บทที่ 4
ผลการวิจัย

1. การสกัดใบพลู

จากการนำใบพลูสดน้ำหนัก 2 กิโลกรัม มาแช่ด้วยสารละลายเอทานอลและโพรพิลีนไกลคอล ได้ผลดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางกายภาพ และเปอร์เซ็นต์ผลผลิตของสารสกัดใบพลูที่แช่ด้วยตัวทำละลาย

ชนิดของตัวทำละลาย	น้ำหนักสารสกัดหยาบ (กรัม)	เปอร์เซ็นต์ผลผลิต (%กรัมต่อน้ำหนัก)	ลักษณะทางกายภาพ
เอทานอล	270.00	13.50	เหนียว สีน้ำตาลเข้ม
โพรพิลีนไกลคอล	186.50	9.33	เหลวหนืด สีน้ำตาล

จากตารางจะเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์ผลผลิตสารสกัดพลูละลายด้วยเอทานอลได้มากกว่าโพรพิลีนไกลคอล เนื่องจากพลูมีสารที่สำคัญ เช่น chavibetol, egenol, allyl pyrocatechol, hydroxylchavicol ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของสารประกอบฟีนอลิก (Dwivedi & Tripathi, 2014) จะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เมทานอล เอทานอล อะซิโตน อีเทอร์ และเอธิลอะซิเตรต (Stalikas, 2007) โดยปกติสารสำคัญในพืชแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับความมีขั้วความสามารถในการสร้างพันธะไฮโดรเจนและการสร้างแรงดึงดูดระหว่าง โมเลกุลเป็นต้น ซึ่งพบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลจะสกัดสาระสำคัญออกมาได้ในปริมาณที่มากกว่าเนื่องจากโมเลกุลของเอทานอล (C_2H_5OH) มีขนาดเล็กกว่าโพรพิลีนไกลคอล ($CH_3CH(OH)CH_2OH$) จึงทำให้สามารถเข้าล้อมจับและสร้างพันธะไฮโดรเจนได้ดีกว่ากว่าโมเลกุลของโพรพิลีนไกลคอล (Johnson, 1999) นอกจากนั้นเปอร์เซ็นต์ผลผลิตสารสกัดพลูที่แช่ด้วยตัวทำละลายเอทานอลได้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตมากกว่า Rugthaworn และคณะ (2010) ที่ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดใบพลูด้วยการสกัดเย็นด้วยเอทานอล ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในห้องน้ำสาธารณะได้เปอร์เซ็นต์ผลผลิต10.53 และจากการศึกษาประสิทธิภาพสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในพืชในวงศ์ Pieraceae ทางเหนือประเทศอินเดีย ได้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตการสกัดพลูด้วยละลายเอทานอลเท่ากับ 8.1±0.95 (Tamuly et al., 2015) แต่ได้ผลแตกต่างจาก Sukatta (2004) ที่รายงานการศึกษาสกัดใบ

พลูแห้งด้วย 95% เอทานอล สารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะเป็นสารเหนียว สีเขียวปนน้ำตาลเข้มและได้เปอร์เซ็นต์ผลผลิต 1.49 ซึ่งน่าจะเกิดจากการใช้ใบพลูแห้งจึงได้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตน้อย

2. การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aurues*, *P. aeruginosa, C. albicans* และ *E.coli* ของสารสกัดใบพลู

2.1 จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดใบพลู ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aurues, P. aeruginosa*, *C. albicans* และ *E. coli* ด้วยวิธี Disc diffusion technique พบว่า สารสกัดใบพลูละลายในเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำการทดสอบได้ โดยมีความแตกอย่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 4 แสดงบริเวณการยับยั้งการเจริญของสารสกัดใบพลูจะต้านเชื้อ *S. aurues* ได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 12.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ได้บริเวณยับยั้งเชื้อ 2.93 ± 0.28 เซนติเมตร และต้านเชื้อ *E. coli* ที่ความเข้มข้นที่ 50.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ได้บริเวณการยับยั้งการเจริญ 1.33±0.05 เซนติเมตร ความเข้มข้นที่ 100.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ได้บริเวณการยับยั้งการเจริญ 1.63±0.15 เซนติเมตร ซึ่งได้ผลการทดลองที่ดีกว่า จากรายงานการทดสอบพืชสมุนไพรไทย มะม่วงหิมพานต์ หมรุยหอม มันปู มะเดื่ออุทุมพร ทำมัง กระเพรา โหระพา ชะพู มะกอก หว้า เสม็ดชุน พลู และใบว่านพญานร พบว่าสารสกัดพลูละลายในเอทานอลมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อ *S. aurues* ความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ได้บริเวณการยับยั้งการเจริญ เท่ากับ 2.20 เซนติเมตรและสามารถต้าน *E. coli* ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ได้บริเวณการยับยั้งการเจริญ 0.80 เซนติเมตรและ 1.10 เซนติเมตร ตามลำดับ (Tangpong et al., 2014) สอดคล้องกับรายงานการศึกษาพบว่าสารสกัดพลูละลายด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อ *S. aurues* โดยมีค่า antimicrobial Index เท่ากับ 4.95 เนื่องจากสารสกัดพลู สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aurues* ในกลุ่ม β-hemolytic streptococcus group A, *E. coli, P. aeruginosa, Bacillus subtilis* และ *Aspergillus niger* พบว่าสารสกัดพลูแห้งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อที่ทำการทดสอบทุกสายพันธุ์ (Rugthaworn et al., 2010) นอกจากนั้น Khamdang และคณะ (2012) ได้พบว่าสารสกัดพลูละลายด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ*E. faecalis* ที่ความเข้มข้นที่ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ได้บริเวณการยับยั้งการเจริญ 1.24 ± 0.01 เซนติเมตร โดยมีค่า antimicrobial Index เท่ากับ 1.5 ± 0.03 และมีการรายงานการทดลองพบว่าสารสกัดพลูละลายด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุดได้บริเวณยับยั้งเชื้อ 2.10 เซนติเมตร รองลงมาคือ สารสกัดจากฝรั่ง ชุมเห็ดเทศ และสบู่ดำ ส่วนสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุด คือสารสกัดจากฝรั่งมี

บริเวณยับยั้งเชื้อ 2.16 เซนติเมตร รองลงมา คือ สารสกัดพลู ชุมเห็ดเทศ และสบู่ดำได้บริเวณการยับยั้งการเจริญ 1.50 เซนติเมตร 1.43 เซนติเมตรและ 1.40 เซนติเมตรตามลำดับ (Swangarrum & Junlak , 2011) จะเห็นได้ว่าความเข้มข้นของสารสกัดที่มากกว่าจะมีค่าบริเวณการยับยั้งมากกว่าความเข้มข้นของสารสกัดที่น้อยกว่าทำให้ทราบว่าค่าบริเวณการยับยั้งการเจริญแปรผันโดยตรงกับปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดทั้งเชื้อ *S. aurues* และ *P. aureus* (Pojananukit & Kajomcheappunngam, 2010)ส่วนสารสารสกัดพลูละลายด้วยโพรพิลีนไกลคอลไม่สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ *S. aurues, P. aeruginosa , C. albican* และ *E.coli* ได้จากวิธีนี้ จึงได้ใช้วิธีเจือจางในอาหารเหลวร่วมด้วย พบว่าสารสกัดพลูด้วยสารละลายโพรพิลีนไกลคอลสามารถยังยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 4.2 แสดงบริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aurues*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* และ *E.coli* ของสารสกัดใบพลู

ความเข้มข้น (mg/ml)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณการยับยั้งการเจริญ (เซนติเมตร)							
	สารสกัดใบพลูละลายด้วยเอทานอล				สารสกัดใบพลูละลายด้วยโพรพิลีนไกลคอล			
	S. aurues	*P. aeruginosa*	*C. albicans*	*E. coli*	*S. aurues*	*P. aeruginosa*	*C. albicans*	*E. coli*
100	3.53 ±0.10^{a}	1.80 ±0.15^{b}	1.3±0.30^{b,c}	1.63±0.15^{b}	0	0	0	0
50	3.51± 0.30^{a}	1.47±0.10^{b,c}	1.13±0.20^{b,c}	1.33±0.05^{b,c}	0	0	0	0
25	3.10± 0.28^{a}	0.93±.007^{c}	0.60±0.14^{c}	1.03±0.24^{b,c}	0	0	0	0
12.50	2.93± 0.28^{b,c}	0	0	0	0	0	0	0
6.25	0	0	0	0	0	0	0	0
3.125	0	0	0	0	0	0	0	0
1.56	0	0	0	0	0	0	0	0
เจนตาไมซิน	5.02 ± 0.23^{d}	4.5 ± 0.22^{d}	3.42 ± 0.12^{a}	3.2 ± 0.34^{a}	4.42 ± 0.24^{d}	3.5 ± 0.22^{a}	4.32 ± 0.12^{d}	3.12 ± 0.34^{a}
เอทานอล	0	0	0	0	-	-	-	-
โพรพิลีนไกลคอล	-	-	-	-	0	0	0	0

หมายเหตุ a,b,c,d แสดงถึงผลการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

- ไม่ได้ทดสอบ

ตารางที่ 4.3 การเจือจางในอาหารเหลว (Broth Dilution inhibit Bacteria) ของสารสกัดใบพลู

ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	สารสกัดพลูละลายด้วยเอทานอล				สารสกัดพลูละลายด้วยโพรพิลีนไกลคอล			
	S. aurues	*P. aeruginosa*	*C. albicans*	*E. coli*	*S. aurues*	*P. aeruginosa*	*C. albicans*	*E. coli*
100	+	+	+	+	+	+	+	+
50	+	+	+	+	+	+	+	+
25	+	+	+	+	+	+	+	-
12.50	+	+	+	-	+	+	+	-
6.25	+	+	+	-	-	+	+	-
3.125	+	+	+	-	-	-	-	-
1.56	-	-	-	-	-	-	-	-
0	-	-	-	-	-	-	-	-

+ ยับยั้งเชื้อได้ (หลอดใส)

- ยับยั้งเชื้อไม่ได้ (หลอดขุ่น)

2.2 ผลการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ของสารสกัดพลู ด้วยวิธีการเจือจางในอาหารเหลว

จากผลการหาค่าบริเวณการยับยั้งการเจริญเป็นการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นว่าสารสกัดนั้นมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้หรือไม่ (Pojananukit & Kajomcheappunng, 2010) เพื่อเป็นการยืนยันว่าสารสกัดพลูละลายด้วยโพรพิลีนไกลคอลมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้หรือไม่ จึงทำขั้นตอนต่อไปโดยใช้วิธีเจือจางในอาหารเหลวเพื่อหา MIC ของสารสกัดใบพลู ได้ผลดังตารางที่ 5 และ 6 พบว่า สารสกัดพลูละลายด้วยโพรพิลีนไกลคอลสามารถยับยั้งเชื้อ *C. albicans* ที่สุดโดยให้ค่า MIC และ MBC เท่ากันคือ 6.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วนค่า MIC และ MBC ของสารสกัดพลูละลายด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aurues* และ *P. aeruginosa* มีค่าเท่ากัน คือ 3.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 6.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และให้ค่า MIC และ MBC ในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* มีค่าเท่ากับ 3.125 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรซึ่งแสดงค่า MIC และ MBC ยับยั้งเชื้อได้ที่ความเข้มข้นที่น้อยกว่า รายงานวิจัยของ Tangpong และคณะ (2014) จากการทดสอบพืชสมุนไพรไทย 13 ชนิด (มะม่วงหิมพานต์ หมรุยหอม มันปู มะเดื่ออุทุมพร ทำมัง กระเพรา โหระพา ชะพู มะกอก หว้า เสม็ดชุน พลู และใบว่านพญานร) พบว่าสารสกัดพลูด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียได้มากที่สุดโดยให้ค่า MIC และ MBC ในการยับยั้งเชื้อ *S. aurues*, *E. coli* และ *P. aeruginosa* มีค่าเท่ากับ 12.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตรและ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Khamdang และคณะ (2010) พบว่าสาร

สกัดพลูด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ *E. faecalis* โดยมีค่า MBC เท่ากับ 12.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ตารางที่ 4.4 แสดงค่า MIC และ MBC ของสารสกัดใบพลูในการยับยั้งเชื้อ *S. aurues*, *P. aeruginosa, C. albicans* และ *E. coli*

	สารสกัดพลูละลายด้วยเอทานอล				สารสกัดพลูละลายด้วยโพรพิลีนไกลคอล			
	S. aurues	*P. aeruginosa*	*C. albicans*	*E. coli*	*S. aurues*	*P. aeruginosa*	*C. albicans*	*E. coli*
MIC (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	3.125	3.125	3.125	25.00	12.50	6.25	6.25	50.00
MBC (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	6.25	6.25	3.125	25.00	12.50	12.50	6.25	50.00

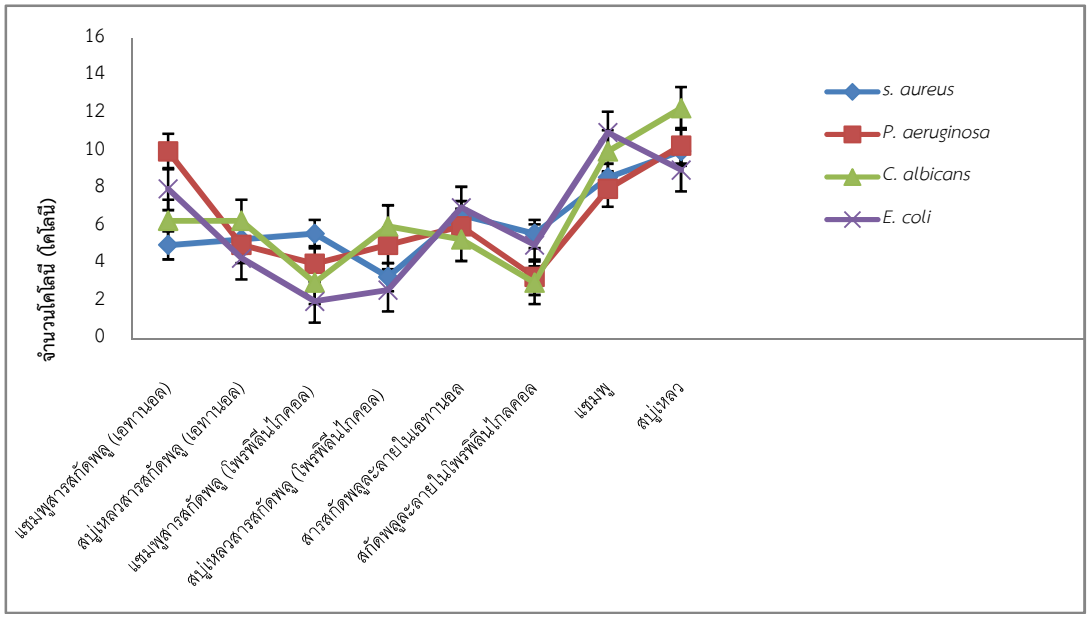
3. การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศทั้งหมด (Total aerobic plate count)

ผลจากการตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศทั้งหมดในสารสกัดใบพลู แชมพูและสบู่เหลวที่มีส่วนผสมสารสกัดใบพลู พบว่าในแต่ละตัวอย่างมีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 30 โคโลนี จึงสามารถสรุปได้ว่าในตัวอย่างทั้งหมดไม่มีจุลินทรีย์ที่ใช้อากาศปนเปื้อน

4. การตรวจวิเคราะห์ชนิดของจุลินทรีย์ตามมาตรฐาน (Microbial limit test)

พบว่าผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดของจุลินทรีย์ตามมาตรฐาน *S. aureus, P. aeruginosa, C. albicans* และ *E. coli* ในสารสกัดใบพลู แชมพูและสบู่เหลว ด้วยวิธี Microbial limit test จะเห็นได้ว่าในทุกตัวอย่างมีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 30 โคโลนี (ดังกราฟที่ 1) ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าสารสกัดใบพลูเหมาะสมที่จะพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อไปได้ เพราะไม่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกำหนด (มอก. 152-2555)

ภาพที่ 4.1 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์ชนิดของจุลินทรีย์ตามมาตรฐาน *S. aureus, P. aeruginosa, C. albicans* และ *E. coli*



5. การทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระโดยรวม และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (ดังตารางที่ 7)

จะเห็นได้ว่าผลการต้านอนุมูลอิสระโดยรวมและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดพลูละลายด้วยเอทานอลมีปริมาณมากกว่าสารสกัดพลูละลายด้วยโพรพิลีนไกลคอล จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH assay, ABTS assay, FRAP assay และ Folin-ciocalteu เนื่องจากสารสกัดพลูละลายด้วยโพรพิลีนไกลคอลนำสารต้านอนุมูลอิสระในพลูออกมาได้น้อยกว่าจึงส่งผลให้สารต้านอนุมูลอิสระในพลูทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส และรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (Tamuly et al., 2015) ได้น้อยกว่าสารสกัดพลูละลายด้วยเอทานอล และจากผลการทดลองพบว่าสารสกัดพลูละลายด้วยเอทานอลจะให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวมเท่ากับ 17,348.28 ± 697.00 mg TAEC/ g_{dw} เมื่อตรวจด้วยวิธี ABTS assay และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม 539.67± 13.48 mg TAEC/ g_{dw} ได้ผลดีกว่ารายงานวิจัยของ Maisuthisakul (2008) พบว่าการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระจากสกัดพลูด้วยเอทานอลโดยวิธี ABTS assay และปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมโดยวิธี Folin-Ciocalteu มีค่าเท่ากับ 12,595+20.03 mg TAEC/g_{dw} และ 50.38+0.08 mg TAEC/g_{dw} ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานวิจัย ของ Tangpong และคณะ (2014) พบว่าสารสกัดพลูละลายด้วยเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม 474.083± .005 mg GAE/g_{dw} ซึ่งมีปริมาณมากที่สุดจากการทดสอบ

พืชสมุนไพรไทย 13 ชนิด (มะม่วงหิมพานต์ หมรุยหอม มันปู มะเดื่ออุทุมพร ทำมัง กระเพรา โหระพา ชะพู มะกอก หว้า เสม็ดชุน และใบว่านพญานร) นอกจากนั้น Akter และคณะ (2014) ได้ศึกษาสารสกัดพลูด้วยเมทานอลมีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์และพยาธิ โดยให้ค่าสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 124.42± 0.14 mg TAEC/g_{dw} และให้ค่าสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นด้วย ซึ่งพลูให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด จากการรายงานของ Tamuly และคณะ (2015) ศึกษาประสิทธิภาพสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในพืชในวงศ์ Pieraceae ได้แก่ *Piper betle* L., *Piper betleoides* C.DC และ *Piper wallichii* (Miq.) จากทางเหนือของประเทศอินเดียด้วยตัวทำละลายเอทานอล พบว่าให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 56.3±0.86 mgGAE/g_{dw} 27.1±0.96 mgGAE/g_{dw} และ 26.3±1.23 mgGAE/g_{dw} ตามลำดับ เห็นได้ว่าพลูให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด นอกจากนั้น Abrahim และคณะ (2012) พบว่าการใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการสกัดพลูจะให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่แตกต่างกันคือ น้ำ 47.72 ± 5.38 mg GAE/ g_{dw} เมทานอล 52.25 ± 5.49 mg GAE/ g_{dw} เอธิลอะซิเตรต 852.3 ± 4.71 mg GAE/ g_{dw} และ เฮกเซน 266.92 ± 6.06 mg GAE/ g_{dw} และจะส่งผลให้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลิอิสระที่แตกต่างกันคือ เมทานอลให้ค่า IC_{50} 345.7 ± 4.04 µg/L เอธิลอะซิเตรต 40 ± 0.00 µg/L และ เฮกเซน 144.3 ± 1.15 µg/L เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH assay สอดคล้องกับวิจัยในครั้งนี้ที่ใช้ตัวทำละลายแตกต่างกันจะส่งผลให้ค่าต้านอนุมูลอิสระรวมและปริมาณฟีนอลิกรวมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

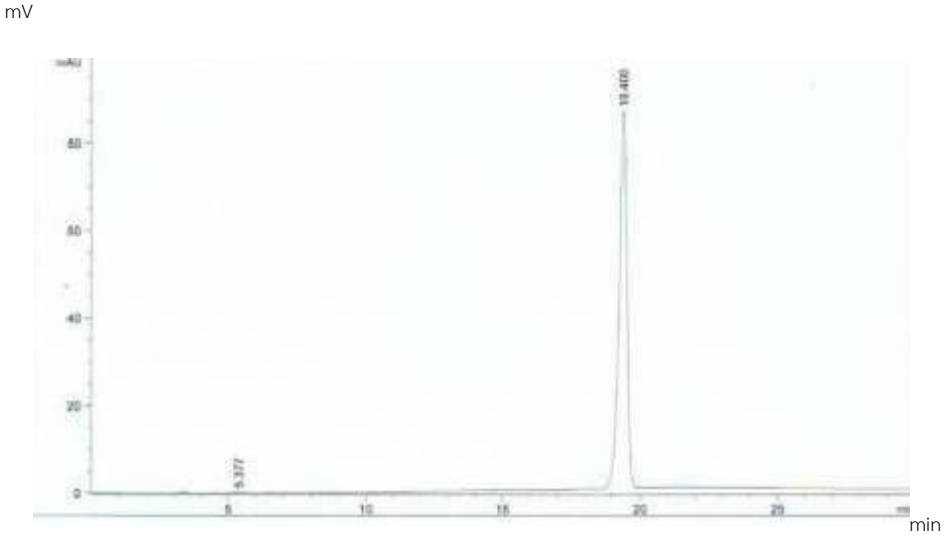
ตารางที่ 4.5 แสดงสารต้านอนุมูลอิสระโดยรวมเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH assay, ABTS assay, FRAP assay และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบพลู

สารทดสอบ	DPPH (mg TAEC/g_{dw})	ABTS (mg TAEC/g_{dw})	FRAP (mg TAEC/g_{dw})	total phenolic (mg GAE/g_{dw})
เอทานอล	3,653.01 ± 57.72^{c}	17,348.28 ±697.00^{d}	3,617.59 ± 41.49^{c}	539.67± 13.48^{b}
โพรพิลีนไกลคอล	126.02 ± 11.88^{a}	813.421 ± 26.69^{b}	150.982 ± 8.57^{a}	2.915 ± 0.03^{a}

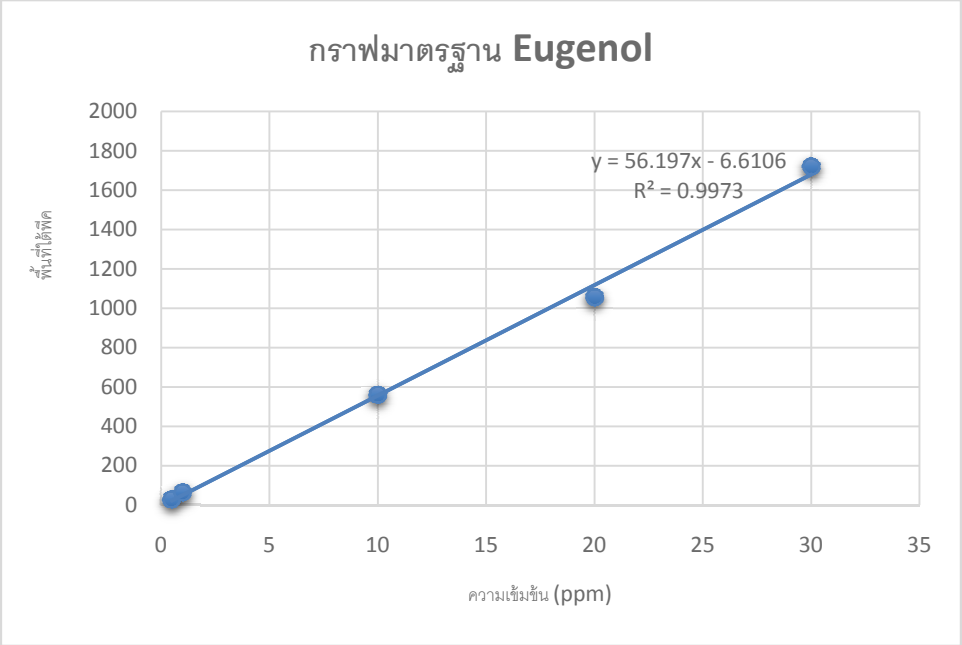
หมายเหตุ a,b,c,d ตัวอักษรที่แตกต่างกัน แสดงถึงผลการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

6. ผลการทดลองการวิเคราะห์สารสำคัญในพลู

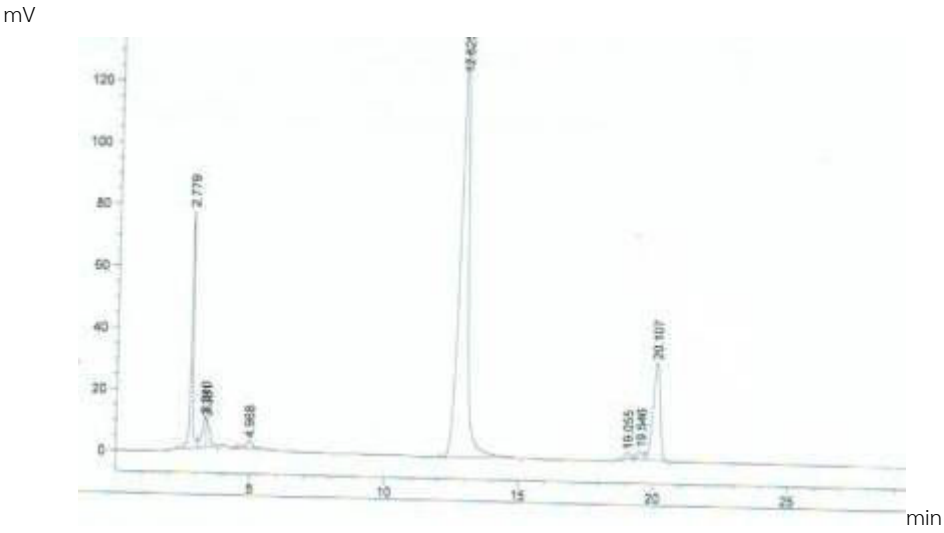
สารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่อง โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงซึ่งใช้ยูกีนอล เป็นสารมาตรฐาน ทำการวิเคราะห์ที่เวลาประมาณ 19.40 นาที (ดังภาพที่ 4.1) และได้ทำกราฟมาตรฐานยูกลีนอลที่ความเข้มข้น 0-30 ppm ได้กราฟที่มีค่า y = 56.197x - 6.6106 R^2 = 0.9973 (ดังภาพที่ 4.2) เมื่อสารสกัดพลูในชั้นโพลีเอทิลีนไกลคอลและชั้นเอทานอลที่ได้มาทำการแยกด้วย HPLCจะได้ Chromatogram (ดังภาพที่ 4.3-4.4) ตามลำดับ พบว่า สารสกัดพลูในชั้นโพลีเอทิลีนไกลคอล พบยูกลีนอลที่เวลา 19.5 นาทีเมื่อนำพื้นที่ใต้พีคเปรียบเทียบกับกราฟมาตราฐานจะมีความเข้มข้นเท่ากับ 0.69 ppm ส่วนสารสกัดพลูในชั้นเอทานอลไม่พบยูกลีนอล



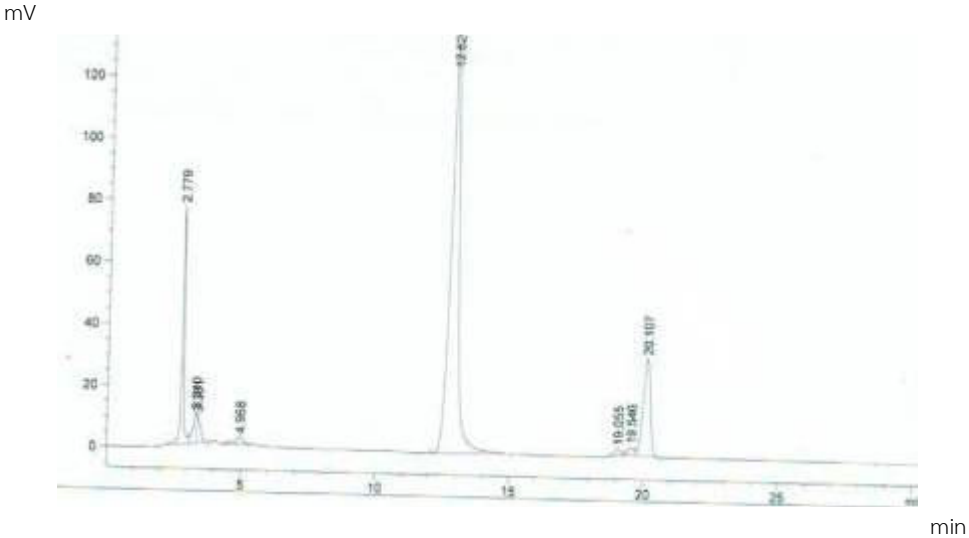
ภาพที่ 4.2 แสดง Chromatogram แสดงระยะเวลาที่สารมารตรฐานยูกลีนอล แยกออกที่เวลา 19.40 นาที ที่ความเข้มข้น 30 ppm



ภาพที่ 4.3 แสดงกราฟมาตรฐานยูกลีนอล (Eugenol)



ภาพที่ 4.4 แสดงChromatogram ของสารสกัดพลูในชั้นโพลิลีนไกลคอล (Propylenegycol)



ภาพที่ 4.5 แสดง Chromatogram ของสารสกัดพลูในชั้นเอทานอล (Ethanol)