บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1.1 พืชตัวอย่าง

กล้วยไม้เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ในวงศ์ Orchidaceae เป็นไม้ตัดดอกยอดนิยม เนื่องจากมีลักษณะดอกและสีสันลวดลายสวยงาม เป็นไม้ตัดดอกที่มีอายุการใช้งานได้นาน กล้วยไม้เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของไทย เพราะเป็นไม้ส่งออกขายต่างประเทศทำรายได้เข้าประเทศปีละหลายร้อยล้านบาท มีการปลูกเลี้ยงอย่างครบวงจร ตั้งแต่การผสมเกสร เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เลี้ยงลูกกล้วยไม้ เลี้ยงต้นกล้วยไม้จนกระทั่งให้ดอก ตัดดอกบรรจุหีบห่อและส่งออกเอง

แหล่งกำเนิดกล้วยไม้ป่าที่สำคัญของโลกมี 2 แหล่งใหญ่ ๆ ด้วยกันคือ ลาตินอเมริกากับเอเชียแปซิฟิค สำหรับในลาตินอเมริกาเป็นอาณาบริเวณอเมริกากลางติดต่อกับเขตเหนือของอเมริกาใต้ ส่วนแหล่งกำเนิดกล้วยไม้ป่าในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิค มีประเทศไทยเป็นศูนย์กลาง จากการค้นพบประเทศไทยมีพันธุ์กล้วยไม้ป่าเป็นจำนวนมาก แสดงให้เห็นว่าประเทศไทยมีสภาพแวดล้อมเอื้ออำนวยต่อการเจริญงอกงามของกล้วยไม้มาก และกล้วยไม้ป่าที่ในพบในภูมิภาคแถบนี้มีลักษณะเด่นที่เป็นเอกลักษณ์ของตนเอง แตกต่างจากกล้วยไม้ในภูมิภาคลาตินอเมริกา ยกตัวอย่างเช่น

กล้วยไม้สกุลเด็นโดรบิอุม หรือที่ผู้ปลูกเลี้ยงกล้วยไม้รุ่นบุกเบิกตั้งแต่เริ่มแรกจนถึงปัจจุบันนิยมเรียกว่าเป็นพวกหวายต่าง ๆ นั้น เป็นสกุลที่มีจำนวนมากที่สุด ในประเทศไทยมีจำนวนมากกว่า 150 ชนิด ทุกชนิดเป็นกล้วยไม้อิงอาศัย ลักษณะต้นมีทั้งแบบที่เป็นลำกลมยาวคล้ายหวายย่อส่วน ลำต้นรูปลูกกล้วย รูปกระสวย รูปเหลี่ยม ตลอดจนพวกที่ลำต้นผอมยาวคล้ายเส้นลวด ลักษณะการเจริญเติบโตส่วนใหญ่เป็นแบบเจริญทางด้านข้าง ใบมีทั้งพวกใบยาว พวกใบหนา ใบเล็กเรียวเกือบกลม และพวกที่ทิ้งใบก่อนฤดูดอก หรือพวกที่มีใบมีอายุนานหลายปี รากมักจะมีขนาดเล็ก ออกเป็นกระจุกจากโคนต้นหรือจากข้อ ลักษณะที่สำคัญของสกุล คือ ดอกมีกลุ่มเรณูรูปรี 2 คู่ และเป็นกลุ่มเรณูที่ไม่มีก้านหรือแผ่นเยื่อบาง ๆ เชื่อมระหว่างคู่ ฝาปิดอับเรณูค่อนข้างกลมและร่วงง่าย เส้นเกสรสั้น แต่มักจะมีส่วนฐานเจริญยืดยาวคล้ายคาง (Mentum) ซึ่งเป็นส่วนที่กลีบเลี้ยงด้านข้างติดทาบอยู่ตลอดตามยาว กลีบปากติดอยู่ที่ปลายสุดของส่วนคาง ลักษณะของดอกตรง บริเวณนี้โดยภาพรวมคล้ายถุง ซึ่งจะเล็ก ใหญ่ สั้น ยาว ต่างกันไปในแต่ละชนิด (อบฉันท์ ไทยทอง, 2548)

กล้วยไม้อิงอาศัยสกุลอะเอรีดีส หรือแอริดีส (Aerides)เป็นที่รู้จักกันทั่วไปในชื่อไทยที่เรียกว่า เอื้องกุหลาบ มีหลายชนิดทุกชนิดที่พบในประเทศไทยล้วนสวยงามและมีกลิ่นหอม มีการ

นำมาปลูกเลี้ยงกันทั่วไป เอื้องกุหลาบ มีต้นกลมยาว ต้นแก่มักจะแตกกิ่งใกล้โคนต้น รากใหญ่ยาว ใบรูปขอบขนานเรียงสลับซ้ายขวา โคนใบเป็นกาบหุ้มต้น ช่อดอกเกิดตามซอกใบ เอนเล็กน้อยหรือห้อยลงส่วนใหญ่ดอกในช่อค่อนข้างดก บานทนหลายวัน บางชนิดทนเป็นอาทิตย์ถึงหลายอาทิตย์ ขนาดดอก 2-3 เซนติเมตร ดอกบานช่วงฤดูร้อนไปจนถึงต้นฤดูฝน กลีบเลี้ยงและกลีบดอกคล้ายกัน กลีบปากมีเดือยซึ่งมักจะงอและเบนออกทางด้านหน้า แผ่นกลีบปากหยักเว้าเป็น 3 หยัก หยักกลางอาจจะเป็นแผ่นใหญ่ แผ่กว้าง หรือเป็นแถบเล็ก และพับขึ้นไปจรดกับเส้าเกสร หยักด้านข้างทั้งสองตั้งหรือโค้งเข้าหากัน เส้าเกสรค่อนข้างสั้น และปลายมีจะงอยแหลมกลุ่มเรณูเกือบกลม มีร่องแคบและตื้น มี 2 กลุ่ม ยึดติดกับแถบแผ่นเยื่อแคบ ๆ ในธรรมชาติพบขึ้นตามป่าเบญจพรรณ ป่าดิบ บางชนิดพบตามป่าชายเลนในประเทศไทยพบ 8 ชนิด มีกลิ่นหอมมากน้อยต่าง ๆ กัน (อบฉันท์ ไทยทอง, 2548)

กล้วยไม้สกุลคิมบิดอิอุม หรือคิมบิเดียม หรือซิมบิเดียม (Cymbidium) นิยมปลูกกันแพร่หลาย และเป็นสกุลใหญ่ มีประมาณ 44 ชนิด ในประเทศไทยพบถึง 18 ชนิด บางชนิดขึ้นตามพื้นดิน บางชนิดเป็นกล้วยไม้อิงอาศัย มีหัวสั้นหรือยาว ใบเป็นแถบยาวค่อนข้างแข็งหรือเป็นแผ่นรูปรี โคนใบซ้อนถี่หุ้มหัวไว้ ช่อดอกมักจะยาว ในบางชนิดตั้งหรือโค้ง บางชนิดห้อยลง ดอกค่อนข้างโต กลีบเลี้ยงและกลีบดอกคู่ข้างคล้ายกัน กลีบปากมีหูปากตั้งและชิดกับเส้าเกสร กลางกลีบมีเยื่อนูนเป็นสันตามยาว 2 แนว เส้าเกสรยาวและโค้งเล็กน้อย บางชนิดมีกลุ่มเรณู 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มเว้าลึก บางชนิดมีกลุ่มเรณู 4 กลุ่ม แต่ละกลุ่มยึดติดกับแผ่นเยื่อ กว้างและสั้น ส่วนใหญ่ดอกของกล้วยไม้สกุลนี้บานทนและดอกในช่อทยอยบานเป็นเวลานาน (อบฉันท์ ไทยทอง, 2548)

1) เอื้องคำ (ฐานข้อมูลพรรณไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์, 2557)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium chrysotoxum* Lindl.

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อสามัญ : Fried egg orchid, Dai Orchid

ชื่อเรียกอื่น : เอื้องตาคำ

พบครั้งแรกในประเทศอินเดีย ต่อมาในปี ค.ศ. 1847 Sir John Lindley ได้ตั้งชื่อพฤกษศาสตร์ว่า “*D. chrysotoxum*” โดยชื่อระบุชนิดมีรากศัพท์มาจากภาษากรีกว่า chryso แปลว่า สีทอง หมายถึง ดอกสีเหลืองของกล้วยไม้ชนิดนี้

ลักษณะ**:** ลำลูกกล้วยรูปกระสวย มีทั้งสั้นและยาว กลางลำอ้วนกว่าโคนและปลาย ขึ้นชิดกันเป็นกอ ใบรูปขอบขนานจนถึงรูปหอก ขนาด 2.5x8 เซนติเมตร ปลายเว้า โคนใบเป็นกาบ มีอายุหลายฤดูก่อนหลุดร่วง ที่ข้อต่อช่อดอกออกที่ข้อส่วนปลายลำมี 1-2 ช่อ ก้านช่อสั้นกว่าแกนช่อ ดอกมีขนาด 2.5 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงรูปขอบขนาน กลีบดอกรูปรีกว้างแกมรูปไข่กลับทั้งห้ากลีบมีสีเหลือง

ปลายมน กลีบปากรูปทรงเกือบกลม สีเหลือง แผ่นกลีบด้านบนเป็นขนละเอียด ขอบกลีบหยักชายครุย เส้าเกสรสั้น (ดังภาพที่ 2.1)

ภาพที่ 2.1 เอื้องคำ

ที่มา : LampangHouse (2553)

เขตการกระจายพันธุ์: อินเดีย จีน พม่า ไทย ลาว เวียดนาม

ถิ่นอาศัย: กล้วยไม้อิงอาศัย พบในป่าเต็งรัง ป่าดิบเขา ป่าสนเขา และป่าเต็งรังผสมสน ตามที่โล่งแจ้งแสงแดดจัด ที่ความสูง 100–1,200 เมตร จากระดับน้ำทะเล

ฤดูออกดอก: เดือนมีนาคมถึงพฤษภาคม ช่วงออกดอกไม่ทิ้งใบ

สถานภาพ: ปลูกเลี้ยงตามบ้านและสวนพฤกษศาสตร์อย่างแพร่หลาย ทั้งยังนำมาขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการเพื่อคืนสู่ป่าตามโครงการพระราชดำริ ในธรรมชาติมีประชากรค่อนข้างมาก แต่มีจำนวนลดลงอย่างต่อเนื่อง (สลิล สิทธิสัจธรรม, 2549)

สรรพคุณ/ประโยชน์ : ชาวจีนนำเอื้องคำมาตากแห้ง แล้วชงเป็นเครื่องดื่มเรียกว่า “ชาดอกกล้วยไม้” โดยมีสรรพคุณที่ทำให้นอนหลับสบาย ช่วยลดความดันโลหิต และเพิ่มสมรรถภาพทางเพศ (บ้านสวนพอเพียง, 2555)

2) เอื้องกุหลาบกระเป๋าเปิด (สลิล สิทธิสัจธรรม, 2549)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Aerides falcata* Lindl. & Paxton

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อเรียกอื่น : พวงกุหลาบ เอื้องกุหลาบพวง เอื้องคำสบนก เอื้องกุหลาบป่า

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ลำต้นยาวและห้อยลง ใบรูปแถบ ขนาด 3 x 20 เซนติเมตร เรียงห่างกัน ปลายใบเว้า ช่อดอกห้อยลง มักมีมากกว่า 1 ช่อ ดอกขนาด 2.5 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงบนรูปรีกว้างจนเกือบกลม ปลายกลีบแหลม กลีบเลี้ยงคู่ข้างรูปครึ่งวงกลมและเบี้ยว ปลายกลีบแหลมจนถึงเป็นติ่งแหลม โคนกลีบเชื่อมกับคางเส้าเกสร กลีบดอกรูปรี ปลายกลีบหยักเป็นฟันไม่สม่ำเสมอ ปลายกลีบมน สีม่วง กลีบปากแผ่เป็น 3 แฉก แฉกกลางมีขนาดใหญ่รูปครึ่งวงกลม ปลายเว้า กลางกลีบคอด หูกลีบปากรูปเคียวขนาดใหญ่ ปลายมน ทั้งหกกลีบมีสีขาว (ดังภาพที่ 2.2)

ภาพที่ 2.2 เอื้องกุหลาบกระเป๋าเปิด
ที่มา: ฐานข้อมูลพรรณไม้ องค์การสวนพฤกษศาสตร์ (2557)

เขตการกระจายพันธุ์: อินเดีย พม่า ไทย ลาว กัมพูชา เวียดนาม ประเทศไทย พบที่เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน ลำปาง สุโขทัย พิษณุโลก เพชรบูรณ์ นครพนม สกลนคร เลย ชัยภูมิ นครราชสีมา สระบุรี นครนายก ชลบุรี จันทบุรี กาญจนบุรี กระบี่

ถิ่นอาศัย: กล้วยไม้อิงอาศัยที่พบในป่าเบญจพรรณ ป่าเต็งรัง พบบ้างในป่าดิบเขาและป่า-ดิบแล้ง ตามที่โล่งแจ้งแสงแดดจัดและแสงแดดรำไร ที่ความสูง 750-1,300 เมตร เหนือ-ระดับน้ำทะเล

ฤดูออกดอก: เดือนพฤษภาคมถึงมิถุนายน ช่วงออกดอกไม่ทิ้งใบ

สถานภาพ: ปลูกเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายตามบ้านและสวนพฤกษศาสตร์ ทั้งยังนำมาเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการเพื่อคืนสู่ป่าตามโครงการพระราชดำริ ในธรรมชาติประชากรส่วนมากพบหลายพื้นที่ แต่มีจำนวนลดลง

สรรพคุณ/ประโยชน์: ยังไม่ได้มีการระบุประโยชน์อย่างชัดเจน (อุทยานหลวงราชพฤกษ์, 2560)

3) กะเรกะร่อน (สลิล สิทธิสัจธรรม, 2549)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Cymbidium aloifolium*

ชื่อวงศ์ : Orchidaceae

ชื่อเรียกอื่น : เอื้องดามข้าว เอื้องหางไหล เอื้องปากเป็ด

ในปี ค.ศ. 1753 Car von Linnaeus นักพฤกษศาสตร์ชาวสวีเดน ได้ตั้งชื่อ พฤกษศาสตร์เป็นครั้งแรกว่า “*Epideredrum aloifoliar*” หลังจากนั้นในปี ค.ศ. 1799 Peter Olof Swartz ได้ศึกษาทบทวนและตั้งเป็นสกุลใหม่ โดยใช้ชื่อพฤกษศาสตร์ว่า “*Cymbidium aloifalium*” สำหรับชื่อระบุชนิดมาจากภาษาละติน 2 คำ คือ คำว่า aloi แปลว่า มาก และ folia แปลว่า ใบ หมายถึง มีใบจำนวนมาก

ลักษณะ ลำต้นเป็นหัว รูปรี มีหลายข้อ และขึ้นชิดกันเป็นกอ ใบรูปแถบ ขนาด 3 x 60 เซนติเมตร หนาและแข็ง ปลายใบเว้า ใบมีอายุหลายฤดูก่อนหลุดร่วง ช่อดอกยาว มี 1- 2 ช่อ และห้อยลง ก้านช่อสั้นกว่าแกนช่อ ดอกขนาด 2.5 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงและกลีบดอกรูปแถบ กลีบดอก-แคบ และสั้นกว่ากลีบเลี้ยง ทั้งห้ากลีบสีม่วงแดง ขอบกลีบสีเหลือง ปลายมน กลีบปากรูปรีกว้าง สีม่วงแดง มีแฉกข้างรูปสามเหลี่ยมตั้งชัน ปลายกลีบมน เมื่อบานเต็มที่ปลายกลีบม้วนลง กลางกลีบ มีเส้นสีเหลือง 2 เส้นเรียงขนานกัน เส้าเกสรสีม่วง

เขตการกระจายพันธุ์ พบเป็นพื้นที่กว้างในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ **ประเทศไทย พบที่**ทุกภูมิภาคของประเทศ

ถิ่นอาศัย กล้วยไม้อิงอาศัย พบทั้งป่าผลัดใบและไม่ผลัดใบ อาศัยบนต้นตาลตามทุ่งนา บางครั้งพบบนรางน้ำหรือขั้วไม้บนบ้านของชาวเหนือ หรือตามที่โล่งแจ้งแสงแดดจัด ในหลายระดับความสูง

ฤดูออกดอก เดือนมีนาคมถึงเมษายน ช่วงออกดอกไม่ทิ้งใบ

สถานภาพ นิยมปลูกเลี้ยงตามบ้านกันมากที่สุด รวมทั้งในสวนพฤกษศาสตร์ อีกทั้งยังนำมาขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการเพื่อคืนสู่ป่าตามโครงการพระราชดำริ ในธรรมชาติมีประชากรค่อนข้างมาก แต่มีจำนวนลดลงอย่างต่อเนื่อง

สรรพคุณ/ประโยชน์: ใบสดเมื่อนำไปลนไฟให้นุ่มแล้วบีบเอาน้ำมาหยอดหู แก้หูเป็นน้ำหนวก เมล็ดนำมาใช้โรยใส่แผลเพื่อซับเลือดหรือใส่แผลเน่า (Medthai, 2557)

ภาพที่ 2.3 กะเรกะร่อน
ที่มา : Medthai (2557)

2.1.2 การสกัดสารจากพืช

การสกัดสารสำคัญจากพืชอาจทำได้หลายวิธี ขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่สกัด คุณสมบัติของสารในการทนต่อความร้อน และชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกัน ได้แก่ (วรพร ศีลศร, 2554)

1) การหมัก (Maceration) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืช โดยวิธีการหมักตัวอย่างพืชกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น ขวดปากกว้าง ขวดรูปชมพู่ หรือโถที่ปิดสนิท ทิ้งไว้ 7 วัน หมั่นเขย่าหรือคนบ่อย ๆ เมื่อครบกำหนดเวลาจึงค่อย ๆ รินเอาสารสกัดออก พยายามบีบเอาสารละลายออกจากกาก (Marc) ให้มากที่สุด รวมสารสกัดที่ได้แล้วนำไปกรอง อาจต้องสกัดซ้ำหลาย ๆ ครั้ง เพื่อให้ได้สารสกัดทั้งหมด ข้อดีของวิธีนี้คือ สารไม่ถูกความร้อนแต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก

ภาพที่ 2.4 การหมักตัวอย่าง

2) การแช่สกัดต่อเนื่อง (Percolation) เป็นวิธีสกัดสารสำคัญแบบต่อเนื่อง โดยใช้เครื่องมือ Percolator วิธีการคือ นำตัวอย่างพืชมาหมักกับตัวทำละลายพอชื้น ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่แล้วค่อย ๆ บรรจุตัวอย่างพืชทีละชั้นลงใน Percolator เติมตัวทำละลายลงไปให้ระดับตัวทำละลายสูงเหนือตัวอย่างพืชประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงเริ่มไขเอาสารสกัดออก โดยการเติมตัวทำละลายเหนือตัวอย่างพืชอย่าให้แห้ง เก็บสารสกัดจนการสกัดเสร็จสมบูรณ์ บีบกากเอาสารสกัดออกให้มากที่สุด รวมสารสกัดที่ได้แล้วนำไปกรอง ข้อดีของวิธีนี้คือ เป็นการสกัดสารจากพืชได้สมบูรณ์และไม่ใช้ความร้อน แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลายและใช้เวลาในการสกัดนาน

3) การสกัดแบบต่อเนื่อง (Soxhlet extractor) เป็นวิธีสกัดแบบต่อเนื่องโดยใช้ความร้อนทำให้ตัวทำละลายใน Flask ระเหยขึ้นไป แล้วกลั่นตัวลงมาในทิมเบอร์ (Thimble) ซึ่งบรรจุตัวอย่างพืชไว้ เมื่อตัวทำละลายในเอกซ์แทรกติงแชมเบอร์ (Extracting chamber) สูงถึงระดับจะเกิดกาลักน้ำ สารสกัดจะไหลกลับลงไปใน Flask ด้วยวิธีกาลักน้ำ Flask นี้ได้รับความร้อนจากฮีทติงแมนเทิล (Heating mantle) หรือหม้ออังน้ำ ตัวทำละลายจึงระเหยขึ้นไปทิ้งสารสกัดไว้ใน Flask ตัวทำละลายเมื่อกระทบ Condensor จะกลั่นตัวกลับลงมาสกัดสารใหม่ วนเวียนเช่นนี้จนกระทั่งการสกัดสมบูรณ์ การสกัดด้วยวิธีนี้ไม่สิ้นเปลืองตัวทำละลายแต่มีการใช้ความร้อนอาจทำให้สาระสำคัญบางตัวสลายไป

2.1.3 การเลือกตัวทำละลายในการสกัดสารสำคัญของพืช

ตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการสกัดสารจากพืชต้องมีคุณสมบัติดังนี้ คือ เป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี ไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด ไม่เป็นพิษ และราคาไม่แพง ดังนั้นการเลือกใช้ตัวทำละลายอาศัยหลักเกณฑ์ ดังนี้

1) สารละลายและตัวทำละลายมีคุณสมบัติความมีขั้วคล้ายคลึงกัน

2) ละลายสารที่ต้องการออกมามากที่สุดขณะที่ละลายสารที่ไม่ต้องการออกมาน้อยที่สุด

3) แรงที่เกี่ยวข้องในการละลาย ได้แก่ แรงแผ่กระจาย (Dispersion force) แรงดึงดูดระหว่างขั้ว (Dipole-dipole force) และพันธะไฮโดรเจน (H-bonding)

โดยทั่วไปแล้วตัวทำละลายที่มีขั้วเหมาะกับสารที่มีขั้ว และตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเหมาะกับสารที่ไม่มีขั้ว การผสมระหว่างตัวทำละลายที่มีขั้วและไม่มีขั้ว อาจทำให้การละลายดีขึ้น บางครั้งการเลือกตัวทำละลายอาจพิจารณาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารตัวทำละลายอาจจัดเรียงตามลำดับความมีขั้วจากน้อยไปมากดังนี้ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตต อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และน้ำ

ตัวทำละลายที่นิยมใช้คือ

1) เฮกเซน (Hexane) เหมาะสำหรับสารที่ไม่มีขั้ว มักใช้เป็นตัวทำละลายเหมาะสำหรับกำจัดไขมันจากตัวอย่างพืช มีราคาถูก

2) อีเทอร์ (Ether) ความสามารถในการละลายน้อยกว่า Chloroform แต่มี selectivity ดีกว่า

3) คลอโรฟอร์ม (Chloroform) เป็นตัวทำละลายที่ดี แต่มี selectivity น้อย เกิดอิมัลชันง่ายข้อเสีย ระเหยง่าย ระเบิดง่าย เกิดออกไซด์ได้ง่ายและดูดน้ำได้มาก

4) แอลกอฮอล์ (Alcohol) นิยมใช้เมทานอล และเอทานอล เป็นตัวทำละลายในการสกัดสารสำคัญ เนื่องจากมีความสามารถในการละลายกว้างมาก หาง่ายและราคาไม่แพงโดยตัวทำละลายที่ผู้วิจัยเลือกใช้ในการวิจัยนี้คือ เมทานอล เนื่องจากเมทานอลเป็นสารที่มีขั้วสูง สามารถสกัดสารที่มีขั้วจากสารตัวอย่างได้ดีกว่า จากงานวิจัยพบว่าเมทานอลสามารถสกัดสารพฤกษเคมีได้ดีกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น ๆ ดังตาราง 2.1

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างสารพฤกษเคมีที่สกัดได้จากตัวทำละลายที่แตกต่างกัน (Jannatul A. *et al*., 2013)

Water	Ethanol	Methanol	Choloroform	Dichoromethanol	Ether	Acetone
Anthocyanin	Tannins	Anthcyanin	Terpenoids	Terpenoids	Terpenoid	Flavones
Tannins	Polyphenol	Terpenoids	Flavones		Alkaloids	
Saponins	Flavonol	Tannins				
Terpenoids	Terpenoids	Saponins				
	Alkaloids	Flavones				
		Polyphenols				

2.1.4 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้จะมีปริมาตรมากและเจือจาง ทำให้นำไปแยกองค์ประกอบได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นก่อน ซึ่งอาจทำได้หลายวิธี คือ (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2550)

1) การระเหย (Free evaporation) การระเหยให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (Water bath) หรือแผ่นความร้อน (Hot plate) วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้เนื่องมาจากอุณหภูมิสูงเกินไป

2) การกลั่นในสภาวะสุญญากาศ (Distillation in vacuum) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัดโดยกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ พร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศโดยใช้ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump) เครื่องมือนี้เรียกว่า เครื่องระเหยแบบลดความดัน (Rotary evaporator)

ภาพที่ 2.5 การระเหยเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัด โดยใช้ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump)

3) การทำให้แห้ง (Drying) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัดจนแห้งได้สารสกัดออกมาในสภาพของแข็งหรือกึ่งของแข็ง เช่น การใช้ความเย็น (Freeze dryer) หรือการใช้ความร้อน (Spray dryer) เป็นต้น

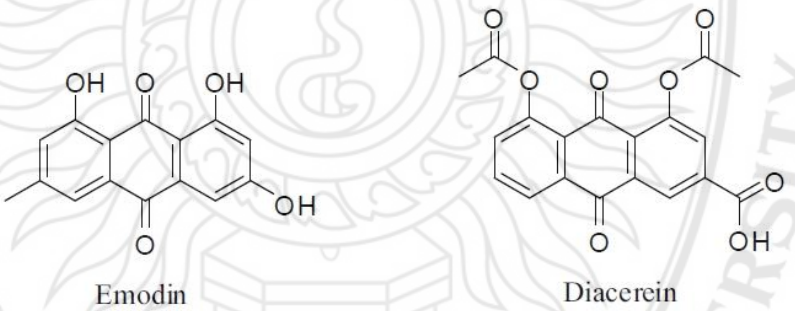
4) อัลตราฟิลเทรชั่น (Ultrafiltration) เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำ ให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (Membrane) ใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 5,000 จากที่กล่าวมาในเบื้องต้น จะพบว่าการสกัดสารสำคัญจากพืช การเลือกใช้ตัวทำละลายและการทำสารสกัดให้เข้มข้นทำได้หลายวิธี ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้เลือกใช้วิธีการสกัดสารจากดอกกล้วยไม้ป่า ด้วยวิธีการหมัก (Maceration) เนื่องจากมีความเหมาะสมในการสกัดส่วนของดอก ซึ่งมีโครงสร้างหรือเนื้อเยื่อที่ไม่แข็งแรงมาก ทั้งยังเป็นวิธีที่ไม่ใช้ความร้อนโดยจะไม่ทำให้สารสำคัญบางตัวสลายไปและใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ตลอดจนวิธีการทำสารสกัดให้เข้มข้นด้วยวิธีการกลั่นในสภาวะสุญญากาศ

2.1.5 สารพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemical)

สารพฤกษเคมี (Phytochemical) เป็นสารเคมีชนิดต่าง ๆ ที่พบในพืช ซึ่งจะพบสารเป็นจำนวนมากในพืช สามารถแบ่งกลุ่มสารเคมีในพืชตามสารตั้งต้น (Biosynthetic origin) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ สารปฐมภูมิ (Primary metabolites) และสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ซึ่งสารปฐมภูมิเป็นสารเคมีพื้นฐานที่พบในพืชชั้นสูงโดยทั่วไป พบได้ในพืชเกือบทุกชนิด ส่วนใหญ่เป็นสารที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชและกระบวนสังเคราะห์กรดอะมิโนบางชนิด เช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โปรตีน ส่วนสารทุติยภูมิเป็นสารประกอบที่พบแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด สารเหล่านี้เกิดจากกระบวนการชีวสังเคราะห์ในพืช สารเหล่านี้มักจะแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาอย่างชัดเจนดังนี้ (จุฑารัตน์ ศรีประเสริฐ, 2559 ; อรุณรัตน์ สัณฐิติกวินสกุล, 2557 ; ศุภชัย โพธิ์ล้อม และคณะ, 2559 ; นิสา จุลโพธิ์, 2559)

1) แอนทราควิโนน (Anthraquinones) เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่พบในธรรมชาติมีที่สีเหลืองส้ม แดงเข้ม จนถึงเกือบดำ แต่ไม่ได้มีส่วนแต่งสีสันให้กับธรรมชาติเหมือนสารสีอื่นๆ เช่น ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน สารประกอบนกลุ่มควิโนน (Quinone) มีสูตรโมเลกุล $C_{14}H_8O_2$ มีน้ำหนักโมเลกุล 208.22 กรัม/โมล มีโครงสร้างเป็นอะโรมาติก ไดคีโตน (Aromatic diketone) ประกอบด้วยวงแบนซีน (Benzene ring) ตั้งแต่ 1 วงแหวนขึ้นไป และมีหมู่ตีโตน 2 หมู่ อยู่ในตำแหน่งพารา (Para) ซึ่งกันและกัน แอนทราควิโนน พบในธรรมชาติทั้งรูปแบบอิสระและรูปแบบไกลโคไซด์ ซึ่งสามารถถูกไฮโดรไลส์ (Hydrolysed) ได้ด้วยกรด ด่าง หรือเอนไซม์ สีของควินินจะเปลี่ยนได้ตาม pH ในกรดสีของควินินจะออกเหลืองหรือสีส้มและจะเปลี่ยนไปทางสีแดงเมื่ออยู่ในด่าง ควินินถูกใช้ประโยชน์ทางยาจะมีฤทธิ์แก้โรคผิวหนัง กลาก เกลื้อน ใช้เป็นยาระบายและยาถ่าย พืชที่พบ เช่น ใบมะขามแขก ใบขี้เหล็ก ใบชุมเห็ดเทศ ว่านหางจระเข้

การทดสอบแอนทราควิโนนด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี โดยแอนทราควิโนนเป็นสารที่มีสีเหลือง – น้ำตาล เมื่ออยู่ในรูปของไกลโคไซด์ (Gycosides) เป็นสารที่ละลายได้ในตัวทำละลายที่มีขั้ว เช่น น้ำ และแอลกอฮอล์ ส่วนอะไกลโคน (Aglycone) ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เบนซีน อีเทอร์ คลอโรฟอร์ม และละลายได้ดีในสารละลายด่างแล้วให้สีชมพูแดง

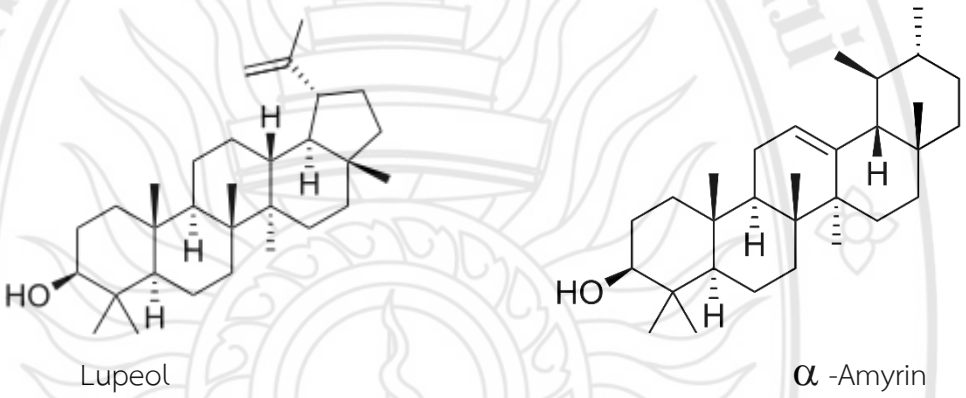


ภาพที่ 2.6 ตัวอย่างโครงสร้างของกลุ่มสารแอนทราควิโนน
ที่มา : จุฑารัตน์ ศรีประเสริฐ, 2559

2) เทอร์พีนอยด์ (Terpenoid) เป็นสารทุติยภูมิที่พบมากที่สุดในธรรมชาติ เป็นไฮโดรคาร์บอนชนิดที่ไม่อิ่มตัว ถ้าอยู่ในรูปของเหลวสามารถติดไฟได้ ที่พบได้ทั่วไป เช่น น้ำมันหอมระเหย เรซิน หรือ โอเรซิน เป็นต้น เทอร์พีนอยด์จะประกอบด้วยหน่วยของไอโซพรีน (Isoprene) ที่มีคาร์บอน 5 อะตอม (C_5H_8) ซึ่งมีการแบ่งประเภทของเทอร์พีนอยด์ออกเป็นหลายประเภท เช่น เซสควิเทอร์พีน (Sesquiterpene ; C_{15}) เป็นส่วนประกอบสำคัญของน้ำมันหอมระเหยหลายชนิด ไดเทอร์พีนส์ (Diterpenes ; C_{20}) เป็นองค์ประกอบพื้นฐานในเรซิน และแท๊กซอล ที่ใช้เป็นสารต้านมะเร็ง

และไตรเทอร์พีนส์ (Triterpenes ; C_{30}) เป็นองค์ประกอบในสารกลุ่มสเตอรอยด์ สเตอรอล และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ที่ใช้เป็นยาออกฤทธิ์ต้านการอักเสบ ยาระงับความรู้สึก และ ยาฆ่าแมลง

การทดสอบเทอร์พีนอยด์ด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี โดยสามารถทดสอบเฉพาะเทอร์พีนบางชนิดเท่านั้น ที่สามารถทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ แล้วเกิดสี เช่น การทดสอบแซลโควสกิ (Salkowski test) โดยสกัดพืชด้วยอีเทอร์ แล้วเติมคลอโรฟอร์ม และกรดซัลฟิวริกเข้มข้นเล็กน้อย จะปรากฏสีน้ำตาลแดงตรงรอยต่อของสารละลายใช้สำหรับการทดสอบเทอร์พีนอยด์ทั่วไป และรีเอเจต์ 2,6-ได-เทอร์ต-บิวทิล-พารา-ควีซอล (2,6-di-tert-butyl-p-cresol) ในเอทานอลจะปรากฏสารละลายสีม่วงใช้ทดสอบแพนตะไซคลิกไทรเทอร์พีน (Pentacyclic triterpenes)

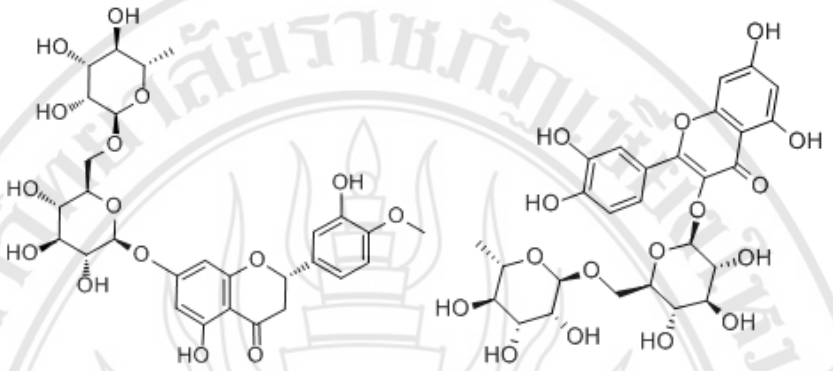


ภาพที่ 2.7 ตัวอย่างโครงสร้างของกลุ่มสารเทอร์พีนอยด์
ที่มา : นิสา จุลโพธิ์, 2559

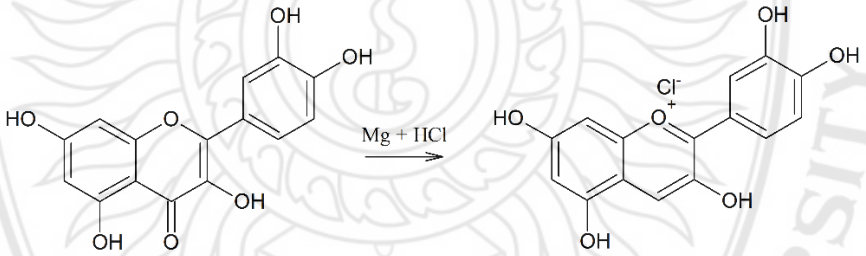
3) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) พบได้ทุกส่วนของพืช เป็นสารมีสีทำให้ดอกไม้มีสีสันสวยงาม คุณสมบัติของฟลาโวนอยด์ คือ เป็นสารโพลีฟีนอล (Polyphenolic compound) ส่วนใหญ่เป็น o-glycoside พบเป็น c-glycoside บ้าง และน้ำตาลมักจับตำแหน่ง 3, 5 หรือ 7 ของ Aglycone บางชนิดมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ทำให้เส้นเลือดฝอยแข็งแรง ต้านเชื้อไวรัส ลดการอักเสบ สาระสำคัญกลุ่มนี้ได้แก่ Hesperidin และ Rutin ซึ่งมีฤทธิ์ทำให้ผนังเส้นเลือดฝอยแข็งแรงไม่เปราะ ใช้รักษาโรคริดสีดวงทวาร

การทดสอบฟลาโวนอยด์ด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี ส่วนใหญ่จะทดสอบโดยใช้ปฏิกิริยาไซยานิดิน (Cyanidin reaction) ประกอบด้วยโลหะแมกนีเซียมและกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ดังรูป 2.9 ให้ผลการทดสอบเฉพาะฟลาโวนอยด์ที่มีฟีนิลเบนซิล-แกมมา-ไพโรน ซึ่งเป็นโครงสร้างหลัก กล่าวคือ สีส้มถึงสีแดง แสดงว่ามีฟลาโวน สีแดงถึงสีแดงเข้มหรือ สีแดงเลือดหมู (Crimson) แสดงว่ามีฟลาโวนอล สีแดงเข้มถึงสีแดงอมม่วง (Margenta) แสดงว่ามีฟลาโวโนนไกลโคไซด์ ความเข้มข้นของ

สีที่เกิดขึ้นจะขึ้นอยู่กับปริมาณฟลาโวนอยด์ บางครั้งอาจเห็นสีไม่ชัดเจน เนื่องจากสีของสารสกัดบดบัง แก้ไขโดยเติมออกทิลแอลกอฮอล์ (Octyl alcohol) ลงไปเพื่อทำให้มองเห็นสีที่ชัดเจนขึ้น



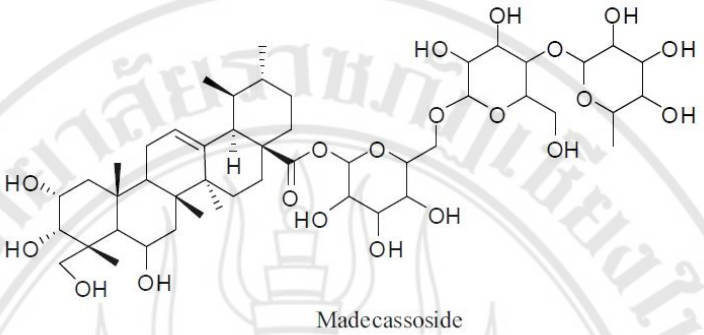
ภาพที่ 2.8 ตัวอย่างโครงสร้างของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์
ที่มา : นิสา จุลโพธิ์, 2559



ภาพที่ 2.9 การเกิดปฏิกิริยาไซยานิดินของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์
ที่มา : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Shinoda_test.png
(เข้าถึงเมื่อวันที่ 30 มกราคม 2562)

4) ซาโปนิน (Saponins) เป็นสารกลุ่มไกลโคไซด์ที่มีสมบัติเป็นแอมฟิฟิล (amphiphile) สามารถละลายได้ทั้งในน้ำและไขมัน จะเกิดเป็นฟองเมื่อนำมาผสมกับสารละลายในน้ำ สารกลุ่มซาโปนิน มักมีโครงสร้างเป็นไกลโคไซด์ชนิดไฮโดรฟิลิก (ละลายน้ำ) จับกับสารอนุพันธ์ไตรเทอร์พีนชนิดไลโพฟิลิก (ละลายในไขมัน) คุณสมบัติทางชีวภาพ ซาโปนินเป็นสารต้านจุลินทรีย์ สารต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลในลำไส้เล็ก หรือช่วยการดูดซึมกรดน้ำดี แต่มีความเป็นพิษ

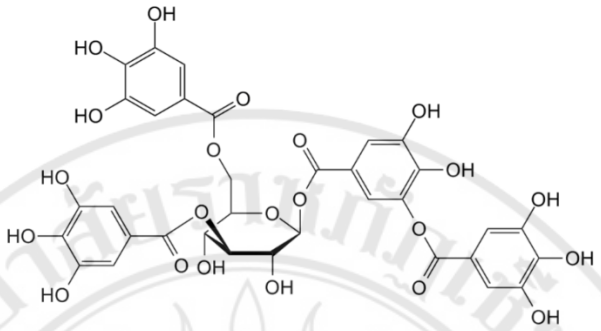
ของต่อแมลง หนอน หอยทากและปลา หากเข้าสู่ร่างกายมนุษย์จะทำให้เกิดการแตกตัวของเม็ดเลือดแดง ขณะปล่อยฮีโมโกลบินออกมา



ภาพที่ 2.10 ตัวอย่างโครงสร้างของกลุ่มสารซาโปนิน
ที่มา : จุฑารัตน์ ศรีประเสริฐ, 2559

การทดสอบซาโปนินสามารถทำได้หลากหลายวิธี เช่น การทดสอบฟอง (Frotn test) เมื่อเขย่าสารสกัดที่มีซาโปนินไกลโคไซด์ นานประมาณ 30 นาที จะเกิดฟองที่มีลักษณะเหมือนรังผึ้ง (Honey comb froth) เป็นวงแหวนขนาด 6 เหลี่ยม จัดเรียงตัวซ้อนกันและคงทนอยู่ประมาณ 30 นาที ซึ่งฟองจะหายไปเมื่อเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ยืนยันโดยหยดสารละลายเบสลงในสารสกัด ซึ่งกรดจะทำปฏิกิริยากับเบส ได้เกลือ เมื่อเขย่าจะเกิดฟองในปริมาณมากและมีความคงทนนานกว่า 30 นาที แต่ถ้าไม่เกิดฟอง แสดงว่าเป็นอะไกลโคนของซาโปนินไกลโคไซด์ นอกจากนี้ถ้าฟองเกิดจากโปรตีน จะหายไปหลังจากต้ม

5) แทนนิน (Tannin) เป็นสารจำพวกสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) เป็นสารที่มีโครงสร้างซับซ้อนพบได้เฉพาะในพืช มีรสฝาด มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน และสามารถตกตะกอนโปรตีนได้ เช่น ตกตะกอนเจลาติน และเป็นสารที่ไม่ตกผลึกเมื่อนำมาละลายในน้ำจะให้สารละลายคอลลอยด์ มีฤทธิ์ฝาดสมานและฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย พบในใบฝรั่ง เนื้อของกล้วยน้ำว้าดิบ ประโยชน์ของแทนนิน ใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง ไม่ให้เกิดการเน่าเปื่อยตามธรรมชาติ ทำให้หนังเป็นเงางามและทนทาน และเป็นยาแก้ท้องเสีย เนื่องจากมีฤทธิ์ฝาดสมาน



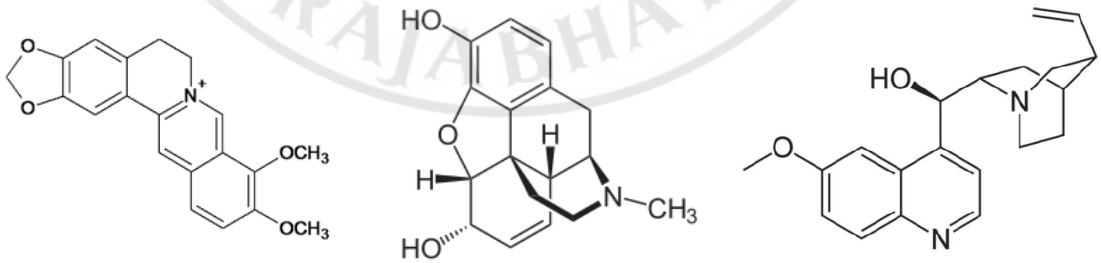
Tannic acid

ภาพที่ 2.11 โครงสร้างของกรดแทนนิน

ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/Tannic_acid (เข้าถึงเมื่อวันที่ 30 มกราคม 2562)

การทดสอบแทนนินด้วยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือการตกตะกอนซึ่งการทดสอบนี้จะใช้รีเอเจนต์เฉพาะ เช่น สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์เจือจาง สามารถทดสอบแทนนินได้ทั้งสองชนิด กรณีปรากฏสีน้ำเงินเขียวหรือสีเขียวดำถึงสีเขียวอมน้ำตาล แสดงว่าว่ามีแทนนินไฮโดรไลซ์ หรือเกิดสีน้ำเงินเข้มหรือสีเขียวเข้มถึงดำ แสดงว่ามีแทนนินชนิดแทนนินควบแน่น

6) แอลคาลอยด์ (Alkaloids) เป็นสารอินทรีย์ที่มีฤทธิ์เป็นด่าง มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ มักพบในพืชชั้นสูง แอลคาลอยด์ มีสูตรโครงสร้างซับซ้อนและแตกต่างกันมากมาย คุณสมบัติของแอลคาลอยด์ คือ ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ ส่วนใหญ่มีรสขม แอลคาลอยด์ส่วนมากจะเป็นผลึกไม่มีสี ยกเว้น ชนิดที่มีพันธะคู่สลับกับพันธะเดี่ยว (Conjugated double bond) เช่น Berberine มีสีเหลือง แอลคาลอยด์มีประโยชน์ในการรักษาโรคอย่างกว้างขวาง เช่น ใช้เป็นยาระงับความเจ็บปวด (สาร Morphine ในยางของผลฝิ่น) ยาชาเฉพาะที่ ยาแก้ไอ ยาแก้หอบหืด ยารักษาแผลในกระเพาะและลำไส้ ยาลดความดัน รักษาโรคมาเลเรีย (Quinine ในเปลือกต้นซิงโคนา) และยาควบคุมการเต้นของหัวใจ เป็นต้น



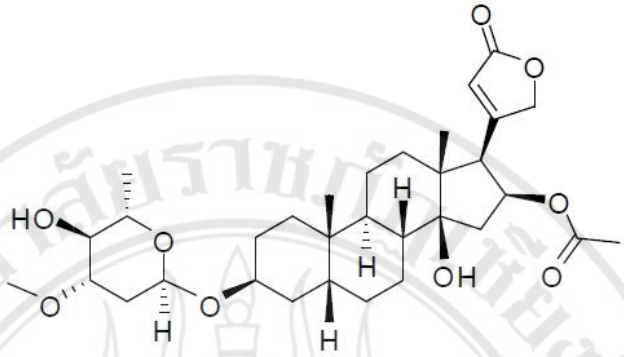
Berberine Morphine Quinine

ภาพที่ 2.12 ตัวอย่างโครงสร้างของกลุ่มสารแอลคาลอยด์
ที่มา : นิสา จุลโพธิ์, 2559

การทดสอบแอลคาลอยด์สามารถทดสอบด้วยปฏิกิริยาการเกิดตะกอน ซึ่งเป็นการทดสอบทั้งกลุ่มแอลคาลอยด์ทั่วไป และแอลคาลอยด์เฉพาะโดยแอลคาลอยด์เกือบทุกชนิดสามารถทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ แล้วตกตะกอนหรือสารละลาย เช่น รีเอเจนเมเยอร์ (Mayer's reagent) จะเกิดตะกอนสีขาวหรือสีครีม หรือ รีเอเจนต์ดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) จะเกิดตะกอนสีส้มสีแดงหรือสีน้ำตาล เป็นต้น

7) คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (Cardiac glycoside) เป็นสารในกลุ่มสเตอรอยด์ไกลโคไซด์จากธรรมชาติ มักพบในเมตาบอลิซึมขั้นที่สองของพืชหรือเป็นสารอินทรีย์ทุติยภูมิ โครงสร้างโดยทั่วไปประกอบด้วยสองส่วน คือ ส่วนอะไกลโคนที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบทั้ง 23 อะตอมที่เรียกว่า คาร์ดีโนไลด์ (Cardinolide) และ 24 อะตอม เรียกว่า บุฟาดีอีโนไลด์ (Bufanolide) และส่วนน้ำตาลที่มีตำแหน่งพันธะและโครงสร้างแตกต่างกันไปในหลายรูปแบบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ช่วยออกฤทธิ์ต่อการเพิ่มแรงบีบของหัวใจ ทำให้มี Cardiac output ดีขึ้นในผู้ป่วยภาวะหัวใจวาย และลดอาการบวมน้ำลงได้ ทั้งนี้ต้องมีการควบคุมปริมาณยาในเลือดอย่างใกล้ชิด เนื่องจากระดับยาที่ต่ำที่สุดที่ให้ผลทางการรักษามีความใกล้เคียงกับระดับต่ำสุด ทำให้เกิดพิษอย่างมาก อาจส่งผลต่อการเต้นที่ผิดปกติของหัวใจหรือหยุดเต้นได้ คาร์ดิแอกไกลด์โคไซด์สามารถตรวจสอบได้โดยใช้วิธีการของ Liebermann-Burchard test และพบได้ทั่วไปในธรรมชาติโดยเฉพาะในวงศ์สำคัญคือ วงศ์ตีนเป็ด (Apocynaceae) และวงศ์นมตำเลีย (Asclepiadaceae) ตัวอย่างพืชที่มีสารกลุ่มนี้เป็นองค์ประกอบในประเทศไทยได้แก่ หอมปีนัง รำเพย ยี่โถ รักดอก เป็นต้น

การทดสอบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี โดยการเติมกรดแกลเชียลแอซีติกแล้วค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นลงไป ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริกแสดงว่าพบคาร์ดิแอกไกลโคไซด์



ภาพที่ 2.13 ตัวอย่างโครงสร้างของกลุ่มสารคาร์ดิแอกไกลโคไซด์
ที่มา : จุฑารัตน์ ศรีประเสริฐ, 2559

2.1.6 อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ (Free radical and Antioxidants)

อนุมูลอิสระ(Free radical) คือ อะตอมหรือโมเลกุลของสารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว 1 หรือมากกว่า เนื่องจากการสูญเสียอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว หรือมีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวเพิ่มขึ้น อาจเป็นประจุลบ ประจุบวก หรือเป็นกลางก็ได้ ปกติโมเลกุลจะสมดุลเมื่ออิเล็กตรอนอยู่เป็นคู่ แต่มีบางครั้งที่โมเลกุลบางชนิดสูญเสียอิเล็กตรอนไปหนึ่ง ทำให้อิเล็กตรอนขาดคู่ จึงไปดึงเอาอิเล็กตรอนจากอะตอมหรือโมเลกุลอื่นมา เข้าคู่เพื่อทำให้อะตอมหรือโมเลกุลนั้นเสถียรมากขึ้น ทำให้อะตอมหรือโมเลกุลนั้นขาดอิเล็กตรอน จึงกลายเป็นอนุมูลอิสระขึ้นมาแล้วไปดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นที่อยู่ใกล้ชิดกัน ทำให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ อนุมูลอิสระมีอายุสั้นมากประมาณ 10^{-3} หรือ 10^{-10} วินาที จึงจัดว่าเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและมีความว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาและไม่เฉพาะเจาะจง ปรากฏการณ์นี้จะเกิดขึ้นได้กับทุกโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ เช่น ดีเอ็นเอ ไขมัน และโปรตีน ความเสียหายจะเกิดขึ้นกับโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบย่อยของเซลล์ เมื่อเกิดขึ้นจะทำให้เซลล์เสียหายและสูญเสียหน้าที่ไปทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเชิงเคมีหรือเชิงกายภาพของเซลล์ และในที่สุดจะเกิดเป็นโรคที่เกิดจากความเสื่อมสภาพของร่างกาย (Degenerative disease) ตัวอย่างของอนุมูลอิสระ เช่น ซุปเปอร์ออกไซด์ (Superoxide anion radical, O_2•) ไฮดรอกซิล (Hydroxyl radical, OH•) เปอร์ออกซิล (Peroxylradical, ROO•) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide, H_2O_2) โอโซน (Ozone, O_3) เป็นต้น (จุฑารัตน์ ศรีประเสริฐ, 2559) อนุมูลอิสระในร่างกายของมนุษย์แบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ

1) อนุมูลอิสระที่เกิดภายในร่างกายของเราเอง เป็นผลจากการที่ภายในร่างกายของเรามีกระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) เกิดขึ้นตลอดเวลา ซึ่งเป็นผลจากปฏิกิริยาเคมีและกิจกรรมของเซลล์ในร่างกาย ที่ต้องดำเนินการตามปกติ ตัวอย่างเช่น ในกระบวนการหายใจจะเกิด ออกซิเจน

ที่มีประจุลบ ซึ่งก็คืออนุมูลอิสระ สารตัวนี้สามารถรวมตัวกับไขมัน LDL (Low Density Lipoproteins) ได้ดี และยังสามารถรวมตัวกับสารบางชนิดในร่างกายก่อให้เกิดสารพิษที่ทำลายเนื้อเยื่อ หรืออาจไปเปลี่ยนแปลงข้อมูลทางพันธุกรรมในดีเอ็นเอ ทำให้เซลล์ปกติเปลี่ยนสภาพไปเป็นเซลล์มะเร็ง เป็นต้น นอกจากนี้การทำงานของเอนไซม์ มีผลต่อการสร้างอนุมูลอิสระภายในร่างกาย เช่น เอนไซม์ลิพอกซีจีเนส (Lipoxygenase) ทำหน้าที่เร่งการออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (Polyunsaturated acid) ซึ่งโมเลกุลของเอนไซม์ นี้มีเหล็ก (Fe^{2+}) เป็นองค์ประกอบทำหน้าที่ดึงอะตอมไฮโดรเจนจากกรดไขมันและเติมออกซิเจนให้กรดไขมันเกิดเป็น Hydroperoxide ซึ่งจะสลายตัวเป็นอนุมูลของกรดไขมันต่อไปได้

2) อนุมูลอิสระที่มาจากนอกร่างกาย ซึ่งเกิดได้หลายปัจจัย คือ การได้รับเชื้อโรค เช่น การติดเชื้อไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรีย โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (Autoimmune diseases) เช่น ข้ออักเสบรูมาตอยด์ จากรังสี เช่น รังสีอัลตราไวโอเลต รังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา จากมลภาวะ เช่น ควันบุหรี่ แก๊สจากท่อไอเสียรถยนต์ เช่น ไนตรัสออกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ เขม่า จากเครื่องยนต์ ฝุ่น จากกระบวนการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่มีอุณหภูมิสูง กลับมาใช้อีก หรือเกิดจากการปิ้ง ย่าง จากยาบางชนิด เช่น โดโซรูบิซิน (Doxorubicin) เพนนิซิลามิน (Penicillamine) พาราเซตามอล (Paracetamol) เป็นต้น (จุฑารัตน์ ศรีประเสริฐ, 2559)

อนุมูลอิสระที่มีมากเกินไปจะเป็นอันตรายต่อไขมัน โปรตีน หน่วยสารพันธุกรรม และคาร์โบไฮเดรต ทำให้เพิ่มความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลายชนิด เช่น โรคหลอดเลือดตีบและแข็งตัว (Atherosclerosis) เกิดการกลาย (Mutation) ของเซลล์ทำให้เกิดมะเร็งบางชนิด โรคอัลไซเมอร์ หรือโรคความจำเสื่อม ทำให้เกิดกระบวนการอักเสบ ทำให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อรุนแรงขึ้น โรคไขข้ออักเสบและความเสื่อมของร่างกาย เป็นต้น จากที่กล่าวมาจะเห็นว่า อนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นมาจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกายเอง และในสภาวะที่ผิดปกติ เช่น ภาวะของโรค หรือภาวะที่ร่างกายได้รับมลภาวะแวดล้อม ภาวะที่ผิดปกติจะส่งผลให้ร่างกายสะสมอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นดังนั้นร่างกายจึงจำเป็นต้องมีระบบป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระทำลายได้ สิ่งที่ร่างกายสร้างขึ้นมาเพื่อปกป้องตนเอง เรียกว่าสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) (จุฑารัตน์ ศรีประเสริฐ, 2559)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) คือสารที่ช่วยยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งเป็นปฏิกิริยาเคมีที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระในร่างกาย ทำให้เกิดการทำลายเซลล์ หรือเกิดการเปลี่ยนเซลล์ปกติเป็นเซลล์มะเร็ง สารอาหาร เช่น เบต้าแคโรทีน วิตามินซี วิตามินอี สังกะสี และเซเลเนี่ยมเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ทราบกันมานานแล้วว่าสามารถช่วยลดความเป็นพิษของสาร พิษที่ร่างกายได้รับจากสิ่งแวดล้อมรอบ ๆ ตัวและช่วยลดการทำลายเซลล์โดยอนุมูลอิสระ จึงช่วยชะลอ ความทรุด

โทรมของร่างกายและป้องกันการเปลี่ยนเซลล์ปกติไปเป็นเซลล์มะเร็ง โดยทั่วไปสารต้านอนุมูลอิสระแบ่งเป็น 5 ประเภทใหญ่ ๆ ดังนี้

1) Primary antioxidant สารในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic substance) ทำหน้าที่หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน นอกจากนี้ยังรวมถึงสารโทโคฟีรอลธรรมชาติและสังเคราะห์ (Natural and synthetic tocopherol) Alkyl gallate BHA BHT TBHQ และสารอื่นๆ ซึ่งสารในกลุ่มดังกล่าวทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอน

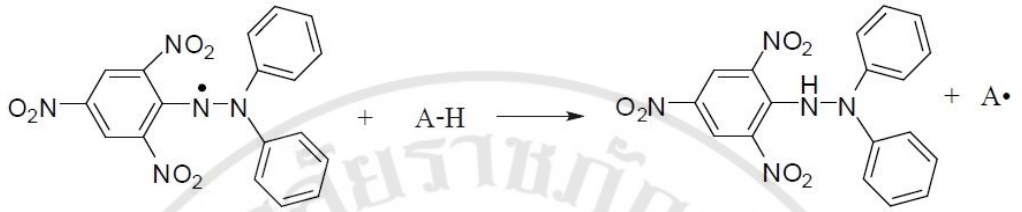
2) Oxygen scavenger สารกลุ่มนี้ได้แก่ กรดแอสคอร์บิกหรือวิตามินซี, Ascorbyl erythorbic acid (Isoascorbic acid) และ Sodium erythorbate เป็นต้น สารในกลุ่มนี้จะเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจนจึงเป็นการช่วยกำจัดออกซิเจนในระบบปิดได้

3) Secondary antioxidant สารในกลุ่มนี้ได้แก่ Dilauryl thiopropionate และ Thiopropionic acid ทำหน้าที่สลายโมเลกุลของ Lipid hydroperoxide ให้เป็นสารที่มีความเสถียร

4) Enzymic antioxidant สารในกลุ่มนี้ได้แก่ เอนไซม์ต่าง ๆ ซึ่งเป็น Primary antioxidant enzyme และ Ancillary antioxidant enzyme สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่กำจัดออกซิเจนหรืออนุพันธ์ของออกซิเจนโดยเฉพาะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

5) Chelating agent หรือ Sequestrant สารในกลุ่มนี้ เช่น กรดซิตริก กรดอะมิโน เป็นต้น สารในกลุ่มนี้ทำหน้าที่ไปจับกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก และทองแดง ซึ่งไอออนเหล่านี้เป็นไอออนที่ส่งเสริมและเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียร (อัญชนา เจนวิถีสุข, 2544)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระมีด้วยกันหลายวิธี ซึ่งมีหนึ่งวิธีที่นิยมใช้กันอย่าง แพร่หลาย คือ วิธี DPPH free radical scavenging assay โดยใช้ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, $C_{18}H_{12}N_5O_6$ (DPPH) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นได้ โดยสารละลาย DPPH ซึ่งมีสีม่วง ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ(Antioxidant) ในระยะเวลาที่กำหนด พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของสารละลายจากสีม่วงเป็นสีเหลือง เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร พบว่าความสามารถในการดูดกลืนแสงลดลง บ่งบอกถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ (กัลยาณี วัฒนธีรางกูร, 2551) ดังภาพที่ 2.14



DPPH• (สีม่วง) สารต้านอนุมูลอิสระ DPPH:H (สีเหลือง)

ภาพที่ 2.14 สมการปฏิกิริยาการทดสอบฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging
ที่มา : กัลยาณี วัฒนธีรางกูร, 2551

สูตรการคำนวณ DPPH radical scavenging (%) = $[(A_0-A_1)/A_0] \times 100$ ...(2.1)

เมื่อ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงสารตั้งต้นหรือตัวควบคุม

A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

ที่มา : Sourav Mukherjee, *et al* (เข้าถึงเมื่อวันที่ 30 มกราคม 2562)

ดังนั้นความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ศึกษานี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการรวมตัวกับ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่เสถียร ที่อยู่ในสารละลาย (นิยมใช้ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระมาก เพราะใช้งานง่าย) การลดลงของความเข้มข้นของ DPPH (สีอ่อนลง) บ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ (วรพร ศีลศร, 2554)

ข้อดีของวิธีนี้ คือ ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ส่วนข้อเสีย คือ DPPH• ค่อนข้างเสถียรไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง และต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งจะทำให้โปรตีนตกตะกอนจึงไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือดได้ อีกทั้งสารปนเปื้อนและโลหะจะรบกวน (Interfere) ซึ่งสามารถเป็นตัวรีดิวซ์แล้วทำให้สีของอนุมูลอิสระ DPPH• จางลงได้เช่นกัน (ปวีณา พันทอง, 2559)

2.1.7 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compounds)

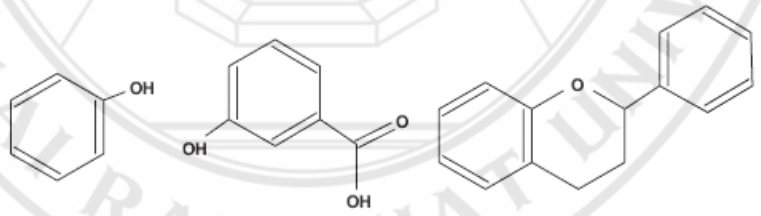
สารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารที่พบมากในพืช มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ป้องกันความเสียหายที่เกิดจากรังสีอัลตราไวโอเลต และป้องกันการสร้างสารก่อ

มะเร็งสารกลุ่มนี้ถูกจำแนกตามโครงสร้างทางเคมีออกเป็นกลุ่มย่อยหลายกลุ่ม ซึ่งสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นหนึ่งในกลุ่มย่อยเหล่านี้ ที่มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และถูกนำมาใช้ประโยชน์ เป็นอาหาร ยา และเครื่องสำอางกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน สารประกอบฟีนอลิก คือ สารที่มีสูตรโครงสร้างที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (OH group) บนวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic ring) ตั้งแต่ 1 หมู่ขึ้นไป สารในกลุ่มนี้จึงมีคุณสมบัติที่ละลายน้ำได้ดี พบได้ในพืช ผัก และผลไม้ทั่วไป อาจแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ (นิสา จุลโพธิ์, 2559 ; พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2010)

1. ฟีนอลทั่วไป กรดฟีนอลิก และอนุพันธ์ เช่น Gallic acid, Ellagic acid, Tannic acid, Vanillin, Catechol, Resorcinol และ Salicylic acid เป็นต้น สารกลุ่มนี้พบได้ในผลไม้หลายชนิด เช่นRaspberry และ Blackberry

2. ฟีนิลโพรพานอยด์ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกที่วงแหวนอะโรมาติก มีสายโซ่คาร์บอน 3 คาร์บอนเกาะอยู่ แยกย่อยออกได้หลายกลุ่ม ได้แก่ Hydroxycinnamic acid (Ferulic acid Caffeic acid หรือ Coumaric acid) Coumarins (Umbelliferone Scopoletin Aesculetin หรือ Psoralen) Lignans (Pinoresinol Eugenol หรือ Myristicin) พบได้ในแอปเปิ้ล แพร์ และกาแฟ

3. ฟลาโวนอยด์ เป็นกลุ่มสำคัญของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ สารที่มีสูตรโครงสร้างเป็น C6-C3-C6 แยกย่อยออกได้เป็นหลายกลุ่ม ได้แก่ Catechins Proanthocyanins Anthocyanidines Flavones Flavovols Flavonones และ Isoflavones จากการที่พบ Flavonoid ได้อย่างกว้างขวาง ทั้งพืช ผัก ผลไม้ รวมทั้งเครื่องดื่มที่เตรียมมาจากพืช เช่น ชา พบว่าในใบชาจะมี Catechins อยู่ถึง 30% ของน้ำหนักแห้ง และเชื่อว่าเป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและ Chemoprevention โดย Anthocyanins เป็นสารที่มีสีในพืช ส่วนกลุ่ม Flavones Flavonols และ Isoflavones จะพบได้ทั่วไปและเชื่อว่าเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย



Phenols Phenolic Flavonoids

ภาพที่ 2.15 โครงสร้างหลักของสารประกอบฟีนอลิก

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com (เข้าถึงเมื่อวันที่ 5 มกราคม 2562)

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) เป็นสารที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อใช้ประโยชน์ในกระบวนการเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด ดังนั้นรูปแบบของสารประกอบฟีนอลในพืชแต่ละชนิดจึงมีความแตกต่างกันไป ในปัจจุบันพบว่ามีสารประกอบฟีนอลที่ทราบโครงสร้างแน่นอนแล้วมากกว่า 8000 ชนิด ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (Phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นโพลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (Lignins) โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิกจะเกิดจากการรวมตัวของโมเลกุลน้ำตาลตั้งแต่ 1 โมเลกุลขึ้นไปกับหมู่ไฮดรอกซิล (OH group) โดยน้ำตาลดังกล่าว อาจเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Monosaccharides) หรือเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ (Disaccharides) หรือ โอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharides) ก็ได้ แต่น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก คือ กลูโคส (Glucose) นอกจากนี้ยังพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลิกด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลิกกับสารประกอบอื่น ๆ เช่น กรดคาร์บอกซิลิก (Carboxylic acids) กรดอินทรีย์ (Organic acids) อะมีน (Amines) และไขมัน ในปัจจุบันสารประกอบฟีนอลิกได้รับความสนใจในฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Antioxidation) และฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ (Antimutagenic activity) ที่เกิดจากอนุมูลอิสระ (Free radicals) และการใช้สารประกอบฟีนอลิกในการป้องกันโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอลิกจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่น ๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$ROO^{\bullet} + PHH \rightarrow ROOH + PP^{\bullet} \quad ...(2.2)$$

$$RO^{\bullet} + PHH \rightarrow ROH + PP^{\bullet} \quad ...(2.3)$$

เมื่อ $ROO^{\bullet}$, $RO^{\bullet}$ คือ Free radicals, PHH คือ Polyphenolic Compounds

เมื่อสารประกอบฟีนอลิกให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระไปแล้ว อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกจะค่อนข้างมีเสถียรภาพ ดังนั้นจึงไม่ทำปฏิกิริยาอื่นต่อไป ยิ่งไปกว่านั้นอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลบางชนิดยังคงสามารถรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้ด้วย จึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกเหล่านั้นลดจำนวนอนุมูลอิสระลงได้ถึง 2 เท่า ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$ROO^{\bullet} + PP^{\bullet} \rightarrow ROOPP \quad ...(2.4)$$

$$RO^{\bullet} + PP^{\bullet} \rightarrow ROPP \quad ...(2.5)$$

สารประกอบฟีนอลิกที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันนั้น สามารถพบได้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น เมล็ด (ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง เมล็ดฝ้าย ข้าว และงา) ผล (ได้แก่ องุ่น ส้ม และพริกไทยดำ) ใบ (ได้แก่ ชา และเครื่องเทศต่าง ๆ) ดอก (ได้แก่ กล้วยไม้) และส่วนอื่น ๆ (ได้แก่ มันเทศ และหัวหอม) สารประกอบฟีนอลิกที่เป็นที่รู้จักกันดี คือ Flavonoids และ Cinnamic acid derivatives โดยสามารถพบได้ในเกือบทุกส่วนของพืช แต่จะมีความแตกต่างกันในด้านของชนิดและปริมาณ (วรพร ศีลศร, 2554)

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content) มีหลักการคือ เป็นการวัดปริมาณความเข้มข้นของสารประกอบทั้งหมดที่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่อยู่ในโมเลกุล โดยไม่คำนึงถึงปริมาณน้ำหนักโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิกนั้นๆ ดังนั้นการวิเคราะห์ในรูปแบบนี้จึงไม่มีการระบุชนิดและโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกด้วยวิธีโฟลิน-ซิโอแคลตู (Folin-Ciocalteu method) โดยใช้หลักการแตกตัวของฟีนอลิก (Phenolic) เป็นโปรตอนและไอออนลบของฟีนอลเลท (Phenolate) ซึ่งไอออนลบจะไปรีดิวซ์ โฟลิน-ซิโอแคลตูรีอเจนต์ (Folin-Ciocalteu reagent) ได้เป็นสารละลายสีน้ำเงิน ดังภาพที่ 2.16 การวิเคราะห์ฟีนอลิกจึงเป็นการวัดความสามารถของการรีดิวซ์ในลักษณะเดียวกับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การศึกษาส่วนใหญ่จึงพบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับปริมาณฟีนอลิก อย่างไรก็ตามยังมีสารชนิดอื่นที่ไม่ใช่ฟีนอลิก เช่น กรดอินทรีย์ กรดแอสคอบิก และอื่นๆอีกมาก ที่สามารถรีดิวซ์โฟลิน-ซิโอแคลตูรีอเจนต์ ได้สีน้ำเงินเช่นเดียวกัน สำหรับการวิเคราะห์นี้จะใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐานแล้วรายงานอยู่ในรูปของ Gallic acid equivalents (GAE) ในรูปมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ป่าตัวอย่าง ($mgGAE.g^{-1}$) (วรานนท์ ทองอินลา และคณะ, 2557)

Na_2WO_4 / Na_2MO_4 สีเหลือง $\rightarrow$ $(Phenol\text{-}MoW_{11}O_{40})^{-4}$ สีน้ำเงิน

Mo^{+6} สีเหลือง + e^{-1} $\rightarrow$ Mo^{+5} สีน้ำเงิน

$Mo^{+5} + e^{-1} \rightarrow Mo^{+4}$ สีน้ำเงิน

ภาพที่ 2.16 ปฏิกิริยาของฟีนอลิก
ที่มา : Gabriel A Agbor. *et al*, 2014

2.1.8 สารประกอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoid Compound)

สารประกอบฟลาโวนอยด์ พบอยู่ทั่วไปในพืชที่มีสีเขียวและพบในทุกส่วนของพืช ไม่ว่าจะเป็น ใบ ราก เนื้อไม้ ดอก ผล หรือเมล็ด มีโครงสร้างหลักเป็นไดฟีนิลโพรเพน (Diphenylpropane)

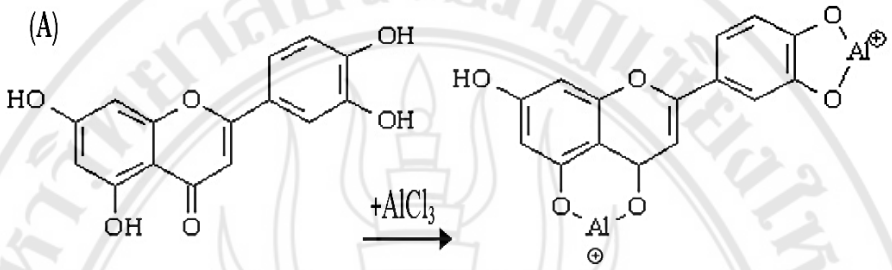
ประกอบด้วย คาร์บอนทั้งหมด 15 อะตอม ที่มีสูตรโครงสร้างพื้นฐานเป็น C6-C3-C6 จัดเรียงตัวเป็นวงแหวนจำนวน 3 วงเรียงต่อกัน เรียกเป็นวงแหวน A B และ C โดยวงแหวน A และ B เป็น Phenyl ring ส่วนวงแหวน C เป็น Lactone ring ดังภาพที่ 2.17 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่วงแหวน C หรือเกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซีเลชัน (Hydroxylation) ที่วงแหวน A และ B มีผลทำให้เกิดอนุพันธ์ของสารฟลาโวนอยด์ชนิดต่าง ๆ มากมาย ส่งผลให้มีฤทธิ์ทางชีวภาพแตกต่างกัน สารฟลาโวนอยด์สามารถเกิดพันธะกับโมเลกุลของน้ำตาล ทั้งน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่โดยส่วนของน้ำตาลมักจะจับที่ตำแหน่ง 3 5 หรือ 7 ของวง เรียกว่า ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์

ภาพที่ 2.17 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์
ที่มา : วิภพ สุทธนะ, 2556

สารประกอบฟลาโวนอยด์มีบทบาทสำคัญในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระหรือต้านออกซิเดชัน โดยประสิทธิภาพของการต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับโครงสร้างและหมู่ที่เข้ามาแทนที่เช่น หากมีหมู่ 3-hydroxyl (3-OH) เข้ามาแทนที่บริเวณวงแหวน C จะทำให้มีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันมากขึ้น ในขณะที่หากมีหมู่ hydroxyl เข้ามาแทนที่ในตำแหน่ง 5 และ 7 จะมีผลต่อประสิทธิภาพของการต้านออกซิเดชันน้อยกว่า การเข้ามาแทนที่ในตำแหน่งที่ 3 นอกจากนี้สารประกอบฟลาโวนอยด์ยังมีสมบัติในการต้านการเกิดมะเร็ง มีความสามารถในการป้องกันการแตกตัวของเส้นเลือด ยับยั้งการอักเสบ ช่วยลดปริมาณ LDL Cholesterol ซึ่งจะส่งผลให้เกิดอาการหลอดเลือดแดงตีบตัน เป็นต้น (จุฑารัตน์ ทวีกิจโภไคย, 2554)

การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoid Compound) โดยวิธีการวิเคราะห์การเปรียบเทียบความเข้มของสี (Colorimetric method) โดยใช้อะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) มีหลักการคือ สารประกอบฟลาโวนอยด์รวมจะใช้ Phenolic hydroxyl groups ทำปฏิกิริยากับอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) แล้วเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีเหลืองและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปวัดหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จาก

กราฟมาตรฐาน ในการวิเคราะห์นี้ใช้เคอร์ซิติน (Quercetin) เป็นสารมาตรฐานแล้วรายงานอยู่ในรูปของ Quercetin equivalent (QE) ในรูปมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อกรัมของสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ป่าตัวอย่าง (mgQE.g^{-1}) (นิสา จุลโพธิ์, 2559)

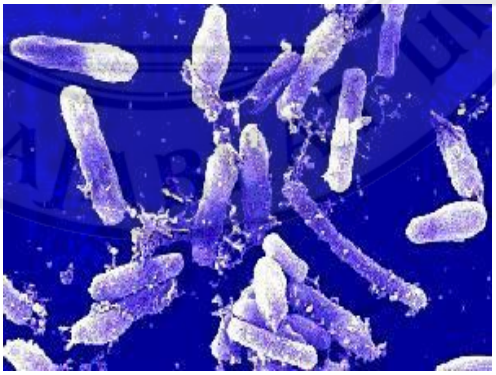


ภาพที่ 2.18 ปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนโดยใช้ $AlCl_3$
ที่มา : Shabnam Sepahpour, 2018

2.1.9 จุลินทรีย์ก่อโรค

1) *Bacillus cereus*

ลักษณะ: *B. cereus* เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นรูปท่อนตรง ขนาด 0.3–2.2 x 1.2-7.0 ไมครอน ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ สร้างสปอร์และสร้างสารพิษ จะขับสารพิษออกมาขณะปนเปื้อนอยู่ในอาหาร ช่วงอุณหภูมิ ในการเติบโตอยู่ระหว่าง 30-37 องศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์เติบโตได้ที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส สำหรับค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อชนิดนี้อยู่ระหว่าง 6-7 และสามารถเติบโตได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจน และจะสร้างสารพิษเมื่ออยู่ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนน้อย (จินตนา, 2557) มีช่วงเวลาในการแบ่งตัวสั้น ประมาณ 20–30 นาที นอกจากนี้ยังสามารถทำให้เกิดการหมักน้ำตาลได้ ยกเว้นน้ำตาลแมนนิทอล



ภาพที่ 2.19 ลักษณะเซลล์ของ *B. cereus*
ที่มา : MicrobeWiKi (2560)

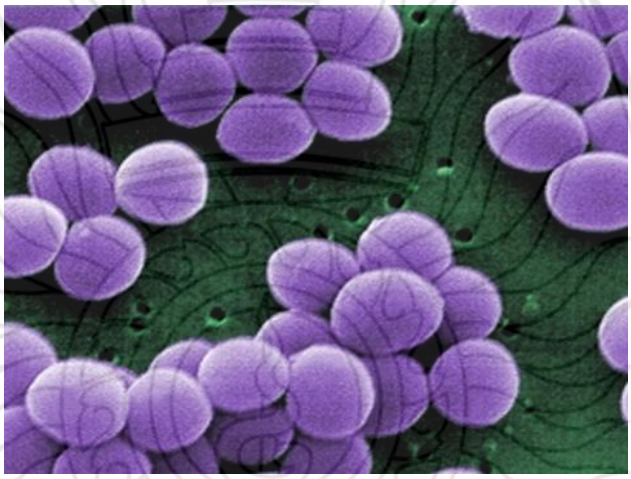
แหล่งที่พบ: เชื้อ *B. cereus* พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ในดิน ฝุ่นละออง ผลิตภัณฑ์จากพืช เช่น ข้าว ธัญพืช แป้ง ผลิตภัณฑ์จากแป้ง เครื่องเทศ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ และเครื่องปรุงแต่งรสต่างๆ นอกจากนี้ยังพบในอุจจาระของคนที่มีสุขภาพปกติได้ประมาณ 15% (สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม, ม.ป.ป.)

อาการของโรคที่เกิดจาก *B. cereus*: อาหารเป็นพิษที่มีสาเหตุมาจาก *B. cereus* จะแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ emetic type ซึ่งมัก พบในอาหารประเภทข้าวผัด อีกประเภทหนึ่ง คือ diarrheal type ซึ่งมักจะพบในอาหารประเภทเนื้อและซอส เชื้อ *B. cereus* สามารถก่อให้เกิดโรคจากการสร้าง toxin มากกว่าเกิดจากการติดเชื้อชนิดนี้ในอาหาร ในประเภท emetic form จะมีอาการคือ คลื่นไส้ อาเจียน, ปวดเกร็งที่ท้อง และบางครั้งอาจมีอาการท้องเสีย และมักจะหายเองได้ภายในเวลา 24 ชั่วโมง โดยมักจะมีอาการหลังจากรับประทานอาหารจำพวกข้าวเข้าไปภายใน 1-5 ชั่วโมง เชื้อ *B. cereus* จัดเป็นเชื้อที่อาศัยในดิน จึงมักพบปนเปื้อนมากับข้าว เมื่อมีการหุงข้าวจำนวนมากและทำให้เย็นลงอย่างช้าๆ จะเป็นผลให้สปอร์ของเชื้อเกิดการงอกเป็น vegetative cell ซึ่งจะมีการสร้าง toxin ในระยะ log-phase ของการเจริญและในช่วงที่สร้างสปอร์ ส่วนรูปแบบ diarrheal form จะมีระยะพักตัวประมาณ 1-24 ชั่วโมง และจะมีอาการท้องเสียร่วมกับปวดท้อง มักไม่พบอาการไข้และอาเจียน toxin ของเชื้อจะเริ่มสร้างในอาหารหรือสร้างในช่วงที่อยู่ในลำไส้ อย่างไรก็ตามการตรวจพบเชื้อชนิดนี้ในลำไส้ของผู้ป่วยจะไม่เพียงพอต่อการวินิจฉัยโรคอาหารเป็นพิษว่าเกิดจากเชื้อนี้ เนื่องจากเชื้อนี้มักพบเป็นเชื้อประจำถิ่นในอุจจาระ *B. cereus* เป็นสาเหตุที่สำคัญของการติดเชื้อในตา อาจเกิดกระจกตาอักเสบ การอักเสบใน ลูกตา (endophthalmitis) และการอักเสบทั้งตา (panophthalmitis) โดยทั่วไปเชื้อจะเข้าสู่ตาจากแผลบาดเจ็บ เชื้อ *B. cereus* มักทำให้เกิดการติดเชื้อเฉพาะที่ อย่างไรก็ตามอาจทำให้เกิดการติดเชื้อทั้งระบบได้ เช่น เยื่อบุหัวใจอักเสบ, เยื่อหุ้มสมองอักเสบ, กระดูกอักเสบ (เป็นหนอง) และปอดบวม การติดต่อของโรคมักมาจากอุปกรณ์ทางการแพทย์หรือการฉีดยาที่มีการปนเปื้อนเชื้อเข้าเส้นเลือด (อรอนงค์ , 2556)

2) *Staphylococcus aureus*

ลักษณะ: *S. aureus* เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะกลม เรียงตัวเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น หรือ เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ ไม่เคลื่อนที่ โคโลนีมีสีเหลืองหรือสีทอง เจริญเติบโตได้ดีในสภาพมี

ออกซิเจนมากกว่าในสภาพไม่มีออกซิเจน ช่วง อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตคือ 35-40 องศาเซลเซียส ช่วง pH หรือความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเติบโตอยู่ที่ 7-7.5 ส่วนค่า Aw (ปริมาณน้ำอิสระในอาหารที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเติบโต) ต่ำสุดสำหรับการเติบโตในสภาพที่มีออกซิเจน ประมาณ 0.86 สภาพที่ไม่มีออกซิเจน ประมาณ 0.90 *S. aureus* บางสายพันธุ์ผลิตสารพิษที่เรียกว่า เอนเทอโรทอกซิน ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เอนเทอโรทอกซินที่ผลิตได้มีหลายชนิด แต่ชนิดที่พบว่าทำให้เกิดอาหารเป็นพิษบ่อย คือ ชนิดเอและพีโดยช่วงอุณหภูมิที่เชื้อ ผลิตเอนเทอโรทอกซินอยู่ระหว่าง 15.6 และ 46.1 องศาเซลเซียส และผลิตได้ดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 2.20 ลักษณะเซลล์ของ *S. aureus*
ที่มา : ศูนย์ห้องปฏิบัติการกรมอนามัย (2558)

แหล่งที่พบ: เชื้อ *S. aureus* มีชีวิตอยู่ได้ในอากาศ ฝุ่นละออง ขยะมูลฝอย น้ำ อาหารและนม หรืออาหารบรรจุสำเร็จรูป สภาวะแวดล้อมภายนอก มนุษย์และสัตว์จึงเป็นแหล่งของเชื้อชนิดนี้โดย จะพบอยู่ตามทางเดินหายใจ ลำคอ หรือเส้นผมและผิวหนังถึง 50% หรือมากกว่านี้ในคนที่มีสุขภาพดี และอาจพบเชื้อชนิดนี้ 60-80% ในผู้ที่สัมผัสโดยตรงกับผู้ป่วยหรือผู้ที่สัมผัสกับสภาพแวดล้อมในโรงพยาบาล ตลอดจนผู้ประกอบอาหาร รวมทั้งในขั้นตอนของการบรรจุและสภาพแวดล้อมภายนอกนับเป็นสาเหตุส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการปนเปื้อน สิ่งที่ต้องคำนึงถึงอีกอย่างหนึ่งคือ การเก็บอาหารไว้ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม เป็นสาเหตุทำให้อาหารที่มีการปนเปื้อนอยู่แล้ว มี

การเพิ่มจำนวนของเชื้อและสร้างสารพิษได้อย่างรวดเร็ว (สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม, ม.ป.ป.)

อาการของโรคที่เกิดจาก *S. aureus*: โรคติดเชื้อที่มีสาเหตุจากเชื้อ *S. aureus* ได้แก่

1. การติดเชื้อบริเวณผิวหนังและบาดแผล (skin and wound infection)

1.1 ฝี (Boil, furuncle, impetigo) เกิดการติดเชื้อที่บริเวณรูขุมขน (hair follicle) ทำให้ผิวหนังมีอาการอักเสบ บวมแดงและเป็นหนอง

1.2 ฝีฝักบัว (Carbuncle) มีการติดเชื้อที่รูขน ต่อมไขมัน (Sebaceous gland) ต่อมเหงื่อ (Sweat gland) ทำให้เกิดการอุดตันบริเวณท่อต่อมเหงื่อ ท่อต่อมไขมัน เกิดเป็นลักษณะฝีหลายอันมารวมกัน ลักษณะคล้ายฝักบัว ผู้ป่วยจะมีอาการเจ็บปวดรุนแรงกว่าฝีธรรมดา

1.3 กุ้งยิง (Stye) เป็นการติดเชื้อที่บริเวณหนังขอบตา ทำให้หนังขอบตาเกิดการอักเสบ บวมแดงและมีหนอง

1.4 การติดเชื้อบริเวณแผลผ่าตัด (Wound infection) เป็นสาเหตุหนึ่งที่สำคัญของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล (Nosocomial infection: hospital acquired infection) พบในผู้ป่วยที่เข้ารับการผ่าตัดแล้วมีการติดเชื้อ *S. aureus* ที่อาศัยอยู่บริเวณผิวหนังของผู้ป่วยหรือจากบุคลากรทางการแพทย์ หรือจากสิ่งแวดล้อม ทำให้แผลบริเวณผ่าตัดเกิดการอักเสบ บวมแดง และเป็นหนอง

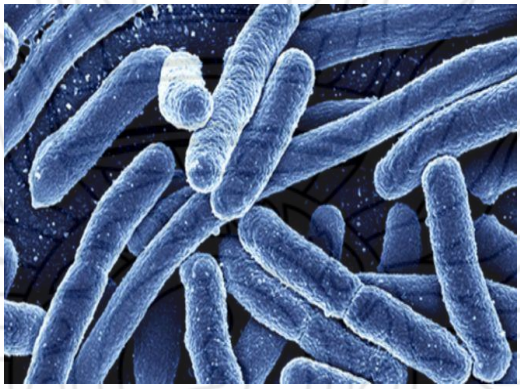
2. โรคอาหารเป็นพิษ (Food poisoning) เนื่องจากมีการรับประทานอาหาร ที่ปนเปื้อนสแตมฟิโลค็อกคัลเอนเทอโรทอกซิน โดยเฉพาะไทป์เอและอีเข้าไปในร่างกาย ทำให้มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน อาหารที่พบบ่อยว่าเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ ได้แก่ อาหารสดที่ไม่ผ่านความร้อน อาหารที่มีการหยิบจับสัมผัสด้วยมือ เช่น กะทิสด ขนมจีน มายองเนส

3. กลุ่มอาการผิวหนังกำพร้าหลุดลอกที่เกิดจากเชื้อ *S. aureus* (Staphylococcal scalded skin syndrome: SSSS) หรือโรคริตเทอร์ (Ritter's disease) พบได้ในเด็กแรกเกิดและเด็กเล็ก มีสาเหตุจากเอกโฟลิเอทีฟทอกซินของเชื้อ *S. aureus*

4. กลุ่มอาการช็อกที่เกิดจากสารพิษ (Toxic shock syndrome) เกิดจากร่างกาย มีการดูดซึมสารพิษชนิดทอกซิกช็อกซินโดรมทอกซิน 1 (TSST-1) เข้าไปในร่างกาย มักพบในผู้หญิงที่ใช้ผ้าอนามัยแบบสอด (Intra vaginal tampon) ที่มีการดูดซับเลือดประจำเดือนสูง ซึ่งจะกระตุ้นให้เชื้อ *S. aureus* หลั่งสารพิษชนิดนี้ออกมา เมื่อมีการดูดซึมสารพิษนี้เข้าไปในร่างกายทำให้ผู้ป่วยมีอาการไข้สูง มีผื่น เจ็บคอ มีภาวะขาดน้ำ คลื่นไส้ อาเจียน ช็อก ตับและไตวาย (อรอนงค์, 2556)

3) *Escherichia coli*

ลักษณะ: *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) ไม่สร้างสปอร์เป็น facultative anaerobe เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae และเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (Coliform) ประเภท fecal coliform ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น จึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะของอาหารและน้ำ (พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, ม.ป.ป.) เจริญเติบโตได้ดีในอุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส pH ที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตอยู่ที่ 4.4–10



ภาพที่ 2.21 ลักษณะเซลล์ของ *E. coli*
ที่มา : (พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, ม.ป.ป.)

แหล่งที่พบ: โดยปกติแล้วเชื้อ *E. coli* จะอาศัยอยู่ในลำไส้ของคนและยังอาศัยอยู่ในสัตว์ เช่น สุกร โค กระบือ เป็นต้น ดังนั้น เชื้อจะถูกขับผ่านออกมากับอุจจาระสัตว์ได้ถ้าสัตว์ถ่ายอุจจาระลงดินหรือแหล่งน้ำ ซึ่งใช้เป็นแหล่งเพาะปลูกหรืออุปโภค บริโภคเชื้อที่ปนเปื้อนไปกับผลผลิตและน้ำดื่มจะเข้าสู่ร่างกายคนโดยการรับประทาน นอกจากนี้เชื้อยังสามารถติดต่อจากผู้ป่วยสู่คนอื่นได้โดยตรง (Person to person contact) (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสข, 2557)

อาการของโรคที่เกิดจาก *E. coli*: ในภาวะร่างกายปกติ เชื้อ *E. coli* ไม่ทำให้เกิดโรค แต่จะก่อให้เกิดโรคได้ในกรณีภูมิคุ้มกันบกพร่องหรือในสภาวะที่ร่างกายอ่อนแอ เรียกว่า เชื้อฉวยโอกาส (Opportunistic pathogen) ซึ่งเป็นตัวการสำคัญที่ก่อให้เกิดปัญหาการติดเชื้อในโรงพยาบาล (Secondary infection) นอกเหนือจากกลุ่มที่กล่าวมาข้างต้น กลุ่มผู้ที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อที่สำคัญคือ ผู้ที่ต้องทำงานเกี่ยวข้องกับเชื้อโรค ทำให้เกิดการติดเชื้อจากการทำงาน (Occupational

infection) ได้แก่ บุคลากรทางการแพทย์ที่สัมผัสกับผู้ป่วยที่ติดเชื้อ และผู้ที่ทำงานในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ ซึ่งต้องสัมผัสกับสารคัดหลั่งจากร่างกายผู้ที่ติดเชื้อ เป็นต้น เชื้อ *E. coli* ทำให้เกิดการติดเชื้อโดยเกาะกับ ผนังเซลล์ของอวัยวะส่วนต่างๆ เช่น ไต กระเพาะ ปัสสาวะ และจะสร้างสารช่วยในการยึดเกาะให้เชื้ออยู่ในบริเวณนั้นได้ และจะสร้างสารต่างๆ ออกมาเพื่อทำลายเซลล์ ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อขึ้น เชื้อ *E. coli* ทำให้เกิดกลุ่มอาการที่สำคัญ คือ การติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ เชื้อหุ้มสมองอักเสบในทารกและท้องร่วง

การติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ (Urinary Tract Infection: UTI) เกิดจากเชื้อ *E. coli* ที่อาศัยอยู่ในลำไส้และอุจจาระ โดยเชื้อสามารถเคลื่อนที่ไปยังบริเวณทางเดินปัสสาวะขึ้นไปยังกระเพาะปัสสาวะ หรือไตได้ จากนั้นจะมีการแบ่งตัวของเชื้ออย่างรวดเร็วที่อวัยวะดังกล่าว ทำให้เกิดภาวะพบแบคทีเรียในปัสสาวะ (Bacteriuria) โดยสายพันธุ์ของเชื้อ *E. coli* ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ จะสร้างสารเอ็กซ์ แอดอีซินส์ ช่วยในการยึดเกาะให้เชื้ออยู่บริเวณทางเดินปัสสาวะได้ และเชื้อจะสร้างสารฮีโมไลซิน เพื่อทำลายเซลล์ ทำให้เซลล์เม็ดเลือดและเซลล์ต่างๆ แตก โดยผู้ที่ติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ จะมีอาการปวดแสบบริเวณถ่ายปัสสาวะ มีอาการปวดท้อง เสียดท้องขณะปัสสาวะ ปัสสาวะบ่อย และรู้สึก เหมือนปัสสาวะไม่สุด การรักษาการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะโดยการให้ยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ เช่น กลุ่มฟลูออโรควิโนโลนอย่างน้อย 7 วัน ร่วมกับการพยายามปรับสภาพปัสสาวะให้เป็นกรด โดยการดื่มน้ำผลไม้ที่มีกรดมาก ๆ หรือทานน้ำเปล่ามาก ๆ เพื่อช่วยในการกำจัดเชื้อ

เยื่อหุ้มสมองอักเสบในทารก เกิดจากเชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ที่มีการสร้างเควันแคปซูล (K1 capsule) ที่ช่วยป้องกันการถูกกินจากเซลล์เม็ดเลือดขาว (phagocytes) และการถูกทำลายด้วยระบบ ภูมิคุ้มกันของร่างกาย มักเกิดกับทารกแรกเกิด โดยการติดเชื้อจากมารดาเข้าสู่ทางเดินหายใจหรือทางเดิน อาหารของทารก จากนั้นเชื้อจะผ่านผนังลำไส้เข้าสู่กระแสโลหิตไปยังเยื่อหุ้มสมองในที่สุด โดยทารกที่ติดเชื้อที่ เยื่อหุ้มสมอง จะมีอาการ ไข้สูง คอแข็ง บางรายอาจจะมีอาการซึมลง คลื่นไส้อาเจียน ความดันต่ำ สามารถรักษาด้วยการให้ยาปฏิชีวนะกลุ่มเบต้าแลกแตมส์ (Beta-lactams) เนื่องจาก *E. coli* ไล่สายพันธุ์ที่ทำให้เกิด เยื่อหุ้มสมองอักเสบในทารก เป็นเชื้อที่มีการดื้อยาสูง ดังนั้นการใช้ยาปฏิชีวนะอาจจะต้องทดสอบความไวต่อยาก่อน และผู้ป่วยควรได้รับยาอย่างต่อเนื่องและครบถ้วน โดยให้ยาปฏิชีวนะแบบฉีด เป็นเวลา 10-14 วัน หลังจากหายจะต้องเฝ้าระวังโรคแทรกซ้อน เช่น หูหนวก ชัก หรือตาบอด เป็นต้น อาการท้องร่วง มักเกิดกับทารก ผู้ที่เดินทางไปต่างถิ่นหรือผู้ที่รับประทานอาหารหรือน้ำที่มีการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli* หรือผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยเชื้อจะเกาะติดกับผนังลำไส้ จากนั้นจะสร้างสารพิษที่ทำให้เกิดอาการท้องร่วงได้ บางสายพันธุ์สามารถผลิตสารพิษ (Toxin) ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรค ที่มีความรุนแรงมาก 2 ชนิด คือ ชิก้าท็อกซิน (Shiga toxin) และเอ็นเทอร์โรท็อกซิน (Enterotoxin) สารพิษชิก้าท็อกซินสามารถทำให้เกิด

ท้องร่วงอย่างรุนแรง ในการเกิดโรคเชื้อจะเข้าสู่เซลล์และทำลายเซลล์ ทำให้เกิดโรคท้องร่วงที่มีเลือดออกและมีไข้ร่วมด้วย ส่วนสารพิษเอ็นเทอร์โรท็อกซินทำให้เกิดการท้องร่วงเป็นน้ำสีขาวคล้ายอหิวาตกโรค โดยการกระตุ้นให้เกิดการหลั่งน้ำเข้าสู่ช่องท้อง ปกติแล้วการรักษาอาการท้องร่วงจากเชื้อ *E. coli* มักไม่นิยมใช้ยา แต่จะให้ผงน้ำตาลเกลือแร่เพื่อทดแทนการสูญเสียน้ำของร่างกาย อย่างไรก็ตามในผู้ป่วยที่มีอาการท้องร่วงจากเชื้ออีโคไลสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดอาการที่รุนแรง ควรพิจารณาให้ยาปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ เช่น กลุ่มฟลูออโรควิโนโลน (Fluoroquinolone) อย่างน้อย 3 วัน ร่วมกับการให้ผงน้ำตาลเกลือแร่เพื่อทดแทนการสูญเสียน้ำของร่างกาย (เกสร, ม.ป.ป.)

4) *Enterobacter aerogenes*

ลักษณะ: เป็นแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบ (Gram negative bacteria) มีรูปร่างเป็นท่อน (Rod shape) และเป็นพวก facultative anaerobe คือ เจริญได้ทั้งในภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน ไม่สร้างสปอร์ ไม่ทนร้อน อาจไม่เคลื่อนที่ หรือเคลื่อนที่ด้วยแฟลเจลลารอบเซลล์ (Peritrichous flagella) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกับโรคของคนส่วนใหญ่เจริญได้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, ม.ป.ป.)

ภาพที่ 2.22 ลักษณะเซลล์ของ *E. aerogenes*

ที่มา : Bioquell (ม.ป.ป.)

แหล่งที่พบ : สามารถพบได้ทั้ง ในดิน ในน้ำ ปนเปื้อนมากับเนื้อสัตว์ อาหารทะเลและพืชผักต่างๆ หรือ อยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารที่ไม่มีสุขลักษณะในการผลิต นอกจากนี้ยังพบว่าเป็นแบคทีเรียประจำถิ่น ในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น ดังนั้นอาหารที่มีการปนเปื้อนอุจจาระของคนและสัตว์เลือดอุ่นจะพบจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ปะปนอยู่ในอาหารด้วย

อาการของโรคที่เกิดจาก *E. aerogenes* : มักก่อโรคอาหารเป็นพิษ ในระบบทางเดินอาหาร มีอาหารกระเพาะและลำไส้อักเสบ (Gastroenteritis) โดยการรับประทานอาหารหรือน้ำดื่มที่มีเชื้อปนเข้าไป และกรณีการพบเป็นเชื้อก่อโรคแบบฉวยโอกาสก่อให้เกิดการติดเชื้อนอกระบบทางเดินอาหารและเป็นสาเหตุสำคัญส่วนใหญ่จะเป็นการติดเชื้อในโรงพยาบาล โรคที่พบบ่อยที่สุด คือ กระเพาะปัสสาวะอักเสบ (Cystitis) (พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, ม.ป.ป.)

2.1.10 การสกัดสารจากพืชแบบแช่หมัก

การสกัดสารจากพืชโดยทั่วไปที่นิยม ได้แก่ การสกัดแบบแช่หมัก การสกัดแบบต่อเนื่อง การสกัดสารจากพืชขึ้นอยู่กับจุดประสงค์ในการทดสอบ ถ้าต้องการศึกษาสารใหม่ที่มีในสารสกัดต้องเลือกวิธีการแช่หมักเนื่องจากไม่มีความร้อนเข้ามาเกี่ยวข้องซึ่งอาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสารได้ หรือถ้าต้องการสารที่เคยมีรายงานแล้ว และต้องการประหยัดตัวทำละลายต้องเลือกการสกัดแบบต่อเนื่อง

วรพร (2554 อ้างถึงใน นิสา, 2559) การสกัดแบบแช่หมัก (Maceration) วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากที่สุดโดยทำการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมกับสารในพืช แล้วนำพืชไปใส่ไว้ในภาชนะที่ปิด เช่น ขวดปากกว้าง ขวดรูปชมพู่หรือโถ ทำการเขย่าเป็นบางเวลา และแช่ไว้อย่างน้อย 7 วัน จากนั้นนำมากรองแล้วบีบเอาสารสกัดออกมาจากกากของพืชให้ได้มากที่สุด นำสารละลายพืชที่ได้ไปทำการกรองเอาเศษพืชที่ติดออกให้หมดแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออก ได้สารสกัดหยาบแล้วจึงนำสารสกัดที่ได้ไปใช้ประโยชน์ต่อ วิธีนี้มีข้อดี คือ สารสกัดจะไม่ถูกความร้อนทำให้โอกาสในการสลายตัวของสารสกัดลดลงข้อเสียของวิธีนี้คือจะสิ้นเปลืองเพราะต้องใช้ตัวทำละลายจำนวนมาก

2.1.11 การเลือกตัวทำละลายในการสกัดสารสำคัญของพืช (นิสา, 2559)

ตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการสกัดสารจากพืชต้องมีคุณสมบัติดังนี้ คือ เป็น ตัวทำละลายที่ละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี ไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ด้องการสกัดไม่เป็นพิษ และราคาไม่แพง ดังนั้นการเลือกใช้ตัวทำละลายอาศัยหลักเกณฑ์ดังนี้

1) สารละลายและตัวทำละลายมีคุณสมบัติความมีขั้วคล้ายคลึงกัน

2) ละลายสารที่ต้องการออกมามากที่สุดขณะที่ละลายสารที่ไม่ต้องการออกมาน้อยที่สุด

3) แรงที่เกี่ยวข้องในการละลาย ได้แก่ แรงแผ่กระจาย (Dispersion force) แรงดึงดูดระหว่าง ขั้ว (Dipole-dipole force) และพันธะไฮโดรเจน (H-bonding)

โดยทั่วไปแล้วตัวทำละลายที่มีขั้วเหมาะกับสารที่มีขั้ว และตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเหมาะกับสารที่ไม่มีขั้ว การผสมระหว่างตัวทำละลายที่มีขั้วและไม่มีขั้ว อาจทำให้การละลายดีขึ้น บางครั้ง การเลือกตัวทำละลายอาจพิจารณาสูตรโครงสร้างทางเคมีของสารตัวทำละลายอาจจัดเรียงตามลำดับความมีขั้วจากน้อยไปมาก ดังนี้ เฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, คลอโรฟอร์ม, เอทิลอะซิเตต, อะซิโตน, เอทานอล, เมทานอล และน้ำ

2.1.12 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

รัตนา (2550 อ้างถึงใน นิสา, 2559) เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้จะมีปริมาตรมากและ เจือจาง ทำให้นำไปแยกองค์ประกอบได้ไม่สะดวกและไม่มีประสิทธิภาพ จึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นก่อน ซึ่งอาจทำได้หลายวิธี คือ

1) การระเหย (Free evaporation) การระเหยให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (Water bath) หรือแผ่นความร้อน (Hot plate) วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้เนื่องมาจากอุณหภูมิสูงเกินไป

2) การกลั่นในสภาวะสุญญากาศ (Distillation in vacuum) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลาย ออกจากสารสกัดโอยกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ พร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศ โดยใช้ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump) เครื่องมือนี้เรียกว่า เครื่องระเหยแบบลดความดัน (Rotary evaporator)

3) การทำให้แห้ง (Drying) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัดจนแห้งได้สารสกัดออกมาในสภาพของแข็งหรือถึงของแข็ง เช่น การใช้ความเย็น (Freeze dyer) หรือการใช้ความร้อน (Spray dryer) เป็นต้น

4) อัลตราฟิลเทรชั่น (Ultrafiltration) เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (Membrane) ใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า 5,000

จากที่กล่าวมาในเบื้องต้น จะพบว่าการสกัดสารสำคัญจากพืช การเลือกใช้ตัวทำละลายและการทำสารสกัดให้เข้มข้นทำได้หลายวิธี ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้เลือกใช้วิธีการสกัดสารจากดอกกล้วยไม้สกุลหวายด้วยวิธีการหมัก (Maceration) เนื่องจากมีความเหมาะสมในการสกัดส่วนของดอกซึ่งมีโครงสร้างหรือเนื้อเยื่อที่ไม่แข็งแรงมาก ทั้งยังเป็นวิธีที่ไม่ใช้ความร้อนโดยจะไม่ทำให้ สารสำคัญ

บางตัวสลายไปและใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ตลอดจนวิธีการทำสารสกัดให้เข้มข้นด้วยวิธีการกลั่นในสภาวะสุญญากาศ

2.1.13 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (ประสาทพร และคณะ, ม.ป.ป.)

วิธี Plate-hole diffusion assay หรือ Agar well diffusion method ใช้หลักการเดียวกับ Disk diffusion test แต่ทำโดยการเจาะหลุมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร แล้วหยอดสารสกัดลงไปในแต่ละหลุม แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อเช่นเดียวกัน วัดผลโดยการวัดวงใส (clear zone หรือ zone of inhibition) ที่เกิดขึ้น ความกว้างของวงใสที่เกิดขึ้นจะแสดงถึงความสัมพันธ์ของความไวของเชื้อทดสอบ ต่อสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งการรายงานผลจะรายงานผลการทดสอบดังนี้

- Susceptibility เชื้อมีความไวต่อการทดสอบ (เส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone มากกว่า 30 มิลลิเมตร)
- Intermediate เชื้อมีความไวต่อสารทดสอบปานกลาง (เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสเท่ากับ 15-30 มิลลิเมตร)
- Resistant เชื้อต้านทานสารทดสอบ (เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส น้อยกว่า 15 มิลลิเมตร)

2.1.14 การขยายพันธุ์กล้วยไม้

การขยายพันธุ์กล้วยไม้ เพื่อประโยชน์หลายประการคือ เพื่อเพิ่มปริมาณกล้วยไม้ให้มากขึ้นเพื่อให้กล้วยไม้ที่ปลูกเลี้ยงไว้นานจนเป็นกอใหญ่และมีสภาพทรุดโทรมให้กลับมีการเจริญเติบโตดีขึ้น และเพื่อเป็นการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ให้ได้กล้วยไม้พันธุ์ใหม่ที่ดีขึ้น การขยายพันธุ์กล้วยไม้สามารถทำได้หลายวิธี แต่สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 แบบใหญ่ๆ ซึ่งในแต่ละแบบแต่ละวิธีมีจุดมุ่งหมายและผลที่ได้แตกต่างกัน

2.1.14.1 การขยายพันธุ์โดยไม่มีการผสมเกสรการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ การขยายพันธุ์วิธีนี้เป็นการนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของกล้วยไม้ ซึ่งไม่ใช้เมล็ด ไปทำการขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณโดยที่ยังคงลักษณะทางพันธุศาสตร์ของต้นเดิมไว้ หรืออาจมีการเปลี่ยนแปลงไปบ้างเล็กน้อย การขยายพันธุ์โดยวิธีนี้มี 2 แบบ คือ

1) การตัดแยกเป็นวิธีที่ปฏิบัติได้ไม่ยาก และเพิ่มปริมาณได้ไม่มากนัก ได้แก่ การตัดแยกลำหน้าและลำหลัง ใช้สำหรับกล้วยไม้ประเภทฐานร่วม เช่น กล้วยไม้สกุลสิงโตกลอกตา สกุลกุหลาบ สกุลคัทลียา เป็นต้น การตัดลำแก่ไปปักชำใช้สำหรับกล้วยไม้ประเภทฐานร่วมบางสกุล เช่น สกุลหวาย สกุลเข็ม สกุลช้าง การตัดก้านช่อดอก ให้แตกต้นอ่อนที่ข้อก้าน ใช้สำหรับกล้วยไม้

สกุลฟาเลนอปซีส การตัดยอดและการแยกหน่อ ใช้สำหรับกล้วยไม้ประเภทฐานเดี่ยว เช่น กล้วยไม้สกุลช้าง แวนด้า กุหลาบ เป็นต้น

2) การเพาะเนื้อเยื่อกล้วยไม้หรือที่เรียกกันว่า "การปั่นตา" เป็นการนำส่วนของเนื้อเยื่อจากส่วนต่างๆ เช่น ตายอด ตาข้าง ปลายใบอ่อน มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อ โดยมีการควบคุมสภาพแวดล้อม เช่น แสง อุณหภูมิ ให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโต ต้นที่ได้จากการขยายพันธุ์วิธีนี้เรียกว่า mericlone แปลว่าต้นพันธุ์ใหม่ ผลจากการขยายพันธุ์วิธีนี้อาจจะมีโอกาสกลายพันธุ์ไปในทางที่ดีขึ้นหรือเลวลงได้ แต่ก็พบได้ยาก

ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงนำไปปลูกได้ต้องใช้เวลาอย่างน้อยประมาณ 10 เดือน แต่ส่วนใหญ่จะใช้เวลานานกว่านี้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของกล้วยไม้ ความสมบูรณ์ของหน่อ เทคนิคในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สูตรอาหารสังเคราะห์ และสภาพแวดล้อม ขั้นตอนสำคัญในการเพาะเนื้อเยื่อกล้วยไม้ พอสรุปได้ดังนี้

การเลือกชิ้นส่วนของกล้วยไม้ที่มีเนื้อเยื่อเจริญที่สามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ เช่น กล้วยไม้สกุลหวายใช้หน่ออ่อน ตาข้าง ตายอด ดอกอ่อน กล้วยไม้คัทลียาใช้หน่ออ่อน ตาข้าง ตายอด ปลายใบอ่อน กล้วยไม้สกุลแวนด้าและลูกผสมใช้ยอดอ่อนที่มีตาข้างและตายอด ช่อดอกอ่อน เป็นต้น การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวชิ้นส่วนกล้วยไม้ให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ก่อนตัดส่วนเยื่อเจริญออกไปเพาะเลี้ยง

การเลี้ยงชิ้นส่วนหรือตา ในระยะแรกเมื่อฟอกฆ่าเชื้อแล้วใช้มีดเจาะตาขนาดเล็กไม่เกิน 0.5 เซนติเมตร นำไปเลี้ยงในอาหารเหลวหรืออาหารแข็ง สูตรที่เหมาะสม ตาอาจจะมีสีเขียวสดหรือสีน้ำตาล แล้วแตกโปรโตคอร์ม (protocorm) สีเขียวแตกออกมารอบๆ ชิ้นส่วนระยะนี้ต้องเปลี่ยนอาหารทุกสองสัปดาห์

การเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มโดยคัดเลือกโปรโตคอร์มที่เป็นก้อนกลมไม่มีใบยอด ไปเลี้ยงในอาหารสูตรที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์ม ถ้าโปรโตคอร์มพัฒนาเป็นยอดต้องตัดยอดทิ้งเพื่อให้เกิดการแตกหน่อจากส่วนฐาน

การเลี้ยงโปรโตคอร์มให้เป็นต้น เมื่อได้จำนวนโปรโตคอร์มตามต้องการแล้ว ย้ายไปเลี้ยงในอาหารแข็งสูตรที่เหมาะสม ให้โปรโตคอร์มแต่ละหน่วยเจริญเติบโตเป็นต้นกล้ามีใบยอดและรากเมื่อต้นสูงประมาณ 2-3 เซนติเมตร ก็คัดแยกแต่ละต้นย้ายไปเลี้ยงในวุ้นอาหารสูตรถ่ายขวด เพื่อให้เจริญเติบโตแข็งแรง พร้อมที่จะนำออกปลูกภายนอกได้

2.1.14.2 การขยายพันธุ์โดยการผสมเกสรและเพาะเมล็ด

การขยายพันธุ์วิธีนี้เป็นการนำเมล็ดที่เป็นผลจากการผสมเกสรมาเพาะเลี้ยง ทำให้สามารถเพิ่มปริมาณ และปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ให้ดีเด่นหรือแปลกออกไป จึงมีความจำเป็นต้องเลือกพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์กล้วยไม้อย่างเหมาะสม การขยายพันธุ์โดยการผสมเกสรมี 2 ลักษณะ คือ

1) การขยายพันธุ์โดยการผสมเกสรมี 2 ลักษณะ คือการผสมตัวเอง (self pollination) เป็นการผสมระหว่างเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียภายในดอกเดียวกันหรือต่างดอกแต่อยู่ในช่อเดียวกันหรือคนละช่อแต่อยู่ในต้นเดียวกัน หรืออาจจะเป็นคนละต้นที่ตัดแยกออกจากลูกผสมที่ได้ออกมาก็จะมีลักษณะทั่วไปเหมือนกับพันธ์แท้นั้นมากที่สุด อาจจะมีผิดเพี้ยนไปบ้างเล็กน้อย และการผสมข้ามเกสร (cross pollination) เป็นการผสมเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียที่มิได้อยู่ต้นเดียวกัน อาจทำได้ 3 แบบ คือ การผสมข้ามระหว่างต้น การผสมข้ามระหว่างชนิด และการผสมข้ามระหว่างสกุล

2) การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ เมล็ดกล้วยไม้มีแต่คัพภะหรือต้นอ่อน แต่ไม่มีอาหารสำหรับต้นอ่อนอยู่ภายใน ในสมัยก่อนจึงใช้วิธีหว่านเมล็ดกล้วยไม้จากฝักแก่ลงบริเวณโคนต้นของกล้วยไม้ในสกุลเดียวกัน และได้อาศัยเชื้อราชื่อไมคอร์ไรซ่า (mycorrhiza) ซึ่งอาศัยดำรงชีวิตอยู่ด้วยกันกับรากของกล้วยไม้ ช่วยย่อยสลายอินทรียวัตถุต่างๆ ให้เป็นอาหารแก่ตัวอ่อน จึงทำให้เมล็ดที่งอกเจริญเติบโตได้บ้างแต่เป็นจำนวนน้อยมาก

ในปัจจุบันใช้การเพาะเมล็ดลงในอาหารสังเคราะห์ ซึ่งมีธาตุอาหารต่างๆ ของกล้วยไม้ในรูปที่ละลายน้ำได้ในปริมาณ และสัดส่วนที่พอเหมาะแต่อาหารดังกล่าวก็เป็นอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ในอากาศด้วย ดังนั้น การเพาะเมล็ดกล้วยไม้จึงต้องเพาะในขวดเพาะ ไม่ว่าจะเป็นวุ้นอาหารที่บรรจุลงในขวด เมล็ดกล้วยไม้ รวมทั้งเครื่องมืออุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการเพาะและวิธีการเพาะจึงจำเป็นต้องทำให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์เหล่านั้น หากเชื้อจุลินทรีย์หลุดลอดเข้าไปในขวดเพาะได้ ก็จะเจริญโตบนวุ้นอาหารได้ดีและเร็วกว่าเมล็ดกล้วยไม้มาก จึงขึ้นปกคลุมทำลายเมล็ดกล้วยไม้หมด

ในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้นั้นอาจเพาะได้ทั้งเมล็ดจากฝักแก่และเมล็ดจากฝักอ่อน โดยใช้วิธีการและเครื่องมืออุปกรณ์คล้ายคลึงกัน ข้อดีของการเพาะเมล็ดจากฝักอ่อน คือ ประหยัดเวลาไม่ต้องรอจนฝักแก่ ต้นแม่พันธุ์ไม่ต้องเลี้ยงฝักนาน ต้นไม่โทรม นอกจากนั้นแล้วพ่อพันธุ์แม่พันธุ์กล้วยไม้บางคู่ผสมยาก พอติดฝักแล้วก็มักจะเหลืองและร่วงก่อนกำหนด การใช้ฝักอ่อนจึงช่วยแก้ปัญหานี้ได้ อย่างไรก็ตาม ข้อดีของการใช้ฝักอ่อน คือต้องรีบเพาะเมล็ดทันทีหลังจากตัดฝักจากต้นแล้ว มิฉะนั้นฝักจะเหี่ยวหรือเสีย ซึ่งจะต่างจากฝักแก่ที่เก็บไว้ในที่ค่อนข้างแห้งและเย็นพอสมควรก็สามารถเก็บได้นานเป็นปี

ขั้นตอนที่สำคัญในกระบวนการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ คือ การทำความสะอาดเมล็ดกล้วยไม้เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปะปนอยู่กับเมล็ด เป็นขั้นตอนที่ทำนอกตู้เพาะเมล็ด การหว่านเมล็ดลงในขวดเพาะ ซึ่งจะต้องทำอย่างรวดเร็วและรักษาความสะอาดอย่างเข้มงวด และการเก็บขวดเพาะเมล็ดกล้วยไม้ไว้ในที่ที่เหมาะสม

2.1.15 การใช้ปุ๋ยเคมีทดแทนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้

2.1.15.1 สูตรอาหารสังเคราะห์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สามารถใช้อาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ ได้หลายสูตร เช่นสูตร Vacin – Went สูตร Murashige and skoog สูตร Tm\homale และสูตร Knudson C เป็นต้น โดยสูตรอาหารดังกล่าวข้างต้นมีความเหมาะสมต่อชนิดของกล้วยไม้แตกต่างกันไป สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้โดยทั่วไปนิยมใช้สูตร Vacin – Went ซึ่งสามารถเตรียมได้สะดวก เนื่องจากมีจำนวนชนิดของสารเคมีไม่มาก เหมาะสมสำหรับกล้วยไม้สกุลหวาย และสกุลอื่นๆ อีกหลายสกุล โดยอาหารสังเคราะห์ มีส่วนประกอบที่สำคัญ ได้แก่ 1) เกลือแร่ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ เช่น โปแตสเซียมไนเตรท แอมโมเนียซัลเฟท และแมกนีเซียมซัลเฟท เป็นต้น 2) สารให้พลังงาน ได้แก่ น้ำตาลซูโครส และกลูโคส เป็นต้น 3) สารช่วยการเจริญเติบโต ได้แก่ น้ำมะพร้าวอ่อน กล้วย มันฝรั่ง สารควบคุมการเจริญเติบโต และวิตามิน เป็นต้น

2.1.15.2 ส่วนประกอบของปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์ STOCK A 10 ลิตร ประกอบด้วย แคลเซียมไนเตรท (15-0-0) 1150 กรัม, เหล็ก ดีพี (Fe-EDTA 7%) 20 กรัม, เหล็กเวสโก้ (Fe-EDTA 13.2%) 40 กรัม, เหล็กอาจมีการปรับเปลี่ยนชนิดที่ใช้ตามสมควร STOCK B 10 ลิตรโปแตสเซียมไนเตรท (13-0-46) 600 กรัม , แมกนีเซียมซัลเฟต 500 กรัม ,โมโนโปแตสเซียมฟอสเฟต (0-52-34) 265 กรัม , นิค-สเปรย์ 50 กรัม , แมงกานิส อีดีทีเอ (Mn-EDTA 13 %) 10 กรัม

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นิสา จุลโพธิ์ (2559) ได้ศึกษาสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบชั้นเอทานอลจากดอกกล้วยไม้สกุลหวาย 4 ชนิด คือ สายพันธุ์เอียสกุล สายพันธุ์เจสซิก้า สายพันธุ์บูรณะเจต และสายพันธุ์ขาว 5 เอ็น จากการศึกษาสารพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบชั้นเอทานอลจากดอกกล้วยไม้สกุลหวาย 4 ชนิด พบสารพฤกษเคมีต่าง ๆ คือ เทอร์พีนอยด์ สเตียรอยด์ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน และคูมาริน นอกจากนี้ สารสกัดดังกล่าวยังได้ศึกษาหาปริมาณฟีนอลิกรวม (1.15±0.34 ถึง5.34±0.30 mgGAE/g) ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (1.12±0.04 ถึง 4.01±0.12 mgQE/g) และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม (4.28±0.10 ถึง 5.28±0.19 mgAE/g) และจากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH free radical scavenging พบว่าสายพันธุ์ขาว 5 เอ็น มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่ความเข้มข้น 250.00 µg/mL (27.28%) รองลงมาเป็นสายพันธุ์เจสซิก้า (25.52%) สายพันธุ์บูรณะเจต (23.81%) และสายพันธุ์เอียสกุล (14.50%) ตามลำดับ นอกจากนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดหยาบชั้นเอทานอลจากดอกกล้วยไม้สกุลหวายทั้ง 4 ชนิด โดยมี L-tyrosine และ L-DOPA เป็นซับสเตรท พบว่าสายพันธุ์ขาว 5 เอ็น มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงสุด ที่ความเข้มข้น 1.00 mg/mL เมื่อใช้ซับสเตรทเป็น L-Tyrosine (90.99%) และ L-DOPA (52.24%)

เมธิน ผดุงกิจ และคณะ (2559) ได้ตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นหาปริมาณสารฟีนอลิกและ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากลำต้นของกำลังวัวเถลิงที่ใช้ตัวทำละลายในการสกัดต่างกัน ได้แก่ เมธานอล ไดคลอโรมีเทนและเฮกเซน การตรวจสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นทดสอบตามวิธีมาตรฐาน การหาปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดใช้วิธี Aluminium Chloride colorimetric และ Folin-Ciocalteu ตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใช้วิธี DPPH Scavenging ผลการศึกษาพบว่าจากการตรวจสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นพบสารจำพวกฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ สารสกัดเมธานอลให้ปริมาณฟีนอลิกและ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดอื่นโดยมีค่าเท่ากับ 520.26 ± 21.08 mg GAE/1g extract และ 395.61 ± 30.18 mg QE/1g extract ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดเมธานอลยังให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 14.46 ± 1.10 µg/mL ซึ่งจากการเปรียบเทียบทางสถิติแล้วพบว่าไม่แตกต่างกันกับสารมาตรฐาน ascorbic acid ที่ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 9.26 ± 1.14 µg/mL จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าสารสกัดเมธานอลจากกำลังวัวเถลิงมีปริมาณ ฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ที่สูงและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีมากซึ่งอาจช่วยในการป้องกันภาวะลุกลามของโรคหลายชนิดที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้

เกสรี กลิ่นสุคนธ์ และคณะ (2559) ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP รวมทั้ง ศึกษาการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดดอกกล้วยไม้สกุลหวายจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ เอียสกุล ขาวสนาน บูรณเจตน์และไฟร์เบิร์ด สารสกัดเอทานอลจากดอกกล้วยไม้ทั้ง 4 ชนิด มีปริมาณผลผลิต ดังนี้ 3.047 2.758 3.008 และ 2.714 ตามลำดับ ศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าสารสกัดดอกกล้วยไม้ไฟร์เบิร์ดมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (54.17±2.48 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 1 กรัมสารสกัด) และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูงที่สุด (IC_{50} เท่ากับ 194.41±9.50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เมื่อทดสอบด้วยวิธี ABTS สารสกัดจากดอกกล้วยไม้ไฟร์เบิร์ด และ เอียสกุล มีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระได้ดีไม่แตกต่างกันทางสถิติ (IC_{50} เท่ากับ 7.98±0.32, 8.47±0.48 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ผลจากการทดสอบด้วยวิธี FRAP พบว่าสารสกัดดอกกล้วยไม้ขาวสนานมีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด โดยมีค่า FRAP value เท่ากับ 219.90±2.90 มิลลิโมลต่อกรัมสารสกัด และสารสกัดดอกกล้วยไม้บูรณเจตน์ และขาวสนาน มีประสิทธิภาพในการต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส IC_{50} เท่ากับ 17.36±0.11 และ 24.13±0.14 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

วรพร ศีลศร (2554) ศึกษาการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม และแอนโทไซยานินรวมของสารสกัดกล้วยไม้สกุลหวายม่วงแดง (*Dendrobium Sonia Red*) 2 สภาวะคือกรด และกลาง สารสกัดหยาบที่ได้ถูกนำมาสกัดต่อด้วย เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต ตามลำดับ พบว่าสารสกัดส่วนเอทิลอะซิเตต สภาวะที่เป็น

กลาง แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละ 90.39±0.44 mg/100 g extract) และปริมาณฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดอื่นๆ (ร้อยละ 863.13±5.11mg/100 g extract ตามลำดับ) นอกจากนี้สารสกัดส่วนน้ำ สภาวะกรดมีปริมาณแอนโทไซยานินรวมสูงที่สุด (0.052±0.016 μg/L)

Johnson and Janakiraman (2013) ศึกษาพฤกษทางเคมีของกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium panduratum subsp. villosum* Gopalan & A. N. Henry) จากส่วนสกัดหยาบชั้นน้ำเบนซีน เอทานอล อะซีโตน และปิโตเลียมอีเทอร์ ของใบและลำต้น ผลการตรวจสอบพฤกษเคมีพบว่า สารสกัดส่วนลำต้นและใบของกล้วยไม้ชนิดนี้มีสารในกลุ่มสเตอรอยด์ ไตรเทอร์พีนอยด์ แอลคาลอยด์แทนนิน ฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ และตรวจสอบไม่พบซาโปนิน แอนทราควิโนน และคาเทชิน

Prajapati and Patel (2013) ได้ศึกษาพฤกษทางเคมีของส่วนสกัดหยาบเมทานอลจากรากของกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium macraei*) พบว่าส่วนสกัดหยาบชั้นเมทานอลของราก มีสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต คูมาริน แอลคาลอยด์ ไฟโทสเตอรอยด์ ฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก เป็นส่วนประกอบ และตรวจสอบไม่พบ โปรตีน กรดอะมิโน ไกลโคไซด์ แอนทราควิโนน ซาโปนิน และแทนนิน

Sandrasagaran et al. (2014) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์จากส่วนต่างๆ ของพืช *Dendrobium crumenatum* (หวายตะมอยหรือเอื้องมะลิ) ซึ่งเป็นพืชสกุลเดียวกับเอื้องคำและเอื้องสายล่องแล่ง ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 8 ชนิด โดยทดสอบด้วยวิธี Disk diffusion method การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum inhibition concentration (MIC) และค่าความเข้มข้นของยาที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimum bactericidal concentration (MBC) โดยสารสกัดจากลำต้น ราก และลำลูกกล้วยมีสารต้านเชื้อจุลินทรีย์เทียบเคียงได้กับยาปฏิชีวนะมาตรฐาน ซึ่งสารสกัดจากลำต้นของ *D. crumenatum* ที่สกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ที่สามารถต้านเชื้อจุลินทรีย์มากที่สุดต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae* และ *Enterobacter aerogenes* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.39, 0.195 และ 0.195 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารสกัดจากส่วนรากและลำต้นมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Streptococcus pneumoniae, Shigella dysentriae* และ *Saccharomyces cerevisiae* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.78 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเทียบกับ 0.00312, 0.025 และ 0.0125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของยาปฏิชีวนะ อะม็อกซิลลิน คลอแรมฟีนิคอล และกานามันซิน สารจากลำต้นและรากให้ค่า MBC ในช่วง 0.78 ถึง 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถต้านเชื้อ *Staphylococcus aureus, Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumoniae* และ *Saccharomyces cerevisiae* จากการศึกษาในปัจจุบันพบว่า *D. Crumenatum* มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ซึ่งอาจเป็นเพราะว่ามี

สารประกอบอัลคาลอยด์และฟลาโวนอยด์ และถือว่าเป็นรายงานวิจัยแรกที่ทำเกี่ยวกับกล้วยไม้ป่าในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

Ranjitha et al. (2016) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของพืชจำนวน 20 ชนิด (19 สกุล และ 9 วงศ์) ที่รวบรวมจากสถานที่ต่างๆ ของรัฐกรณาฏกะ ในประเทศอินเดีย หนึ่งในนั้นมีพืชชนิด *Dendrobium herbaceum* ซึ่งเป็นพืชสกุลเดียวกับเอื้องคำและเอื้องสายล่องแล่งโดยทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion method สกัดพืชโดยใช้วิธีการหมักโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่าพืชทุกชนิดสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในระดับที่แตกต่างกัน ในบรรดาพืชทั้งหมด พืชชนิด *Conyza stricta, Striga gesnerioides, Syzygium leatum* และ *Swertia lawii* สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับพืชชนิดอื่นๆ ในบรรดากล้วยไม้ กล้วยไม้ชนิด *Coelogyne nervosa* สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดี และพืชส่วนใหญ่สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่า ตามด้วยเชื้อ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* เช่นเดียวกับพืชชนิด *Dendrobium herbaceum* ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ดีกว่าเชื้อ *Escherichia coli*

Paudel et al. (2018) ศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของดอกกล้วยไม้สกุลหวาย 4 ชนิด ได้แก่ *Dendrobium amoenum, Dendrobium crepidatum, Dendrobium moniliforme* และ *Dendrobium longicornu* ซึ่งดอกกล้วยไม้ทั้ง 4 ชนิดนี้ อยู่ในสกุลเดียวกับดอกเอื้องคำและเอื้องสายล่องแล่ง นำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม อะซีโตน เอทานอล และ เมทานอล ด้วยวิธี Soxhlet และทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion method โดยทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย 6 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhi* และ *Acinetobacter baumannii* จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจาก *D. amoenum* สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus, P. aeruginosa* และ *A. baumannii* ได้ สารสกัดจาก *D. crepidatum* สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus, E. coli, P. Aeruginosa* และ *S. typhi* ได้ ส่วนสารสกัดจาก *D. moniliforme* สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus, K. pneumoniae, P. aeruginosa, S. typhi* และ *A. baumannii* ได้ และสารสกัดจาก *D. longicornu* สามารถยับยั้งเชื้อ *A. baumannii* ได้เพียงชนิดเดียว จะเห็นได้ว่าสารสกัดจากดอกกล้วยไม้ทั้ง 4 ชนิดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวกได้มากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ

เกษนันท์ (2538) การศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลต่อการงอกเมล็ดและการพัฒนาของโปรโตคอร์มของรองเท้านารีฝาหอย (*Paphiopedilum bellatulum* (Rchb.f.) Pfitz.) ในสภาพหลอดแก้วพบว่าอายุฝักที่เหมาะสมอยู่ระหว่างอายุ 18-28 สัปดาห์ โดยเมล็ดมีความสมบูรณ์มากกว่า 60% ความสมบูรณ์ของเมล็ดเพิ่มขึ้นตามอายุฝักที่มากขึ้น เมื่อเพาะในอาหารเหลวสูตร Vacin and

Went (1949) ดัดแปลง เมล็ดเริ่มงอกตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ขนาดของคัพภะเพิ่มขึ้นทุกสัปดาห์หลังจากเพาะ มีผลทำให้ความกว้างของเมล็ดเพิ่มขึ้น แต่ความยาวของเมล็ดลดลง โดยที่เมล็ดงอกมากกว่า 75% เมื่อเพาะนาน 5-7 สัปดาห์และการเพาะเมล็ดในอาหารเหลว มีเปอร์เซ็นต์ในการงอกไปเป็นโปรโตคอร์มมากกว่าการเพาะเมล็ดบนอาหารวุ้น ซึ่งงอกเร็วกว่าเมื่อเพาะบนอาหารเหลว 1 สัปดาห์ เมื่อเมล็ดงอกเป็นโปรโตคอร์ม และย้ายไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง เพื่อหาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการพัฒนาเป็นต้นกล้าพบว่า peptone จำเป็นต่อการพัฒนาของโปรโตคอร์มไปเป็นยอดและราก ปริมาณ peptone ที่เหมาะสมคือ 1-2 ก/ล ทำให้โปรโตคอร์ม มีชีวิตรอดมากที่สุด ความเป็นกรด-ด่างของอาหารที่เหมาะสมต่อการพัฒนาไปเป็นต้นกล้าที่มีราก มีค่าตั้งแต่ 6.5-7.5 แต่พบว่าการเติม glutamine มีแนวโน้มว่าจำเป็นต่อการพัฒนาของโปรโตคอร์มไปเป็นต้นกล้า และการเกิดราก โดยมีระดับที่เหมาะสมที่ 100 มก/ล ส่วนสูตรอาหารที่เติมถ่านหรือกล้วยร่วมกับถ่าน ทำให้โปรโตคอร์มมีชีวิตรอดสูงกว่าการเติมแต่กล้วยอย่างเดียว หรือการไม่เติมทั้งสองอย่าง การเติมทั้งกล้วยและถ่าน มีผลต่อการพัฒนา และการออกรากของต้นกล้ามากกว่าอาหารที่เติมกล้วยหรือถ่านเพียงอย่างเดียวและอาหารที่ไม่เติมทั้ง 2 อย่าง นอกจากนี้การเติมน้ำตาล และ/หรือน้ำมันมะพร้าวที่ระดับต่างๆ ลงในอาหารวุ้น พบว่าการเติมน้ำมะพร้าว 200 มล/ล อย่างเดียว ทำให้โปรโตคอร์มมีชีวิตรอดมากที่สุด แต่การพัฒนาของโปรโคอร์มไปเป็นต้นกล้าที่มีใบ 1-3 ใบ เกิดมากที่สุด เมื่อเติมน้ำตาลที่ระดับ 10 ก/ล ร่วมกับน้ำมะพร้าว 200 มล/ล

ทิวาและคณะ (2550) การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้พื้นเมืองรองเท้านารีคางกบใต้ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า การเพาะเลี้ยงเมล็ดบนอาหารสูตร VW เติมน้ำมะพร้าว 300 มิลลิลิตรต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การงอกร้อยละ 100 หลังเลี้ยงนาน 16 สัปดาห์ โปรโตคอร์มมีสีขาวแกมเขียว และอาหารสูตร VW เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การงอกร้อยละ 82.22 หลังเลี้ยงนาน 15.7 สัปดาห์ โปรโตคอร์มมีสีเหลืองแกมเขียว ซึ่งต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเหลืองซีดและเป็นสีน้ำตาลในที่สุด สำหรับอาหารสูตร MS มีเปอร์เซ็นต์การงอกร้อยละ 73.81 หลังเลี้ยงนาน 18 สัปดาห์ และอาหารสูตร MT เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การงอกน้อยที่สุดเพียงร้อยละ 50 เมล็ดเริ่มงอกหลังเพาะเลี้ยงนาน 20.33 สัปดาห์ส่วนอาหารสูตร MS เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับมะเขือเทศบด 100 กรัมต่อลิตร เห็ดหูหนูบด 25 กรัมต่อลิตรและผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร อาหารสูตร MT เติม BA 2.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตร VWเติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตรและผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร และอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตรกล้วยหอมบด 100 กรัมต่อลิตร และผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร ไม่พบการงอกของเมล็ด

ทิวา และคณะ (2551) การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้พื้นเมืองสิงโตอาจารย์เต็มในสภาพปลอดเชื้อ โดยทำการศึกษาสูตรอาหารทั้งหมด 8 สูตร เพาะเลี้ยง

เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า สูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตรร่วมกับ กล้วยหอมบด 100 กรัมต่อลิตร มันฝรั่งบด 50 กรัมต่อลิตร และผงถ่าน 2 กรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การงอกดีที่สุด 80 เปอร์เซ็นต์ หลังเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์ โปรโตคอร์มที่ได้มีสีเขียว และมีการพัฒนาเป็นต้น รองลงมา คือ สูตร MS มีเปอร์เซ็นต์การงอก 65 เปอร์เซ็นต์ หลังเพาะเลี้ยงนาน 5.5 สัปดาห์ โปรโตคอร์มมีลักษณะสีเขียวไม่เกิดการพัฒนา และค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองส่วนสูตรที่ให้เปอร์เซ็นต์การงอกน้อยสุด คือ สูตร MT ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การงอก 5 เปอร์เซ็นต์ใช้ระยะเวลาในการงอก นานที่สุด 8 สัปดาห์ ลักษณะโปรโตคอร์มมีสีเขียวแกมเหลือง และไม่เกิดการพัฒนา

บัวสอน และคณะ (2557) ศึกษาการงอกและการพัฒนาต้นอ่อนเอื้งเขาแกะในสภาพปลอดเชื้อด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยนำเมล็ดเอื้องเขาแกะจากฝักอายุ 6 เดือนมาเลี้ยงบนสูตรอาหาร Murashige and Skoog (1962) (MS) และ Vacin and Went (1949) (VW) ร่วมกับการผลิตสารควบคุมการเติบโต BA ที่ระดับความเข้มข้น 0 , 3 และ 5 มก./ล. พบว่าเมล็ดเอื้องเขาแกะงอกได้ดีบนอาหาร MS ทุกสูตรโดยใช้เวลางอก 25 วัน และเมื่อเลี้ยงโปรโตคอร์มที่เกิดขึ้นอีก 60 วัน พบว่าโปรโตคอร์ม สามารถเจริญบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มก./ล. ได้ดีที่สุด ขนาดโปรโตคอร์มเฉลี่ย 1.19 มม. จากนั้นนำโปรโตคอร์มมาชักนำให้เกิดยอดและรากบนอาหาร VW และ VW ดัดแปลงเป็นเวลา 90 วัน พบว่าอาหาร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 100 มล./ล. สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอด จำนวนใบ และจำนวนรากมากที่สุด เป็นจำนวนเฉลี่ย 4.4 ยอด 8.6 ใบ และ 3.5 ราก ตามลำดับ อาหาสูตร VW ที่เติมกล้วยหอมบด 100 ก./ล. สามารถชักนำให้เกิดรากยาวที่สุด เท่ากับ 3.5 ซม. และให้ความสูงต้นอ่อนสูงที่สุดเท่ากับ 1.63 ซม.

ฐกฤต และคณะ (2554) เพาะเมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีคางกบ (*Paphiopedilum callosum* (Rchb.f.) Stein) บนอาหารดัดแปลง 4 สูตร คือ VW (Vacin and Went, 1949) ที่เติมน้ำมะพร้าว 300 มล./ล., Thomale GD (Thomale, 1954), MS (Murashige and Skoog, 1962) และ ½ MS โดยเพาะในที่มืดเป็นเวลา 3 เดือนแล้วนำมาเลี้ยงต่อภายใต้สภาพที่มีแสงเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า เมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีคางกบสามารถพัฒนาจนงอกได้บนอาหารสูตร MS และ ½ MS แต่อาหารสูตร Thomale GD และ VW ไม่พบว่ามีการงอกของเมล็ด และเมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดบนอาหารสูตร MS และ ½ MS พบว่าอาหารสูตร ½ MS สามารถชักนำให้เมล็ดกล้วยไม้รองเท้านารีคางกบพัฒนาจนสามารถงอกและเริ่มพัฒนารากขน (ระยะที่ 2) และเจริญเป็นรูปทรงกลมปลายแหลมเรียกว่าโปรโตคอร์ม (ระยะที่ 3) ได้มากกว่าบนอาหารสูตร MS หลังจากนั้นทดลองเพาะเมล็ดบนอาหารสูตร ½ MS ที่ปรับ pH เป็น 5, 5.5, 6 และ 6.5 และปริมาณน้ำตาลเป็น 10, 20 และ 30 มก./ล. พบว่า pH ของอาหารสามารถชักนำให้เมล็ดมีการพัฒนาจนสามารถงอกและเริ่มพัฒนารากขน (ระยะที่ 2) ได้แตกต่างกัน โดย pH 6 และ 6.5 สามารถพัฒนาได้

มากที่สุด ขณะที่ปัจจัยจากน้ำตาล และปฏิสัมพันธ์ระหว่างน้ำตาลกับ pH สามารถชักนำให้เมล็ดมีการพัฒนาจนสามารถงอกและเริ่มพัฒนารากขน (ระยะที่ 2) ได้ไม่แตกต่างกัน

อนุพันธ์และคณะ(2550)ได้ทำการศึกษาผลของแสงต่อการงอกและพัฒนาการงอกของเมล็ดกล้วยไม้เอื้องคำผักปราบ โดยการนำเมล็ดจากฝักอายุ 8 เดือนมาเพาะบนอาหารแข็งดัดแปลง VW (1949) ที่เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิลิตรต่อลิตร มันฝรั่ง 150 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร โดยให้ระยะเวลาที่ได้รับแสงแตกต่างกันคือได้รับแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน 16 สัปดาห์ ได้รับแสง 24 ชั่วโมงต่อวัน 16 สัปดาห์ ได้รับความมืด 4 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน 12 สัปดาห์ ได้รับความมืด 8 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 8 ชั่วโมงต่อวันอีก 8 สัปดาห์ และได้รับความมืดตลอด 16 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดสามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่มีใบ 3-4 ใบ และรากอย่างน้อย 1 ราก ภายหลังการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 12 สัปดาห์ และเมล็ดที่ได้รับความมืด 4 สัปดาห์ แล้วตามด้วยแสง 12 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดเป็นต้นอ่อนสูงสุดถึง 92.64 เปอร์เซ็นต์

อัญชลี (2553) การทดลองขยายพันธุ์กล้วยไม้นางอั้วสาคริกโดยการเพาะฝักอ่อน และฟอกฆ่าเชื้อที่ติดมากับเมล็ด ด้วยสารละลายคลอรอกซ์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เมื่อเปรียบเทียบสารละลายทั้งสองชนิดที่ทำให้ได้เมล็ดกล้วยไม้ปราศจากการปนเปื้อน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมล็ดกล้วยไม้นางอั้วสาคริกมีอัตราการงอกใกล้เคียงกัน คือ 73.02 และ 72.76 เปอร์เซ็นต์ (ตามลำดับ) หลังบ่มเมล็ดกล้วยไม้นางอั้วสาคริกไว้ในที่มืดเป็นเวลานาน 4 เดือน ย้ายลงเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Vacin and Went (VW) ดัดแปลง โดยเติมน้ำมะพร้าวอ่อน หรือน้ำมะพร้าวอ่อน หรือน้ำสกัดมันฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆกัน (10% , 15% และ 20%) รวมทั้งเติมธาตุอาหารรองและไวตามินของอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS) นานอีก 4 เดือน ปรากฏว่าค่าเฉลี่ยของโปรโตคอร์มที่พัฒนาและเจริญมาจากเมล็ดกล้วยไม้นั้น มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ต้นอ่อนที่เกิดขึ้นบนอาหารสังเคราะห์สูตร VW ดัดแปลงที่เติมน้ำมะพร้าว 15% ให้ผลดีที่สุด

อัครสิทธิ์ และคณะ (2557) การศึกษาการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้า กล้วยไม้ฟ้ามุ่ย (*Vanda coerulea* Lindl.) ที่เป็นสายพันธุ์ป่า จากพื้นที่จังหวัดแม่ฮ่องสอน ทำการทดลองเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นมะพร้าวในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำเมล็ดกล้วยไม้ฟ้ามุ่ย มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) เปรียบเทียบกับสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จ มีการงอกของเมล็ดสูงกว่าอาหารสูตร Vacin and Went (1949) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 86.51 ± 9.94% และ 62.82±8.35% ตามลำดับ สำหรับการเจริญเติบโตของต้นกล้ากล้วยไม้ฟ้ามุ่ย พบว่า ต้นกล้ากล้วยไม้ฟ้ามุ่ยที่เลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin and Went ดัดแปลงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนวุ้นสำเร็จในช่วงระยะเวลา 60-240 วัน มีการเจริญเติบโตมากกว่าอาหารสูตร Vacin and Went (1949) โดยมีค่าเฉลี่ย 1.46 เซนติเมตร และ 1.20 เซนติเมตร

ตามลำดับ และเมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติระหว่างอาหารทั้ง 2 สูตร พบว่า การงอกของเมล็ดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการเจริญเติบโต เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติระหว่างอาหารทั้ง 2 สูตร พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่
CHIANG MAI RAJABHAT UNIVERSITY