รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 5
สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร

การศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากหญ้าหยาดน้ำค้าง
Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of *Lindernia crustacea*

เสาวลักษณ์ แซ่ย้าง[1] และอัจฉรา ใจดี[2]
Saowalak Chaeyang[1] and Atchara Jaidee[2]

[1]นักศึกษาโปรแกรมวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร
[2]อาจารย์ประจำโปรแกรมวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร

The 5th Kamphaeng Phet Rajabhat University National Conference

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบหญ้าหยาดน้ำค้างแห้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอล ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ได้ปริมาณสารสกัดหยาบร้อยละ 3.4 3.8 และ 10.6 ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์เอกลักษณ์ของสารสกัดหยาบจากหญ้าหยาดน้ำค้างด้วยเทคนิค ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมตรี (UV-VIS Spectrophotometry) พบว่าลักษณะยูวี-วิสิเบิลสเปกตรัมของสารสกัดหยาบของหญ้าหยาดน้ำค้างที่สกัดด้วยเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอลมีลักษณะต่างกันที่ช่วงความยาวคลื่นที่สารกลุ่มสเตอรอยด์ คูมาริน แทนนิน และฟลาโวนอยด์ดูดกลืน (200-320 นาโนเมตร) ผลการทดสอบหาชนิดของสารพฤกษเคมีเบื้องต้นในสารสกัดหยาบของหญ้าหยาดน้ำค้างพบว่าสารสกัดหยาบจากหญ้าหยาดน้ำค้างที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบสารพฤกษเคมีมากที่สุดได้แก่ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ คูมาริน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ และสเตอรอยด์ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบเฮกเซนของหญ้าหยาดน้ำค้างแสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ *Bacillus cereus* ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

คำสำคัญ: หญ้าหยาดน้ำค้าง / สารพฤกษเคมี / ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย / สารสกัดหยาบ / ยูวี-วิสิเบิลสเปกตรัม

Abstract

The purposes of this research were to study the phytochemical screening and antibacterial activity of hexane, ethyl acetate and methanol crude extracts from the air-dried *Lindernia crustacea*. Crude extracts were obtained after soaking the air-dried *Lindernia crustacea* in each solvent at room temperature for 72 hours. The experimental results showed yield of hexane, ethyl acetate and methanol crude extracts with 3.4%, 3.8% and 10.6%, respectively. UV-VIS finger print of these plant extracts has differences absorption in the range 200-300 nm. These absorption bands are characteristic for steroid coumarin and flavonoid. Hexane crude extract of the plant had highest number of phytoconstituents that revealed the presence of flavonoid coumarin tannin terpenoid and steroid, moreover this crude extract was active to antibacterial activity against *Bacillus cereus* with the concentration values of 50 μg/mL.

Keywords: *Lindernia crustacea* / Phytochemical / Antibacterial Activity / crude extract / UV-VIS spectrum

รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 5
สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

หญ้าหยาดน้ำค้างเป็นพืชสกุล *Lindernia* ในวงศ์ *Linderniaceae* ถูกจัดอยู่ในกลุ่มพืชที่มีดอกและเมล็ด มีเครื่องหุ้มห่อ ถูกค้นพบประมาณ 68 สายพันธุ์ เป็นไม้ล้มลุก อายุสั้น มีความสูงประมาณ 5-20 เซนติเมตร ลักษณะลำต้นตั้งชูขึ้น เป็นเหลี่ยม ใบเดี่ยว ใบรูปไข่แกมรูปขอบขนานถึงรูปไข่กว้าง ขนาด 4-15 x 6-19 มิลลิเมตร ขอบใบจักฟันเลื่อย ลักษณะดอกเป็นรูปแตร สีม่วงหรือม่วงอ่อน มี 5 กลีบ ผลแห้งรูปกระสวยหรือกลม หุ้มด้วยกลีบเลี้ยงที่ยังติดอยู่ เมล็ดเล็กจำนวนมาก เจริญเติบโตได้เร็วและดีในพื้นที่ที่มีความชุ่มชื้น สามารถพบได้ทั่วไปตามสนามหญ้าและริมทางที่ค่อนข้างชุ่มชื้น ริมแม่น้ำ นาข้าวและที่ลุ่มทั่วไป

ภาพที่ 1 หญ้าหยาดน้ำค้างในมหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร

พืชสกุลนี้ได้รับการยอมรับว่าเป็นพืชสมุนไพรที่ใช้ในตำรับยารักษาโรคไส้เลื่อน (Chhabra et al., 1984) โรคภูมิแพ้ (Mahunnahb et al., 1993) กำจัดสารพิษ รักษาโรคริดสีดวง (Wei and Yu, 2013) ใช้ห้ามเลือด ลดไขมัน (Wei and Yu, 2013) รักษาสิวที่จมูก (Licheng et al., 2012) รักษาปากมดลูก บรรเทาโรคข้ออักเสบ รูมาตอยด์ บรรเทาอาการปวดและการอักเสบ (Shoulong, 2009) และ รักษาโรคบิด (Caifang, 2008) เป็นต้น นอกจากนี้พืชสกุลนี้ยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเนื้องอก (Kim and et.al., 1996) ฤทธิ์ต้านจุลชีพ (Tsai et al., 2011) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Tsai et al., 2011) ฤทธิ์การงอกของเซลล์ประสาท (Cheng et al., 2011) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Tsai et al., 2011) การตรวจสอบพฤกษเคมีของพืชสกุลนี้พบสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoid) คูมาริน (coumarin) (Chhabra et.al., 1984) เทอร์พีนอยด์ (terpenoid) (Chhabra et al., 1984); (HO et al, 2012); (Cheng et al., 2011) น้ำมันหอมระเหย (volatile oil) (Tsai et al., 2011) สารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) (Tsai et al., 2011) และ ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) (HO et al., 2012)

หญ้าหยาดน้ำค้างเป็นวัชพืชและเป็นสมุนไพรในตำรับยาโบราณที่พบได้ทั่วไปในประเทศไทยที่ยังไม่มีการศึกษาสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในมนุษย์ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นและทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากหญ้าหยาดน้ำค้างเพื่อเป็นแนวทางในการแยกสารให้บริสุทธิ์และระบุชนิดของสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในสารสกัดจากพืชที่มีอยู่ในท้องถิ่น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาสารพฤกษเคมีเบื้องต้นและทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากหญ้าหยาดน้ำค้างแห้ง (*Lindernia crustacea*)

The 5th Kamphaeng Phet Rajabhat University National Conference

ขอบเขตของการวิจัย

1) แหล่งที่มาของหญ้าหยาดน้ำค้างที่ใช้ในการทดลอง คือ มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ต.นครชุม อ.เมือง จังหวัดกำแพงเพชร
2) เตรียมสารสกัดหยาบของหญ้าหยาดน้ำค้าง โดยวิธีการแช่ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอล
3) พิสูจน์เอกลักษณ์ของสารสกัดจากหญ้าหยาดน้ำค้างด้วยเทคนิค ยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมตรี
4) ทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น
5) ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์สายพันธุ์ *Bacillus cereus*

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมตัวอย่างพืช

เก็บหญ้าหยาดน้ำค้างในเดือนกรกฎาคม ในบริเวณมหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ต.นครชุม อ.เมืองจังหวัดกำแพงเพชร นำหญ้าหยาดน้ำค้างไปล้างด้วยน้ำให้สะอาด แล้วนำไปตากในที่ร่มและมีอากาศถ่ายเทจนพืชแห้งเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นนำไปสับและปั่นให้ละเอียด

วิธีการสกัด

1) ชั่งหญ้าหยาดน้ำค้างแห้งที่บดละเอียดใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 3 ขวด ขวดละ 10 กรัม เติมตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตรในขวดรูปชมพู่ใบที่ 1 2 และ 3 ตามลำดับ ปิดปากขวดให้สนิทด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์ แช่ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง
2) นำสารสกัดมากรองเก็บสารละลายและนำไปประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) จะได้สารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอลของหญ้าหยาดน้ำค้าง นำส่วนกากที่เหลือจากการกรองไปสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง
3) ชั่งน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้

การตรวจสอบเอกลักษณ์ของสารสกัดหญ้าหยาดน้ำค้างด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมตรี

ชั่งสารสกัดหยาบ 0.05 กรัม ละลายและปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน:เอทานอล (1:9) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 200-800 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-visible spectrophotometer ญี่ห้อ Shimadu รุ่น UV-1800

การตรวจสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมีเบื้องต้น

1) การตรวจสอบสารกลุ่มอัลคาลอยด์

เตรียมสารละลายแวกเนอร์ (Wagner's reagent) โดยละลายไอโอดีน 2 กรัม และโพแทสเซียมไอโอไดด์ 6 กรัม ในน้ำ 100 มิลลิลิตร

ชั่งสารสกัดหยาบ 20 มิลลิกรัมในหลอดทดลอง เติมสารละลาย 1.5% v/v HCl ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าแล้วนำไปอุ่นบนเครื่อง Water bath 5 นาที กรองส่วนที่ไม่ละลายออก แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำของเหลวที่ได้จากการกรอง (Filtrate) ไปหยดสารละลายแวกเนอร์ (Wagner's reagent) จำนวน 5 หยด เขย่าถ้าปรากฏตะกอนสีเหลือง แสดงว่าพบสารกลุ่ม อัลคาลอยด์ (Kodangala, 2010)

2) การตรวจสอบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์

ชั่งสารสกัด 20 มิลลิกรัมในหลอดทดลอง เติมสารละลายเอทานอลเข้มข้น 50% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่า ดูดของเหลวผ่านสำลีใส่หลอดทดลอง ใส่ลวดแมกนีเซียมชิ้นเล็กๆ ลงไป 1 ชิ้น และหยดกรดไฮโดรครอริกเข้มข้น (conc.

The 5th Kamphaeng Phet Rajabhat University National Conference

HCl) จำนวน 5 หยด เขย่าหลอดทดลองและนำไปอุ่นบนไอน้ำร้อนเป็นเวลา 5 นาที ถ้าสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มแสดงว่าพบสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Chhabrac et al, 1984)

3) การตรวจสอบกลุ่มแอนทราควิโนน

ชั่งสารสกัด 20 มิลลิกรัมในหลอดทดลอง เติมสารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เข้มข้น 10% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่านำไปอุ่นบนเครื่อง water bath 5 นาที ปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง ดูดของเหลวผ่านสำลีใส่หลอดทดลองใหม่เติมสารละลายแอมโมเนีย (NH_3) เข้มข้น 10% ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าหลอดทดลอง ถ้าปรากฏสารเป็นสีชมพู่แดงเกิดขึ้นแสดงว่าพบสารกลุ่มแอนทราควิโนน (Ayoola, 2008)

4) การตรวจสอบสารกลุ่มคูมาริน

ชั่งสารสกัด 20 มิลลิกรัมในหลอดทดลอง เติมสารละลายเอทานอลเข้มข้น 50% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่า ดูดของเหลวผ่านสำลีใส่หลอดทดลองใหม่ เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น 6 M ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่า ถ้าสีของสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มแสดงว่าพบสารกลุ่มคูมาริน (พอตา, 2016)

5) การตรวจสอบสารกลุ่มซาโปนิน

การชั่งสารสกัด 20 มิลลิกรัมในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่อง water bath นาน 5 นาที เขย่าอย่างแรง ถ้าปรากฏฟองถาวรเกิดขึ้นในหลอดทดลองแสดงว่าพบสารกลุ่มซาโปนิน (Hossain, 2013)

6) การตรวจสอบสารกลุ่มแทนนิน

ชั่งสารสกัด 20 มิลลิกรัมในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนอ่างน้ำร้อนนาน 5 นาที ดูดของเหลวผ่านสำลีใส่หลอดทดลองใหม่ เติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) เข้มข้น 1% จำนวน 5 หยด เขย่า ถ้าปรากฏสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำแสดงว่าพบสารกลุ่มแทนนิน (Samejo, 2013)

7) การตรวจสอบสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์หรือสเตอรอยด์

ชั่งสารสกัด 20 มิลลิกรัมในหลอดทดลอง ละลายสารด้วยไดคลอโรมีเทนปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่า ดูดของเหลวผ่านสำลีใส่หลอดทดลองใหม่ ค่อยๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไป ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยระหว่างชั้นของสารสกัดกับกรดซัลฟิวริกแสดงว่าพบสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ (Samejo, 2013)

8) การตรวจสอบสารกลุ่มสเตอรอยด์ด้วยวิธีของ Liebermann-Burchard

ชั่งสารสกัด 20 มิลลิกรัมในหลอดทดลอง ละลายสารด้วยไดคลอโรมีเทน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่า ดูดของเหลวผ่านสำลีใส่หลอดทดลองใหม่ ค่อยๆ เติมกรดเกลเชียลอะซิติก (glacial acetic acid) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าแล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) จำนวน 3 หยด ถ้าปรากฏสีน้ำเงินหรือน้ำเงินเขียวแสดงว่าพบสารกลุ่มสเตอรอยด์ (Usman, 2009)

9) การตรวจสอบสารกลุ่มคาร์ดิแอกกลัยโคไซด์

ชั่งสารสกัด 20 มิลิกรัมในหลอดทดลอง ละลายด้วยไดคลอโรมีเทน ปริมาตร 1 มิลลิลิตรเขย่า ดูดของเหลวผ่านสำลีใส่หลอดทดลองใหม่ เติมสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3$) เข้มข้น 1% จำนวน 5 หยด เขย่า เติมกรดแกลเชียลแอซิติกจำนวน 5 หยด เขย่า และค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงไป ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างชั้นสารสกัดกับกรดซัลฟิวริกแสดงว่าพบสารคาร์ดิแอก กลัยโคไซด์ (พอตา, 2016)

การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

นำสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอลจากหญ้าหยาดน้ำค้างไปทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทิเรีย *Bacillus cereus* ที่ศูนยพันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแหงชาติ (BIOTEC) ดวยวิธี Resazurin microplate assay (REMA) โดยใช้ Vancomycin ความเข้มข้น 1.0-2.0 μg/ml เป็น Positive control ใช้ 0.5% Dimethyl sulfoxide (DMSO) เพื่อเป็นตัวทำละลาย และnegative control

The 5th Kamphaeng Phet Rajabhat University National Conference

ผลการวิจัย

ปริมาณสารสกัดหยาบจากหญ้าหยาดน้ำค้างแห้ง

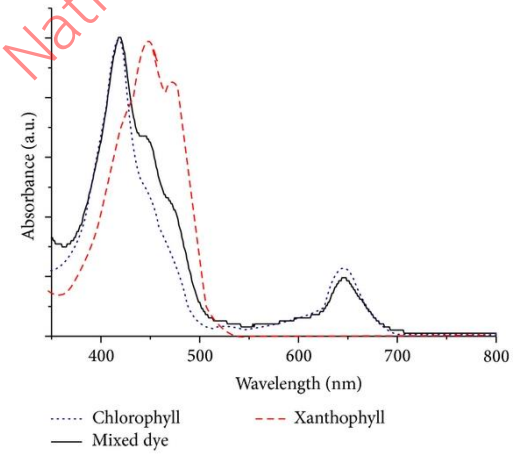
ผลการสกัดหญ้าหยาดน้ำค้างแหงดวยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอล ได้สารสกัด (LCH LCEtOAC และ LCM) ที่มีลักษณะสีเขียวดำข้นหนืด การสกัดแบบแช่ด้วยเมทานอลให้ปริมาณสารสกัด (LCM) สูงที่สุด ส่วนการสกัดด้วยเฮกเซน (LCH) และเอทิลอะซิเตต (LCEtOAC) ให้ปริมาณสารสกัดที่ใกล้เคียงกันดังแสดงในตารางที่ 1

สารสกัดหยาบ	ตัวทำละลาย	ลักษณะสารสกัดหยาบ	ปริมาณร้อยละของสารสกัดหยาบ (%w/w)
LCH	เฮกเซน	ของเหลวข้นหนืดสีเขียวดำ	3.4
LCEtOAC	เอทิลอะซิเตด	ของเหลวข้นหนืดสีเขียวดำ	3.8
LCM	เมทานอล	ของเหลวข้นหนืดสีเขียวอมเหลือง	10.6

ตารางที่ 1 ลักษณะและน้ำหนักของสารสกัดหยาบของหญ้าหยาดน้ำค้าง

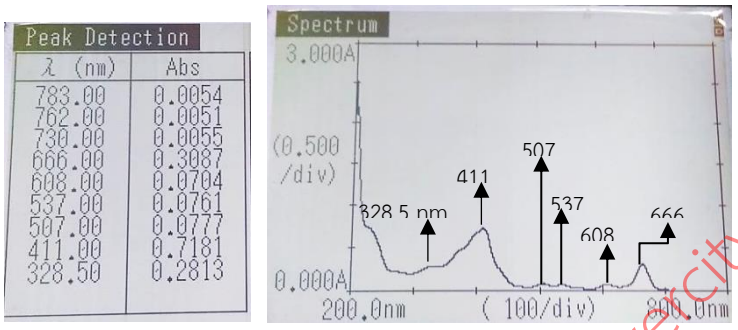
ผลการศึกษาเอกลักษณ์ของสารสกัดหญ้าหยาดน้ำค้างด้วยเทคนิคยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตเมตรี

ลักษณะของยูวี-วิสิเบิล สเปกตรัมของสารสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอลจากหญ้าหยาดน้ำค้างแห้ง แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่คล้ายกันในช่วงความยาวคลื่น 370-700 นาโนเมตร (ภาพที่ 3-5) โดยมีค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่นที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะของสารกลุ่มคลอโรฟิลล์ (Aronoff, 1950) ดังรูปที่ 2 ลักษณะของยูวี-วิสิเบิล สเปกตรัมของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดแสดงค่าการดูดกลืนแสงที่แตกต่างกันในช่วงความยาวคลื่น 200-320 นาโนเมตร (ภาพที่ 2-4) ซึ่งเป็นช่วงความยาวคลื่นที่สารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ (Dorfman, 1953) ฟลาโวนอยด์ (Arora, 2018) คูมาริน (Kim, 2003) และแทนนิน (Barbasz, 2015) ดูดกลืน



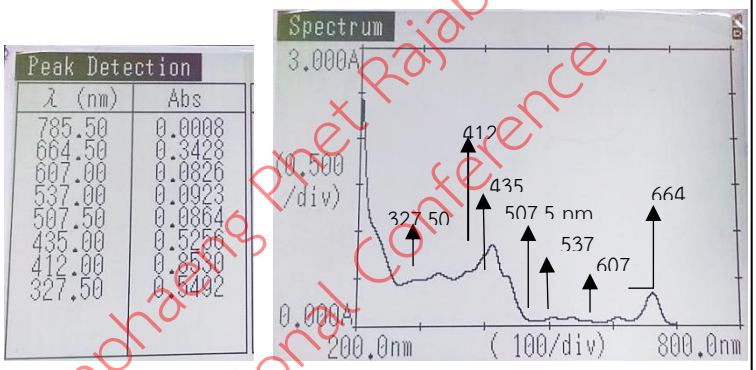
ภาพที่ 2 ยูวี-วิสิเบิลสเปกตรัมของ chlorophyll xanthophyll และสารผสมระหว่าง chlorophyll และ xanthophyll (ที่มา: Lim et al., 2015)

The 5th Kamphaeng Phet Rajabhat University National Conference



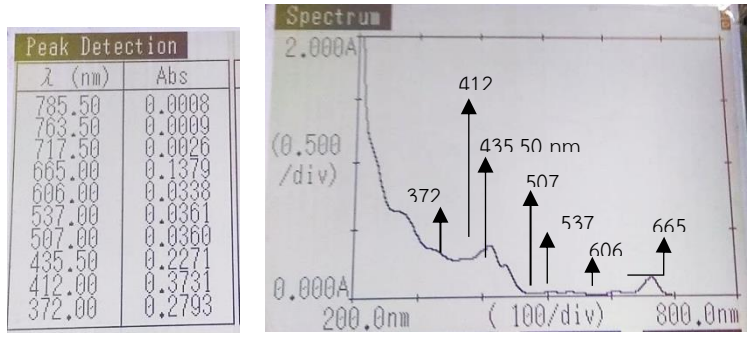
ก ข

ภาพที่ 3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงช่วงยูวี-วิสิเบิล (**ก**) และ ยูวี-วิสิเบิลสเปกตรัม (**ข**) ของสารสกัดเฮกเซนจากหญ้าหยาดน้ำค้างแห้ง



ก ข

ภาพที่ 4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงช่วงยูวี-วิสิเบิล (**ก**) และ ยูวี-วิสิเบิลสเปกตรัม (**ข**) ของสารสกัดเอทิลอะซิเตตจากหญ้าหยาดน้ำค้างแห้ง



ก ข

ภาพที่ 5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงช่วงยูวี-วิสิเบิล (**ก**) และ ยูวี-วิสิเบิลสเปกตรัม (**ข**) ของสารสกัดเมทานอลจากหญ้าหยาดน้ำค้างแห้ง

The 5th Kamphaeng Phet Rajabhat University National Conference

ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

พบสารพฤกษเคมีทั้งหมด 6 ประเภทในสารสกัดหยาบจากหญ้าหยาดน้ำค้างแห้ง ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ สเตอรอยด์ และคารดิแอกไกลโคไซด์ ดังแสดงในตารางที่ 2 สารสกัดเฮกเซนจากหญ้าหยาดน้ำค้างแห้งพบชนิดของสารพฤกษเคมีมากที่สุดได้แก่ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ คูมาริน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ และสเตอรอยด์ สารสกัดเอทิลอะซิเตตจากหญ้าหยาดน้ำค้างแห้งพบสารกลุ่มสเตอร์รอยด์เพียงชนิดเดียว สารสกัดเมทานอลจากหญ้าหยาดน้ำค้างแห้งพบสารพฤกษเคมีกลุ่มคูมาริน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ และคารดิแอกไกลโคไซด์

สารสกัด	สารสำคัญทางพฤกษทางเคมี								
	อัลคาลอยด์	ฟลาโวนอยด์	แอนทราคิวโนน	คูมาริน	ซาโปนิน	แทนนิน	เทอร์ปีนอยด์	สเตอรอยด์	คาร์อิแอกกลัยโคไซด์
LCH	-	+	-	+	-	+	+	+	-
LCEtOAC	-	-	-	-	-	-	-	+	-
LCM	-	-	-	+	-	+	+	-	+

ตารางที่ 2 การตรววจสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมีเบื้องต้นจากสารสกัดหญ้าหยาดน้ำค้าง

หมายเหตุ LCH คือ สารสกัดหยาบเฮกเซนจากหญ้าหยาดน้ำค้าง LCEtOAC คือ สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตจากหญ้าหยาดน้ำค้าง LCM คือ สารสกัดหยาบเมทานอลจากหญ้าหยาดน้ำค้าง (-) คือ Negative test (+) คือ Positive test

ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus cereus* ดวยวิธี Resazurin microplate assay (REMA) ของสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปรากฏว่าสารสกัดหยาบเฮกเซนจากหญ้าหยาดน้ำค้างแห้ง (LCH) มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ชนิดแกรมบวกสายพันธุ์ *Bacillus cereus* มากที่สุด และพบว่าสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต (LCEtOAC) และ เมทานอล (LCM) จากหญ้าหยาดน้ำค้างแห้งไม่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* ร้อยละของความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus cereus* แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดหญ้าหยาดน้ำค้าง

สารสกัดหยาบ	% การยับยั้งเชื้อ *Bacillus cereus*	ผลการทดสอบ
LCH	97.73	Active
LCEtOAC	75.75	Inactive
LCM	14.04	Inactive

หมายเหตุ LCH คือ สารสกัดหยาบเฮกเซนจากหญ้าหยาดน้ำค้าง LCEtOAC คือ สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตจากหญ้าหยาดน้ำค้าง LCM คือ สารสกัดหยาบเมทานอลจากหญ้าหยาดน้ำค้าง (-) คือ Negative test (+) คือ Positive test

The 5th Kamphaeng Phet Rajabhat Univercity National Conference

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

ตัวทำละลายเฮกเซนสามารถสกัดจำนวนชนิดของสารพฤกษเคมีจากหญ้าหยาดน้ำค้างแห้งได้มากที่สุดและทำให้ได้สารสกัดหยาบจากหญ้าหยาดน้ำค้างที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในมนุษย์ชนิดแกรมบวกสายพันธุ์ *Bacillus cereus* ได้ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Martin W et al. (2014) ที่รายงานว่าสารสกัดหยาบเฮกเซนจากใบของพืชวงศ์ทานตะวัน (*Tarchonanthus camphoratus*) สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกสายพันธุ์ *S. aureus* ได้ที่ความเข้มข้น 11 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่สารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตต และเมทานอลจากใบของ *Tarchonanthus camphoratus* ไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย และจากรายงานของ Tsai et al. (2011) พบว่าฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของน้ำมันหอมระเหยจากต้น *Lindernia anagallis* สามารถยับยั้งเชื้อจุลชีพสายพันธุ์ *E. coli S. aureus P. acnes P. ovale* และ *C. albicans* ได้ที่ความเข้มข้น 1.7-5.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ลักษณะสเปกตรัมของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเมทานอลจากหญ้าหยาดน้ำค้างมีลักษณะค่อนข้างคล้ายกันเนื่องจากมีสารกลุ่มคลอโรฟิลล์เป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณมากพิจารณาจากช่วงความยาวคลื่นที่ 370-700 นาโนเมตรพบว่ามีเอกลักษณ์ที่เหมือนกับสารคลอโรฟิลล์ (Aronoff, 1950; Lim et al., 2015) ทั้งนี้พบว่าลักษณะยูวี-วิสิเบิลสเปกตรัมของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดนี้มีความแตกต่างกันที่ช่วงความยาวคลื่น 200-320 นาโนเมตร ที่เกิดจากการดูดกลืนของสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ (Dorfman, 1953) ฟลาโวนอยด์ (Arora, 2018) คูมาริน (Kim, 2003) และแทนนิน (Barbasz, 2015)

ผลการทดสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดเฮกเซนของหญ้าหยาดน้ำค้างแห้งที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกสายพันธุ์ *Bacillus cereus* พบสารกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ คูมาริน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ และสเตอรอยด์ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Chhabra et al. (1984) ที่รายงานว่าพบสารพฤกษเคมีกลุ่ม คูมาริน และสเตอรอยด์ในสารสกัดอีเทอร์จากหญ้า *Lindernia insularis* ซึ่งเป็นพืชสกุลเดียวกันกับหญ้าหยาดน้ำค้าง สารพฤกษเคมีในหญ้าหยาดน้ำค้างแห้งที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียคือสารกลุ่มสเตอรอยด์เนื่องจากสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตพบสารกลุ่มสเตอร์รอยด์เพียงชนิดเดียวแต่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ถึง 75.75% ส่วนสารสกัดเมทานอลจากหญ้าหยาดน้ำค้างแห้งที่พบสารกลุ่มคูมาริน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ และคาร์อิแอกกลัยโคไซด์ แต่ไม่พบสเตอร์รอยด์ทำให้แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้เพียง 14.04% สอดคล้องกับรายงานของ Nick et al. (1995) ที่รายงานว่าสารบริสุทธิ์กลุ่มไตรเทอปีนอยด์ที่แยกได้จากต้น *Dlllenia papuana* แสดงฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *B. subtilis E. coli* และ *M. luteus* ประกอบกับผลการศึกษาของ Martin W et al. (2014) ที่พบว่าสารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์เป็นสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *E. coli S. typhi K. pneumoniae S. aureus Bacillus spp* และ *C. albicans* ของสารสกัดหยาบเฮกเซนจากใบของต้น *Tarchonanthus camphoratus*

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

3. ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการสกัดสารจากพืชในสกุล *Lindernia* เพื่อต้านเชื้อแบคทีเรีย
4. เป็นแนวทางในการแยกสารให้บริสุทธิ์และระบุชนิดของสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดจากหญ้าหยาดน้ำค้าง

เอกสารอ้างอิง

พอตา ชัยกิจ, จงกลณี จงอร่ามเรือง. (2559). **การทดสอบสารสำคัญทางพฤกษเคมี การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของชุมเห็ดเทศ**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมีศึกษา มหาวิทยาลัยบูรพา

The 5th Kamphaeng Phet Rajabhat University National Conference

ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์, วรางคณา สบายใจ และ สิริมาส นิยมไทย. (2013). **การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชนัของใบข่อยดำ**. KKU Sci. J. 41(3) 723-730 (2013)

Andery Lim, Noramaliyana Haji Manaf, Kushan Tennakoon, R. L. N. Chandrakanthi, Linda Biaw Leng Lim, J. M. R. Sarath Bandara, and, Piyasiri Ekanayake. (2014). Higher Performance of DSSC with Dyes from Cladophora sp. as Mixed Cosensitizer through Synergistic Effect. **Journal of Biophysics, 2015**, 1-6.

Anna Barbasz, Magdalena Oćwieja, Jakub Barbasz. (2015). Cytotoxic activity of highly purified silver nanoparticles sol against cells of human immune system. **Appl Biochem Biotechnol**, **176**, 817–834.

Andre Nick, Anthony D. Wright, Topul Rali and Otto Sticher. (1995). Antibacterial triterpenoids from dlllenia papuana and their structure-activity relationships. **Phytochemistry, 40**, 6, 1691-1695.

Chandrashekar Kodangala, Santanu Saha and, Prasanna Kodangala. (2010). Phytochemical studies of aerial parts of the plant *Leucas lavandulaefolia*. **Der Pharma Chemica**, **2**(5), 434-437

Chhabra, S.C., UISO, F.C. and Mshiu, E.N. J. Ethnopharm. 1984, 11, 157-179.

GA Ayoola, HAB Coker, SA Adesegun, AA Adepoju-Bell, K Obaweya, EC Ezennia, to Atangbayila. (2008). Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research, September, 7**(3), 1019-1024.

H-C. Kim, S. Kreiling, A. Greiner, N. Hampp. (2003). Two-photon-induced cycloreversion reaction of coumarin photodimers. **Chemical Physics Letters**, **372**, 899–903.

Lihong Cheng, Ying Ye, Lan Xiang, Hiroyuki Osada, Jianhua Qi. (2017). Lindersin B from *Lindernia crustacea* induces neuritogenesis by activation of tyrosine kinase A/phosphatidylinositol 3 kinase/extracellular signal-regulated kinase signaling pathway. **Phytomedicine**, **24**, 31-38.

M.T. Olivier, F.M. Muganza, L.J. Shai, S.S. Gololo, L.D. Nemutavhanani. (2017). Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of ethanol extracts of Asparagus suaveolens aerial parts. **South African Journal of Botany**, **108**, 41–46.

Mohammad Amzad Hossain, Khulood Ahmed Salim AL-Raqmi, Zawan Hamood AL-Mijizy, Afaf Mohammed Weli, Qasim Al-Riyami. (2013). Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown Thymus vulgaris, **Asian Pac J Trop Biomed**, **3** (9), 705-710.

Muhammad Qasim Samejo, Adeela Sumbul, Shanila Shah, Sara Bano Memon, Shahijabeen Chundrigar. (2013). Phytochemical screening of Tamarix dioica Roxb. ex Roch. **journal of pharmacy research**, **7**, 181-183.

Rondon Maria, Moncayo Shirley, Cornejo Xavier, Santos Jaime, Villalta David, Siguenica Rosa, Duche Jodie. (2018). Preliminary phytochemical screening, total phenolic content and antibacterial

The 5th Kamphaeng Phet Rajabhat University National Conference

activity of thirteen native species from Guayas province Ecuador. **Journal of Saud University – Science**, **30,** 500-505.

S. arosff. (1950). The absorptiox spectra of chlorophrll and, related. **Chemical Reviews**, **47**(2), 175–195.

Sumit Arora a, Prakash Itankar. (2018). Extraction, isolation and identification of flavonoid from *Chenopodium album* aerial parts. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, **8**, 476-482**.**

Usman H, Abdulrahman, FI and Usman, A. (2009). Qualitativ phytochemical screening and in vitro antimicrobial effects of methanol stem bark extract of ficus thonningll (Moraceae). **Usman et al., Afr. J. Trad. CAM**, **6**(3), 289 – 295.

Wetungu Martin W., Matasyoh, J. C, Kinyanjui, T. (2014). Antimicrobial activity of solvent extracts from the leaves of Tarchonanthus camphoratus (Asteraceae). **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, **3** (1), 123-127.

Yu-Ling HO, Shyh-Shyun HUANG, Jeng-Shyan DENG, Yaw-Huei LIN, Yuan-Shiun CHANG and, Guan-Jhong HUANG. (2012). In vitro antioxidant properties and total phenolic contents of wetland medicinal plants in Taiwan, **Botanical Studies**, **53**, 55-66.

The 5th Kamphaeng Phet Rajabhat University
National Conference