

การตรวจสอบวิธีการสกัด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้าน  
แบคทีเรียของสารสกัดหยาบรากปลาไหลเผือกใหญ่  
Investigation of Extraction Methods, Antioxidant and  
Antibacterial Activities of Crude Extracts of  
*Eurycoma longifolia* (Pla Lai Phueak Yai) Root

สมคิด ชัยเพชร<sup>1\*</sup> อลงกลด แทนอมทอง<sup>1</sup> และเสาวณีย์ ชัยเพชร<sup>2</sup>

Somkid Chaiphech, Alongklod Tanomtong and Saovanee Chaiphech

บทคัดย่อ

รากปลาไหลเผือกใหญ่เป็นแหล่งของสารพฤกษเคมีที่มีคุณค่า มีสรรพคุณทางยารักษาโรค และใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพในประเทศไทยและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แบคทีเรีย และกระตุ้นทางเพศ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีการสกัดรากปลาไหลเผือกใหญ่ที่เหมาะสม โดยตรวจสอบจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียของสารสกัดหยาบ ซึ่งวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงในการใช้สกัด คือ (1) การใช้น้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60 °ซ นาน 6 ชั่วโมง และ (2) การใช้เอทานอล 30 % ที่อุณหภูมิ 30 °ซ นาน 4 ชั่วโมง พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งสารอนุมูลอิสระ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมด เฉลี่ยเท่ากับ 71.22%, 0.302±0.004 mg vitamin C/g DM, 353.07±20.53 mg Gallic acid/g DM และ 72.27%, 0.3063±0.003 mg vitamin C/g DM, 330.40±16.00 mg Gallic acid/g DM สารสกัดหยาบจากวิธีที่ (2) สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคพวก *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* และ *Samonella typhinurium* ได้ และสามารถฆ่าแบคทีเรียก่อโรค 3 ชนิด คือ *Bacillus cereus*,

<sup>1</sup>สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

Biology Program, Faculty of Science, Khon Kaen University, Muang, Khon Kaen

<sup>2</sup>คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.ทุ่งใหญ่ จ.นครศรีธรรมราช 80240

Faculty of Agro-Industry, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat

\*Corresponding author, E-mail: kid2517@hotmail.com

*Staphylococcus aureus* และ *Vibrio parahaemolyticus* พบว่าความเข้มข้นของเอธานอล อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ในการสกัดสมุนไพรเป็นปัจจัยที่มีผลโดยตรงและอิทธิพลร่วมต่อชนิดและปริมาณของสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบ มีผลต่อการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และแบคทีเรียได้แตกต่างกัน

**คำสำคัญ:** สมุนไพร ปลาไหลเผือกใหญ่ วิธีการสกัด ต้านอนุมูลอิสระ ต้านแบคทีเรีย

## Abstract

Pla Lai Phueak Yai (*Eurycoma longifolia*) root is a valuable source for phytochemicals, which is an important ingredient in drugs and dietary supplement products in Thailand and other countries in Southeast Asia. There are various biological properties, including antioxidant, antibacteria and sexual stimulation. The objectives of this study were to investigate the effective method, antioxidant and antimicrobial activity. The result showed that many factors, including ethanol concentrations, type of solvent, temperature and period of extraction affected on antioxidant activity. Extraction by using distill water at 60°C for 6 hours and 30% ethanol at 30°C for 4 hours were the most effective method. The antioxidant inhibition, amount of antioxidant and total phenolic compounds of these two methods were 71.22%, 0.302±0.004 mg vitamin C/g DM, 353.07±20.53 mg Gallic acid/g DM and 72.27%, 0.3063±0.003 mg vitamin C/g DM, 330.40±16.00 mg Gallic acid/g DM, respectively. In addition, the ethanol crude extract showed potential inhibitory effect on *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Samonella typhinurium* and showed bactericidal effect against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and *Vibrio parahaemolyticus*. While, water extract showed a little antibacterial activity and no potential against was observed. Therefore, the level of ethanol concentration, temperature and duration of the herbal extraction were direct and combined factors on type and amount of the phytochemicals in the crude extracts, resulting in the different antioxidant and antibacterial activity.

**Keyword:** Herbal, *Eurycoma longifolia*, extraction method, antioxidant, antimicrobial

## บทนำ

พืชและสมุนไพรมีคุณสมบัติทางชีวเคมี และถูกใช้เป็นส่วนประกอบของยาสมุนไพรมาเป็นเวลานาน เป็นทรัพยากรชีวภาพที่มีคุณค่าทางยาในระบบแพทย์แผนโบราณและแผนปัจจุบัน เป็นยาพื้นบ้าน ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เครื่องสำอาง สารตัวกลางและสารเคมีสำหรับทำยา (Ncube et al., 2008) ทั่วโลกมีพืชสมุนไพรจำนวนมากชนิด แต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกันไปตามความสามารถในการสังเคราะห์ชนิด และ ปริมาณ ของ สาร พฤษเคมี (phytochemicals) ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญและมีจำนวนมากหลายชนิด หลายกลุ่ม ที่มีความสำคัญและถูกนำมาใช้ประโยชน์ ได้แก่ กลุ่มอัลคาลอยด์ (alkaloids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แทนนิน (tannins) ไชยานโน-จีนิคไกลโคไซด์ (cyanogenic glycosides) และ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) แอน-ทราควิโนนไกลโคไซด์ (anthroquinone glycoside) เป็นต้น (Robbins, 2003) โดยเฉพาะสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ได้รับความสนใจเป็นพิเศษเพราะมีฤทธิ์หลากหลายโดยเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidation) เนื่องจากสารอนุมูลอิสระเป็นตัวการที่ทำให้เกิดโรคภัยเรื้อรัง นอกจากนั้นยังมีฤทธิ์ด้านการอักเสบ (anti-inflammation) กระตุ้นและปรับภูมิคุ้มกัน (immunomodulation) และป้องกันระบบทางเดินอาหาร (gut protection) จึงมีการ

นำมาใช้ประโยชน์ในการบำรุงสุขภาพให้แข็งแรง การป้องกันและรักษาโรค และเป็นอาหารป้องกันการเสื่อมของกลไกในร่างกาย เนื่องจากเกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูล (Kamboh et al., 2015) โดยพบสารนี้สะสมในส่วนต่าง ๆ ของพืชสมุนไพร ได้แก่ เปลือก ใบ ดอก ราก ผล และ เมล็ด เป็นต้น สารพฤษเคมีที่มีคุณสมบัติทางยาสามารถจำแนกได้เป็นสารเดี่ยว ๆ และพัฒนาต่อจนได้ยาแผนปัจจุบัน (Das et al., 2010)

สมุนไพรปลาไหลเผือกใหญ่หรือตุ้งกัทอาลี (*Eurycoma longifolia*) เป็นสมุนไพรอีกชนิดหนึ่งที่มีชื่อเสียงมากและมีการใช้กันมานานในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะในประเทศไทย มีสรรพคุณมากมายสามารถใช้ได้ทุกส่วนของต้น แต่นิยมใช้ส่วนของรากเนื่องจากรากมีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญปริมาณมากกว่าและหลายกลุ่มหลายชนิด จากการตรวจสอบคุณสมบัติและคุณค่าทางยาพบว่ามากกว่า 60 ชนิด ได้แก่ กลุ่ม quassinoids, alkaloids, triterpenes-type tirucallane, squalene derivatives, phenolic compound, tannin, biphenylneolignans และ bioactive steroids (polysaccharide และ glycoprotein eurypeptides) โดยสารพฤษเคมีต่าง ๆ มีสรรพคุณในการบำรุงสุขภาพ เพิ่มความแข็งแรง เพิ่มสมรรถภาพทางเพศ และบำบัดรักษาโรคต่าง ๆ (Rehman et al., 2016) นอกจากนั้นยังมีคุณสมบัติต้านสารอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีความเข้มข้นของ superoxide

dismutase (SOD) สูง (George et al., 2016a) สารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มฟีนอลิก และมีบทบาทในการลดความเสี่ยงจากการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคกระเพาะ และโรคหัวใจ (Chew et al., 2008) จึงนำมาใช้ในการต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) (Han et al., 2016) และมีคุณสมบัติในด้านการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยลดความเครียด (anti-stress) โดยการลดฮอร์โมนความเครียดหรือฮอร์โมน คอร์ติซอล (cortisol) และการกระตุ้นอวัยวะสร้างภูมิคุ้มกันด้วย (Talbot et al., 2013; George et al., 2016) นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติต้านแบคทีเรียด้วย (anti-microbial) (Khanam et al., 2015) (ภาพที่ 1)

ลักษณะทั่วไปของสมุนไพรปลาไหลเผือกใหญ่เป็นไม้พุ่มใบเขียวช่อตลอดปีมีความสูงสูงสุด 15 - 18 เมตร ที่อายุ 25 ปี เจริญได้ดีในดินทราย และพบได้ทั่วไปในป่าเขตร้อน มีใบประกอบรูปรางแหลมขอบเรียบ และก้านยาว 20 ถึง 40 ซม. เริ่มให้ดอกเป็นช่อชมพูแดงที่อายุ 2 - 3 ปี ลักษณะผลเป็นรูปวงรีมีความยาวสูงสุด 3 ซม. และกว้าง 0.5 - 1.2 ซม. เริ่มจากผลอ่อนมีสีเขียวแล้วเปลี่ยนเป็นสีแดงและสีน้ำตาลแดงในขณะที่สุด สำหรับลำต้นมีสีน้ำตาล ส่วนของรากยาวและตรงมีขนาดแตกต่างกันตามอายุ รากสดมีสีขาวลักษณะคล้ายปลาไหลเผือก และรากจะถูกเก็บเกี่ยวไปใช้ประโยชน์หลังจากมีอายุปลูกมากกว่า 4 ปี (Li et al., 2013; Mohamed et al., 2015; Rehman et al., 2016)



ภาพที่ 1 ลักษณะส่วนต่าง ๆ ของปลาไหลเผือกใหญ่

ปัจจัยเบื้องต้นที่ผลต่อคุณสมบัติและปริมาณสารพฤกษเคมีในสมุนไพร ได้แก่ ชนิดพันธุ์กรรม (สายพันธุ์) แหล่งที่ปลูกหรือปัจจัยทางภูมิศาสตร์ และอายุที่เก็บเกี่ยว รวมถึงการเตรียมตัวอย่างและขั้นตอนวิธีการสกัดสารก็มีความสำคัญต่อการนำสมุนไพรไปใช้ประโยชน์ เพราะเป็นกระบวนการที่มีผลต่อการคัดแยกเอาส่วนประกอบหรือสารพฤกษเคมีที่มีในสมุนไพร นั้น ๆ ออกมา ทุกขั้นตอนมีความสำคัญต่อคุณภาพและปริมาณสารที่ได้ทั้งหมด ตั้งแต่การเก็บเกี่ยว การเก็บรักษา การเตรียมตัวอย่างก่อนการสกัด เทคนิคการสกัดและการคัดแยกสารออกฤทธิ์ ดังนั้นการเลือกใช้วิธีที่เหมาะสมจะช่วย

รักษาสภาพโมเลกุลของสารพฤกษเคมีที่อยู่ในสมุนไพรให้มีการสูญเสียน้อยที่สุด ในการสกัดสมุนไพรส่วนของใบ เปลือก ราก ผล และ เมล็ดสามารถใช้ได้ทั้งแบบสดและแห้ง ไม่มีผลต่อปริมาณ สารประกอบฟีนอลิก แต่การใช้แบบแห้งมีผลให้เหลือปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากกว่า (Vongsak et al., 2013) นอกจากนั้นการทำให้แห้งและการบดให้ละเอียดก่อนนำไปสกัดก็มีผลเช่นเดียวกัน การทำให้แห้งโดยวิธี air drying ใช้เวลานาน 3-7 วัน หรือเป็นปี และมีโอกาสปนเปื้อนสูง แต่เป็นวิธีที่ราคาถูก และมีผลต่อการสูญเสียสารพฤกษเคมีน้อยที่สุด ส่วนการใช้วิธี microwave drying รังสีสนามแม่เหล็กไฟฟ้าอาจจะทำให้โมเลกุลสารมีการเคลื่อนที่และเกิดความร้อน แม้ใช้เวลาสั้นกว่าแต่ทำให้เกิดความเสียหายต่อสารที่อยู่ภายในสมุนไพร ต่างจากการใช้ freeze drying ที่อุณหภูมิต่ำ (-80 ถึง -20 องศาเซลเซียส) เป็นวิธีที่ดีให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า air drying และให้สารพฤกษเคมีสูงสุด แต่ต้นทุนสูงสุด สำหรับวิธีที่นิยมใช้กันคือ oven drying ที่อุณหภูมิ 44.5 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง (Azwanida, 2015 )

การบดหรือการทำให้ละเอียด ก็มีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดสารออกฤทธิ์เช่นเดียวกัน เนื่องจากชิ้นส่วนสมุนไพรขนาดเล็กเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสกับตัวทำละลาย ขนาดของสมุนไพรที่สามารถสกัดสารได้ดีควรมีขนาดเล็กกว่า 0.5 มิลลิเมตร ขนาดชิ้นส่วนของสมุนไพรที่นำมาใช้สกัดมีความสำคัญมากโดยจะช่วยเพิ่ม

ประสิทธิภาพการสกัด โดยเฉพาะกรณีการใช้เอ็นไซม์ในกระบวนการสกัด ดังเช่น การใช้เอ็นไซม์ช่วยย่อย polysaccharide ในผนังเซลล์พืช (Azwanida, 2015 )

วิธีการสกัดมีหลายวิธีตั้งแต่แบบดั้งเดิมที่ใช้ตามพื้นบ้าน ระดับงานวิจัย หรือโรงงานขนาดเล็ก และ มีการพัฒนาวิธีการที่ทันสมัยโดยใช้เทคโนโลยีและนวัตกรรมเพื่อเพิ่มกำลังการผลิต ราคาถูก และนำมาใช้ในเชิงอุตสาหกรรม สำหรับเทคนิคหรือวิธีการสกัดพืชสมุนไพรมีหลายวิธี ได้แก่ maceration, infusion, percolation, digestion, decoction, soxhlet (การใช้ความร้อนต่อเนื่อง), fermentation (การหมักด้วยน้ำและแอลกอฮอล์), microwave-assisted extraction, ultrasound-assisted extraction หรือ sonication), supercritical fluid extraction และ phytogetic extraction (ใช้ตัวทำละลายไฮโดรฟลูออโรคาร์บอน) ในพืชที่มีกลิ่นหอมใช้เทคนิคการไฮโดรดิสทิลเลชันการย่อยด้วยไฮโดรไลติก ร่วมกับ การสกัดไขมันเย็น และวิธีการล่าสุดสำหรับพืชที่มีกลิ่นหอม ได้แก่ การดักจับช่องว่าง, การสกัดด้วยไมโครเฟสของแข็ง, การสกัดโปรโตพลาสต์, microdistillation, thermomicrodistillation, การสกัดด้วยความร้อนและการกลั่นโมเลกุล (Handa et al., 2008) โดยสรุปปัจจัยพื้นฐานที่มีผลต่อคุณภาพของสารสกัด คือ ส่วนของพืชที่ใช้เป็นวัสดุเริ่มต้นตัวทำละลายและเทคนิคขั้นตอนที่นำมาใช้ในการสกัด วิธีการสกัดที่แตกต่างกันจะมีผลต่อปริมาณและองค์ประกอบสารพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบ

นั้น โดยขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายและสัดส่วนต่อสมุนไพร ระยะเวลา อุณหภูมิ ความเข้มข้นและธรรมชาติของตัวทำละลาย และการมีขั้วของสาร (polarity) (Ncube et al., 2008) ในการการพัฒนาเทคนิควิธีการสกัดก็เพื่อเพิ่มคุณภาพและปริมาณสารสกัด ลดการสูญเสียในขั้นตอนกระบวนการสกัด และลดต้นทุนการสกัดด้วย

## วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อวิธีการสกัดรากปลาไหลเผือกใหญ่ และหาวิธีที่เหมาะสมโดยตรวจสอบจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียของสารสกัดหยาบรากปลาไหลเผือกใหญ่

## อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

### 1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

- 1) สารละลายเอทานอล 99.9% และ 30 %
- 2) L-Ascorbic acid
- 3) สารสกัดรากของสมุนไพร
- ปลาไหลเผือกใหญ่
- 4) เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Libra S12)
- 5) DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)
- 0.1 mM

### 6) เครื่องแก้ว

## 2. การเก็บตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

ชุดเก็บรากของสมุนไพรปลาไหลเผือกใหญ่ในช่วงเดือนมีนาคม - เมษายน 2561 จากจังหวัดมหาสารคาม หลังจากล้างทำความสะอาด หั่นแบบบางๆแล้วนำไปผึ่งแดดและลมในโรงตากนาน 3 วัน และอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง แล้วนำไปบดให้ละเอียดและกรองผ่านกรองเบอร์ 60 เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อรอนำไปใช้ทดสอบสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ

## 3. การสกัดหยาบรากปลาไหลเผือกใหญ่

ตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีการสกัดสารจากรากปลาไหลเผือกใหญ่ 24 วิธี ใช้แผนการทดลองแบบ 2x3x4 Factorial in CRD มี 3 ปัจจัยหลัก 1) ระดับอุณหภูมิ 2 ระดับ คือ 30 และ 60 องศาเซลเซียส 2) ระยะเวลาในการหมัก 3 ระดับ คือ 2, 4 และ 6 ชม. 3) ความเข้มข้นของเอทานอล 4 ระดับ คือ 0, 30, 50 และ 95 % มี 24 ทริทเมนต์ ๆ ละ 3 ซ้ำ ทุกทริทเมนต์ใช้ผงรากปลาไหลเผือกต่อเอทานอลในสัดส่วน 1: 11 (5 กรัม ต่อ 50 มิลลิลิตร) และควบคุมอุณหภูมิโดยอ่างควบคุมอุณหภูมิ เมื่อสกัดแล้วเสิร์ฟนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42 เพื่อนำสารสกัดหยาบไปทดสอบต่อไป

#### 4. ตรวจสอบฤทธิ์สารสกัดหยาบในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH

การตรวจสอบความสามารถในการจับสารอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ของสารสกัดหยาบตามวิธีของ Sompong *et al.*, (2003) โดยนำสารสกัดหยาบ 0.3 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองแล้วเติมสารละลาย DPPH ในเอทานอล (0.1 mM) 1.5 มิลลิลิตร ลงไปผสมให้เข้ากัน เปรียบเทียบกับ positive control (เอทานอล 0.3 มล.+ DPPH 1.5 มล.) ส่วน negative control (สารสกัดหยาบ 0.3 มล.+ เอทานอล 1.5 มล.) ผสมเข้าด้วยกันและตั้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 40 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เอทานอลเป็น blank นำค่าที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสารอนุมูล DPPH (% inhibition) โดยใช้สูตร

$$\% \text{ inhibition} = \left[ \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \right] \times 100$$

$A_0$  = ค่าการดูดกลืนแสงของเอทานอลและ DPPH

$A_1$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดและ DPPH

$A_2$  = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดและเอทานอล

การคำนวณ mg Ascorbic/g Sample

1) สารสกัดด้วยน้ำ

$$X = \frac{(\% \text{Inhibition} - 0.4156)}{2.4943 \times \text{Dilution} \times}$$

ปริมาตรสารสกัด

1000 x น้ำหนักตัวอย่าง

(กรัม)

2) สารสกัดด้วยเอทานอล

$$X = \frac{(\% \text{Inhibition} - 1.7794)}{2.6554 \times \text{Dilution} \times}$$

ปริมาตรสารสกัด

1000 x น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

#### 5. การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

นำสารสกัดหยาบ 0.2 มล. ใส่หลอดทดลองเติมสารละลาย folin-ciocalteu's reagent 10% 0.2 มล. และเติมโซเดียมคาร์บอเนต 7.5% 2 มล. ผสมเข้าด้วยกัน และตั้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 90 นาที แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร หาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในรูปของกรดแกลลิก โดยเปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก โดยใช้เอทานอลเป็น blank (Sompong *et al.*, 2003) (ภาพที่ 2-5)

การคำนวณ mgGAE/g sample

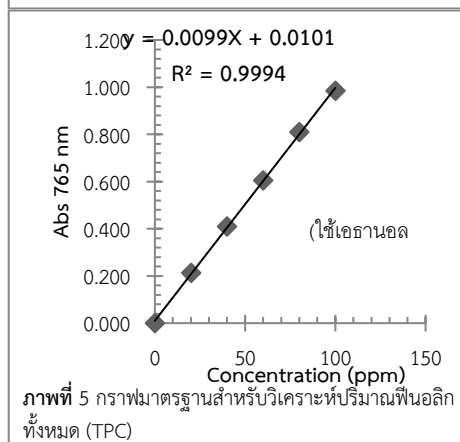
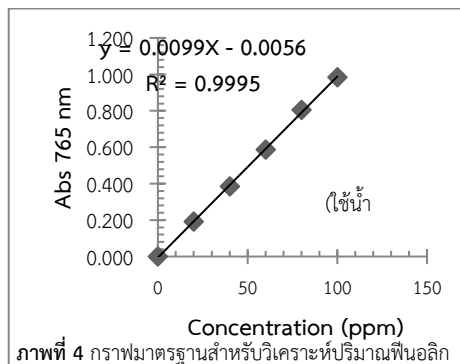
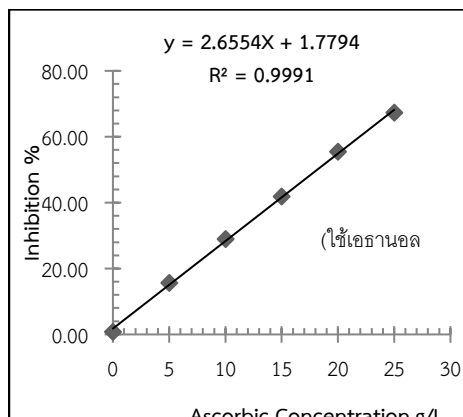
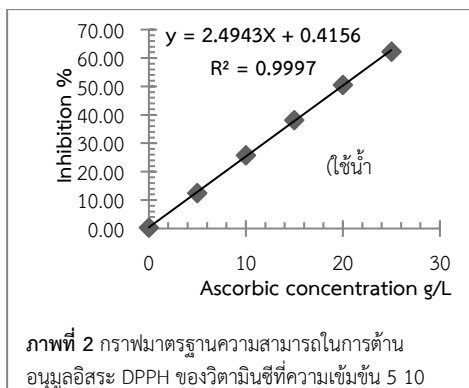
1) สารสกัดด้วยน้ำ

$$= \frac{\text{OD}_{765} + 0.0056 \times \text{Dilution} \times \text{ปริมาตรสารสกัด}}{0.0099 \times 1000 \times \text{น้ำหนัตัวอย่าง}}$$

(กรัม)

## 2) สารสกัดด้วยเอธานอล

$$\text{สารสกัด} = \frac{(\text{OD}_{765} - 0.0101) \times \text{Dilution} \times \text{ปริมาตร}}{0.0099 \times 1000 \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$



## 6. การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Agar well diffusion

ใช้สารสกัดรากปลาไหลเผือกใหญ่จากวิธีใช้น้ำ และเอธานอลเป็นตัวทำละลาย และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่สุด ในครั้งนี้ได้ทดสอบกับแบคทีเรียก่อโรค 6 สายพันธุ์ คือ *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Samonella typhinurium*, *Staphylococcus aureus* และ *Vibrio parahaemolyticus* โดยนำมาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Luria Bertani Broth (LB) บ่มที่

อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 18 - 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 4 ชั่วโมง และนำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ทดสอบมาปรับความเข้มข้นให้เท่ากับ  $0.5 \times 10^8$  CFU/ml ด้วย โซเดียมคลอไรด์ 0.85 % แล้วตรวจสอบฤทธิ์ของสารสกัดรากปลาไหลเผือกด้วยวิธี Agar well diffusion (ภาพที่ 6) โดยนำเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ทดสอบมาทำการเกลี่ยให้ทั่วบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง LB ด้วยไม้พันสำลีที่ปราศจากเชื้อ (cotton swab) จากนั้นเจาะหลุมด้วยชุดทึบปราศจากเชื้อ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เติมสารสกัดที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตรหลุมละ 100 ไมโครลิตร ทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลการทดสอบโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (inhibition zone) ด้วยเวอร์เนียคาร์ลิเปอร์ในหน่วยมิลลิเมตร ทำซ้ำ 3 ครั้ง โดยใช้ น้ำ และ DMSO เป็นชุดควบคุมที่ให้ผลลบ

## ผลการวิจัย

### ผลการตรวจสอบฤทธิ์และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

จากการตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีการสกัดผงรากปลาไหลเผือกทั้งหมด 24 วิธี พบว่าให้คุณภาพของสารสกัดหยาบจะวิธีต่างๆมีความ

แตกต่างกัน โดยระดับความเข้มข้นของเอธานอลอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดมีอิทธิพลร่วมกัน เพราะจากการนำสารสกัดหยาบมาทดสอบการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระให้ผลแตกต่างกัน และมีหลายวิธีมีประสิทธิภาพสูงในการใช้สกัดรากปลาไหลเผือกใหญ่มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ในการการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% inhibition) มากกว่า 70% มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (เทียบเท่ากับวิตามินซี) มากกว่า 0.30 mg vitamin C/g DM และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเฉลี่ยมากกว่า 300 mg Gallic acid/g DM ดังแสดงในตารางที่ 1

ในครั้งนี้เลือกจากตัวทำลายเอธานอลและน้ำกลั่นมา 2 วิธี เพื่อนำไปใช้ในการสกัดวิธีแรกคือ การใช้น้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ต้มนาน 6 ชั่วโมง และอีกวิธีคือ การใช้เอธานอลเข้มข้น 30 % ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง ทั้งนี้วิธีที่ 1 และ 2 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เฉลี่ยเท่ากับ 71.22 และ 72.27%,  $0.302 \pm 0.004$  mg vitamin C/g DM และ  $353.07 \pm 20.526$  mg Gallic acid/g DM, และ  $0.3063 \pm 0.003$  mg vitamin C/g DM และ  $330.40 \pm 16.00$  mg Gallic acid/g DM ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2

สำหรับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบในระดับสูงคงเป็นผลมาจากสารในกลุ่ม flavonoid และ phenolic ที่สามารถสกัดได้ด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ สอดคล้องกับผล

การศึกษาที่ผ่านมา โดยเฉพาะแอลกอฮอล์ที่มีความสามารถในการเป็นตัวทำละลายได้ดีกว่า จึงเป็นตัวทำละลายที่น่าสนใจในการใช้สกัดสารสมุนไพรที่มีสารชนิดแบบมีขี้้ว และควรใช้แอลกอฮอล์ 70 % เนื่องจากเป็นสารละลายที่มีขี้้วมากกว่า ความมีขี้้วของสารละลายจะซึมผ่านเซลล์ได้ง่าย และนำสารเคมีที่สำคัญออกมา โดยเฉพาะจะช่วยเพิ่มปริมาณ flavonoid ได้มากกว่า (Bimark, 2010) นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มความสามารถในการสกัดสารกลุ่มฟีนอลจากผนังเซลล์พืชหรือเมล็ดได้มากขึ้น เพราะทั้งเอธานอลและเมธานอลไม่ทำให้เอนไซม์ polyphenol oxidase ไปรบกวนให้สารโพลีฟีนอลเสื่อมสลายลดลง แต่การใช้น้ำเพียงอย่างเดียวจะมีผลไปมีผลรบกวนให้สารดังกล่าวลดลง (Lipomik et al., 2005) สกัดด้วย เอธานอล 80 % สารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (Azwanida, 2015 ) นอกจากนั้นการสกัดรากปลาไหลเผือกใหญ่ด้วยน้ำจะได้ superoxide dismutase (SOD) ในระดับความเข้มข้นที่สูง ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และยังได้สารประกอบยูรีโคมาโนนโปรตีน โพลีแซคคาไรด์ และไกลโคโปรตีน ในปริมาณ 3.3-3.5 >10, >20, และ 30% อีกด้วย (George et al., 2016) อย่างไรก็ตามปริมาณและชนิดสารขึ้นอยู่กับ การใช้ส่วนต่าง ๆ ของพืช (ราก ลำต้น ใบ) วิธีการสกัด และตัวทำละลายที่ต่างกัน ได้แก่ น้ำ หรือแอลกอฮอล์ ทั้งเมธานอลและเอธานอล โดยจะให้ปริมาณสารสกัด และสารพฤกษเคมีที่ต่างกัน (Elhag et al., 2016)

จากการศึกษาวิธีการสกัดรากปลาไหลเผือกใหญ่ที่ต่างกันของชนิดตัวทำละลาย อุณหภูมิและเวลาที่ใช้สกัดมีผลต่อปริมาณและคุณภาพของสารสกัดหยาบต่อการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทั้ง 3 ปัจจัยมีผลโดยตรงและมีอิทธิพลร่วมกันดังนั้นจึงต้องเลือกนำมาใช้ให้เหมาะสม เริ่มจากการใช้สัดส่วนสมุนไพรต่อตัวทำละลายในระดับที่เหมาะสม 1:11 หรือการใช้แอลกอฮอล์เป็นสารสกัดนาน 4 - 6 ชั่วโมง หรือการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายแต่ยืดเวลาสกัดออกไปหรือควรเพิ่มปัจจัยพื้นฐานโดยการต้มเพื่อเพิ่มอุณหภูมิขณะสกัดทำให้เพิ่มปริมาณสารสกัดให้ออกมามากขึ้น และมีผลต่อสารออกฤทธิ์ และการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกัน สอดคล้องกับการรายงานของ (Azwanida, 2015 ) ความแปรปรวนของสารสกัดเป็นไปตามช่วงเวลาที่ใช้ ชนิดตัวทำละลาย pH อุณหภูมิ ขนาดของชิ้นส่วนพืช และสัดส่วนของสมุนไพรต่อสารละลายซึ่งปกติใช้ 1 : 10 สิ่งเหล่านี้ทั้งหมดเป็นปัจจัยพื้นฐานที่มีต่อคุณภาพสารสกัด และรวมถึงเทคนิคขั้นตอนรายละเอียดปลีกย่อย และเทคโนโลยีทางวิศวกรรมที่ใช้ในกระบวนการหมักก็มีผลต่อปริมาณและส่วนประกอบของสารพฤกษเคมี ดังนั้นเทคนิควิธีการสกัดพืชสมุนไพรในอุตสาหกรรมการผลิตยาจึงต้องมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพราะมีผลต่อสารพฤกษเคมีโดยตรง

อย่างไรก็ตามการสกัดรากปลาไหลเผือกโดยวิธีการใช้น้ำด้วยวิธีการต้มหรือแช่ในน้ำร้อนหรือน้ำอุ่นในลักษณะของการต้มเป็นน้ำชา

สมุนไพร รวมถึงวิธีการดองเหล้าในระดับความเข้มข้นและช่วงเวลาพอเหมาะตามวิธีภูมิปัญญาชาวบ้านก็ยังสามารถใช้ได้เช่นกัน เพราะเป็นวิธีที่ให้สารต้านอนุมูลอิสระในระดับสูงเช่นเดียวกัน แต่อาจจะมีผลต่อปริมาณและสารชนิดอื่น ๆ ที่มีในเนื้อเยื่อรากปลาไหลเผือกใหญ่

### ผลการตรวจสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียพบว่า สารสกัดหยาบรากปลาไหลเผือกใหญ่ด้วยเอธานอลยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค 3 ชนิด คือ *E. coli*, *L. monocytogenes* และ *S. typhimurium* และฆ่าแบคทีเรียก่อโรค 3 ชนิด คือ *B. cereus*, *S. aureus* และ *V. parahaemolyticus* แต่สารสกัดหยาบรากปลาไหลเผือกใหญ่ด้วยน้ำไม่สามารถฆ่าแบคทีเรียได้ และยับยั้งเชื้อได้เพียงช่วงเวลาหนึ่ง ดังแสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 6

จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบที่ได้มาจากวิธีสกัดที่แตกต่างกัน การใช้แอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลายสามารถสกัดสารพฤษเคมีออกมาได้ดีกว่าทำให้มีผลในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียในการก่อโรคได้แตกต่างจากการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายที่ออกฤทธิ์ได้เพียงยับยั้งเพียงช่วงเวลาหนึ่งเท่านั้น น้ำอาจจะเป็นตัวทำละลายดั้งเดิมที่ถูกใช้อย่างกว้างขวาง สารสกัดสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียได้ปานกลางเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ เนื่องจากน้ำสามารถช่วยละลายสารฟลาโวนอยด์ได้มากแต่ไม่สามารถทำลาย

แบคทีเรียได้ ส่วนสารประกอบ ฟีนอลิกก็มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Das et al., 2010) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรียเป็นผลมาจากสารหลายกลุ่มที่มีและถูกสกัดออกมาจากรากปลาไหลเผือก ได้แก่ quassinoids, triterapenes-type tirucallane,  $\beta$ -carboline alkaloids, cathin-6-one alkaloids, squalene derivatives, biphenyl neolignan, proteins, terpenoids, cardiac glycoside, สารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ (Rehman et al., 2016)

จากการศึกษาตัวทำละลายต่างกันให้ปริมาณสารสกัดที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะการใช้เมธานอล เอธานอล และน้ำ จะให้ปริมาณสารสกัดช่วง 1.2-15, 1.8-5.3 และ 2.4-4 % แต่การใช้น้ำมีโอกาสทำให้สูญเสียในเชิงคุณภาพและปริมาณสูงถึง 35% (Elhag et al., 2016) แสดงให้เห็นว่ามีผลต่อปริมาณและชนิดสารพฤษเคมีของรากปลาไหลเผือกใหญ่ ซึ่งมีรายงานว่า แอลกอฮอล์สามารถสกัดแยกสารบางตัวที่ออกฤทธิ์ได้ดีในการต้านเซลล์มะเร็งหรือยับยั้งการแบ่งเซลล์ (anti-proliferative) แสดงให้เห็นถึงความเป็นพิษระดับเซลล์ (Cytotoxic) รวมทั้งสามารถฆ่าเชื้อมาลาเรีย และแบคทีเรียเช่น สารกลุ่มอัลคาลอยด์ และกลุ่มยอยพวก Eurycomanone และ Eurycomalactone และสารอื่น ๆ เป็นต้น (Rheman et al., 2016) ซึ่งสอดคล้องกับการใช้สารสกัดหยาบจากวิธีที่ใช้เอธานอลเป็นตัวทำละลายในครั้งนี้ที่สามารถฆ่าและยับยั้งการเจริญแบคทีเรียก่อโรคได้ สำหรับ

ที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำมีผลในการสกัดสารได้น้อยกว่าทั้งปริมาณและชนิดจึงมีผลแคบยิ่งขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากสารพวกฟลาโวนอยด์จึงมีฤทธิ์เพียงยับยั้งได้ชั่วคราวเนื่องจากมีความรุนแรงน้อยกว่า ส่วนใหญ่มีฤทธิ์ทางส่งเสริมสุขภาพมากกว่าดังที่ได้กล่าวไปแล้วตอนต้น

ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยการใช้ประโยชน์จากสารพฤกษเคมีจากสมุนไพรหลังจากสกัดจำเป็นต้องนำไปแยกเป็นสารเดี่ยว เช่นในอุตสาหกรรมผลิตยาแผนปัจจุบัน เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างแม่นยำในการรักษาโรคหรือเพื่อบำรุงสุขภาพ เพราะไม่เช่นนั้นจะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคได้ในกรณีที่ร่างกายได้รับสารในปริมาณมากเกินไป จากการศึกษาความเป็นพิษระดับเซลล์โดยทดสอบความเป็นพิษที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenicity effect) แบคทีเรียพบว่าสารสกัดที่ระดับ 877 และ 1,750 ไมโครกรัม/จาน ทำให้เชื้อ *S. typhimurium* และ *E. coli* มีโคโลนีที่ผิดปกติ (revertants colonies)  $17.68 \pm 0.4$  และ  $17.55 \pm 0.27$  มากกว่ากลุ่มควบคุม ( $6.66 \pm 0.57$  โคโลนี) (Aida et al., 2016) ซึ่งน่าเป็นผลมาจากสารกลุ่มอัลคาลอยด์พวก  $\beta$ -carboline เนื่องจากมีฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์หรือพันธุกรรม (genotoxic) และก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (Razak and Aidoo, 2011) จากการศึกษาความเป็นพิษระดับเซลล์ทั้งในเซลล์สัตว์ เซลล์มะเร็ง และแบคทีเรีย ความเป็นพิษจากสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยแอลกอฮอล์จะมากกว่าน้ำ มีการแนะนำให้ใช้สารสกัดรากปลาไหลเผือกที่สกัด

ด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ที่ระดับ 300 และ 200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน โดยไม่แสดงความเป็นพิษ (Shuid et al., 2011) การใช้ในระดับสูงถึง 1,200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน ในหนูทำให้เป็นพิษอย่างฉับพลันในหนู น่าจะเป็นพิษมาจากสาร eurycomanone (Chan et al., 2010) ดังนั้นจึงไม่แนะนำให้นำรากสมุนไพรมาใช้ในการดองเหล้าเพื่อรับประทานเพราะอาจจะเป็นพิษต่อร่างกายหรือในระดับเซลล์ แต่ควรรับประทานในรูปแบบของผงรากปลาไหลเผือก ทั้งแบบแคปซูล ลูกกลอน กาแฟและชา (การสกัดด้วยน้ำ) และควรใช้ในระดับที่เหมาะสม เพื่อให้ร่างกายได้ขบสารออกและไม่ให้มีการสะสมในร่างกายสูงมากเกินไป

## สรุป

จากการศึกษาปัจจัยที่มีต่อประสิทธิภาพการสกัดสารพฤกษเคมีจากรากปลาไหลเผือกใหญ่ การสกัดโดยใช้น้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง และการใช้เอธานอล 30 % ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เฉลี่ยเท่ากับ 0.302 mg Vitamin C/g DM และ 353.07 mg Gallic acid/g DM, และ 0.3063 mg Vitamin C/g DM และ 330.40 mg Gallic acid/g DM ตามลำดับ นอกจากนั้นสารสกัดหยาบที่ใช้เอธานอลสกัดสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *L. monocytogenes* และ *S. typhimurium* และสามารถฆ่าแบคทีเรีย

ได้ 3 ชนิด คือ *V. parahaemolyticus*, *B. cereus* และ *S. aureus* ดังนั้นระดับความเข้มข้นเอทานอล อุณหภูมิ และระยะเวลาการสกัดเป็นปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูล

อิสระ และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด หรือมีผลต่อชนิดของสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบ และส่งผลต่อการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและแบคทีเรีย

### ตารางที่ 1

ผลของระดับปัจจัยในวิธีการสกัดต่างๆ ต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบรากปลาไหลเผือกใหญ่ด้วยวิธีต่าง ๆ

| ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสกัด | % การยับยั้ง        | สารต้านอนุมูลอิสระ  | สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด |
|------------------------------|---------------------|---------------------|-------------------------|
|                              |                     | (mg vitamin C/g DM) | (mg Gallic acid/g DM)   |
| ชนิดตัวทำละลาย               |                     |                     |                         |
| น้ำกลั่นหรือเอทานอล 0%       | 67.05 <sup>กข</sup> | 0.29 <sup>ก</sup>   | 292.85 <sup>กข</sup>    |
| เอทานอล 30%                  | 66.05 <sup>กข</sup> | 0.28 <sup>ก</sup>   | 282.40 <sup>ข</sup>     |
| เอทานอล 50%                  | 63.98 <sup>ข</sup>  | 0.27 <sup>ก</sup>   | 288.62 <sup>กข</sup>    |
| เอทานอล95%                   | 69.25 <sup>ก</sup>  | 0.28 <sup>ก</sup>   | 300.07 <sup>ก</sup>     |
| ระยะเวลาในการสกัด            |                     |                     |                         |
| 2 ชั่วโมง                    | 69.05 <sup>ก</sup>  | 0.29 <sup>ก</sup>   | 294.82 <sup>ก</sup>     |
| 4 ชั่วโมง                    | 64.35 <sup>ข</sup>  | 0.28 <sup>ข</sup>   | 281.07 <sup>ข</sup>     |
| 6 ชั่วโมง                    | 66.35 <sup>ข</sup>  | 0.27 <sup>ข</sup>   | 297.07 <sup>ก</sup>     |
| อุณหภูมิในการสกัด            |                     |                     |                         |
| 30 องศาเซลเซียส              | 70.89 <sup>ก</sup>  | 0.30 <sup>ก</sup>   | 279.23 <sup>ข</sup>     |
| 60 องศาเซลเซียส              | 62.27 <sup>ข</sup>  | 0.26 <sup>ข</sup>   | 302.73 <sup>ก</sup>     |

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่อักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ )

## ตารางที่ 2

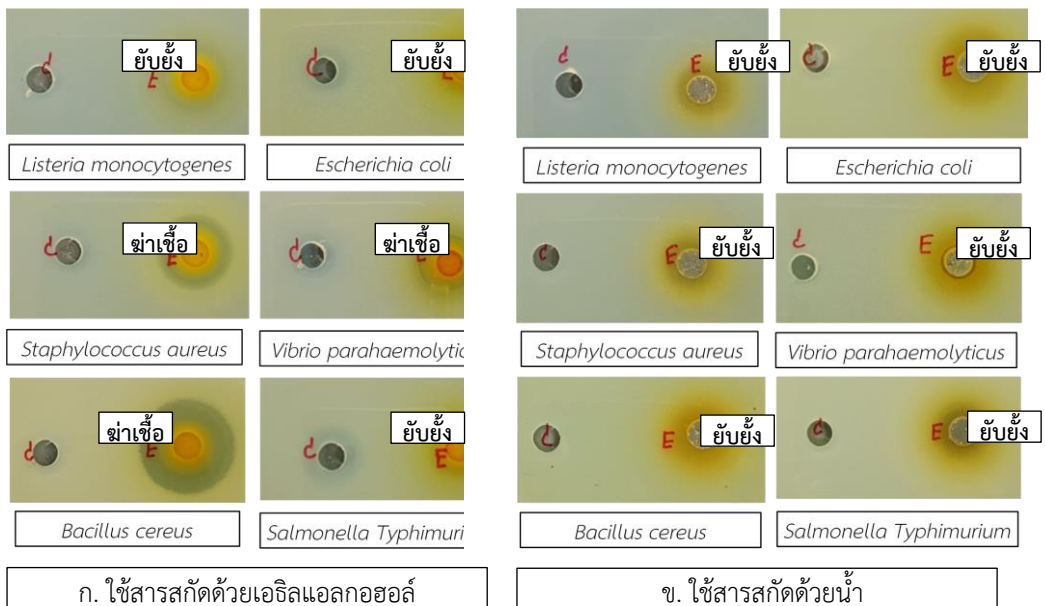
ผลการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบรากปลาไหลเผือกใหญ่ด้วยวิธีต่าง ๆ โดยใช้ น้ำและเอทานอลเป็นตัวทำละลายด้วยวิธีต่าง ๆ

| ทรีตเมนต์ | เอทานอล (%) | เวลา (ชม.) | อุณหภูมิ (เซลเซียส) | % ** การยับยั้ง      | สารต้านอนุมูลอิสระ* (mg vitamin C/g DM) | สารฟีนอลิกทั้งหมด ** (mg Gallic acid/g DM) |
|-----------|-------------|------------|---------------------|----------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------|
| 1         | 0 (น้ำ)     | 2          | 30                  | 67.72 <sup>ขค</sup>  | 0.2877 <sup>ขค</sup>                    | 275.73 <sup>จคขญ</sup>                     |
| 2         | 0 (น้ำ)     | 2          | 60                  | 64.01 <sup>ขคจ</sup> | 0.2723 <sup>ขคจ</sup>                   | 294.40 <sup>คจจคข</sup>                    |
| 3         | 0 (น้ำ)     | 4          | 30                  | 67.82 <sup>ขค</sup>  | 0.2880 <sup>ขค</sup>                    | 230.40 <sup>ญค</sup>                       |
| 4         | 0 (น้ำ)     | 4          | 60                  | 64.12 <sup>ขคจ</sup> | 0.2727 <sup>ขคจ</sup>                   | 337.07 <sup>กขค</sup>                      |
| 5         | 0 (น้ำ)     | 6          | 30                  | 67.39 <sup>ขคจ</sup> | 0.2863 <sup>ขคจ</sup>                   | 266.40 <sup>คขญญ</sup>                     |
| 6         | 0 (น้ำ)     | 6          | 60                  | 71.22 <sup>กข</sup>  | 0.3020 <sup>กข</sup>                    | 353.07 <sup>ก</sup>                        |
| 7         | 30          | 2          | 30                  | 71.84 <sup>กข</sup>  | 0.3047 <sup>กข</sup>                    | 299.73 <sup>ขคจค</sup>                     |
| 8         | 30          | 2          | 60                  | 60.74 <sup>ขคจ</sup> | 0.2590 <sup>คจจค</sup>                  | 247.73 <sup>ญค</sup>                       |
| 9         | 30          | 4          | 30                  | 72.27 <sup>กข</sup>  | 0.3063 <sup>กข</sup>                    | 330.40 <sup>กขค</sup>                      |
| 10        | 30          | 4          | 60                  | 60.14 <sup>ขคจ</sup> | 0.2560 <sup>คจจค</sup>                  | 215.73 <sup>ญ</sup>                        |
| 11        | 30          | 6          | 30                  | 72.38 <sup>กข</sup>  | 0.3070 <sup>กข</sup>                    | 339.73 <sup>กข</sup>                       |
| 12        | 30          | 6          | 60                  | 58.95 <sup>จคข</sup> | 0.2513 <sup>จคขญ</sup>                  | 261.07 <sup>ขญญค</sup>                     |
| 13        | 50          | 2          | 30                  | 69.95 <sup>กข</sup>  | 0.2973 <sup>กข</sup>                    | 281.07 <sup>จคขญ</sup>                     |
| 14        | 50          | 2          | 60                  | 68.52 <sup>กขค</sup> | 0.2910 <sup>กขค</sup>                   | 343.73 <sup>ก</sup>                        |
| 15        | 50          | 4          | 30                  | 72.46 <sup>กข</sup>  | 0.3073 <sup>กข</sup>                    | 265.07 <sup>คขญญ</sup>                     |
| 16        | 50          | 4          | 60                  | 51.28 <sup>คข</sup>  | 0.2197 <sup>ขญ</sup>                    | 269.07 <sup>คขญญ</sup>                     |
| 17        | 50          | 6          | 30                  | 71.49 <sup>กข</sup>  | 0.3030 <sup>กข</sup>                    | 231.73 <sup>ญค</sup>                       |
| 18        | 50          | 6          | 60                  | 50.18 <sup>ข</sup>   | 0.2153 <sup>ญ</sup>                     | 341.07 <sup>กข</sup>                       |
| 19        | 95          | 2          | 30                  | 77.27 <sup>ก</sup>   | 0.3270 <sup>ก</sup>                     | 295.07 <sup>คจจคข</sup>                    |
| 20        | 95          | 2          | 60                  | 72.33 <sup>กข</sup>  | 0.3070 <sup>กข</sup>                    | 321.07 <sup>กขคจ</sup>                     |
| 21        | 95          | 4          | 30                  | 72.12 <sup>กข</sup>  | 0.3060 <sup>กข</sup>                    | 283.73 <sup>จคข</sup>                      |
| 22        | 95          | 4          | 60                  | 54.55 <sup>จคข</sup> | 0.2330 <sup>คขญ</sup>                   | 317.07 <sup>กขคจ</sup>                     |

|    |    |   |    |                     |                        |                        |
|----|----|---|----|---------------------|------------------------|------------------------|
| 23 | 95 | 6 | 30 | 67.96 <sup>ขค</sup> | 0.2887 <sup>ขค</sup>   | 251.73 <sup>ขณณฐ</sup> |
| 24 | 95 | 6 | 60 | 71.24 <sup>กข</sup> | 0.2433 <sup>จณณณ</sup> | 331.73 <sup>กขค</sup>  |

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่อักษรแตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

\*\* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.01$ ), \* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )



ภาพที่ 6 ผลการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านแบคทีเรียของสารสกัดรากปลาไหลเผือกใหญ่

### ตารางที่ 3

แสดงการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากรากปลาไหลใหญ่ที่ใช้ตัวทำละลายในการสกัดที่แตกต่างกัน

| ชนิดเชื้อก่อโรค                | กลุ่มควบคุม<br>น้ำกลั่น/DMSO | การออกฤทธิ์ของสารสกัดรากปลาไหลเผือกใหญ่ |                   |
|--------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------|-------------------|
|                                |                              | สกัดด้วยน้ำ                             | สกัดด้วยเอทานอล   |
| <i>Bacillus cereus</i>         | 0 (มล.)                      | 13 มม. / ยับยั้ง                        | 25 มม. / ฆ่าเชื้อ |
| <i>Escherichia coli</i>        | 0 (มล.)                      | 13 มม. / ยับยั้ง                        | 12 มม. / ยับยั้ง  |
| <i>Listeria monocytogenes</i>  | 0 (มล.)                      | 12 มม. / ยับยั้ง                        | 21 มม. / ยับยั้ง  |
| <i>Salmonella typhimurium</i>  | 0 (มล.)                      | 20 มม. / ยับยั้ง                        | 12 มม. / ยับยั้ง  |
| <i>Staphylococcus aureus</i>   | 0 (มล.)                      | 10 มม. / ยับยั้ง                        | 20 มม. / ฆ่าเชื้อ |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | 0 (มล.)                      | 12 มม. / ยับยั้ง                        | 15 มม. / ฆ่าเชื้อ |

หมายเหตุ: เนื่องจากสารสกัดหยาดด้วยเอทานอลไม่สามารถละลายได้ด้วยน้ำกลั่น แต่ละลายในสารละลาย DMSO จึงใช้สารในกลุ่มควบคุมที่ต่างกัน

### เอกสารอ้างอิง

- Aida, E. M. I., Alaa, B., Hafez, O. M., Hassan, S. M., Mahmoud, M.A.M. & Tayel, S.A. (2016). Assessment of genetic and reproductive toxicity of Tongkat Ali Plus®. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 7(2), 492-499.
- Azwanida, N. N. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromat Plants*, 4(3), <http://dx.doi.org/10.4172/21670412.1000196>.
- Chan, K. L, Low, B. S. & San Ho, D. S. (2010). Polar organic extract of *Eurycoma longifolia*. U.S. Patent 20100221370A1, 2 September.
- Das, K., Tiwari, R. K. S. & Shrivastava, D. K. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(2), 104-111.
- George, A., Kawasaki, Y. & Abas, A.B. (2016a). *Eurycoma Longifolia* Extract and Its Use in Enhancing and/or Stimulating Immune System. *United States Patent*

- Application Publication*. No.: US 2016/0067293A1.10 March.
- Han, S. N., Wu, D., Ha, W. K., Beharka, A. A., Smith, D. E., Bender, B. S. & Meydani, S. N. (2016). Vitamin E supplementation increases T helper 1 cytokine production in old mice infected with influenza virus. *Journal of Immunology*, 100, 487-493.
- Handa, S.S., Khanuja, S. P. S., Longo, G. & Rakesh, D.D. (2008). Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. *International centre for science and high technology Trieste*, 21-25.
- Kamboh, A. A., Arain, M.A., Mughal, M, J., Zaman, A., Arain, Z. M. & Soomro, A. H. (2015). Flavonoids: health promoting phytochemicals for animal production: a review. *Journal of Animal and Health Production*, 3, 6-13.
- Ncube, N. S., Afolayan, A. J. & Okoh, A. I. (2008). Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African Journal of Biotechnology*, 7(12), 1797-1806.
- Razak, M. F. A. & Aidoo, K. E. (2011). Toxicity studies of *Eurycoma longifolia* (jack)- based remedial products. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 4, 23-27.
- Rehman, S. U., Choe, K. & Yoo, H. H. (2016). Review on a traditional herbal medicine, *Eurycoma longifolia* Jack (Tongkat Ali): Its traditional uses, chemistry, evidence- based pharmacology and toxicology. *Journal Molecules*, 21(331), 1-31.
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2866-2887.
- Shuid, A., Siang, L., Chin, T., Muhammad, N., Mohamed, N. & Soelaiman, I. (2011). acute and subacute toxicity studies of *Eurycoma longifolia* in male rats. *International Journal of Pharmaceutics*, 7, 641-646.

Sompong, R., Siebenhandl-Ehn, S.,  
Linshber-Marin, G. & Berghofer, E.  
(2011). Physicochemical and  
antioxidative properties of red and  
black rice varieties from Thailand  
China and Sri Lanka. *Food  
Chemistry*, 124,132-140.

Vongsak, B., Sithisam, P., Mangmoon, S.,  
Thongpraditchote, S. &  
Wongkrajang, Y. (2013). Maximizing  
total phenolics, total flavonoids  
contents and antioxidant activity  
of *Moringa oleifera* leaf extract by  
the appropriate extraction  
method. *Industrial Crops and  
Products*, 44, 566-571.