



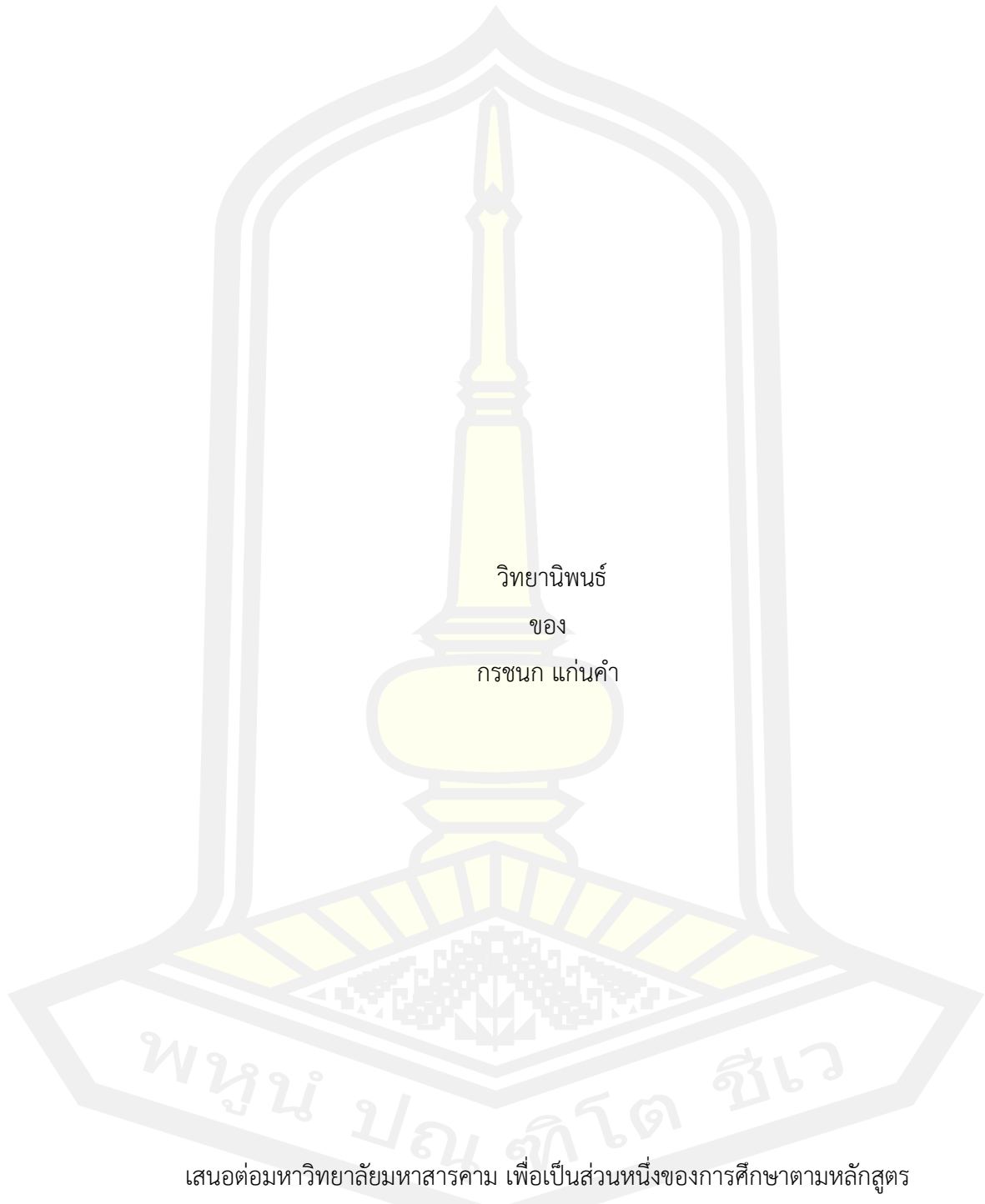
ความหลากหลายทางพันธุกรรมและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของกระถางลาย

วิทยานิพนธ์
ของ
กรชนก แก่นคำ

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาความหลากหลายทางชีวภาพ
ธันวาคม 2564

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ความหลากหลายทางพันธุกรรมและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของกระถางลาย



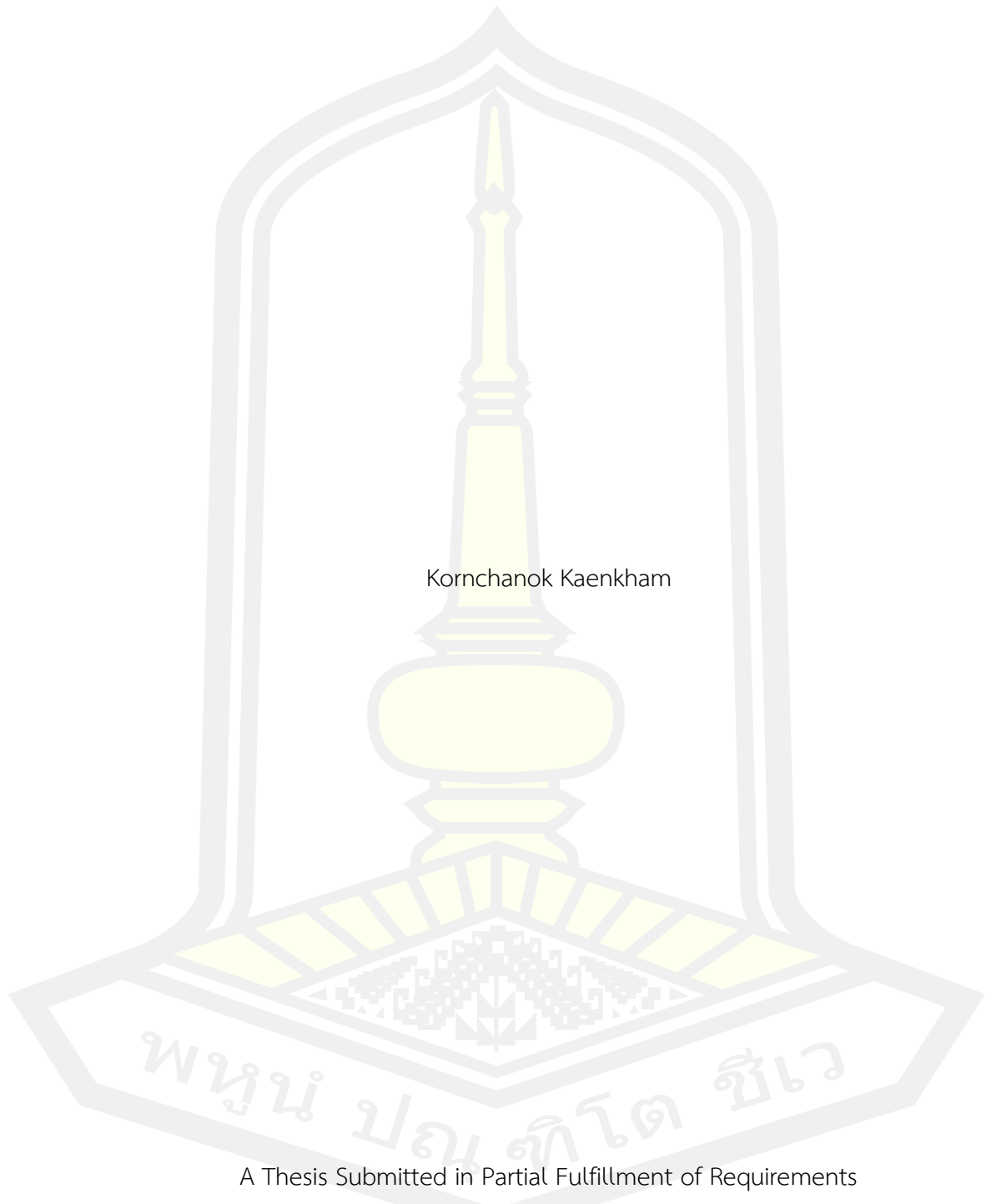
เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาความหลากหลายทางชีวภาพ

ธันวาคม 2564

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Genetic diversity and antibacterial activity of *Celastrus paniculatus* Willd.



Kornchanok Kaenkham

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of Requirements
for Doctor of Philosophy (Biodiversity)

December 2021

Copyright of Mahasarakham University



คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนางกรชนก แก่นคำ แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาความหลากหลายทางชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร. ปรียกมล กลั่นฤทธิ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผศ. ดร. สุदारัตน์ ถนนแก้ว)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รศ. ดร. วีระชัย สายจันทา)

กรรมการ

(อ. ดร. สุทธิรา เซตลัค)

กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

(รศ. ดร. พรเทพ ถนนแก้ว)

มหาวิทยาลัยขอนแก่นให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาความหลากหลายทางชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

(ผศ. ดร. สุदारัตน์ ถนนแก้ว)

คณบดีสถาบันวิจัยวลัยรุกขเวช

(รศ. ดร. กริสน์ ชัยมูล)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	ความหลากหลายทางพันธุกรรมและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของกระทงลาย		
ผู้วิจัย	กรชนก แก่นคำ		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุดารัตน์ ถนนแก้ว รองศาสตราจารย์ ดร. วีระชัย สายจันทา		
ปริญญา	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต	สาขาวิชา	ความหลากหลายทางชีวภาพ
มหาวิทยาลัย	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	ปีที่พิมพ์	2564

บทคัดย่อ

กระทงลายเป็นไม้เถาเลื้อย มีการกระจายพันธุ์ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ไปจนถึงมาเลเซียและออสเตรเลีย มีสรรพคุณเป็นสมุนไพรพื้นบ้านที่ใช้ในการรักษาโรคต่าง ๆ โรคผิวหนัง อัมพาตและรักษาอาการเป็นไข้ วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกระทงลาย พฤษเคมีและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของกระทงลายในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือของประเทศไทย จากการสำรวจพื้นที่ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบต้นกระทงลายทั้งหมด 43 พื้นที่ ในจังหวัดเชียงใหม่ พิชณุโลก เลยและมหาสารคาม นำใบอ่อนของกระทงลายมาสกัดดีเอ็นเอเพื่อศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของกระทงลายโดยใช้ยีน ITS และ *rbcl* เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความแตกต่าง แล้วสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมด้วยโปรแกรม MEGA X จากแผนภูมิทางวิวัฒนาการพบว่าทั้งสองยีนแยกความแตกต่างของกระทงลายได้ 2 กลุ่มพันธุกรรมโดย ITS แยกความแตกต่างของกระทงลายจากจังหวัดพิชณุโลกออกจากพื้นที่อื่นๆ ชัดเจนซึ่งตัวอย่างนี้อาจเป็น subspecies ที่มีการแปรผันทางพันธุกรรมจากกระทงลายในพื้นที่อื่น ส่วนผลจากการสกัดน้ำมันด้วยการประยุกต์วิธีสกัดน้ำมันแบบพื้นบ้านของไทยจากตัวอย่างเมล็ดกระทงลายสามารถสกัดน้ำมันจากเมล็ดได้ 24 ตัวอย่าง จากการทดสอบพฤษเคมีเบื้องต้นพบว่าน้ำมันกระทงลายมีองค์ประกอบของอัลคาลอยด์และเทอร์ปีนอยด์ เมื่อนำตัวอย่างน้ำมันมาตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) พบว่า CP-CMI, CP-LEI-30, CP-MKM-WP-15 และ CP-PLK พบองค์ประกอบของสารจำนวนมาก เช่น Oleic Acid (23.085%), Glycidyl oleate (12.289%), 17-Octadecynoic acid (7.907%) and 17-Octadecynoic acid (13.982%) เมื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียพบว่าสารสกัดน้ำมัน CP-MKM-WP-15 CP-LEI-30 และ CP-CMI-30 มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus* DMST 19376 *Bacillus cereus* DMST 6228 และ *Propionicbacterium acnaes* DMST 14916 ตามลำดับ และเมื่อนำมาศึกษาความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพที่น้อยที่สุดที่สามารถมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ

แบคทีเรีย (MIC, Minimum Inhibitory Concentration) มีค่า 12.5, 25 และ 0.78 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่าการประยุกต์วิธีการสกัดน้ำมันกระถงลายแบบพื้นบ้านไทย สามารถผลิตน้ำมันจากเมล็ดกระถงลายที่เป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ยั้งเชื้อแบคทีเรียได้

คำสำคัญ : ความหลากหลายทางพันธุกรรม, ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย, พฤษเคมี



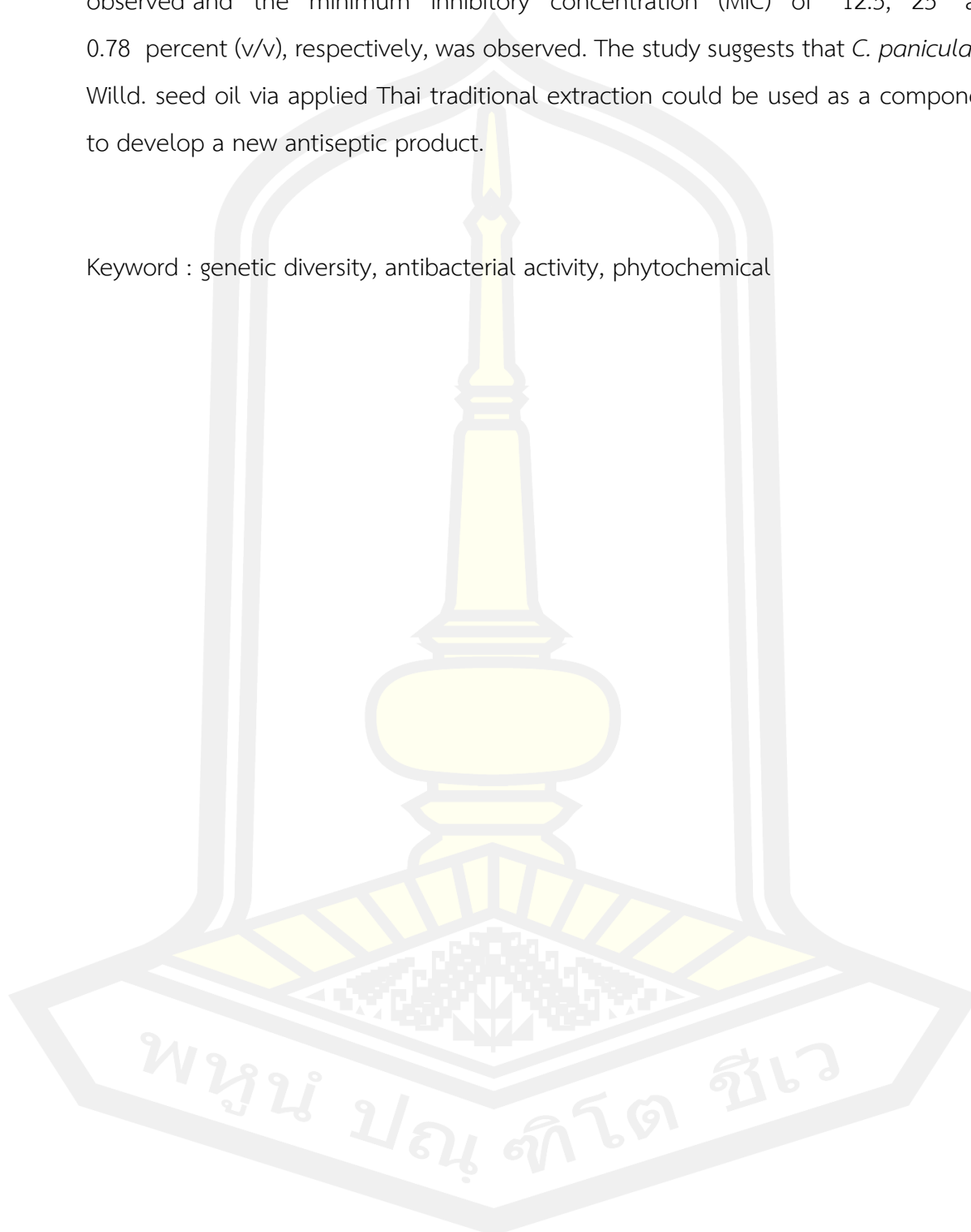
TITLE	Genetic diversity and antibacterial activity of <i>Celastrus paniculatus</i> Willd.		
AUTHOR	Kornchanok Kaenkham		
ADVISORS	Assistant Professor Sudarat Thanonkeo , Ph.D. Associate Professor Weerachai Saijuntha , Ph.D.		
DEGREE	Doctor of Philosophy	MAJOR	Biodiversity
UNIVERSITY	Maharakham University	YEAR	2021

ABSTRACT

Celastrus paniculatus Willd. is a medicinal woody climber that distributes all over Southeast Asia to Malaysia and Australia. It is used in traditional medicine against diseases like leucoderma, skin diseases, paralysis, and fever. The objectives of this study were to investigate the genetic diversity of *C. paniculatus* Willd. in the Northeast and the North of Thailand by molecular technique, the chemical constituents of seed oil, and antibacterial activity. Forty-three locations in Chiang Mai, Phitsanulok, Lei, and Maharakham Province were reached *C. paniculatus* Willd. Genomic DNAs were isolated from juvenile leaves of plants. ITS and *rbcl* were DNA markers to classify relationship. Phylogenetic tree of *C. paniculatus* Willd. sequences constructed by MEGA X program. Both phylogenetic trees could classify *C. paniculatus* Willd. into 2 groups, but ITS marker showed *C. paniculatus* Willd. in Phitsanulok Province difference from most of the samples. Maybe they were subspecies of others. Twenty-four seeds oil of *C. paniculatus* Willd. via applied Thai traditional extraction were studied about phytochemical that showed alkaloid and terpenoid via preliminary phytochemical screening, then confirm via thin-layer chromatography technique (TLC). The chemical component of seed oils was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). It was found that the seed oil component of CP-CMI, CP-LEI-30, CP-MKM-WP-15, and CP-PLK were oleic Acid (23.085%), glycidyl oleate (12.289), 17-octadecynoic acid (7.907), and 17-octadecynoic acid (13.982), respectively. Antibacterial activity of CP-MKM-WP-15 and CP-LEI-30

against *S aureus* DMST 19376 and *B cereus* DMST 6228 respectively, was observed and the minimum inhibitory concentration (MIC) of 12.5, 25 and 0.78 percent (v/v), respectively, was observed. The study suggests that *C. paniculatus* Willd. seed oil via applied Thai traditional extraction could be used as a component to develop a new antiseptic product.

Keyword : genetic diversity, antibacterial activity, phytochemical



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2561

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างสูงจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุดารัตน์ ถนนวนแก้ว ประธานกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.วีระชัย สายจันทา กรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและให้คำปรึกษาด้วยความเอาใจใส่ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนสมบูรณ์ ขอกราบขอบพระคุณมา ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปรียกมล กลั่นฤทธิ์ ประธานคณะกรรมการสอบ ดร. สุทธิรา เขตลัค และรองศาสตราจารย์ ดร. พรเทพ ถนนวนแก้ว คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่สละเวลาอันมีค่าในการตรวจประเมินผลงานวิทยานิพนธ์อย่างละเอียดถี่ถ้วนและให้ข้อเสนอแนะในการปรับปรุงวิทยานิพนธ์นี้เพื่อจะได้นำไปใช้ประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพ

ขอขอบพระคุณ ดร.ศักดิ์สิทธิ์ ศรีภา คณบดีคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานีและรองศาสตราจารย์ ดร.วริชฎา ศิลาอ่อน รองคณบดีฝ่ายวิจัยและปฏิบัติการ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่กรุณาอนุมัติให้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จนสามารถปฏิบัติงานวิจัยได้สำเร็จ

ผู้วิจัยขอขอบคุณนายวรายุทธ พิลาภ และนางกัทลี ศักดาคำ จากสถาบันวิจัยวลัยรุกขเวช มหาวิทยาลัยมหาสารคาม และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานีทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือวิทยาศาสตร์และให้กำลังใจตลอดเวลาในการศึกษา

สุดท้ายนี้ ขอขอบพระคุณบิดา มารดา บุพการีผู้ให้แรงบันดาลใจในการศึกษาและค้นคว้าหาความรู้ และพันโทสมเกียรติ แก่นคำ ที่ให้กำลังใจและให้การสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ฅ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ	ฅ
บทที่ 1	1
บทนำ.....	1
1.1 หลักการและเหตุผล.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	3
1.4 สมมุติฐานของการวิจัย.....	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2	5
ปริทัศน์เอกสารข้อมูล	5
2.1 กระหังลาย.....	5
2.2 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืช	8
2.3 เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส.....	11
2.4 การตรวจเอกลักษณ์สมุนไพรวีธีรังคเลขฉิวบาง (Thin Layer Chromatography, TLC)	13
2.6 แบนคทีเรียก่อโรคที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ	16
2.5 การทดสอบความไวของสารต้านจุลชีพ.....	20

2.6	วิธีการเก็บตัวอย่างสมุนไพร.....	21
2.7	พฤกษเคมีในพืชสมุนไพร (Phytochemical).....	22
2.7	ภูมิปัญญาท้องถิ่น.....	29
2.8	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	31
บทที่ 3	35
วิธีดำเนินการวิจัย	35
3.1	วิธีการดำเนินการวิจัย	35
3.1.1	การเก็บ รวบรวม การสำรวจและการวิเคราะห์	35
3.1.2	การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดกระทงลาย	36
3.1.3	การสกัด genomic DNA จากยอดอ่อนกระทงลาย	36
3.1.4	การสกัดสารจากเมล็ดกระทงลาย	39
3.1.6	การเตรียมสารสกัด.....	41
3.1.7	การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคด้วยวิธี agar diffusion.....	41
3.1.8	การหาปริมาณความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพที่น้อยที่สุดที่สามารถมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย	42
บทที่ 4	49
ผลการวิจัยและอภิปรายผล	49
4.1	การสำรวจและการเก็บรวบรวมตัวอย่างเมล็ดกระทงลาย	49
4.2	การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดกระทงลาย.....	57
4.2.1	น้ำหนักของเมล็ดกระทงลาย.....	58
4.2.2	ความกว้างของเมล็ดกระทงลาย.....	61
4.2.3	ความยาวของเมล็ดกระทงลาย.....	63
4.3	การรวบรวมข้อมูลการใช้ประโยชน์จากกระทงลาย.....	69

4.4 ผลการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพทางพันธุกรรมของกระทงลาย	74
4.5 ผลการทดสอบหาพิษฤๅษเคมีในกระทงลาย	78
4.6 การตรวจสอบลายพิมพ์โครมาโทกราฟีฝิวบาง (TLC Fringerprint).....	79
4.7 การตรวจวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมี เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS).....	80
4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของแบคทีเรีย.....	97
4.9 อภิปรายผลการทดลอง	102
บทที่ 5	107
สรุปและข้อเสนอแนะ	107
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	107
5.1.1 ผลการสำรวจแหล่งการกระจายพันธุ์ของกระทงลาย	107
5.1.2 ลักษณะของเมล็ดกระทงลาย	108
5.1.3 การสกัดเมล็ดกระทงลาย.....	108
5.1.4 การรวบรวมข้อมูลการใช้ประโยชน์ของกระทงลาย	108
5.1.5 การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพทางพันธุกรรมของกระทงลาย	109
5.1.6 การทดสอบหาพิษฤๅษเคมีในกระทงลาย	109
5.1.7 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระทงลาย	112
บรรณานุกรม	114
124	
ภาคผนวก.....	124
ภาคผนวก ก.....	125
การเตรียมสารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์.....	125
ภาคผนวก ข.....	130

การสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระถางลาย.....130

ภาคผนวก ค.....134

เมล็ดกระถางลายแต่ละพื้นที่ที่ใช้สกัดน้ำมัน.....134

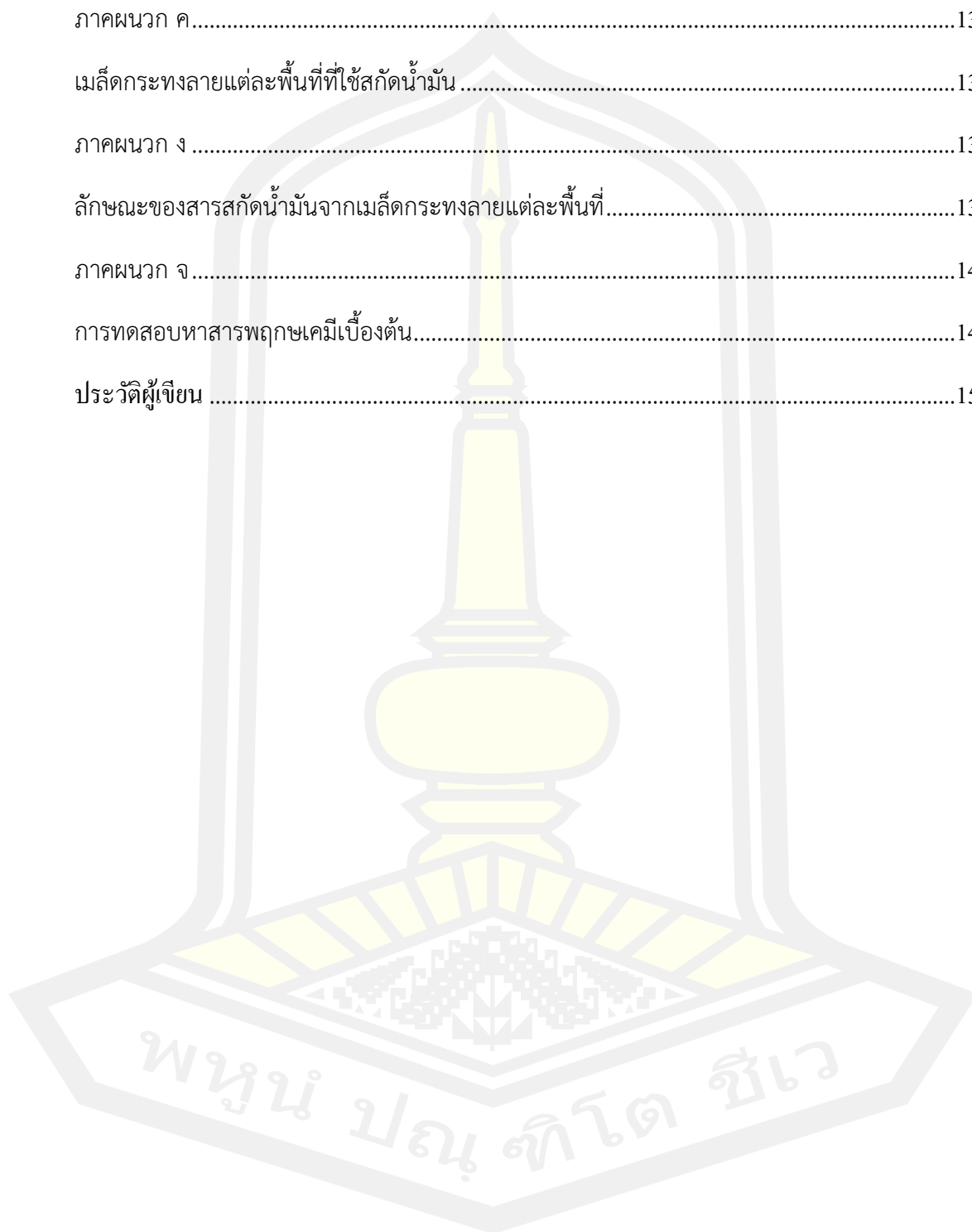
ภาคผนวก ง.....137

ลักษณะของสารสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระถางลายแต่ละพื้นที่.....137

ภาคผนวก จ.....147

การทดสอบหาสารฟุกุซเคมีเบื้องต้น.....147

ประวัติผู้เขียน.....152

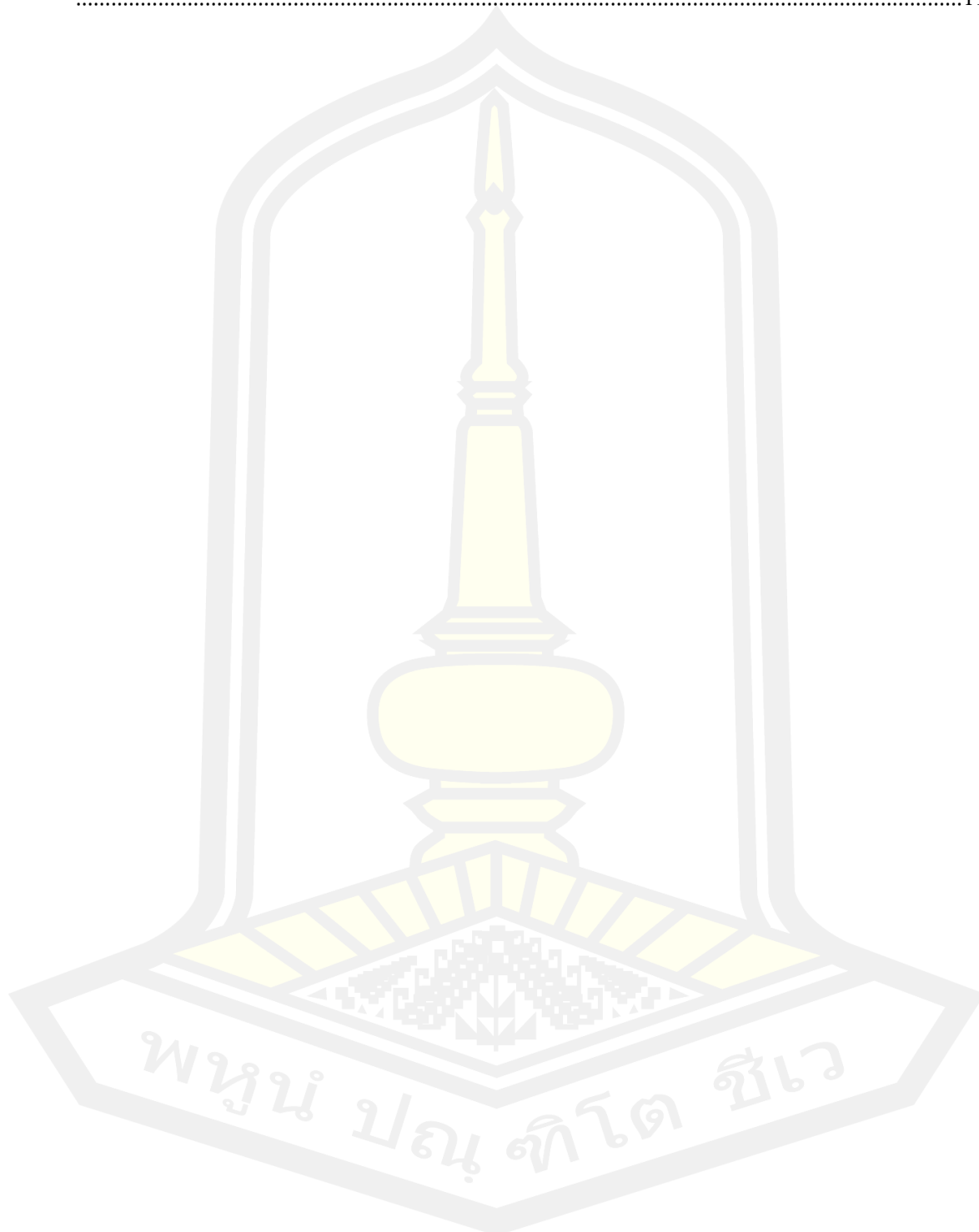


สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ข้อดีและข้อเสียของเครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมพืช 10	
ตารางที่ 2 การแบ่งกลุ่มสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ในพืช.....	23
ตารางที่ 3 รายละเอียดพื้นที่สำรวจพบต้นกระถางลาย.....	50
ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์น้ำหนักเมล็ดกระถางลายแต่ละพื้นที่	58
ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียวแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักของเมล็ด กระถางลายและพื้นที่.....	59
ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยน้ำหนักเมล็ดกระถางลาย.....	60
ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์ความกว้างของเมล็ดกระถางลายแต่ละพื้นที่	61
ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างของเมล็ดกระถางลายและพื้นที่	62
ตารางที่ 9 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความกว้างของเมล็ดกระถางลาย	63
ตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความยาวของเมล็ดกระถางลายแต่ละพื้นที่.....	64
ตารางที่ 11 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของเมล็ดกระถางลายและพื้นที่	65
ตารางที่ 12 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความยาวของเมล็ดกระถางลาย	65
ตารางที่ 13 ร้อยละของขนาดความกว้างและความยาวของเมล็ดกระถางลายที่พบ.....	67
ตารางที่ 14 การกำหนดรหัสตัวอย่างและลักษณะของสารสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระถางลาย.....	68
ตารางที่ 15 การประโยชน์จากกระถางลายในประเทศไทย	70
ตารางที่ 16 แสดงตัวอย่างผลผลิตฟิซีอาร์ที่นำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์	75
ตารางที่ 19 ผลการทดลองหาพิษเคมีเบื้องต้นในสารสกัดเมล็ดกระถางลาย.....	78
ตารางที่ 20 แสดงผลตรวจวิเคราะห์สารสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระถางลาย.....	81
ตารางที่ 21 เปรียบเทียบชนิดสารเคมีที่พบในแต่ละตัวอย่าง	91
ตารางที่ 22 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของแบคทีเรียที่มีผลบวกต่อสารสกัดน้ำมันกระถางลาย.....	97

ตารางที่ 23 องค์ประกอบของสารสำคัญที่พบในตัวอย่างสารสกัดน้ำมันจากกระถงลาย 10 อันดับ

.....110



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพประกอบที่ 1 การจัดจำแนกกระทงลาย (<i>Celastrus paniculatus</i> Willd.).....	5
ภาพประกอบที่ 2 ลักษณะการเจริญของกระทงลาย (<i>Celastrus paniculatus</i> Willd.).....	6
ภาพประกอบที่ 3 ลักษณะของ กิ่ง ใบ ดอก และผลของกระทงลาย (<i>Celastrus paniculatus</i> Willd.).....	7
ภาพประกอบที่ 4 การใช้ประโยชน์จากกระทงลาย.....	8
ภาพประกอบที่ 5 ขั้นตอนการทำงานของเทคนิคพีซีอาร์.....	13
ภาพประกอบที่ 6 การแยกสารบนแผ่นรังคเลขฝิวบาง Thin layer chromatography (TLC).....	14
ภาพประกอบที่ 7 หลักการทำงานของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี.....	15
ภาพประกอบที่ 8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ <i>Staphylococcus aureus</i> DMST 19376.....	16
ภาพประกอบที่ 9 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ <i>Bacillus cereus</i> DMST 6228.....	17
ภาพประกอบที่ 10 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ <i>E. coli</i> DMST 15537.....	18
ภาพประกอบที่ 11 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ <i>P. acnaes</i> DMST 14916.....	19
ภาพประกอบที่ 12 โครงสร้างทางเคมีของสารทุติยภูมิกลุ่มอัลคาลอยด์.....	24
ภาพประกอบที่ 13 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์.....	25
ภาพประกอบที่ 14 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มแทนนิน.....	27
ภาพประกอบที่ 15 การจัดจำแนกสารทุติยภูมิกลุ่มเทอร์ปีนอยด์.....	29
ภาพประกอบที่ 16 ตำรายาสมุนไพรชาวบ้าน.....	30
ภาพประกอบที่ 17 การหาปริมาณความเข้มข้นของสารตานจุลชีพที่น้อยที่สุดที่สามารถมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย.....	43
ภาพประกอบที่ 18 การหาปริมาณความเข้มข้นของสารตานจุลชีพน้อยที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ 99.9 %.....	44

ภาพประกอบที่ 19	แผนที่แสดงพื้นที่สำรวจพบต้นกระทงลาย	50
ภาพประกอบที่ 20	สัณฐานวิทยาของใบที่มีความแตกต่างกันหลายแบบในหนึ่งต้น	57
ภาพประกอบที่ 21	การไขประโยชน์จากกระทงลาย.....	73
ภาพประกอบที่ 22	ผลผลิตพีซีอาร์จากการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอของยีน ITS (lane 1-2) มีขนาดประมาณ 800 bp และ <i>rbcl</i> (lane 3) มีขนาด 1200 bp โดย lane M คือ 100 bp plus DNA marker.....	74
ภาพประกอบที่ 23	แผนภูมิสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ของกระทงลาย และ out-group ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ ITS ด้วยหลักการ neighbor-joining.....	76
ภาพประกอบที่ 24	แผนภูมิสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ของกระทงลาย	77
ภาพประกอบที่ 25	ลายพิมพ์โครมาโตกราฟีที่ผิวบางจากสารสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระทงลาย.....	80
ภาพประกอบที่ 26	โครมาโตแกรมที่ได้จากเครื่อง GC-MS ของตัวอย่างน้ำมัน CP-CMI	95
ภาพประกอบที่ 27	โครมาโตแกรมที่ได้จากเครื่อง GC-MS ของตัวอย่างน้ำมัน CP-PLK	95
ภาพประกอบที่ 28	โครมาโตแกรมที่ได้จากเครื่อง GC-MS ของตัวอย่างน้ำมัน CP-LEI-30.....	96
ภาพประกอบที่ 29	โครมาโตแกรมที่ได้จากเครื่อง GC-MS ของตัวอย่างน้ำมัน CP-MKM-WP-15	96
ภาพประกอบที่ 30	ฤทธิ์ต้าน <i>B. cereus</i> DMST 6228 ของสารสกัด CP-LEI-30 ที่มีค่าไอโซไมมากที่สุด ที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V).....	99
ภาพประกอบที่ 31	ฤทธิ์ต้าน <i>S. aureus</i> DMST 19376 ของสารสกัด CP-MKM-WP-15 ที่มีค่าไอโซไมมากที่สุด ที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V).....	100
ภาพประกอบที่ 32	ฤทธิ์ต้าน <i>P. acnaes</i> DMST 14916 ของสารสกัด CP-CMI-30 ที่มีค่าไอโซไมมากที่สุด ที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V).....	100
ภาพประกอบที่ 33	ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (MIC, minimum inhibitory concentration) ของสารสกัดน้ำมัน CP-LEI-30 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย	101
ภาพประกอบที่ 34	ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (MIC, minimum inhibitory concentration) ของสารสกัดน้ำมัน CP-MKM-WP-15 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย	101

บทที่ 1

บทนำ

1.1 หลักการและเหตุผล

กระทงลาย (*Celastrus paniculatus* Willd.) เป็นไม้เถาเลื้อย เนื้อแข็ง ขนาดใหญ่ ต้นสูง 3-10 เมตร เปลือกลำต้นมีสีน้ำตาลปนเทา ผิวลำต้นขรุขระ ตามกิ่งมีช่องอากาศ กระจายอยู่ทั่วกิ่ง มีใบเดี่ยวเรียงสลับ ขนาดกว้าง 2.5-6.0 เซนติเมตร ยาว 5.0-8.0 เซนติเมตร ปลายใบแหลม โคนใบมน ขอบใบหยัก หลังใบเรียบ ใต้ท้องใบมีขนเล็กน้อยกระจายทั่วใบ ก้านใบยาว 0.8-2.5 เซนติเมตร (นิจศิริ เรืองศิริ และรัชชชัย มังคละคุปต์, 2547) ช่อดอกออกที่ปลายยอดของลำต้น (ธารธรรมแก้ว เชื้อเมือง, 2550) เป็นดอกแยกเพศและดอกสมบูรณ์เพศอยู่ร่วมต้นเดียวกัน กลีบดอกมีสีขาวอมเหลือง (สำนักงานหอพรรณไม้, 2552)

กระทงลายเป็นพืชในวงศ์ Celastraceae มีการกระจายพันธุ์มากในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มาเลเซีย ยกเว้นบนเกาะบอร์เนียว ออสเตรเลียตะวันออก ประเทศที่พบมากคือประเทศอินเดีย ไทย จีน ฟิลิปปินส์ (Kakkara et al., 2017) ศรีลังกา เนปาล (สำนักงานหอพรรณไม้, 2552) และมาดากัสการ์ (Francis et al., 2012)

จากการศึกษาของ Francis และคณะในปี 2012 พบว่ากระทงลายมีการจัดจำแนกออกเป็นสองซบสปีชีส์ คือ *Celastrus paniculatus* sub. sp. *aggregatus* และ *Celastrus paniculatus* sub. sp. *paniculatus* ทั้งสองซบสปีชีส์ มีลักษณะที่แตกต่างกันคือ *Celastrus paniculatus* sp. *aggregatus* ช่อดอกที่มีขนาดสั้นกว่าขนาดของความยาวของใบลักษณะของปลายยอดแหลมน้อยกว่า *Celastrus paniculatus* sp. *paniculatus* ในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาและรายงานในการจัดจำแนกกระทงลายออกเป็นซบสปีชีส์จึงมีความจำเป็นในการศึกษาเพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการจัดจำแนกกระทงลายเนื่องจากคุณลักษณะหลายอย่างของกระทงลายมีความแตกต่างกัน เช่น ลักษณะของใบ ลักษณะของผล เป็นต้น

ประเทศไทย มีการกระจายพันธุ์ของกระทงลายในบริเวณป่าผลัดใบ และพื้นที่โล่งแจ้ง ออกผลเดือนพฤษภาคม-สิงหาคม กระจายพันธุ์ในจังหวัดเชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน เชียงราย น่าน ลำปาง เลย มุกดาหาร ชัยภูมิ นครราชสีมา ชลบุรี จันทบุรี และเพชรบุรี (Hou, 2010) กระทงลายมีชื่อเรียกต่างกันในแต่ละพื้นที่ ในภาคกลางเรียก กระทงลาย กระทงลาย โขด ในจังหวัดนครราชสีมาเรียก นางแตก ในภาคอีสาน และภาคเหนือ เรียก มะแตกเครือ มั๊กแตก เครือหมากแตก หมากแตกมีสรรพคุณ

ทางยาความหลากหลาย เช่น ราก แก้วมาลาเรีย แก่นรักษาวัณโรค แก้วไข แก้วลมจุกเสียด เปลือกต้น ตำพสมกับมดแดงและเกลือเป็นยาแก้บิด ใบรักษาโรคบิด เถา แก้วมาลาเรีย บำรุงน้ำนมหลังคลอด บุตร เนื้อไม้ รักษาวัณโรค เมล็ดและเมล็ดในรักษาโรคปวดตามข้อและกล้ามเนื้อ น้ำมัน แก้วเหน็บซา ขับเหงื่อ มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ใช้เป็นยาฆ่าแมลงต้านแบคทีเรีย คลายกล้ามเนื้อและต้านมาลาเรีย (อุทยานธรรมชาติวิทยาสิริรุกขชาติ, ม.ป.ป.) การศึกษาด้านภูมิปัญญาพื้นบ้านการใช้ประโยชน์จาก น้ำมันกระถงหลายของพอสัม อัมมะโต ปราชญ์ชาวบ้านชุมชนโคกหินลาด ตำบลนาข่า อำเภอลำปลายมาศ จังหวัดมหาสารคาม นำน้ำมันจากเมล็ดกระถงหลายทาแผลที่ผิวหนังของสุนัขทำให้สุนัขแผลหายดีจนมี ผิวและขนขึ้นเป็นปกติ

นอกจากสรรพคุณในการรักษาโรคได้หลากหลายแล้ว กระถงหลายยังมีการนำมาใช้เป็นพืช พลังงานในชุมชนของชาวเขานบนพื้นที่สูงในภาคเหนือ โดยนำเมล็ดมาหีบน้ำมันตามวิถีชาวบ้าน และ นำมาทำน้ำมันตะเกียงให้แสงสว่างในครัวเรือน (ณัฐพล วิชาญ, 2554) ส่วนในบ้านนาข่า ตำบลนาข่า อำเภอลำปลายมาศ จังหวัดมหาสารคาม มีการใช้น้ำมันกระถงหลายเป็นเชื้อเพลิงสำหรับจุดตะเกียงในวัน ออกพรรษา ด้วยวิธีหีบน้ำมันแบบโบราณ เป็นประเพณีวัฒนธรรมที่ดั้งเดิมมีการสืบทอดกันมาจากรุ่น สู่รุ่น (สถานีวิทยุโทรทัศน์แห่งประเทศไทย, 2556)

จากคุณสมบัติทั้งด้านการรักษาโรคและการใช้เป็นเชื้อเพลิงในชุมชน กระถงหลายยังเป็นพืช ที่มีคุณค่าอย่างมากที่จะนำมาพัฒนาให้เกิดประโยชน์ต่อการพัฒนาประเทศ ทั้งในด้านสาธารณสุข ชุมชนและเศรษฐกิจ พบว่ากระถงหลายในประเทศไทยจัดเป็นพืชสมุนไพรที่มีประโยชน์หลากหลาย ทั้ง ด้านสรรพคุณทางยา การสืบสานประเพณีวัฒนธรรมและการดำรงชีวิตของชุมชนในท้องถิ่น แต่ใน ปัจจุบันชาวบ้านไม่เห็นความสำคัญของกระถงหลาย มีการตัดทิ้งและทำลายทิ้ง บุกรุกป่าธรรมชาติเพื่อ ตอบสนองการใช้ไม้และที่ดินทำกิน จึงส่งผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโต และการกระจายพันธุ์ของ กระถงหลาย ทำให้ปัจจุบันมีการนำกระถงหลายมาใช้ประโยชน์น้อยและเสี่ยงต่อการสูญหายจาก ธรรมชาติ ดังนั้นแนวทางการศึกษาการด้านความหลากหลายทางพันธุกรรม การกระจายพันธุ์ ตลอดจนการรวบรวมภูมิปัญญาพื้นบ้านจากหมอยา ปราชญ์ชาวบ้านและรวบรวมจากสื่อทุกประเภท ในการใช้ประโยชน์จากกระถงหลาย จึงเป็นแนวทางพื้นฐานในการวางแผนอนุรักษ์และ การจัดการ ด้านความหลากหลายทางชีวภาพอย่างมีระบบและยั่งยืน ก่อนที่จะถูกทำลายและเลือนหายไปกับการ ขยายตัวของสังคมเมืองและความเจริญของเทคโนโลยีสมัยใหม่ ผู้วิจัยจึงได้ทำการวิจัยนี้ขึ้นเพื่อเป็น ข้อมูลที่สำคัญในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม การกระจายพันธุ์ พฤกษเคมี ฤทธิ์ด้าน แบคทีเรียของพฤกษเคมีในน้ำมันจากเมล็ดของกระถงหลาย และรวบรวมภูมิปัญญาพื้นบ้าน-ฐานข้อมูล ออนไลน์ ในการนำเอากระถงหลายไปใช้ประโยชน์ในด้านยารักษาโรค ประเพณี วัฒนธรรม และ การดำรงชีวิต เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนากระถงหลายให้เป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มีประโยชน์และคุณค่า ต่อเศรษฐกิจของชุมชนอย่างยั่งยืนและขยายวงกว้างการพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มีผลต่อ

การพัฒนาเศรษฐกิจของประเทศในรูปแบบผลิตภัณฑ์ยาและผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการดำรงชีวิตประจำวัน จากฐานความหลากหลายทางชีวภาพของกระทรวงสาธารณสุขเพื่อตอบสนองนโยบายของรัฐบาลต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดและความหลากหลายทางพันธุกรรมของกระทรวงสาธารณสุข
2. เพื่อรวบรวมข้อมูลภูมิปัญญาพื้นบ้านและการใช้ประโยชน์จากกระทรวงสาธารณสุข ทั้งด้านสรรพคุณทางยา ประเพณีวัฒนธรรมและการดำรงชีวิต
3. เพื่อศึกษาพฤกษเคมีของน้ำมันจากเมล็ดของกระทรวงสาธารณสุข
4. เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียก่อโรคลำไส้ที่ทำให้ผิวหนังอักเสบจากสารสกัดน้ำมันของเมล็ดของกระทรวงสาธารณสุข

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

สำรวจและเก็บตัวอย่างของเมล็ดกระทรวงสาธารณสุขในประเทศไทยในพื้นที่ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ยกเว้นในภาคใต้ (เนื่องจากไม่มีรายงานการค้นพบกระทรวงสาธารณสุข) เพื่อนำมาศึกษาทางสัณฐานวิทยา ความหลากหลายทางพันธุกรรม และนำน้ำมันจากการสกัดเมล็ดกระทรวงสาธารณสุข มาศึกษาด้านเอกลักษณ์ทางพฤกษเคมี และศึกษาฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่สำหรับพัฒนาเศรษฐกิจของชุมชนในอนาคต และรวบรวมข้อมูลจากหมอยาพื้นบ้านและประชาชนชาวบ้าน ในพื้นที่ศึกษาที่มีการนำกระทรวงสาธารณสุขไปใช้ประโยชน์ ทั้งด้านรักษาโรค ประเพณี วัฒนธรรม และการดำรงชีวิต รวมทั้งรวบรวมข้อมูลที่มีการบันทึกในรูปแบบของหนังสือ สื่ออิเล็กทรอนิกส์ หนังสือแบบโบราณ เช่น ใบลาน โดยใช้ชื่อกระทรวงสาธารณสุข หมากแตก โชตนางแตก และชื่อพื้นเมืองอื่นๆ ในการสืบค้นเพื่อรวบรวมข้อมูลการใช้ประโยชน์จากกระทรวงสาธารณสุข นำผลการรวบรวมข้อมูลมาบูรณาการเพื่อแสดงการใช้ประโยชน์และการกระจายพันธุ์ในท้องถิ่น

1.4 สมมุติฐานของการวิจัย

14.1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันของผลกระทรวงสาธารณสุขมีผลต่อการจำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมของกระทรวงสาธารณสุข

1.4.2 พฤกษเคมีของน้ำมันสกัดจากเมล็ดของกระทรวงสาธารณสุขมีความแตกต่างกัน

1.4.3 น้ำมันสกัดจากเมล็ดกระทรวงสาธารณสุขมีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย

1.4.4 กระจกกลายเป็นสมุนไพรมีคุณสมบัติประโยชน์ต่อคนท้องถิ่นทั้งด้านยารักษาโรค อาหาร และพลังงาน

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบความหลากหลายทางพันธุกรรมของกระจกภายในพื้นที่ศึกษา
2. มีข้อมูลด้านพฤกษเคมีของน้ำมันจากเมล็ดกระจกภายในพื้นที่ศึกษา
3. สามารถนำสารสกัดจากเมล็ดกระจกที่มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยาใหม่ได้
4. ทราบข้อมูลพื้นฐานการใช้ประโยชน์จากกระจกจากพื้นที่ศึกษา



บทที่ 2

ปริทัศน์เอกสารข้อมูล

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกระทงลายด้วยวิธีการทางสัณฐานวิทยาและชีวโมเลกุล นำเมล็ดกระทงลายมาสกัดน้ำมันเพื่อศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ด้านแบคทีเรียของน้ำมันกระทงลาย และรวบรวมข้อมูลการกระจายพันธุ์และองค์ความภูมิปัญญาพื้นบ้านการใช้ประโยชน์จากกระทงลาย เพื่อแสดงข้อมูลภูมิปัญญาพื้นบ้าน และการกระจายพันธุ์

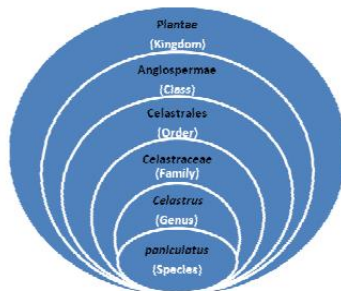
2.1 กระทงลาย (อุทยานธรรมชาติวิทยาสิริรุกขชาติ, 2544; นิจศิริ เรื่องรังษี และธวัชชัย มังคละคุปต์, 2547; ก่องกานดา ชยามฤต, 2548)

กระทงลายมีข้อมูล อนุกรมวิธาน ที่สำคัญประกอบด้วย รายละเอียดทั่วไป ลักษณะทางพฤกษศาสตร์และสรรพคุณทางยา ดังนี้

2.1.1 รายละเอียดทั่วไป (เต็ม สมิตินันท์, 2557; Bhanumathy, 2010)

ชื่อ	กระทงลาย
วงศ์	Celastraceae
ชื่อวิทยาศาสตร์	<i>Celastrus paniculatus</i> Willd.
ชื่อพ้อง	<i>Celastrus dependens</i>
ชื่อพื้นเมือง	กระทงลาย โขด (ภาคกลาง) นางแตก (นครราชสีมา) มะแตกเครือ มั๊กแตก เครือหมากแตก

การจัดจำแนกแสดงในภาพประกอบที่ 1 (Arora & Rai, 2012)



ภาพประกอบที่ 1 การจัดจำแนกกระทงลาย (*Celastrus paniculatus* Willd.)

2.1.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

วิสัย ไม้เถาเลื้อย เนื้อแข็ง สูง 3-10 เมตร

เปลือกลำต้น สีน้ำตาลปนเทา ขรุขระเล็กน้อย

กิ่ง มีช่องอากาศกระจายอยู่ทั่วไป

ใบ ใบเดี่ยวเรียงสลับ ขนาดกว้าง 2.5-6.0 เซนติเมตร ยาว 5.0-8.0

เซนติเมตร ปลายใบแหลม โคนใบมน ขอบใบหยัก หลังใบเรียบ ท้องใบมีขนเล็กน้อยกระจายทั่วไป ก้านใบยาว 0.8-2.5 เซนติเมตร (นิจศิริ เรืองรังศรี และธวัชชัย มังคละคุปต์, 2547; Arora & Rai, 2012)

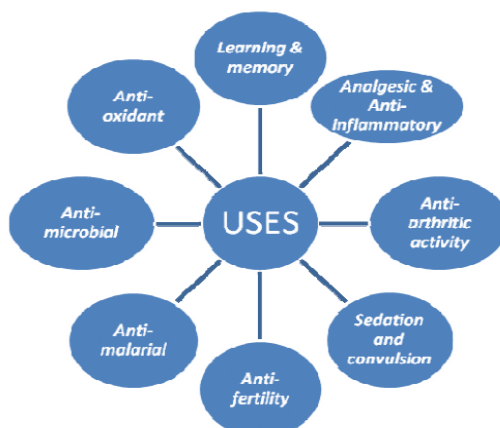
ลักษณะดอก ดอกช่อ เป็นดอกแยกเพศและดอกสมบูรณ์เพศอยู่ร่วมต้น กลีบดอกสีขาวอมเหลือง (สำนักงานหอพรรณไม้, 2552)

ลักษณะผล ค่อนข้างกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 มิลลิเมตร ผิวเรียบเป็นพู่ 3 พู่ ผลอ่อนสีเขียว เมื่อแก่เป็นสีส้มปนเหลืองและแตกออกเป็น 3 ซีก เมล็ดมี 3-6 เมล็ด เป็นรูปไข่มีเนื้อหุ้มเมล็ดสีแดง

ลักษณะการเจริญของกระถงลายแสดงในภาพประกอบที่ 2 และลักษณะของกระถงลายแสดงในภาพประกอบที่ 3



ภาพประกอบที่ 2 ลักษณะการเจริญของกระถงลาย (*Celastrus paniculatus* Willd.)



ภาพประกอบที่ 4 การใช้ประโยชน์จากกระทงลาย

2.2 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืช

พันธุกรรมทำให้สิ่งมีชีวิตทั้งพืช สัตว์ จุลินทรีย์มีความแตกต่างกัน ทำให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต ในธรรมชาติความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชต่างๆ เกิดจากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศตามธรรมชาติ จะทำให้พืชมีลักษณะที่คล้ายต้นพ่อแม่พันธุ์ แม่พันธุ์ ทำให้พืชมีความหลากหลายทางพันธุกรรม การที่พืชมีความหลากหลายทางพันธุกรรมจะทำให้พืชมีโอกาสอยู่รอดได้ในสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเป็นวิวัฒนาการของการปรับตัวเพื่อให้อยู่รอดของพืช นอกจากปัจจัยทางพันธุกรรมแล้วจากปัจจัยภายนอก โดยเฉพาะด้านสภาพแวดล้อมที่พืชเจริญมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชส่งผลต่อการแสดงออกหรือลักษณะฟีโนไทป์ของพืช ดังนั้นในปัจจุบันแนวทางการศึกษาความหลากหลายของพืช นอกจากมีการศึกษาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา การศึกษาเอมบริโอและสรีระวิทยาแล้ว (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2545) เทคนิคทางอณูชีวโมเลกุลเป็นเทคนิคพื้นฐานที่สามารถแยกความแตกต่างของพืชได้ในระดับโมเลกุล และมีการนำผลการศึกษาการจัดจำแนกพืชได้ดีที่สุดและสามารถนำมาเป็นแนวทางในการวางแผนอนุรักษ์พันธุ์พืชที่ใกล้จะสูญพันธุ์

เทคนิคทางอณูชีววิทยามีความสำคัญต่อการจัดจำแนกความหลากหลายและการศึกษาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของพืชต่างๆ ที่เรียกว่าเป็นการศึกษาเครื่องหมายทางพันธุกรรมของพืช ที่จะสามารถบ่งชี้ตำแหน่งของดีเอ็นเอที่เป็นตำแหน่งที่แสดงออกในสิ่งมีชีวิตแต่ละรุ่น นั่นคือพืชต่างสายพันธุ์จะมีดีเอ็นเอที่แตกต่างกันและสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกหลานได้ (จุฑาทพร แสงประจักษ์, 2555)

พืชแต่ละชนิด แต่ละสายพันธุ์ มีการจัดเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลดีเอ็นเอที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว มีความคงตัวไม่มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดจากปัจจัยทางสภาพแวดล้อมและมีความแตกต่าง (polymorphisms) ของลำดับเบสในดีเอ็นเอ (Kumar et al., 2009)

ปัจจุบันการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมพืชจะใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษา (molecular marker) การแสดงออกที่แตกต่างกันในระดับโมเลกุลของดีเอ็นเอ เครื่องหมายโมเลกุลในทางอนุชีววิทยามีหลายประเภท เช่น RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SSR (Simple Sequence Repeats) AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisms) STS (Sequence Tagged Sites) และ Isozymes เป็นต้น โดยแต่ละเครื่องหมายดีเอ็นเอมีข้อดีและข้อเสียสรุปในตารางที่ 1 (Kumar, 2009) ด้านการพัฒนาเทคนิคการเพิ่มปริมาณของดีเอ็นเอในหลอดทดลองด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction, PCR) เพื่อนำมาศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมพืช มีการนำเอาเทคนิคนี้มาใช้เพื่อทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) เนื่องจากพืชแต่ละชนิดจะมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจึงมีความสำคัญอย่างมากในการศึกษา ด้านความหลากหลายทางพันธุกรรมเนื่องจากนำมาศึกษาถึงวิวัฒนาการและการกระจายพันธุ์ของพืชได้เป็นอย่างดี ขั้นตอนการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมพืชมีขั้นตอนดังนี้

1. สกัดดีเอ็นเอ
2. เพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในหลอดทดลองด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส

โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิดต่างๆ

3. นำดีเอ็นเอมาแยกขนาดด้วยเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (gel electrophoresis)
4. วิเคราะห์ผลผลิต PCR ด้วยการส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และเปรียบเทียบ

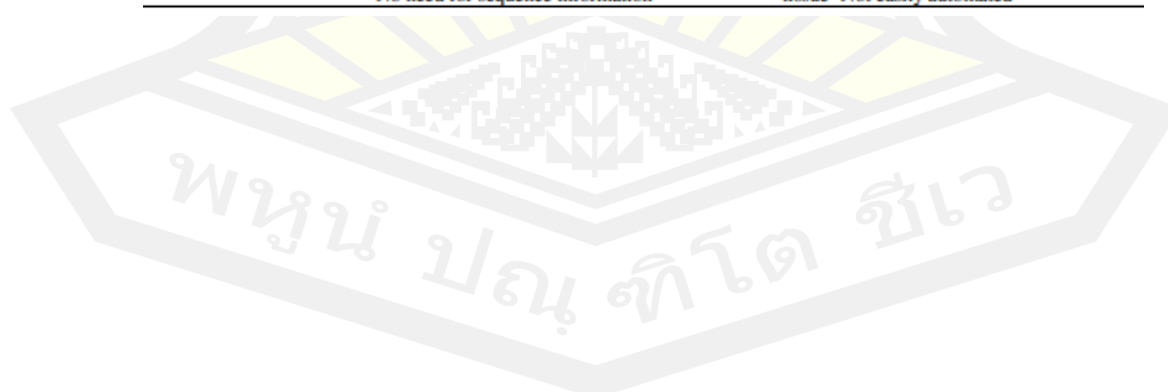
ผลการวิเคราะห์กับ ฐานข้อมูลของ GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov)

5. สร้างแผนภูมิต้นไม้ (Phylogenetic tree) เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทาง

วิวัฒนาการ

ตารางที่ 1 ข้อดีและข้อเสียของเครื่องหมายโมเลกุลในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมพืช

Type of markers	Advantages	Disadvantages
Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)	<ul style="list-style-type: none"> -High genomic abundance -Co-dominant markers -Highly reproducible -Can use filters many times -Good genome coverage -Can be used across species -No sequence information -Can be used in plants reliably (well-tested) -Needed for map based cloning 	<ul style="list-style-type: none"> -Need large amount of good quality DNA -Laborious (compared to RAPD) -Difficult to automate -Need radioactive labeling -Cloning and characterization of probe are required
Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD)	<ul style="list-style-type: none"> -High genomic abundance -Good genome coverage -No sequence information -Ideal for automation -Less amount of DNA (poor DNA acceptable) -No radioactive labeling -Relatively faster 	<ul style="list-style-type: none"> -No probe or primer information -Dominant markers -Not reproducible -Can not be used across species -Not very well-tested
Simple Sequence Repeat (SSR)	<ul style="list-style-type: none"> -High genomic abundance -Highly reproducible -Fairly good genome coverage -High polymorphism -No radioactive labeling -Easy to automate -Multiple alleles 	<ul style="list-style-type: none"> -Can not be used across species -Need sequence information -Not well-tested
Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)	<ul style="list-style-type: none"> -High genomic abundance -High polymorphism -No need for sequence information -Can be used across species -Work with smaller RFLP fragments -Useful in preparing contig maps 	<ul style="list-style-type: none"> -Very tricky due to changes in patterns with respect to materials used -Cannot get consistent map (not reproducible) -Need to have very good primers
Sequence-Tagged Site (STS)	<ul style="list-style-type: none"> -Useful in preparing contig maps -No radioactive labeling -Fairly good genome coverage -Highly reproducible -Can use filters many times 	<ul style="list-style-type: none"> -Laborious -Cannot detect mutations out of the target sites -Need sequence information -Cloning and characterization of probe are required
ISOZYMES	<ul style="list-style-type: none"> -Useful for evolutionary studies -Isolation lot easier than that of DNA -Can be used across species -No radioactive labeling -No need for sequence information 	<ul style="list-style-type: none"> -Laborious -Limited in polymorphism -Expensive (each system is unique) -Have to know the location of the tissue -Not easily automated



2.3 เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction-PCR)

(Kadri, 2019)

เทคนิคพีซีอาร์เป็นเทคนิคที่ใช้ในการศึกษาด้านอณูชีววิทยาของสิ่งมีชีวิต เป็นเทคนิคที่ใช้ในการเพิ่มจำนวน (amplification) ดีเอ็นเอที่ต้องการศึกษาอย่างจำเพาะในหลอดทดลองให้มีจำนวนมากเป็นล้านเท่าในระยะเวลาอันสั้น พัฒนาขึ้นโดย Kary Mullis และคณะ แห่งบริษัท Cetus Corporation ในปี 2528 เทคนิคพีซีอาร์เป็นเทคนิคที่สามารถนำไปใช้ได้กับงานวิจัยทางชีวโมเลกุล และพันธุวิศวกรรม เช่น การเพิ่มปริมาณยีน (gene cloning) การวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน (gene sequencing) การสร้าง DNA probe และการวิจัยประยุกต์ เช่น การสร้างยีนกลายพันธุ์ (PCR based mutagenesis) การศึกษาการแสดงออกของยีนจาก mRNA การตรวจหาดีเอ็นเอของไวรัสซึ่งเป็นสาเหตุของโรค เป็นต้น องค์ประกอบหลักของปฏิกิริยาพีซีอาร์ดังนี้

1. ดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template)

ดีเอ็นเอต้นแบบเป็นดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการศึกษา ทราบลำดับนิวคลีโอไทด์แล้วเพื่อใช้ออกแบบไพรเมอร์ได้ โดยทั่วไปทดสอบปริมาณดีเอ็นเอต้นแบบเพื่อให้ได้ปริมาณดีเอ็นเอที่ต้องการเพียงพอและมีความไวที่เหมาะสมสำหรับปฏิกิริยาพีซีอาร์

2. ไพรเมอร์ (Primers)

ไพรเมอร์คือนิวคลีโอไทด์สายเดี่ยวขนาดสั้น (Single-stranded oligonucleotides) ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สม (complementary) กับดีเอ็นเอต้นแบบ ทำหน้าที่เป็นจุดเริ่มต้นสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ ดังนั้นจำเป็นต้องมีไพรเมอร์อย่างน้อย 1 คู่ (forward primer และ reverse primer ซึ่งจะมีทิศทางสวนทางกัน) ทั้งนี้ไพรเมอร์ที่ออกแบบจากบริเวณปลาย 5' เรียกว่า “Forward primer” จับกับดีเอ็นเอต้นแบบที่เป็น anti-sense strand (3' -> 5") ไพรเมอร์ที่ออกแบบจากบริเวณปลาย 3' เรียกว่า “Reverse primer” จับกับดีเอ็นเอต้นแบบที่เป็น sense strand (5' -> 3")

3. DNA polymerase

DNA polymerase เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่สร้างสายดีเอ็นเอ มีคุณสมบัติพิเศษที่ทนความร้อนได้สูงอย่างน้อย 94-95 องศาเซลเซียส ปัจจุบันเอนไซม์ที่นิยมใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์ คือ Taq DNA polymerase เป็นเอนไซม์ที่สกัดมาจากแบคทีเรีย *Thermus Aquaticus* (Taq) ซึ่งอาศัยอยู่ในบริเวณบ่อน้ำพุร้อน ความเข้มข้นของ DNA polymerase ที่ใช้ขึ้นอยู่กับปริมาณและลักษณะของดีเอ็นเอต้นแบบ

4. Deoxynucleotide triphosphates (dNTPs)

dNTPs ได้แก่ dATP, dTTP, dGTP, dCTP นิวคลีโอไทด์ทั้งสี่ชนิดนี้เป็นวัตถุดิบ (substrate) ในการสร้างสายดีเอ็นเอสายใหม่

5. PCR buffer

PCR buffer เป็นสารที่ทำหน้าที่ในการควบคุมสถานะของการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ให้เหมาะสม เช่น ความเป็นกรด ด่าง (pH) และเกลือต่าง ๆ

6. Magnesium ion (Mg^{2+})

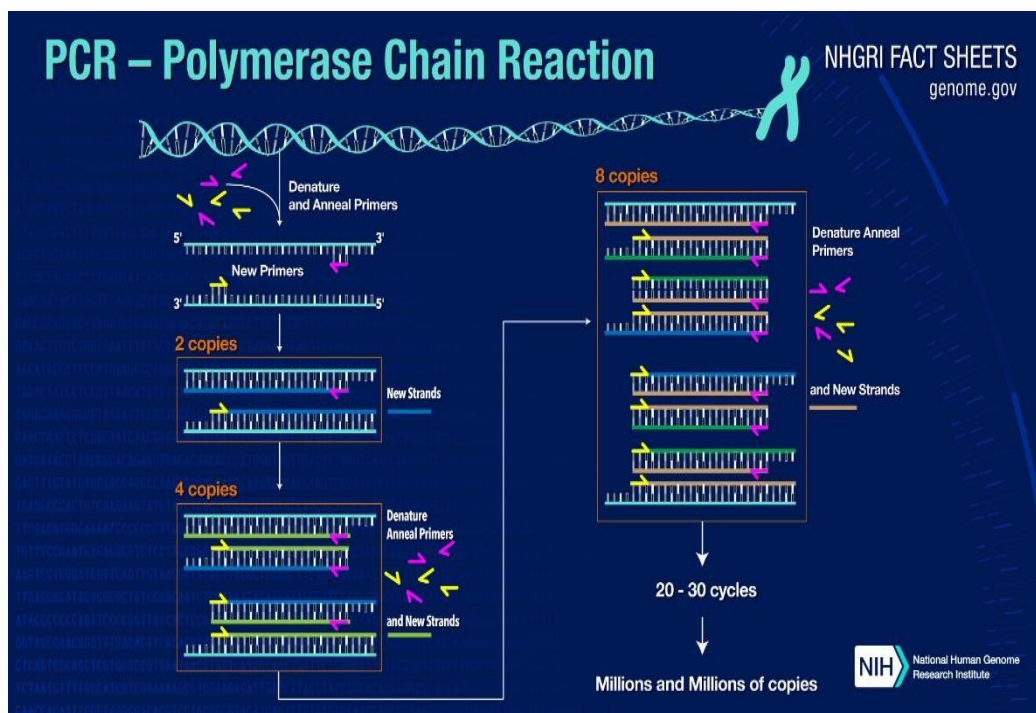
Magnesium ion (Mg^{2+}) เป็นสารเคมีที่ช่วยส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase ให้ปฏิกิริยาการสร้างสายดีเอ็นเอดำเนินต่อไปได้โดยไม่ขัดข้อง

7. เครื่องเพิ่มปริมาณสารทางพันธุกรรม (Thermal cycle)

เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม เป็นเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่มีในห้องปฏิบัติการที่ทำงานเกี่ยวข้องกับดีเอ็นเอที่ใช้ประกอบกับเทคนิคพีซีอาร์ ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลอง โดยอาศัยหลักการ การจำลองตัวเองในธรรมชาติ ขั้นตอนการทำงานของเทคนิคพีซีอาร์แสดงในภาพประกอบที่ 5 มี 3 ขั้นตอนดังต่อไปนี้

1. Denaturation เป็นการแยกสายดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบจากสภาพที่เป็นเส้นคู่ให้เป็นเส้นเดี่ยวโดยใช้อุณหภูมิในช่วง 92-95 องศาเซลเซียส
2. Annealing เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลงอยู่ในช่วง 50-60 องศาเซลเซียส และใช้ไพรเมอร์ซึ่งเป็นดีเอ็นเอสายสั้น ๆ (ประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์จำนวน 17-24 เบส) ที่มีลำดับเบสเป็นเข้าคู่กับสายดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบจับคู่กัน
3. Extension เป็นขั้นตอนการสร้างดีเอ็นเอสายใหม่โดยสังเคราะห์ต่อจากส่วนปลายของไพรเมอร์ตามข้อมูลบนดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบแต่ละสายโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอ โพลีเมอเรส (DNA polymerase) ซึ่งเอนไซม์นี้ทำงานได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 72-75 องศาเซลเซียส

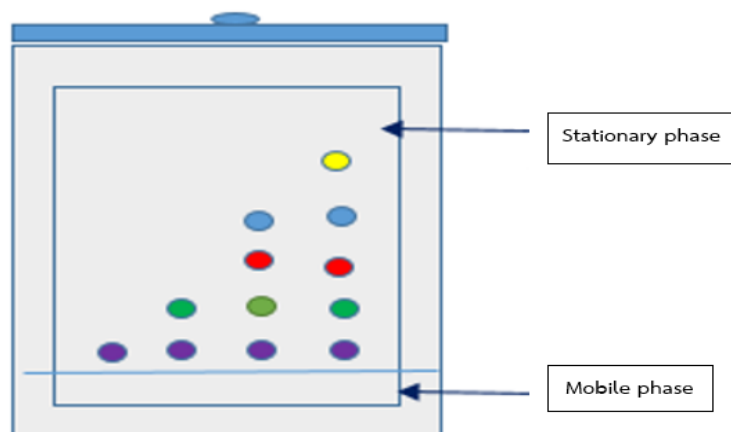
การทำพีซีอาร์จะดำเนินไปในแต่ละรอบซึ่งประกอบด้วย denaturation annealing และ extension หลังการทำปฏิกิริยาจำนวนทั้งสิ้นประมาณ 30-40 รอบ จะมีการเพิ่มดีเอ็นเอบริเวณที่ศึกษาขึ้นแบบทวีคูณในปริมาณ 2^n (n = จำนวนรอบที่ใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์) ขึ้นส่วนของดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้นนำมาศึกษาต่อโดยนำมาทำเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (gel electrophoresis) เพื่อศึกษาขนาดของดีเอ็นเอบริเวณที่สนใจหรือนำไปตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) และการศึกษาเชิงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตต่อไป



ภาพประกอบที่ 5 ขั้นตอนการทำงานของเทคนิคพีซีอาร์

2.4 การตรวจเอกลักษณ์สมุนไพรวีธีรงค์เลขฉิวบาง (Thin Layer Chromatography, TLC)

การตรวจสอบเอกลักษณ์ของสมุนไพรวีธีรงค์เลขฉิวบาง (TLC) เป็นวิธีพิสูจน์เอกลักษณ์หรือวิเคราะห์หากกลุ่มสารของพืชสมุนไพรเบื้องต้นที่สะดวก รวดเร็ว แม่นยำ มีค่าใช้จ่ายต่ำเมื่อเทียบกับการวิเคราะห์วิธีอื่นและเป็นเทคนิคที่นิยมในตำรายาสมุนไพร (อุทัย โสธนะพันธุ์ และคณะ, 2556) หลักการแยกสาร วิธีนี้อาศัยหลักการการแยกองค์ประกอบแต่ละชนิดในสารละลายตัวอย่างออกจากกันบนแผ่นรงค์เลขฉิวบาง ซึ่งเป็นวัฏภาคคงที่ (stationary phase) ที่เคลือบอยู่บนวัสดุรองรับที่เป็นแผ่นระนาบ (แผ่นแก้ว อะลูมิเนียม หรือแผ่นพลาสติก) โดยใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ที่เหมาะสมในการนำพาสารให้เคลื่อนที่ไปบนแผ่นรงค์เลขฉิวบางและทำให้เกิดการแยกออกจากกันของสารเคมี ดังภาพประกอบที่ 6



ภาพประกอบที่ 6 การแยกสารบนแผ่นรงคเลขวาง Thin layer chromatography (TLC)

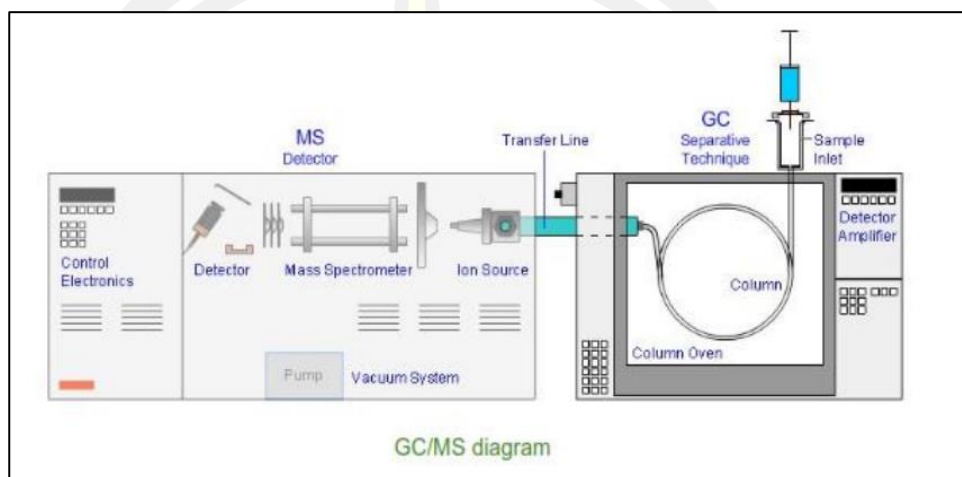
สารแต่ละชนิดจะเคลื่อนที่บนวัสดุภาคคงที่แตกต่างกันตามคุณสมบัติทางกายภาพเคมีของสาร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพมีขั้ว (polarity) ของสารที่เป็นองค์ประกอบกับสารที่เป็นตัวทำละลาย ถ้าตัวทำละลายเป็นโมเลกุลมีขั้ว (polar molecules) จะชะเอาสารในสารผสมที่เป็นสารมีขั้วไปด้วยได้เร็ว ส่วนสารที่ไม่มีขั้วในสารผสมจะถูกชะพาไปได้ช้า สารผสมก็จะแยกออกจากกัน (กฤตติญารัตน์ สมวงศ์, 2555) ผลของการแยกสารนี้เรียกว่า Chromatogram ต่อจากนั้นจึงนำผล Chromatogram ของสารสกัดหยาบ ที่ได้จากสมุนไพรตัวอย่างมาเปรียบเทียบกับ Chromatogram ของสารมาตรฐาน (จิรดา สุธรรม, 2557) ตำแหน่งที่ปรากฏของสารแต่ละจุดจะแสดงด้วยค่า Rf ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0-1 โดยคำนวณค่า Rf ดังสมการ

$$R_f = \frac{\text{ระยะทางที่สารเคลื่อนที่ห่างจากจุดเริ่มต้น}}{\text{ระยะทางที่วัสดุภาคเคลื่อนที่ห่างจากจุดเริ่มต้น}}$$

2.5 แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) (Robert, 2004; พรรณทิพย์ นาคศรีคำ, 2558)

การวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) เป็นการวิเคราะห์สารปริมาณน้อย (เรื่องศิลป์ จินตนาสมบัติ, 2536) ที่สามารถใช้วิเคราะห์ได้ทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพขององค์ประกอบสารเคมี (Lovestead & Urness, 2019) มีหลักการทำงานโดยการนำเทคนิคที่ทำให้แก๊สเฉื่อยเคลื่อนที่เป็นแก๊สพา ในวัสดุภาคเคลื่อนที่ สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการแยกสารที่ระเหยง่าย และมีความเสถียรภาพทางความร้อน

ตัวอย่างจะถูกนำเข้าสู่ระบบการทำงานและทำให้เกิดการระเหยเป็นไอที่จุดฉีดสาร มีระบบคอมพิวเตอร์ควบคุมและสื่อสารกับส่วนประกอบต่าง ๆ รับสัญญาณข้อมูลจากดีเทคเตอร์และประมวลผลออกมาในรูปของโครมาโตแกรม แสดงหลักการทำงานของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) ดังภาพประกอบที่ 7



ภาพประกอบที่ 7 หลักการทำงานของเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) (Al-Fekaiki, 2014)

เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) เป็นการใช้เทคนิคร่วมกันระหว่างแก๊สโครมาโทกราฟี ทำหน้าที่ในการแยกสารผสมซึ่งกลายเป็นไอได้ง่าย ให้ออกเป็นองค์ประกอบเดี่ยว และแมสสเปกโตรเมตรี ทำหน้าที่ในการตรวจสอบสารที่แยกและที่มีความจำเพาะต่อการตรวจวัด และให้ข้อมูลแมสสเปกตรัมของสารที่สามารถใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์สารได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้มีข้อดีในการใช้เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรีดังนี้ (พรหมทิพย์ นาคศรีคำ, 2558)

1. ทำให้สามารถแยกองค์ประกอบของสารผสมที่มีความซับซ้อนให้เป็นสารที่มีองค์ประกอบเดี่ยว
2. ได้แมสสเปกตรัมของแต่ละองค์ประกอบเพื่อประโยชน์ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีของสารทดสอบ
3. มีประสิทธิภาพสูงในการตรวจวัดสารตัวอย่าง สามารถให้ข้อมูลแมสสเปกตรัมที่สมบูรณ์ ถึงแม้ว่า สารมีปริมาณน้อย
4. สามารถให้หลักฐานด้านมวลโมเลกุลของสาร ตลอดจนให้ข้อมูลด้านรูปแบบการแตกของโครงสร้างเป็นส่วนย่อย ๆ ซึ่งเป็นเอกลักษณ์เฉพาะของสาร

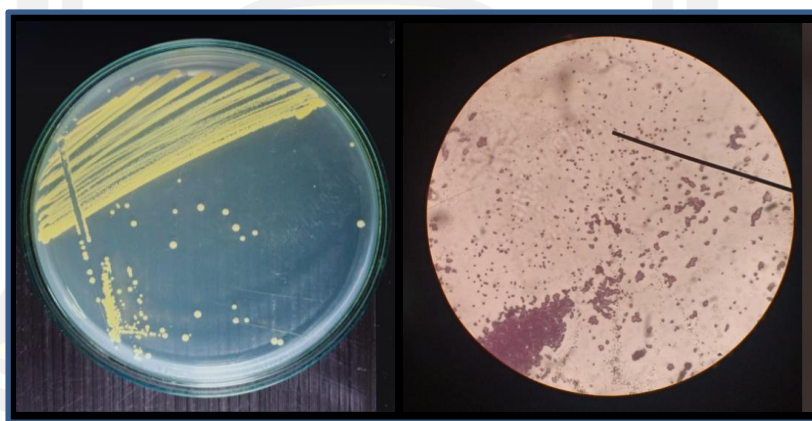
2.6 แบคทีเรียก่อโรคที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของส่วนสกัดจากส่วนประกอบของพืชเช่น เมล็ด ใบ ราก ลำต้น ในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน เชื้อทดสอบเป็นเชื้อที่พบบ่อยในการก่อโรคที่ผิวหนัง เช่น เชื้อที่ทำให้เกิดกลากเกลื้อน ฝีหนอง โดยคัดเลือกแบคทีเรียที่เป็นตัวแทนของแกรมบวก และแกรมลบเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปสู่การพัฒนาเป็นยาต่อไป

2.6.1 เชื้อแบคทีเรียทดสอบ ประเภทแกรมบวก

2.6.1.1 *Staphylococcus aureus* (ภัทรชัย กิริติสิน, 2549)

S. aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7-1.2 ไมโครเมตร พบเป็นคู่ หรือเป็นพวงอ่ง (spherical shape) ไม่มีการเคลื่อนที่ และไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่ไม่มีอากาศและมีอากาศ (facultative anaerobes) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 15 – 45 องศาเซลเซียส และเจริญได้ในระดับความเข้มข้นของเกลือสูงถึง 15 เปอร์เซ็นต์ โคโลนีมีลักษณะกลมมน เป็นมัน มีขนาด 1 – 2 มิลลิเมตร มีสีเหลือง ในธรรมชาติมีใน อาหาร น้ำดื่ม ฟันละออง ขยะมูลฝอย แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Staphylococcus aureus* ในภาพประกอบที่ 8



ภาพประกอบที่ 8 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Staphylococcus aureus* DMST 19376

(ซ้าย) *Staphylococcus aureus* DMST 19376 เจริญบนอาหาร MHA

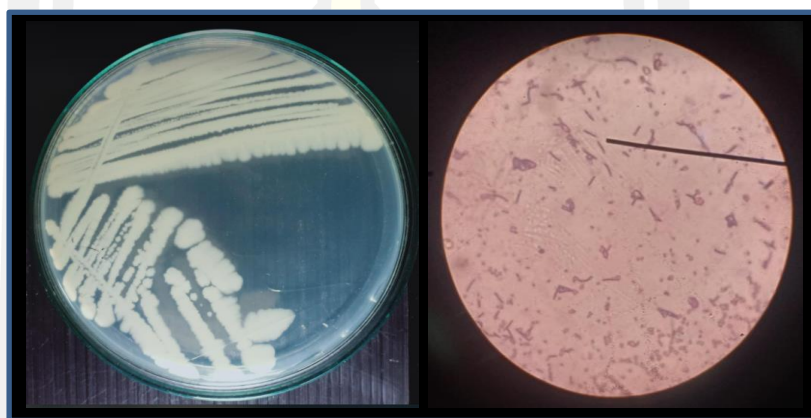
(ขวา) *Staphylococcus aureus* DMST 19376 ย้อมด้วยวิธีแกรมสเดน

(Gram stain technique) ที่กำลังขยาย 100 เท่า

การทำให้เกิดโรค (ชุดินันท์ ประสิทธิ์ภูริปริชา, 2557) การเกิดโรคจากเชื้อนี้ส่วนใหญ่จะเป็นโรคที่เกิดจากการติดเชื้อทางผิวหนังที่พบทั่วไป เช่น ฝี หนอง กุ้งยิง (stye) หูดอักเสบ และมีการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบอาหารคือโรคอาหารเป็นพิษทำให้เกิดท้องร่วงเฉียบพลัน (วัชรารภรณ์ ทาหารและกรองกาญจน์ จันต๊ะ, 2561)

2.6.1.2 *Bacillus cereus*

B. cereus เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อนขนาดใหญ่ สร้างสปอร์ มีการเคลื่อนที่และไม่สร้างแคปซูล แสดงลักษณะทางสัณฐานของ *B. cereus* และลักษณะของเซลล์จากการย้อมสี ในภาพประกอบที่ 9



ภาพประกอบที่ 9 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Bacillus cereus* DMST 6228

(ซ้าย) *Bacillus cereus* DMST 6228 เจริญบนอาหาร MHA

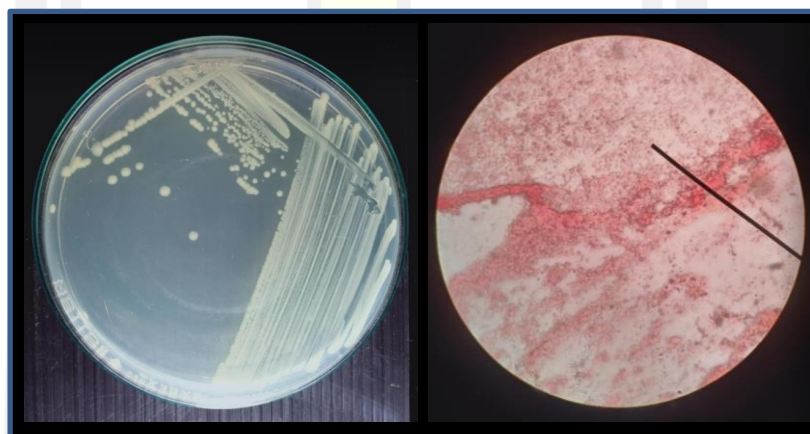
(ขวา) *Bacillus cereus* DMST 6228 ลักษณะเซลล์จากการย้อมด้วยวิธีแกรมสแตน (Gram stain technique) ที่กำลังขยาย 100 เท่า

การทำให้เกิดโรคของ *B. cereus* เกิดขึ้นในหลายระบบของร่างกายเช่น สาเหตุการติดเชื้อในแผลเรื้อรัง การติดเชื้อ *B. cereus* ในตาผู้ป่วยของประเทศจีน แต่เกิดขึ้นน้อยในการติดเชื้อในแผล (Chan et al., 2003) และการทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ ผู้ที่ได้รับเชื้อ มีอาการอาเจียน คลื่นไส้ หลังจากการกินอาหารที่มีเชื้อ *B. cereus* ปนเปื้อน เนื่องจากมีการสร้าง enterotoxin ของเชื้อ ส่วนผู้ที่ได้รับเชื้อแล้วมีอาการท้องร่วงหลังกินจากอาหาร 10-15 ชั่วโมงเกิดจากการสร้าง enterotoxin ของเชื้อซึ่งเป็นพิษที่สามารถทนความร้อนได้

2.4.1.3 *Escherichia coli*

E. coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative rod) รูปร่างแบบแท่ง อยู่ในกลุ่มเอ็นเทอโรแบคทีเรีย (Family Enterobacteriaceae) ไม่สร้างสปอร์ อาจสร้างหรือไม่สร้างแคปซูล แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะเซลล์จากการย้อมสีในภาพประกอบที่ 10 สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งมีอากาศและไม่มีอากาศ (facultative anaerobes) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 44 องศาเซลเซียส ปกติ *E. coli* เป็นเชื้อประจำถิ่นที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พบมากในอุจจาระ

การเกิดโรคจากแบคทีเรียนี้จะเกิดเมื่อร่างกายอ่อนแอ ภูมิคุ้มกันบกพร่อง บางครั้งจึงเรียกว่าเชื้อฉวยโอกาส (Opportunistic pathogen) ซึ่งเป็นตัวการ สำคัญที่ก่อให้เกิดปัญหาการติดเชื้อในโรงพยาบาล (Secondary infection) โดยส่วนใหญ่จะทำให้เกิดโรคท้องร่วง (diarrheal disease) ทางเดินปัสสาวะอักเสบ (Urinary tract infection) เยื่อหุ้มสมองอักเสบในทารก (neonatal meningitis) โลหิตเป็นพิษ (septicemia)



ภาพประกอบที่ 10 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *E. coli* DMST 15537

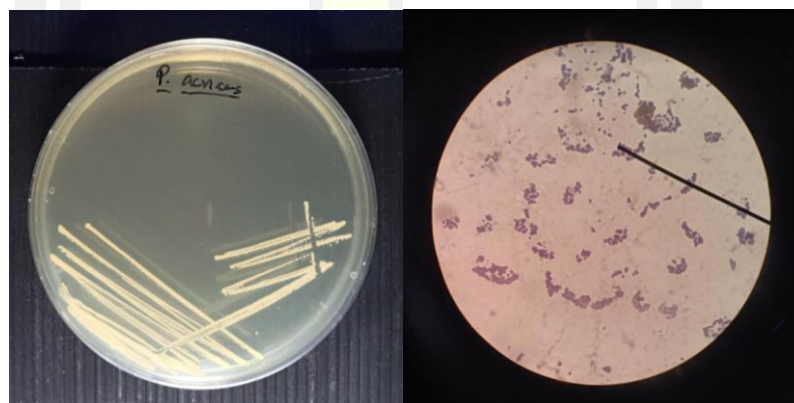
(ซ้าย) *E. coli* DMST 15537 บนอาหาร MHA

(ขวา) *E. coli* DMST 15537 ย้อมด้วยวิธีแกรมสแตน (Gram stain technique)

ที่กำลังขยาย 100 เท่า

2.4.1.4 *Propionicbacterium acnes*

P. acnes เป็นแบคทีเรียที่เรียกลุ่ม obligate anaerobic ย้อมติดสีแกรมบวก รูปร่างมีหลายแบบ (pleomorphism) เช่น แท่งสั้น คล้ายรูปกลมหรือรูปไข่ หรือแท่งสั้นมีหัวท้ายโตไม่เท่ากัน (club-shaped) การเรียงตัวอาจพบเป็นสายหรือเป็นกลุ่มหรืออยู่อย่างไม่เป็นระเบียบ ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญแต่สามารถทนต่อออกซิเจนได้ในระดับหนึ่ง (aerotolerance anaerobic bacteria) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30-38 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมง เป็นเชื้อที่ผลิต Propionic acid และ acetic acid ซึ่งสาเหตุของการเกิดสิวอักเสบเนื่องจาก *P. acnes* จะรวมตัวกับไขมันที่รูขุมขนขับออกมาเกิดกรดทำปฏิกิริยาต่อผิวหนังทำให้เกิดการอักเสบ เชื่อจะมีการหลั่ง lipase chemotactic factor, metalloprotease และ porphyrins ไปกระตุ้น Oxygen generate toxic เป็นสาเหตุเกิดการอักเสบในต่อมไขมันและแตกออกเป็นแผล (สุทธิวรรณ วุ่นหนู, 2559)



ภาพประกอบที่ 11 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *P. acnaes* DMST 14916

(ซ้าย) *P. acnes* DMST 14916 บนอาหาร BHI agar ผสม 1 เปอร์เซ็นต์
กลูโคส

(ขวา) *P. acnes* DMST 14916 ย้อมด้วยวิธีแกรมสเดน (Gram stain technique) ที่กำลังขยาย 100 เท่า

2.5 การทดสอบความไวของสารต้านจุลชีพ (ชุดินันท์ ประสิทธิ์ภูริปริษา, 2557)

ในปัจจุบันประเทศไทยประสบปัญหาเชื้อโรคดื้อยาต้านจุลชีพ เนื่องจากประชาชนมีพฤติกรรมการใช้ยาที่ไม่ถูกต้อง เช่น การใช้ยาต้านจุลชีพไม่ถูกต้อง ไม่ครบจำนวน และยาที่ใช้ไม่เข้ามาตรฐาน จึงส่งผลให้ปัจจุบันเชื้อจุลินทรีย์มีกลไกทางชีวเคมีเปลี่ยนไปสามารถทนต่อฤทธิ์ยาได้ จึงจำเป็นต้องหาสารที่มีศักยภาพสูงในการต้านการเจริญของแบคทีเรียที่มีการเปลี่ยนแปลงทางชีวโมเลกุล วิธีการที่จะสามารถทดสอบการต้านเชื้อของแบคทีเรียต่อยาได้โดยนำยาหรือสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ มาศึกษาต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ แบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ

2.5.1 การทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพ

2.5.1.1 การทดสอบความไวต่อสารต้านจุลชีพมีหลายวิธีเช่น วิธี cylinder cup วิธี well plate โดยใช้ cork borer ในการเจาะรูเพื่อให้เป็นรู และวิธี Disc diffusion จากทั้งสามวิธี วิธี Disc diffusion เป็นการทดสอบที่ได้รับความนิยมในห้องปฏิบัติการมากที่สุด เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวก และรวดเร็ว สามารถให้ผลที่ถูกต้อง มีหลักการโดยอาศัยการนำเชื้อแบคทีเรียไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ปรับความขุ่นในน้ำเกลือ (normal saline solution) ให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland standard No.0.05 ใช้สำลีพันไม้ที่ปราศจากเชื้อจุ่มเชื้อที่ปรับความขุ่น ปายให้ทั่วผิวหน้าจานเลี้ยงเชื้อ และใช้คิมที่ปราศจากเชื้อคียบแผนสารต้านจุลชีพ (disc) มาวางบนผิวหน้าอาหารกึ่งแข็ง mueller hinton (MHA) ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วนำจานเลี้ยงเชื้อที่ทำการทดสอบไปเพาะเลี้ยง (incubate) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส หลังจากปล่อยให้เชื้อเจริญเติบโตในตู้อบนาน 24 ชั่วโมง นำจานเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อเจริญ อยู่ทั่วจาน (ยกเว้นบริเวณรอบ ๆ แผ่นยา) มาวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้ง (zone of inhibition)

2.5.2 Dilution test

วิธีนี้สามารถหาค่าปริมาณความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพที่น้อยที่สุด ที่สามารถมีฤทธิ์ยับยั้ง การเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (MIC, Minimum Inhibitory Concentration) และค่าความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพน้อยที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ 99.9 % (MBC, minimum bacteriocidal concentration) โดยอาศัยหลักการเจือจางสารต้านจุลชีพในอาหารเหลวให้มีความเข้มข้นของยาลดลงครึ่งหนึ่ง (two fold dilution) นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง เมื่อใดค่าปริมาณความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพที่น้อยที่สุด ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแล้วต้องหาค่าปริมาณความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพน้อยที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อ แบคทีเรียได้ 99.9 % โดยนำหลอดที่ไม่ขุ่นทุกหลอดไปหาค่าปริมาณความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพที่น้อยที่สุดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย โดยจุ่มหัวง่าเชื้อในหลอดที่ไม่ขุ่นและนำไปลาก (streak) บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA และบ่มที่อุณหภูมิ 35-37

องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง และเลือกความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ไม่เกิน 5 โคลน/0.01 มิลลิลิตร

2.6 วิธีการเก็บตัวอย่างสมุนไพร

การเก็บเกี่ยวพืชสมุนไพรทำให้เกิดสรรพคุณทางยานั้น มีองค์ประกอบของการเก็บตัวอย่างดังนี้

2.6.1 ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว (นเรศ แก้วปิ่นดา, 2560)

สารออกฤทธิ์ในสมุนไพรจะมากหรือน้อยขึ้นกับปัจจัยหลายประการ ปัจจัยที่สำคัญมากที่สุดคือระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวสมุนไพรซึ่งมีความแตกต่างกันแต่ละชนิดและส่วนที่ใช้ของสมุนไพรที่ใช้ มีรายละเอียดดังนี้

2.6.1.1 ประเภทรากหรือหัว ควรเก็บในช่วงที่ พืชหยุดการเจริญเติบโตและดอกร่วง หมดหรือในช่วงต้นฤดูหนาวถึงปลายฤดูร้อน

2.6.1.2 ประเภทเปลือกกรากหรือเปลือกต้น เก็บในช่วงระหว่างฤดูร้อนถึงฤดูฝน

2.6.1.3 ประเภทใบหรือทั้งต้น ควรเก็บในช่วงที่พืชเจริญเติบโตมากที่สุด

2.6.1.4 ประเภทดอกโดยทั่วไปเก็บในช่วงดอกเริ่มบาน บางชนิดเก็บเมื่อเป็นดอกตูม เช่น กานพลู (สุจิตรา กลิ่นเกษร, 2548)

2.6.1.5 ประเภทผลและเมล็ด เก็บตอนผลแก่เต็มที่

2.6.2 วิธีการเก็บเกี่ยว

การเก็บเกี่ยวส่วนของสมุนไพรที่จะนำมาใช้ประโยชน์ มีวิธีการแบ่งออกตามส่วนของสมุนไพรที่ใช้ประโยชน์ ดังนี้

2.6.2.1 ประเภทราก หรือหัว หรือเหง้า ควรขุดอย่างระมัดระวัง เพื่อให้ได้รากหรือเหง้าที่สมบูรณ์ ไม่ถูกตัดหรือมีแผลจากอุปกรณ์ที่ใช้ขุดจากนั้นจึงตัดรากฝอยออก

2.6.2.2 ประเภทเปลือกกรากหรือเปลือกต้น เก็บโดยการลอกเปลือกต้นหรือราก วิธีการในการลอกเปลือกต้นอย่าลอกออกรอบทั้งต้น ควรลอกออกจากส่วนกิ่ง หรือแขนงย่อย หรือลอกเปลือกต้นออกในลักษณะครึ่งวงกลมเพื่อไม่ให้กระทบกระเทือนต่อระบบการลำเลียงอาหารของพืช และไม่ควรถลอกส่วนลำต้นใหญ่ของสมุนไพร

2.6.2.3 ประเภทใบหรือเก็บทั้งต้น ใบเก็บโดยวิธีเด็ดหรือตัด ส่วนการเลือกเก็บใบแก่หรือใบไม่อ่อน ไม่แก่เกินไป (ใบเพสลาด) ขึ้นกับชนิดของพืชที่ระบุให้เก็บ การเก็บทั้งต้นจะตัดเฉพาะส่วนเหนือดินขึ้นไป

2.6.2.4 ประเภทดอกเก็บโดยวิธีเด็ดหรือตัดดอกตูม ดอกเริ่มบานหรือดอกแห้งตาก

กำหนด

2.6.2.5 ประเภทผลและเมล็ดเก็บโดยใช้วิธีเด็ดหรือวิธีตัด โดยทั่วไปเก็บตอนผลแก่เต็มที่

2.7 พฤษเคมีในพืชสมุนไพร (Phytochemical) (วาทีณี เสถ์ราษฎร์, 2559; อุดมเดชา พลเยี่ยม, 2556; นงลักษณ์ ห้วยหงษ์ทอง, 2559)

พฤษเคมีในพืชสมุนไพรคือกลุ่มของสารสำคัญเฉพาะตัวของพืชแต่ละชนิด ทำให้มีความแตกต่างกัน บางชนิดมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (pharmacological action) นำไปใช้ประโยชน์ทางยา เช่น แอลคาลอยด์ (alkaloids) มีฤทธิ์ด้านการอักเสบและต้านมะเร็ง แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ (anthroquinone glycoside) มีฤทธิ์เป็นยาระบาย สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ด้านการอักเสบและเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย (ถาวรีย์ วิบูลย์วัฒน์ และพนิดา แสนประกอบ, 2562) สารสำคัญในพืชสมุนไพรแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มดังนี้

1.1 สารปฐมภูมิ (Primary metabolites) เป็นสารเคมีที่พบในพืชชั้นสูง พบได้ในพืชเกือบทุกชนิด เป็นกลุ่มสารที่เกี่ยวข้องกับเมตาโบลิซึมที่จำเป็นของเซลล์ ส่วนใหญ่เป็นสารที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชและกระบวนการชีวสังเคราะห์ กรดอะมิโนบางชนิด ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน กรดอะมิโน เอนไซม์ เป็นต้น

1.2 สารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) เป็นสารประกอบที่พบแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด เป็นความเฉพาะตัวของพืชแต่ละชนิด มักแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างชัดเจน การแบ่งกลุ่มสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ในพืช แสดงในตารางที่ 2

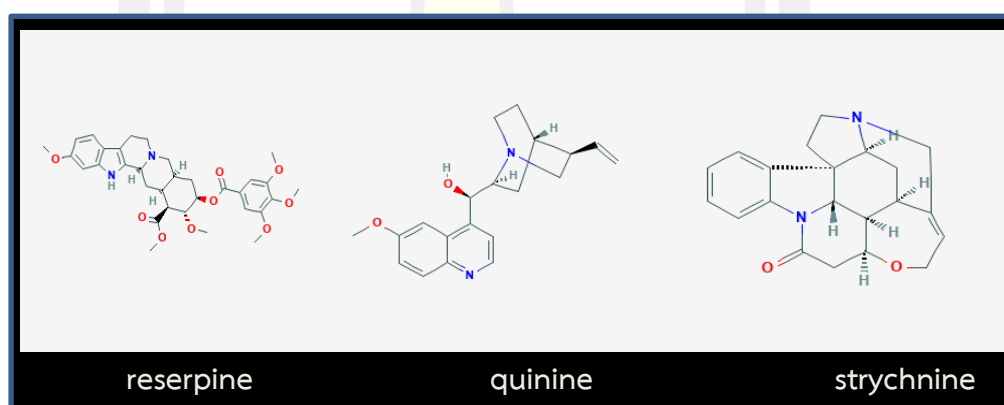
พหุบัณฑิต ชีวะ

ตารางที่ 2 การแบ่งกลุ่มสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ในพืช
(วาทีณี เสลร์ราชฎร์ (2559 อ้างอิงจาก นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, 2544))

สารทุติยภูมิ	กลุ่มย่อยของสารทุติยภูมิ
1. อัลคาลอยด์ (Alcaloids)	-
2. สารกลุ่มฟีนอลิก (Phenolic compounds)	ฟีนอล และฟีนอลิกไกลโคไซด์ (Phenol and PhenolicGlycosides) คูมาริน (Coumarins) ฟลาโวนอยด์ (Flavonids) แทนนิน (Tannins) ควิโนน (Quinone)
3. เทอร์พีนอยด์ และสเตอรอยด์ (Terpenoids and Steroids)	
3.1 กลุ่มเทอร์พีนอยด์	ซาโปนิน (Saponins) โมนเทอร์พีน (Monoterpenes) เซสควิเทอร์พีน (Sesquiterpenes) ไดเทอร์พีน (Diterpenes) ไตรเทอร์พีน (Triterpenes) เตตราเทอร์พีน (Tetraterpenes) น้ำมันหอมระเหย (Volatile oils)
3.2 กลุ่มสเตอรอยด์	เรซินและโอเลโอเรซิน (Resins and Oleoresins) ซาโปนิน (Saponins) คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiac glycosides) ไกลโคไซด์ชนิดอื่น ๆ (Other glycosides)
4. สารกลุ่มกลูโคซิโนเลท (Glucosinolate compounds)	-

ในการวิจัยนี้ ผู้วิจัยศึกษาพฤกษเคมีที่เป็นสารทุติยภูมิดังต่อไปนี้

1. อัลคาลอยด์ (alkaloids) เป็นสารประกอบที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง เป็นสารอินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นด่าง พบมากในพืชชั้นสูง เป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ คุณสมบัติทั่วไปของอัลคาลอยด์มีรสขม มีฤทธิ์เป็นด่าง ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvents) มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาครอบคลุมทุกระบบของร่างกาย จัดเป็นเภสัชภัณฑ์ธรรมชาติกลุ่มใหญ่ที่สุดที่ได้นำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ในการรักษาโรคต่างๆ เช่น ใช้เป็นยาแก้ไอ แก้หอบหืด ยาระงับปวด ยาชาเฉพาะที่ ยารักษาแผลในกระเพาะและลำไส้ ยาลดความดัน ตลอดจนยาที่ควบคุมการเต้นของหัวใจ เช่น reserpine ในรากกระยอมีสรรพคุณลดความดันเลือด สาร quinine ในเปลือกต้นซิงโคนา (cinchona) มีสรรพคุณรักษาโรคมาเลเรีย นอกจากนี้ในการรักษาแล้ว อัลคาลอยด์บางชนิดเป็นพิษต่อร่างกาย ใช้เป็นยาพิษ ยาฆ่าแมลงหรือยาเบื่อสุนัข เช่น strychnine จากเมล็ดแสลงใจ (strychnos nux-vomica) แสดงภาพประกอบโครงสร้างทางเคมีของสารทุติยภูมิกลุ่มอัลคาลอยด์ในภาพประกอบที่ 12



ภาพประกอบที่ 12 โครงสร้างทางเคมีของสารทุติยภูมิกลุ่มอัลคาลอยด์

2. ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) (วิภ สุธธนะ, 2556) เป็นกลุ่มของสารประกอบ ที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrones) มีโมเลกุลขนาดเล็กและมีการจัดเรียงตัวของคาร์บอน 15 ตัว ($C_6 - C_3 - C_6$) เป็น วงแหวน 3 วง ได้แก่ วงแหวนเบนซีน (benzene ring) 2 วง (A and B) เชื่อมต่ออยู่กับวงแหวนไพแรน (heterocyclic pyran ring) ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง (C) 8 แบ่งเป็นกลุ่มย่อยเป็น 7 กลุ่ม ได้แก่

2.1 ฟลาโวนอล (flavonols) เช่น เคอร์ซีติน (quercetin) แคมป์เฟอรอล (kaempferol) ไมริซิติน (myricetin)

2.2 ฟลาโวน (flavones) เช่น ลูทีโอลิน (luteolin) อากิเจนิน (apigenin) ไครซิน (chrysin)

2.3 ฟลาวาโนน (flavanones) เช่น เฮสเพอริติน (hesperetin) นารินจินิน (naringenin) อีริโอดีคทืออล (eriodictyol)

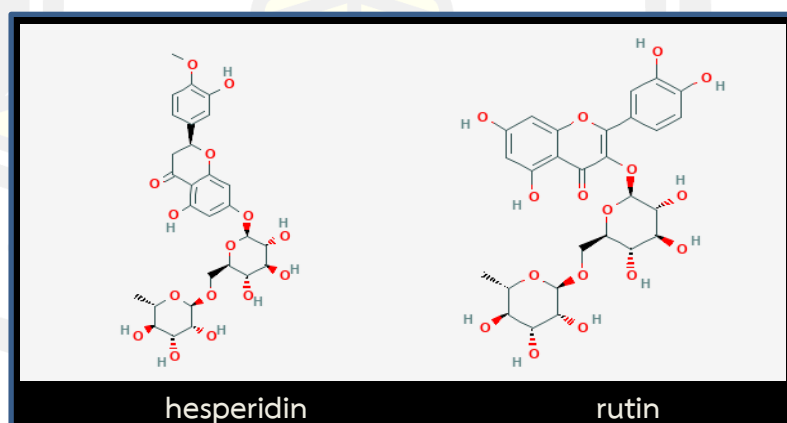
2.4 ฟลาวานอล (flavanols) เช่น แคเตชิน (catechin) แกลโลแคทีชิน (gallocatechin) อีพิกแคทีชิน (epicatechin) อีพิกแกลโลแคทีชิน (epigallocatechin) อีพิกแคทีชิน-3-แกลเลต (epicatechin-3-gallate) อีพิกแกลโลแคทีชิน-3-แกลเลต (epigallocatechin-3-gallate)

2.5 ฟลาวาโนนอล (flavanonols) เช่น แทกซิโฟลีน (taxifolin)

2.6 ไอโซฟลาโวน (isoflavones) เช่น เดดซีน (daidzein) จินิสเติน (genistein) ไกลซิเติน (glycitein) ฟอร์โมนอนเนติน (formononetin)

2.7 แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) เช่น ไชยานิดิน (cyanidin) เดลฟินิดิน (delphinidin) มาลวิดิดิน (malvidin) เปลาร์โกนิดิน (pelargonidin) พีโอนิดิน (peonidin) เปตุนิดิน (petunidin)

ฟลาโวนอยด์พบได้ใน ผัก ผลไม้ ธัญพืช พืชตระกูลถั่ว เครื่องเทศ สมุนไพร กิ่งก้าน ดอก และเมล็ดรวมถึงเครื่องดื่มบางชนิด เช่น ชา โกโก้ เบียร์ และไวน์ ฟลาโวนอยด์บางชนิดมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเช่น ทำให้เส้นเลือดฝอยแข็งแรง ต้านเชื้อไวรัส ลดการอักเสบ สารสำคัญกลุ่มนี้ได้แก่ hesperidin และ rutin มีฤทธิ์ทำให้ผนังเส้นเลือดฝอยแข็งแรง ลดการเปราะแตกง่ายของเส้นเลือดฝอย (นงลักษณ์ ห้วยหงษ์ทอง, 2556) แสดงภาพประกอบโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ในภาพประกอบที่ 13



ภาพประกอบที่ 13 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์

3. แทนนิน (tannin) (พิมพ์สมน เจริญบุญศรี, 2562) เป็นสารประกอบพอลิฟีนอล

ละลายน้ำได้ ให้รสฝาดและขม พบได้ในพืชหลายชนิดเช่น กระถิน องุ่น ชาเขียว ใบฝรั่ง ใบพลู ใบชุมเห็ด ผลไม้ดิบ เช่น ในเปลือกกล้วยดิบ เปลือกมังคุด เปลือกมะพร้าวอ่อน เมล็ดของผลไม้ เช่น องุ่น เม็ดในของมะขาม แทนนินเป็นสารประกอบฟีนอลที่มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 500 -3,000 กรัมต่อ 1 โมลของสาร ทำให้มีสูตรโครงสร้างทางเคมีข้างซับซ้อน จำแนกแทนนินตามโครงสร้างย่อยได้ 4 กลุ่ม ดังนี้

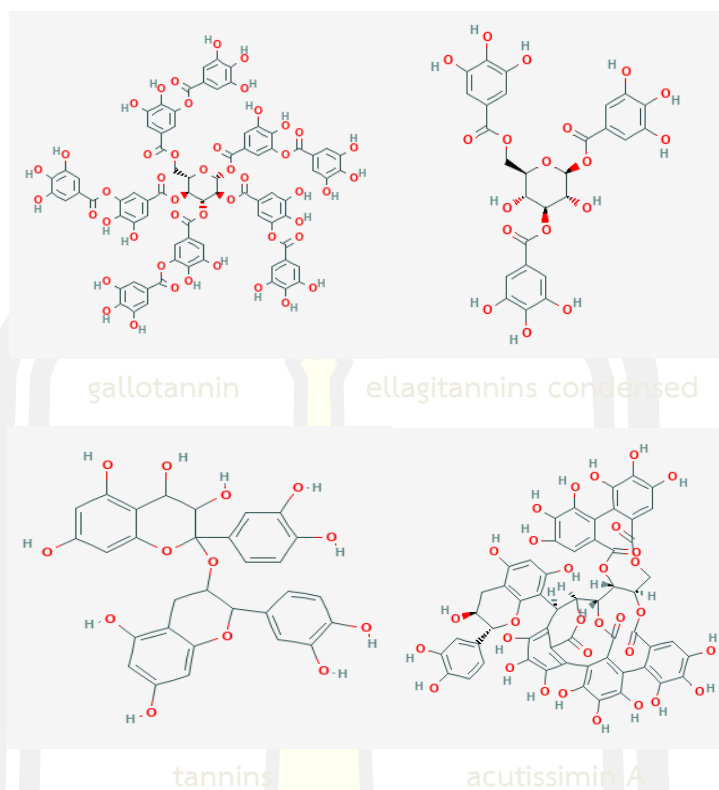
3.1 แกลโลแทนนิน (gallotannins) ได้แก่ สารเพนตะแกลโลอิลกลูโคส (pentagalloyl glucose) พบได้ในสารสกัดจากเนื้อในเมล็ดมะม่วง และกรดแทนนิก (tannic acid) ซึ่งพบได้ในปูดของต้นเบญจกานี

3.2 แอลลาจิทแทนนิน (ellagitannins) ได้แก่ สารพุนิคาลิน (punicalin) และ กรดแอลลาจิก (ellagic acid) พบได้ในสารสกัดจากผลทับทิม

3.3 คอนเดนส์แทนนิน (condensed tannins) ได้แก่ สารโปรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidin) พบได้ในสารสกัดของเมล็ดองุ่น และสารอีพิแกลโลแคทิจิน แกลเลต (epigallocatechin gallate) พบมากในใบชาเขียว

3.4 คอมเพล็กซ์แทนนิน (complex tannins) ได้แก่ สารอะคูทิสสิมิน เอ (acutissimin A) พบได้ในไม้ไผ่

ในทางเภสัชวิทยาแทนนินมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สามารถยับยั้งเอนไซม์หลายชนิด อาทิ เอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinases)] และเอนไซม์จากพิษงูเห่า ต้านการอักเสบ ช่วยลดน้ำตาล ในเลือด และรักษาอาการท้องเสีย แสดงภาพประกอบโครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มแทนนินในภาพประกอบที่ 14



ภาพประกอบที่ 14 โครงสร้างทางเคมีของสารในกลุ่มแทนนิน

4. เทอร์พีนอยด์ (Terpenoids) เป็นสารทุติยภูมิที่พบได้มากในธรรมชาติเป็นไฮโดรคาร์บอนชนิดที่ไม่อิ่มตัว ถ้าอยู่ในรูปของเหลว สามารถติดไฟได้ที่พบได้ทั่วไปเช่น น้ำมันหอมระเหย เรซิน หรือโอโรเรซิน เป็นต้น เทอร์พีนอยด์ส่วนใหญ่ละลายได้ดีในไขมัน เป็นสารไม่มีสี (ยกเว้น Carotenoid) พบได้ใน ไซโตพลาสซึมของเซลล์หรือในเนื้อเยื่อพิเศษ เช่น น้ำมันหอมระเหยพบได้ในเซลล์ต่อมของผิวใบ (วาทีนี เสลร์ชาฎร์, 2559) แบ่งประเภทของเทอร์พีนอยด์ตามองค์ประกอบของคาร์บอน (Perveen, 2018) ดังนี้

4.1 โมโนเทอร์พีนส์ (monoterpenes) มีอะตอมของคาร์บอนเป็นโครงสร้างหลัก 10 อะตอม เกิดจากการนำ isoprene 2 ตัวมาเชื่อมต่อกัน มีทั้งในรูปของสารเรียงตัวแบบเป็นวง เช่น limonene พบมากในน้ำมันมะนาวและน้ำมันผิวส้ม และเรียงตัวแบบไม่เป็นวง เช่น สาร β -myrcene, linalool น้ำมันหอมระเหยในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติในการกระตุ้นระบบประสาท ระงับเชื้อและขับเสมหะ นอกจากนี้ยังพบว่ามียุทธวิธียับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง

4.2 เซสควิเทอร์พีน (sesquiterpene) มีอะตอมของคาร์บอนเป็นโครงสร้างหลัก 15 อะตอม เป็นส่วนประกอบสำคัญของน้ำมันหอมระเหยหลายชนิด เช่น สาร β -caryophyllene พบ

มากในน้ำมันในฝรั่ง สาร zingiberene พบมากในน้ำมันสกัดจากพืชตระกูลขิง สารในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติด้านการอักเสบ ช่วยผ่อนคลาย

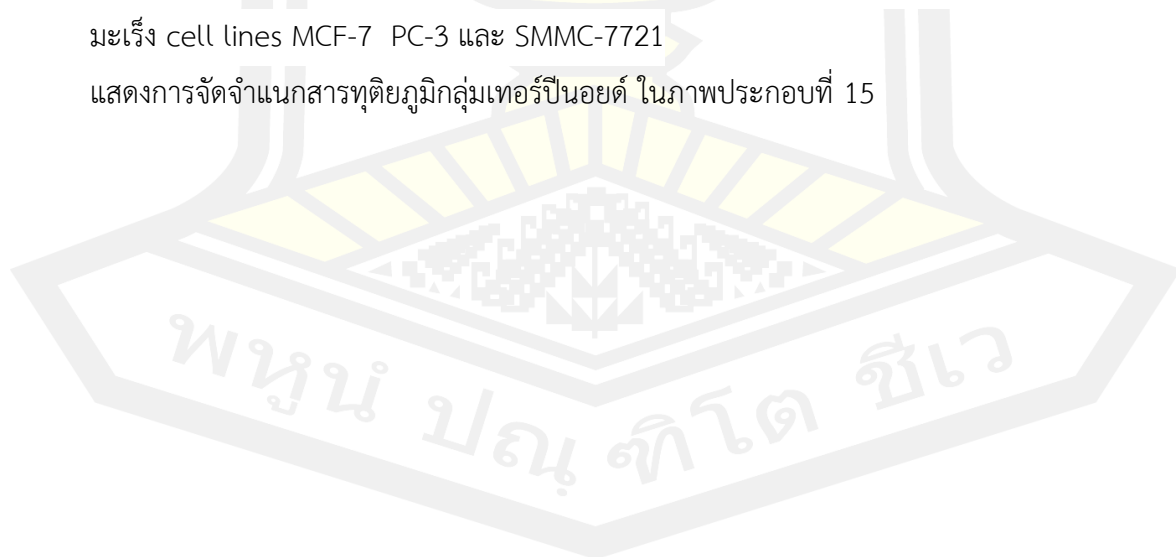
4.3 ไตรเทอร์พีนส์ (diterpenes ; C₂₀) มีอะตอมของคาร์บอนเป็นโครงสร้างหลัก 20 อะตอม เป็นองค์ประกอบพื้นฐานในเรซินและแท็กซอลที่ใช้เป็นสารต้านมะเร็ง ไตรเทอร์พีนส์ (Triterpenes ; C₃₀) ที่เป็นองค์ประกอบในสารกลุ่ม สเตอรอยด์ สเตอรอลและคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ที่ใช้เป็นยาออกฤทธิ์ด้านการ อักเสบ ยาระงับความรู้สึก และยาฆ่าแมลง

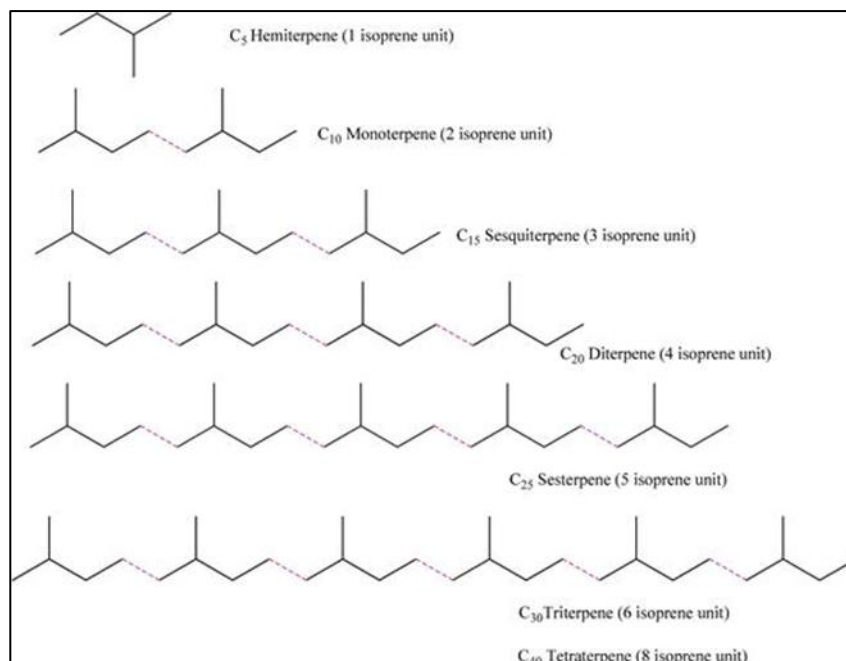
4.4 เซสเทอร์พีน (sesterpenes) มีอะตอมของคาร์บอนเป็นโครงสร้างหลัก 25 อะตอม นำ isoprene 5 ตัวมาเชื่อมต่อกัน เป็นองค์ประกอบพื้นฐานของไลเคน ฟองน้ำ มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ ต้านมะเร็งและด้านการอักเสบ

4.5 ไทรเทอร์พีน (triterpene) มีอะตอมของคาร์บอนเป็นโครงสร้างหลัก 30 อะตอม นำ isoprene 6 ตัวมาเชื่อมต่อกัน ไทรเทอร์พีนเป็นสารประกอบที่ซับซ้อนที่มีหมู่เมทิลจำนวนมาก เป็นองค์ประกอบ สารสำคัญในกลุ่มนี้คือ ซาโปนิน เช่น สารซาโปนินในรากโสมทำหน้าที่ขับถ่ายสารพิษ ทำความสะอาดโลหิตและหลอดเลือด ซึ่งมีคุณสมบัติละลายในน้ำ และน้ำมันทำให้เกิดฟองมาก เช่นเดียวกับหลักการทำงานของสบู่ ในการชำระล้างความสกปรกต่างๆ และสรรพคุณในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมต่างๆ เช่น สารพิษต่างๆ เอ็นโดท็อกซิน โปรทในรูปสารอินทรีย์

4.6 เมโรเทอร์พีน (meroterpenes) เป็นสารประกอบทางเคมีที่มีโครงสร้างเทอร์ปีนอยบางส่วน พบมากทั้งในสัตว์ พืช แบคทีเรียและเชื้อรา สารในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ทางเภสัชคือ 6-OH-3-Me-8-phenylethylbenzo[b]oxepin-5-one ที่โนลิเวอร์เวสต์ *Radula sumatrana* มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง cell lines MCF-7 PC-3 และ SMMC-7721

แสดงการจัดจำแนกสารทุติยภูมิกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ ในภาพประกอบที่ 15





ภาพประกอบที่ 15 การจัดจำแนกสารทุติยภูมิกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ (Perveen, 2018)

2.7 ภูมิปัญญาท้องถิ่น

ภูมิปัญญาท้องถิ่น (folk wisdom) หมายถึง องค์ความรู้ความสามารถของชุมชนที่สั่งสมสืบทอดกันมานาน เป็นความจริงแท้ของชุมชนเป็นศักยภาพที่จะใช้แก้ปัญหา จัดการปรับตัว เรียนรู้ และถ่ายทอดสู่คนรุ่นใหม่ เพื่อให้ดำรงชีวิตอยู่ได้อย่างมีความสุข เป็นแก่นของชุมชนที่รกรง ความเป็นชาติให้อยู่รอดจากทุกภัยพิบัติทั้งปวง (ศักดิ์ชัย เกียรติจินา คินทร์, 2542).

ลักษณะที่สำคัญของภูมิปัญญาท้องถิ่น เป็นความรู้แบบองค์รวมที่เกิดจากการเชื่อมโยงความรู้หรือกิจกรรมทุกอย่างที่เกี่ยวข้องกับวิถีชีวิต มีวิถีความสัมพันธ์ที่สมดุลระหว่างคนกับคน คนกับธรรมชาติ และคนกับสิ่งเหนือธรรมชาติ กิจกรรมที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นพลวัต (Dynamics) เปลี่ยนแปลงได้ตามยุคสมัย และมีพัฒนาการอยู่ตลอดเวลา โดยมีวัฒนธรรมเป็นพื้นฐานและมีลักษณะเฉพาะหรือเอกลักษณ์ในตัวเอง

ภูมิปัญญาท้องถิ่นเป็นพลวัตที่เปลี่ยนแปลงได้ตามสภาวะแวดล้อม กาลเวลา และกระแสวัฒนธรรมใหม่ จึงต้องมีแนวทางในการจัดการภูมิปัญญาท้องถิ่นให้คงอยู่ให้เหมาะสมกับยุคสมัยดังนี้

2.7.1 การอนุรักษ์ (conservation) เพื่อให้ภูมิปัญญาที่มีคุณค่าต่อชุมชน ให้คงอยู่ต่อไป เช่น การอนุรักษ์ประเพณี วัฒนธรรมที่เป็นเอกลักษณ์ของแต่ละท้องถิ่น สามารถสร้างเป็นแหล่ง

ท้องถิ่นของชุมชน และสร้างรายได้แก่คนในชุมชนได้ การอนุรักษ์ภูมิปัญญาจะเกิดขึ้นได้เมื่อชุมชนมีความภาคภูมิใจและเห็นความสำคัญ ต้องการสร้างคุณค่า ให้ปรากฏและสืบสานให้คงอยู่

2.7.2 การรื้อฟื้น (recovery) เพื่อให้ภูมิปัญญาท้องถิ่นที่มีความสำคัญหรือมีคุณค่า แต่หายไปแล้วถูกนำกลับมาใช้ใหม่ และมีโอกาสประยุกต์ให้ร่วมสมัยเพื่อใช้ประโยชน์ต่อไปได้ เช่น ลายผ้าทอพื้นบ้านที่เป็นเอกลักษณ์ท้องถิ่นหายไป เมื่อทำการค้นหา รื้อฟื้น และสร้างชิ้นงานใหม่ บนฐานภูมิปัญญาเดิม จะทำให้เกิดมูลค่าเพิ่มขึ้น

2.7.3 การประยุกต์ (modification) เพื่อให้ภูมิปัญญาท้องถิ่นนั้นเหมาะสมกับสภาวะแวดล้อมใหม่ แต่ยังคงไว้ซึ่งแนวคิดหรือฐานความรู้เดิม เช่น หัตถกรรมจากไม้ไผ่สานนำมาประยุกต์ใหม่ โดยการใช้ฝักตบขวาที่เป็นวัสดุพื้นบ้านมาใช้ประโยชน์ภายใต้ภูมิปัญญาท้องถิ่นเดิมพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์ก่อให้เกิดรายได้

2.7.4 การพัฒนาต่อยอด (development) เพื่อให้เกิดการใช้ประโยชน์ได้กว้างขึ้น โดยการผสมผสานองค์ความรู้สากลเข้ากับภูมิปัญญาเดิมเป็นการสร้างทางเลือกที่ช่วยให้ใช้ประโยชน์ในสังคมปัจจุบันได้สะดวกขึ้น โดยไม่ทำลายคุณค่าเดิม เช่น ในด้านการย้อมผ้า มีการพัฒนาสีย้อมจากธรรมชาติโดยพัฒนาเป็นผงสำเร็จรูปและมีการรื้อฟื้นวิธีการย้อมที่ง่ายกว่าวิธีดั้งเดิม ด้านอาหารมีการผลิตปลาร้าผงปลาร้าก้อนที่สะดวกต่อการบริโภคและการพกพา ด้านสมุนไพรพื้นบ้าน มีการผลิตสมุนไพรในรูปแคปซูล ด้านตำรายาสมุนไพรมีการรวบรวมเป็นตำรา ซึ่งเป็นความรู้ที่สืบทอดกันมาในครอบครัวและชุมชน (จันทร์ทิรา เจียรณัย และคณะ, 2557) มีการนำมาบันทึกในสื่อออนไลน์เพื่อเผยแพร่ ซึ่งในบางท้องถิ่นยังมีหมอยาเป็นผู้ทำการรักษา แม้ว่าในปัจจุบันจะมีการรักษาด้วยวิธีการทางการแพทย์ แต่การรักษาแบบการแพทย์แผนไทยซึ่งใช้ยาสมุนไพรเป็นหลักยังได้รับความนิยมอย่างมากในระดับท้องถิ่น (ไพฑูรย์ พงศบุตร, 2542) แสดงตำรายาสมุนไพรชาวบ้านในภาพประกอบที่ 16



ภาพประกอบที่ 16 ตำรายาสมุนไพรชาวบ้าน
(ไพฑูรย์ พงศบุตร, 2542)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kakkara et al. (2017) รายงานการศึกษานโยบายอนุรักษ์ท้องถิ่นในประเทศอินเดียที่มีการใช้กระทงลาย (*Celastrus paniculatus* Willd.) ในการรักษาแบบพื้นบ้าน ทั้งหมด 42 พื้นที่ ได้วิเคราะห์สถานการณ์อนุรักษ์ในแต่ละพื้นที่ จำแนกสถานะการอนุรักษ์ตามระดับความรุนแรงของกระทงลายดังนี้

วิกฤต (critical)	1	พื้นที่
สถานะอันตราย (endangered)	6	พื้นที่
เสี่ยงสูญพันธุ์ (vulnerable)	21	พื้นที่
คุกคาม (threatened)	2	พื้นที่
ใกล้คุกคาม (near Threatened)	6	พื้นที่
มีความเสี่ยงน้อย (least concerned)	4	พื้นที่
สิ่งมีชีวิตถิ่นเดียว (endermic)	1	พื้นที่
ปกติ (common)	1	พื้นที่

และมีการจัดจำแนกการใช้ประโยชน์จากกระทงลายในแต่ละพื้นที่ พบว่ามีการใช้เมล็ด (seed) ในการรักษามากที่สุด มีการนำไปรักษาโรคเกี่ยวกับไขข้อ (rhummatism) โรคหืด (asthma) โรคอัมพฤกษ์ อัมพาต (paralysis) โรคเรื้อน (leprosy) โรคหิด (scabies) จากผลการศึกษาผู้วิจัยได้นำข้อมูลพื้นที่ที่มีรายงานการใช้ประโยชน์มาลงรายละเอียดในแผนที่ด้วยโปรแกรม Quantum GIS ซึ่งเป็นข้อมูลที่สมบูรณ์สำหรับสืบค้นการใช้กระทงลายในการรักษาแบบพื้นบ้านของท้องถิ่นในประเทศอินเดีย

Younus (2015) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากกระทงลาย (*C. paniculatus* Willd.) และมีข้อมูลบันทึกในตำราอายุรเวช ตำรายาสมุนไพรอินเดีย กล่าวว่าต้นกระทงลาย (*C. paniculatus* Willd.) คือต้นไม้แห่งชีวิต (tree of life) เนื่องจากเป็นต้นไม้ที่สามารถนำเอาน้ำมันจากเมล็ดของพืชมาใช้ในการรักษาได้หลากหลายในระบบสมอง เช่น ช่วยในการทำให้มีความจำที่ดี สามารถนำน้ำมันไปใช้กับผู้ป่วยจิตเภทเพื่อการผ่อนคลาย หมอยาพื้นบ้านที่ฮิมาลายา (Himalayan folk medicines) รายงานว่าสามารถใช้กระทงลายในการรักษาหลายโรคเช่นโรคเกาต์ โรคเกี่ยวกับไขข้อ ท้องเสีย ภูเก็ตบาดแผล น้ำจากผลของกระทงลายใช้เป็นยาในการบำรุงหัวใจ ชาวบ้านในตำบล Haridwar รัฐ Uttaranchal ได้มีการใช้ผงรากในการรักษาเนื้องอก ประชาชนในตำบล Chhindwara และ Betul มีการใช้รากบดละเอียดและนำมาต้มกับเมล็ดนำมารักษาโรคไขข้อ (rhematism) ชนชาวเผ่าในตำบล

Rewa โดยเฉพาะชาวเผ่า Baiga มีการใช้เปลือกลำต้นโดยนำมาบดจนเป็นผงผสมกับนมวัวต้มเป็นระยะเวลา 1 เดือน ใช้ในการรักษาโรคตกขาว (leucorrhoea) ชาวเผ่า Gujarat ได้นำน้ำมันจากเมล็ดทาบบริเวณที่เกิดอาการของโรคเก๊าท์และไขข้อ ในรัฐ Gujarat ใช้ น้ำมันจากเมล็ดในการดูแลรักษาและบำรุงผม ทำให้ผมนุ่ม เงางาม ผู้ชายสมุนไพรในอินเดียตอนใต้ใช้น้ำมันจากเมล็ดของกระทงลายในการรักษาแผล ชาว Vilaiyan ที่อาศัยใน Karandamalai ใน South Eastern Ghats ของรัฐ Tamilnadu นำน้ำต้มของเปลือกไม้กระทงลายต้มเมื่อท้องว่างเป็นระยะเวลา 7 วัน มีฤทธิ์ในการทำให้แห้ง ในประเทศไทยหมอยาพื้นบ้านใช้น้ำมันในการรักษาอาการไข้ ส่วนราก ลำต้นและใบใช้ในการรักษาโรคบิด ท้องเสีย และอาการไข้ ในประเทศจีนใช้กระทงลายเป็นยาฆ่าแมลงและใช้ในการบรรเทาอาการไข้ ไขข้อรูมาตอย และการติดเชื้อแบคทีเรีย

Raju & Prasad (2007) ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของกระทงลาย (*Celastrus paniculatus* Willd.) จากการเก็บตัวอย่างใบของกระทงลายที่ถูกทำให้แห้งในซิลิกาจากพื้นที่ 10 แห่งในรัฐ Andhra Pradesh ประเทศอินเดีย ด้วยวิธี random amplified polymorphic DNA (RAPD) โดยการประยุกต์ใช้ CTAB (hexadecyl trimethylammonium bromide) ในการสกัดดีเอ็นเอ พบวิธีการนี้ได้ดีเอ็นเอที่มีความบริสุทธิ์สูง สร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ด้วยวิธีการจัดกลุ่มแบบ UPGMA (Unweighted pair-group method with arithmethical averages) โดยใช้โปรแกรม NTSYS (numnerical taxonomy and multivariate analysis system, biostatics, New York, USA.) แยกความสัมพันธ์ของกระทงลายเป็นกลุ่มประชากรที่มีขนาดเล็กได้ 3 กลุ่ม

Mu et al. (2017) ศึกษาการใช้เทคนิคทางอณูชีวโมเลกุลในการจำแนกพืชสมุนไพร ในวงศ์ *Celastraceae* วงศ์กระทงลายของจีน *Celastrus* sp. และ *Tripterygium* sp. โดยเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรจาก National nature reserves และ Herbarium of Taiwan forestry research institute (TAIF) ประเทศไต้หวัน โดยรวบรวมตัวอย่างพืชในวงศ์ *Celastrus* sp. จำนวน 20 สายพันธุ์ และ *Celastrus* sp. ที่ถูกจัดจำแนกใหม่ จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ *C. obovatifolius* และ *C. yuloensis* และ วงศ์ *Tripterygium* sp. จำนวน 2 สายพันธุ์ โดยใช้ DNA marker จากนิวเคลียสดีเอ็นเอ คือ ETS และ ITS และ DNA marker จากพลาสต์ดีเอ็นเอ 4 ยีน คือ *psbA-trnH* *rbcl* *rpl16* และ *trnL-F* โดยการสกัดดีเอ็นเอจากใบแห้งที่เก็บในซิลิกา ด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป นำไปเพิ่มปริมาณ ดีเอ็นเอ ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction) ในสภาวะ initial 94 องศาเซลเซียส เวลา 3 นาที ต่อด้วย 94 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที 50 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที 72 องศาเซลเซียส เวลา 60-70 วินาที จำนวน 32 รอบ และ extention ที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 นาที จากผลการศึกษาพบว่าในการจัดจำแนกต้องเมื่อนำข้อมูลของ DNA marker จากนิวเคลียสดีเอ็นเอ ETS และ ITS จะสามารถจัดจำแนกกลุ่มของพืชได้แตกต่างกันมากกว่า DNA marker จากส่วนอื่น ซึ่งเป็นข้อมูลที่สามารถนำมาพัฒนาหาความหลากหลายทาง

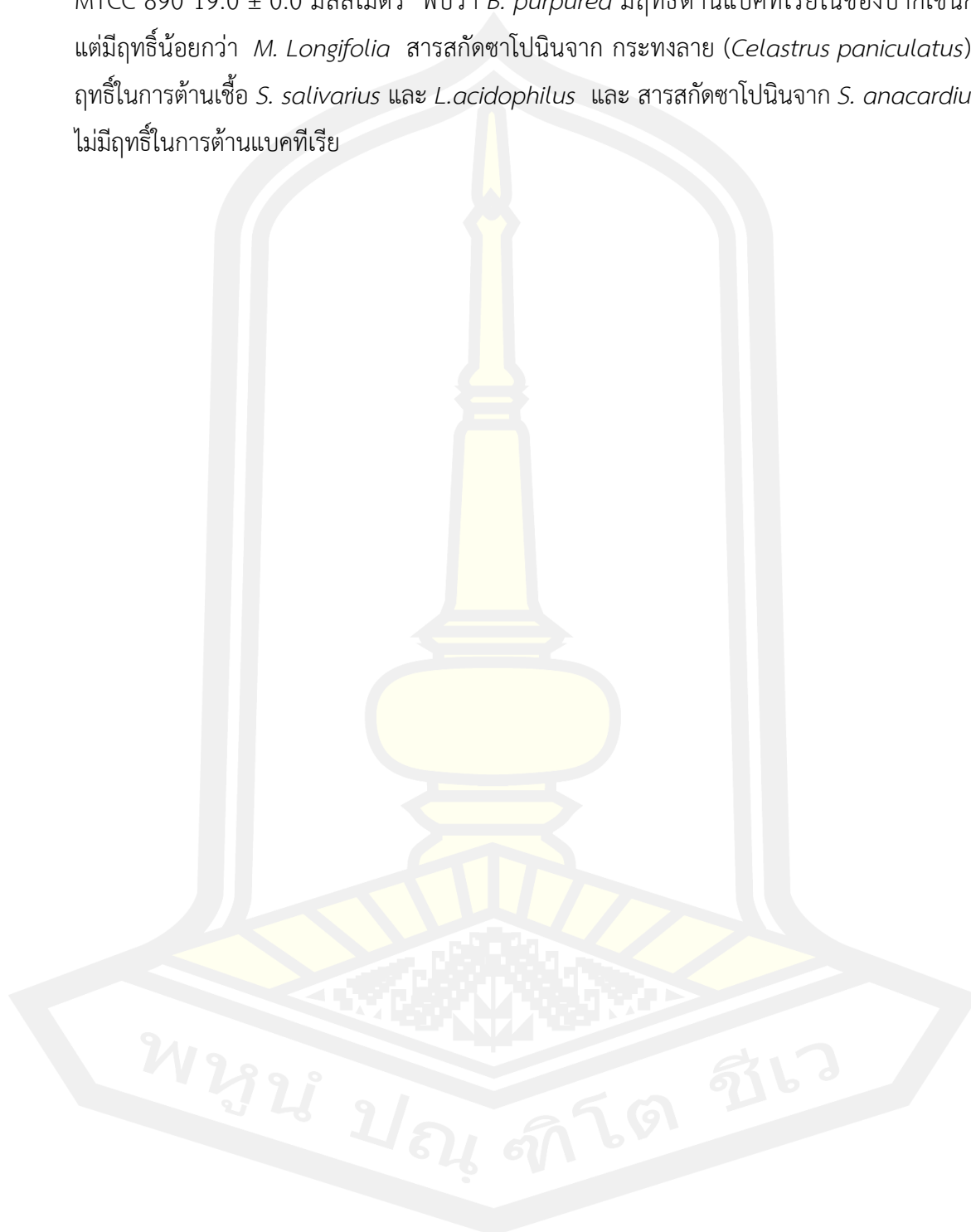
ชีวภาพของพืชในวงศ์ Celastraceae วงศ์กระถางลายของจีน *Celastrus* sp. และ *Tripterygium* sp.

K.A. et al. (2012) ศึกษาการใช้กระถางลายจากภูมิปัญญาพื้นบ้านของชาวเผ่า 4 เผ่า ประกอบด้วย ชาวเผ่า paniya adiya kaltunaikka และ kuruma ในเขต Kerala ของอินเดีย โดยการสำรวจความคิดเห็นจากชาวเผ่า 100 คน พบว่า มีการนำกระถางลายใช้ในการรักษาโรคและแบ่งเป็น 22 กลุ่มอาการที่มีการใช้กระถางลายในการรักษา เช่น ลดอาการเจ็บปวด ลดไข้ บำรุงโลหิต รักษาโรคเกาต์ ลดอาการเจ็บหน้าอก ลดการอักเสบ รักษาโรคผิวหนัง แก้พิษงูกัด เบาหวาน แก้โรคหอบหืด ลดอาการปวดข้อ รักษาอาการสูญเสียความทรงจำ เป็นต้น และพบว่ากลุ่มอาการที่ทั้งสี่เผ่าใช้ประโยชน์ในเชิงการรักษาอาการเจ็บปวดของร่างกายสูงที่สุดมีเพียงเผ่าเดียวคือ kuruma ที่ใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน และพบว่าทุกส่วนของกระถางลายสามารถนำมารักษาได้หลายโรค เช่น น้ำมันจากเมล็ดนำวนวดตามส่วนที่ปวดจะบรรเทาอาการเจ็บปวด ใช้น้ำคั้นจากใบสด 3 หยดในหุบบรรเทาอาการปวดหู และนำคั้นเปลือกต้นสดต้มปริมาณ 15 มิลลิลิตร ลดพิษของงูจงอาง

Harish et al. (2007) ได้สกัดสาร celapanin โดยการสกัดจากใบของกระถางลายที่เก็บจาก Bhadra Wild Life ในรัฐคาร์นาตาคา (Karnataka) ประเทศอินเดีย มาศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย 3 สกุล ที่เก็บตัวอย่างจากคนไข้ ประกอบด้วย *Staphylococcus aureus* *Klebsiella pneumonia* และ *Pseudomonas aeruginosa* จำนวนสกุลละ 9 สายพันธุ์ พบว่า celapanin ที่สกัดได้มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* มากที่สุด ในทุกสายพันธุ์ (Sa1-Sa9) แสดงค่าโซนใส (clear zone) มากที่สุดที่ 22.18 ± 0.30 มิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะมาตรฐาน ciprofloxacin 50 ไมโครกรัม ต่อ 100 ไมโครลิตร มีค่ามากกว่าทุกสายพันธุ์ ส่วน *K. pneumonia* และ *P. aeruginosa* แสดงค่าโซนใสในปริมาณที่น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะมาตรฐาน ciprofloxacin 50 ไมโครกรัมต่อ 100 ไมโครลิตร

Jyothi & Seshagiri (2012) ได้สกัดสารซาโปนิน (saponins) จาก *Bauhinia purpurea* *Madhuca Longifolia* *Celastrus paniculatus* (กระถางลาย) และ *Semecarpus anacardium* สกัดจากผงละเอียดของเมล็ดพืชแต่ละชนิดในตัวทำละลายเมทานอล นำสารละลายที่ได้ไปกรองผ่านคอลัมน์ sephadex LH-20 นำมาทดสอบความถูกต้องทางพิษเคมีด้วยวิธีรังคเลขผิบบาง (thinlayer chromatography) เพื่อทดสอบหาสารซาโปนิน นำสารสกัดซาโปนินที่ได้มาทดสอบการออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในช่องปากด้วยวิธี agar well plate diffusion เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบมี 6 สายพันธุ์ ประกอบด้วย *Streptococcus mitis* MTCC 2696 *S. salivarius* MTCC1938 *S. mutans* MTCC 890 *S. aureus* MTCC 96 *S. mutans* MTCC 479 และ *Lactobacillus acidiphilus* MTCC 447 พบว่าสารสกัดซาโปนินจาก *M. Longifolia* *B. purpurea* และ มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย สารสกัดซาโปนินจาก *M. longifolia* มีฤทธิ์ต้าน

Lactobacillus sp. 22.0 ± 0.0 มิลลิเมตร *S. salivarius* 21.0 ± 0.0 มิลลิเมตร และ *S. mutans* MTCC 890 19.0 ± 0.0 มิลลิเมตร พบว่า *B. purpurea* มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในช่องปากเช่นกัน แต่มีฤทธิ์น้อยกว่า *M. Longifolia* สารสกัดชาโพนินจาก กระทงลาย (*Celastrus paniculatus*) มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *S. salivarius* และ *L. acidophilus* และ สารสกัดชาโพนินจาก *S. anacardium* ไม่มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย



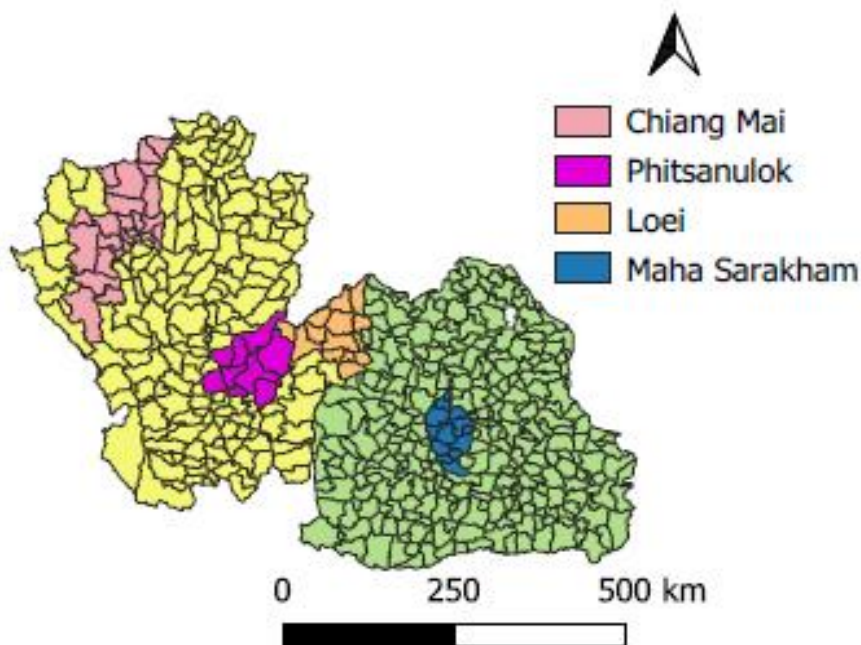
บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1.1 การเก็บ รวบรวม การสำรวจและการวิเคราะห์ มีรายละเอียดดังนี้

3.1.1.1 สำรวจและเก็บรวบรวมงผลกระทงลายจากพื้นที่ 4 จังหวัด ในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ พิจนุโลก เลยและมหาสารคาม ในเดือน มกราคม 2562-พฤศจิกายน 2563 ทำการบันทึกข้อมูลพื้นที่ที่พบต้นกระทงลาย จัดบันทึกข้อมูลพิกัด ทางภูมิศาสตร์ ความชื้นของดิน อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์และความเข้มแสง ในกรณีพบพื้นที่สำรวจมี ผลกระทงลาย จึงทำการเก็บผลแก่ในช่วงเดือนสิงหาคม-พฤศจิกายน โดยนำผลแก่ใส่ในถุงพลาสติกที่ สะอาดเพื่อรอการสกัดในขั้นตอนต่อไป แสดงพื้นที่สำรวจและเก็บกระทงลายในภาพประกอบที่ 17



ภาพประกอบที่ 17 พื้นที่สำรวจและเก็บตัวอย่างกระทงลาย

3.1.1.2 เก็บรวบรวมข้อมูลการใช้กระทงลายจากข้อมูลของปราชญ์ชาวบ้าน
ฐานข้อมูลงานวิจัยและสื่อออนไลน์

3.1.1.3 จัดทำข้อมูลการใช้ประโยชน์กระทงลายในท้องถิ่น

3.1.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดกระทงลาย

รวบรวมข้อมูลตัวอย่างกระทงลายจากแหล่งศึกษา โดยบันทึกข้อมูลลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดกระทงลายได้แก่ น้ำหนัก ความกว้าง และความยาวของเมล็ด เพื่อหาค่าเฉลี่ยของเมล็ดกระทงลายในแต่ละพื้นที่

3.1.3 การสกัด genomic DNA จากยอดอ่อนกระทงลาย

3.1.3.1 สกัดดีเอ็นเอ (Genomic DNA) จากใบยอดอ่อน (juvenile leaves) ของกระทงลาย ด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป (RBC Genomic DNA Kits YGP50, England, UK) มีวิธีการดังนี้

นำใบยอดอ่อนกระทงลายประมาณ 100 มิลลิกรัม มาบดด้วยไนโตรเจนเหลวในโถรงบดให้ละเอียดและนำมาใส่ในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ (microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายบัฟเฟอร์ GP1 ปริมาตร 400 ไมโครลิตร และ *RNase A* ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer) (ห้ามผสม GP1 และ *RNase* ไว้ก่อน) นำไปบ่มที่ 65 องศาเซลเซียสโดยใช้เครื่อง shaking heat block เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในขณะที่บ่มตัวอย่างให้นำ elution buffer มาอุ่นที่ 65 องศาเซลเซียส (เพื่อใช้ในการชะเอาดีเอ็นเอในขั้นตอนสุดท้าย) หลังจากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์ GP2 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มในน้ำแข็ง 3 นาที จากนั้นนำตัวอย่างที่ละลายแล้วไปลงในคอลัมน์กรอง (Filter Column) นำไปปั่นเหวี่ยง 14,000 รอบ/นาที เป็นเวลานาน 3 นาที นำส่วนใส (supernatant) ที่ได้ใส่ในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติม 1.5 เท่าของสารละลาย GP3 ลงในสารละลายดีเอ็นเอที่สกัดและผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย ดูดสารละลายที่ได้ใส่ลงในคอลัมน์สำหรับดูดซับดีเอ็นเอ (GD Column) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที ทำการล้างดีเอ็นเอด้วยการเติมสารละลายบัฟเฟอร์ W1 ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ลงในคอลัมน์ นำไปปั่นเหวี่ยง 14,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 วินาที ที่ซึ่งส่วนสารละลายเติมสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับล้างดีเอ็นเอ (Wash Buffer) ปริมาตร 600 ไมโครลิตรลงในคอลัมน์ นำไปปั่นเหวี่ยง 14,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 วินาที ที่ซึ่งส่วนสารละลาย นำคอลัมน์ไปปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ 14,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 3 นาที เพื่อทำให้คอลัมน์เมตริกแห้ง หลังจากนั้นนำคอลัมน์ใส่ในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร อันใหม่ เติมสารละลายสำหรับชะล้างดีเอ็นเอออกจากคอลัมน์ (elution buffer) ลงในคอลัมน์ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ที่งัว 3-5 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที ที่ซึ่งคอลัมน์และนำตัวอย่างดีเอ็นเอไปเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้การการศึกษาขั้นต่อไป

3.1.3.2 การวัดความเข้มข้นและความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ

นำผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอปริมาณ 2 ไมโครลิตร หยดลงบนแผ่นวัดค่าของเครื่องวัดปริมาณความเข้มข้นสารพันธุกรรม (nanodrop spectrophotometer) เครื่องจะวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอในหน่วยนาโนกรัมต่อไมโครลิตร (ng/ μ l) และค่าความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอมีค่า ratio (260/280) อยู่ในช่วง 1.7-1.9

3.1.3.3 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (polymerase chain reaction ; PCR)

นำดีเอ็นเอที่สกัดแล้วเป็นดีเอ็นเอต้นแบบ (template) เพื่อใช้ในการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ 2 ตำแหน่ง ได้แก่ internal transcribed spacers (ITS) ที่อยู่บนไรโบโซมดีเอ็นเอ (ribosomal DNA) และ ยีน *rbcl* ที่อยู่ในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส โดยมีลำดับนิวคลีโอไทด์ดังแสดงในตารางที่ 4

โดยในปฏิกิริยาของพีซีอาร์ มีส่วนประกอบของสารต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 5 โดยใช้สภาวะในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (PCR condition) ดังตารางที่ 6 เมื่อได้ผลผลิตพีซีอาร์แล้วนำไปตรวจสอบดีเอ็นเอต่อไป

ตารางที่ 4 ลำดับนิวคลีโอไทด์ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับยีน ITS และ *rbcl*

ไพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ (5'-3')	อ้างอิง
ITS-F	AGAAGTCGTAACAAGGTTTCCG	Wonnapijij, P., & Sriboonlert, A. (2015)
ITS-R	TCCGCTTATTGATATGCTTAAA	Wonnapijij, P., & Sriboonlert, A. (2015)
<i>RbcL</i> -F	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC	
<i>RbcL</i> -R	GCAGCAGCTAGTTCCGGGCTCCA	(Hasebe et al. 1994, Asahina et al.2010)

ตารางที่ 5 ส่วนประกอบและปริมาตรของสารต่อ reaction volume ในการทำพีซีอาร์

Component	Final concentration	volume/reaction
10X DNA buffer	1X	2.5 μ l
2.5mM dNTP mixture	0.2 mM	2 μ l
Primers forward, reverse	0.4 μ M	1 μ l
TaKaRa Ex Taq (5 units/ μ l)	1.25 unit/ 50 ul	0.125 μ l
Deionized water μ l	-	16.375
DNA template	-	2 μ l
Total volume	-	25.0 μ l

ตารางที่ 6 การตั้งโปรแกรมในขั้นตอนของกระบวนการทำพีซีอาร์ (PCR)

กระบวนการ	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา
Initial denature	94°C	5 นาที
Denature	94°C	0.30 นาที
Annealing	50-55°C	0.40 นาที
Extention	72°C	1 นาที
Final extention	72°C	7 นาที

3.1.3.4 การตรวจสอบดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (Gel Electrophoresis)

นำผลผลิตพีซีอาร์ ที่ได้มาตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส บนเจลอะกาโรส (agarose gel) โดยมีขั้นตอนดังนี้ ชั่งเจลอะกาโรส 1 มิลลิกรัม สำหรับเตรียมเจลอะกาโรส ความเข้มข้นร้อยละ 1 ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมน้ำละลาย 1x TBE buffer 100 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน นำเข้าเตาไมโครเวฟ (microwave, R-236;Sharp) เพื่อละลายเจลอะกาโรส เมื่อเจลอะกาโรสเย็นลงที่อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส จึงเทลงในภาชนะที่เสียบหัวเจลตามขนาดที่ต้องการเตรียมไว้ ตั้งไว้ให้เจลอะกาโรสแข็งตัวใช้เวลา 30 นาที และวางภาชนะเจลอะกาโรสที่เตรียมลงในกล่องเจลและเติมน้ำละลาย 0.5x TBE buffer ให้ท่วมเหนือเจลอะกาโรส 2 มิลลิลิตร โหลดตัวอย่างปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายสี (Loading dye) ปริมาตร 5 ไมโครลิตร หยอดลงในช่องเจล (Well) จนครบ โดยเปรียบเทียบกับ marker (100 bp plus Ladder) จากนั้นปล่อยกระแสไฟฟ้าที่มีขนาดแรงดัน 100 โวลต์ เป็นเวลา 40 นาที หลังจากนั้นนำแผ่นเจลมาส่องดูภายใต้เครื่อง MBE-150 Model (Major Science, Taiwan) บันทึกภาพเก็บไว้ และตัดเจล บริเวณที่มีชิ้นดีเอ็นเอขนาดที่ต้องการใส่ลงในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

3.1.3.5 การเตรียมดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์จากเจล

นำชิ้นเจลที่ตัดไว้ในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร มาแยกดีเอ็นเอให้บริสุทธิ์โดย E.Z.N.A.® Gel Extraction Kit (Omega, USA) โดยมีขั้นตอนดังนี้ เติมน้ำ Binding Buffer (XP2) ปริมาตร 350 ไมโครลิตร ลงในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่มีชิ้นส่วนเจลอยู่ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 นาที หรือจนกว่าเจลจะละลาย กลับหลอดไปมาทุกๆ 5 นาที เมื่อเจลละลายใช้ไมโครปิเปต ดูดเจลที่ละลายแล้วใส่ลงใน HiBind® DNA Mini Column ขนาด 2 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที นำ collection tube ที่มีส่วนใส่ทิ้ง และสวมใน collection tube อันใหม่ เติมน้ำ SPW Wash Buffer 700 ไมโครลิตร และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที (ปั่น 2 ครั้ง) จากนั้นย้ายส่วนของ HiBind® DNA Mini Column ขนาด 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดไมโครเซ็นตริฟิวก์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่ ขั้นตอนสุดท้ายเติม elution buffer 25 µl บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1

นาที่ คูดสารละลายใส (ดีเอ็นเอบริสุทธิ์) ใส่ลงในหลอดไมโครเซ็นทริฟิวก์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดใหม่ เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

3.1.3.6 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

ตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน ITS และ *rbcl* ในกระถางลาย โดยนำผลผลิตจากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอไรเซชันที่ผ่านการทำดีเอ็นเอบริสุทธิ์จากเจลส่งวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอด้วยวิธี dideoxynucleotide chain termination method โดยใช้ Dye Primer และ Dye Terminator Cycle sequencing kits (Applied Biosystem Inc., Foster City, CA) วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง ABI DNA sequencer 373A จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาตรวจสอบลักษณะและคุณภาพของลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยใช้โปรแกรม ABI sequence scanner software v1.0 แล้วนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์เทียบเคียงลำดับเบส (alignment) บริเวณ ITS และ *rbcl* และพืชที่ใช้อ้างอิง (out group) นำผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogenetic tree) โดยใช้หลักการของ maximum likelihood (ML) ด้วยโปรแกรม MEGA version X (Kumar et al, 2018) โดยใช้ผลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่วิเคราะห์จากการศึกษาครั้งนี้ รวมทั้งลำดับนิวคลีโอไทด์ของกระถางลายชนิดอื่นๆ ที่พบทั่วโลกที่อยู่ในฐานข้อมูล GenBank

3.1.4 การสกัดสารจากเมล็ดกระถางลาย

3.1.4.1 สกัดโดยวิธีใช้ความร้อนตามภูมิปัญญาพื้นบ้าน

- 1) แกะเปลือกแห้งของผลกระถางลายทิ้ง
- 2) นำเมล็ดมาตำให้ละเอียด
- 3) นำเมล็ดไปนึ่งโดยควบคุมอุณหภูมิ 3 ระดับคือ
 - 3.1) อุณหภูมิระดับ 100 องศาเซลเซียส 20 นาที พรมน้ำสะอาด 1 แก้ว นึ่งต่อจนครบ 30 นาที
 - 3.2) ระดับอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 15 นาที
 - 3.3) ระดับอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 30 นาที
- 4) นำเมล็ดกระถางลายแต่ละระดับความร้อนใส่ในเครื่องหีบน้ำมัน
- 5) เก็บน้ำมันที่ได้ใส่ขวดสะอาด รอการทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3.1.5 การตรวจสอบเอกลักษณ์เบื้องต้นทางเคมีด้วยวิธีรังคเลขผิบบาง (Thin layer chromatography, TLC)

3.1.5.1 การทดสอบหาสารพิษเคมีเบื้องต้น (อุทยานธรรมชาติวิทยาสิริรุกขชาติ, 2544)

- 1) อัลคาลอยด์ (alkaloid) (Yadav et al, 2015)
 - (ก) Dragendorff's test ดูดน้ำมันตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตรและ

หยดสารละลาย dragendorff's reagent ผลบวกจะเกิดตะกอนสีส้ม น้ำตาล

(ข) mayer's test ดูดน้ำมันตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตรและหยด

สารละลาย Mayer's reagent ผลบวกจะเกิดตะกอน

(ค) hager's test ดูดน้ำมันตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตรและหยด

สารละลาย Hager's reagent ผลบวกจะเกิดตะกอนสีเหลือง

(ง) wagner's test ดูดน้ำมันตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตรและหยด

สารละลาย Wagner's reagent ผลบวกจะเกิดตะกอนสีน้ำตาลแดง

2) ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) mod. (Alamgir, 2018)

ดูดสารสกัด 5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 10 เปอร์เซ็นต์ เอทิลอซีเตท
ต้มให้เดือด 3 นาที และรอให้เย็นจึงนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

(ก) ammonia test

เติมสารละลายแอมโมเนีย 1 เปอร์เซ็นต์ 1 มิลลิลิตรลงใน

สารสกัดที่เตรียมไว้ เมื่อหยดแอมโมเนียจะแยกชั้น หากมีสีเหลืองคือมีฟลาโวนอยด์

3) แทนนิน (tannin)

ดูดสารสกัด 5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 45 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล 5
นาที ต้มให้เดือดและรอให้เย็น และนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

(ก) ferric chloride test

ดูดสารสกัดที่เตรียมไว้ 0.5 มิลลิลิตร และเติมน้ำ 1 มิลลิลิตร

และหยดสารละลาย 1% ferric chloride ผลบวก คือ มีสีเขียวเข้มถึงดำ

(ข) lead subacetate

ดูดสารสกัดที่เตรียมไว้ 0.5 มิลลิลิตร และหยดสารละลาย

lead acetate 3 หยด ผลบวกคือการตกตะกอนและเหนียว

4) เทอร์ปีนอยด์ (terpenoid)

(ก) salkowski test

ผสมสารสกัด กับ คลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร และเติม

กรดซัลฟูริก 3 มิลลิลิตร ผลบวก จะมีสีน้ำตาลแดงที่ผิวของสารละลาย

3.1.5.2 การตรวจสอบ TLC Fringerprint

1) เตรียมสารสกัดตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 1 g/ml (V/V) ด้วยเอทานอล
เขย่า เป็นเวลา 10 นาที นำไปใช้ในการทำ TLC โดยมีรายละเอียดระบบการทำ TLC คือ

วัฏภาคคงที่ (stationary phase) : Activated Silicagel G

สารที่ใช้ในการอ่านค่า (Detecting agent) : Iodine vapour

วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) :

Benzene: Chloroform: Ethyl acetate (80: 10: 10)

5) นำไปหยดสารด้วยเครื่อง densitometer

6) ตรวจสอบ TLC Chromatogram ด้วย UV Box

3.1.5.3 การตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโตรเมตรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบอินทรีย์ โดยนำตัวอย่างน้ำมันที่ให้ผลบวกกับการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ และตัวแทนของน้ำมันสกัดจากแต่ละแหล่ง รวม 4 ตัวอย่างมาวิเคราะห์หาสารประกอบอินทรีย์ประเภทต่างๆ โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโตรเมตรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS)

สภาวะของเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์สารสกัดน้ำมันจากกระถางลายด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี/แมสสเปกโตรเมตรี ยี่ห้อ PerkinElmer® รุ่น Claus 680 (GC) Clarus SQ8C (MS) ใช้คอลัมน์ Elite-5 MS 30 meter x 0.32 mmID x 0.25 μ m

3.1.6 การเตรียมสารสกัด (Jyothi & Seshagiri, 2012; ภิขณิ วิจันติก และมารุต ตั้งวัฒนาชูลีพร, 2561)

นำสารสกัดที่ได้มาละลายใน absolute ethanol จนได้สารละลายสารสกัดมีความเข้มข้น 50 และ 25 เปอร์เซ็นต์ เก็บในขวดสีชา ก่อนการทดสอบ

3.1.7 การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคด้วยวิธี agar diffusion (Mod. Jyothi & Seshagiri, 2012)

3.1.7.1 เพาะเลี้ยงเชื้อทดสอบ 24 ชั่วโมง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ mueller hinton agar (MHA) ยกเว้น *P. acnaes* เลี้ยงใน BHI agar

3.1.7.2 นำมาปรับระดับความขุ่นของเชื้อให้เท่ากับ Mcfarland No. 0.5

3.1.7.3 ป้ายเชื้อโดยใช้ไม้พินสำลีปราศจากเชื้อลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.7.4 ใช้ stainless cock borer ที่ปราศจากเชื้อเจาะลงบนผิวหน้าอาหาร

3.1.7.5 หยอดสารสกัดที่เตรียมในข้อ 3.1.6 ลงในหลุมที่เจาะรูไว้ ปริมาตร 50

ไมโครลิตร

3.1.7.6 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง ยกเว้น *P. acnaes* บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง สภาวะไร้ออกซิเจน

3.1.7.7 อ่านผลการทดลอง โดยค่าที่อ่านได้เส้นผ่านศูนย์กลางต้องมากกว่า 0.8 เซนติเมตร

3.1.8 การหาปริมาณความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพที่น้อยที่สุดที่สามารถมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (MIC, minimum inhibitory concentration) (กัญญา แปลงโฉม และพรพิมล กาญจนวาศ, 2558)

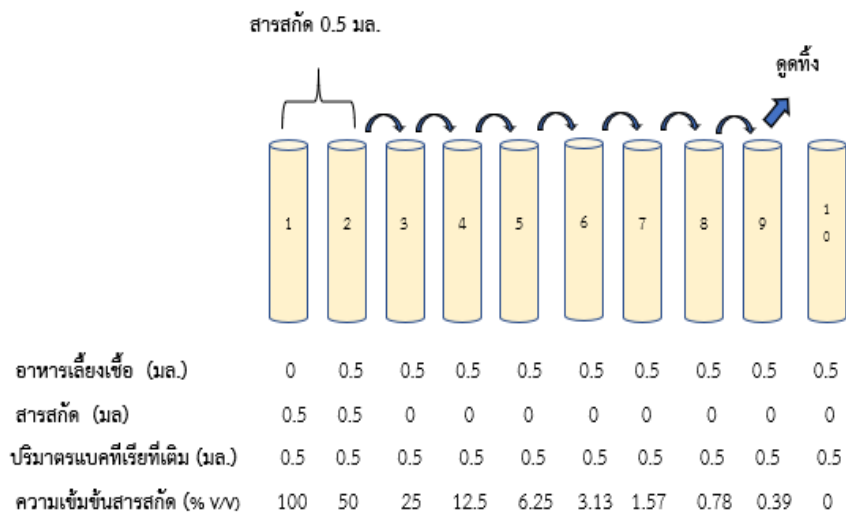
3.1.8.1 เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหาร MHB สำหรับทดสอบเชื้อ *S. aureus*, *B. cereus* และ *E. coli* บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI ผสมกลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์ สำหรับทดสอบ *P. acnaes* บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สภาวะไร้ออกซิเจน

3.1.8.2 เจือจางเชื้อให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 0.05 McFarland

3.1.8.3 เติมสารสกัดน้ำมันกระทูลายในหลอดที่ 1 และ 2 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ MHB ผสม tween 80 ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร สำหรับทดสอบเชื้อ *S. aureus*, *B. cereus* และ *E. coli* และอาหารเลี้ยงเชื้อ BHI เติมกลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์ ผสม tween 80 ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ สำหรับทดสอบ *P. acnaes* และ เริ่มเจือจางสารสกัดจากหลอดที่ 2 จนถึงหลอดที่ 9 ให้ลดลงแบบลดลำดับสอง (two-fold) เมื่อผสมให้เข้ากันให้ดูดสารละลายในหลอดที่ 9 ทิ้งไป 0.5 มิลลิลิตร หลอดที่ 10 เป็นหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ และเชื้อจุลินทรีย์อย่างละ 0.5 มิลลิลิตร

3.1.8.4 นำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง ยกเว้น *P. acnaes* บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง สภาวะไร้ออกซิเจน

3.1.8.5 ตรวจสอบผลการหาค่า MIC โดยสังเกตหลอดที่มีความเข้มข้นน้อยที่ไม่มีการเจริญของแบคทีเรียหรืออาหารเพาะเชื้อในหลอดไม่ขุ่น อ่านความเข้มข้นของสารทดสอบเป็นค่า MIC คือปริมาณความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพที่น้อยที่สุดที่สามารถมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (MIC, minimum inhibitory concentration) แสดงการหาปริมาณความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพที่น้อยที่สุดที่สามารถมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ดังภาพประกอบที่ 17

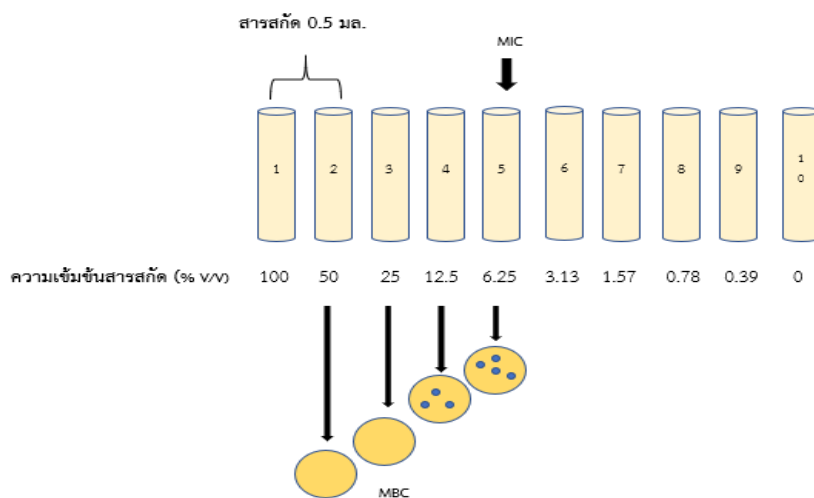


ภาพประกอบที่ 17 การหาปริมาณความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพที่น้อยที่สุดที่สามารถมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

3.1.9 การหาปริมาณความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพน้อยที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ 99.9 % (MBC, minimum bacteriocidal concentration)

ใช้ห้วงเพาะเชื้อถ่ายเชื้อจากหลอดที่ไม่มี ความขุ่นจากการทดสอบหาค่า MIC ลากบนผิวหน้าอาหารเพาะเชื้อ MHA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ยกเว้น ยกเว้น *P. acnaes* ลากบนผิวหน้าอาหาร BHI ผสมกลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง สภาวะไร้ออกซิเจน อ่านผลโดยพิจารณาความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อได้โดยจะสังเกตไม่พบการเจริญของแบคทีเรีย บนจานอาหารเพาะเชื้อ แสดงภาพการหาปริมาณความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพน้อยที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ 99.9 % (MBC, minimum bacteriocidal concentration) ดังประกอบที่ 18

พหุ มณฑล ชีวะ



ภาพประกอบที่ 18 การหาปริมาณความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพน้อยที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ 99.9 %

3.2. เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 เครื่องมืออุปกรณ์การปฏิบัติการ

1. เครื่องวัดความเป็นกรด ต่าง (pH meter) รุ่น MP220 (Mettler toledo, Switzerland)
2. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (incubator) รุ่น B6760 (Heraeus Instrument Germany)
3. หม้อนึ่งความดันสูง (autoclave) รุ่น Tomy ES315 (Tomy SEIKO Co,ltd. Japan)
4. ตู้อบลมร้อน (hot air oven) รุ่น T6200 (Heraeus Instrument Germany)
5. ตู้เขี่ยและถ่ายเชื้อ (laminar air flow) รุ่น HBB 2460 (HoltenLamin Air Denmark)
6. เครื่องวัดความเข้มข้นของสารเคมี (spectrophotometer) รุ่น SpectroGenesys Scanning (Thermo Electron corporation United State)
7. ตู้ควบคุมอุณหภูมิต่ำ (refrigerator) รุ่น S24 (Sharp Thailand)

8. เครื่องผสมสารเคมี (vortex mixer) รุ่น UX100 (Labnet Company, Inc.USA)
9. เตาแม่เหล็กให้ความร้อน (magnetic stirrer hot plate) Torrey Pines (Scientific United State)
10. เครื่องดูดสารปริมาตรน้อย (auto pipette) Gilson pipette man (Gilson USA)
11. เครื่องดูดจ่ายสารเคมี (dispenser) Optifix Basic and Solvents (Sigma-aldrich USA)
12. เครื่องดูดสารด้วยไปเปตแบบอัตโนมัติ (pipette aids) Powerpette Jencons (Scientific Ltd. UK)
13. เครื่องวิเคราะห์สารด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีที่ผิวบาง (Comag densitometer)
14. เครื่องตรวจโครมาโตแกรมด้วยแสงอุลตราไวโอเล็ต (UV Box)
15. เครื่องชั่ง (balance) รุ่น PB303-L (Mettler toledo Switzerland)
16. เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (shaking water bath) รุ่น Labnet 5050 (Labnet Company Inc. USA)
17. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) รุ่น Allera X-15R Centrifuge (Beckman coulter USA)
18. เครื่องปั่นเหวี่ยงสำหรับหลอดขนาดเล็ก (centrifuge) รุ่น Universal 32R (Hettich Germany)
19. เครื่องเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ (PCR) รุ่น Veriti 96 Well Thermo cycle (AB Applied Biosystems Life technologies holding Pte Ltd USA)
20. กล้องจุลทรรศน์ (microscope) รุ่น Elipse E200 (Nikon Japan)
21. เครื่องอ่านเจล SafeBlue illuminator System, MBE-150 Model (Major Science, Taiwan)
22. เครื่อง run gel รุ่น Biorad power HC (Biorad USA)

23 เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS)

24. จานอาหารเลี้ยงเชื้อ (petridish) ยี่ห้อ Pyrex (Pyrex USA)
25. หลอดทดลอง (test tube) ยี่ห้อ Pyrex (Pyrex USA)
26. หัวถ่ายเชื้อ (loop) Local Thailand
27. แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยม (spreader) Local Thailand
28. หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง (conical centrifuge tube) ยี่ห้อ SPL (life science Korea)
29. หลอด PCR (PCR tube) ยี่ห้อ GExtragen (Extra gene Inc USA)
30. หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยงขนาดเล็ก (micro centrifuge tube) ยี่ห้อ GSP (GSP Quality Scientific Plastic, USA)
31. BD gas pack™ EZ anaerob container system ยี่ห้อ BD (Becton, Dickinson and Company, USA)

3.2.2 เครื่องมือ อุปกรณ์ในการสำรวจและรวบรวมตัวอย่าง

1. แผนที่ภูมิประเทศ
2. เครื่องมือกำหนดพิกัดตำแหน่งบนพื้นโลก (global position system: GPS)
3. อุปกรณ์สนาม ได้แก่ เทปริงวัด สายวัด เชือกฟาง สมุดจดบันทึกภาคสนาม (field note)
4. กล้องถ่ายรูป
5. เครื่องคอมพิวเตอร์สำหรับรวบรวมข้อมูล ประมวลผล และทำรายงาน
6. เครื่องพิมพ์ผล

3.2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. mueller hinton broth (MHB) ยี่ห้อ Himedia (HiMedia™ Laboratories Pvt Ltd India)
2. mueller hinton agar (MHA) ยี่ห้อ Himedia (HiMedia™ Laboratories Pvt Ltd India)
3. brain heart infusion broth (BHI) ยี่ห้อ Himedia (HiMedia™ Laboratories Pvt Ltd India)
4. agar ยี่ห้อ Himedia (HiMedia™ Laboratories Pvt Ltd India)

5. D (+) glucose anhydrous ยี่ห้อ Fluka (Sigma-aldrich chemie gmbm, riedstr Switzerland)

3.2.4 สารเคมีในการตรวจสอบแบคทีเรียทางสัตวศาสตร์

1. crystal violet ยี่ห้อ Merck (E Merck kGaA Germany)
2. ammonium oxalate ยี่ห้อ Carlo (Carlo erba reagent Italy)
3. iodine ยี่ห้อ Merck (E Merck kGaA Germany)
4. potassium iodine ยี่ห้อ Carlo (Carlo erba reagent Italy)
5. acetone ยี่ห้อ Carlo (Carlo erba reagent Italy)
6. safranin O ยี่ห้อ Merck (E Merck kGaA Germany)
7. absolute ethanol ยี่ห้อ RCL labscan (RCL Labscan Limited Thailand)

3.2.5 สารเคมีในการศึกษาเอกลักษณ์ทางเคมีเบื้องต้น

1. hydrochloric acid ยี่ห้อ Carlo (Carlo erba reagent Italy)
2. bismuth nitrate ยี่ห้อ Fluka (Fluka Chemie AGCH Switzerland)
3. nitric acid ยี่ห้อ Carlo (Carlo erba reagent Italy)
4. potassium iodide ยี่ห้อ Carlo (Carlo erba reagent Italy)
5. mercuric chloride ยี่ห้อ UNIVAR (APS Ajax finechem Australia)
6. picric acid ยี่ห้อ M&B Laboratory Reagent (May and Baker Limited England)
7. ferric chloride ยี่ห้อ Carlo (Carlo erba reagent Italy)
8. lead acetate ยี่ห้อ Carlo (Carlo erba reagent Italy)
9. ammonia ยี่ห้อ Carlo (Carlo erba reagent Italy)
10. aluminium chloride ยี่ห้อ Carlo (Carlo erba reagent Italy)
11. chloroform ยี่ห้อ Carlo (Carlo erba reagent Italy)
12. sulfuric acid ยี่ห้อ Carlo (Carlo erba reagent Italy)
13. iodine ยี่ห้อ Carlo (Carlo erba reagent Italy)
14. acetone ยี่ห้อ Merck (E Merck kGaA Germany)
15. ethyl acetate ยี่ห้อ Merck (E Merck kGaA Germany)
16. formic acid ยี่ห้อ Merck (E Merck kGaA Germany)
17. toluene ยี่ห้อ Merck (E Merck kGaA Germany)
18. atropine ยี่ห้อ Fluka (Fluka Chemie AGCH Switzerland)

19. piperine ยี่ห้อ Fluka (Fluka Chemie AGCH Switzerland)

3.2.6 สารเคมีในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของกระถางลาย

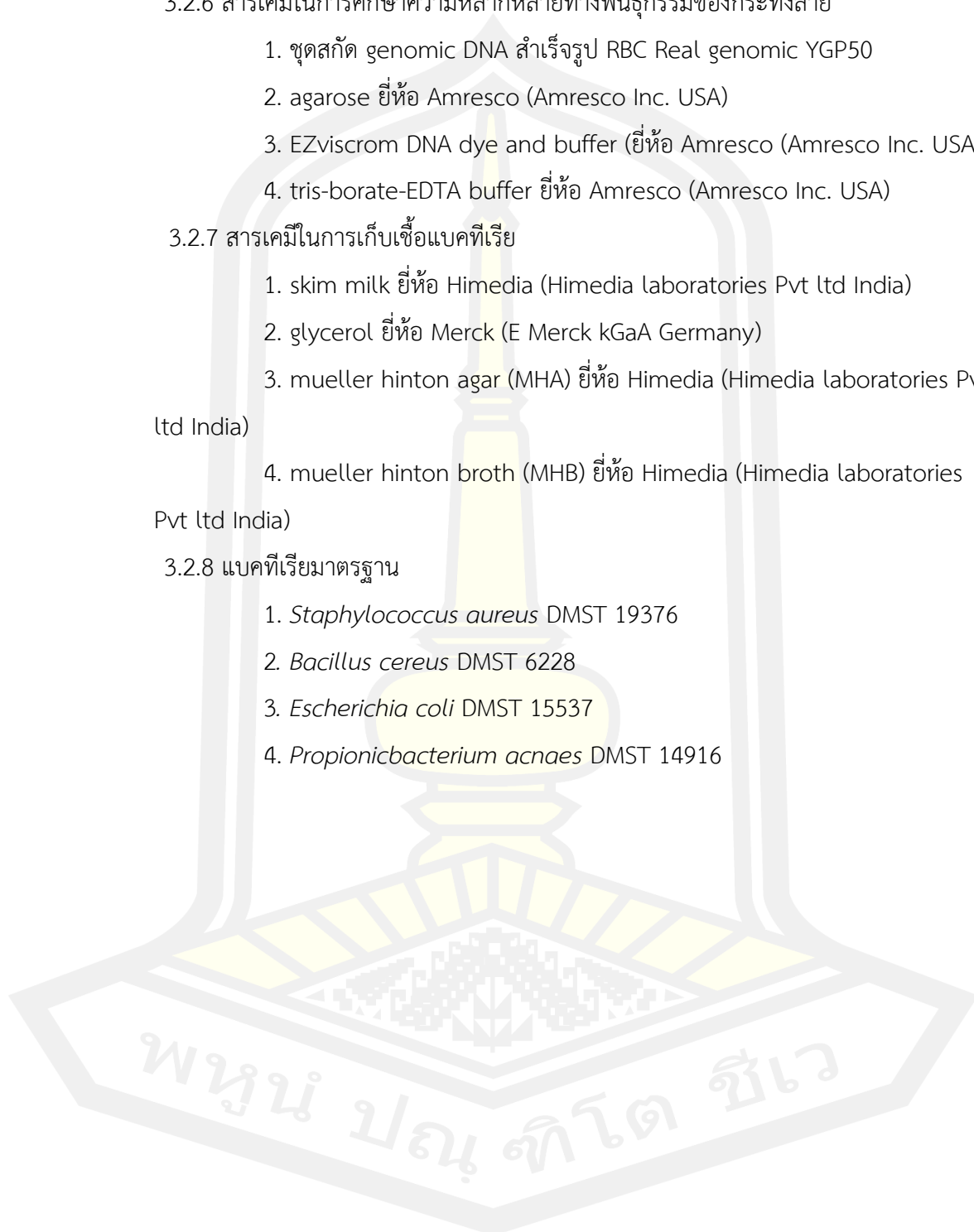
1. ชุดสกัด genomic DNA สำเร็จรูป RBC Real genomic YGP50
2. agarose ยี่ห้อ Amresco (Amresco Inc. USA)
3. EZviscrom DNA dye and buffer ยี่ห้อ Amresco (Amresco Inc. USA)
4. tris-borate-EDTA buffer ยี่ห้อ Amresco (Amresco Inc. USA)

3.2.7 สารเคมีในการเก็บเชื้อแบคทีเรีย

1. skim milk ยี่ห้อ Himedia (Himedia laboratories Pvt ltd India)
2. glycerol ยี่ห้อ Merck (E Merck kGaA Germany)
3. mueller hinton agar (MHA) ยี่ห้อ Himedia (Himedia laboratories Pvt ltd India)
4. mueller hinton broth (MHB) ยี่ห้อ Himedia (Himedia laboratories Pvt ltd India)

3.2.8 แบคทีเรียมาตรฐาน

1. *Staphylococcus aureus* DMST 19376
2. *Bacillus cereus* DMST 6228
3. *Escherichia coli* DMST 15537
4. *Propionicbacterium acnaes* DMST 14916



บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 การสำรวจและการเก็บรวบรวมตัวอย่างเมล็ดกระทงลาย

จากการสำรวจการกระจายพันธุ์ของกระทงลายในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ครอบคลุมพื้นที่ 4 จังหวัดคือ เชียงใหม่ พิชณุโลก เลย และมหาสารคามในเดือนมกราคม 2562 - พฤศจิกายน 2563 พื้นที่สำรวจพบต้นกระทงลายมีทั้งหมด 43 พื้นที่บางพื้นที่กระทงลายออกดอกแต่ไม่ติดผลจึงทำให้เก็บผลกระทงลายได้ไม่ครบทุกพื้นที่ ระยะเวลาในการเก็บผลแก่จะเก็บเดือน สิงหาคม-ตุลาคม ของปี 2562-2563 แสดงแผนที่ที่พบต้นกระทงลายดังภาพประกอบที่ 19 โดยมีรายละเอียดดังนี้

4.1.1 สำรวจพบต้นและเก็บผลกระทงลายในตำบลโป่งแยง อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่ 1 พื้นที่

4.1.2 สำรวจพบต้นและเก็บผลกระทงลายในตำบลบ่อภาค อำเภอชาติตระการ จังหวัด พิชณุโลก 1 พื้นที่

4.1.3 สำรวจพบต้นและเก็บผลกระทงลายในตำบลปลาบ่า อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย 1 พื้นที่

4.1.4 สำรวจพบต้นและเก็บผลกระทงลายในตำบลกู่ทอง อำเภอเชียงยืน จังหวัด มหาสารคาม 2 พื้นที่

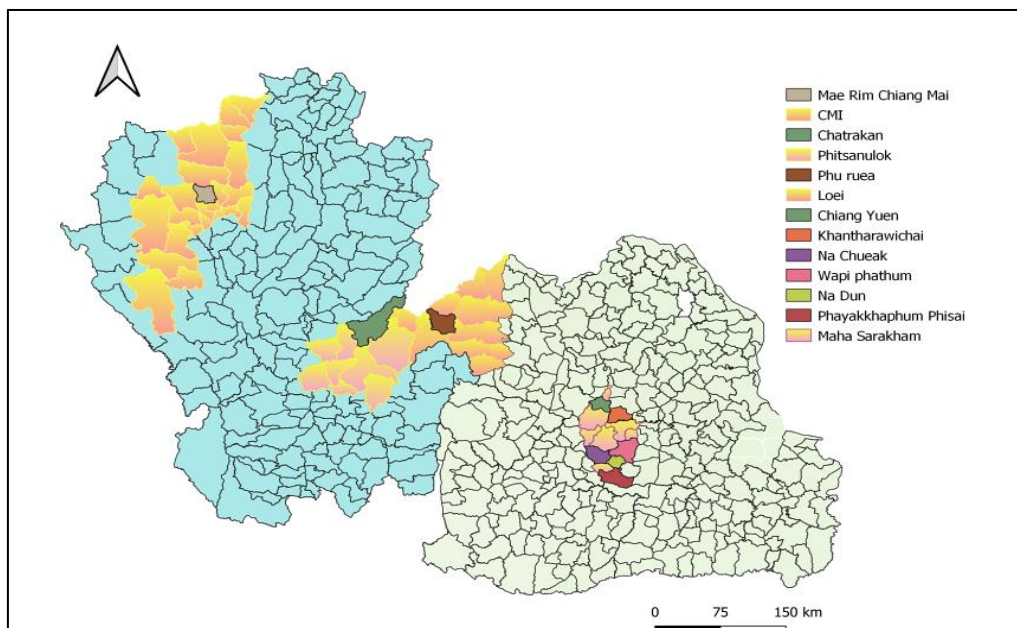
4.1.5 สำรวจพบต้นและเก็บผลกระทงลายในตำบลนาเชือก อำเภอนาเชือก จังหวัด มหาสารคาม 2 พื้นที่

4.1.6 สำรวจพบต้นและเก็บผลกระทงลายในตำบลนาข่า อำเภอกวาปีปทุม จังหวัด มหาสารคาม 1 พื้นที่

4.1.7 สำรวจพบต้นแต่ไม่มีผลกระทงลายในตำบลพระธาตุ อำเภอนาคู จังหวัดมหาสารคาม 33 พื้นที่

4.1.8 สำรวจพบต้นแต่ไม่มีผลกระทงลายในตำบลท่าขอนยาง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัด มหาสารคาม 1 พื้นที่

4.1.9 ตำบลหนองบัว อำเภอพยัคฆภูมิพิสัย จังหวัดมหาสารคาม 2 พื้นที่



ภาพประกอบที่ 19 แผนที่แสดงพื้นที่สำรวจพบต้นกระทงลาย

แสดงรายละเอียดพื้นที่การสำรวจพบต้นกระทงลายในตารางที่ 7

ตารางที่ 3 รายละเอียดพื้นที่สำรวจพบต้นกระทงลาย

ที่	พิกัดภูมิศาสตร์ (Latitude /longitude)	พื้นที่	ความชื้น (Soil Humidity) (%)	อุณหภูมิ (Soil Temperature) (°C)	ความเข้มแสง Illumination (Lux)
1.**	N18.5350.0244 E098.51295488 Elevation 657 m	อ.แม่อริม จ.เชียงใหม่	39.24	27.2	2,200
2.**	N17.608864 E100.9023963 Elevation 1066 m	อ.ชาติตระการ จ.พิษณุโลก	49.0	35.1	2,433

ที่	พิกัดภูมิศาสตร์ (Latitude /longitude)	พื้นที่	ความชื้น (Soil Humidity) (%)	อุณหภูมิ (Soil Temperature) (°C)	ความเข้มแสง Illumination (Lux)
3.**	N17.391944 E101.370556 Elevation 653 m	อ.ภูเรือ จ.เลย	43.2	26.83	2,130
4.*	N16.4550529 E102.9691871 Elevation 158 m	เชียงใหม่ จ.มหาสารคาม	43.5	34.8	1,868
5.*	N16.4550907 E102.9689851 Elevation 158 m	เชียงใหม่ จ.มหาสารคาม	43.5	34.8	1,868
6.**	N15.7711909 E103.0292607 Elevation 167 m	อ.นาเชือก จ.มหาสารคาม	46.2	35.5	1,764
7.**	N15.7717485 E103.028618 Elevation 164 m	อ.นาเชือก จ.มหาสารคาม	45.0	34.2	1,798
8.**	N15.8364148 E103.1599186 Elevation 180 m	วาปีปทุม จ.มหาสารคาม	46.6	34.7	1,852
9.	N 15.69516 E 103.22588 Elevation 156 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	42.4	36.6	1,682

ที่	พิกัดภูมิศาสตร์ (Latitude /longitude)	พื้นที่	ความชื้น (Soil Humidity) (%)	อุณหภูมิ (Soil Temperature) (°C)	ความเข้มแสง Illumination (Lux)
10.	N 15.70531 E 103.23027 Elevation 162 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	49.2	35	1,576
11.	N 15.70533 E 103.22998 Elevation 162 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	48.2	35.1	1,918
12.	N 15.70584 E 103.23013 Elevation 162 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	46.3	35.5	1,465
13.	N 15.70482 E 103.23090 Elevation 161 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	43.6	37	1,782
14.	N 15.70010 E 103.23364 Elevation 171 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	40.9	37	1,678
15.	N 15.70012 E 103.23365 Elevation 170 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	40.2	37.1	1,198
16.	N 15.69993 E 103.23369 Elevation 167 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	40.9	37.4	1,408

ที่	พิกัดภูมิศาสตร์ (Latitude /longitude)	พื้นที่	ความชื้น (Soil Humidity) (%)	อุณหภูมิ (Soil Temperature) (°C)	ความเข้มแสง Illumination (Lux)
17.	N 15.69980 E 103.23480 Elevation 164 m	อ.นาตุณ จ.มหาสารคาม	45.1	37.4	1,324
18.	N 15.69975 E 103.23479 Elevation 164 m	อ.นาตุณ จ.มหาสารคาม	45.2	37.6	1,574
19.	N 15.69982 E 103.23486 Elevation 163 m	อ.นาตุณ จ.มหาสารคาม	43.9	37.7	1,121
20.	N 15.69985 E 103.23505 Elevation 161 m	อ.นาตุณ จ.มหาสารคาม	46.1	38.9	1,696
21.	N 15.70004 E 103.23515 Elevation 161 m	อ.นาตุณ จ.มหาสารคาม	44.03	37.9	1,846
22.	N 15.69995 E 103.23534 Elevation 160 m	อ.นาตุณ จ.มหาสารคาม	40.0	38.3	1,846
23.	N 15.69995 E 103.23528 Elevation 159 m	อ.นาตุณ จ.มหาสารคาม	49.3	38.2	1,667

ที่	พิกัดภูมิศาสตร์ (Latitude /longitude)	พื้นที่	ความชื้น (Soil Humidity) (%)	อุณหภูมิ (Soil Temperature) (°C)	ความเข้มแสง Illumination (Lux)
24.	N 15.69981 E 103.23515 Elevation 159 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	40.7	38.2	1,662
25.	N 15.69980 E 103.23513 Elevation 158 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	42.2	38.2	1,819
26.	N 15.69930 E 103.23473 Elevation 153 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	45.8	37.5	1,252
27.	N 15.69920 E 103.23468 Elevation 157 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	42.6	32.5	1,403
28.	N 15.69917 E 103.23460 Elevation 157 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	45.2	37.6	1,870
29.	N 15.69904 E 103.23454 Elevation 156 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	46.9	37.6	1,880
30.	N 15.69894 E 103.23457 Elevation 156 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	48.2	37.7	1,547

ที่	พิกัดภูมิศาสตร์ (Latitude /longitude)	พื้นที่	ความชื้น (Soil Humidity) (%)	อุณหภูมิ (Soil Temperature) (°C)	ความเข้มแสง Illumination (Lux)
31.	N 15.69910 E 103.23450 Elevation 156 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	49.2	38.1	1,650
32.	N 15.69918 E 103.23431 Elevation 173 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	39.1	38.3	1,279
33.	N 15.69909 E 103.23403 Elevation 152 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	42.8	36.4	1,685
34.	N 15.69894 E 103.23379 Elevation 154 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	35.5	36.6	1,942
35.	N 15.69913 E 103.23370 Elevation 154 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	42.7	36.4	1,506
36.	N 15.69530 E 103.22602 Elevation 153 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	40.7	38.2	1,662
37.	N 15.69701 E 103.22559 Elevation 153 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	45.8	37.5	1,252

ที่	พิกัดภูมิศาสตร์ (Latitude /longitude)	พื้นที่	ความชื้น (Soil Humidity) (%)	อุณหภูมิ (Soil Temperature) (°C)	ความเข้มแสง Illumination (Lux)
38.	N 15.69954 E 103.22975 Elevation 158 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	42.6	32.5	1,403
39.	N 15.69956 E 103.22962 Elevation 158 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	45.2	37.6	1,870
40.	N15.69978 E103.22993 Elevation 163 m	อ.นาดูน จ.มหาสารคาม	44.0	36.5	1,866
41**.	N16.2428407 E103.271496 Elevation 150 m	อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม	42.2	37.2	1,719
42.**	N15.581172 E103.115858 Elevation 150 m	อ.พยัคฆภูมิ จ.มหาสารคาม	44.6	35.7	1,844
43.	N15.606722, E103.068889 Elevation 150 m	อ.พยัคฆภูมิ จ.มหาสารคาม	42.4	34.2	1,850

หมายเหตุ * พื้นที่ที่เก็บตัวอย่างผลกระทงลาย

** พื้นที่ที่เก็บตัวอย่างผลกระทงลายและมีปริมาณเพียงพอในการสกัดน้ำมัน

4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดกระถงลาย

จากการสำรวจพื้นที่ที่พบกระถงลายทั้งหมด 43 ตัวอย่าง ในพื้นที่ 4 จังหวัด คือ เชียงใหม่ พิษณุโลก เลยและมหาสารคาม พบว่าทุกพื้นที่มีลักษณะที่เมื่การเจริญเติบโตในป่าผลัดใบ มีลักษณะของรูปร่างใบไม่แตกต่างกัน คือ ในหนึ่งต้นมีรูปลักษณะของใบเป็นทั้งแบบไข่ (Ovate) แบบไข่กลับ (Obovate) และแบบรูปรี (Elliptic) แสดงสัณฐานวิทยาของใบที่มีความแตกต่างกันหลายแบบในหนึ่งต้น แสดงในภาพประกอบที่ 20



ภาพประกอบที่ 20 สัณฐานวิทยาของใบที่มีความแตกต่างกันหลายแบบในหนึ่งต้น

1. กระถงลาย อ.แมริม จ. เชียงใหม่
2. กระถงลาย อ.นาเชือก จ.มหาสารคาม
3. กระถงลาย อ.ภูเรือ จ.เลย
4. กระถงลาย อ.วาปีปทุม จ.มหาสารคาม

เนื่องจากสภาวะของอากาศของประเทศไทยในช่วง 2562-2563 ที่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศร้อนและแห้งแล้งส่งผลให้กระทงลายออกดอกแต่ไม่ติดผล ดังนั้นจึงสามารถเก็บผลของกระทงลายได้เพียง 10 ตัวอย่าง กำหนดรหัสตัวอย่างตามแหล่งที่เก็บและนำมาซึ่งน้ำหนัก วัดขนาด ความกว้างและวัดขนาดความยาวของเมล็ด รายละเอียดผลการทดลองดังนี้

4.2.1 น้ำหนักของเมล็ดกระทงลาย

จากการชั่งน้ำหนักเมล็ดกระทงลายจำนวน 90 เมล็ดต่อตัวอย่าง แสดงการวิเคราะห์น้ำหนักเมล็ดกระทงลายแต่ละพื้นที่ ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์น้ำหนักเมล็ดกระทงลายแต่ละพื้นที่

รหัสตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	ค่าน้อยสุด (min.)	ค่ามากที่สุด (max.)
CP-CMI	90	0.1122	0.0319	0.0555	0.1960
CP-PLK	90	0.1623	0.0432	0.0829	0.2303
CP-LEI	90	0.0805	0.0164	0.0451	0.1110
CP-MKM-CHY1	90	0.1233	0.0288	0.0642	0.1789
CP-MKM-CHY2	90	0.1227	0.0321	0.0701	0.1860
CP-MKM-NCH1	90	0.1153	0.0960	0.0405	0.9830
CP-MKM-NCH2	90	0.1737	0.0429	0.0921	0.2689
CP-MKM-WP	90	0.1309	0.0335	0.0719	0.1982
CP-MKM-PK1	90	0.0943	0.0289	0.0403	0.1544
CP-MKM-PK2	90	0.0982	0.0236	0.0442	0.1942
รวม	900	0.1214	0.0509	0.0403	0.9830

จากการเก็บตัวอย่างเมล็ดกระทงลายจำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่าเมล็ดกระทงลาย CP-LEI มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเมล็ดจาก 90 เมล็ดมีน้ำหนักน้อยที่สุดคือ 0.0805 กรัม และ CP-MKM-NCH2 มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเมล็ดจาก 90 เมล็ดมีน้ำหนักมากที่สุดคือ 0.1737 กรัม

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักของเมล็ดกระทงลายในแต่ละพื้นที่และนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักของเมล็ดกระทงลายและพื้นที่ด้วยโปรแกรม SPSS วิเคราะห์ข้อมูลความแปรปรวนทางเดียว One-way ANOVA แสดงผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ได้ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียวแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักของเมล็ดกระทงลายและพื้นที่

แหล่งของความแปรปรวน	Sum of Squares	df	Mean Square	F	P
ระหว่างกลุ่ม	90	9	0.08	40.68	0.00
ภายในกลุ่ม	90	890	0.00		
รวม	90	899			

จากตารางที่ 5 เมล็ดกระทงลายมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01 จึงทำการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยรายคู่ด้วย Post Hoc test แสดงผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยน้ำหนักเมล็ดกระทงลาย ในตารางที่ 6

พหุบัณฑิต ชีวะ

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยน้ำหนักเมล็ดกระทงลาย

รหัส ตัวอย่าง	ค่า เฉลี่ย	CP-CMI	CP-PLK	CP-LEI	CP-MKM-CHY1	CP-MKM-CHY2	CP-MKM-NCH1	CP-MKM-NCH2	CP-MKM-WP	CP-MKM-PK1	CP-MKM-PK2
		.1122	.1623	.0805	.1233	.1227	.1153	.1737	.1309	.0943	.0982
CP-CMI	.1122	-	-.0500*	.0316*	-.0111	-.0104	-.0031	-.0615*	-.0187*	.0178*	.0140*
CP-PLK	.1623		-	.0817*	.0389*	.0395*	.0469*	-0.0114	.0313*	.0679*	.0641*
CP-LEI	.0805			-	-.0427*	-.0421*	-.0347*	-.0931*	-.0503*	-.0137*	-.0176*
CP- MKM- CHY1	.1233				-	0.0006	0.0079	-.0504*	-0.0076	.0289*	.0251*
CP- MKM- CHY2	.1227					-	0.0073	-.0510*	-0.0082	.0283*	.0245*
CP-MKM- NCH1	.1153						-	-.0583*	-.0156*	.0209*	.0171*
CP-MKM- NCH2	.1737							-	.0427*	.0793*	.0755*
CP-MKM- WP	.1309								-	.0366*	.0327*
CP-MKM- PK1	.0943									-	-.0038
CP-MKM- PK2	.0982										-

* มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

จากตารางที่ 6 เป็นการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยน้ำหนักเมล็ดกระทงลาย พบว่า น้ำหนักของเมล็ดกระทงลายในพื้นที่ศึกษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01 โดยมีความแตกต่างชัดเจนระหว่างน้ำหนักของ CP-CMI กับ CP-PLK CP-LEI CP-MKM-NCH2 CP-MKM-WP CP-MKM-PK1 และ CP-MKM-PK2 ส่วน ตัวอย่าง CP-PLK ไม่มีความต่างจากตัวอย่าง CP-MKM-NCH2 ตัวอย่าง CP-LEI มีความแตกต่างกันกับทุกตัวอย่าง ตัวอย่าง CP-MKM-CHY1 มีความแตกต่างกันกับ CP-MKM-NCH2 CP-MKM-PK1 CP-MKM-PK2 ตัวอย่าง CP-MKM-CHY2 มีความแตกต่างกันกับ CP-MKM-NCH2 CP-MKM-PK1 CP-MKM-PK2 ตัวอย่าง CP-MKM-NCH1

CP-MKM-NCH2 และ CP-MKM-WP มีความแตกต่างกันกับ CP-MKM-NCH2 CP-MKM-PK1 CP-MKM-PK2

4.2.2 ความกว้างของเมล็ดกระถางลาย

จากการนำเมล็ดกระถางลายจำนวน 90 เมล็ดต่อตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 900 เมล็ด มาวัดขนาดความกว้างของเมล็ดกระถางลายแต่ละพื้นที่ศึกษา แสดงผลการวิเคราะห์ความกว้างของเมล็ดกระถางลาย ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์ความกว้างของเมล็ดกระถางลายแต่ละพื้นที่

รหัส ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน (SD)	ค่าน้อยสุด	ค่ามากที่สุด
CP-CMI	90	3.79	0.67	2.30	4.80
CP-PLK	90	4.47	0.71	3.00	5.60
CP-LEI	90	3.57	0.41	2.40	4.60
CP-MKM-CHY1	90	4.40	0.62	3.00	6.10
CP-MKM-CHY2	90	4.30	0.74	3.30	6.00
CP-MKM-NCH1	90	3.90	0.44	2.90	4.90
CP-MKM-NCH2	90	4.54	0.64	3.10	5.60
CP-MKM-WP	90	4.69	0.50	3.50	6.50
CP-MKM-PK1	90	3.73	0.58	2.40	5.00
CP-MKM-PK2	90	3.68	0.45	2.30	4.60
รวม	900	4.11	0.70	2.30	6.50

จากตารางที่ 7 พบว่าเมล็ดกระทงลาย CP-LEI มีค่าเฉลี่ยความกว้างของเมล็ดจาก 90 เมล็ด มีความกว้างน้อยที่สุดคือ 3.57 มิลลิเมตร และ CP-MKM-WP มีค่าเฉลี่ยของความกว้างเมล็ดจาก 90 เมล็ด มีความกว้างมากที่สุดคือ 4.69 มิลลิเมตร

เมื่อเปรียบเทียบความกว้างของเมล็ดกระทงลายในแต่ละพื้นที่และเมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างของเมล็ดกระทงลายและพื้นที่ด้วยโปรแกรม SPSS วิเคราะห์ข้อมูลความแปรปรวนทางเดียว One-way ANOVA แสดงผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ได้ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างของเมล็ดกระทงลายและพื้นที่

แหล่งของความแปรปรวน	Sum of Squares	df	Mean Square	F	P
ระหว่างกลุ่ม	138.50	9	15.38	44.62	0.00
ภายในกลุ่ม	306.90	890	0.34		
รวม	445.40	899			

จากตารางที่ 8 เมล็ดกระทงลายมีค่าเฉลี่ยความกว้างที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01 จึงทำการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยรายคู่ด้วย Post Hoc test แสดงผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความกว้างของเมล็ดกระทงลาย ในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความกว้างของเมล็ดกระถางลาย

รหัสตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย	CP-CMI	CP-PLK	CP-LEI	CP-MKM-CHY1	CP-MKM-CHY2	CP-MKM-NCH1	CP-MKM-NCH2	CP-MKM-WP	CP-MKM-PK1	CP-MKM-PK2
		3.79	4.47	3.57	4.40	4.30	3.90	4.54	4.69	3.73	3.68
CP-CMI	3.79	-	-.6855*	.2177*	-.6077*	-.5066*	-0.1077	-.7555*	-.8966*	0.0555	0.1133
CP-PLK	4.47		-	.90333*	0.0777	.1788*	.5777*	-0.0700	-.2111*	.7411*	.7988*
CP-LEI	3.57			-	-.8255*	-.7244*	-.3255*	-.9733*	-1.1144*	-0.1622	-0.1044
CP-MKM-CHY1	4.40				-	0.1011	.5000*	-0.1477	-.2888*	.6633*	.7211*
CP-MKM-CHY2	4.30					-	.3988*	-.2488*	-.3900*	.5622*	.6200*
CP-MKM-NCH1	3.90						-	-.6477*	-.7888*	0.1633	.2211*
CP-MKM-NCH2	4.54							-	-0.1411	.8111*	.8688*
CP-MKM-WP	4.69								-	.9522*	1.0100*
CP-MKM-PK1	3.73									-	.0577
CP-MKM-PK2	3.68										-

* มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

จากตารางที่ 9 เป็นการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความกว้างเมล็ดกระถางลาย พบว่าความกว้างของเมล็ดกระถางลายในพื้นที่ศึกษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01 โดยมีความแตกต่างชัดเจนระหว่างความกว้างของเมล็ดทั้งในพื้นที่สำรวจภายในจังหวัดและต่างภูมิภาค

4.2.3 ความยาวของเมล็ดกระถางลาย

จากนำเมล็ดกระถางลายจำนวน 90 เมล็ดต่อตัวอย่าง มาวัดขนาดความยาวของเมล็ดกระถางลายแต่ละพื้นที่ แสดงผลการวิเคราะห์ความยาวของเมล็ดกระถางลาย ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความยาวของเมล็ดกระทงลายแต่ละพื้นที่

รหัส ตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	เฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน (SD)	ค่าน้อยสุด	ค่ามากที่สุด
CP-CMI	90	3.70	0.77	2.40	5.90
CP-PLK	90	5.71	0.70	4.30	6.70
CP-LEI	90	3.26	0.46	2.10	4.30
CP-MKM- CHY1	90	4.26	0.47	3.20	5.60
CP-MKM- CHY2	90	4.16	0.66	3.10	5.40
CP-MKM- NCH1	90	4.11	0.71	2.20	5.40
CP-MKM- NCH2	90	5.56	0.59	4.20	6.90
CP-MKM-WP	90	4.64	0.65	3.00	6.00
CP-MKM-PK1	90	3.71	0.71	2.00	5.20
CP-MKM-PK2	90	3.56	0.37	2.40	4.20
รวม	900	4.27	0.99	2.00	6.90

จากการเก็บตัวอย่างเมล็ดกระทงลายจำนวน 10 ตัวอย่าง พบว่าเมล็ดกระทงลาย CP-LEI มีค่าเฉลี่ยความยาวของเมล็ดจาก 90 เมล็ดมีความยาวน้อยที่สุดคือ 3.26 มิลลิเมตร และ CP-PLK มีค่าเฉลี่ยของความยาวของเมล็ดจาก 90 เมล็ดมีความยาวมากที่สุดคือ 5.71 มิลลิเมตร

เมื่อเปรียบเทียบความยาวของเมล็ดกระทงลายในแต่ละพื้นที่และนำมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของเมล็ดกระทงลายและพื้นที่ด้วยโปรแกรม SPSS วิเคราะห์ข้อมูลความแปรปรวนทางเดียว One-way ANOVA แสดงผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ได้ดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของเมล็ดกระทงลายและพื้นที่

แหล่งของความแปรปรวน	Sum of Squares	df	Mean Square	F	P
ระหว่างกลุ่ม	550.36	9	61.15	157.21	0.00
ภายในกลุ่ม	346.14	890	0.39		
รวม	896.50	899			

* มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

จากตารางที่ 11 เมล็ดกระทงลายมีค่าเฉลี่ยความยาวที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.01 จึงทำการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยรายคู่ด้วย Post Hoc test แสดงผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความยาวของเมล็ดกระทงลาย ในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 การเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความยาวของเมล็ดกระทงลาย

รหัสตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย	CP-CMI	CP-PLK	CP-LEI	CP-MKM-CHY1	CP-MKM-CHY2	CP-MKM-NCH1	CP-MKM-NCH2	CP-MKM-WP	CP-MKM-PK1	CP-MKM-PK2
		3.70	5.71	3.26	4.26	4.16	4.11	5.56	4.64	3.71	3.56
CP-CMI	3.70	-	-2.0177*	.4388*	-.5656*	-.4611*	-.4089*	-1.8678*	-.9444*	-0.0133	0.1400
CP-PLK	5.71		-	2.4566*	1.4522*	1.5566*	1.6089*	0.1500	1.0733*	2.0044*	2.1578*
CP-LEI	3.26			-	-1.0044*	-.9000*	-.8478*	-2.3067*	-1.3833*	-.4522*	-.2989*
CP-MKM-CHY1	4.26				-	0.1044	0.1567	-1.3022	-0.3788	0.5522	0.7056

รหัส ตัวอย่าง	ค่า เฉลี่ย	CP-CMI	CP-PLK	CP-LEI	CP-MKM- CHY1	CP-MKM- CHY2	CP-MKM- NCH1	CP-MKM- NCH2	CP-MKM- WP	CP-MKM- PK1	CP-MKM- PK2
		3.70	5.71	3.26	4.26	4.16	4.11	5.56	4.64	3.71	3.56
CP- MKM- CHY2	4.16					-	0.0522	-1.4067*	-4833*	.4478*	.6011*
CP- MKM- NCH1	4.11						-	-1.4589*	-5356*	.3956*	.5489*
CP- MKM- NCH2	5.56							-	.9233*	1.8544*	2.0078*
CP- MKM- WP	4.64								-	.9311*	1.0844*
CP- MKM- PK1	3.71									-	.1533
CP- MKM- PK2	3.56										-

* มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

จากตารางที่ 12 เป็นการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความยาวเมล็ดกระถางลาย พบว่าความยาวของเมล็ดกระถางลายในพื้นที่ศึกษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.01 โดยมีความแตกต่างชัดเจนระหว่างความยาวของเมล็ดทั้งในพื้นที่สำรวจภายในจังหวัดและต่างภูมิภาค

เมื่อนำข้อมูลความกว้างและความยาวของเมล็ดกระถางลายมาจัดจำแนกขนาดตามข้อมูลของ Hou et al (2010) มีการสำรวจกระถางลายในประเทศไทย พบว่ากระถางลายในประเทศไทยมีความกว้างของเมล็ดโดยเฉลี่ยที่ 2-3 มิลลิเมตร และความยาวโดยเฉลี่ย 3-5 มิลลิเมตร ดังนั้นจึงเป็นเกณฑ์มาตรฐานในการจัดจำแนกขนาดความกว้าง-ความยาวของเมล็ดดังนี้

1. ขนาดความกว้างของเมล็ด
 - 1.1 ขนาดความกว้างของเมล็ด น้อยกว่า 2 มิลลิเมตร จำแนกเป็นขนาดเล็ก (S)
 - 1.2 ขนาดความกว้างของเมล็ด 2-3 มิลลิเมตร จำแนกเป็นขนาดกลาง (M)
 - 1.3 ขนาดความกว้างของเมล็ด มากกว่า 3 มิลลิเมตร จำแนกเป็นขนาดใหญ่ (L)
2. ขนาดความยาวของเมล็ด
 - 2.1 ขนาดความยาวของเมล็ด น้อยกว่า 3 มิลลิเมตร จำแนกเป็นขนาดเล็ก (S)
 - 2.2 ขนาดความยาวของเมล็ด 3-5 มิลลิเมตร จำแนกเป็นขนาดกลาง (M)
 - 2.3 ขนาดความยาวของเมล็ด มากกว่า 5 มิลลิเมตร จำแนกเป็นขนาดใหญ่ (L)

เมื่อนำมาจัดจำแนกตามขนาดและคิดเป็นอัตราส่วนร้อยละของขนาดความกว้างและความยาวของเมล็ดกระทั่งหลายที่พบใน 90 เมล็ดแต่ละพื้นที่ แสดงดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ร้อยละของขนาดความกว้างและความยาวของเมล็ดกระทั่งหลายที่พบ

รหัสตัวอย่าง	ร้อยละของขนาดความกว้างของเมล็ดที่พบใน 90 เมล็ด			ร้อยละของขนาดความยาวที่พบใน 90 เมล็ด		
	S	M	L	S	M	L
CP-CMI	0.00	18.89	81.11	16.67	75.56	7.78
CP-PLK	0.00	2.22	97.78	0.00	23.33	76.67
CP-LEI	0.00	13.33	86.67	25.56	0.00	74.44
CP-MKM-CHY1	0.00	1.11	98.89	0.00	96.67	3.33
CP-MKM-CHY2	0.00	0.00	100.00	0.00	83.33	16.67
CP-MKM-NCH1	0.00	4.44	95.56	4.44	91.11	4.44
CP-MKM-NCH2	0.00	0.00	100.00	0.00	26.67	73.33
CP-MKM-WP	0.00	0.00	100.00	0.00	71.11	28.89
CP-MKM-PK1	0.00	17.78	82.22	11.11	86.67	2.22
CP-MKM-PK2	0.00	6.67	93.33	0.00	7.78	92.22

จากตารางที่ 13 เมื่อเปรียบเทียบขนาดของความกว้างของเมล็ดกับขนาดของกระทั่งหลายมาตรฐานที่แสดงใน Flora of Thailand volumn 10 ส่วนที่ 2 พบว่าทุกตัวอย่างมีขนาดความกว้างมากกว่าขนาดมาตรฐานมากกว่าร้อยละ 80 มีขนาดความกว้างเท่าขนาดมาตรฐาน 7 ตัวอย่าง คือ CP-CMI CP-PLK CP-LEI CP-MKM-CHY1 CP-MKM-NCH1 CP-MKM-PK1 CP-MKM-PK2 ไม่พบขนาดความกว้างน้อยกว่ามาตรฐาน ในขณะที่ขนาดความยาวของเมล็ดกระทั่งหลายน้อยกว่ามาตรฐาน

4 ตัวอย่างคือ CP-CMI CP-LEI CP-MKM-NCH1 CP-MKM-PK1 ขนาดความยาวเท่ามาตรฐาน 8 ตัวอย่างยกเว้น CP-LEI ที่ไม่พบว่ามีขนาดยาวของเมล็ดเท่ากับมาตรฐาน และพบว่า CP-MKM-PK2 มีขนาดความยาวมากกว่ามาตรฐาน จำนวนมากถึงร้อยละ 92.22

4.2 ผลการสกัดน้ำมันจากกระถงลาย

การเก็บเมล็ดกระถงลายเพื่อนำมาสกัดน้ำมันตัวอย่างและสามารถสกัดน้ำมันกระถงลายตามขั้นตอนการสกัดน้ำมันแบบชาวบ้านและประยุกต์การควบคุมระดับของอุณหภูมิในการสกัดน้ำมัน ออกเป็น 3 ระดับ จนได้ตัวอย่างน้ำมันกระถงลาย จำนวน 24 ตัวอย่าง จาก 8 แหล่ง แสดงการกำหนดรหัสตัวอย่างตามการควบคุมอุณหภูมิ 3 ระดับและลักษณะของสารสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระถงลาย ดังตารางที่ 14 (ภาพประกอบในภาคผนวก ข)

ตารางที่ 14 การกำหนดรหัสตัวอย่างและลักษณะของสารสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระถงลาย

ที่	รหัส	พื้นที่เก็บตัวอย่างเมล็ด	ลักษณะของสารสกัด
1.	CP-CMI	อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่	น้ำตาลเข้ม++
2.	CP-CMI-15	อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่	น้ำตาลส้ม+
3.	CP-CMI-30	อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่	น้ำตาลส้ม+
4.	CP-PLK	อ.ชาติตระการ จ.พิษณุโลก	น้ำตาลเหลือง +
5.	CP-PLK-15	อ.ชาติตระการ จ.พิษณุโลก	น้ำตาลเหลือง +
6.	CP-PLK-30	อ.ชาติตระการ จ.พิษณุโลก	น้ำตาลเหลือง +
7.	CP-LEI	อ.ภูเรือ จ.เลย	เหลือง ส้ม+
8.	CP-LEI-15	อ.ภูเรือ จ.เลย	เหลือง ส้ม+
9.	CP-LEI-30	อ.ภูเรือ จ.เลย	เหลือง ส้ม+
10.	CP-MKM-NCH1	อ.นาเชือก จ.มหาสารคาม (1)	น้ำตาลส้ม+
11.	CP-MKM-NCH1-15	อ.นาเชือก จ.มหาสารคาม (1)	น้ำตาลส้ม+
12.	CP-MKM-NCH1-30	อ.นาเชือก จ.มหาสารคาม (1)	น้ำตาลส้ม++
13.	CP-MKM-NCH2	อ.นาเชือก จ.มหาสารคาม (2)	น้ำตาลเหลือง ++
14.	CP-MKM-NCH2-15	อ.นาเชือก จ.มหาสารคาม (2)	น้ำตาลเหลือง ++

ที่	รหัส	พื้นที่เก็บตัวอย่างเมล็ด	ลักษณะของสารสกัด
15.	CP-MKM-NCH2-30	อ.นาเชือก จ.มหาสารคาม (2)	น้ำตาลเหลือง ++
16.	CP-MKM-WP	อ.วาปีปทุม จ.มหาสารคาม	น้ำตาล++
17.	CP-MKM-WP-15	อ.วาปีปทุม จ.มหาสารคาม	น้ำตาล++
18.	CP-MKM-WP-30	อ.วาปีปทุม จ.มหาสารคาม	น้ำตาล++
19.	CP-MKM-PK1	อ.พยัคฆภูมิ จ.มหาสารคาม (1)	น้ำตาลเหลือง +
20.	CP-MKM-PK1-15	อ.พยัคฆภูมิ จ.มหาสารคาม (1)	น้ำตาลเหลือง +
21.	CP-MKM-PK1-30	อ.พยัคฆภูมิ จ.มหาสารคาม (1)	น้ำตาลเหลือง +
22.	CP-MKM-PK2	อ.พยัคฆภูมิ จ.มหาสารคาม (2)	น้ำตาล++
23.	CP-MKM-PK2-15	อ.พยัคฆภูมิ จ.มหาสารคาม (2)	น้ำตาล++
24.	CP-MKM-PK2-30	อ.พยัคฆภูมิ จ.มหาสารคาม (2)	น้ำตาล++

+ คือ ความเข้มข้นของสีสารสกัด ระดับ น้อย ++ คือ ความเข้มข้นของสารสกัด ระดับ มาก

4.3 การรวบรวมข้อมูลการใช้ประโยชน์จากกระทงลาย

กระทงลายเป็นพืชที่มีการใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน ทั้งกิ่ง ใบ ราก ผล และเมล็ด แต่เนื่องจากข้อมูลการนำไปใช้ประโยชน์ในประเทศไทย ยังไม่มีการจัดเก็บอย่างเป็นระบบทำให้มีข้อมูลกระจาย และมีการใช้ประโยชน์เฉพาะกลุ่มเท่านั้น โดยเฉพาะในกลุ่มชาวเขา ในภาคเหนือ และชาวบ้านตามชนบทของภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนที่มีข้อมูลการใช้ประโยชน์ที่มีการอ้างอิงเป็นเอกสาร พบว่ามีชาวบ้านบางพื้นที่ยังไม่เห็นความสำคัญของต้นกระทงลาย มีการตัดโค่นทำลายกระทงลายทั้ง ดังนั้นการรวบรวมข้อมูลการใช้ประโยชน์ จึงเป็นข้อมูลที่มีความจำเป็นต่อการประยุกต์ใช้ในอนาคต อีกทั้งยังเป็นประโยชน์เพื่อพัฒนาพืชชนิดนี้พัฒนาต่อยอดให้สามารถผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์ ในอนาคต จากการรวบรวมข้อมูลจัดจำแนกการใช้ประโยชน์จากกระทงลายออกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

1. การใช้ประโยชน์ด้านอาหาร
2. การใช้ประโยชน์ด้านยารักษาโรค
3. การใช้ประโยชน์ด้านน้ำมันเชื้อเพลิง

แสดงการประโยชน์จากกระทงลายในประเทศไทยดังตารางที่ 15

ตารางที่ 15 การประโยชน์จากกระทงลายในประเทศไทย

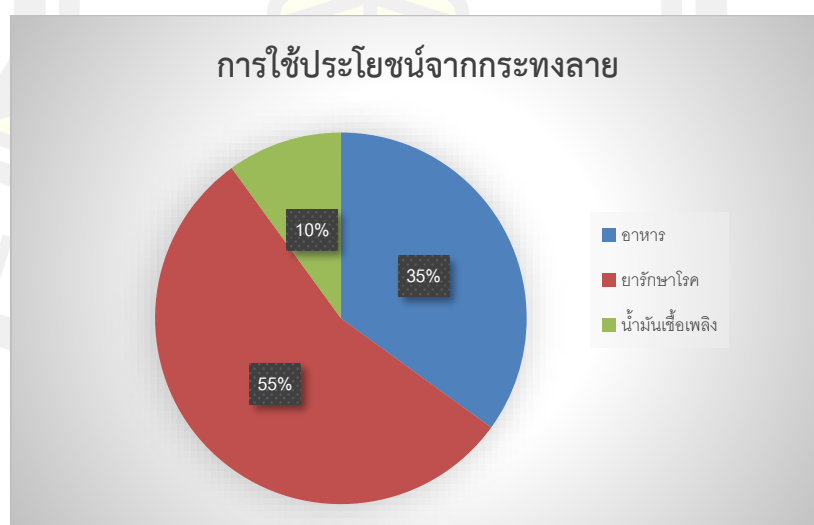
ที่	การจำแนกการใช้ประโยชน์	ชาติพันธุ์	จังหวัด/ภูมิภาค	วิธีการใช้ประโยชน์	อ้างอิง
1	อาหาร	ละว้า	จ.เชียงใหม่	ต้นอ่อน และใบ ลวกรับประทาน กับน้ำพริก	(Punchay et al., 2020)
2.	อาหาร	กะเหรี่ยง	บ้านใหม่สวรรค์ อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่	ยอดอ่อนต้ม ลวกหรือ ประกอบอาหาร	(กวีศิลป์ คำวงศ์, 2552)
3.	อาหาร	ขมุ	บ้านห้วยพุก อ.เมือง จ.น่าน	ต้นอ่อน ลวก รับประทานกับ น้ำพริก	(Kamonnate Srithi, 2012)
4.	อาหาร	ไทลื้อ	จ.เชียงใหม่	ยอดอ่อน ลวก รับประทานกับ น้ำพริก	(นัทธี เมืองเย็น, 2556)
5.	อาหาร	ไทลื้อ อาข่า	จ.น่าน จ.เชียงราย	ใบ ลวก รับประทานกับ น้ำพริก	(Inta, 2008)
6.	อาหาร	ขมุ	จ.น่าน	ยอดอ่อนลวก เป็นผักจิ้ม น้ำพริก	(ทิพย์สุดา ตั้งตระกูล, 2541)
7.	อาหาร	ชาวบ้าน อีสาน	อ.วาปีปทุม จ.มหาสารคาม	ยอดอ่อนลวก เป็นผักจิ้ม น้ำพริก	(สถานีวิทย์ โทรทัศน์แห่งประเทศไทย, 2556),

ที่	การจำแนกการใช้ประโยชน์	ชาติพันธุ์	จังหวัด/ภูมิภาค	วิธีการใช้ประโยชน์	อ้างอิง
8.	ยารักษาโรค	กะเหรี่ยง	บ้านใหม่สวรรค์ อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่	เถา เข้ายารักษา ดีซ่านต้มน้ำดื่ม หรืออบไอน้ำ	(กวีศิลป์ คำวงศ์, 2552)
9.	ยารักษาโรค	กะเหรี่ยง	บ้านห้วยปูลิง อ.เมือง จ.แม่ฮ่องสอน	เถาต้มน้ำดื่ม หรือดองเหล้า เป็นยาบำรุง กำลัง เปลือกต้น ต้ม น้ำดื่มรักษา อาการท้องร่วง	(กวีศิลป์ คำวงศ์, 2552)
10.	ยารักษาโรค	ไทลื้อ อาข่า	จ.น่าน จ.เชียงราย	รากทำยา ลูกกลอน แก้ว เสียด	(Inta, 2008)
11.	ยารักษาโรค	กะเหรี่ยง	จ.เชียงใหม่	เปลือกต้น นำ ต้มและต้มแก้ ท้องเสีย	(Tangjitman et al., 2015)
12.	ยารักษาโรค	ชาวล้านนา	จ.เชียงใหม่	ราก ต้มผสม สมุนไพรอื่น ยา มะโห้หมูกเลือด ผล ต้มผสม สมุนไพรอื่น ยา แก้เวียนหัว	หน่วยงาน ศึกษาวิจัย คัมภีร์ไบเบลาน, 2525)

ที่	การจำแนกการใช้ประโยชน์	ชาติพันธุ์	จังหวัด/ภูมิภาค	วิธีการใช้ประโยชน์	อ้างอิง
13.	ยารักษาโรค	ชาวบ้านอีสาน	อ.วาปีปทุม จ.มหาสารคาม	น้ำมันจากเมล็ดทาผลสด	(สถานีวิทยุโทรทัศน์แห่งประเทศไทย, 2556)
14.	ยารักษาโรค	ชาวบ้าน จ.สกลนคร	จ.สกลนคร	ราก 1. นำมาฝนผสมสมุนไพรอื่นเป็นยาออกสูก 2. นำมาฝนผสมสมุนไพรอื่นผสมเหล้า ยาแก้คอ 3. รักษาเงาเหือดจม 4. ฝนผสมสมุนไพรอื่นรักษาฝีปะอาก 5. แชน้ำและเป่าเป่าฟกต้มเครือ รักษาเลือดลงทางทวารปาก	สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดสกลนคร, 2554)
15.	ยารักษาโรค	สระแก้ว	จ.สระแก้ว	แก่น เป็นยารักษาวัณโรค ลำต้น ต้มเป็นยาขับปัสสาวะ	

ที่	การจำแนกการใช้ประโยชน์	ชาติพันธุ์	จังหวัด/ภูมิภาค	วิธีการใช้ประโยชน์	อ้างอิง
				เถา เป็นยาแก้ไข้หรืออาการท้องเดิน	(สิริเชษฐ์ รัตนะชิตธวัช และจักรพงษ์ รัตตะมณี, 2560)
16.	น้ำมันเชื้อเพลิง	ไทลื้อ	เชียงใหม่	น้ำมันจากเมล็ด	(นัทธี เมืองเย็น, 2556)
17.	น้ำมันเชื้อเพลิง	ชาวบ้านอีสาน	อ.วาปีปทุม จ.มหาสารคาม	น้ำมันเชื้อเพลิงสำหรับจุดตะเกียง	(สถานีวิทยุโทรทัศน์แห่งประเทศไทย, 2556)

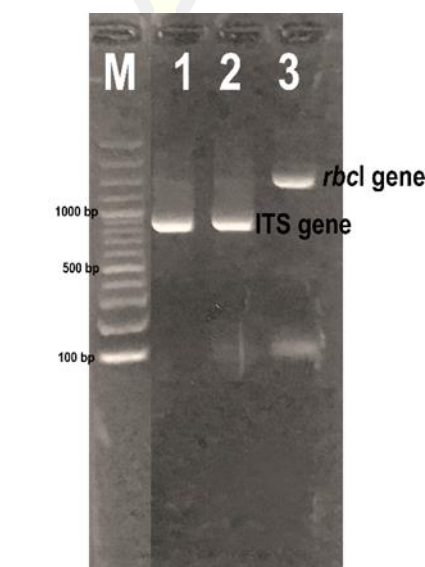
เมื่อนำข้อมูลจากการสำรวจการใช้ประโยชน์จากกระทงลายมาจำแนก พบว่ามีการใช้ประโยชน์เป็นอาหาร 35 เปอร์เซ็นต์ ยารักษาโรค 55 เปอร์เซ็นต์และน้ำมันเชื้อเพลิง 10 เปอร์เซ็นต์ แสดงรายละเอียดในภาพประกอบที่ 21



ภาพประกอบที่ 21 การใช้ประโยชน์จากกระทงลาย

4.4 ผลการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพทางพันธุกรรมของกระทงลาย

เมื่อนำดีเอ็นเอของกระทงลายที่สกัดไว้ไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะของ ยีน ITS และ *rbcl* ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ เมื่อตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ (PCR product) ด้วยเทคนิคอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยผลผลิตพีซีอาร์ของยีน ITS มีขนาดประมาณ 800 คู่เบส และ *rbcl* จะมีขนาดประมาณ 1200 คู่เบส (base pairs; bp) แสดงผลดังภาพประกอบที่ 22



ภาพประกอบที่ 22 ผลผลิตพีซีอาร์จากการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอของยีน ITS

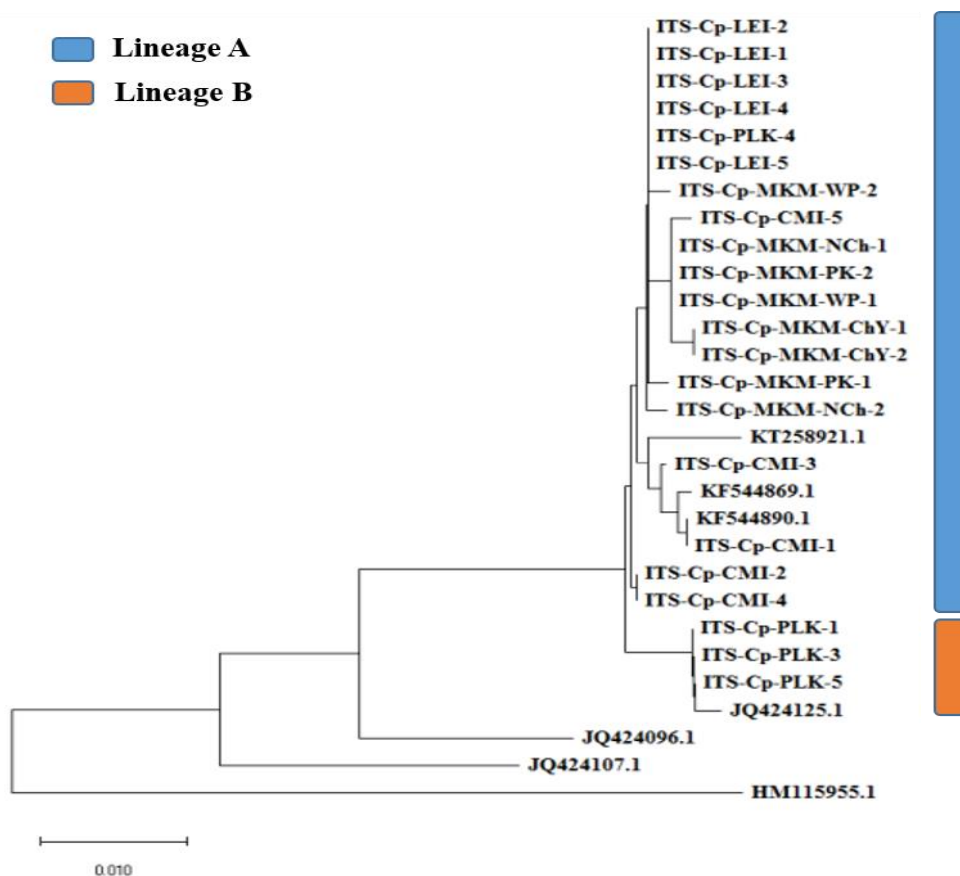
(lane 1-2) มีขนาดประมาณ 800 bp และ *rbcl* (lane 3) มีขนาด 1200 bp โดย lane M คือ 100 bp plus DNA marker

หลังจากเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนของยีน ITS และ *rbcl* ได้สำเร็จแล้ว นำผลผลิตพีซีอาร์มาทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวนทั้งสิ้น 46 ตัวอย่าง สำหรับยีน *rbcl* และ ITS (ตารางที่ 20) แล้วนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบ (alignment) ทั้งในส่วนของบริเวณ ITS และ *rbcl* ด้วยโปรแกรม Clustal W เพื่อหาตำแหน่งที่มีการแปรผันของลำดับนิวคลีโอไทด์ ความแตกต่างทางพันธุกรรม (genetic distance) ของกระทงลายแต่ละพื้นที่นำผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

(phylogenetic tree) ด้วยโปรแกรม MEGA version X (Kumar et al, 2018) ด้วยหลักการ neighbor-joining tree แสดงผลในภาพประกอบที่ 23-24

ตารางที่ 16 แสดงตัวอย่างผลผลิตพีซีอาร์ที่นำไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์

ที่	ตัวอย่าง	<i>rbcL</i>	ITS
1.	CP-CMI-1	✓	✓
2.	CP-CMI-2	✓	✓
3.	CP-CMI-3	✓	✓
4.	CP-CMI-4	✓	✓
5.	CP-CMI-5	✓	✓
6.	CP-PLK-1	✓	✓
7.	CP-PLK-2	✓	✓
8.	CP-PLK-3	✓	✓
9.	CP-PLK-4	✓	✓
10.	CP-PLK-5	✓	✓
11.	CP-LEI-1	✓	✓
12.	CP-LEI-2	✓	✓
13.	CP-LEI-3	✓	✓
14.	CP-LEI-4	✓	✓
15.	CP-LEI-5	✓	✓
16.	CP-MKM-CY-1	✓	✓
17.	CP-MKM-CY-2	✓	✓
18.	CP-MKM-NCY-1	✓	✓
19.	CP-MKM-NCY-2	✓	✓
20.	CP-MKM-WP-1	✓	✓
21.	CP-MKM-WP-2	✓	✓
22.	CP-MKM-PK-1	✓	✓
23.	CP-MKM-PK-2	✓	✓

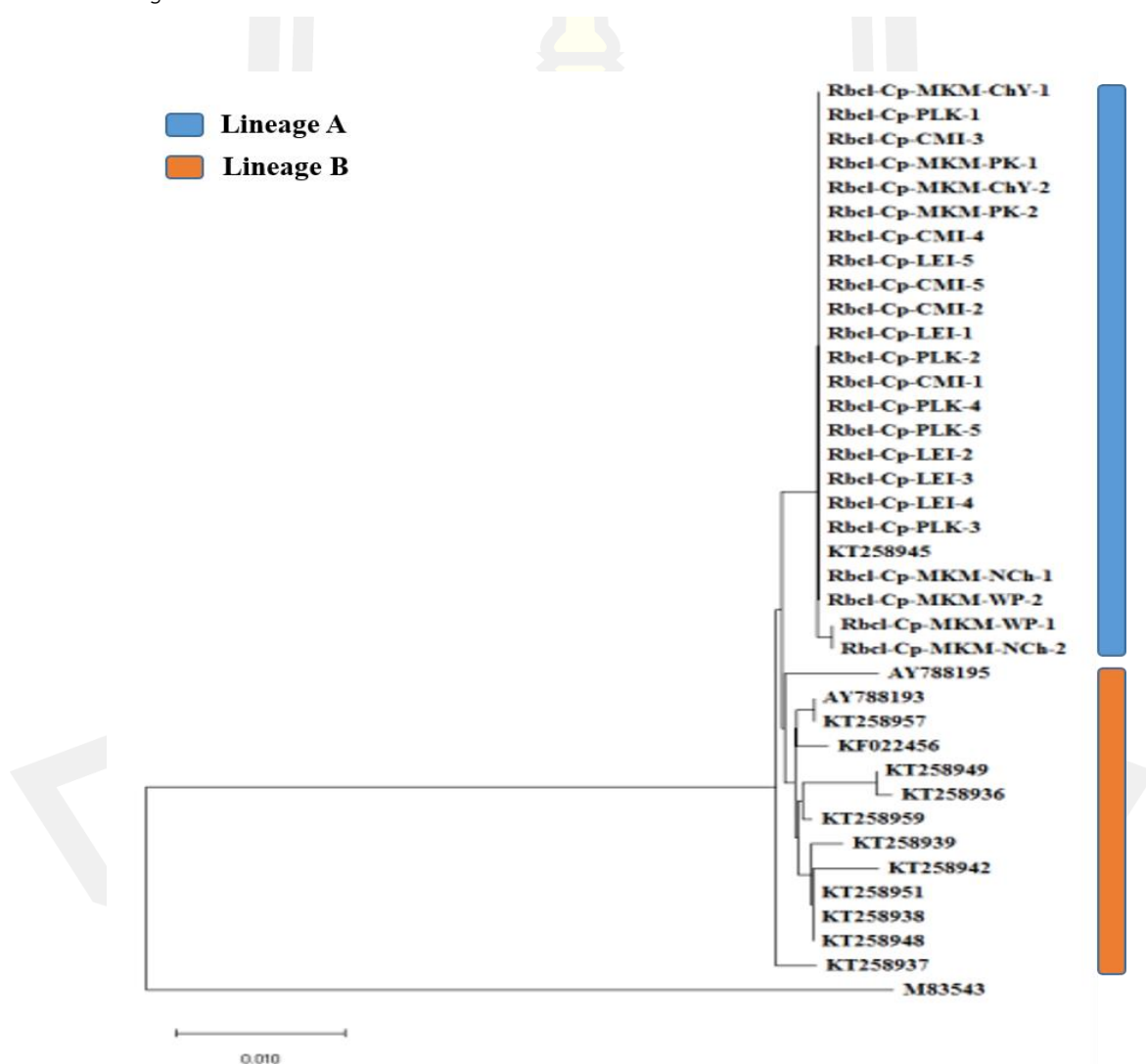


ภาพประกอบที่ 23 แผนภูมิสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ของกระถงลาย และ out-group ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ ITS ด้วยหลักการ neighbor-joining

จากแผนภูมิสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ของกระถงลาย วิเคราะห์ด้วยลำดับเบสบริเวณ ITS โดยทำการวิเคราะห์ร่วมกับนิวคลีโอไทด์ของพืชในกลุ่มเดียวกันที่สืบค้นได้จากฐานข้อมูล GenBank ได้แก่ *Celastrus paniculatus* (KT258921.1) และ KF544890.1) *Celastrus aculeatus* (JQ424096.1), *Celastrus hindsii* (JQ424107.1) และ *Cissus rotundifolia* (KF544869.1) โดยใช้ *Tripterygium regelii* (HM115955) เป็น out-group ผลการวิเคราะห์ พบว่ากระถงลายสามารถจำแนกได้ 2 กลุ่มพันธุกรรม คือ กลุ่มพันธุกรรม (lineage) A และ B โดยกลุ่มพันธุกรรม lineage A ประกอบไปด้วยกระถงลายจำนวน 19 ตัวอย่าง ประกอบไปด้วยตัวอย่างจากจังหวัดเลยจำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ ITS-CP-LEI-1, ITS-CP-LEI-2, ITS-CP-LEI-3, ITS-CP-LEI-4 และ ITS-CP-LEI-5 ตัวอย่างจากจังหวัดพิษณุโลกจำนวน 1 ตัวอย่าง คือ ITS-CP-PLK-4 ตัวอย่างจากจังหวัดมหาสารคามจำนวน 8 ตัวอย่าง ได้แก่ ITS-CP-MKM-WP2, ITS-CP-MKM-PK1, ITS-CP-MKM-NCH2, ITS-CP-MKM-WP1, ITS-CP-MKM-CHY1, ITS-CP-MKM-CHY2, ITS-CP-MKM-NCH1 และ ITS-CP-MKM-PK2 ตัวอย่างจากจังหวัดเชียงใหม่จำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่

ITS-CP-CMI-5, ITS-CP-CMI-3, ITS-CP-CMI-1, ITS-CP-CMI-2 และ ITS-CP-CMI-4 นอกจากนี้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของกระถางลายจากฐานข้อมูล GenBank ได้แก่ KT258921, KT544869 และ KT544890 ก็ถูกจัดอยู่ในกลุ่มพันธุกรรม lineage A ด้วยเช่นกัน

กลุ่มพันธุกรรม lineage B ประกอบไปด้วยตัวอย่างจากจังหวัดพิษณุโลกจำนวน 3 ตัวอย่าง ได้แก่ ITS-CP-PLK-1, ITS-CP-PLK-3 และ ITS-CP-PLK-5 และลำดับนิวคลีโอไทด์ของกระถางลายจากฐานข้อมูล GenBank ได้แก่ JQ424125 ก็ถูกจัดอยู่ในกลุ่มพันธุกรรม lineage B ด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ Phylogenetic tree โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcl* ก็จำแนกกระถางลายที่วิเคราะห์ในการศึกษาครั้งนี้ ออกได้เป็น 2 กลุ่มพันธุกรรม (lineage A และ lineage B) ด้วยเช่นกัน (ภาพประกอบที่ 24)



ภาพประกอบที่ 24 แผนภูมิสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ของกระถางลาย และ out-group ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ *rbcl* ด้วยหลักการ neighbor-joining

จากแผนภูมิต้นไม้สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ของกระถางลายวิเคราะห์ด้วยลำดับเบสบริเวณ *rbcL* โดยทำการวิเคราะห์ร่วมกับนิวคลีโอไทด์ของพืชในกลุ่มเดียวกันที่สืบค้นได้จากฐานข้อมูล GenBank จำนวนพืชทั้งหมด 14 สายพันธุ์ ได้แก่ *Celastrus scandens* (AY788195), *Tripterygium regelii* (AY788193), *Tripterygium regelii* (KT258957), *Celastrus orbiculatus* (KF022456), *Celastrus vaniotii* (KT258949), *Celastrus glaucophyllus* (KT258936), *Tripterygium wilfordii* (KT258959), *Celastrus hypoleucus* (KT258939), *Celastrus oblancheifolius* (KT258942), *Celastrus paniculatus* (KT258945), *Celastrus yuloensis* (KT25895), *Celastrus hirsutus* (KT258938), *Celastrus stylosus* (KT258948) และ *Celastrus hindsii* (KT258937) โดยใช้ *Schlumbergera truncate* (M83543) เป็น out-group ผลการวิเคราะห์ พบว่ากระถางลายสามารถจำแนกได้ 2 กลุ่มพันธุกรรม คือ กลุ่มพันธุกรรม (lineage) A และ B โดยกลุ่มพันธุกรรม lineage A ประกอบไปด้วยกระถางลายจำนวน 23 ตัวอย่าง ประกอบไปด้วยตัวอย่างจากจังหวัดเลยจำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ *rbcL-CP-LEI-1*, *rbcL-CP-LEI-2*, *rbcL-CP-LEI-3*, *rbcL-CP-LEI-4* และ *rbcL-CP-LEI-5* ตัวอย่างจากจังหวัดพิษณุโลกจำนวน 5 ตัวอย่าง คือ *rbcL-CP-PLK-1*, *rbcL-CP-PLK-2*, *rbcL-CP-PLK-3*, *rbcL-CP-PLK-4*, และ *rbcL-CP-PLK-5* ตัวอย่างจากจังหวัดมหาสารคามจำนวน 8 ตัวอย่าง ได้แก่ *rbcL-CP-MKM-WP2*, *rbcL-CP-MKM-PK1*, *rbcL-CP-MKM-NCH2*, *rbcL-CP-MKM-WP1*, *rbcL-CP-MKM-CHY1*, *rbcL-CP-MKM-CHY2*, *rbcL-CP-MKM-NCH1* และ *rbcL-CP-MKM-PK2* ตัวอย่างจากจังหวัดเชียงใหม่จำนวน 5 ตัวอย่าง ได้แก่ *rbcL-CP-CMI-1*, *rbcL-CP-CMI-2*, *rbcL-CP-CMI-3*, *rbcL-CP-CMI-4* และ *rbcL-CP-CMI-5*

นอกจากนี้ลำดับนิวคลีโอไทด์ของกระถางลายจากฐานข้อมูล GenBank ได้แก่ *rbcL-KT258945* ก็ถูกจัดอยู่ในกลุ่มพันธุกรรม lineage A ด้วยเช่นกัน

กลุ่มพันธุกรรม lineage B ประกอบไปด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มพืชจากฐานข้อมูล GenBank ได้แก่ AY788195, AY788193, KT258957, KF022456, KT258949, KT258936, KT258959, KT258939, KT258942, KT258945, KT258951, KT258938, KT258948 และ KT258937

4.5 ผลการทดสอบหาพิษเคมีในกระถางลาย

ผลการทดสอบหาพิษเคมีในเบื้องต้น เพื่อหาอัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และเทอร์ปีนอยด์ นำตัวอย่างที่แสดงโชนสีกับเชื้อแบคทีเรียในการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียจำนวนตัวอย่างที่นำมาทดสอบทั้งสิ้น 13 ตัวอย่าง แสดงผลการทดลองหาพิษเคมีเบื้องต้นในสารสกัดเมล็ดกระถางลายดังตารางที่ 19

ตารางที่ 17 ผลการทดลองหาพิษเคมีเบื้องต้นในสารสกัดเมล็ดกระถางลาย

No	ID	Alkaloid				Flavonoid	Tannin		terpenoid
		Dragendroff	Mayer	Hanger	Wagner	Ammonia	Feric acid	Leadacetate	
1.	CP-CMI	2+	1+	1+	1+	1+-	-	-	3+
2.	CP-PLK-1	2+	1+	1+	1+	2+	-	-	1+
3.	CP-LEI-15	2+	2+	2+	1+	2+	-	-	1+
4.	CP-LEI-30	2+	1+	1+	1+	2+	-	-	1+
5.	CP-MKM-NCH1	2+	1+	1+	2+	2+	-	-	1+
6.	CP-MKM-NCH1-15	2+	1+	1+	1+	2+	-	-	2+
7.	CP-MKM-NCH1-30	2+	1+	1+	1+	2+	-	-	2+
8.	CP-MKM-NCH2	2+	2+	1+	1+	2+	-	-	2+
9.	CP-MKM-NCH2-15	2+	1+	1+	2+	2+	-	-	1+
10.	CP-MKM-WP	2+	1+	1+	1+	2+	-	-	2+
11.	CP-MKM-WP-15	2+	1+	1+	1+	2+	-	-	3+
12.	CP-MKM-WP-30	2+	1+	1+	1+	2+	-	-	3+
13.	CP-MKM-PK2-15	2+	1+	1+	2+	2+	-	-	2+

เมื่อ - = ไม่พบ 1+ = พบน้อย (สีอ่อน) 2+ = พบมาก (สีเข้ม) 3+ = พบมากที่สุด (สีเข้ม)

4.6 การตรวจสอบลายพิมพ์โครมาโตกราฟีผิวบาง (TLC Fringerprint)

เมื่อนำตัวอย่างจากข้อ 4.5 ไปตรวจสอบลายพิมพ์โครมาโตกราฟีผิวบาง (TLC Fringerprint) ในสภาวะดังนี้

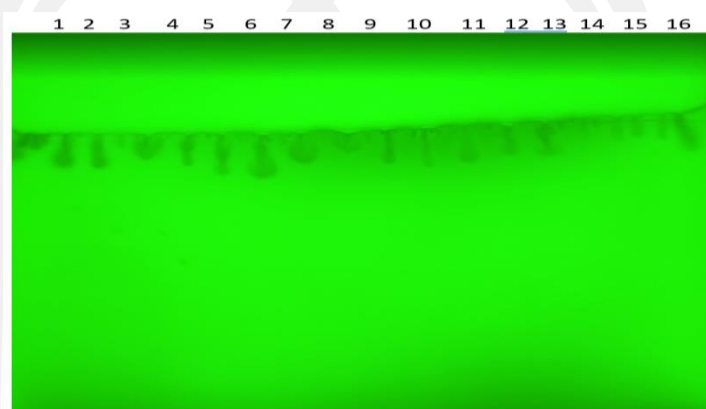
วัฏภาคคงที่ (stationary phase) : Activated Silicagel G

สารที่ใช้ในการอ่านค่า (Detecting agent) : Iodine

วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) :

Benzene: Chloroform: Ethyl acetate (80: 10: 10)

ได้ลายพิมพ์โครมาโตกราฟีผิวบางจากสารสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระทงลายแสดงดังภาพประกอบที่ 25



ภาพประกอบที่ 25 ลายพิมพ์โครมาโตกราฟีผิวบางจากสารสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระทงลาย

- | | | |
|--------------------|---------------------------------|--------------------|
| 1 = CP-CMI | 2 = CP-MKM-NCH1 | 3 = CP-MKM-NCH1-15 |
| 4 = CP-MKM-NCH1-30 | 5 = CP-MKM-NCH2 | 6 = CP-MKM-NCH2-15 |
| 7 = CP-MKM-PK2-15 | 8 = CP-LEI-15 | 9 = CP-LEI-30 |
| 10 = CPMKM-WP | 11 = CPMKM-WP-15 | 12 = CPMKM-WP-30 |
| 13 = CP-PLK | 14 = Blank1 | 15 = Piperine |
| 16 = Atropine | รวมทั้งหมด 16 เลน เรียงตามลำดับ | |

พบว่าสารสกัดน้ำมันกระทงลายไม่แยกเป็นลายพิมพ์โครมาโตกราฟีในทุกเลนในการใช้วัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) : Benzene: Chloroform: Ethyl acetate (80 : 10 : 10)

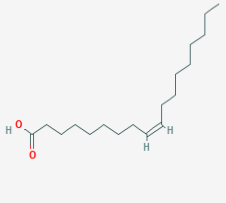

4.7 การตรวจวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS)

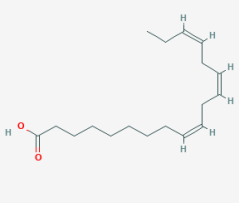
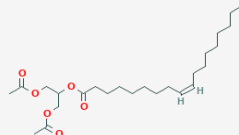
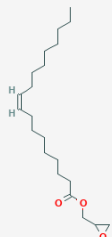
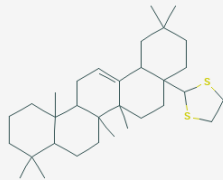
การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบอินทรีย์ ทดสอบโดยนำตัวอย่างน้ำมันที่ให้ผลบวกกับการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์และตัวแทนของน้ำมันสกัดจากแต่ละพื้นที่สำรวจรวม

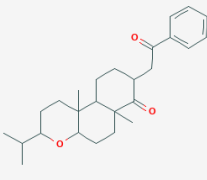
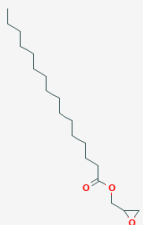
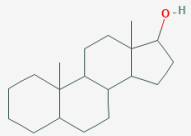
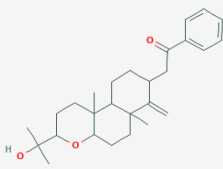
4 ตัวอย่างประกอบด้วย CP-CMI CP-PLK CP-LEI-30 และ CP-MKM-WP-15 มาวิเคราะห์หาสารประกอบอินทรีย์ประเภทต่างๆ โดยใช้เครื่องมือแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS)

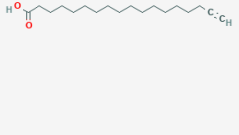
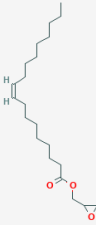
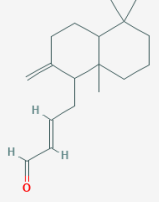
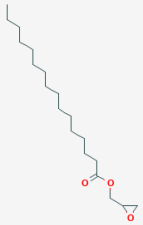
สภาวะของเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์สารสกัดน้ำมันจากกระถางลายด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี แมสสเปกโตรเมตรี ยี่ห้อ PerkinElmer® รุ่น Claus 680 (GC) Clarus SQ8C (MS) ใช้คอลัมน์ Elite-5 MS 30 meter x 0.32 mmID x 0.25 umdf แสดงผลตรวจวิเคราะห์สารสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระถางลาย ดังตารางที่ 20

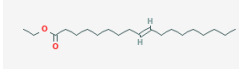
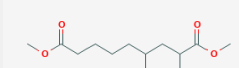
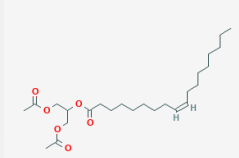
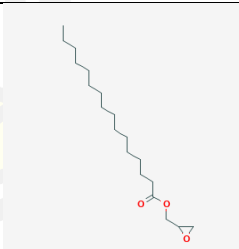
ตารางที่ 18 แสดงผลตรวจวิเคราะห์สารสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระถางลาย

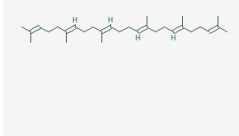
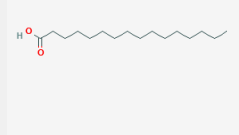
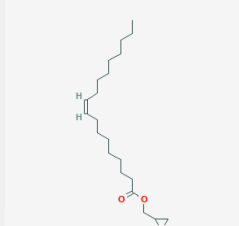
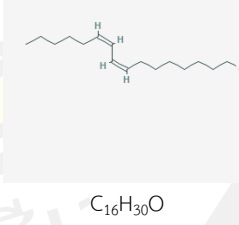
รหัสตัวอย่าง	ที่	ลำดับสารเคมีในโครมาโทแกรม #	ร้อยละพื้นที่ใต้กราฟ (Area %)	ร้อยละความเหมือน (Norm %)	องค์ประกอบสารเคมี	โครงสร้างทางเคมี (National Center for Biotechnology Information, 2019)
CP-CMI	1.	7	23.085	100.00	Oleic Acid	 $C_{18}H_{34}O_2$
	2	1	9.833	42.60	Z-3-Octadecen-1-ol acetate	 $C_{20}H_{38}O_2$
รหัสตัวอย่าง	ที่	ลำดับสารเคมีในโครมาโทแกรม #	ร้อยละพื้นที่ใต้กราฟ (Area %)	ร้อยละความเหมือน (Norm %)	องค์ประกอบสารเคมี	โครงสร้างทางเคมี (National Center for Biotechnology Information, 2019)

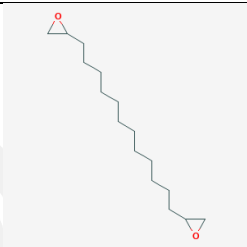
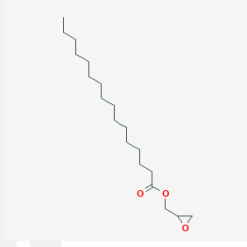
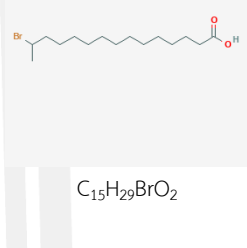
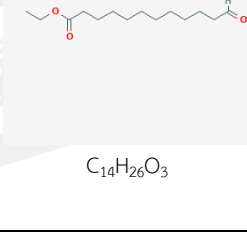
	3	15	6.614	28.65	9,12,15-Octadecatrienoic acid	 $C_{18}H_{30}O_2$
CP-CMI	4	17	4.867	21.08	9-Octadecenoic acid (Z)-, 2-(acetyloxy)-1-[(acetyloxy)methyl] ethyl ester	 $C_{25}H_{44}O_6$
	5	9	4.242	18.37	Glycidyl oleate	 $C_{21}H_{38}O_3$
	6	14	4.074	17.65	Olean-12-en-28-al, cyclic 1,2-ethanediyl mercaptal	 $C_{32}H_{52}S_2$
รหัส ตัวอย่าง	ที่	ลำดับ สารเคมี ในโคร มาโตร แกรม #	ร้อยละ พื้นที่ได้ กราฟ (Area %)	ร้อยละ ความ เหมือน (Norm %)	องค์ประกอบ สารเคมี	โครงสร้างทางเคมี (National Center for Biotechnology Information, 2019)

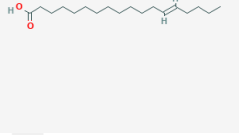
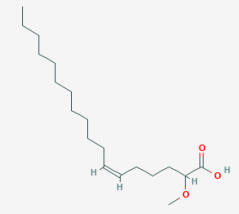
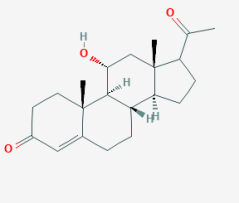
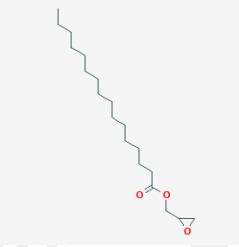
	7	21	3.653	15.83	3-Isopropyl-6a,10b-dimethyl-8-(2-oxo-2-phenylethyl)-dodecahydrobenzo[f]chromen-7-one	 $C_{26}H_{36}O_3$
CP-CMI	8	12	3.093	13.40	Glycidyl palmitate	 $C_{19}H_{36}O_3$
	9	20	2.722	11.79	Androstan-17b-ol	 $C_{19}H_{32}O$
	10	22	2.525	10.94	2-[3-(1-Hydroxy-1-methyl-ethyl)-6a,10b-dimethyl-7-methylene-dodecahydrobenzo[f]chromen-8-yl]-1-phenyl-ethanone	 $C_{27}H_{38}O_3$
รหัส ตัวอย่าง	ที่	ลำดับ สารเคมี ในโคร มาโตร แกรม #	ร้อยละ พื้นที่ได้ กราฟ (Area %)	ร้อยละ ความ เหมือน (Norm %)	องค์ประกอบ สารเคมี	โครงสร้างทางเคมี (National Center for Biotechnology Information, 2019)

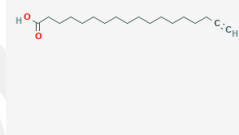
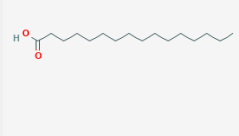
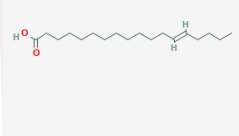
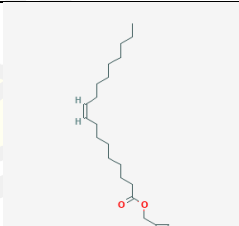
	1	5	13.982	100.00	17-Octadecynoic acid	 $C_{18}H_{32}O_2$
CP-PLK	2	14	9.843	70.40	Glycidyl oleate	 $C_{21}H_{38}O_3$
	3	18	5.501	39.34	(E)-15,16-Dinorlabda-8(17),12-dien-14-al	 $C_{18}H_{28}O$
	4	12	5.267	37.67	Glycidyl palmitate	 $C_{19}H_{36}O_3$
รหัส ตัวอย่าง	ที่	ลำดับสารเคมีในโครมาโทแกรม #	ร้อยละพื้นที่ใต้กราฟ (Area %)	ร้อยละความเหมือน (Norm %)	องค์ประกอบสารเคมี	โครงสร้างทางเคมี (National Center for Biotechnology Information, 2019)

	5	7	3.844	27.49	(E)-9-Octadecenoic acid ethyl ester	 $C_{20}H_{38}O_2$
CP-PLK	6	8	3.689	26.39	2,4-Dimethyl-nonanedioic acid, dimethyl ester	 $C_{13}H_{24}O_4$
	7	21	3.012	21.54	9-Octadecenoic acid (Z)-, 2-(acetyloxy)-1-[(acetyloxy)methyl] ethyl ester	 $C_{25}H_{44}O_6$
	8	15	1.510	10.80	Glycidyl palmitate	 $C_{19}H_{36}O_3$
รหัส ตัวอย่าง	ที่	ลำดับ สารเคมี ในโคร มาโตร แกรม #	ร้อยละ พื้นที่ได้ กราฟ (Area %)	ร้อยละ ความ เหมือน (Norm %)	องค์ประกอบ สารเคมี	โครงสร้างทางเคมี (National Center for Biotechnology Information, 2019)

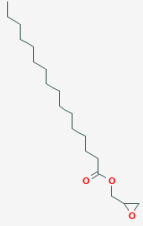
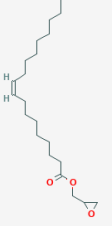
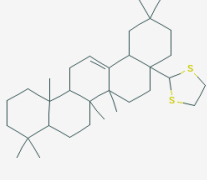
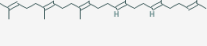
	9	20	1.420	10.15	Squalene	 $C_{30}H_{50}$
CP-PLK	10	16	1.167	8.34	n-Hexadecanoic acid	 $C_{16}H_{32}O_2$
CP-LEI-30	1	16	12.289	100.00	Glycidyl oleate	 $C_{21}H_{38}O_3$
	2	6	6.849	55.73	Z,Z-8,10-Hexadecadien-1-ol	 $C_{16}H_{30}O$
รหัส ตัวอย่าง	ที่	ลำดับ สารเคมี ในโคร มาโตร	ร้อยละ พื้นที่ได้ กราฟ (Area %)	ร้อยละ ความ เหมือน (Norm %)	องค์ประกอบ สารเคมี	โครงสร้างทางเคมี (National Center for Biotechnology Information, 2019)

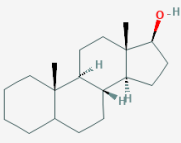
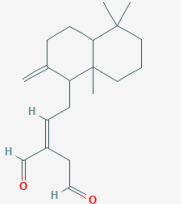
		แกรม #				
	3	4	6.155	50.08	1,2-15,16-Diepoxyhexadecane	 $C_{16}H_{30}O_2$
CP-LEI-30	4	14	5.715	46.50	Glycidyl palmitate	 $C_{19}H_{36}O_3$
	5	9	3.309	26.93	Pentadecanoic acid, 14-bromo-	 $C_{15}H_{29}BrO_2$
	6	10	3.369	27.42	12-Oxododecanoic acid, ethyl ester	 $C_{14}H_{26}O_3$
รหัส ตัวอย่าง	ที่	ลำดับ สารเคมี ในโคร	ร้อยละ พื้นที่ได้ กราฟ	ร้อยละ ความ เหมือน	องค์ประกอบ สารเคมี	โครงสร้างทางเคมี

		มาโตร แกรม #	(Area %)	(Norm %)		(National Center for Biotechnology Information, 2019)
	7	5	1.983	16.14	trans-13- Octadecenoic acid (Oleic acid)	 $C_{18}H_{34}O_2$
CP-LEI-30	8	8	1.639	13.34	(Z)-2- methoxyoctadec-6- enoic acid	 $C_{19}H_{36}O_3$
	9	19	1.605	13.06	Pregn-4-ene-3,20- dione, 11-hydroxy-, (11à)-	 $C_{21}H_{30}O_3$
	10	17	1.561	12.70	Glycidyl palmitate	 $C_{19}H_{36}O_3$
รหัส ตัวอย่าง	ที่	ลำดับ สารเคมี ในโคร มาโตร	ร้อยละ พื้นที่ใต้ กราฟ	ร้อยละ ความ เหมือน	องค์ประกอบ สารเคมี	โครงสร้างทางเคมี (National Center for Biotechnology Information, 2019)

		แกรม #	(Area %)	(Norm %)		
CP-MKM-WP-15	1	3	7.907	100.00	17-Octadecynoic acid	 $C_{18}H_{32}O_2$
CP-MKM-WP-15	2	4	6.197	78.37	n-Hexadecanoic acid	 $C_{16}H_{32}O_2$
	3	7	5.492	69.47	trans-13-Octadecenoic acid (Oleic acid)	 $C_{18}H_{34}O_2$
	4	10	5.255	66.47	Glycidyl oleate	 $C_{21}H_{38}O_3$

รหัส ตัวอย่าง	ที่	ลำดับ สารเคมี ในโคร	ร้อยละ พื้นที่ใต้ กราฟ	ร้อยละ ความ เหมือน	องค์ประกอบ สารเคมี	โครงสร้างทางเคมี
---------------	-----	---------------------	------------------------	--------------------	--------------------	------------------

		มาโตร แกรม #	(Area %)	(Norm %)		(National Center for Biotechnology Information, 2019)
CP-MKM- WP-15	5	8	3.622	45.80	Glycidyl palmitate	 $C_{19}H_{36}O_3$
	6	11	3.545	44.83	Glycidyl oleate	 $C_{21}H_{38}O_3$
	7	13	2.905	36.74	Olean-12-en-28-al, cyclic 1,2-ethanediyl mercaptal	 $C_{32}H_{52}S_2$
	8	15	2.891	36.56	Squalene	 $C_{30}H_{50}$
รหัส ตัวอย่าง	ที่	ลำดับ สารเคมี ในโคร มาโตร	ร้อยละ พื้นที่ได้ กราฟ	ร้อยละ ความ เหมือน	องค์ประกอบ สารเคมี	โครงสร้างทางเคมี (National Center for Biotechnology Information, 2019)

		แกรม #	(Area %)	(Norm %)		
CP-MKM- WP-15	9	18	2.114	26.74	Androstan-17-ol	 $C_{19}H_{32}O$
	10	12	2.050	25.93	8(17),12- Labdadiene-15,16- dial	 $C_{20}H_{30}O_2$

จากตารางที่ 21 พบว่าน้ำมันสกัดจากเมล็ดกระทงหลาย CP-CMI CP-PLK CP-LEII-30 และ CP-MKM-WP-15 มีองค์ประกอบของสารเคมีโดยจำแนกตามคุณสมบัติของสารเคมีที่แยกได้ออกเป็น 10 องค์ประกอบ/ตัวอย่าง และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับชนิดสารเคมีที่พบในแต่ละตัวอย่าง จำแนกออกได้จำนวนองค์ประกอบสารทั้งหมด 23 องค์ประกอบ แสดงดังตารางที่ 21

ตารางที่ 19 เปรียบเทียบชนิดสารเคมีที่พบในแต่ละตัวอย่าง

			รหัสตัวอย่างและร้อยละพื้นที่ได้กราฟ
--	--	--	-------------------------------------

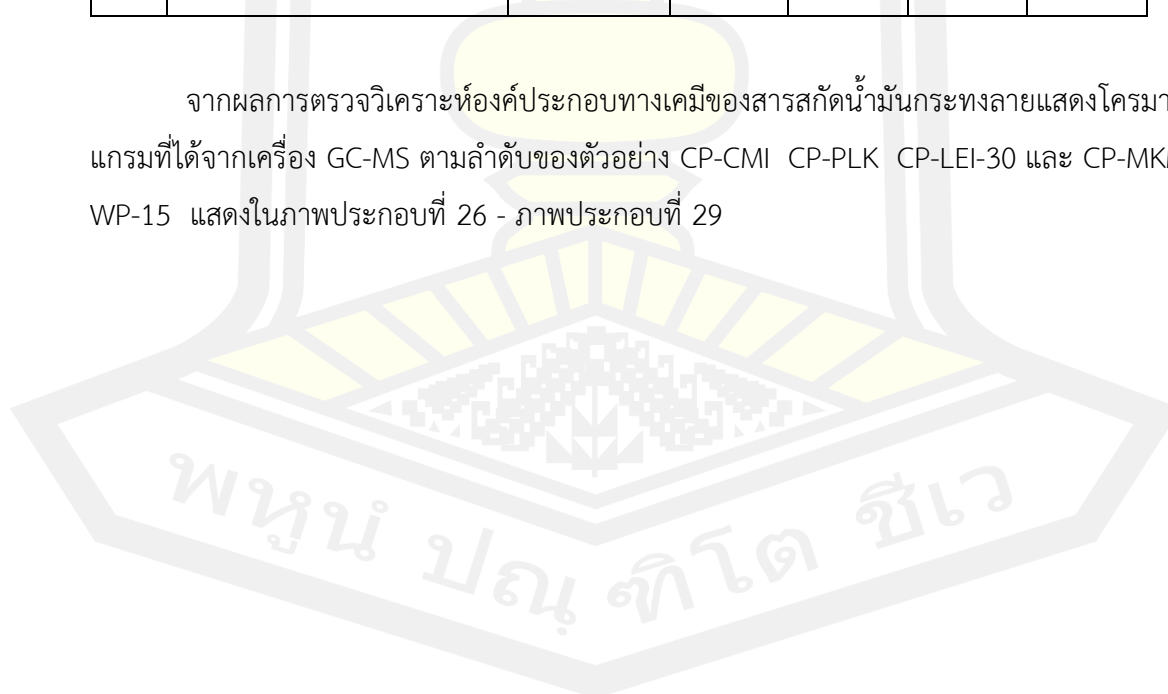
ที่	สารเคมี	สูตรเคมี	CP-CMI	CP-PLK	CP-LEI-30	CP-MKM-WP-15
1.	Androstan-17b-ol	$C_{19}H_{32}O$	2.722			2.114
2.	1,2-15,16-Diepoxyhexadecane	$C_{16}H_{30}O_2$			6.155	
3.	2,4-Dimethyl-nonanedioic acid, dimethyl ester	$C_{13}H_{24}O_4$		3.689		
4.	(E)-15,16-Dinorlabda-8(17),12-dien-14-al	$C_{18}H_{28}O$		5.501		
5.	Glycidyl oleate	$C_{21}H_{38}O_3$	4.242	9.843	12.289	5.255
6.	Glycidyl palmitate	$C_{19}H_{36}O_3$	3.093	5.267	5.715	3.622
7.	n-Hexadecanoic acid (Palmitic Acid)	$C_{16}H_{32}O_2$		1.167		6.197
8.	Z,Z-8,10-Hexadecadien-1-ol	$C_{16}H_{30}O$			6.849	
9.	2-[3-(1-Hydroxy-1-methyl-ethyl)-6a,10b-dimethyl-7-methylene-dodecahydro-benzo[f]chromen-8-yl]-1-phenyl-ethanone	$C_{27}H_{38}O_3$	2.525			

			รหัสตัวอย่างและร้อยละพื้นที่ใต้กราฟ
--	--	--	-------------------------------------

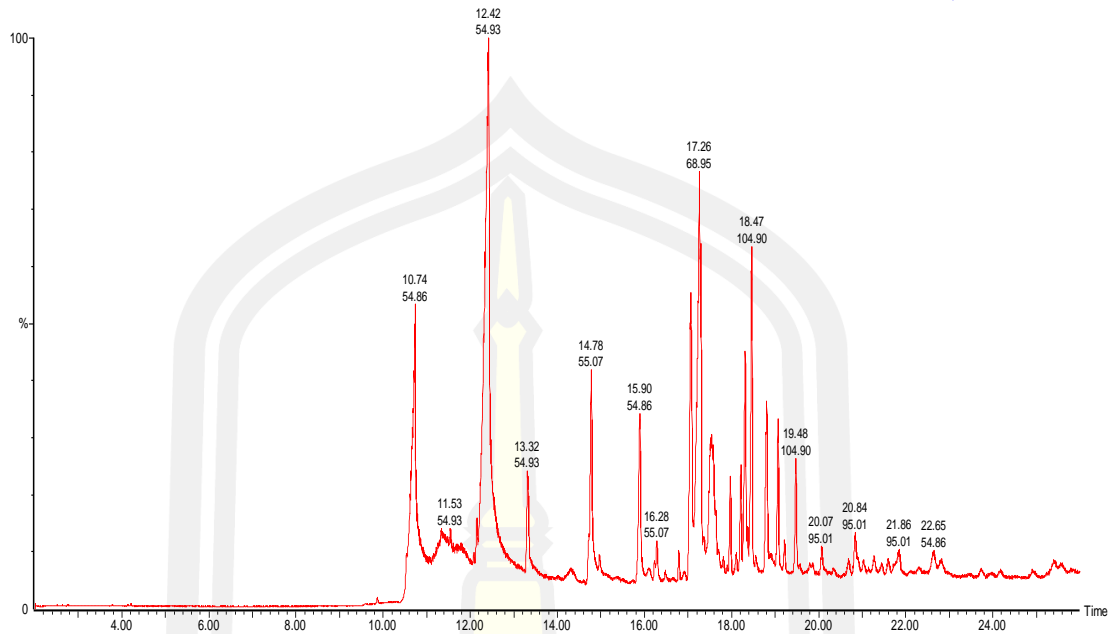
ที่	สารเคมี	สูตรเคมี	CP-CMI	CP-PLK	CP-LEI-30	CP-MKM-WP-15
10.	3-Isopropyl-6a,10b-dimethyl-8-(2-oxo-2-phenylethyl)-dodecahydrobenzo[f]chromen-7-one	$C_{26}H_{36}O_3$	3.653			
11.	8(17),12-Labdadiene-15,16-dial	$C_{20}H_{30}O_2$				2.050
12.	(Z)-2-methoxyoctadec-6-enoic acid	$C_{19}H_{36}O_3$			1.639	
13.	12-Oxododecanoic acid, ethyl ester	$C_{14}H_{26}O_3$			3.369	
14.	9,12,15-Octadecatrienoic acid	$C_{18}H_{30}O_2$	6.614			
15.	Z-3-Octadecen-1-ol acetate	$C_{20}H_{38}O_2$	9.833			
16.	17-Octadecynoic acid	$C_{18}H_{32}O_2$		13.982		7.907
17.	9-Octadecenoic acid (Z)-, 2-(acetyloxy)-1-[(acetyloxy)methyl]ethyl ester	$C_{25}H_{44}O_6$	4.867	3.012		
18.	(E)-9-Octadecenoic acid ethyl ester	$C_{20}H_{38}O_2$		3.844		
			รหัสตัวอย่างและร้อยละพื้นที่ใต้กราฟ			

ที่	สารเคมี	สูตรเคมี	CP-CMI	CP-PLK	CP-LEI-30	CP-MKM-WP-15
19.	Olean-12-en-28-al, cyclic 1,2-ethanediyl mercaptal	$C_{32}H_{52}S_2$	4.074			2.905
20.	Oleic Acid (trans-13-Octadecenoic acid)	$C_{18}H_{34}O_2$	23.085		1.983	5.492
21.	Pregn-4-ene-3,20-dione, 11-hydroxy-, (11à)-	$C_{21}H_{30}O_3$			1.605	
22.	Pentadecanoic acid	$C_{15}H_{29}BrO_2$			3.309	
23.	Squalene	$C_{30}H_{50}$		1.402		2.891

จากผลการตรวจวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดน้ำมันกระทวยแสดงโครมาโตแกรมที่ได้จากเครื่อง GC-MS ตามลำดับของตัวอย่าง CP-CMI CP-PLK CP-LEI-30 และ CP-MKM-WP-15 แสดงในภาพประกอบที่ 26 - ภาพประกอบที่ 29

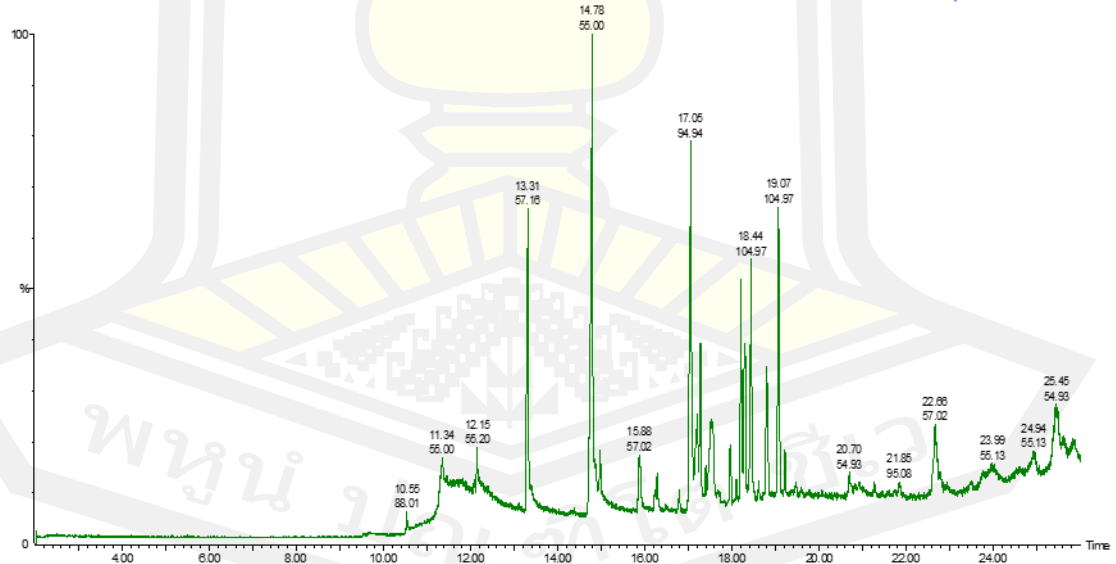


, 22-Oct-2020 + 09:47:58



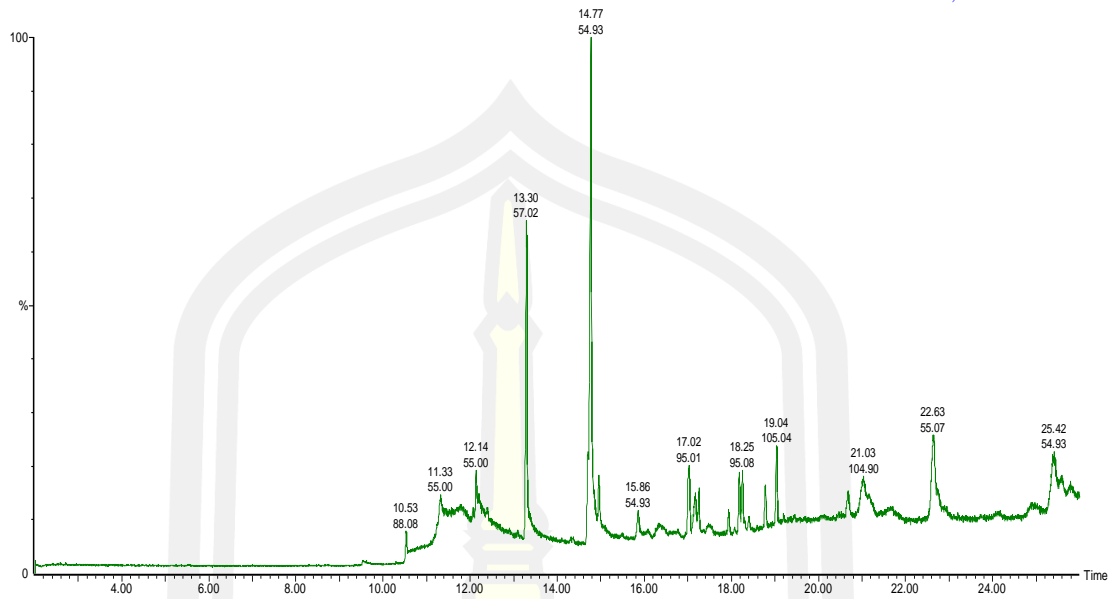
ภาพประกอบที่ 26 โครมาโตแกรมที่ได้จากเครื่อง GC-MS ของตัวอย่างน้ำมัน CP-CMI

, 22-Oct-2020 + 11:53:53



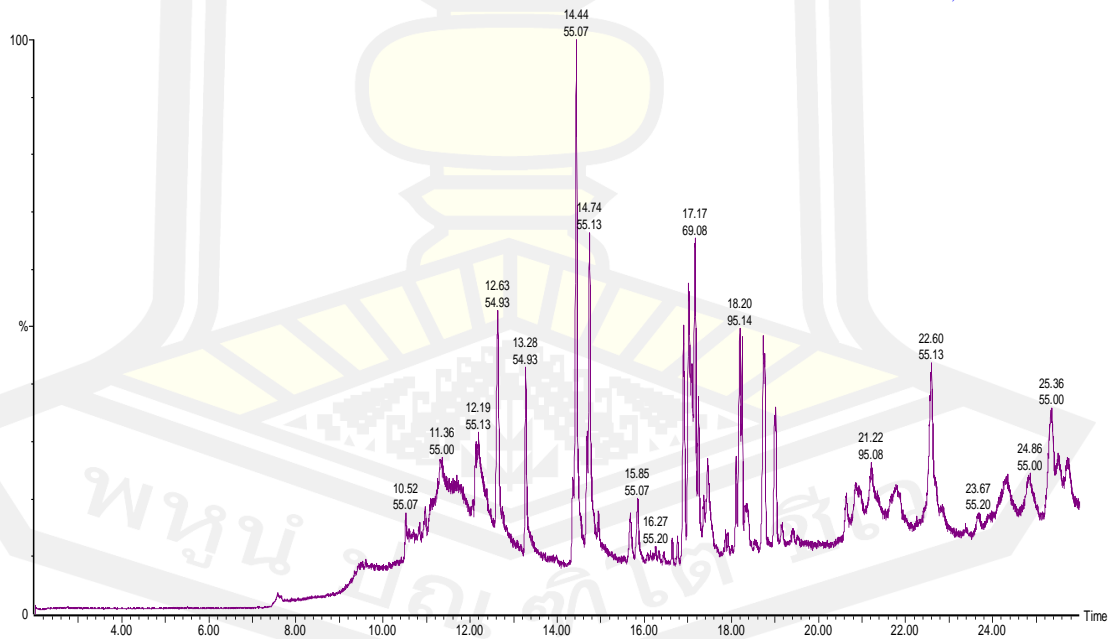
ภาพประกอบที่ 27 โครมาโตแกรมที่ได้จากเครื่อง GC-MS ของตัวอย่างน้ำมัน CP-PLK

, 22-Oct-2020 + 10:25:10



ภาพประกอบที่ 28 โครมาโตแกรมที่ได้จากเครื่อง GC-MS ของตัวอย่างน้ำมัน CP-LEI-30

, 22-Oct-2020 + 11:16:01



ภาพประกอบที่ 29 โครมาโตแกรมที่ได้จากเครื่อง GC-MS ของตัวอย่างน้ำมัน CP-MKM-WP-15

4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของแบคทีเรีย

นำสารสกัดน้ำมันกระถางหลายจำนวนทั้งสิ้น 24 ตัวอย่าง มาตรวจสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียก่อโรค 4 สายพันธุ์ คือ *S. aureus* DMST 19376 *B. cereus* DMST 6228 *E. coli* DMST 15537 และ *P. acnaes* DMST 14916 ด้วยวิธี agar diffusion ที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V) พบว่า มี 12 ตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อโดยสารสกัด CP-MKM-NCH1 CP-MKM-NCH2-15 CP-MKM-PK-15 CP-LEI 15 CP-MKM-WP CP-MKM-WP-15 CP-MKM-WP-30 และ CP-PLK-15 มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* DMST 19376 และสารสกัด CP-CMI CP-MKM-NCH1-15 CP-MKM-NCH1-30 และ CP-LEI-30 มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *B. cereus* DMST 6228 และสารสกัดทุกตัว ยกเว้น CP-MKM-PK1 และ CP-MKM-PK1-15 มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. acnaes* DMST 14916 และไม่มีสารสกัดน้ำมันกระถางหลายที่ต้านการเจริญของ *E. coli* DMST 15537 แสดงดังตารางที่ 22

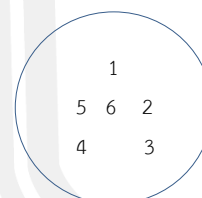
ตารางที่ 20 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของแบคทีเรียที่มีผลบวกต่อสารสกัดน้ำมันกระถางหลาย

สารสกัด	ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibition zone (mean \pm SD) (มิลลิเมตร) ในแต่ละร้อยละของความเข้มข้น											
	<i>S. aureus</i> DMST 19376			<i>B. cereus</i> DMST 6228			<i>E. coli</i> DMST 15537			<i>P. acnaes</i> DMST 14916		
	100%	50%	25%	100%	50%	25%	100%	50%	25%	100%	50%	25%
CP-CMI-1	NI	0.85 ± 0.08	1.00 ± 0.05	NI	0.86 ± 0.05	1.08 ± 0.07	NI	NI	NI	NI	1.04 ± 0.16	1.09 ± 0.12
CP-CMI-15	NI	1.05 ± 0.06	1.00 ± 0.08	NI	0.86 ± 0.07	1.01 ± 0.05	NI	NI	NI	NI	0.91 ± 0.05	1.18 ± 0.12
CP-CMI-30	NI	0.82 ± 0.02	0.82 ± 0.03	NI	0.91 ± 0.02	1.04 ± 0.02	NI	NI	NI	NI	0.97 ± 0.09	1.29 ± 0.13
CP-PLK-1	NI	NI	0.98 ± 0.01	NI	0.9 ± 0.06	0.9 ± 0.04	NI	NI	NI	NI	1.86 ± 0.02	1.02 ± 0.09
CP-PLK-15	NI	NI	1.05 ± 0.04	NI	0.95 ± 0.11	1.02 ± 0.06	NI	NI	NI	NI	0.96 ± 0.04	1.09 ± 0.03
CP-PLK-30	NI	NI	0.91 ± 0.01	NI	0.79 ± 0.07	0.95 ± 0.04	NI	NI	NI	NI	0.86 ± 0.04	1.29 ± 0.13
CP-LEI-1	NI	NI	1.02 ± 0.04	NI	0.84 ± 0.06	0.94 ± 0.19	NI	NI	NI	NI	NI	0.84 ± 0.07
CP-LEI-15	NI	NI	1.05 ± 0.05	NI	0.79 ± 0.07	0.94 ± 0.09	NI	NI	NI	NI	NI	0.75 ± 0.07

สารสกัด	ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางของ inhibition zone (mean \pm SD) (มิลลิเมตร) ในแต่ละร้อยละของความเข้มข้น											
	<i>S. aureus</i> DMST 19376			<i>B. cereus</i> DMST 6228			<i>E. coli</i> DMST 15537			<i>P. acnaes</i> DMST 14916		
	100%	50 %	25%	100%	50%	25%	100%	50%	25%	100%	50%	25%
CP-LEI-30	NI	NI	0.98 ± 0.02	NI	NI	1.16 ± 0.12	NI	NI	NI	NI	0.83 ± 0.06	0.94 ± 0.21
CP-MKM-NCH1-1	NI	0.92 ± 0.04	1.05 ± 0.09	NI	0.88 ± 0.12	0.96 ± 0.03	NI	NI	NI	NI	0.91 ± 0.05	1.18 ± 0.12
CP-MKM-NCH1-15	NI	0.91 ± 0.11	1.00 ± 0.12	NI	0.98 ± 0.05	1.07 ± 0.07	NI	NI	NI	NI	0.84 ± 0.03	1.04 ± 0.13
CP-MKM-NCH1-30	NI	0.88 ± 0.08	1.01 ± 0.12	NI	0.98 ± 0.06	1.09 ± 0.10	NI	NI	NI	NI	1.04 ± 0.07	1.04 ± 0.11
CP-MKM-NCH2-1	NI	0.82 ± 0.23	NI	NI	0.77 ± 0.05	0.97 ± 0.02	NI	NI	NI	NI	NI	1.00 ± 0.08
CP-MKM-NCH2-15	NI	0.93 ± 0.10	1.13 ± 0.07	NI	0.86 ± 0.06	0.92 ± 0.01	NI	NI	NI	NI	NI	0.94 ± 0.05
CP-MKM-NCH2-30	NI	0.85 ± 0.04	0.94 ± 0.07	NI	0.86 ± 0.09	0.91 ± 0.03	NI	NI	NI	NI	NI	1.02 ± 0.04
CP-MKM-WP-1	NI	NI	1.06 ± 0.07	NI	0.71 ± 0.01	0.95 ± 0.04	NI	NI	NI	NI	0.78 ± 0.11	1.03 ± 0.13
CP-MKM-WP-15	NI	NI	1.25 ± 0.08	NI	0.84 ± 0.09	0.97 ± 0.03	NI	NI	NI	NI	0.80 ± 0.04	1.10 ± 0.03
CP-MKM-WP-30	NI	NI	1.23 ± 0.21	NI	1.00 ± 0.10	1.12 ± 0.03	NI	NI	NI	NI	0.51 ± 0.45	1.09 ± 0.03
CP-MKM-PK1-1	NI	0.81 ± 0.01	0.95 ± 0.04	NI	0.85 ± 0.04	0.95 ± 0.10	NI	NI	NI	NI	NI	NI
CP-MKM-PK1-15	NI	0.83 ± 0.05	0.97 ± 0.05	NI	0.80 ± 0.01	1.01 ± 0.12	NI	NI	NI	NI	NI	NI
CP-MKM-PK1-30	NI	0.85 ± 0.05	0.91 ± 0.08	NI	0.91 ± 0.05	1.01 ± 0.04	NI	NI	NI	NI	0.09 ± 0.01	0.97 ± 0.01
CP-MKM-PK2-1	NI	0.83 ± 0.06	0.99 ± 0.06	NI	0.87 ± 0.06	1.02 ± 0.06	NI	NI	NI	NI	NI	0.88 ± 0.10
CP-MKM-PK2-15	NI	NI	1.12 ± 0.16	NI	0.89 ± 0.06	0.99 ± 0.04	NI	NI	NI	NI	0.91 ± 0.04	NI
CP-MKM-PK2-30	NI	NI	0.96 ± 0.02	NI	0.72 ± 0.07	0.94 ± 0.05	NI	NI	NI	NI	NI	0.88 ± 0.06

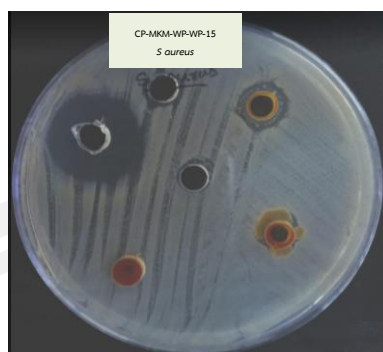
NI คือ no inhibition zone

นำสารสกัด CP-LEI-30 ที่มีฤทธิ์ต้าน *B. cereus* DMST 6228 สารสกัด CP-MKM-WP-15 ที่มีฤทธิ์ต้าน *S. aureus* DMST 19376 และ สารสกัด CP-CMI-30 มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. acnaes* DMST 14916 ซึ่งมีผลของการสร้างโซนใสที่มีค่ามากที่สุดที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V) แสดงในภาพประกอบที่ 30-32 ตามลำดับ นำมาศึกษาความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพที่น้อยที่สุด ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (MIC, minimum inhibitory concentration) และค่าความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพที่น้อยที่สุดที่ฆ่าแบคทีเรียได้ 99.9 เปอร์เซ็นต์ (MBC, minimum bacteriocidal concentration) พบว่าค่า MIC ของสารสกัดน้ำมัน CP-LEI-30 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *B. cereus* DMST 6228 ที่ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V) CP-MKM-WP-30 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* DMST 19376 ที่ความเข้มข้น 12.5 เปอร์เซ็นต์ (V/V) และ CP-CMI-30 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *P. acnaes* DMST 14916 ความเข้มข้น 0.78 เปอร์เซ็นต์ (V/V) แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดในภาพประกอบที่ 34-36 และเมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) พบว่าไม่มีความเข้มข้นใดที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อ *B. cereus* DMST 6228 *S. aureus* DMST 19376 และ *P. acnaes* DMST 14916



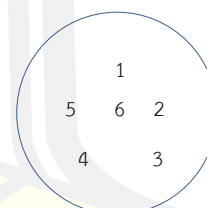
ภาพประกอบที่ 30 ฤทธิ์ต้าน *B. cereus* DMST 6228 ของสารสกัด CP-LEI-30 ที่มีค่าโซนใสมากที่สุด ที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V)

- 1 = ampicillin 50 μ l/ml
- 2 = สารสกัด CP-LEI-30 ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V)
- 3 = สารสกัด CP-LEI-30 ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (V/V)
- 4 = สารสกัด CP-LEI-30 ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (V/V)
- 5 = absolute ethanol
- 6 = tetracyclin 50 μ l/ml



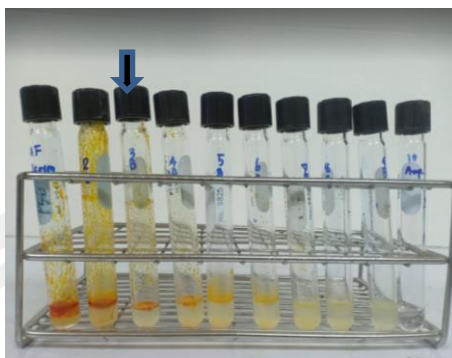
ภาพประกอบที่ 31 ฤทธิ์ต้าน *S. aureus* DMST 19376 ของสารสกัด CP-MKM-WP-15 ที่มีค่าไอโซนไสมากที่สุด ที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V)

- 1 = ampicillin 50 μ /ml
- 2 = สารสกัด CP-MKM-WP-15 ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V)
- 3 = สารสกัด CP-MKM-WP-15 ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (V/V)
- 4 = สารสกัด CP-MKM-WP-15 ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (V/V)
- 5 = tetracyclin 50 μ /ml
- 6 = absolute ethanol

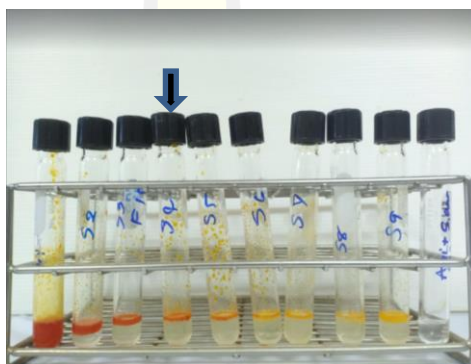


ภาพประกอบที่ 32 ฤทธิ์ต้าน *P. acnaes* DMST 14916 ของสารสกัด CP-CMI-30 ที่มีค่าไอโซนไสมากที่สุด ที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V)

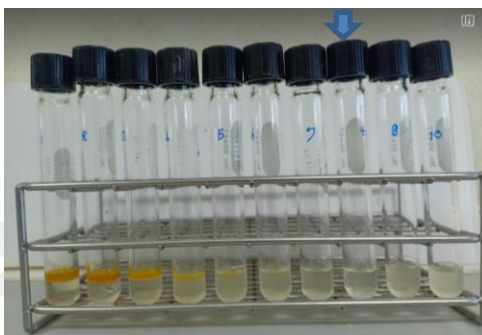
- 1 = ampicillin 50 μ /ml
- 2 = tetracyclin 50 μ /ml
- 3 = สารสกัด CP-MKM-WP-15 ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V)
- 4 = สารสกัด CP-MKM-WP-15 ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (V/V)
- 5 = สารสกัด CP-MKM-WP-15 ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ (V/V)
- 6 = absolute ethanol



ภาพประกอบที่ 33 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (MIC, minimum inhibitory concentration) ของสารสกัดน้ำมัน CP-LEI-30 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *B. cereus* DMST 6228 ที่ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V)



ภาพประกอบที่ 34 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (MIC, minimum inhibitory concentration) ของสารสกัดน้ำมัน CP-MKM-WP-15 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *S. aureus* DMST 19376 ที่ความเข้มข้น 12.5 เปอร์เซ็นต์ (V/V)



ภาพประกอบที่ 35 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (MIC, minimum inhibitory concentration) ของสารสกัดน้ำมัน CP-CMI-30 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *P. acnaes* DMST 14916 ที่ความเข้มข้น 0.78 เปอร์เซ็นต์ (V/V)

4.9 อภิปรายผลการทดลอง

จากการสำรวจต้นกระทิงลายในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือในจังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดพิษณุโลก จังหวัดเลยและจังหวัดมหาสารคาม รวมทั้งหมด 43 พื้นที่ เมื่อพิจารณาแหล่งกำเนิดที่พบกระทิงลายมีการเจริญในพื้นที่เหนือระดับน้ำทะเลช่วง 153-1,066 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล ความชื้นของดิน 35.5 - 49.3 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิในดิน 28.83 - 38.9 องศาเซลเซียส และความเข้มของแสง 1,121-1,942 ลักซ์ จากการศึกษาขององค์การสวนพฤกษศาสตร์ (2558) กระทิงลายมีการกระจายพันธุ์กว้าง สามารถเจริญเติบโตได้ทุกภูมิภาคของประเทศไทยที่ความสูงจากระดับน้ำทะเล 0-1,300 เมตร ชอบแสงปานกลาง พบมากในพื้นที่ป่าดิบแล้ง (dry evergreen forest) ที่สูงจากระดับน้ำทะเล 300-600 เมตร และป่าเต็งรัง (deciduous dipterocarp forest) ซึ่งเป็นป่าที่มีมากในพื้นที่ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ บุญลือ คเชนทร์ชาติและคณะ (Kachanchart et al, 2005) สำรวจพบกระทิงลายในป่าของสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อม สแกราช อำเภอน้ำเขียว จังหวัดนครราชสีมา อีรกันต์ เทพขาว (อีรกันต์ เทพขาว, 2555) สำรวจพบกระทิงลายในป่าเต็งรังในค่ายสมเด็จพระบรมราชชนนี อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ พบว่าชาวบ้านมีการนำไปใช้ประโยชน์เป็นพืชอาหารและพืชสมุนไพร ในอุทยานแห่งชาติเอราวัณ อำเภอสรีสวัสดิ์ จังหวัดกาญจนบุรี (อุทยานแห่งชาติเอราวัณ, มปป.) สำรวจพบเครือกระทิงลายในพื้นที่ของอุทยาน ในศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

(ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ, 2561) สํารวจพบกระทงลายในพื้นที่เขตปกปักพันธุกรรมพืชป่าบกเขตห้ามล่าสัตว์ป่าคุ้งกระเบน อำเภอนายายอาม จังหวัดจันทบุรี และในสำนักรวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย (สำนักรวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย 2559) สํารวจพบกระทงลายในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืชเขื่อนรัชชประภา อ.บ้านตาชุม จ.สุราษฎร์ธานี และชาวบ้านที่อาศัยรอบพื้นที่เขื่อนรัชชประภา มีการใช้กระทงลายเป็นพืชสมุนไพร ดังนั้นจะเห็นว่ากระทงลายมีการสํารวจพบทุกภูมิภาคของประเทศไทยเป็นสิ่งที่แสดงให้เห็นว่ากระทงลายเป็นพืชที่มีการปรับตัวสูง สามารถเจริญได้ทุกภูมิภาคทั้งพื้นที่ร้อนชื้นในภาคใต้ ภาคตะวันตก พื้นที่แห้งแล้งในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และในพื้นที่อากาศร้อนชื้นสลับฤดูแล้งในภาคตะวันตก ถึงแม้กระทงลายสามารถเจริญได้ที่ทุกภูมิภาคของประเทศไทยแต่จากข้อมูลการรวบรวมเมล็ดของกระทงลายในแต่ละพื้นที่มีขนาดของเมล็ดที่แตกต่างกันและมีความแตกต่างกับข้อมูลขนาดเมล็ดมาตรฐานของ Hou et al (Hou, 2010) ที่กล่าวใน Flora of Thailand เล่มที่ 10 ส่วนที่ 2 โดยตัวอย่าง CP-MKM-CHY2 และ CP-MKM-WP จาก 90 เมล็ดต่อตัวอย่าง พบว่ามีขนาดเมล็ดมีความกว้างกว่าขนาดมาตรฐาน 100 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดเมล็ดความยาวเท่าขนาดมาตรฐาน เป็นข้อดีในด้านการสกัดน้ำมันเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำมันที่มากขึ้น เนื่องจากการสกัดน้ำมันจากกระทงลายมีขั้นตอนและน้ำมันที่สกัดได้แต่ละครั้งสกัดได้น้อยมาก หากกระทงลายมีขนาดเมล็ดที่ใหญ่จะทำให้สามารถสกัดน้ำมันได้จะมากตามไปด้วย

จากการศึกษาการใช้ประโยชน์จากกระทงลายในประเทศไทยพบว่ามีมีการนำกระทงลายไปใช้ในวัตถุประสงค์การทำ อาหาร ยาสมุนไพรและน้ำมันเชื้อเพลิง พบว่ามีมีการนำไปใช้ประโยชน์ด้านยาสมุนไพรมากที่สุด โดยนำมารักษาอาการเจ็บป่วยขั้นพื้นฐาน เช่น ท้องเสีย แก้กูกเสียด บำรุงกำลัง โรคผิวหนัง สอดคล้องกับการนำกระทงลายไปใช้ประโยชน์ในรายงานฉบับสมบูรณ์ของ สิริเชษฐ์ รัตนะชิตธวัช และนายจักรพงษ์ รัตตะมณี (สิริเชษฐ์ รัตนะชิตธวัช และนายจักรพงษ์ รัตตะมณี, 2560) เมื่อพิจารณาสารสำคัญที่อยู่ในเมล็ดกระทงลายด้วยการใช้เครื่อง GC-MS พบว่ามีสารสำคัญหลัก 23 องค์ประกอบ สารสำคัญที่พบในเมล็ดกระทงลายที่พบเหมือนกันกับการศึกษาของ Arora & Rai (Arora & Rai, 2014) คือ palmitic acid และ squalene ส่วนสารสำคัญอื่นที่พบในกระทงลายที่ศึกษามีความแตกต่างกัน ทั้งนี้การที่องค์ประกอบทางพฤกษเคมีของพืชชนิดเดียวกันแต่มีความแตกต่างกันขึ้นมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องเช่นการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของพืช (biochemical

variation) แหล่งที่เกิด อายุพืช ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว วิธีการสกัด (วารุณี จิรวัดนาพงศ์, 2550) ผลการตรวจหาพิษเคมีของกระถงหลายพบว่ามีองค์ประกอบของสารเคมีที่หลากหลาย ทั้งสเตียรอยด์ อัลคาลอยด์ ไทรเทอปีนและกรดไขมัน องค์ประกอบสารที่พบนั้นมีศักยภาพทั้งในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ สารต้านอนุมูลอิสระ จากการวิจัยพบว่าน้ำมันสกัดกระถงหลาย CP-LEI-30 มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *B. cereus* DMST 6228 *S. aureus* DMST 19376 และ *P. acnaes* DMST 14916 มีขนาดไซนไฮ ที่ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V) ที่ 1.16 ± 0.12 เซนติเมตร 0.98 ± 0.02 เซนติเมตร และ 0.94 ± 0.21 เซนติเมตรตามลำดับ เมื่อพิจารณาองค์ประกอบสารสำคัญ ที่พบคือ 1,2-15,16-Diepoxyhexadecane, Glycidyl oleate, Glycidyl palmitate, Z,Z-8, 10-Hexadecadien-1-ol, (Z)-2-methoxyoctadec-6-enoic acid, 12-Oxododecanoic acid, ethyl ester, Oleic Acid, Pregn-4-ene-3,20-dione, 11-hydroxy-, (11 α)- และ Pentadecanoic acid, 14-bromo สอดคล้องกับการศึกษาของ Ababouch et al (1994) ที่พบว่ากรดไขมันในกลุ่มของ Oleic Acid มีฤทธิ์ในการทำลายเชื้อ *B. cereus* T และ *B. cereus* F2769/77 และจากการศึกษาของ Hameed และคณะ. (2016) ได้สกัดสารทุติยภูมิจาก *Artemisia annua* ด้วยเมทานอล มีองค์ประกอบของสาร 1,2-15,16-Diepoxyhexadecane มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* DMST 19376 มีไซนไฮ 4.89 ± 0.21 มิลลิเมตร สอดคล้องกับในงานวิจัยนี้พบว่าสารสำคัญแสดงผลต้านเชื้อทั้ง *B. cereus* DMST 6228 และ *S. aureus* DMST 19376 ส่วนในสารสกัดตัวอย่าง CP-MKM-WP-15 มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* DMST 19376 มากที่สุด พิจารณาองค์ประกอบสารสำคัญที่พบคือ Androstan-17-ol, Glycidyl oleate, Glycidyl palmitate, n-Hexadecanoic acid, 8(17),12-Labdadiene-15,16-dial, 17-Octadecynoic acid, Olean-12-en-28-al, cyclic 1,2-ethanediyl mercaptal, Oleic Acid และ Squalene จากการศึกษานี้ของ Siddique และคณะ (2019) มีการสกัดสารจากเหง้าของ *Zingiber montanum* พบว่า มีสารสำคัญ 8(17),12-Labdadiene-15,16-dial ซึ่งเป็นสารกลุ่มเทอร์ปีนที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อดื้อยา methicillin-resistant strains of *S. aureus* SA1199B, XU212, RN4229, EMRSA15, MRSA27819, และ MRSA340702 และนอกจากนั้นยังพบว่าในสารสกัด CP-CMI-30 มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. acnaes* DMST 14916 ซึ่งสารสกัด CP-CMI-30 มีองค์ประกอบของ Androstan-17-ol, Glycidyl oleate, Glycidyl palmitate, 2-[3-(1-Hydroxy-1-methyl-ethyl)-6a,10b-dimethyl-7-methylene-dodecahydro-benzo [f]chromen-8-yl]-1-phenyl-ethanone, 3-Isopropyl-6a,10b-dimethyl-8-(2-oxo-2-phenylethyl)-dodecahydro-benzo [f] chromen-7-one, 9,12,15-Octadecatrienoic acid, Z-3-Octadecen-1-ol acetate, 9-Octadecenoic acid (Z)-, 2-(acetyloxy)-1-[(acetyloxy) methyl]ethyl ester, Olean-12-en-28-al, cyclic 1,2-ethanediyl mercaptal, Oleic Acid จากการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อนี้แสดงให้เห็นว่าศักยภาพของสารสกัดจาก

กระทรวงภายในประเทศไทยที่นำมาศึกษา มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* *S. aureus* และ *P. acnaes* เป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีการสกัดสารและการนำสารสำคัญที่ค้นพบไปทำให้มีความบริสุทธิ์ยิ่งขึ้นเพื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในการด้านการอีกเสบต่อไป

ในด้านความหลากหลายทางพันธุกรรมของกระทรวงหลายพบว่า กระทรวงหลายมีการแปรผันของลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วนของ ITS และ *rbcl* ค่อนข้างต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างทั้งภายในประชากร (intra-population) และระหว่างประชากร (inter-population) แต่เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ phylogenetic tree พบว่า กระทรวงหลายแบ่งกลุ่มพันธุกรรมได้ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มพันธุกรรม lineage A และ lineage B โดยผลการวิเคราะห์โดยใช้ส่วน ITS พบว่า ตัวอย่างกระทรวงหลายส่วนใหญ่จะถูกจัดอยู่ในกลุ่มพันธุกรรม lineage A โดยจัดกลุ่มใกล้เคียงกับกระทรวงหลาย (*Celastrus paniculatus*) และ เกาคันเครือ (*Cissus rotundifolia*) ที่มีอยู่ในฐานข้อมูล GenBank ส่วนกระทรวงหลายจากจังหวัดพิษณุโลกถูกจัดกลุ่มพันธุกรรมแตกต่างออกจากตัวอย่างกระทรวงหลายอื่นๆ อย่างชัดเจน โดยจัดเป็นกลุ่มพันธุกรรม lineage B อาจเนื่องจากพื้นที่เก็บตัวอย่างในจังหวัดพิษณุโลกอยู่ในพื้นที่ภูเขาสลับซับซ้อนบางส่วนเป็นแหล่งต้นน้ำของแม่น้ำลำธารหลายสายเช่น แม่น้ำภาค แม่น้ำแควน้อย (สำนักอุทยานแห่งชาติ, มปป.) อาจเป็นส่วนหนึ่งของการแปรผันทางพันธุกรรมทำให้มีความแตกต่างจากกระทรวงหลายในตัวอย่างอื่นในพื้นที่ศึกษา แต่ก็ยังมีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับกลุ่มของ *Celastrus paniculatus* isolate 38 จากฐานข้อมูล GenBank ถึงแม้ทั้งสองกลุ่มพันธุกรรมจะถูกจำแนกออกจากกัน แต่เมื่อเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างจากฐานข้อมูล GenBank แล้วยังคงพบว่า กระทรวงหลายที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ยังถูกจัดอยู่ในกลุ่มของ *Celastrus paniculatus* แต่ตัวอย่างกระทรวงหลายจากจังหวัดพิษณุโลกอาจมีความแตกต่างทางพันธุกรรมในระดับ subspecies กับตัวอย่างกระทรวงหลายที่สำรวจในพื้นที่ศึกษา

แต่เมื่อใช้ส่วนของ *rbcl* วิเคราะห์ phylogenetic tree จำแนกกลุ่มพันธุกรรมได้ออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ lineage A และ lineage B เช่นกัน การจำแนกตัวอย่างในแต่ละกลุ่มจะแตกต่างไปจากการวิเคราะห์โดยใช้ ITS โดยตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ในการศึกษาครั้งนี้จะถูกจัดอยู่ใน lineage A ทั้งหมด ส่วน lineage B นั้น ประกอบไปด้วยตัวอย่างจากฐานข้อมูล GenBank ทั้งหมด ดังนั้นจากผลการศึกษานี้พบว่า ส่วนของยีน ITS มีการแปรผันสูงกว่าส่วนของ *rbcl* ทำให้พบความหลากหลายทางพันธุกรรมได้มากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Mu และคณะ (Mu et al., 2017) มีการจำแนกพืช *Celastrus* sp. และ *Tripterygium* sp. จาก National nature reserves และ Herbarium of Taiwan forestry research institute (TAIF) ประเทศไต้หวัน โดยใช้ DNA marker จากนิวคลีอิดีเอ็นเอ คือ ETS และ ITS และ DNA marker จากพลาสติดีเอ็นเอ 4 ยีน คือ *psbA-trnH* *rbcl* *rpl16* และ *trnL-F* จากผลการศึกษาพบว่าในการจัดจำแนกต้องเมื่อนำข้อมูลของ DNA

marker จากนิวเคลียสดีเอ็นเอ ETS และ ITS จะสามารถจัดจำแนกกลุ่มของพืชได้แตกต่างกันมากกว่า DNA marker จากส่วนอื่นเช่นเดียวกันกับการศึกษาของผู้วิจัย หากต้องทำการศึกษาวิจัยในอนาคต ผู้วิจัยเสนอแนะให้ใช้ส่วนของ ITS เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายและการแปรผันทางพันธุกรรมของกระทงลาย จะทำให้ผลที่น่าเชื่อถือและจัดจำแนกกระทงลายได้ถูกต้องและชัดเจนมากยิ่งขึ้น

จากผลการวิเคราะห์ทางพันธุกรรมของกระทงลายในการศึกษาครั้งนี้ ชี้ให้เห็นว่า กระทงลายในประเทศไทยมีความหลากหลายทางพันธุกรรมอยู่ในระดับหนึ่ง แต่ตัวอย่างที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีอาจยังมีจำนวนไม่เพียงพอ ในอนาคตจึงยังมีความจำเป็นอย่างยิ่ง ที่จะต้องทำการเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมในพื้นที่การกระจายตัวแหล่งอื่นๆ พร้อมทั้งทำการศึกษา ชีววิทยา ชีพลักษณะ สัณฐานวิทยา รวมทั้งลักษณะทางพันธุกรรมของกระทงลายในประเทศไทย ให้เกิดความถูกต้องและชัดเจนมากยิ่งขึ้น



บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างเมล็ดกระทงหลายจากพื้นที่ 4 จังหวัดคือ มหาสารคาม เลย พิษณุโลก และเชียงใหม่ โดยสำรวจในเดือนมกราคม 2562 - พฤศจิกายน 2563 และเก็บตัวอย่างเมล็ดในช่วงเดือน เก็บผลแก่ในช่วงเดือนสิงหาคม-พฤศจิกายนของปี พ.ศ. 2562-2563 สรุปผลการทดลองได้ดังนี้

5.1.1 ผลการสำรวจแหล่งการกระจายพันธุ์ของกระทงหลาย

สำรวจพื้นที่แหล่งกระจายพันธุ์ของกระทงหลายในพื้นที่ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบว่ามีจำนวนต้นกระทงหลาย 43 พื้นที่ มีการกระจายอยู่ในจังหวัดมหาสารคาม ในอำเภอนาคู 33 พื้นที่ ประกอบด้วย อำเภอนาเชือก อำเภอพยัคฆภูมิพิสัย อำเภอละ 2 พื้นที่ อำเภอกันทรวิชัย อำเภอลำปลายมาศ อำเภอเวียงชัย อำเภอละหนึ่งพื้นที่ และในพื้นที่ของอำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก 2 พื้นที่ และอำเภอภูกระดึง จังหวัดเลย และจังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดละหนึ่งพื้นที่

ในพื้นที่จังหวัดมหาสารคาม มีการกระจายพันธุ์ของกระทงหลายอยู่ทั่วไป เมื่อพิจารณาความสูงของระดับน้ำทะเลและการกระจายพันธุ์ของกระทงหลายพบว่าพื้นที่ของจังหวัดมหาสารคาม มีความสูงจากระดับน้ำทะเลที่ระดับ 130-230 เมตร (สำนักงานจังหวัดมหาสารคาม, ม.ป.ป.) พื้นที่ของจังหวัดเลย มีความสูงจากระดับน้ำทะเลที่ระดับ 250 เมตร (สำนักงานจังหวัดเลย, ม.ป.ป.) พื้นที่ของอำเภอชาติตระการ จังหวัดพิษณุโลก มีความสูงจากระดับน้ำทะเลที่ระดับ 690-790 เมตร และพื้นที่ของจังหวัดเชียงใหม่ มีความสูงจากระดับน้ำทะเลโดยประมาณที่ระดับ 310-1,000 เมตร (สำนักงานจังหวัดเชียงใหม่, 2560) จากข้อมูลการสำรวจพบว่ากระทงหลายสามารถเจริญได้ในทุกพื้นที่ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ ที่มีระดับความสูงจากน้ำทะเลปานกลางช่วง 130-1,000 เมตร ส่วนใหญ่พื้นที่พบเป็นพื้นที่ป่าดิบแล้งและป่าเต็งรัง (Boonlue et al, 2013)

5.1.2 ลักษณะของเมล็ดกระทงลาย

ซึ่งน้ำหนัก จัดแบ่งขนาดเมล็ดกระทงลายในแต่ละพื้นที่เก็บตัวอย่างเมล็ดกระทงลาย จาก 4 จังหวัด คือ เชียงใหม่ มหาสารคาม เลยและพิษณุโลก พบว่าขนาดกระทงลายมีความแตกต่างจากกระทงลายมาตรฐานในประเทศไทย ที่กล่าวใน Flora of Thailand เล่มที่ 10 ส่วนที่ 2 (2010) ว่ามีขนาดความกว้าง 2-3 มิลลิเมตร ขนาดความยาว 3-5 มิลลิเมตร พบว่า CP-MKM-CHY2 และ CP-MKM-WP ทุกเมล็ดมีความกว้างมากกว่ามาตรฐาน ส่วนความยาวพบว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างมีความยาวขนาดเท่ามาตรฐานและมากกว่ามาตรฐาน นั้นแสดงให้เห็นว่ากระทงลายในพื้นที่ศึกษา 50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ มีขนาดใหญ่กว่ากระทงลายที่มีการสำรวจในประเทศไทยเมื่อปี 2553 ซึ่งจะเป็นผลดีในการผลิตน้ำมันจากเมล็ดเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทั้งด้านเชื้อเพลิงและยารักษาโรค

5.1.3 การสกัดเมล็ดกระทงลาย

การสกัดเมล็ดกระทงลายจากพื้นที่ 4 จังหวัด จำแนกได้ 24 ตัวอย่าง พบว่า สารสกัดน้ำมันของเมล็ดกระทงลายที่ได้มีสีและความหนืดที่แตกต่างกัน อาจเกิดจากองค์ประกอบของพฤกษเคมีที่อยู่ภายในเมล็ดมีความแตกต่างกันจึงทำให้มีสีของสารสกัดน้ำมันมีความแตกต่างกัน ซึ่งความแตกต่างกันของสารสกัดที่ได้ อาจมีผลต่อประสิทธิภาพด้านการนำไปใช้ประโยชน์ของกระทงลาย

5.1.4 การรวบรวมข้อมูลการใช้ประโยชน์ของกระทงลาย

จัดจำแนกการใช้ประโยชน์ของกระทงลายพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ สามารถจำแนกได้ 3 ประเภทคือ

1. อาหาร
2. ยารักษาโรค
3. เชื้อเพลิง

การใช้ประโยชน์เป็นอาหารจะมีการใช้ใบอ่อน โดยนำไปลวก เป็นผักรับประทาน แก่ล้มนกับน้ำพริกและนำไปใช้เป็นผัก ในการประกอบอาหารประเภทต่างๆ โดยเฉพาะในกลุ่มชาวเขาเผ่าขมุ กระเหรี่ยง ไทลื้อ ละว้า อาข่าและชาวบ้านอีสานในจังหวัดมหาสารคาม การใช้ประโยชน์เป็นยารักษาโรค ชาวเขาเผ่ากระเหรี่ยงในจังหวัดเชียงใหม่ นำเถาของกระทงลาย มาต้มดื่ม แก้อโรคศิษาน และรักษาโรคตับ เปลือกต้น นำมาต้มแก้ท้องเสีย ชาวเขาเผ่าอาข่า ไทลื้อ นำรากมาปั่นทำเป็นยา ลูกกลอน แก้จุกเสียดท้อง น้ำมันจากการสกัดน้ำมัน ชาวบ้านในอำเภอนาหว้า จังหวัดมหาสารคาม

นำมาทาบาดแผลสด และการใช้ประโยชน์เป็นเชื้อเพลิง ชาวเขาเผ่าไทลื้อ และชาวบ้านอีสาน นำเมล็ด กระจกหลายมาสกัดทำเป็นน้ำมันเชื้อเพลิง

คุณประโยชน์ของกระจกหลายสามารถนำทุกส่วนมาใช้ประโยชน์ทั้งอาหาร ยารักษา โรค และน้ำมันเชื้อเพลิง ดังนั้นจากข้อมูลการนำไปใช้ประโยชน์กระจกหลายจึงเป็นแนวทางในการ ส่งเสริมและอนุรักษ์ให้กระจกหลายมีการปลูกทุกพื้นที่เพื่อใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย

5.1.5 การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพทางพันธุกรรมของกระจกหลาย

จากความแตกต่างทางสัณฐานของใบกระจกหลาย ที่มีความแตกต่างกัน ในต้น เดียวกันมีความต่างของรูปแบบใบที่เกิดขึ้น ดังนั้นการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ กระจกหลาย จึงมีความจำเป็นอย่างมากในการจัดจำแนก โดยนายอดิโอบอ่อนของกระจกหลายที่ผ่าน กระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในส่วนของเมล็ดกระจกหลาย มาสกัดสารทางพันธุกรรม เพื่อนำผลการ ทดลองศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของกระจกหลายในแต่ละพื้นที่พบว่ากระจกหลายในพื้นที่ ศึกษาที่มีความใกล้ชิดกันทางวิวัฒนาการและมีความสัมพันธ์กับกระจกหลายที่มีการค้นพบในประเทศจีน ซึ่งเกิดจากการกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติมาสู่ประเทศไทย

5.1.6 การทดสอบหาพิษเคมีในกระจกหลาย

ผลจากการทดสอบหาพิษเคมีของการสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระจกหลายด้วยวิธีการ สกัดด้วยน้ำในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ โดยประยุกต์การสกัดแบบพื้นบ้าน มีการควบคุมอุณหภูมิในระหว่างการสกัดน้ำมัน จากการหาสาระสำคัญของน้ำมันเพื่อหาพิษเคมี กลุ่มอัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และเทอร์ปีนอยด์ พบว่าทุกตัวอย่างมีอัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์และเทอร์ปีนอยด์ โดยทดสอบหาอัลคาลอยด์ ใช้วิธีทดสอบ ดราเจนดรอพ เมเยอร์ แสงเกอร์ และแวกเนอร์ การทดสอบฟลาโวนอยด์ใช้วิธีทดสอบด้วยแอมโมเนียและการทดสอบหา เทอร์ปีนอยด์ใช้วิธีทดสอบ salkowski จากการทดสอบไม่พบแทนนินในทุกตัวอย่าง การพบอัลคา ลอยด์ ฟลาโวนอยด์และเทอร์ปีนอยด์ ในสารสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระจกหลาย สอดคล้องกับการศึกษา ของ Deodhar และ Shinde NW ในปี 2515 โดยได้ใช้น้ำในการสกัดกระจกหลายทุกส่วนของพืช พบว่าการสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระจกหลายมีสารทุติยภูมิกลุ่ม อัลคาลอยด์ สเตียรอยด์ เทอร์ปีนอยด์ และ สารโพลีฟีนอล จากการพบสารอัลคาลอยด์ซึ่งเป็นสารที่มีประโยชน์ในการอุตสาหกรรมยา ใช้เป็นยา ระงับปวด ยาชาเฉพาะที่ ยาแก้ไอ แก้หอบหืด ยารักษาแผลในกระเพาะและยาลดความดัน ยาตา ตลอดจนยาที่ควบคุมการเต้นของหัวใจ เป็นต้น ส่วนฟลาโวนอยด์เป็นสารที่มีศักยภาพในการต้าน

อนุมูลิสรและเทอร์ปีนอยด์เป็นสารที่ใช้ในการทำยาช่วยขับลม ยาขับเสมหะ ยาคลายตัวของกล้ามเนื้อ (วาทีนี เสลราชกูร์, 2559) จึงเป็นแนวทางในการศึกษาหาชนิดของสารอัลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์และเทอร์ปีนอยด์ในกระถงลายที่เกิดในประเทศไทยเพื่อพัฒนาและส่งเสริมให้มีการนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคต

ในการศึกษาลายพิมพ์โครมาโตกราฟีด้วยเทคนิค TLC พบว่าสารสกัดน้ำมันกระถงลายไม่แยกเป็นลายพิมพ์โครมาโตกราฟีในทุกเลน ในการใช้ระบบวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) : Benzene: Chloroform: Ethyl acetate (80: 10: 10) ซึ่งแตกต่างจากผลการทดลองระบบวัฏภาคเคลื่อนที่ของ Yadav et al. (2014) ดังนั้นจึงควรพัฒนาระบบวัฏภาคเคลื่อนที่ใหม่ให้มีความเหมาะสมสามารถแสดงลายพิมพ์โครมาโตกราฟีที่ชัดเจน

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบอินทรีย์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโตรเมทรี (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) โดยนำตัวอย่างน้ำมันที่ให้ผลบวกกับการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ และตัวแทนของน้ำมันสกัดจากแต่ละแหล่ง รวม 4 ตัวอย่างมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารสำคัญ ดังตารางที่ 23

ตารางที่ 21 องค์ประกอบของสารสำคัญที่พบในตัวอย่างสารสกัดน้ำมันจากกระถงลาย 10 อันดับ

ตัวอย่าง	องค์ประกอบสารสำคัญ
CP-CMI	Androstan-17-ol
	Glycidyl oleate
	Glycidyl palmitate
	2-[3-(1-Hydroxy-1-methyl-ethyl)-6a,10b-dimethyl-7-methylene-dodecahydro-benzo[f]chromen-8-yl]-1-phenyl-ethanone
	3-Isopropyl-6a,10b-dimethyl-8-(2-oxo-2-phenylethyl)- dodecahydro-benzo[f]chromen-7-one
	9,12,15-Octadecatrienoic acid
	Z-3-Octadecen-1-ol acetate
	9-Octadecenoic acid (Z)-, 2-(acetyloxy)-1-[(acetyloxy)methyl]ethyl ester
	Olean-12-en-28-al, cyclic 1,2-ethanediy l mercaptal
	Oleic Acid
ตัวอย่าง	องค์ประกอบสารสำคัญ

CP-PLK	2,4-Dimethyl-nonanedioic acid, dimethyl ester
	(E)-15,16-Dinorlabda-8(17),12-dien-14-al
	Glycidyl oleate
	Glycidyl palmitate
	n-Hexadecanoic acid (Palmitic Acid)
	17-Octadecynoic acid
	9-Octadecenoic acid (Z)-, 2-(acetyloxy)-1- [(acetyloxy)methyl]ethyl ester
	(E)-9-Octadecenoic acid ethyl ester
	Squalene
CP-LEI-30	1,2-15,16-Diepoxyhexadecane
	Glycidyl oleate
	Glycidyl palmitate
	Z, Z-8,10-Hexadecadien-1-ol
	(Z)-2-methoxyoctadec-6-enoic acid
	12-Oxododecanoic acid, ethyl ester
	Oleic Acid
	Pregn-4-ene-3,20-dione, 11-hydroxy-, (11 α)-
	Pentadecanoic acid
CP-MKM- WP-15	Androstan-17-ol
	Glycidyl oleate
	Glycidyl palmitate
	n-Hexadecanoic acid (palmitic acid)
	8(17),12-Labdadiene-15,16-dial
	trans-13-Octadecenoic acid
	17-Octadecynoic acid
	Olean-12-en-28-al, cyclic 1,2-ethanediyl mercaptal
	Oleic Acid
Squalene	

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกระถงหลายของ Arora & Rai (2014) พบองค์ประกอบหลักทางเคมีของสารสกัดจากน้ำมันในแคว้นพารานาสี ประเทศอินเดีย ประกอบด้วย palmitic acid (38.61%) phytol (11.72%) erucic acid (6.99%) trans-beta-copaene (4.78%) และ linalool (3.97%) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของผู้วิจัยที่พบองค์ประกอบทางเคมีของสาร n-Hexadecanoic acid (palmitic acid) ในตัวอย่าง CP-LEI-30 ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีศักยภาพลดการอักเสบ รักษาโรคไขข้ออักเสบ รูมาตอยด์ ในการรักษาตำรายาอายุรเวท (Vasudevan et al, 2012) ส่วนองค์ประกอบอื่นๆ ในการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของกระถงหลายในพื้นที่เชียงใหม่ เลยบางตัวอย่างของ วาปีปทุม มหาสารคาม และพิษณุโลก ไม่พบในองค์ประกอบของสารเคมีในกระถงหลายของอินเดีย จึงเป็นแนวทางในการพัฒนาสารเคมีที่มีความแตกต่างของตัวอย่างน้ำมันกระถงหลายไปประยุกต์ใช้ให้เกิดผลิตภัณฑ์ใหม่ต่อไป

5.1.7 การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระถงหลาย

นำสารสกัดน้ำมันกระถงหลายจำนวนทั้งสิ้น 24 ตัวอย่าง มาตรวจสอบฤทธิ์การต้านเชื้อของแบคทีเรียก่อโรค 4 สายพันธุ์ คือ *S. aureus* DMST 19376 *B. cereus* DMST 6228 *E. coli* DMST 15537 และ *P. acnaes* DMST 14916 ด้วยวิธี agar well diffusion พบว่า ทั้ง 24 ตัวอย่างที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อที่แตกต่างกัน โดยสารสกัด CP-MKM-NCH1 CP-MKM-NCH2-15 CP-MKM-PK2-15 CP-LEI-15 CP-MKM-WP CP-MKM-WP-15 CP-MKM-WP-30 และ CP-PLK-15 มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* DMST 19376 และสารสกัด CP-CMI CP-MKM-NCH1-15 CP-MKM-NCH1-30 และ CP-LEI-30 มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *B. cereus* DMST 6228 และ สารสกัดทุกตัวยกเว้น CP-MKM-PK1 และ CP-MKM-PK1-15 มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. acnaes* DMST 14916 และ CP-CMI-30 มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. acnaes* DMST 14916 แสดงโซนใสมากที่สุดที่ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V) และไม่มีตัวอย่างสารสกัดใดที่ยับยั้งการเจริญของ *E. coli* DMST 15537 นำสารสกัด CPMKM-WP-15 ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. aureus* DMST 19376 สารสกัด CP-LEI-30 ที่มีฤทธิ์การต้านเชื้อ *B. cereus* DMST 6228 และ สารสกัด CP-CMI-30 ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *P. acnaes* DMST 14916 ที่แสดงค่าของโซนใสมากที่สุดที่ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V) มาศึกษาความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพที่น้อยที่สุดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (minimum inhibitory concentration, MIC) และศึกษาค่าความเข้มข้นของสารต้านจุลชีพน้อยที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ได้ 99.9 % (minimum bacteriocidal concentration, MBC ของสารสกัดกับเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้านฤทธิ์ พบว่าค่า MIC ของ สารสกัดน้ำมัน CP-LEI-30 มีค่า MIC กับ *B. cereus* DMST 6228 ที่ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ (V/V) และไม่มีฤทธิ์ต่อการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย สกัดน้ำมัน CP-MKM-WP-15 มีค่า MIC กับ

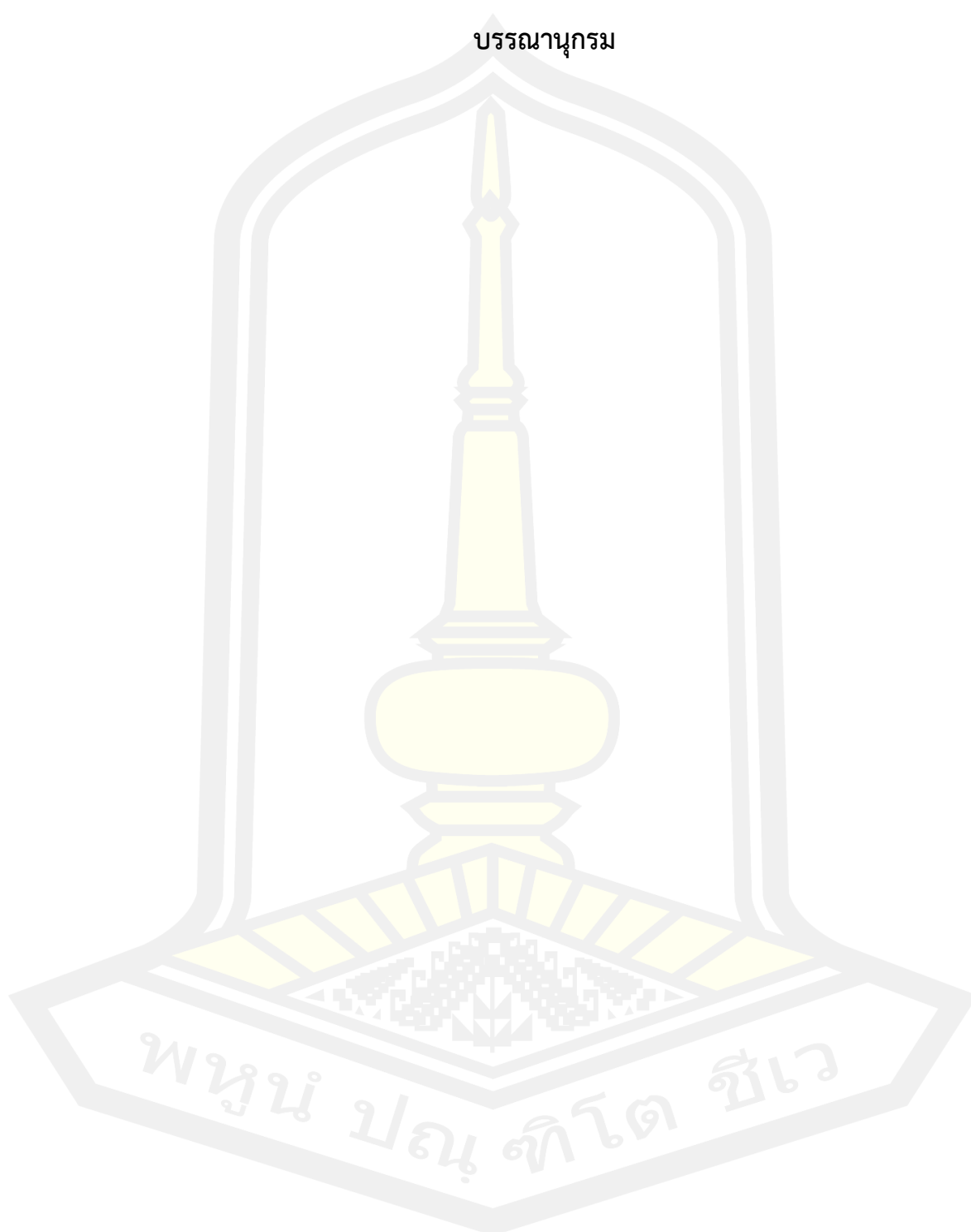
S. aureus DMST 19376 ที่ความเข้มข้น 12.5 เปอร์เซ็นต์ (V/V) และ ไม่มีฤทธิ์ต่อการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และ MIC ของ สารสกัดน้ำมัน CP-CMI-30 มีค่า MIC กับ *P. acnaes* DMST 14916 ที่ความเข้มข้น 0.78 เปอร์เซ็นต์ (V/V) และไม่มีฤทธิ์ต่อการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาพบว่ากระทงลายเป็นพืชสมุนไพรที่มีคุณประโยชน์หลากหลาย ทั้งการใช้ทำเป็นอาหาร ยาสมุนไพรและน้ำมันเชื้อเพลิง เป็นพืชที่สามารถเจริญเติบโตได้ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย เพื่อเป็นการอนุรักษ์และส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากกระทงลาย หน่วยงานราชการควรมีนโยบายส่งเสริมให้ชาวบ้านปลูกและพัฒนาให้มีโครงการต้นแบบในการพัฒนาพืชกระทงลายให้เป็นผลิตภัณฑ์ยาสามัญประจำบ้าน เพื่อเป็นการส่งเสริมเศรษฐกิจฐานรากให้ยั่งยืนและมั่นคง



บรรณานุกรม



- กฤตติญารัตน์ สมวงศ์. (2555). การป้องกันการทำลายเซลล์เมลานोไซท์และฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เมลานินของสารสกัดสมุนไพรไทยพื้นบ้านที่ใช้สำหรับผมหยอก (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ). มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, อุบลราชธานี.
- กวีศิลป์ คำวงศ์. (2552). พฤกษศาสตร์พื้นบ้านของชาวกะเหรี่ยงบ้านใหม่สวรรค์และบ้านห้วยบุ่ง ตำบลบ้านหลวง อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
doi:https://doi.nrct.go.th/ListDoi/listDetail?Resolve_Doi=
- ก่องกานดา ชยามฤต. (2548). ลักษณะประจำวงศ์ของพรรณไม้. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- กัญญา แปลงโฉมและพรพิมล กาญจนวาศ. (2558). ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากพริกหวานกระเทียม และกระวานด้วยเอทานอล. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ, 1(2), 56–65.
- สำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย. (2559). ทรัพยากรพืช. กรุงเทพฯ: โอ. เอส. พริ้นติ้ง เฮ้าส์.
- จันทร์ทิรา เจียรณัย, ณัฐจิตา เพชรประไพ, นริลักษณ์ สุวรรณโนบล, ศรัญญา จุฬาริ, จันทกานต์ กาญจนเวทวงศ์, นฤมล สิงห์ตง, วาริธร ประวิตวงศ์, และกชกร เพ็ญชัย. (2557). การศึกษารวบรวมข้อมูลความหลากหลายของสมุนไพรภูมิปัญญาการใช้สมุนไพร รวมทั้งตำรายาโบราณของหมอพื้นบ้านที่อาศัยอยู่บริเวณในพื้นที่เขื่อนน้ำพุง จังหวัดสกลนคร และชุมชนใกล้เคียงภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (รายงานการวิจัย). นครราชสีมา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- จุฑาทพร แสงประจักษ์. (2555). การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมและการปรับปรุงพันธุ์ข้าว. แก่นเกษตร, 40, 299–308.
- ชุตินันท์ ประสิทธิ์ภูริปริษา. (2557). การศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของพืชสมุนไพร *Curcuma Cf. Comosa Roxb.* (รายงานการวิจัย). อุบลราชธานี: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.
- ณัฐพล วิชาญ. (2554). การออกแบบช่องคายกากของเครื่องหีบน้ำมันแบบสกรูอัดสำหรับมะแตงและมะเขือหิน. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
doi:https://doi.nrct.go.th/ListDoi/listDetail?Resolve_Doi=10.14457/CMU.the.2011.165
- เต็ม สมิตินันท์. (2557). ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ: สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ.

- ถาวรีย์ วิบูลย์วัฒน์, และพนิดา แสนประกอบ. (2562). การประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญของเครื่องเคียงไทยบางชนิด สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง. ใน อมรศักดิ์ สวัสดิ์, เจษฎา มิ่งฉาย, และอภิรักษ์ สงรักษ์, (บรรณาธิการ), *เอกสารประกอบการประชุมวิชาการระดับชาติ:วิชาการรับใช้สังคม ครั้งที่ 2* (หน้า 1-7). นครศรีธรรมราช: มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์.
- ทิพย์สุดา ตั้งตระกูล. (2541). *พฤกษศาสตร์พื้นบ้านของชาวมุข ชาวลัวะและชาวกินของบางพื้นที่ในจังหวัดน่าน* (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- ธารธรรมแก้ว เชื้อเมือง. (2550). *สมุนไพรสำคัญที่ควรรู้* (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: กำแก้ว.
- จิรดา สุธรรม. (2557). การควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์สมุนไพรไทยด้วย Chromatographic Fingerprints. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ*, 69(194), 10-12.
- ธีรกานต์ เทพขาว. (2555). การมีส่วนร่วมอนุรักษ์ป่า ค่ายสมเด็จพระบรมราชชนนีอย่างยั่งยืน. (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่
- นงลักษณ์ ห้วยหงษ์ทอง. (2559). *การทดสอบสารพิษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพรไทยบางชนิดที่ใช้รักษาโรคเบาหวาน* (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.
- นัทธี เมืองเย็น. (2556). *พฤกษศาสตร์พื้นบ้านของไทยและไทลื้อและไทวนในอำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่* (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่
- นเรศ แก้วปินดา. (2560). *การเก็บยาสมุนไพร. ศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร จังหวัดเชียงใหม่. (ข่าวประชาสัมพันธ์).*
- นิจศิริ เรืองศิริ และธวัชชัย มังคละคุปต์. (2547). *สมุนไพรไทย เล่ม 1*. กรุงเทพฯ: ฐานการพิมพ์.
- พรรณทิพย์ นาคศรีคำ. (2558). *การหาค่าประกอบทางเคมีด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรีและสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของส่วนสกัดหยาดจากใบและเปลือกของต้นผักเหมียง* (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.
- พิมพ์สุมน เจริญบุญศรี. (2562). เกสัชจลนศาสตร์ของสารกลุ่มแทนนิน. *วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง*, 28(1), 1-14.
- ไพฑูรย์ พงศบุตร. (2542). *ภูมิปัญญาชาวบ้าน. สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชนฯ ฉบับเสริมการเรียนรู้ เล่ม 3*. 159.
- ภิชณี วิจันติก และมารุต ตั้งวัฒนาชูลิพร. (2561). ฤทธิ์ต้านจุลชีพของน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส. *ธรรมศาสตร์เวชสาร*, 19(1), 79-89.
- ภัทรชัย กิรติสิน. (2549). *ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์*. กรุงเทพฯ: คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.

- รัตติพร ภายเพชร, ธนียา หมวดเชียงคะ, และไพรินทร์ ต้นพุ่ม. (2558).
 ฤทธิ์การต้านเชื้อสเตร็ปโตคอคคัส มีวแทนส์ของน้ำมันหอมระเหยกะเพรา. *วิทยาศาสตร์มหิดล*, 35, 311-19.
- รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2547). *การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากพืชสมุนไพร*.
 กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- รัตนารักษ์ พรหมศรีธา, เสริม สีมา, สมบัติ แพนดี, อีสริยะ สืบพันธุ์ดี, และอุดมลักษณ์
 อุ่นจิต วรธนะ. (2553). *วิจัยสูตรผลิตภัณฑ์สารสกัดหนอนตายหยากและว่านเพื่อ
 ป้องกันกำจัดศัตรูพืช*. (ผลการปฏิบัติงานประจำปี 2553 เล่มที่ 1). กรุงเทพฯ: กลุ่ม
 วิจัยวัตถุพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยผลผลิตการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร.
- เรืองศิลป์ จินตนาสมบัติ. (2536). หลักการและประโยชน์ของ GC-MS. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์
 บริการ*, 41(131), 23-25.
- วาทีณี เสล่อราษฎร์. (2559). *การสกัด การตรวจสอบสารพิษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้าน
 เชื้อแบคทีเรียของทุเรียนเทศ* (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยบูรพา,
 ชลบุรี.
- วารุณี จิรวัดนาพงศ์. (2550). การควบคุมคุณภาพและข้อกำหนดมาตรฐานสมุนไพร ใน ปราณี ขวลิ
 ชำรง. *คุณภาพทางเคมีของสมุนไพร* (เล่ม1). กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนา
 แห่งชาติ.
- วิภพ สุทธานะ. (2556). ฤทธิ์ต้านมะเร็งของปลาโวนอยด์: กลไกการออกฤทธิ์.
ศรีนครินทร์เวชสาร, 28(4), 567-582.
- วัชรารักษ์ ทาหาร, และกรรองกาญจน์ จันดี. (2561). ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดหยาบ
 จากดอกกุหลาบ ลีลาวดีและมะลิ. *นเรศวรวิจัย*, 14, 361-66.
- ศักดิ์ชัย เกียรตินาคินทร์. (2542). ภูมิปัญญาชาวบ้าน ยาชุดวิเศษในการพัฒนา. *วารสารวัฒนธรรม
 ไทย*, 36(9), 2-4.
- ศูนย์ศึกษาการพัฒนาอ่าวคุ้งกระเบนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ. (2561). *รายงานการดำเนินงาน
 สมองพระราชดำริ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระ
 พระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี*. สืบค้นจาก [https://www4.fisheries.go.th/
 local/file_document/20200331102254_1_file.pdf](https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20200331102254_1_file.pdf)
- สถานีวิทยุโทรทัศน์แห่งประเทศไทย ขอนแก่น สำนักประชาสัมพันธ์เขต 1. (6 ธันวาคม 2556).
เวทีชุมชน, อนุรักษ์ฟื้นฟูการใช้น้ำมันกระถางลาย สมุนไพรพลังงานพื้นบ้าน.

- สมฤดี ศรีทับทิม, สุมลรัตน์ กระพี้แดง, และนิคม วงศา. (2557). ฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดพืชสมุนไพรที่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทย. *วารสารวิจัย มสต.*, 7(1), 21–40.
- สิริเชษฐ์ รัตนะชิตธวัช และจักรพงษ์ รัตตะมณี. (2560). สวนป่าสมุนไพร มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว (รายงานการวิจัย). สระแก้ว: มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว.
- สุจิตรา กลิ่นเกษร. (2548). สมุนไพร. ใน *สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว ฉบับเสริมการเรียนรู้ เล่ม 1*. หน้า 139 พิมพ์ครั้งที่ 2. อมรินทร์ พรินตติ้งแอนด์ พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน).
- สุทิวรรณ วุ่นหนู. (2559). การศึกษาคัญภาพและการประยุกต์ใช้ทางคลินิกของสารบริสุทธิ์ *rhodomyrtone* สำหรับรักษาสิว (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. (2545). *จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดสกลนคร. (2554ข). *ตำรายาในเอกสารโบราณ จังหวัดสกลนคร เล่ม 2: สมบัติพ่อพรมมา จันทะเสน*. สกลนคร: สำนักงานสาธารณสุข.
- สำนักงานจังหวัดเชียงใหม่. (2560). *บรรยายสรุปเชียงใหม่ ข้อมูลทั่วไปของจังหวัดเชียงใหม่*. สืบค้นจาก <http://www.chiangmai.go.th/managing/public/D8/8D01Feb2017150134.pdf>
- สำนักงานจังหวัดมหาสารคาม. (ม.ป.ป.). *จังหวัดมหาสารคาม*. สืบค้นจาก <http://www.maharakham.go.th/>
- สำนักงานจังหวัดเลย. (ม.ป.ป.). *ข้อมูลเศรษฐกิจสังคมจังหวัดเลย*. สืบค้นจาก <http://www.loei.go.th/data/pop47.doc>
- สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช. (2552). *ป่าเต็งรังแม่น้ำภาชี*. กรุงเทพฯ: ชุมชนุสสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- สำนักอุทยานแห่งชาติ. (ม.ป.ป.). *อุทยานแห่งชาตินันทนาการ*. สืบค้นจาก http://park.dnp.go.th/visitor/nationparkshow.php?PTA_CODE=1055
- หน่วยงานศึกษาวิจัยคัมภีร์โบราณ. (2525). *ตำรายาสมุนไพรลานนา*. เชียงใหม่: พิพิธภัณฑสถานชาติพันธุ์วิทยาแห่งชาติโอซากาและสถาบันวิจัยสังคม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- องค์การสวนพฤกษศาสตร์. (2558). *กระถางลาย*. สืบค้นจาก http://www.qsbg.org/Database/Botanic_Book%20full%20option/search_detail.asp?botanic_id=2465

- อุดมเดชา พลเยี่ยม. (2556). *การศึกษาโครงสร้างทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากมะเดื่อ* (รายงานการวิจัย). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร.
- อุทยานธรรมชาติวิทยาสิรีรุกขชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล. (ม.ป.ป.). *กระทงลาย*. สืบค้นจาก <https://sireepark.mahidol.ac.th/search>
- อุทยานแห่งชาติเอราวัณ สำนักอุทยานแห่งชาติ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช. (ม.ป.ป.) *พืชพรรณและสัตว์ป่า*. สืบค้นจาก http://park.dnp.go.th/visitor/nationparkshow.php?PTA_CODE=1011
- อุทัย โสธนะพันธุ์, ปนัดดา พัฒนาคิน, จันทนา บุรณะโอสถ, และสุนันทา ศรีโสภณ. (2556). การพิสูจน์ชนิดทางพฤกษศาสตร์ของโกศจุฬาลัมพาที่ใช้ในปัจจุบัน ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีชนิดแผ่นบาง. *ไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ*, 8(1), 1–6.
- Ababouch, L. H., Bouqartacha, F., & Busta, F. F. (1994). Inhibition of *Bacillus cereus* spores and vegetative cells by fatty acids and glyceryl monododecanoate. *Food microbiology*, 11(4), 327–336. Retrived from <https://doi.org/10.1006/FMIC.1994.1037>
- Al-Fekaiki, D.F. (2014). Application of gas chromatography mass spectrometry (GCMS) In: *Food science and biotechnology*. doi:10.13140/RG.2.2.35663.07844. <http://dx.doi.org/10.1007/s11418-009-0379-8>
- Alamgir A.N.M. (2018). Methods of qualitative and quantitative analysis of plant constituents. In: *Therapeutic use of medicinal plants and their extracts: volume 2 progress in drug research*, vol 74. Springer, Cham. Retrived from https://doi.org/10.1007/978-3-319-92387-1_9.
- Arora, N., & Rai, S.P. (2012). *Celastrus Paniculatus*, An endangered indian medicinal plant with miraculous cognitive and other therapeutic properties:an overview.*International journal of pharma and bio sciences*. 3(3), 290–303.
- Arora, N., & Rai, S.P. (2014). GC–MS analysis of the essential oil of *Celastrus paniculatus* Willd. seeds and antioxidant, anti-Inflammatory atudy of Its various solvent extracts. *Industrial crops and products*, 61, 45–51. doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.07.025>.
- Asahina, H., Shinozaki, J., Masuda, K., Morimitsu, Y. & Satake, M. (2010). Identification of medicinal *Dendrobium* species by phylogenetic BULBOPHYLLUM SECT. TRIAS (ORCHIDACEAE) *Phytotaxa* 226 (1) © 2015 Magnolia Press •13 analyses

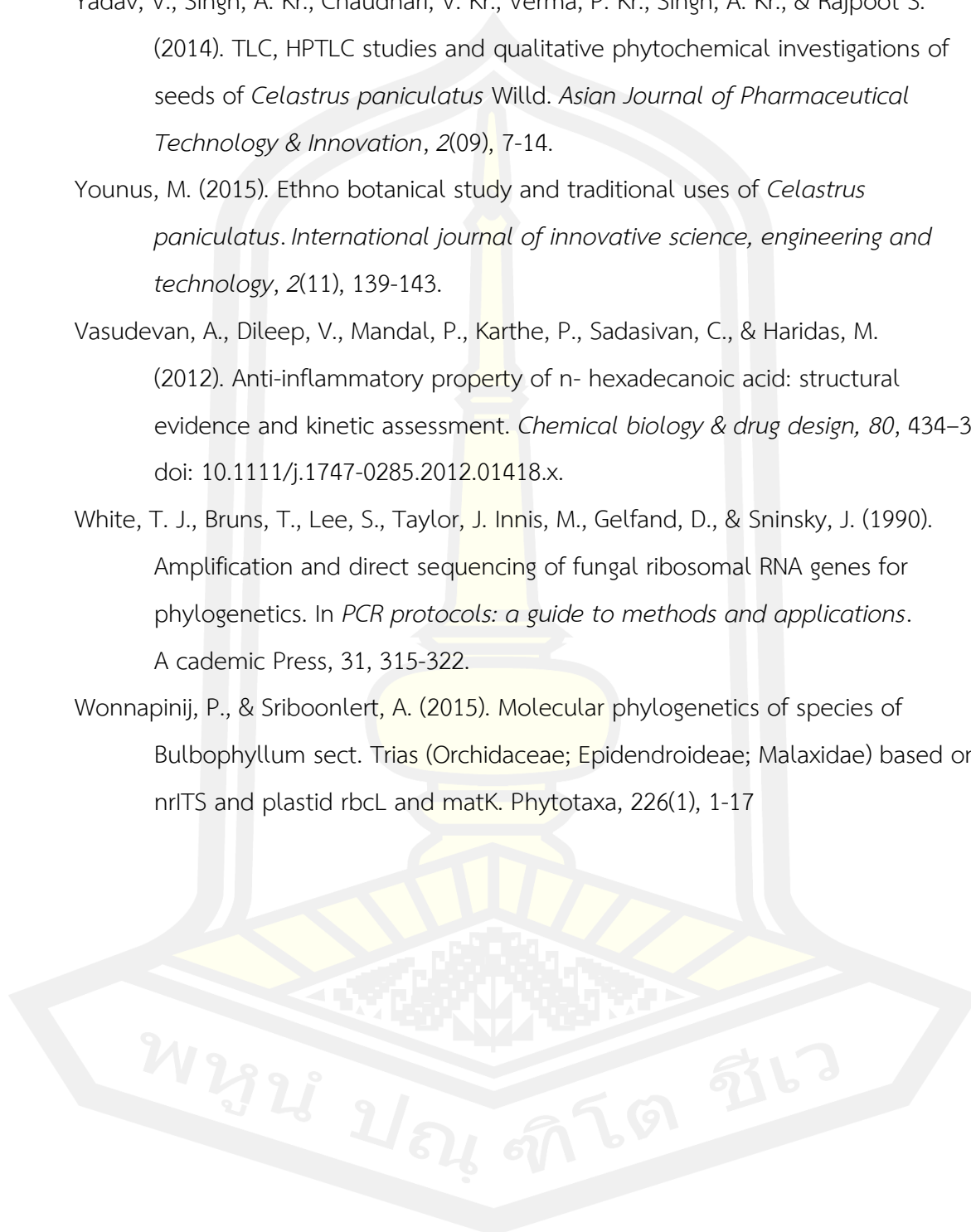
- using matK and rbcL sequences. *Journal of Natural Medicines* 64:133–138.
- Bhanumathy, M., Harish, MS., Shivaprasad, HN., & Sushma, G. (2010). Nootropic activity of *Celastrus paniculatus* seed. *Pharm Biol.* 48(3):324-7.
doi: 10.3109/13880200903127391.
- Chan, W.M., Liu, D.T., Chan, C.K., Chong, K.K., & Lam, D.S. Infective endophthalmitis caused by *Bacillus cereus* after cataract extraction surgery. (2003). *Clinical Infectious Diseases.* 37(3):31–33. doi: 10.1086/375898.
- Deodhar, K.A., & Shinde, N. W. (2015). Comparative study of aqueous extracts of all part of *C. paniculatus* Willd. *International journal of pharmacognocny.* 2(10), 523–26. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.IJP.2(10).523-26.
- Francis, J.W., Dandu M.M., Sardesai M.M. & Dhabe A.S. (2012). Note on *Celastrus paniculatus* Willd. ssp. *aggregatus* K.M. Matthew ex K.T.Matthew (*Celastraceae*). *Journal of threatened taxa.* 4(15), 3450–53.
doi:10.11609/jott.o2912.3450-3.
- Hameed, I. H., Altameme, H. J., & Idan, S. A. (2016). Artemisia annua: Biochemical products analysis of methanolic aerial parts extract and anti-microbial capacity. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences,* 7(2), 1843–1868.
- Harish, B.G., Krishna, V., Sharath, R., Swamy, H.M.K., Naika, H.R., & Mahdevan, K.M. (2007). Antibacterial Activity of Celapanin, a Sesquiterpene Isolated from the leaves of *Celastrus paniculatus* WILLD. *International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences,* 1(1), 65-68.
- Hasebe, M., Omori, T., Nakazawa, M., Sano, T., Kato, M. & Iwatsuki, K. (1994) rbcL gene sequences provide evidence for the evolutionary lineages of leptosporangiate ferns.
- Hou, D., Sivanov, I.A, Welzen, P.C.V., Duyfjes, B.EE, Harwood, B., Chayamarit K., Wilde W. J., & Atkins, S. (2010). *Flora of Thailand.* Vol. 10 Part 2. The Forest Herbarium, Royal Forest Department. Bangkok.
- Inta, Angkhana. (2008). *Ethnobotany and Crop Diversity of Tai Lue and Akha Communities in the Upper Northern Thailand and the Xishuangbanna Dai Autonomous Prefecture, China.* Chiang Mai. (Doctoral disseration)

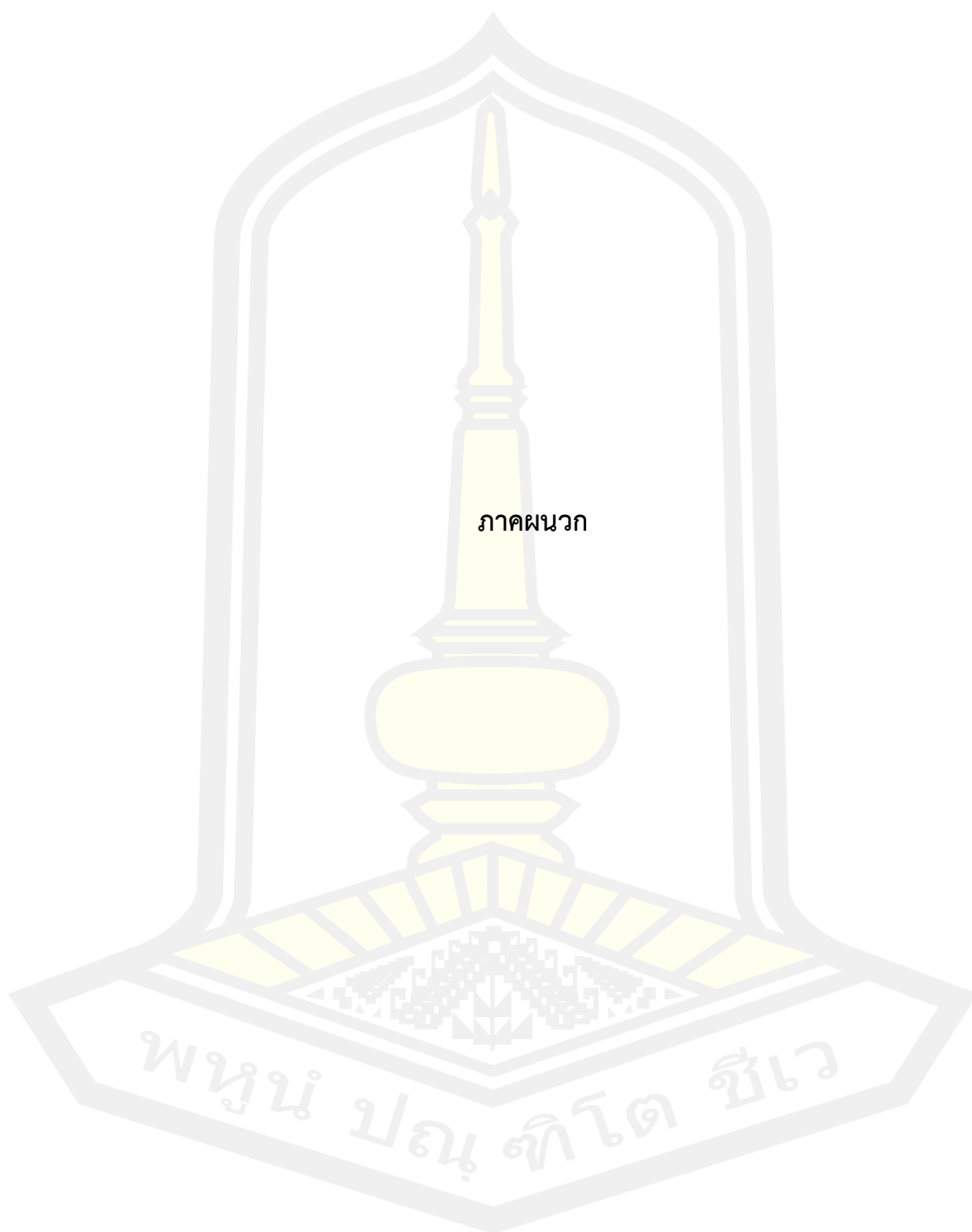
- Retrieved from https://archive.lib.cmu.ac.th/full/T/2008/etbio0308ai_abs.pdf
- Jyothi, K. S., & Seshagiri, M. (2012). In-vitro activity of saponins of *bauhinia purpurea*, *madhuca longifolia*, *celastrus paniculatus* and *semecarpus anacardium* on selected oral pathogens. *Journal of dentistry (Tehran, Iran)*, 9(4), 216–223.
- K.A., S., John, J., Narayanan, M. K., & Kumar, N. (2012). Ethnomedicinal uses of *Celastrus Paniculatus* Willd. Known to four tribal communities of Wayanad district of Kerala, India. *International journal of research in Ayurveda and pharmacy*, 3, 573–575.
- Kachenchart, B., Kosakul T. & Artchawakom T. (2008). Phenology of Edible Plants at Sakaerat Forest. *Journal of tropical plants research*. 1(1), 50-62.
- Kadri, K. (2019). *Polymerase chain reaction (PCR): principle and applications*. Retrieved from <https://www.intechopen.com/books/synthetic-biology-new-interdisciplinary-science/polymerase-chain-reaction-pcr-principle-and-applications>. doi:<http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.86491>
- Kakkara, A., Rajan, S., Kumar V, S., NP, S., KN, S.K., & Nair, J. (2017). Mapping traditional knowledge associated with *Celastrus Paniculatus* in India using geographical information system (GIS). *Journal of ayurveda medical sciences*, 1, 55–62. <https://doi.org/10.5530/jams.2016.1.9>
- Kamonnate Srithi. (2012). *Comparative ethnobotany in Nan Province Thailand (Doctoral disseration)*. Chiang Mai University, Chiang Mai.
- Kumar, P., Gupta, V.K., Misra, A.K., Modi, D.R. & Pandey, B.K. (2009). Potential of molecular markers in plant biotechnology. *Plant omics*, 2(4), 141-162.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular biology and evolution*, 35(6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Lovestead, T.M., & Urness, K. (2019). Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), *ASM handbook, Volume 10: Materials Characterization*. Retrieved from https://tsapps.nist.gov/publication/get_pdf.cfm?pub_id=926655
- Mu, X. Y., Zhao, L. C., & Zhang, Z. X. (2017). Molecular analysis of Chinese *Celastrus* and *Tripterygium* and implications in medicinal and pharmacological studies. *PLoS one*, 12(1), e0169973. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169973>

- National center for biotechnology information. (2020). *PubChem Compound Summary for CID 445639, Oleic acid*. Retrieved from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Oleic-acid>.
- National human genome research institute. (n.d.). *Polymerase chain reaction (PCR) fact sheet*. Retrieved from <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/Polymerase-Chain-Reaction-Fact-Sheet>
- PE, R., Shetty, G.R., K.G, P., & K, S. (2016). Genetic evaluation of *Celastrus paniculatus* Willd. accessions for yield and related traits. *Electronic Journal of plant breeding*, 6(4), 1069-1072. Retrieved from <http://www.ejplantbreeding.org/index.php/EJPB/article/view/1017>
- Perveen, S., (2018). Terpenes and Terpenoids. *Intechopen*. Retrieved from <https://www.intechopen.com/books/terpenes-and-terpenoids/introductory-chapter-terpenes-and-terpenoids>. doi: 10.5772/intechopen.79683
- Punchay, K., Angkhana, I., Tiansawat, P., Henrik, B., & Wangpakapattanawong, P. (2020). Traditional knowledge of wild food plants of Thai Karen and Lawa (Thailand). *Genetic resources and crop evolution*. 67(5), 1277-99. doi: 10.1007/s10722-020-00910-x.
- Raju, N.L, Prasad, M.N. (2007). Genetic diversity analysis of *Celastrus paniculatus* Willd. a nearly threatened, cognitive and intelligence enhancer by RAPD markers. *Functional plant science and biotechnology*, 1(1), 195-99.
- Robert L, G. & Mary, A. (2004). Techniques for gas chromatography/mass chromatography. In *modern practice of gas chromatography*, 4th ed. John Wiley & sons, Inc.
- Siddique, H., Pendry, B., & Rahman, M. M. (2019). Terpenes from *Zingiber montanum* and their screening against multi-drug resistant and methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(3), 385. <https://doi.org/10.3390/molecules24030385>
- Tangjitman, K., Wongsawad, C., Kamwong, K., Sukkho, T., & Trisonthi, C. (2015). Ethnomedicinal plants used for digestive system disorders by the Karen of northern Thailand. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 11, 27.

<https://doi.org/10.1186/s13002-015-0011-9>

- Yadav, V., Singh, A. Kr., Chaudhari, V. Kr., Verma, P. Kr., Singh, A. Kr., & Rajpoot S. (2014). TLC, HPTLC studies and qualitative phytochemical investigations of seeds of *Celastrus paniculatus* Willd. *Asian Journal of Pharmaceutical Technology & Innovation*, 2(09), 7-14.
- Younus, M. (2015). Ethno botanical study and traditional uses of *Celastrus paniculatus*. *International journal of innovative science, engineering and technology*, 2(11), 139-143.
- Vasudevan, A., Dileep, V., Mandal, P., Karthe, P., Sadasivan, C., & Haridas, M. (2012). Anti-inflammatory property of n- hexadecanoic acid: structural evidence and kinetic assessment. *Chemical biology & drug design*, 80, 434–39. doi: 10.1111/j.1747-0285.2012.01418.x.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. Innis, M., Gelfand, D., & Sninsky, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, 31, 315-322.
- Wonnapijit, P., & Sriboonlert, A. (2015). Molecular phylogenetics of species of *Bulbophyllum* sect. *Trias* (Orchidaceae; Epidendroideae; Malaxidae) based on nrITS and plastid rbcL and matK. *Phytotaxa*, 226(1), 1-17







ภาคผนวก ก

การเตรียมสารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

พหุบัณฑิตวิทยาลัย

1. สารเคมีการทดสอบหาพิษเคมีเบื้องต้น

1.1 สารเคมีในการทดสอบหาอัลคาลอยด์ (Yadav, 2015)

1.1.1 Dragendorff reagent

bismuth nitrate	8	กรัม
nitric acid 30% w/v	12	มิลลิลิตร
potassium iodide	27.2	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ละลาย bismuth nitrate ด้วย nitric acid 30 % w/v 12 มิลลิลิตร และละลาย potassium iodide ด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรจากนั้น เทสารละลาย potassium iodide ลงใน bismuth nitrate กรองเอาส่วนใส และปรับปริมาตรด้วยน้ำจนครบ 100 มิลลิลิตร

1.1.2 Mayer reagent

mercuric chloride	0.68	กรัม
potassium iodide	2.5	กรัม
น้ำกลั่น	50	มิลลิลิตร

ละลาย mercuric chloride ในน้ำกลั่นเล็กน้อย และละลาย potassium iodide ในน้ำกลั่นเล็กน้อย นำทั้งสองส่วนผสมกันและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 50 มิลลิลิตร

1.1.3 Hager's reagent

picric acid	0.5	กรัม
น้ำกลั่น	50	มิลลิลิตร

ละลาย picric acid ในน้ำกลั่นและปล้นปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 50 มิลลิลิตร

1.1.4 Wagner reagent

Iodine	1	กรัม
potassium iodide	3	กรัม
น้ำกลั่น	50	มิลลิลิตร

ละลาย iodine และละลาย potassium iodide นำทั้งสองส่วนผสมกันและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 50 มิลลิลิตร

1.2 สารเคมีสำหรับทดสอบหาฟลาโวนอยด์

1.2.1 ammonia reagent

Ammonia	1	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ปิเปต ammonia 1 มิลลิลิตรลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

1.3 สารเคมีสำหรับทดสอบหาแทนนิน

1.3.1 5% ferric chloride reagent

Ferric chloride	5	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ชั่ง ferric chloride 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

1.3.2 10 % laed subacetate reagent

laed subacetate	10	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ชั่ง laed subacetate 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

2. สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

2.1 การเตรียม mueller hinton agar (MHA) ปริมาณ 1,000 มล.

mueller hinton agar	38	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ชั่ง mueller hinton agar 38 กรัม เติลงในบีกเกอร์ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร และละลายอาหารด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายต้มจนข้นใส และนำเข้าฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันสูงที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้วเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้ออุณหภูมิลดลง จึงนำมาเทลงในจานเพาะเชื้อ 15-20 มิลลิลิตร เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวเก็บในถุงพลาสติกและเก็บในตู้เย็น

2.2 การเตรียม mueller hinton broth (MHB) ปริมาณ 1,000 มิลลิลิตร

mueller hinton broth	22	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ชั่ง Mueller hinton broth 22 กรัม เเทลงในบีกเกอร์ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ละลายอาหารด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน นำเข้าฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันสูงที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้วเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้ออุ่นจึงเก็บในตู้เย็น

1.3 การเตรียม Brain heart infusion agar (BHI agar) เต็มกลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 1,000 มิลลิลิตร

2.3.1 brain heart infusion agar

brain heart infusion broth	37	กรัม
agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	950	มิลลิลิตร

ชั่ง brain heart infusion broth 37 กรัม agar 15 กรัม เเทลงใน บีกเกอร์ปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร และละลายอาหารด้วยน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร ต้มสารละลายจนวุ้นใส นำเข้าฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันสูงที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้วเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้ออุ่นจึงเก็บในตู้เย็น

2.3.2 สารละลายกลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์

กลูโคส	10	กรัม
น้ำกลั่น	50	มิลลิลิตร

ชั่ง กลูโคส 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร นำไปกรองผ่าน หัวกรองที่ปราศจากเชื้อ เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อ BHI agar อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส เท สารละลายกลูโคสลง เขย่าผสมให้เข้ากันเบาๆ อย่าให้มีฟองอากาศ แล้วเทในงานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวจึงเก็บในตู้เย็น

2.4 Brain heart infusion broth

Brain heart infusion broth	37	กรัม
น้ำกลั่น	950	มิลลิลิตร

ชั่ง Brain heart infusion broth 37 กรัม เเทลงในบีกเกอร์ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร และละลายอาหารด้วยน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำเข้าฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันสูงที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้วเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้ออุ่นจึงเก็บในตู้เย็น

2.5 การเตรียมสารละลาย Mcfarland No.0.5

2.5.1 สารละลาย 1% กรดซัลฟูริก (1% H₂ SO₄)

ดูด Conc. H₂SO₄ มา 10 ml ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นเล็กน้อย และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร เก็บในขวดแก้วทึบแสง

2.5.2 สารละลาย 1 % BaCl₂ .2H₂O

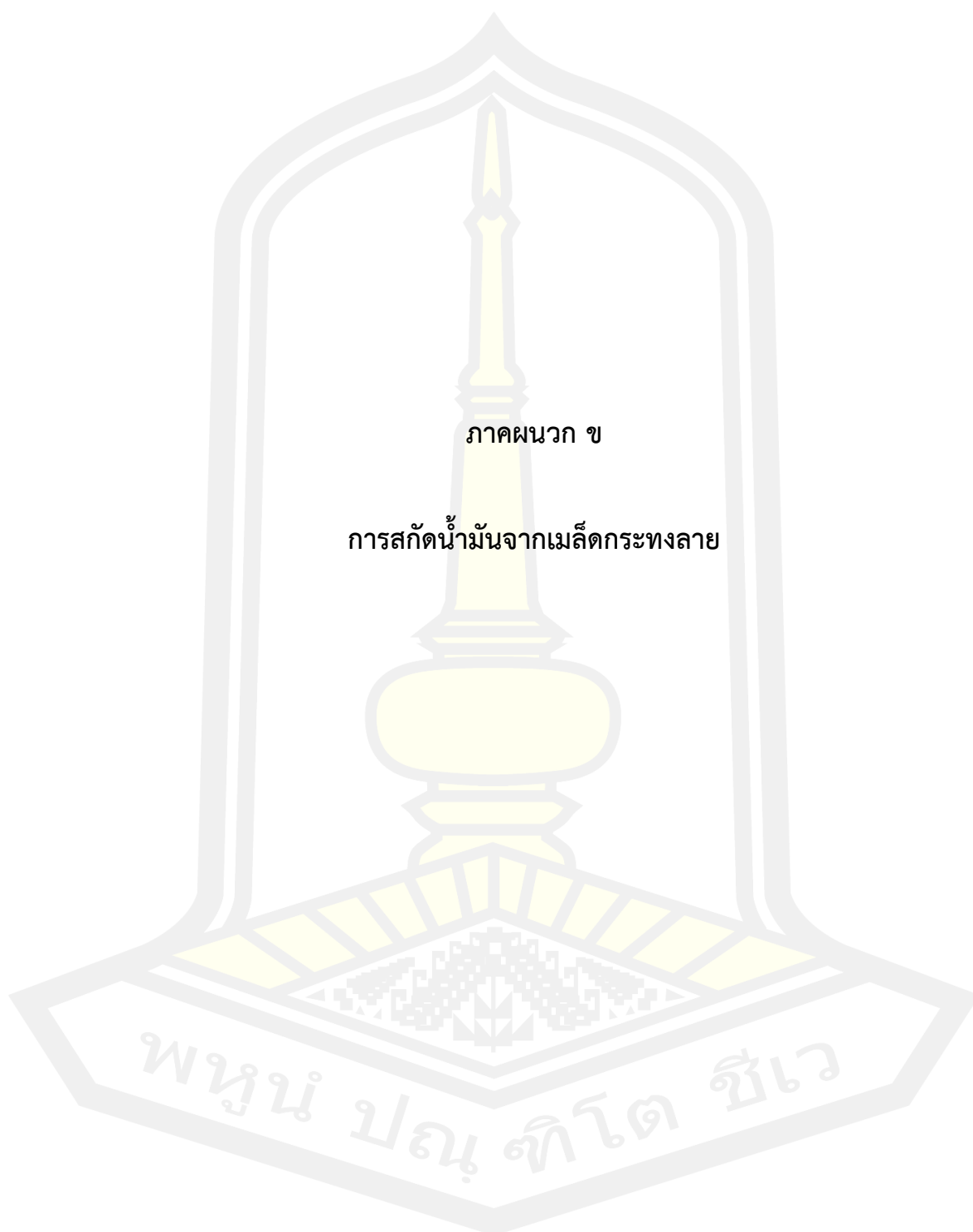
ชั่งสาร BaCl₂ 1 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 ml

ดูดสารละลาย 1% กรดซัลฟูริก 99.5 มิลลิลิตร และสารละลาย 1 % BaCl₂ .2H₂O 5 มิลลิลิตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บในภาชนะทึบแสงและปิดสนิท เก็บในตู้เย็น

2.6 สารละลาย normal saline (NSS)

Sodium chloride	0.9	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ละลาย Sodium chloride 0.9 กรัม เติมน้ำกลั่นผสมให้เข้ากัน ดูดใส่หลอดทดลอง 9 มิลลิลิตร นำเข้าฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันสูงที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เวลา 15 นาที เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้ออุ่นจึงเก็บตู้เย็น



การสกัดน้ำมันจากเมล็ดกระทงลาย



แกะเปลือกแห้งของเมล็ดกระทงลายทิ้ง



ซังน้ำหนักเมล็ดกระทงลายที่ได้



นำเมล็ดกระทงลายไปโชนกให้ละเอียด





แบ่งเมล็ดกาแฟที่โกลแล้วออกเป็นสามส่วนและห่อผ้าขาวบางที่สะอาด
นำไปให้ความร้อน 3 ระดับคือ

1. ระดับอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 20 นาที พรมน้ำสะอาด 1 แก้ว
ให้ความร้อนต่อจนครบ 30 นาที
2. ระดับอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 15 นาที
3. ระดับอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส 30 นาที



นำไปหีบน้ำมัน ในเครื่องหีบน้ำมัน วิธีประยุกต์การหีบน้ำมันกาแฟแบบภูมิปัญญาพื้นบ้าน





นำภาชนะสะอาดรองรับน้ำมันสกัดกระทงลายจากเครื่องหีบน้ำมัน



วัดปริมาตรน้ำมันสกัดจากเมล็ดกระทงลายที่ได้



เทน้ำมันสกัดเมล็ดกระทงลายที่ได้ใส่ในหลอดที่สะอาดรอการนำไปทดสอบ



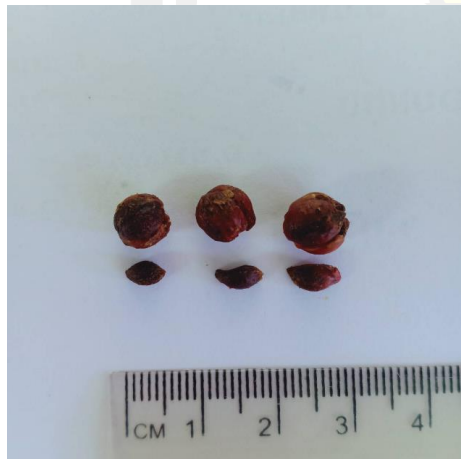




CP-CMI



CP-PLK



CP-LEI



CP-MKM-NCH1



CP-MKM-NCH2



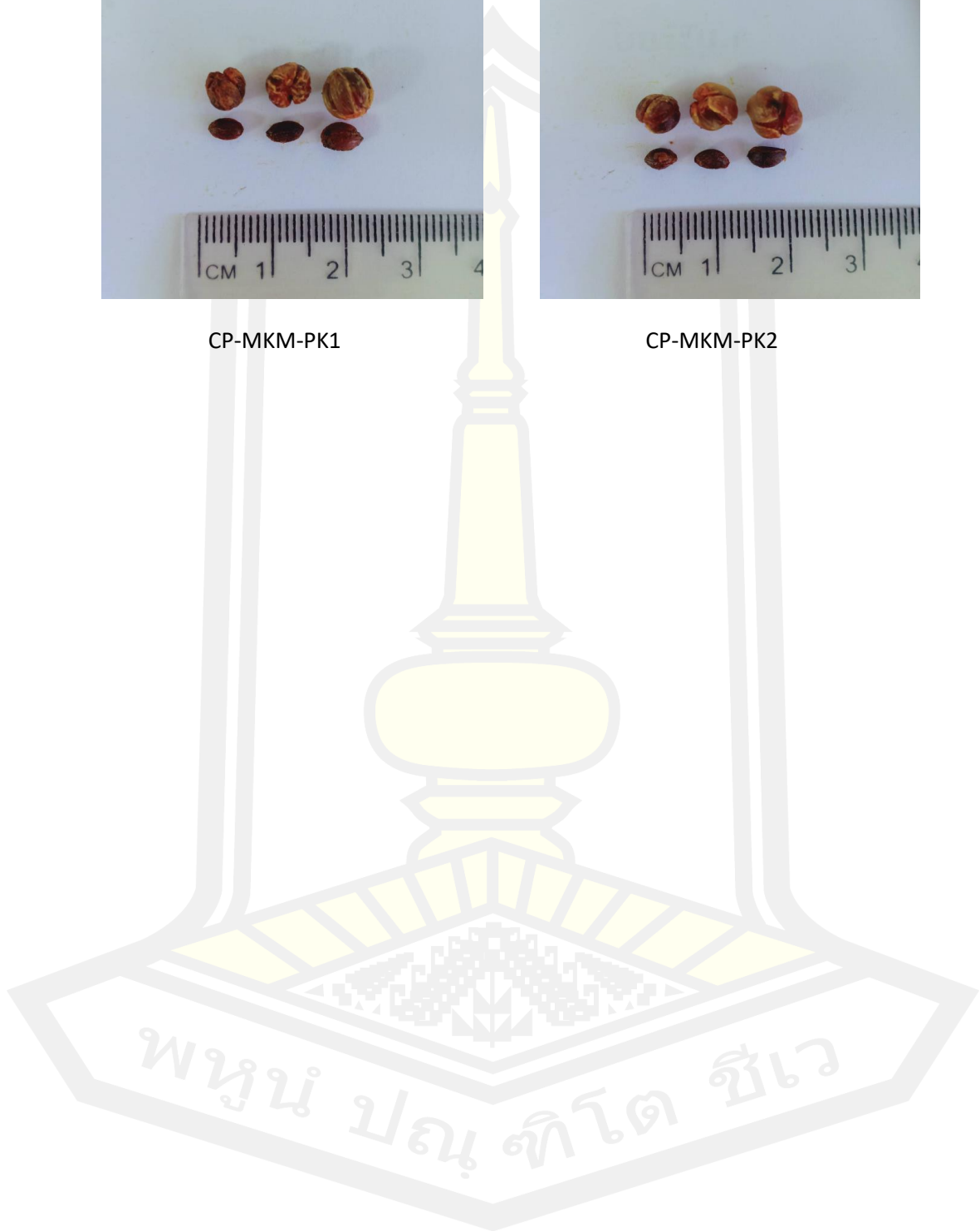
CP-MKM-WP



CP-MKM-PK1



CP-MKM-PK2





1. รหัส CP-CMI น้ำมันสกัดเมล็ดกระถางลายจากพื้นที่ อ.แมริม จ.เชียงใหม่ สารสกัดมีสีน้ำตาลเข้ม และหนืด



2. รหัส CP-CMI-15 น้ำมันสกัดเมล็ดกระถางลายจากพื้นที่ อ.แมริม จ.เชียงใหม่ สารสกัดมีสีน้ำตาลส้ม และหนืด



3. รหัส CP-CMI-30 น้ำมันสกัดเมล็ดกระถางลายจากพื้นที่ อ.แมริม จ.เชียงใหม่ สารสกัดมีสีน้ำตาลส้ม และหนืด



4. รหัส CP-PLK น้ำมันสกัดจากเมล็ดกระทงลายจาก อ.ชาติตระการ จ.พิษณุโลก สารสกัดมีสีน้ำตาล เหลืองและหนืด



5. รหัส CP-PLK-15 น้ำมันสกัดจากเมล็ดกระทงลายจาก อ.ชาติตระการ จ.พิษณุโลก สารสกัดมีสีน้ำตาลเหลืองและหนืด



6. รหัส CP-PLK-30 น้ำมันสกัดจากเมล็ดกระทงลายจาก อ.ชาติตระการ จ.พิษณุโลก สารสกัดมีสีน้ำตาลเหลืองและหนืด



7. รหัส CP-LEI น้ำมันสกัดจากเมล็ดกระทังลายจาก อ.ภูเรือ จ.เลย สารสกัดมีสีเหลืองส้มและ
หนืด



8. รหัส CP-LEI-15 น้ำมันสกัดจากเมล็ดกระทังลายจากอ.ภูเรือ จ.เลย สารสกัดมีสีเหลืองส้มและ
หนืด



9. รหัส CP-LEI-30 น้ำมันสกัดจากเมล็ดกระทังลายจาก อ.ภูเรือ จ.เลย สารสกัดมีสีเหลืองส้มและ
หนืด



10. รหัส CP-MKM-NCH1 น้ำมันสกัดเมล็ดกระถางลายจาก อ.นาเชือก จ.มหาสารคาม (1) สารสกัดมีสีน้ำตาลส้มและเหนียว



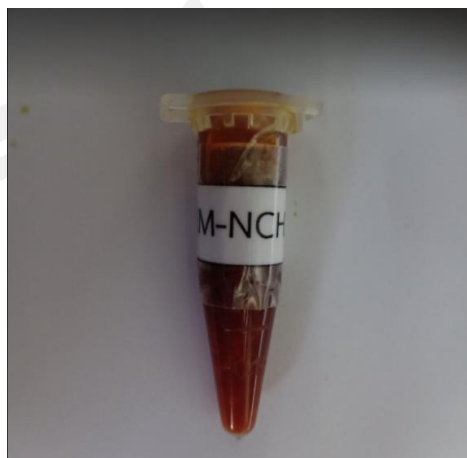
11. รหัส CP-MKM-NCH1-15 น้ำมันสกัดเมล็ดกระถางลายจาก อ.นาเชือก จ.มหาสารคาม (1) สารสกัดมีสีน้ำตาลส้มและเหนียว



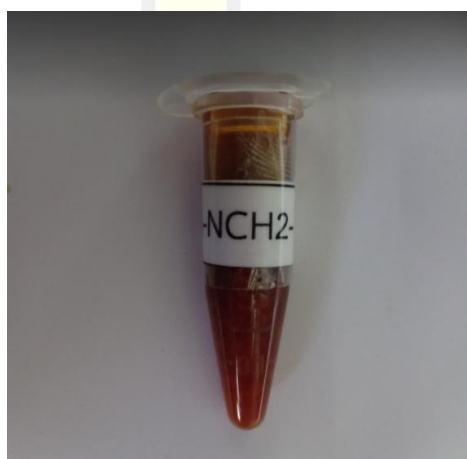
12. รหัส CP-MKM-NCH1-30 น้ำมันสกัดเมล็ดกระถางลายจาก อ.นาเชือก จ.มหาสารคาม (1) สารสกัดมีสีน้ำตาลส้มและเหนียว



13. รหัส CP-MKM-NCH2 น้ำมันสกัดเมล็ดกระถางลายจาก อ.นาเชือก จ.มหาสารคาม (2) สารสกัดมีสีน้ำตาลเหลืองและหนืด



14. รหัส CP-MKM-NCH2-15 น้ำมันสกัดเมล็ดกระถางลายจาก อ.นาเชือก จ.มหาสารคาม (2) สารสกัดมีสีน้ำตาลเหลืองและหนืด



15. รหัส CP-MKM-NCH2-30 น้ำมันสกัดเมล็ดกระถางลายจาก อ.นาเชือก จ.มหาสารคาม (2) สารสกัดมีสีน้ำตาลเหลืองและหนืด



16. รหัส CP-MKM-WP น้ำมันสกัดจากเมล็ดกระถางลายจาก อ.วาปีปทุม จ.มหาสารคาม สารสกัดมีสีน้ำตาลและหนืด



17. รหัส CP-MKM-WP-15 น้ำมันสกัดเมล็ดกระถางลายจาก อ.วาปีปทุม จ.มหาสารคาม สารสกัดมีสีน้ำตาลและหนืด



18. รหัส CP-MKM-WP-30 น้ำมันสกัดเมล็ดกระถางลายจากอ.วาปีปทุม จ.มหาสารคาม สารสกัดมีสีน้ำตาลและหนืด



19. รหัส CP-MKM-PK1 น้ำมันสกัดจากเมล็ดกระถางลายจาก อ.พยัคฆภูมิพิสัย จ.มหาสารคาม (1)
สารสกัดมีสีน้ำตาลเหลืองและหนืด



20. รหัส CP-MKM-PK1-15 น้ำมันสกัดจากเมล็ดกระถางลายจาก อ.พยัคฆภูมิพิสัย จ.มหาสารคาม (1)
สารสกัดมีสีน้ำตาลเหลืองและหนืด



21. รหัส CP-MKM-PK1-30 น้ำมันสกัดจากเมล็ดกระถางลายจาก อ.พยัคฆภูมิพิสัย จ.มหาสารคาม (1)
สารสกัดมีสีน้ำตาลเหลืองและหนืด



22. รหัส CP-MKM-PK2 น้ำมันสกัดจากเมล็ดกระถางลายจาก อ.พยัคฆภูมิพิสัย จ.มหาสารคาม
(2) สารสกัดมีสีน้ำตาลและเหนียว



23. รหัส CP-MKM-PK2-15 น้ำมันสกัดจากเมล็ดกระถางลายจาก อ.พยัคฆภูมิพิสัย จ.มหาสารคาม (2)
สารสกัดมีสีน้ำตาลและเหนียว



24. รหัส CP-MKM-PK2-30 น้ำมันสกัดจากเมล็ดกระถางลายจากอ.พยัคฆภูมิพิสัย จ.มหาสารคาม (2)
สารสกัดมีสีน้ำตาลและเหนียว

พหุบัณฑิต ชีวะ



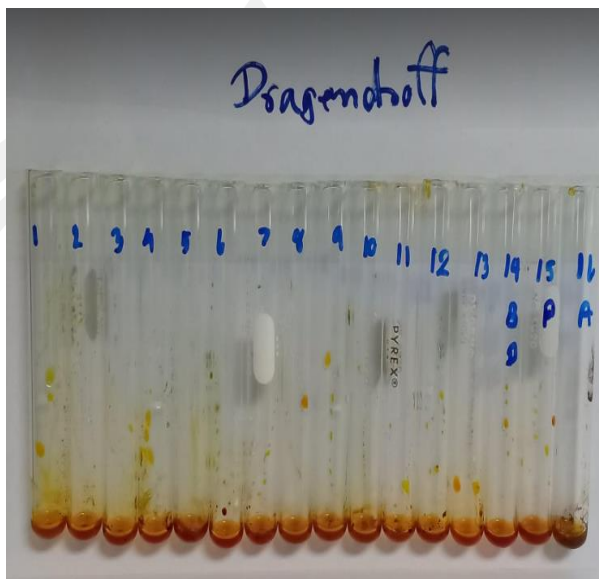


ภาคผนวก จ

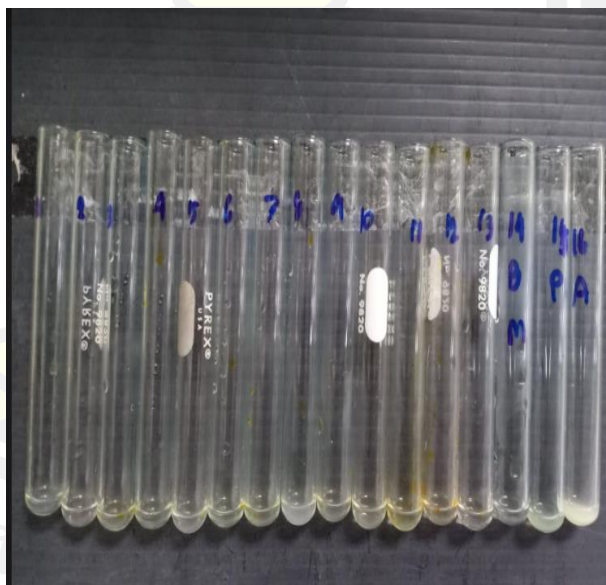
การทดสอบหาสารพิษเคมีเบื้องต้น

พหุณฺ ปรณฺ ทิโต ชีเว

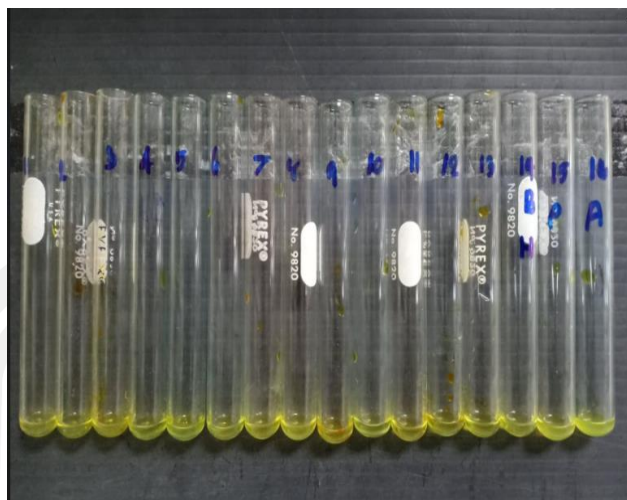
1. การทดสอบหาอัลคาลอยด์



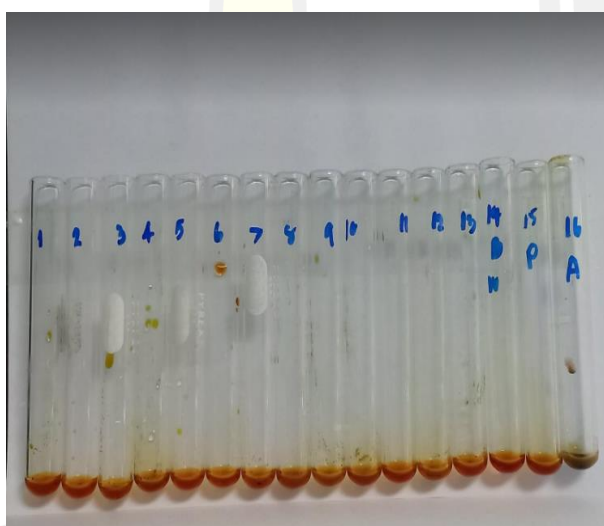
1-13* คือตัวอย่างน้ำมันกระเทียม ทดสอบ Dragendorff's test ผลบวก เกิดตะกอนสีส้ม น้ำตาล



1-13* คือตัวอย่างน้ำมันกระเทียม mayer's test ผลบวก เกิดตะกอน

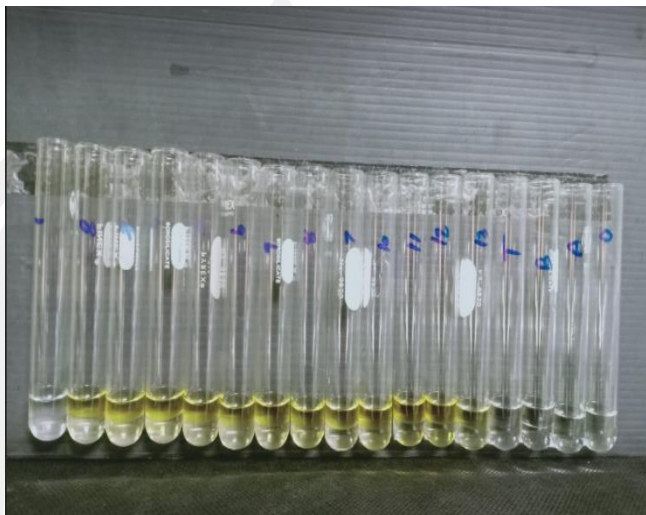


1-13* คือตัวอย่างน้ำมันกระทั่งลาย hager's test ผลบวก เกิดตะกอนสีเหลือง



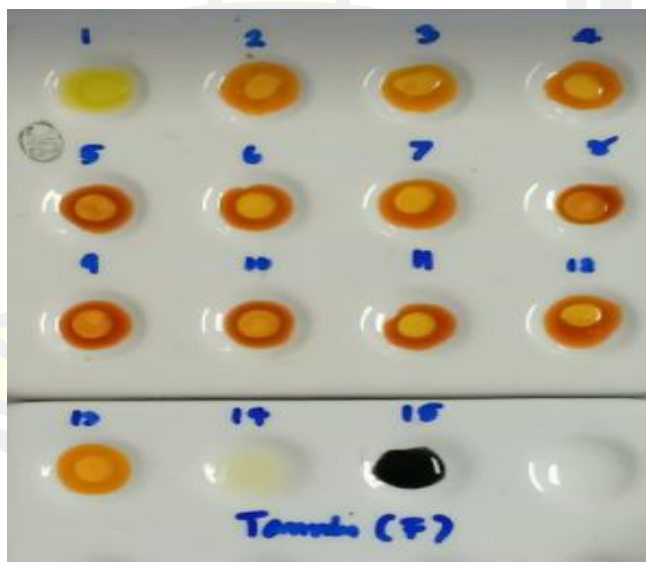
1-13* คือตัวอย่างน้ำมันกระทั่งลาย wagner's test ผลบวก เกิดตะกอนสีน้ำตาลแดง

2. ฟลาไวโนอยด์

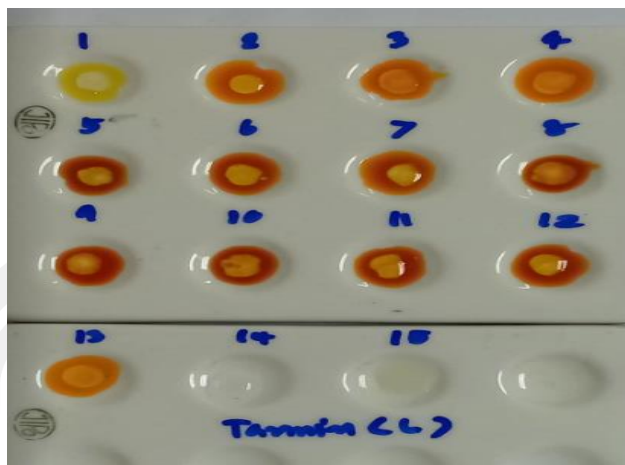


1-13* คือตัวอย่างน้ำมันกระທงລາຍ ammonia test ผลบวก สีเหลืองคือมีฟลาไวโนอยด์

3. แทนนิน

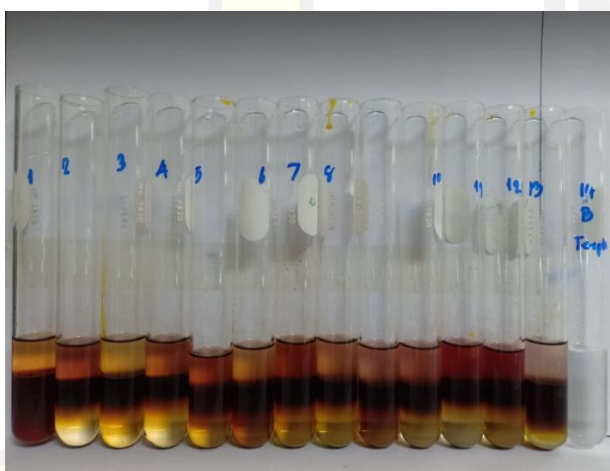


1-13* คือตัวอย่างน้ำมันกระທงລາຍ วิธี ferric chloride test ผลบวก คือ มีสีเขียวเข้มถึงดำ



1-13* คือตัวอย่างน้ำมันกระถงหลาย วิธี laed subacetate ผลบวกคือการตกตะกอนและเหนียว

4. เทอร์ปีนอยด์ (terpenoid)



1-13* คือตัวอย่างน้ำมันกระถงหลาย ผลบวก วิธี salkowski test ผลบวกจะมีสีน้ำตาลแดงที่ผิวของสารละลาย

* คำอธิบายภาพ

- | | | |
|--------------------|------------------|--------------------|
| 1 = CP-CMI | 2 = CP-MKM-NCH1 | 3 = CP-MKM-NCH1-15 |
| 4 = CP-MKM-NCH1-30 | 5 = CP-MKM-NCH2 | 6 = CP-MKM-NCH2-15 |
| 7 = CP-MKM-PK2-15 | 8 = CP-LEI-15 | 9 = CP-LEI-30 |
| 10 = CPMKM-WP | 11 = CPMKM-WP-15 | 12 = CPMKM-WP-30 |
| 13 = CP-PLK | B = Blank | |

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	กรชนก แก่นคำ
วันเกิด	22 มกราคม 2516
สถานที่เกิด	อำเภอกันทรารมย์ จังหวัดศรีสะเกษ
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 164 หมู่ที่ 6 ตำบลโนนผึ้ง อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี 34190
ตำแหน่งหน้าที่การงาน	นักวิทยาศาสตร์ ชำนาญการพิเศษ
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี 34190
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2531 มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนนารีนุกูล อุบลราชธานี พ.ศ. 2532 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเบ็ญจะมะมหาราช (ม.4-ม.5) พ.ศ. 2533 สอบเทียบมัธยมศึกษาตอนปลาย ศูนย์การศึกษานอกโรงเรียน จังหวัดอุบลราชธานี พ.ศ. 2538 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ. 2544 ปริญญาศิลปศาสตรบัณฑิต (ศศ.บ.) สาขาภาษาอังกฤษ สถาบัน ราชภัฏอุบลราชธานี พ.ศ. 2559 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาความหลากหลายทาง ชีวภาพ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พ.ศ. 2564 ปริญญาดุษฎีบัณฑิต สาขาความหลากหลายทางชีวภาพ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาความหลากหลาย ทางชีวภาพ) มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ทุนวิจัย	1. ทุนพัฒนางานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ปี 2557 กองส่งเสริมวิจัยและ บริการวิชาการ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 2. ทุนประเภทบัณฑิตศึกษา ประจำปี 2558 สำนักงานคณะกรรมการวิจัย

ผลงานวิจัย

แห่งชาติ (วช.)

3. ทุนประภทบัณฑิตศึกษา ประจำปี 2561 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

ปาจารย์ ทองงอกและกรชนก แก่นคำ. 2548. ฤทธิ์ต้านจุลชีพของผักพื้นบ้านอีสาน. เกษตรศาสตร์อีสาน. 1(1) : 41-46.

วิภาวี เสาทิน, ชลัดดา พิษญาจิตติพงษ์และกรชนก แก่นคำ. 2549.

ไทยเกษตรศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ. 1(2): 41-43.

พรทิพย์ ไวกูม, ไพจิตร ศรีธนาวัฒน์, กรชนก แก่นคำและอดิชัย

แสนทวีสุข. 2549. รายงานวิจัย ฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจากขมิ้น

ในการยับยั้งกระบวนการออกซิเดชันของ Plasma lipids และ LDL (Low Density Lipoprotein). คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

กรชนก แก่นคำ, ศิริมา สุวรรณภูมิ จันท๊ะมาและสุดาร์ตน์ ถนนวนแก้ว.

(2558). การคัดเลือกแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลสจากเขตห้ามล่าสัตว์ป่าดงลำพัน จังหวัดมหาสารคาม ด้วยวิธี Gram s iodine method. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ฉบับพิเศษ, 11(1), 183-189.

กรชนก แก่นคำ, ธนพัต วิสาพลและสุภาวดี ศรีภักดี. (2554). การนำ

วัสดุเหลือทิ้งมาทดแทนแผ่นกรอง (Diaphragm filter) ในเครื่องวัดความดันโลหิตแบบปรอท. อุบลราชธานี. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

กรชนก แก่นคำ, ธนพัต วิสาพลและศิริมา สุวรรณภูมิ จันท๊ะมา.

(2558). การศึกษาประสิทธิภาพความคงตัวและสภาวะการเก็บสารละลาย tetramethyl-p-phenylenediamine Dihydro chloride สำหรับพิสูจน์เอกลักษณ์เชื้อแบคทีเรีย Pseudomonas aeruginosa. อุบลราชธานี. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

กรชนก แก่นคำ, สุภาวดี ศรีภักดี, จุฬาลักษณ์ เขาแก้วและลัดดาวัลย์

จันได. (2563). การพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อรา Penicillium sp. จากมันสำปะหลังและมันเทศ. อุบลราชธานี. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.