกษาองค์ประกอบที่สำคัญของสารสกัดพืชทั้ง 3 ชนิดนี้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาเพื่อทำการทดลองเกี่ยวกับการองค์ประกอบที่สำคัญทางเคมี และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากการสกัดพืชทั้ง 3 ชนิดนี้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนสกัดหยาบเอธานอลจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก
2. เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่ได้จากพืชทั้ง 3 ชนิด

3. เพื่อเป็นแนวทางส่งเสริมการปลูกกะเพรา โหระพา และใบแมงลักเพื่อให้ได้สารที่มีคุณภาพ

1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรไทย เพื่อเพิ่มมูลค่าของพืชท้องถิ่น
2. น่าจะพบสารมีฤทธิ์ที่ดีในการต้านจุลชีพ เพื่อลดการนำเข้าสาระสำคัญจากต่างประเทศ
3. ได้ข้อมูลพื้นฐานที่มีประโยชน์ในการพัฒนายาจากพืชสมุนไพรไทย เพื่อการผลิตเชิงปริมาณ
4. ในการผลิตและการแปรรูป จะทราบถึงการปรับปรุงขั้นตอนการผลิตเพื่อให้ได้กะเพรา โหระพา และใบแมงลักที่มีคุณภาพดี
5. ผู้บริโภคหรือผู้ป่วย มีทางเลือกในการเลือกใช้สมุนไพรไทย
6. นักศึกษาสามารถนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในชีวิตประจำวันได้
7. สามารถเผยแผ่ความรู้สู่ชุมชน
8. งานวิจัยสามารถตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ

1.4 คำถามหลักของงานวิจัย

พืช 3 ชนิด ได้แก่ กะเพรา โหระพา และแมงลัก สามารถมีฤทธิ์ในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันผ่านระบบเอนไซม์ไนตริคออกไซด์ และสามารถฆ่าเชื้อจุลชีพได้หรือไม่

1.5 ทฤษฎี สมมติฐาน หรือกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

กะเพรา โหระพา และแมงลักเป็นพืชสมุนไพรที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั้งในอินเดีย เอเชีย และอัฟริกา โดยส่วนใช้ส่วนใบเพื่อประกอบอาหาร จากตำราสมุนไพรพื้นบ้านพืชทั้ง 3 ชนิดนี้มีคุณสมบัติลดการอักเสบ ขับน้ำดี ลดการบีบตัวของลำไส้ ต้านการเกิดแผลในกระเพาะ ขับลม แก้ปวด สารสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านฮีสตามีน ฤทธิ์ปกป้องตับ และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดอาการท้องเสีย โดยใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก มีสาร eugenol มีฤทธิ์ลดการอักเสบ โดยยับยั้งการสังเคราะห์ prostaglandin สารสกัด 50% เอทานอลของใบกะเพรา ขนาด 100 มิลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำมันหอมระเหย และ fixed oil จากเมล็ดกะเพรา ขนาด 0.1 มิลลิลิตร ต่อ 100 กรัม ทดสอบโดยการป้อนครั้งเดียวให้หนูตะเภาที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าด้วยสารคาราจีแนน เซราโตนิน และฮีสตามีน Fixed oil จากเมล็ดกะเพรา ขนาด 3 มิลลิลิตร ต่อ กิโลกรัม

ทดสอบในหนูขาว โดยฉีดเข้าทางช่องท้องของหนูที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าด้วยสารคาราจีแนน กรดไขมันจาก fixed oil ของเมล็ดกะเพรา โหระพา และแมงลัก ได้แก่ stearic, palmitic, oleic, linoleic และ linolenic acids สามารถลดการอักเสบ เมื่อทดสอบในหนูถีบจักรและหนูขาวที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าด้วยสารคาราจีแนน มากไปกว่านั้นสารสกัดจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ได้แก่ cirsilineol, cirsimaritin, isothymonin, apigenin, rosmaric acid และ eugenol ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมล ทดสอบในหลอดทดลอง มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบได้ โดยยับยั้งการสังเคราะห์สารที่ทำให้เกิดการอักเสบ นอกจากนี้ fixed oil จากเมล็ดกะเพรา ขนาด 3 มิลลิลิตร ต่อ กิโลกรัม สามารถยับยั้งการอักเสบของข้อเข่าของหนูขาวได้ โดยมีผลยับยั้งเทียบเท่ากับยา aspirin ขนาด 100 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม และตำรับยาที่มีกะเพราเป็นส่วนประกอบหนึ่งขนาด 300 และ 500 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม ทดสอบกับอุ้งเท้าหนูขาวที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยสารคาราจีแนน และ ฟอร์มาลีน มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบได้ เนื่องจากไปยับยั้งการสังเคราะห์สารที่ทำให้เกิดการอักเสบ เนื่องจากยังไม่พบรายงานการศึกษาในประเทศไทยของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ดังนั้นผู้วิจัยมีความสนใจที่จะทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่แยกได้จากการสกัดจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก

1.6 ขอบเขตการวิจัย

1. สกัดสารจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก
2. ทดสอบฤทธิ์การเกิดภาวะอนุมูลอิสระมากเกินจากส่วนสกัดหยาบที่ได้จากเอธานอล และศึกษาชนิดของสารที่ได้จากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก
3. ทดสอบฤทธิ์การเหนี่ยวนำการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืชทั้งสามชนิดเช่น ฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพ
4. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการออกฤทธิ์ของสารสกัดที่มีในใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก

1.7 ระยะเวลาในการดำเนินงาน

ตารางที่ 1-1 ระยะเวลาในการดำเนินงาน

ขั้นตอน	เดือน											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. เก็บตัวอย่าง อบแห้ง สกัดด้วยตัวทำละลาย	←	→										
2. ตรวจเอกลักษณ์ของสารสกัดพืชที่ได้		←	—	→								
3. ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพของสารสกัด					←	→						
4. ทดสอบฤทธิ์การเกิดปฏิกิริยาภาวะอนุมูลอิสระมากเกินของสารสกัด							←	—	→			
5. สรุปผลการทดลองเขียนรายงาน และ Manuscript										←	—	→

1.8 นิยามศัพท์

กะเพรา (*Ocimum tenuiflorum* L. ชื่อพ้อง *Ocimum sanctum* L.) โหระพา (*Ocimum basilicum* L.) และแมงลัก (*Ocimum americanum* L.) พืชทั้งสามชนิดนี้อยู่ในวงศ์ Labiatae ลักษณะไม้ล้มลุก อายุหลายปี สูง 30-90 เซนติเมตร มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ลำต้นเป็นรูปสี่เหลี่ยม มีขนปกคลุม ใบเดี่ยวเรียงตรงข้าม ขอบใบหยักฟันเลื่อยห่างๆ ปลายแหลม กะเพรา มี 3 พันธุ์ คือ กะเพราแดง กะเพราขาว และกะเพราลูกผสมระหว่างกะเพราขาวและกะเพราแดง ใบกะเพราแดงสีเขียวแกมม่วงแดง ส่วนใบกะเพราขาวสีเขียวอ่อน ดอกย่อยสีชมพูแกมม่วง ดอกกะเพราแดงสีเข้มกว่ากะเพราขาว

โหระพา ต้น และใบมีกลิ่นหอม มีขนอ่อนปกคลุมใบ และลำต้น ขอบใบ มีลักษณะหยักแบบฟันเลื่อยห่างๆ ออกดอกเป็นชั้นคล้ายฉัตร ดอกสีขาว แดงอ่อน

แมงลัก เป็นพืชล้มลุก สูงประมาณ 20-70 เซนติเมตร ก้านใบสีม่วงแดง มีกลิ่นหอม

กรดไขมันจาก fixed oil ของเมล็ดกะเพรา โหระพา และใบแมงลัก เป็นสารจำพวก stearic, palmitic, oleic, linoleic และ linolenic acids นอกจากนี้สารสกัดจากใบกะเพรา ใบโหระพา

และใบแมงลัก เป็นสารจำพวก cirsilineol, cirsimaritin, isothymonin, apigenin, rosmaric acid และ eugenol

1.9 คณะนักวิจัยและที่ปรึกษางานวิจัย

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิสินี จันทร์มหสเถียร	ที่ปรึกษาโครงการวิจัย
สัดส่วนที่ทำวิจัย	-
ที่อยู่	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตำบลสุเทพ อำเภอเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์	0-5394-4343
2. นายพหล แสนสมชัย	หัวหน้าโครงการวิจัย
สัดส่วนงานที่ทำวิจัย	ร้อยละ 90
ที่อยู่	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง อำเภอเมือง เชียงราย 57100
โทรศัพท์	0-5391-6833
3. นางสาวมยุรมาศ แสงเงิน	ผู้ร่วมโครงการวิจัย
สัดส่วนงานที่ทำวิจัย	ร้อยละ 10
ที่อยู่	สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง อำเภอเมือง เชียงราย 57100
โทรศัพท์	0-5391-6833

บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎี และเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้องและครอบคลุมงานวิจัย

กะเพรา โหระพา และแมงลักเป็นพืชสมุนไพรที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั้งในอินเดีย เอเชีย และอัฟริกา โดยส่วนใช้ส่วนใบเพื่อประกอบอาหาร จากตำราสมุนไพรพื้นบ้านพืชทั้ง 3 ชนิดนี้มีคุณสมบัติลดการอักเสบ ขับน้ำดี ลดการบีบตัวของลำไส้ ต้านการเกิดแผลในกระเพาะ ขับลม แก้ปวด สารสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านฮีสตามีน ฤทธิ์ปกป้องตับ และฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดอาการท้องเสีย โดยใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก มีสาร Eugenol มีฤทธิ์ลดการอักเสบ โดยยับยั้งการสังเคราะห์ prostaglandin สารสกัด 50% เอทานอลของใบกะเพรา ขนาด 100 มิลิกรัม ต่อ 100 กรัม น้ำมันหอมระเหย และ fixed oil จากเมล็ดกะเพรา ขนาด 0.1 มิลลิลิตร ต่อ 100 กรัม ทดสอบโดยการป้อนครั้งเดียวให้หนูตะเภาที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าด้วยสารคาราจีแนน เซราโตนิน และฮีสตามีน Fixed oil จากเมล็ดกะเพรา ขนาด 3 มิลลิลิตร ต่อ กิโลกรัม ทดสอบในหนูขาว โดยฉีดเข้าทางช่องท้องของหนูที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าด้วยสารคาราจีแนน กรดไขมันจาก fixed oil ของเมล็ดกะเพรา โหระพา และแมงลัก ได้แก่ stearic, palmitic, oleic, linoleic และ linolenic acids สามารถลดการอักเสบ เมื่อทดสอบในหนูถีบจักรและหนูขาวที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบที่อุ้งเท้าด้วยสารคาราจีแนน มากไปกว่านั้นสารสกัดจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ได้แก่ cirsilineol, cirsimaritin, isothymonin, apigenin, rosmaric acid และ eugenol ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมล ทดสอบในหลอดทดลอง มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบได้ โดยยับยั้งการสังเคราะห์สารที่ทำให้เกิดการอักเสบ นอกจากนี้ fixed oil จากเมล็ดกะเพรา ขนาด 3 มิลลิลิตร ต่อ กิโลกรัม สามารถยับยั้งการอักเสบของข้อเข่าของหนูขาวได้ โดยมีผลยับยั้งเทียบเท่ากับยา aspirin ขนาด 100 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม และตำรับยาที่มีกะเพราเป็นส่วนประกอบหนึ่งขนาด 300 และ 500 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม ทดสอบกับอุ้งเท้าหนูขาวที่เหนี่ยวนำให้เกิดการอักเสบด้วยสารคาราจีแนน และ ฟอร์มาลีน มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบได้ เนื่องจากไปยับยั้งการสังเคราะห์สารที่ทำให้เกิดการอักเสบ เนื่องจากยังไม่พบรายงานการศึกษาในประเทศไทยของฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก ดังนั้นผู้วิจัยมีความสนใจที่จะทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่แยกได้จากการสกัดจากใบกะเพรา ใบโหระพา และใบแมงลัก

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี 2005 จากผลการทดลองของ Mukherjee, R. และคณะ มีการใช้สารสกัดกะเพราในการบำบัดโรคที่เกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน นอกจากนั้น Punturee, K. ยังมีการใช้สารสกัดจากใบบัวบกและทองพันชั่งในการรักษาโรคที่เกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน โดยการเหนี่ยวนำจากพิษของเชื้อ Microbacteria MPCO และในปี 1997 See, D.M. และคณะ ได้มีการศึกษาในหลอดทดลองโดยดูผลจากพืช Echinacea และโสม ที่มีผลต่อเม็ดเลือดขาวและระบบภูมิคุ้มกันในคนปกติ และผู้ป่วยที่เป็นโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง ในปีเดียวกัน Ernst E. และ Casileth B.R. ได้มีการศึกษาผลของความเสี่ยงและผลดีของผู้รับประทานมังสวิรัติ และปีถัดมายังศึกษาผลของยาต่อโรคมะเร็งอีกด้วย

ในปี 1989 Phadke, S.A. และ KulKarni, S.D. ได้มีการคัดเลือกสารสกัดจากธรรมชาติพบว่า สมอไทย กะเม็ง และ กะเพรา มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลชีพ และในปี 2000 Babior, B.M. ได้มีการใช้สารสกัดจากธรรมชาติเหนี่ยวนำให้เกิดการโอบล้อมจับกินและการเกิดภาวะอนุมูลอิสระมากเกินในเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโตรฟิลและแมคโครฟาจ ในปี 1999 Craig W. J. ได้ทำการศึกษาการใช้สมุนไพรเหนี่ยวนำทำให้เกิดสุขภาพที่ดี นอกจากนั้น Singh S. และ Majumdar D.K. ได้ศึกษาฤทธิ์น้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากกะเพราสามารถลดรอยแผลในกระเพาะอาหารและภาวการณ์เจ็บปวดจากโรคกระเพาะอาหารได้

ในปี 1988 Mediratta, P.K. และคณะ ได้ศึกษาผลของกะเพราต่อการตอบสนองระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ซึ่งพบว่าสารสกัดกะเพรามีฤทธิ์ในการส่งเสริมทำให้เกิดระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายที่ดีขึ้น ในปีดังกล่าว Sukari, M.A. และ Takahashi, S. ได้ศึกษาสารสกัดจากประเทศมาเลเซียและไทย โดยศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าสารสกัดจาก 2 ประเทศนี้ มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น Antimicrobial Antivirus เป็นต้น ซึ่งหนึ่งในพืชเหล่านี้กะเพราก็มีฤทธิ์ดังกล่าว นอกจากนั้น Godhwani, S. และคณะ ได้มีการศึกษาเบื้องต้นการส่งเสริมให้เกิดภูมิคุ้มกันและระบบภูมิคุ้มกันในหนูโดยการเหนี่ยวนำจากพืชกะเพรา พบว่ากะเพรามีฤทธิ์ทำให้เกิดการส่งเสริมให้เกิดภูมิคุ้มกันและระบบภูมิคุ้มกันในหนู

ในปี 1978 Lal, R.N. และคณะ ได้ศึกษาน้ำมันหอมระเหยจากสารสกัดกะเพราโดยวิธี Gas chromatography พบว่ามีน้ำมันหอมระเหยที่สำคัญคือ ยูจินอลและเมธิล-ยูจินอล และในปี 1991 Singh, S. และ Agrawal, S.S. ได้ศึกษาผลของสารสกัดกะเพราในการต้านภูมิแพ้และต้านการอักเสบ พบว่าสารสกัดจากพืชกะเพรามีฤทธิ์ลดภูมิแพ้และลดการอักเสบ ในปี 1996 Singh, S. และคณะ ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรามีฤทธิ์ทางชีวภาพ

ในปี 1981 Bhargava K.P. และ Singh N. ได้ศึกษาสารสกัดจากกะเพราในการต้านภาวะเครียด พบว่าสารสกัดกะเพรามีฤทธิ์ในการลดภาวะเครียด โดยการลดภาวะอนุมูลอิสระมากเกินและลดการแตกหักของ DNA นอกจากนั้นในปี 2004 Dharmani P. และคณะ ได้ใช้สารสกัดกะเพราในการสมานแผลและเป็นสาร Anti-ulcerogenic

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 ระเบียบวิธีวิจัย

1. ทางด้านเคมี

แยกองค์ประกอบทางเคมีของส่วนสกัดหยาบที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพให้บริสุทธิ์ โดยวิธีทางโครมาโทรกราฟี จากนั้นวิเคราะห์ประเภทของสารสกัดหยาบที่แยกได้ โดยใช้ข้อมูลทางสเปกโทสโกปีของสารสกัดที่แยกได้

วิธีการดำเนินงาน

1. เตรียมตัวอย่างพืช
2. แยกสกัดด้วยตัวทำละลายเอธานอลอย่างละ 2 ครั้งๆ
3. ระเหยเอาตัวทำละลายออก
4. แบ่งสารสกัดที่ได้ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ
5. วิเคราะห์ประเภทของสารสกัดที่แยกได้ โดยใช้ข้อมูลทางสเปกโทสโกปี

การเตรียมสารละลายเพื่อการทดสอบปฏิกิริยาภาวะอนุมูลอิสระมากเกินและฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพ

1. นำส่วนสกัดหยาบจากเอธานอลที่ได้ในแต่ละส่วนเตรียมเป็นสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยเอธานอลบริสุทธิ์ เก็บที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อรอทดสอบปฏิกิริยาภาวะอนุมูลอิสระมากเกิน และทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพ
2. เตรียมสารสกัดที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมจากสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด เพื่อรอทดสอบปฏิกิริยาภาวะอนุมูลอิสระมากเกิน และทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพ

2. การตรวจเอกลักษณ์ของสารสกัดพืชตัวอย่างโดยวิธีทางโครมาโตกราฟี ด้วยโครมาโตกราฟีสมรรถนะสูง (HPLC) และ โครมาโตกราฟีผิวบาง (TLC)

3. การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพ

การทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพ (*Candida albicans*) โดยตรวจวัดจำนวนเชื้อที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Sabouraud dextrose agar) เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมกับสารสกัดที่สกัดจากตัวทำลายทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างๆ

4. การทดสอบปฏิกิริยาภาวะอนุมูลอิสระมากเกินด้วย Griess reaction

การทดสอบฤทธิ์ปฏิกิริยาภาวะอนุมูลอิสระมากเกินด้วย Griess reaction อาศัยหลักการการตรวจจับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นด้วยสาร Sulfanilamide และ *N-1*-napthylenediaminedihydrochloride (NED) แล้ววัดความเข้มสีที่เกิดขึ้นตามความเข้มข้นของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น เปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่างชุดทดลองที่ไม่มีสารสกัดพืชตัวอย่าง ชุดการทดลองที่มีสารสกัดพืชตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ และชุดทดลองที่มีสารมาตรฐาน ณ ความเข้มข้นต่างๆ (โซเดียมไนไตรท์) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

สารสกัดจากกะเพรา โหระพา และแมงลัก

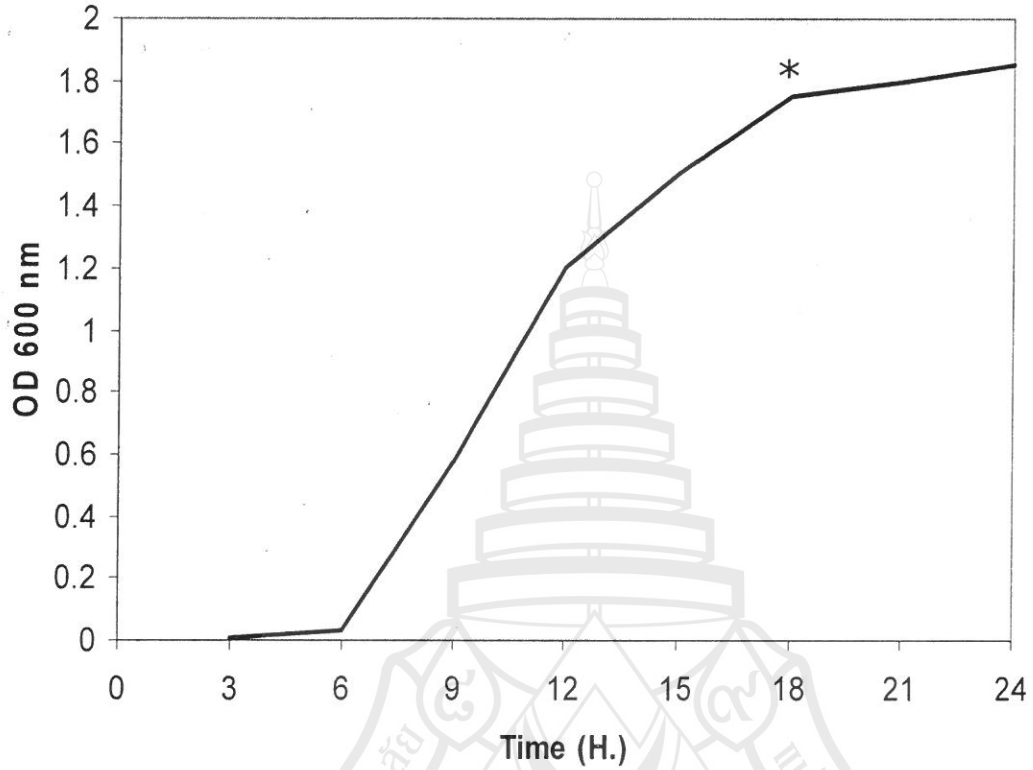
3.3 กิจกรรมวิจัย ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย การวิเคราะห์ทดสอบ การติดตามผล

1. เก็บตัวอย่าง อบแห้ง สกัดด้วยตัวทำละลาย 1 เดือน
2. ตรวจเอกลักษณ์ของสารสกัดพืชตัวอย่างโดยวิธีทางโครมาโตกราฟี ด้วยโครมาโตกราฟีสมรรถนะสูง (HPLC) และ โครมาโตกราฟีผิวบาง (TLC) 3 เดือน
3. ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพของส่วนสกัดหยาบ 2 เดือน
4. ทดสอบฤทธิ์การเกิดปฏิกิริยาภาวะอนุมูลอิสระมากเกินของส่วนสกัดหยาบ 3 เดือน
5. สรุปผลการทดลองเขียนรายงาน และ Manuscript เพื่อตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ 3 เดือน

3.4 สถิติที่ใช้ในการวิจัย

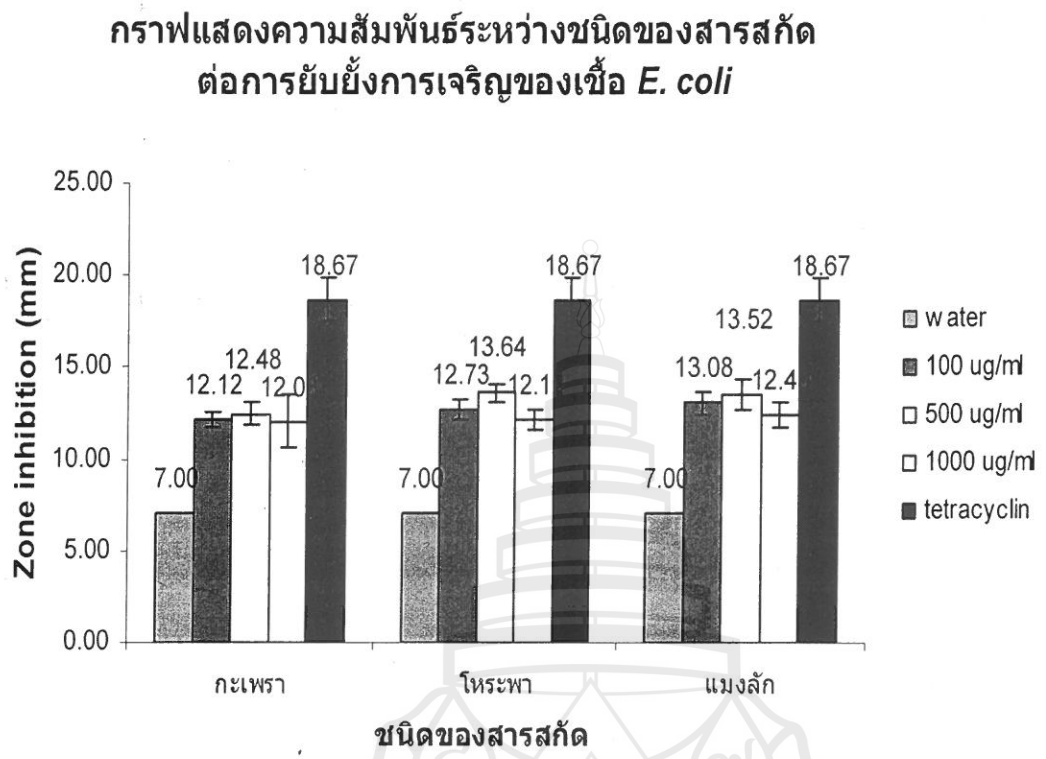
one-way ANOVA ค่า $p < 0.05$

บทที่ 4 ผลการศึกษาวิจัย



ภาพที่ 4-1 The Growth Curve of Microorganism.

จากภาพที่ 4-1 เป็นการวัดค่าการเจริญเติบโตที่เหมาะสมที่สุดของเชื้อจุลชีพ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าในช่วง 0 – 6 ชั่วโมง เชื้อจุลชีพมีการเจริญเติบโตในช่วง Lag Phase ในช่วงชั่วโมงที่ 6 -18 เชื้อจุลชีพมีการเจริญเติบโตในช่วง Log Phase และในช่วงตั้งแต่ 18-24 ชั่วโมง เชื้อจุลชีพมีการเจริญเติบโตในช่วง Stationary Phase ดังนั้น ช่วงเวลาที่เชื้อจุลชีพมีการเจริญเติบโตดีที่สุด คือ ชั่วโมงที่ 18 เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงสูงที่สุด จึงเลือกชั่วโมงดังกล่าวในการทดลองเลี้ยงเชื้อจุลชีพ



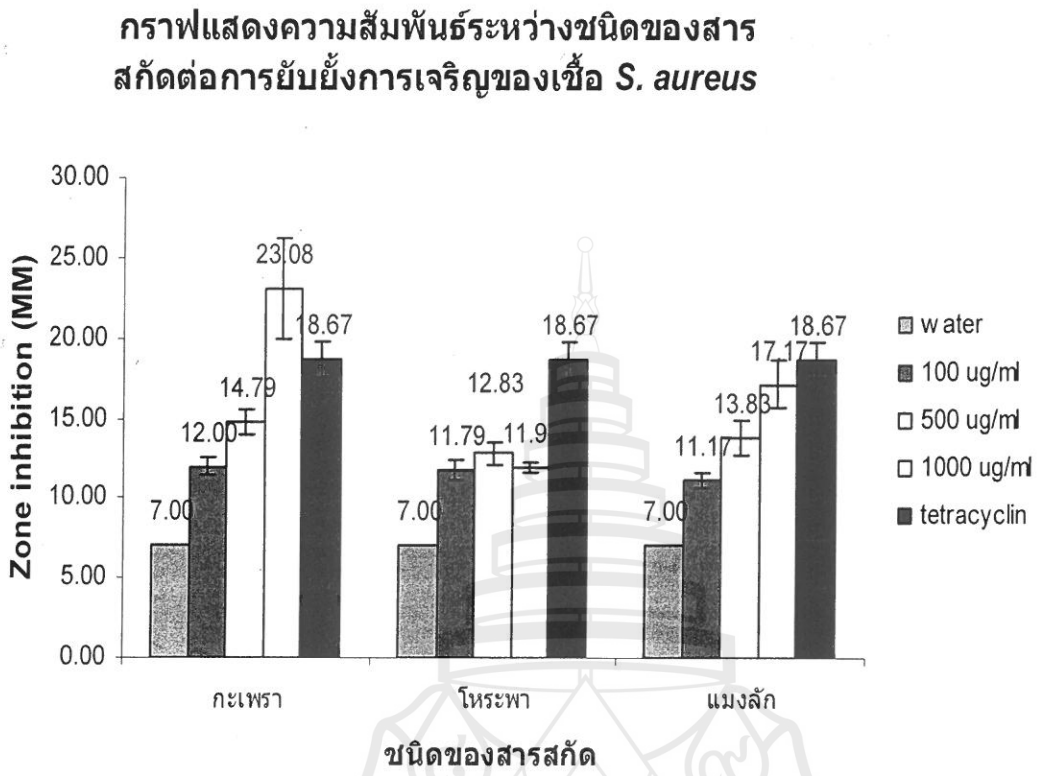
ภาพที่ 4-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli*

จากภาพที่ 4-2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดกะเพรา โหระพา และแมงลัก ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E.Coli* เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพระหว่างสารสกัดกับสาร Negative control คือ น้ำกลั่น และ Positive control คือ Tetracyclin พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.00 มิลลิเมตร และ 18.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ จากการทดลองนี้พบว่าสารสกัดกะเพราที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12.12 มิลลิเมตร 12.48 มิลลิเมตร และ 12.08 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดกะเพราที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E.Coli* ได้สูงสุด และเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12.48 มิลลิเมตร

สารสกัดโหระพาที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12.73 มิลลิเมตร 13.64 มิลลิเมตร และ 12.12 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัด

โหระพาที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E.Coli* ได้สูงสุด และเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 13.64 มิลลิเมตร

สารสกัดแมงลักที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 13.08 มิลลิเมตร 13.52 มิลลิเมตร และ 12.40 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดแมงลักที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E.Coli* ได้สูงสุด และเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 13.52 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E.Coli* ของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัดโหระพาและสารสกัดแมงลักความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพสูงสุดโดยสามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 13.64 มิลลิเมตร และ 13.52 มิลลิเมตร ตามลำดับ



ภาพที่ 4-3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus*

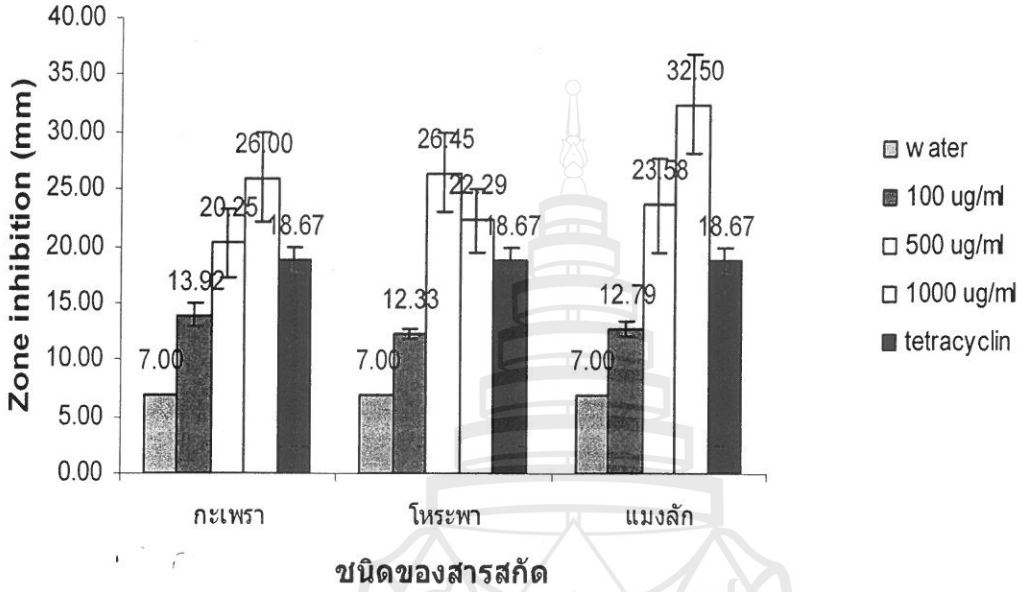
จากภาพที่ 4-3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดกะเพรา โหระพา และแมงลัก ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพระหว่างสารสกัดกับสาร Negative control คือ น้ำกลั่น และ Positive control คือ Tetracyclin พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.00 มิลลิเมตร และ 18.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ จากการทดลองนี้พบว่าสารสกัดกะเพราที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12.00 มิลลิเมตร 14.79 มิลลิเมตร และ 23.08 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดกะเพราที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้สูงสุด และเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 23.08 มิลลิเมตร

สารสกัดโหระพาที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาด

เส้นผ่าศูนย์กลาง 11.79 มิลลิเมตร 12.83 มิลลิเมตร และ 11.96 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดโหระพาที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้สูงสุด และเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12.83 มิลลิเมตร

สารสกัดแมงลักที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11.17 มิลลิเมตร 13.83 มิลลิเมตร และ 17.17 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดแมงลักที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้สูงสุด และเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 17.17 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัดกะเพราและสารสกัดแมงลักความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพสูงสุดโดยสามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 23.08 มิลลิเมตร และ 17.17 มิลลิเมตร ตามลำดับ

กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัด
ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ps. aeruginosa*

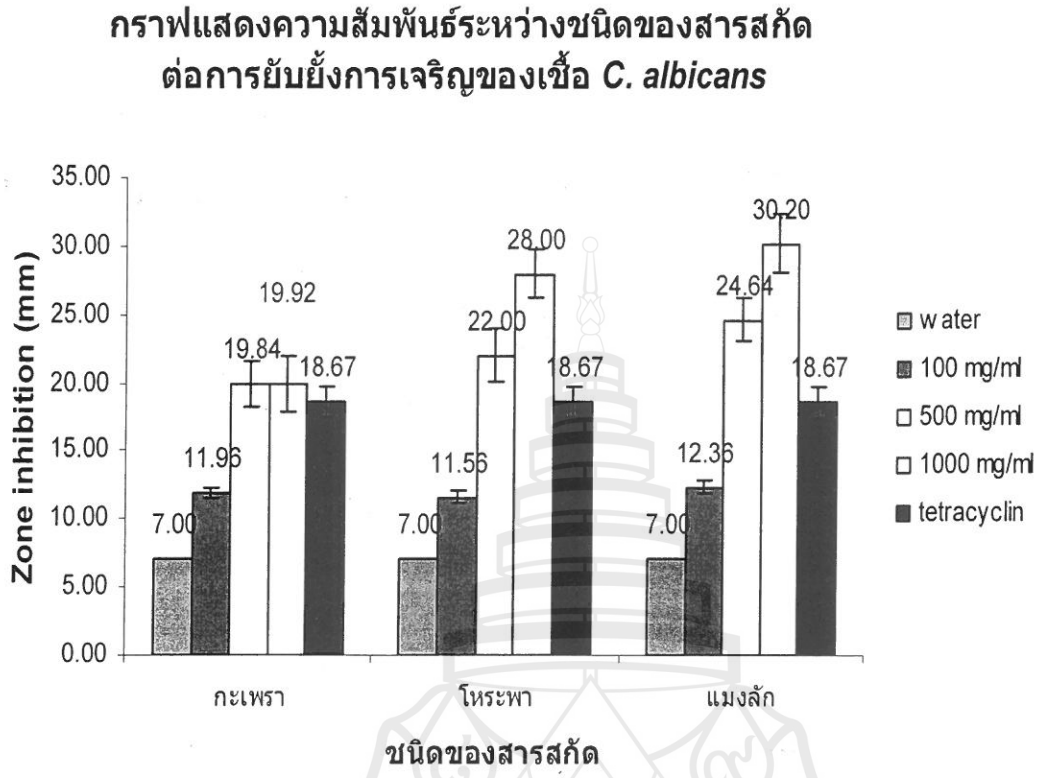


ภาพที่ 4-4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ps. aeruginosa*

จากภาพที่ 4-4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดกะเพรา โหระพา และแมงลัก ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ps. aeruginosa* เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพระหว่างสารสกัดกับสาร Negative control คือ น้ำกลั่น และ Positive control คือ Tetracyclin พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.00 มิลลิเมตร และ 18.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ จากการทดลองนี้พบว่าสารสกัดกะเพราที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 13.92 มิลลิเมตร 20.25 มิลลิเมตร และ 26.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดกะเพราที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ps. aeruginosa* ได้สูงสุด และเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 26.00 มิลลิเมตร

สารสกัดโหระพาที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12.33 มิลลิเมตร 26.45 มิลลิเมตร และ 22.29 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดโหระพาที่ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ps. aeruginosa* ได้สูงสุด และเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 26.45 มิลลิเมตร

สารสกัดแมงลักที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12.79 มิลลิเมตร 23.58 มิลลิเมตร และ 32.50 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดแมงลักที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ps. aeruginosa* ได้สูงสุด และเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 32.50 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ps. aeruginosa* ของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัดแมงลักความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพสูงสุดโดยสามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 32.50 มิลลิเมตร

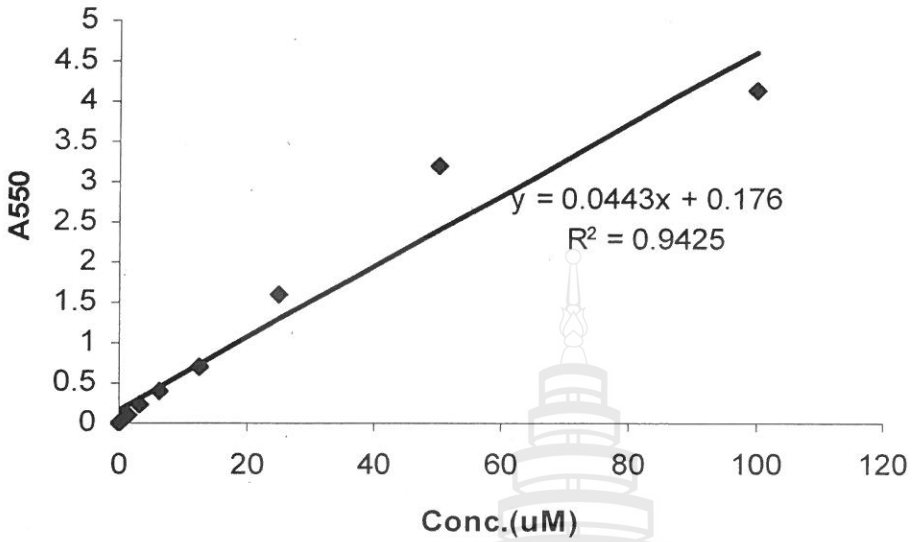


ภาพที่ 4-5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans*

จากภาพที่ 4-5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของสารสกัดกะเพรา โหระพา และแมงลัก ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลชีพระหว่างสารสกัดกับสาร Negative control คือ น้ำกลั่น และ Positive control คือ Tetracyclin พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.00 มิลลิเมตร และ 18.67 มิลลิเมตร ตามลำดับ จากการทดลองนี้พบว่าสารสกัดกะเพราที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11.96 มิลลิเมตร 19.84 มิลลิเมตร และ 19.92 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดกะเพราที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ได้สูงสุด และเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 19.92 มิลลิเมตร

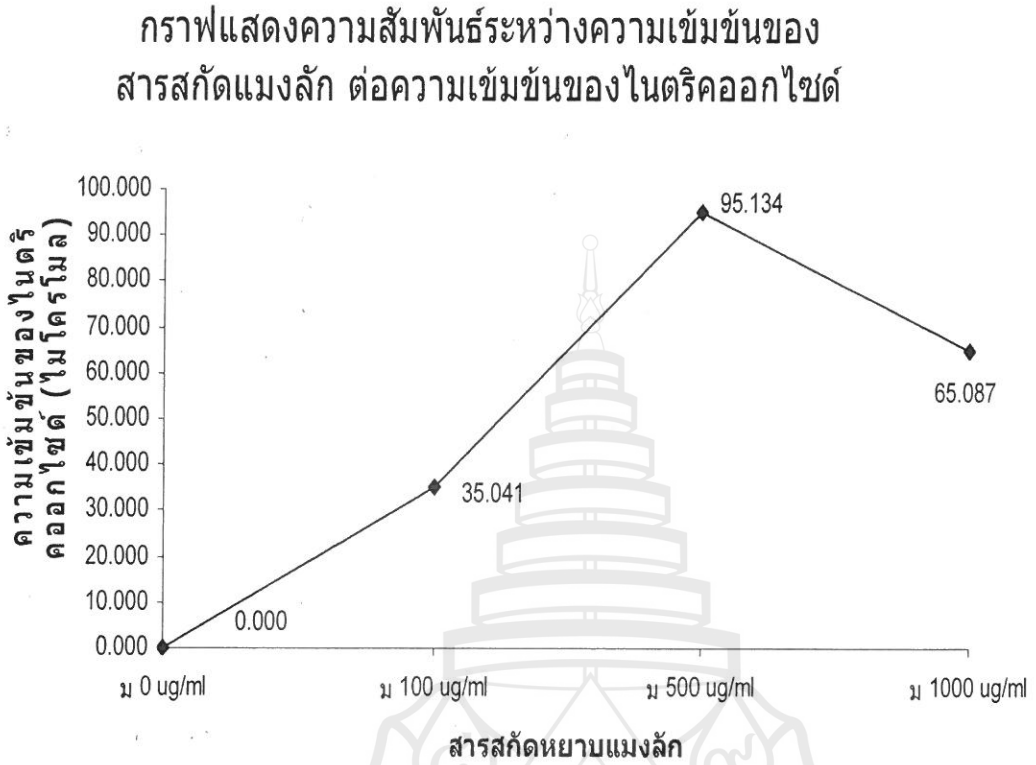
สารสกัดโหระพาที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11.56 มิลลิเมตร 22.00 มิลลิเมตร และ 28.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดโหระพาที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ได้สูงสุด และเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 28.00 มิลลิเมตร

สารสกัดแมงลักที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12.36 มิลลิเมตร 24.64 มิลลิเมตร และ 30.20 มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดแมงลักที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ได้สูงสุด และเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30.20 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. albicans* ของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด พบว่าสารสกัดโหระพาและสารสกัดแมงลักความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพสูงสุดโดยสามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพและเกิดบริเวณยับยั้งที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 28.00 มิลลิเมตร และ 30.20 มิลลิเมตร ตามลำดับ



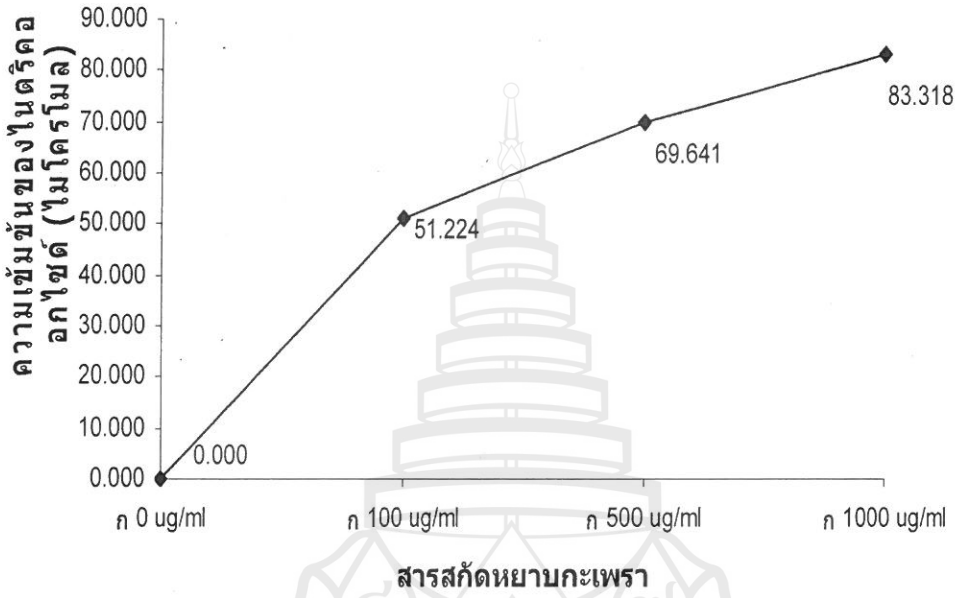
ภาพที่ 4-6 กราฟมาตรฐานไนตริคออกไซด์

จากภาพที่ 4-6 กราฟมาตรฐานไนตริคออกไซด์ โดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร



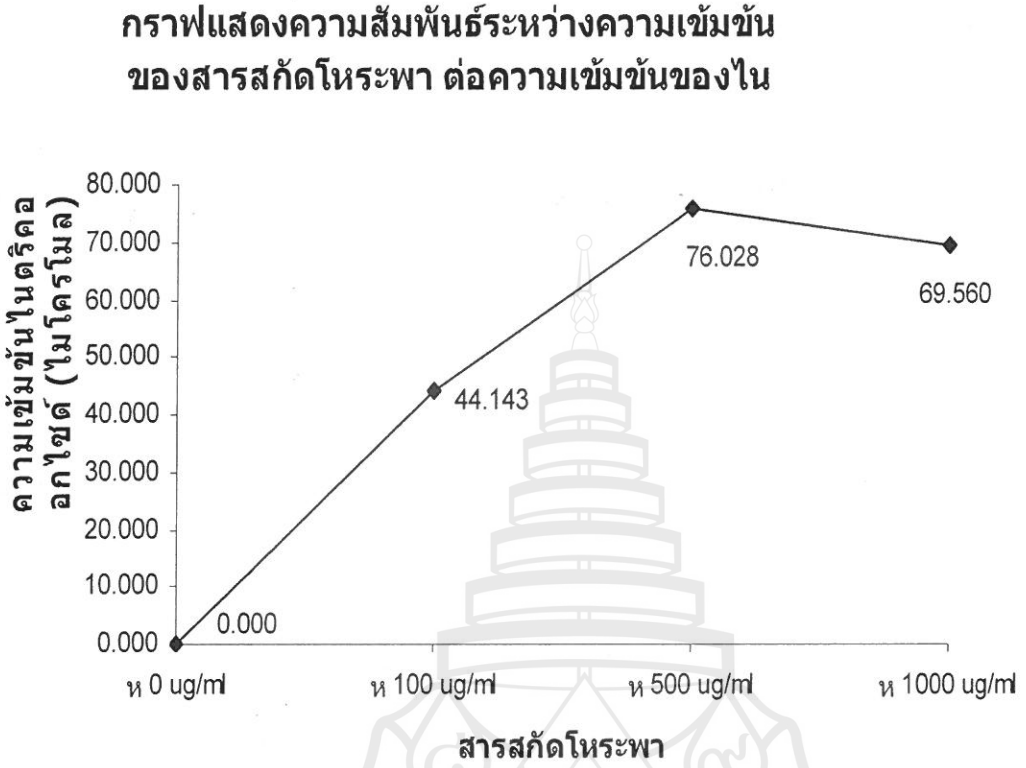
ภาพที่ 4-7 **กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดแมงลัก ต่อความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์**

จากภาพที่ 4-7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดแมงลักต่อความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์ โดยที่ความเข้มข้นของสารสกัดแมงลัก 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์ 0.000 ไมโครโมล ความเข้มข้นของสารสกัดแมงลัก 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์ 35.041 ไมโครโมล ความเข้มข้นของสารสกัดแมงลัก 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์ 95.134 ไมโครโมล ความเข้มข้นของสารสกัดแมงลัก 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์ 65.087 ไมโครโมล ดังนั้นสารสกัดแมงลักเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์สูงสุดที่ 95.134 ไมโครโมล



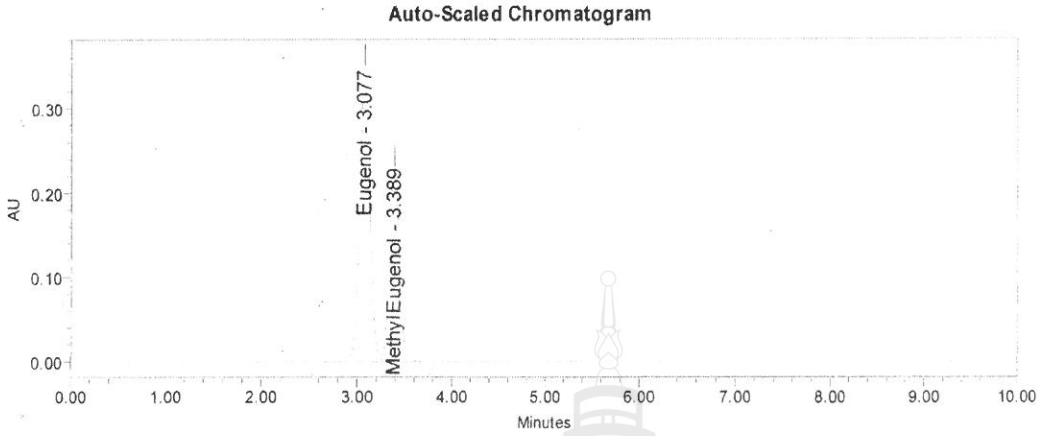
ภาพที่ 4-8 **กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดกะเพรา ต่อความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์**

จากภาพที่ 4-8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดกะเพราต่อความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์ โดยที่ความเข้มข้นของสารสกัดกะเพรา 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์ 0.000 ไมโครโมล ความเข้มข้นของสารสกัดกะเพรา 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์ 51.224 ไมโครโมล ความเข้มข้นของสารสกัดกะเพรา 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์ 69.641 ไมโครโมล ความเข้มข้นของสารสกัดแมงลัก 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์ 83.318 ไมโครโมล ดังนั้นสารสกัดกะเพราเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์สูงสุดที่ 83.318 ไมโครโมล



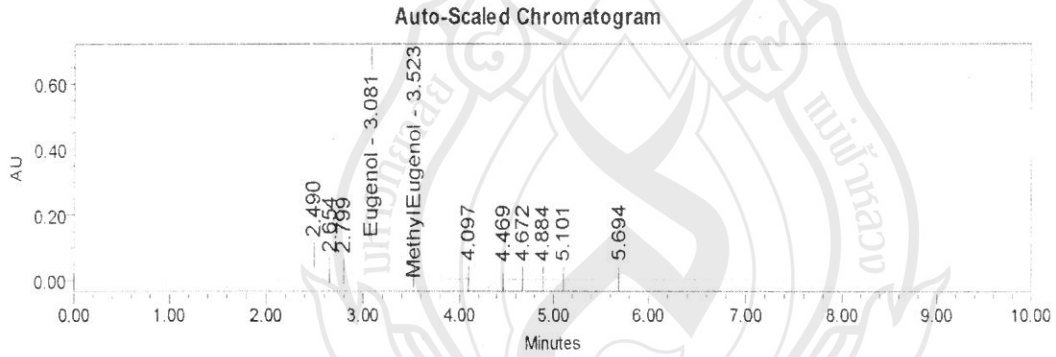
ภาพที่ 4-9 **กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดโหระพา ต่อความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์**

จากภาพที่ 4-9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดโหระพาต่อความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์ โดยที่ความเข้มข้นของสารสกัดโหระพา 0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์ 0.000 ไมโครโมล ความเข้มข้นของสารสกัดโหระพา 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์ 44.143 ไมโครโมล ความเข้มข้นของสารสกัดโหระพา 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์ 76.028 ไมโครโมล ความเข้มข้นของสารสกัดแมงลัก 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริค ออกไซด์ 69.560 ไมโครโมล ดังนั้นสารสกัดโหระพาเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ความเข้มข้นของไนตริคออกไซด์สูงสุดที่ 76.028 ไมโครโมล



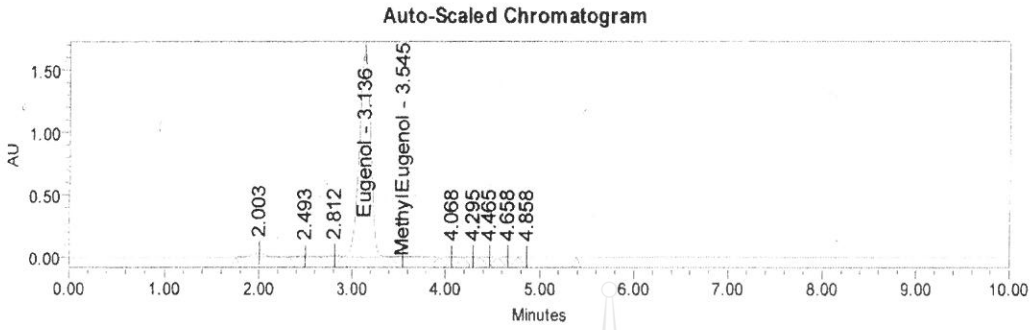
ภาพที่ 4-10 กราฟมาตรฐานระหว่าง Eugenol และ Methyl Eugenol

จากภาพที่ 4-10 กราฟมาตรฐานระหว่าง Eugenol และ Methyl Eugenol ซึ่งสามารถพบสารมาตรฐาน Eugenol ที่ Retention Time ที่ 3.077 และ พบสารมาตรฐาน Methyl Eugenol ที่ 3.389



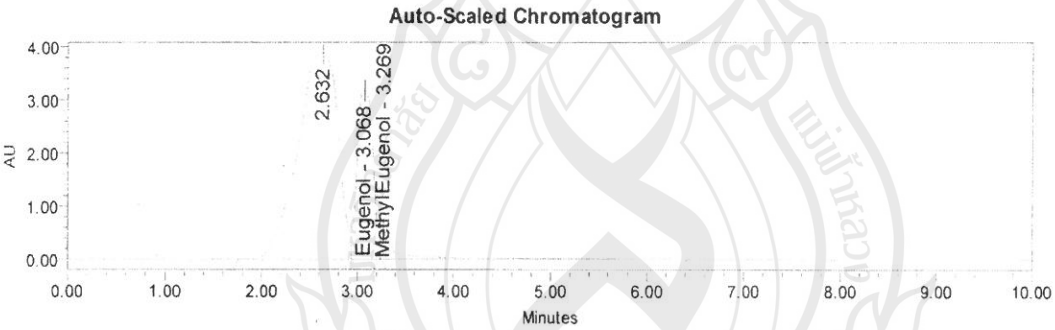
ภาพที่ 4-11 กราฟแสดงปริมาณ Eugenol และ Methyl Eugenol ที่ได้จากสารสกัดแมงลัก

จากภาพที่ 4-11 กราฟ Unknown ของ b9 (แมงลัก) พบ Eugenol ที่ Retention Time ที่ 3.081 ซึ่งมีปริมาณ 5.473 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ พบ Methyl Eugenol ที่ 3.523 ซึ่งมีปริมาณ 0.320 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสาร Eugenol และ Methyl Eugenol เป็นน้ำมันหอมระเหยสำคัญที่สามารถพบได้จากพืชแมงลัก



ภาพที่ 4-12 กราฟแสดงปริมาณ Eugenol และ Methyl Eugenol ที่ได้จากสารสกัดกะเพรา

จากภาพที่ 4-12 กราฟ Unknown ของ S10 (กะเพรา) พบ Eugenol ที่ Retention Time ที่ 3.136 ซึ่งมีปริมาณ 13.584 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ พบ Methyl Eugenol ที่ 3.545 ซึ่งมีปริมาณ 0.159 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสาร Eugenol และ Methyl Eugenol เป็นน้ำมันหอมระเหยสำคัญที่สามารถพบได้จากพืชกะเพรา



ภาพที่ 4-13 กราฟแสดงปริมาณ Eugenol และ Methyl Eugenol ที่ได้จากสารสกัดโหระพา

จากภาพที่ 4-13 กราฟ Unknown ของ T6 (โหระพา) พบ Eugenol ที่ Retention Time ที่ 3.068 ซึ่งมีปริมาณ 34.987 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ พบ Methyl Eugenol ที่ 3.269 ซึ่งมีปริมาณ 8.962 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสาร Eugenol และ Methyl Eugenol เป็นน้ำมันหอมระเหยสำคัญที่สามารถพบได้จากพืชโหระพา

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ

สารสกัดทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ กะเพรา โหระพาและแมงลัก มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลชีพ โดยพบว่า สารสกัดโหระพาและสารสกัดแมงลักความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ *E.coli* จากการทดลองพบว่าสารสกัดกะเพราและสารสกัดแมงลักความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ส่วนสารสกัดแมงลักความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ *Ps. aeruginosa* และสารสกัดโหระพาและสารสกัดแมงลักความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรให้ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ *C. albicans*

จากการทดลองสารสกัดพืชทั้ง 3 ชนิดคือ กะเพรา โหระพา และแมงลัก สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างก๊าซไนตริคออกไซด์ โดยวิธี Griess reaction จึงสามารถกล่าวได้ว่าฤทธิ์การต้านเชื้อจุลชีพของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดนั้นมาจากการสร้างปริมาณอนุมูลอิสระมากเกินทำให้อนุมูลอิสระนี้สามารถทำลายเชื้อจุลชีพได้

ยิ่งไปกว่านั้นในการทดลองเพื่อหาสารสำคัญที่เป็นสารออกฤทธิ์ที่เด่นชัดของสารสกัดหยาบเอธานอลของพืชทั้ง 3 ชนิดคือ การใช้เทคนิค TLC และ HPLC พบว่าสารสำคัญที่เป็นสารออกฤทธิ์คือ สารEugenol และ Methyl Eugenol โดยสารสกัดหยาบเอธานอลจากแมงลักพบ ณ friction b9 ส่วนสารสกัดหยาบเอธานอลจากกะเพราพบ ณ fraction S10 และสารสกัดหยาบเอธานอลจากโหระพาพบ ณ fraction T6 โดยพบว่าสารสกัดหยาบเอธานอลจากโหระพามีความเข้มข้นของสารสำคัญคือ Eugenol และ Methyl Eugenol ปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบเอธานอลจากกะเพรา และพบว่าสารสกัดหยาบเอธานอลจากแมงลักมีปริมาณสาระสำคัญน้อยที่สุด