3

วารสารเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี | Agriculture and Technology Journal

ปีที่ 3 ฉบับที่ 2 พฤษภาคม – สิงหาคม 2565 | Vol.3 No.2 May – August 2022

Received: June 5, 2022; Revised: July 31, 2022; Accepted: August 1, 2022

# การวิเคราะห์ปริมาณสารซาโปนินและประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของเท้ายายม่อม

# Analysis of saponin content and antifungal activity of East Indian Arrowroot

**สุภัทรา ขบวนฉลาด[1*] และปวีณา สาลีทอง[1]**

**Supattra Khabuanchalad[1*]and Paweena Saleethong[1]**

*[1]คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์*

*[*]Corresponding Author E-mail Address : khabuanchalads@gmail.com*

## บทคัดย่อ

เท้ายายม่อมเป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปี มีหัวใต้ดินสำหรับสะสมอาหาร ประเทศไทยนิยมใช้หัวของเท้ายายม่อมในการทำแป้งสำหรับประกอบอาหารโดยเฉพาะอาหารหวาน ในขณะที่ส่วนใบ ลำต้น และส่วนอื่น ๆ ไม่มีการนำไปใช้ประโยชน์ ซึ่งจากการสกัดตัวอย่างใบ ลำต้น และผลของเท้ายายม่อมด้วยตัวทำละลายเอทานอล พบว่าส่วนของผลให้ปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด รองลงมาคือ ใบ และลำต้น ซึ่งเมื่อนำสารสกัดหยาบมาแยกและทดสอบชนิดของสารซาโปนินด้วยวิธี Liebermann-Burchard Test และวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของสารสกัดด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโคปี พบว่าสารสกัดประกอบด้วยสารซาโปนินประเภทไตรเทอร์ปีนอยด์ โดยใบจะมีปริมาณสารซาโปนินมากที่สุด (23.44 ไมโครกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง) รองลงมาคือ ผล (19.73 ไมโครกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง) และลำต้นของเท้ายายม่อม (7.79 ไมโครกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง) และเมื่อนำสารสกัดดังกล่าวไปทดสอบประสิทธิภาพการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งเป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในผัก ผลไม้ พบว่าสารสกัดซาโปนินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ โดยประสิทธิภาพของการยับยั้งจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัด

**คำสำคัญ:** ต้านเชื้อรา เท้ายายม่อม ซาโปนิน

## Abstract

Arrowroot (*Tacca leontopetaloides* Ktze*)* is an herbaceous plant which produces starchy tuber widely used to produce flour for various kinds of recipes, especially Thai desserts. However, medical and health benefits of other parts of the plant such as stalk, leaf and flower are understudied. The objective of this article is to present an analysis of saponin content in arrowroot and its inhibitory effects on the growth of *Colletotrichum gloeosporioides.* Ethanol extraction of arrowroot leaf, stem and fruit indicated that the fruit yielded the highest content of crude extract, followed by leaf and trunk, respectively. Classification of saponin in the crude extract was performed using Liebermann-Burchard Test and IR spectroscopy. The results indicated that the extract contained triterpenoid

saponin. The extraction was further analyzed using UV-Vis spectroscopy, and it was found that arrowroot leaf contained the highest amount of saponin (23.44 µg/gDW), followed by its fruit (19.73 µg/gDW) and stem (7.79 µg/gDW). The saponin extract was further tested for the efficiency against the growth of *Colletotrichum gloeosporioide* a fungus that causes diseases in fruits and vegetables. The results showed that saponin extract could inhibit the growth of the fungus and the inhibition efficiency increased with the increasing concentration of the extract.

**Keywords:** Antifungal, East Indian Arrowroot, Saponin

## บทนำ

ซาโปนินเป็นสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycoside compound) ซึ่งมีคุณสมบัติเกิดฟองได้ง่าย สารซาโปนินแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ ไตรเทอร์ปีนอยด์ไกลโคไซด์ (Triterpenoid glycoside) และ สเตอรอยด์ไกลโคไซด์ (Steroid glycoside) ซึ่งโครงสร้างทั้งสองนั้นแตกต่างกันในส่วนที่เป็นน้ำตาลในโครงสร้างของไกลโคไซด์ สารซาโปนินพบในพืชชนิดหนึ่งมีชื่อว่า Soapwort (*Saponaria officinalis* L.) ซึ่งเป็นพืชที่ใช้ทำสบู่ในสมัยโบราณ เนื่องจากในโครงสร้างมีทั้งส่วนที่ละลายในไขมันและส่วนที่ละลายในน้ำ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าในสมัยก่อนชาวประมงใช้สารซาโปนินจากเม็ดต้นจิกทะเลเป็นยาเบื่อปลา หรือใช้สารสกัดจากลูกปะคำดีควาย (*Sapindus mukorossi* Gareth) เป็นยากำจัดหอยทากซึ่งเป็นศัตรูพืชสำคัญในนาข้าว นอกจากการใช้พืชที่มีสารซาโปนินในชีวิตประจำวันแล้ว ปัจจุบันยังมีการนำสารสกัดซาโปนินมาประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ โดยมีรายงานว่าสารซาโปนินมีฤทธิ์ในการแก้อาการอักเสบ การต้านเชื้อรา ยีสต์ แบคทีเรีย พยาธิ หรือเนื้องอก นอกจากนี้สารซาโปนินยังถูกใช้เพื่อเป็นสารตั้งต้นในการผลิตยากลุ่มสเตอรอยด์ สารไตรเทอปีนซาโปนิน (Triterpene saponin) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของซาโปนินมีแนวโน้มในการป้องกันและรักษาโรคเกี่ยวกับการเผาผลาญอาหาร หรือโรคเกี่ยวกับหลอดเลือดหรือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Cheok et al., 2014) การค้นพบว่าสารซาโปนินนั้นมีฤทธิ์ทางยาโดยเฉพาะเป็นสารต้านมะเร็ง ทำให้การสกัดสารซาโปนินจากพืชเป็นที่นิยมมากขึ้น สารซาโปนินส่วนมากพบในพืชโดยพืชที่มีการสกัดสารซาโปนินมากที่สุดคือ โสม นอกจากนี้ยังมีการสกัดซาโปนินจากนมถั่วเหลือง รากของบีทชูการ์ หน่อไม้ฝรั่ง ผลแบล็คเบอรี่ สตอร์เบอรี่ และลูกท้อ นอกจากนี้สารซาโปนินยังสามารถพบได้ในเปลือกของหัวเท้ายายม่อมอีกด้วย

ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสารซาโปนินส่วนมากเป็นแอลกอฮอล์ หรือน้ำผสมแอลกอฮอล์ วิธีที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจัดเป็นกระบวนการสกัดที่ง่าย ราคาถูกแต่ยากต่อการกำจัดตัวทำละลายเนื่องจากต้องใช้ความร้อนสูงซึ่งอาจทำให้ซาโปนินสลายตัวได้ การใช้แอลกอฮอล์ เช่น เมทานอล หรือเอทานอล ในการสกัดเป็นวิธีที่นิยมมากเนื่องจากง่ายต่อการกำจัดตัวทำละลาย ดังนั้นการเลือกตัวทำละลายจึงมีผลต่อปริมาณและความบริสุทธิ์ของสารซาโปนินที่ได้ เช่น การสกัดตัวอย่างโสมด้วยบิวทานอล (*n*-butanol) ที่อิ่มตัวด้วยน้ำจะให้ปริมาณจินเซนโนไซด์ (Ginsenoside) มากกว่าการใช้เมทานอล และการสกัดเมล็ด *Glinus lotoides* ด้วยสารละลายเมทานอลผสมน้ำจะได้สารสกัดหยาบน้อยกว่าการใช้น้ำเป็นสารสกัดอย่างเดียว นอกจากนี้ตัวทำละลายที่ใช้สกัดยังมีผลต่อองค์ประกอบของซาโปนินและคุณสมบัติของสารสกัดที่ได้ (Guclu-Ustundag, 2007; Ashour, 2019)

สารสกัดซาโปนินจากพืชถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย มีรายงานว่าสารซาโปนินซึ่งสกัดจาก Huangshanyao ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรพื้นเมืองของประเทศจีนมีฤทธิ์ในการต้านภาวะ oxidative stress ของเซลล์ ต้านการเกิดมะเร็ง และโรคไขข้ออักเสบ (Dong et al., 2001; Wang et al., 2015) นอกจากนี้สารสกัดซาโปนินจากพืชดังกล่าวยังถูกนำมาใช้เป็นยาใช้ภายนอก

ในการรักษาโรคซึ่งเกิดจากเชื้อได้แก่ *Lymphatic tuberculosis* และ *Bacillus anthracis* (Dong et al., 2001; Zhao et al., 2014) ลักษมี และคณะ (2562) ได้ทำการสกัดสารซาโปนินจากพืชป่าชายเลนวงศ์ Rhizophoraceae และทดสอบการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์น้ำ ได้แก่ *Streptococcus agalactiae* SAAQ001, *Aeromonas hydrophila* AHAQ001, *Vibrio harveyi* VHAQ001 และ *V. parahemolyticus* พบว่า สารสกัดส่วนใหญ่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้งแกรมบวกและแกรมลบ

สารซาโปนินหลายชนิดมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อรา เนื่องจากลักษณะโครงสร้างของตัวยารักษาโรคผิวหนังที่เกิดจากเชื้อราเป็นสารพวกไกลโคไซด์โดยมีโครงสร้างคล้ายซาโปนิน มีรายงานว่าในประเทศจีนชาวบ้านนิยมนำกากเมล็ดชาที่ต้มแล้วมาแช่มือแช่เท้า เพื่อรักษาโรคซึ่งเกิดจากเชื้อราตามเล็บมือ เล็บเท้า (ฟิตรีนา, 2557) นอกจากนี้ยังมีการค้นพบว่าสารซาโปนินที่สกัดจากรากของสมุนไพรพื้นเมืองของจีนชื่อว่า *Dioscorea panthaica* Prain et Burk หรือ Huang Shanyao ในภาษาจีนนั้น มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรา *Candida albicans* โดยผลการศึกษาพบว่า สารสกัดซาโปนินจากพืชดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการเกิดไบโอฟิล์มของเชื้อ *C. albicans* โดยสารสกัดที่ความเข้มข้น 16 - 64 µg/ml สามารถยับยั้งขั้นตอนการแกะติดแผ่นโพลีสไตรีน (Polystyrene) ยับยั้งขั้นตอนของการเปลี่ยนจากยีสต์ไปเป็นการเจริญเติบโตเป็นเส้น ๆ ยับยั้งการสร้างฟอสโฟไลเปส (Phospholipase) และทำให้เกิด Endogenous Reactive Oxygen Species (ROS) ซึ่งก่อให้เกิดการแตกของผนังเซลล์ในที่สุด (Yang et al., 2018)

โดยทั่วไปสารซาโปนินนั้นมีอยู่ในพืชและทำหน้าที่เหมือนสารเคมีที่เป็นแนวป้องกันการโจมตีของเชื้อรา บางครั้งสารชนิดนี้จะไม่พบในพืชที่แข็งแรงสมบูรณ์แต่จะสร้างขึ้นเมื่อพืชถูกทำลายจากแมลง โรคพืชหรือการกลายพันธุ์ เพื่อเป็นการต้านเชื้อรา (Papadopoulou, 1999) อภิรดี และคณะ (2560) ได้ทำการสกัดสารซาโปนินจากเปลือกเงาะเพื่อใช้ในการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora palmivora* จากทุเรียนและเชื้อ *Colletotrichum* spp. จากมะละกอ และเชื้อ *Marasmius palmivorus* Sharples จากผลสละ พบว่าสารสกัดจากเปลือกเงาะสามารถยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพที่ความเข้มข้น 2,000 มิลลิกรัมต่อลิตร

ต้นเท้ายายม่อมเป็นพืชที่มีปริมาณสารซาโปนินค่อนข้างสูง แต่ไม่มีรายงานเกี่ยวกับปริมาณสารซาโปนินในส่วนต่าง ๆ ของต้นเท้ายายม่อม งานวิจัยนี้จึงทำการสกัดและเปรียบเทียบปริมาณสารซาโปนินในส่วนต่าง ๆ ของเท้ายายม่อม เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการนำสารสกัดดังกล่าวมาใช้ประโยชน์รวมถึงศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดซาโปนินในการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราซึ่งมักก่อให้เกิดโรคในพืช

## วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วิธีการสกัดและการทำให้ซาโปนินบริสุทธิ์ดัดแปลงจากวิธีของอภิรดี (2560) ดังนี้

**1. การสกัดแยกสารซาโปนินจากเท้ายายม่อม**

1.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่าง ลำต้น ใบ และผลของเท้ายายม่อมสีเขียวจำนวน 1 กิโลกรัม ล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นขนาด 0.5 เซนติเมตร อบที่ 50 - 60 องศาเซลเซียส ด้วยตู้อบลมร้อนจนน้ำหนักแห้งคงที่ จากนั้นบดให้ละเอียดเพื่อสกัดสารตามกรรมวิธี

1.2 การสกัดแบบแช่

ชั่งตัวอย่าง ลำต้น ใบ ผล และเมล็ด เท้ายายม่อม ที่อบแห้งแล้ว ตัวอย่างละ 100 กรัม แช่ด้วยสารละลายเอทานอลเข้มข้น 70% ปริมาตร 500 มิลลิลิตร โดยทำการแช่ 4 วัน และเขย่าวันละ 2 ครั้งนานครั้งละ 10 นาที เมื่อครบ 4 วัน กรองสารด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยตู้อบลมร้อนที่ 50 - 60 องศาเซลเซียส จนแห้งแล้วชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบที่ได้

**2. การทำให้สารซาโปนินบริสุทธิ์**

เพื่อศึกษาชนิดของซาโปนินในสารสกัดจากเท้ายายม่อม สารสกัดหยาบจากเท้ายายม่อมถูกนำมาสกัดต่อด้วยไดเอทิลอีเทอร์เก็บชั้นอีเทอร์ไว้ จากนั้นนำชั้นน้ำสกัดต่อด้วยบิวทานอลที่อิ่มตัวด้วยน้ำ เก็บชั้นบิวทานอลและชั้นน้ำไว้แล้วระเหยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแล้วนำมาทดสอบชนิดของซาโปนินต่อไป

**3. การทดสอบชนิดของซาโปนินโดยวิธี Liebermann-Burchard test** (อภิรดี, 2560)

นำสารซาโปนินที่สกัดได้มาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานซาโปนิน (Saponin) และ ดิจิโตนิน (Digitonin) โดยชั่งสารสกัด 100 มิลลิกรัม ชั่งซาโปนินและดิจิโตนินชนิดละ 100 มิลลิกรัม จากนั้นเติมเอทานอลเข้มข้น 70% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 0.2 โมลาร์ 10 มิลลิลิตร แล้วต้มให้เดือด 15 นาที แล้วนำไปใส่กรวยแยก จากนั้นเติมคลอโรฟอร์ม 15 มิลลิลิตร เก็บชั้นคลอโรฟอร์มไว้แล้วเติมโซเดียมซัลเฟตจนสารละลายใสและเติมกรดแอซิติค 1 มิลลิลิตร และกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2 มิลลิลิตร สังเกตสีเปรียบเทียบกับสีของดิจิโตนินซึ่งเป็นไตรเทอร์ปีนอยด์ซาโปนิน (Triterpenoid saponin) จะให้สีม่วงแดง และสเตียรอยด์ซาโปนิน (Steroid saponin) จะให้สีเขียว

**4. การวิเคราะห์สารสกัดซาโปนินจากเท้ายายม่อม**

4.1 การวิเคราะห์สารซาโปนินด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโคปี (FTIR)

วิเคราะห์สารสกัดซาโปนินด้วยเครื่อง FTIR (Thermo Scientific$^{TM}$ Nicolet$^{TM}$ iS50 FTIR) โดยทำการสแกนที่ช่วงเลขคลื่นตั้งแต่ 4,000 - 5,000 $cm^{-1}$ ความละเอียด 4 $cm^{-1}$ โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานซาโปนินและดิจิโตนิน

4.2 วิเคราะห์หาปริมาณสารซาโปนิน

นำตัวอย่างเท้ายายม่อมมาทำการสกัดอีกครั้งชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบที่ได้ จากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณซาโปนินรวมเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานซาโปนินและดิจิโตนิน โดยขั้นมีตอนดังนี้ (Madland, 2013)

การเตรียมสารมาตรฐาน และการสร้างกราฟมาตรฐาน โดยปิเปตสารมาตรฐานซาโปนินและดิจิโตนิน เข้มข้น 30,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 0, 15, 20, 25, 30, 35 และ 50 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดลองเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ในทุกความเข้มข้น นำไปวิเคราะห์หาปริมาณซาโปนินโดยเติมสารละลายวานิลีน (Vanilline) เข้มข้น 5% ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เติมกรดเปอร์คลอริกปริมาตร 0.8 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที แล้วแช่ในอ่างน้ำแข็ง 30 วินาที เติมกรดแอซิติก 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ดังนั้นทุกความเข้มข้นมีปริมาตรสุดท้าย 6.05 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Thermo Scientific, Genesis 10S UV-Vis Spectrometer) แล้วนำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้สร้างกราฟมาตรฐานให้ได้สมการเส้นตรงเพื่อหาค่าความชันและใช้คำนวณปริมาณสารซาโปนินรวมต่อไป

การเตรียมสารสกัดหยาบซาโปนินและการวิเคราะห์หาปริมาณซาโปนินรวม โดยนำสารสกัดหยาบทั้งหมดละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจาง 100, 500 และ 1,000 เท่า ด้วยน้ำกลั่น แล้วสกัดต่อด้วยบิวทานอลที่อิ่มตัวด้วยน้ำ แยกชั้นบิวทานอลมาระเหยตัวทำละลายออกแล้วชั่งสารสกัด 0.1 กรัม นำไปละลายน้ำและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 10 มิลลิลิตร ดูดตัวอย่างมา 50 ไมโครลิตร เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณซาโปนิน เช่นเดียวกับการสร้างกราฟมาตรฐาน

4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดซาโปนินต่อการยับยั้งเชื้อรา *Collectotrichum gloeosporioides*

การเตรียมเชื้อรา *Collectotrichum gloeosporioides* ทำโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Collectotrichum gloeosporioides* ด้วยเทคนิค transplanting โดยสกัดเชื้อราจากตัวอย่างพริกที่เป็นโรค ซึ่งเก็บตัวอย่างจากแปลงเกษตรกรผู้ปลูกพริก ต.ทมอ อ.ปราสาท จ.สุรินทร์ มาทำการฟอกเนื้อเยื่อให้สะอาดปราศจากเชื้อที่บริเวณพื้นผิว โดยทำการฟอกฆ่าเชื้อพริกทั้งผลด้วยแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 3 - 5 วินาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 5 ครั้ง ครั้งละ 1 นาที แล้วซับน้ำออกจากเนื้อเยื่อ ตัดเนื้อเยื่อตัวอย่างโรคซึ่งเป็นรอยต่อระหว่างเนื้อเยื่อปกติและเนื้อเยื่อที่เป็นโรควางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) แล้วนำจานเพาะเชื้อไปบ่มที่ 28±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน แล้วจึงทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Single spore isolation

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดซาโปนินต่อการยับยั้งเชื้อรา โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เทลงในจานเพาะเชื้อรอจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง จากนั้นใช้ไม้พันสำลีชุบเชื้อราและทำการป้ายให้ทั่วผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำที่เจาะรูวุ้นอาหารเลี้ยงเชื้อ (Cork border) จุ่มสารสกัดซาโปนินเข้มข้นเท่ากับ 0, 125, 250, 375 และ 500 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งมีไดเมทิลซัลฟอกไซด์เป็นตัวทำละลายวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการป้ายเชื้อราเรียบร้อยแล้ว จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องและเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยใช้สารยับยั้งเชื้อรา Probineb® (70%, Bayer) เป็นชุดควบคุมที่เป็นผลบวก (Positive control)

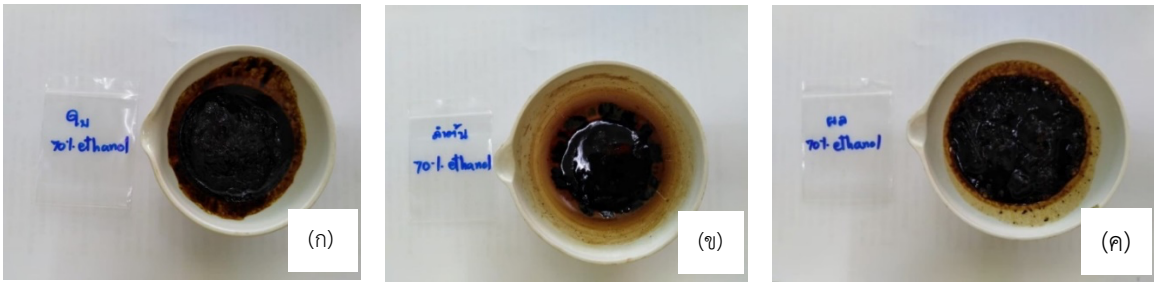
## ผลการวิจัย และการอภิปรายผล

### 1. การสกัดสารซาโปนินจากเท้ายายม่อม

การสกัดสารซาโปนินจากตัวอย่างผล ใบ และต้น เท้ายายม่อม ปริมาณ 100 กรัม ด้วยตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้น 70% พบว่าปริมาณสารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะดังรูปที่ 1 และมีปริมาณไม่เท่ากันสำหรับตัวอย่าง ผล ใบ และลำต้น (ตารางที่ 1) โดยตัวอย่างผลมีปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุดคือ 39.921% รองลงมาคือใบและลำต้นซึ่งมีปริมาณสารสกัดเท่ากับ 11.331% และ 9.245% ตามลำดับ

**ตารางที่ 1** ปริมาณสารสกัดหยาบจากตัวอย่างเท้ายายม่อม

| ตัวอย่าง | ร้อยละของสารสกัดหยาบที่ได้ |
|---|---|
| ผล | 39.921 |
| ใบ | 11.331 |
| ลำต้น | 9.245 |




**รูปที่ 1** ลักษณะของสารสกัดหยาบของตัวอย่างเท้ายายม่อม: ตัวอย่างใบ (ก) ตัวอย่างลำต้น (ข) และตัวอย่างผล (ค)

**2. การทำให้สารซาโปนินบริสุทธิ์**

สารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดตัวอย่างเท้ายายม่อมด้วยตัวทำละลายเอทานอลถูกนำมาทำให้บริสุทธิ์มากขึ้น โดยการสกัดซ้ำด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ ไดเอทิลอีเทอร์ บิวทานอล (*n*-butanol) และ น้ำ ซึ่งสารซาโปนินเป็นสารที่มีขั้วสามารถละลายได้ในตัวทำละลายที่มีขั้ว (Ashour et al., 2019) นอกจากนี้มีรายงานว่าซาโปนินนั้นละลายได้ดีในตัวทำละลายแอลกอฮอล์ เช่น บิวทานอล เนื่องจากความมีขั้วของตัวทำละลายนั้นเหมาะสม อุณหภูมิในการหมักแบบแช่ และการแพร่ของสารซาโปนินในเฟสของเหลวนั้นเหมาะสม (Padmavathi et al., 2015; Yun et al., 2016) และจากคุณสมบัติของบิวทานอลที่ไม่เข้ากับน้ำเมื่อใช้ตัวทำละลายบิวทานอลในการสกัดสารซาโปนินจะจากสามารถแยกชั้นบิวทานอลออกจากชั้นน้ำได้ ส่วนไดเอทิลอีเทอร์ซึ่งเป็นตัวทำละลายซึ่งไม่มีขั้วนั้นไม่เข้ากับน้ำและบิวทานอลเช่นกัน ดังนั้นการใช้ตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดในการสกัดสารทำให้สามารถแยกตัวทำละลายออกจากกันได้โดยการใช้กรวยแยก

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดในแต่ละชั้นของตัวทำละลายพบว่า สารสกัดในชั้นไดเอทิลอีเทอร์ในทุกตัวอย่างมีลักษณะหนืดมีสีน้ำตาลดำ มีปริมาณน้อยกว่า 0.1 กรัม ไม่สามารถทำการทดลองต่อได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ อภิรดี และคณะ (2560) ซึ่งทำการสกัดสารสกัดหยาบจากเปลือกเงาะและทำให้บริสุทธิ์ด้วยตัวทำละลายไดเอทิลอีเทอร์ บิวทานอล และน้ำ พบว่าสารสกัดที่ได้ในชั้นของไดเอทิลอีเทอร์นั้นมีลักษณะผงสีเหลืองและมีปริมาณน้อยมาก แสดงให้เห็นว่าสารสำคัญในสารสกัดหยาบนั้นละลายได้น้อยในไดเอทิลอีเทอร์ ทั้งนี้เนื่องจากสารซาโปนินนั้นเป็นสารที่มีขั้วจึงละลายได้น้อยในตัวทำละลายไดเอทิลอีเทอร์ซึ่งมีขั้วต่ำ (Padmavathi et al., 2015)

สำหรับสารสกัดในชั้นบิวทานอล และชั้นน้ำนั้น มีลักษณะหนืด สีน้ำตาลเข้ม โดยในชั้นน้ำจะมีปริมาณสารสกัดมากกว่าชั้นบิวทานอลสำหรับทั้งตัวอย่างใบ ลำต้น และผล โดยปริมาณสารสกัดในชั้นน้ำจากตัวอย่างผลมีมากที่สุด รองลงมา คือ ใบ และลำต้น ตามลำดับ โดยสารสกัดในชั้นบิวทานอลจะพบว่าในตัวอย่างใบมีสารสกัดมากที่สุด รองลงมา คือ ผล และลำต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

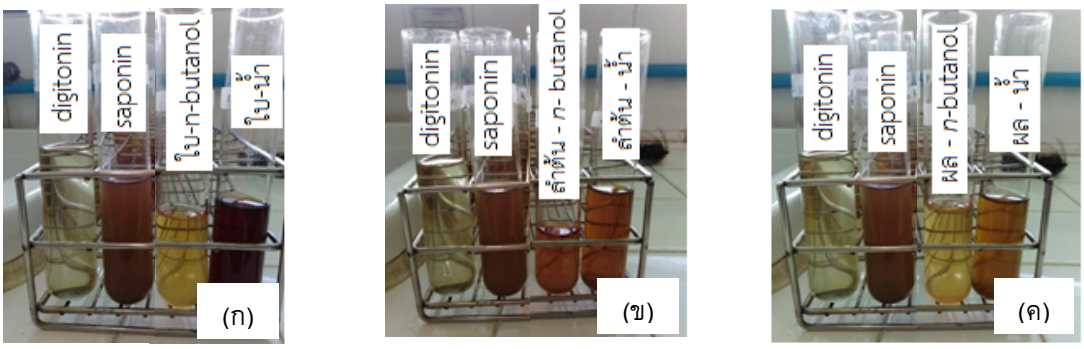
สารซาโปนินในพืชเป็นสารซึ่งละลายได้ดีในตัวทำละลายแอลกอฮอล์ เช่น บิวทานอล (Padmavathi et al., 2015; Yun et al., 2016) และเมื่อพิจารณาปริมาณสารสกัดจากชั้นบิวทานอลในตัวอย่าง ใบ ลำต้น และผล พบว่า ปริมาณสารสกัดในตัวอย่างใบนั้นมีมากที่สุด รองลงมา คือ ผล และลำต้น ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณสารซาโปนินด้วยวิธีทางสเปกโทรสโคปี (ตารางที่ 3) ซึ่งพบว่า ปริมาณสารซาโปนินนั้นมีในใบมากที่สุดรองลงมา คือ ผล และลำต้น แสดงให้เห็นว่าสารซาโปนินในตัวอย่างนั้นละลายได้ดีในตัวทำละลายบิวทานอล อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปริมาณสารสกัด (ตารางที่ 2) พบว่าปริมาณสารสกัดในชั้นน้ำนั้นมีมากกว่าในชั้นบิวทานอล ซึ่งอาจเนื่องจากมีสารอื่น ๆ ในพืชเจือปนในสารสกัดในชั้นน้ำด้วย

**ตารางที่ 2** ปริมาณสารสกัดในแต่ละชั้นตัวทำละลายของตัวอย่างสารสกัดหยาบเท้ายายม่อม

| ตัวทำละลาย | น้ำหนักสารสกัด (กรัม) | | |
|---|---|---|---|
| | ใบ | ลำต้น | ผล |
| ไดเอทิลอีเทอร์ | < 0.1 | < 0.1 | < 0.1 |
| บิวทานอล | 2.096 | 0.145 | 0.762 |
| น้ำ | 6.007 | 5.782 | 34.920 |

**3. การทดสอบสารกลุ่มประเภทของซาโปนิน**

การทดสอบชนิดของซาโปนินในสารสกัดด้วยวิธี Liebermann-Burchard test เป็นวิธีที่ใช้ทดสอบสารกลุ่มไตรเทอร์ปีนอยด์ โดยสารกลุ่มดังกล่าวจะให้สารละลายสีน้ำตาลแดงในการทดสอบ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานซาโปนิน ซึ่งจัดเป็นสารกลุ่มไตรเทอร์ปีนอยด์ และสารมาตรฐานดิจิโตนิน ซึ่งเป็นสารกลุ่มสเตอรอยด์ พบว่า ผลการทดสอบชนิดของซาโปนินที่สกัดจากชั้นบิวทานอล และน้ำ ดังแสดงในรูปที่ 2



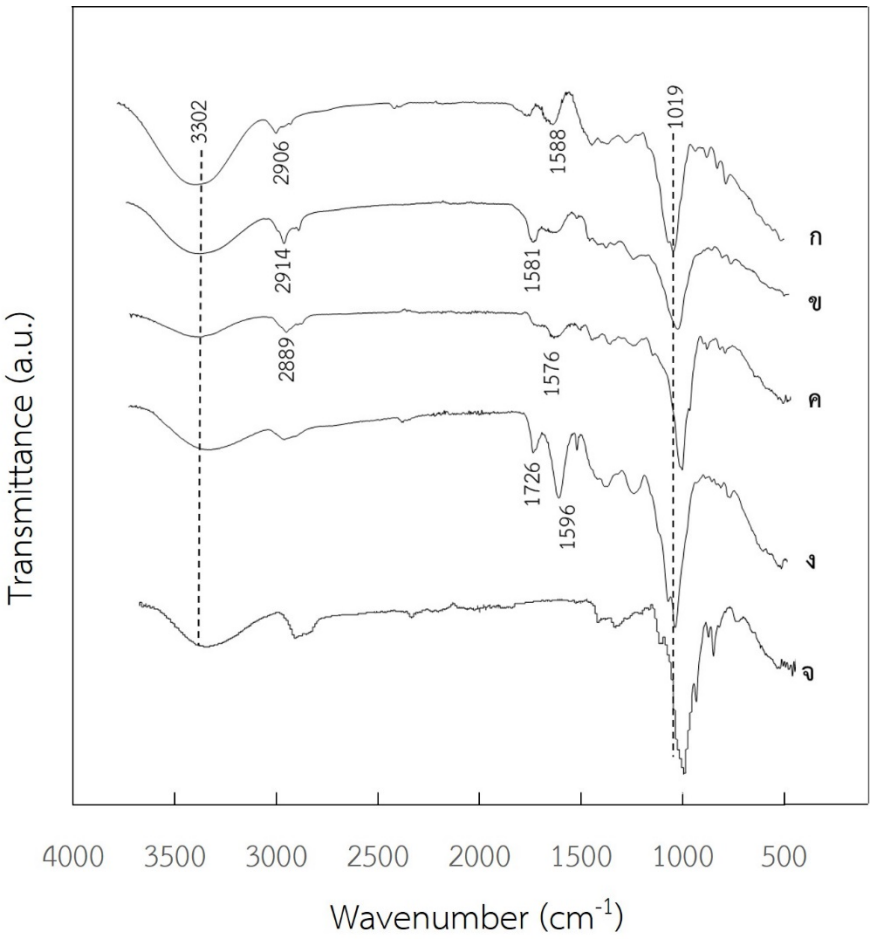

**รูปที่ 2** การทดสอบชนิดซาโปนินของตัวอย่างเท้ายายม่อมเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานซาโปนินและดิจิโทนิน จากตัวอย่าง ใบ (ก) ลำต้น (ข) และผล (ค)

จากรูปที่ 2 ผลการทดสอบด้วยวิธี Liebermann-Burchard test แสดงให้เห็นว่าสีของสารมาตรฐานดิจิโตนิน ซึ่งเป็นสเตอรอยด์ซาโปนินนั้นมีสีเขียวอ่อน ในขณะที่สีของสารมาตรฐานซาโปนินซึ่งเป็นไตรเทอร์ปีนอยด์ซาโปนินนั้นมีสีน้ำตาลแดง โดยสีของสารสกัดจาก ใบ ผล และลำต้นของเท้ายายม่อมทั้งที่ใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำและบิวทานอลนั้นให้สีน้ำตาลแดง แสดงว่า ในสารสกัดประกอบด้วยซาโปนินที่เป็นไตรเทอร์ปีนอยด์ซาโปนินมากกว่าสเตอรอยด์ซาโปนิน โดยสารละลายในชั้นน้ำจะมีสีเข้มกว่าสารละลายในชั้นบิวทานอล

**4. การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันในสารสกัดเท้ายายม่อมด้วยเทคนิค IR Spectroscopy**

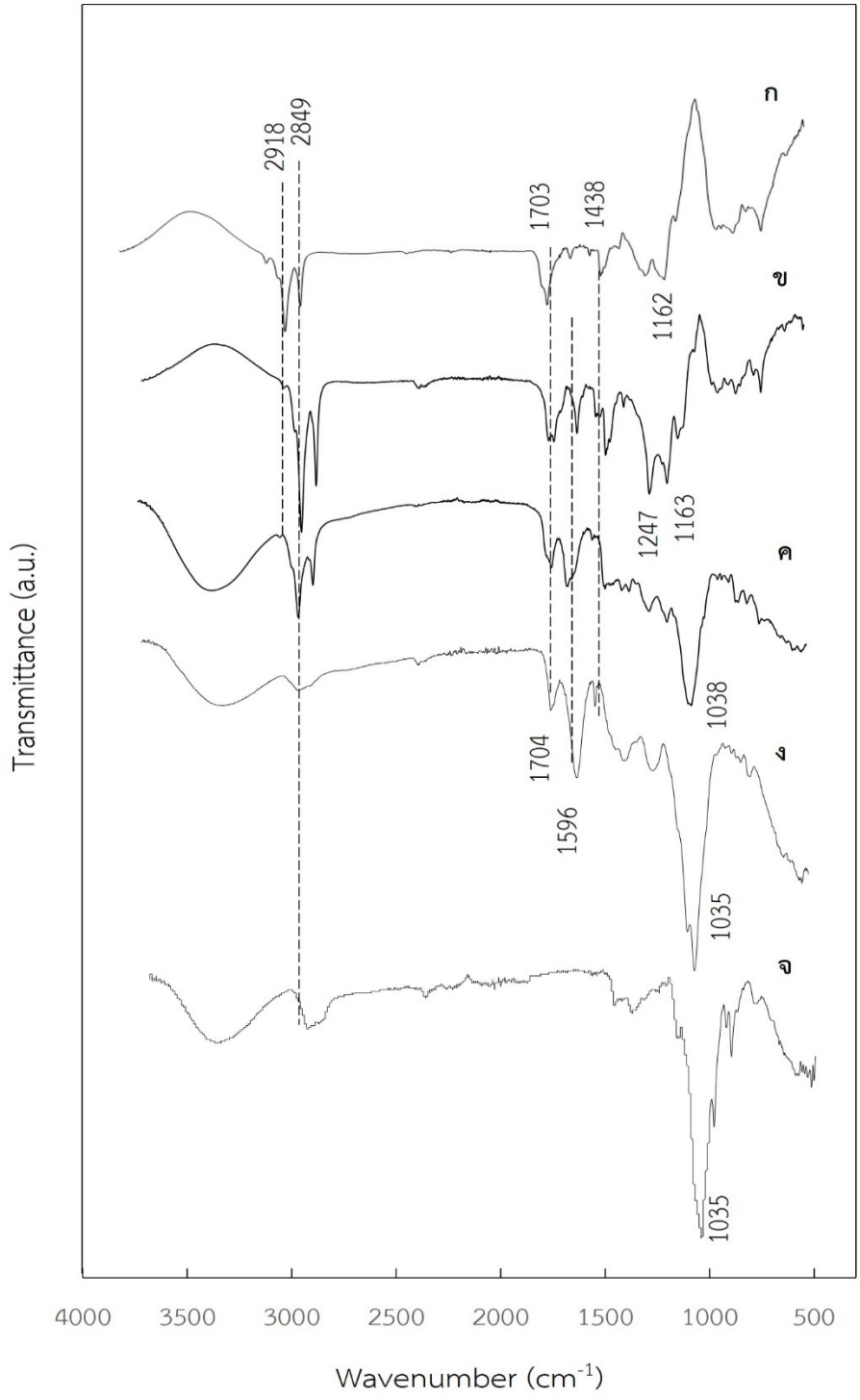
สเปกตราของสารสกัดจากตัวอย่างในชั้นสารสกัดบิวทานอลใน ใบ ลำต้น และผล แสดงในรูปที่ 3 ซึ่งเห็นว่าสเปกตราของตัวอย่างทั้งสามนั้นมีลักษณะคล้ายกัน โดยสเปกตราทั้งสามแสดงพีคที่ค่าความยาวคลื่นประมาณ 3292 - 3333 $cm^{-1}$ ซึ่งเกิดจากการยืดหดของหมู่ -OH ในโครงสร้างของซาโปนิน และหมู่ -OH จากตัวทำละลายบิวทานอล พีคที่ค่าความยาวคลื่นประมาณ 2889 - 2914 $cm^{-1}$ เกิดจากการยืดหดของหมู่ C-H ของหมู่อัลเคนในโครงสร้างของซาโปนิน พีคที่ค่าความยาวคลื่นประมาณ 1576 - 1588 $cm^{-1}$ เกิดจากหมู่อะโรมาติกของ C-C ของวงแหวนในโครงสร้างของซาโปนิน และพีคที่ 1019 $cm^{-1}$ เป็นพีคที่เกิดจากหมู่ $CH_3$ ในโครงสร้างของซาโปนิน (Ashokkumar, 2014; Gouvinhas, 2021)

รูปที่ 4 แสดงสเปกตราของสารสกัดจากตัวอย่างในชั้นไดเอทิลอีเทอร์ในตัวอย่าง ใบ ลำต้น และผล ซึ่งสเปกตราของตัวอย่างทั้งสามแสดงพีคที่ตำแหน่งคล้ายกัน โดยมีพีคที่เลขคลื่นประมาณ 2915 – 2918 $cm^{-1}$ และ 2847 – 2849 $cm^{-1}$ ซึ่งเกิดจากการยืดหดของหมู่ C-H ในโครงสร้างของซาโปนินและโครงสร้างของไดเอทิลอีเทอร์ พีคที่เลขคลื่นประมาณ 1703 - 1706 $cm^{-1}$ ซึ่งเกิดจากการยืดหดของหมู่ C=O ในโครงสร้างของซาโปนิน พีคที่ค่าความยาวคลื่นประมาณ 1598 - 1604 $cm^{-1}$ ซึ่งเกิดจากหมู่ C=C ในวงแหวนอะโรมาติกในโครงสร้างของซาโปนิน พีคที่ค่าความยาวคลื่นประมาณ 1438 - 1441 $cm^{-1}$ ซึ่งเกิดจากการยืดหดของหมู่ C-H ของหมู่อัลเคน และพีคที่เลขคลื่น 1038 $cm^{-1}$ ซึ่งเกิดจากหมู่ C-O ในโครงสร้าง (Yu et al., 2021)

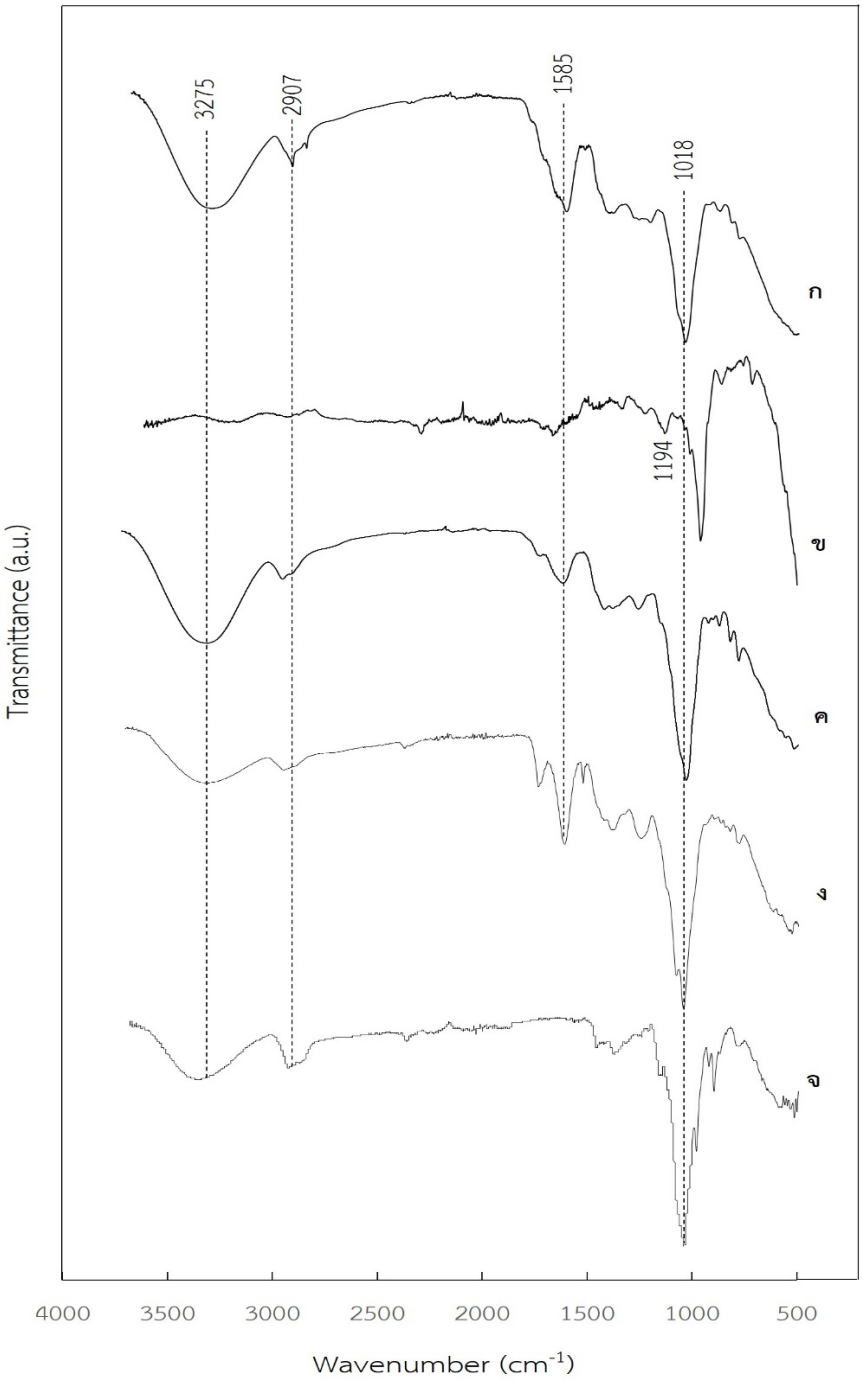



**รูปที่ 3** สเปกตราของสารสกัดในชั้นบิวทานอลจากตัวอย่าง ใบ (ก) ลำต้น (ข) ผล (ค) สารมาตรฐานซาโปนิน (ง) และสารมาตรฐานดิจิโตนิน (จ)

รูปที่ 5 แสดงสเปกตราของสารสกัดในชั้นน้ำจากตัวอย่าง ใบ ลำต้น และผล โดยสเปกตราทั้งสามแสดงพีคที่ค่าความยาวคลื่นประมาณ 3297 และ 3275 $cm^{-1}$ ซึ่งเกิดจากหมู่ –OH ในตัวทำละลายน้ำ นอกจากนี้ยังพบพีคที่ความยาวคลื่นประมาณ 2907 $cm^{-1}$ ซึ่งเกิดจากการยืดหดของหมู่ C-H ในอัลเคน และพีคที่ความยาวคลื่นประมาณ 1149 - 1241 $cm^{-1}$ ซึ่งเกิดจากการยืดหดของหมู่ C-O พีคที่ความยาวคลื่น 1585 – 1581 $cm^{-1}$ ซึ่งเกิดจากหมู่ C=C ของวงแหวนอะโรมาติกในโครงสร้างของซาโปนิน และพีคที่ความยาวคลื่นประมาณ 1010 – 1018 $cm^{-1}$ ซึ่งเกิดจากหมู่ C-O ของโครงสร้างซาโปนิน



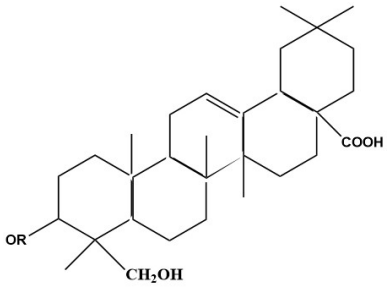

**รูปที่ 4** สเปกตราของสารสกัดในชั้นไดเอทิลอีเทอร์จากตัวอย่าง ใบ (ก) ลำต้น (ข) ผล (ค) สารมาตรฐานซาโปนิน (ง) และสารมาตรฐานดิจิโตนิน (จ)




**รูปที่ 5** สเปกตราของสารสกัดในชั้นน้ำจากตัวอย่าง ใบ (ก) ลำต้น (ข) ผล (ค) สารมาตรฐานซาโปนิน (ง) และสารมาตรฐานดิจิโตนิน (จ)

เมื่อเปรียบเทียบสเปกตราของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐานซาโปนินและดิจิโตนิน พบว่า สเปกตรัมของซาโปนิน ซึ่งเป็นไตรเทอร์ปีนอยด์ซาโปนิน นั้นมีพีคที่เลขคลื่น 1596 $cm^{-1}$ และ 1726 $cm^{-1}$ ซึ่งเป็นพีคที่เกิดจากหมู่ C=C ของวงแหวนอะโรมาติกในโครงสร้างของไตรเทอร์ปีนอยด์ซาโปนิน ดังรูปที่ 6 ซึ่งพีคที่ตำแหน่งเลขคลื่นดังกล่าวปรากฏในสเปกตรัมของตัวอย่างสารสกัดจากใบ ลำต้น และผลของเท้ายายม่อม ทั้งในชั้นบิวทานอล ชั้นไดเอทิลอีเทอร์ และชั้นน้ำด้วย แสดงให้เห็นว่า

ซาโปนินที่สกัดได้นั้นเป็นซาโปนินประเภทไตรเทอร์ปีนอยด์ซาโปนิน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบ Liebermann-Burchard test




**รูปที่ 6** โครงสร้างของไตรเทอร์ปีนอยด์ซาโปนิน (Ashour et al., 2019)

**5. การวิเคราะห์ปริมาณซาโปนิน**

ปริมาณสารซาโปนินในตัวอย่าง ลำต้น ใบ และผลของเท้ายายม่อม ได้ถูกวิเคราะห์โดยเทคนิคอัลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโทรสโคปีตามวิธีของ Madland (2013) โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสีที่เกิดขึ้นเมื่อเกิดปฏิกิริยาระหว่างซาโปนินและวานิลิน (Vanilline) ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร และใช้สารมาตรฐานซาโปนินในการสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณหาปริมาณซาโปนินในสารตัวอย่างจากค่าการดูดกลืนแสงดังแสดงในตารางที่ 3 ซึ่งเมื่อคำนวณแล้วพบว่าปริมาณสารซาโปนินมีอยู่ในใบมากที่สุดนั่นคือ 23.44 ไมโครกรัมต่อใบแห้งหนึ่งกรัม รองลงมาคือที่ ผล 19.73 ไมโครกรัมต่อตัวอย่างแห้งหนึ่งกรัม และลำต้น 7.79 ไมโครกรัมต่อตัวอย่างแห้งหนึ่งกรัม ตามลำดับ

**ตารางที่ 3** ปริมาณซาโปนินของตัวอย่างเท้ายายม่อม

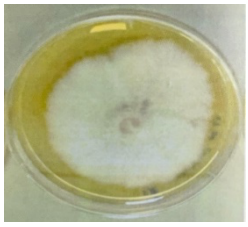
| ตัวอย่าง ท้าวยายม่อม | ค่าการดูดกลืนแสง | ความเข้มข้นของซาโปนินในสารสกัด (ไมโครกรัมต่อลิตร) | ปริมาณสารซาโปนินในตัวอย่าง (ไมโครกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง) |
|---|---|---|---|
| ใบ | 0.696 | 193.73 | 23.44 |
| ผล | 0.650 | 163.06 | 19.73 |
| ลำต้น | 0.502 | 64.40 | 7.79 |

**6. ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราจากตัวอย่างพริก**

เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่ใช้ในการทดสอบสกัดได้จากตัวอย่างพริกแล้วนำมาเลี้ยง และทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค tissue transplanting บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ดังรูปที่ 7 ซึ่งจากการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราของสารสกัดซาโปนินจากใบเท้ายายม่อม ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 125, 250, 375 และ 500 ไมโครกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับสารต้านเชื้อรา Probineb® ซึ่งถือว่าเป็นชุดควบคุมที่เป็นผลบวก พบว่า สารสกัดซาโปนินสามารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ โดยสังเกตได้จากบริเวณใส (Clear zone) รอบ ๆ จุดที่หยดสารสกัดซาโปนินซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อราเจริญเติบโตได้น้อย (รูปที่ 8) โดยความกว้างของบริเวณใสจะแปรผันตามความเข้มข้นสารสกัด (ตารางที่ 3) ส่วนบริเวณที่ปรากฏเป็นสีขาวในจานเพาะเชื้อแสดงให้เห็นถึงสปอร์ของเชื้อราที่มีการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yang et al. (2018) ซึ่งรายงานว่า ซาโปนินสามารถยับยั้งการสร้างฟอสโฟไลเปส (Phospholipase) และทำให้เกิด ROS ขึ้นในเซลล์ของเชื้อราซึ่งก่อให้เกิดการแตกของผนังเซลล์ในที่สุด นอกจากนี้ยังมีรายงาน

ว่า สารสกัดจากพืชประเภทเทอร์ปีนอยด์สามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีน และเอนไซม์ที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อราส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลาย (Grill and Hoally, 2006)

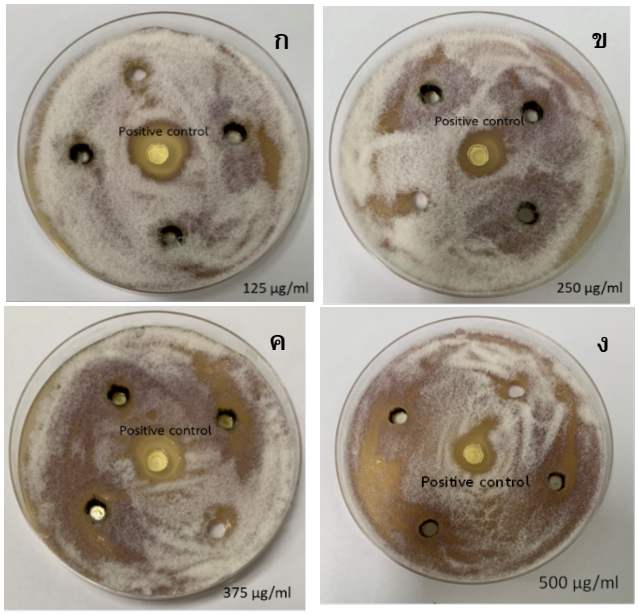
โดยสารสกัดดังกล่าวที่ความเข้มข้น 16 - 64 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งขั้นตอนการแกะติดแผ่นโพลีสไตรีน (Polystyrene) ยับยั้งขั้นตอนของการเปลี่ยนจากยีสต์ไปเป็นการเจริญเติบโตเป็นเส้น ๆ ยับยั้งการสร้างฟอสโฟไลเปส (Phospholipase) และทำให้เกิด ROS ซึ่งก่อให้เกิดการแตกของผนังเซลล์ในที่สุด (Yang et al., 2018)



**รูปที่ 7** เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ที่สกัดจากตัวอย่างพริกแล้วนำมาเพาะเลี้ยงและทำให้บริสุทธิ์

**ตารางที่ 4** เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณการยับยั้ง (เซนติเมตร) ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่แตกต่างกัน

| ความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) | เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวรการยับยั้ง (เซนติเมตร) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ชุดควบคุมที่เป็นผลบวก | จุดที่ 1 | จุดที่ 2 | จุดที่ 3 | จุดที่ 4 | เฉลี่ย |
| 125 | 2.00 | 1.00 | 2.00 | 0.00 | 0.00 | 0.750 |
| 250 | 1.50 | 2.50 | 2.50 | 3.00 | 0.00 | 2.000 |
| 375 | 1.60 | 3.00 | 2.30 | 1.00 | 3.00 | 2.325 |
| 500 | 1.50 | 1.00 | 2.60 | 2.80 | 3.30 | 2.425 |




**รูปที่ 8** ประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ของสารสกัดจากใบเท้ายายม่อมเข้มข้น 125 (ก) 250 (ข) 375 (ค) และ 500 ไมโครกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง (ง)

## บทสรุป

งานวิจัยนี้เป็นการสกัดสารซาโปนินจากตัวอย่าง ใบ ลำต้น และผลของเท้ายายม่อมด้วยตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลการทดลองพบว่าตัวอย่างผลให้ปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด รองลงมาคือ ตัวอย่างใบ และลำต้น ตามลำดับ เมื่อทำการสกัดสารสกัดหยาบซ้ำอีกครั้งด้วยตัวทำละลายน้ำ ไดเมทิลอีเทอร์ และบิวทานอล พบว่า สารสกัดส่วนใหญ่ละลายในตัวทำละลายน้ำและบิวทานอล โดยเมื่อทดสอบชนิดของสารซาโปนินในชั้นตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ พบว่าเป็นซาโปนินชนิดที่มีโครงสร้างเป็นไตรเทอร์ปีนอยด์ นอกจากนี้ผลจากการวิเคราะห์โครงสร้างของสารสกัดด้วยเทคนิคอินฟราเรดสเปกโทรสโคปีพบว่า โครงสร้างของสารสกัดประกอบด้วยหมู่ C=C ในวงอะโรเมติกซึ่งเป็นโครงสร้างของไตรเทอร์ปีนอยด์ และการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งสกัดจากตัวอย่างพริก พบว่า สารสกัดซาโปนินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้ โดยประสิทธิภาพการยับยั้งจะแปรผันตามความเข้มข้นของสารสกัด

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ ได้รับเงินทุนสนับสนุนการวิจัยจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ประจำปีงบประมาณ 2563

## เอกสารอ้างอิง

ฟิตรีนา ดาราแม. (2557). ปริมาณของสารซาโปนินในกากเมล็ดชา *Camellia oleifera* Abel. และการออกฤทธิ์ต่อแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Fabricius). วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ลักษมี วิทยา, อุทร เจริญเดช และสิทธิโชค จันทร์ย่อง. (2561). สารสกัดพืชป่าชายเลนวงศ์ Rhizophoraceae เป็นแหล่งสารทุติยภูมิของซาโปนิน สำหรับต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคสัตว์น้ำ. รายงานการวิจัย. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ตรัง.

อภิรดี กอร์ปไพบูลย์, อรวินทินี ชูศรี และศิริพร เต็งรัง. (2560). การพัฒนาวิธีการสกัดสารซาโปนินจากเปลือกเงาะและการทดสอบประสิทธิภาพของซาโปนิน. วารสารวิชาการเกษตร. 35(1): 60-73.

Ashokkumar R. and Ramaswamy M. (2014). Photochemical Screening by FTIR spectroscopic analysis of leaf extracts of selected Indian Medicinal plants. International Journal of Current Microbiology and Applied Science. 3(1): 395-406.

Ashour A.S., Aziz M.M.A. and Melad A.S.G. (2019). A review on saponins from medicinal plants: chemistry, isolation, and determination. Journal of nanomedicine research. 7(4): 282-288.

Cheok C.Y., Salman H.A.K. and Sulaiman R. (2014). Extraction and quantification of saponins: A review. Food Research International. 59: 16–40.

Dong M., Feng X.Z., Wang B.X., Wu L.J. and Ikejima T. (2001). Two novel furostanol saponins from the rhizomes of *Dioscorea panthaica* prain et burkill and their cytotoxic activity. Tetrahedron. 57(3): 501–506.

El Aziz M.M.A, Ashour A.S and Melad A.S.G. (2019). A review on saponins from medicinal plants: chemistry, isolation, and determination. Journal of Nanomedicine Research. 8(1): 282-288.

Gill A.O. and Holley R.A. (2006). Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakeicellular* membranes by plant oil aromatics. International Journal of Food Microbiology. 106: 1-9.

Guclu-Ustundag O. and Mazza G. (2007). Saponins: properties, applications and processing. Critical Reviews in Foods Science and Nutrition. 47: 231-258.

Madland E. (2013). Extraction Isolation and structure Elucidation of Saponins from *Herniaria Incana*. Department of Chemistry. Norwegian University of Science and Technology. Trondheim.

Padmavathi R., Bakkiyaraj D., Tajuddin N. and Pandian S.K. (2015). Effect of 2, 4-di-tert-butylphenol on growth and biofilm formation by an opportunistic fungus. Candida albicans. Biofouling. 31(7): 565–574.

Papadopoulou K., Melton R.E., Leggett M., Daniels M.J. and Osbourn A.E. (1999). Compromised Disease Resistance in Saponin-Deficient Plants. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 96: 12923-12928.

Wang W., Zhao Y., Jing W., Zhang J., Xiao H. Zha Q. and Liu A. (2015). Ultrahigh-performance liquid chromatography-ion trap mass spectrometry characterization of the steroidal saponins of Dioscorea panthaica Prain et Burkill and its application for accelerating the isolation and structural elucidation of steroidal saponins. Steroids. 95: 51–65.

Yang L., Liu X., Zhuang X., Feng X., Zhong L. and Ma T. (2018). Antifungal effects of saponin extract from rhizomes of *Dioscorea panthaica* Prain et Burk against *Candida albicans*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 1-12.

Yu M., Gouvinhas I., Rocha J. and Barros A.I.R.N.A. (2021). Phytochemical and antioxidant analysis of medicinal and food plants towards bioactive food and pharmaceutical resources. Scientific Report. 11(1): 10041-10054.

Yun D.G. and Lee D.G. (2016). Silibinin triggers yeast apoptosis related to mitochondrial $Ca^{2+}$ influx in Candida albicans. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 80: 1–9.

Zhao Y., Wang W., Jing W. and Liu A. (2014). Advances on chemical constituents, pharmacological effects and clinical applications of *Dioscorea panthaicae* rhizome. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae. 20: 235 - 242.