การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์โดยสารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย (*Coccinia grandis* L.)

ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF *Coccinia grandis* L. LEAVE EXTRACTS

ดรุณี สมภักดี

ธัญญภรณ์ลักษณ์ มีพยุง

ธิติมา คำมีมา

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF *Coccinia grandis* L. LEAVE EXTRACTS

DARUNI SOMPHAKDI
THANYAPORNLAK MEEPHAYUNG
THITIMA KHAMMEEMA

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT
FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์โดยสารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย (*Coccinia grandis* L.) Antioxidant and cytotoxic activity of *Coccinia grandis* L. leaves extracts	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวดรุณี สมภักดี	รหัสนักศึกษา 58050760
	นางสาวธัญญภรณ์ลักษณ์ มีพยุง	รหัสนักศึกษา 58050766
	นางสาวธิติมา คำมีมา	รหัสนักศึกษา 58050767
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต	
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ	
ปีการศึกษา	2561	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล	

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2561

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดวงใจ โอชัยกุล ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ กรรมการ	
ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์โดยสารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย (*Coccinia grandis* L.)
ชื่อนักศึกษา	นางสาวดรุณี สมภักดี รหัสนักศึกษา 58050760
	นางสาวธัญญภรณ์ลักษณ์ มีพยุง รหัสนักศึกษา 58050766
	นางสาวธิติมา คำมีมา รหัสนักศึกษา 58050767
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

บทคัดย่อ

ในการวิจัยครั้งนี้ ได้ทำการสกัดสารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจาก 2 จังหวัดคือ จังหวัดนครปฐมและจังหวัดสุพรรณบุรี โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย นำสารสกัดหยาบมาตรวจวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay พบว่าสารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้จังหวัดสุพรรณบุรีมีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} คือ 7.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสรุปได้ว่าเมื่อความเข้มข้นสารสกัดเพิ่มขึ้นจะทำให้ร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเพิ่มขึ้น การศึกษาสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบใบตำลึง พบว่าสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้จากจังหวัดสุพรรณบุรีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณแทนนินมากที่สุด เทียบเท่ากับ 973.30 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และ 644.83 มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ พบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาบของใบตำลึงเพศเมียจากจังหวัดสุพรรณมากที่สุดเทียบเท่ากับ 3180.00 มิลลิกรัมควอซิตินต่อกรัมสารสกัด และการหาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินของสารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้จังหวัดนครปฐมมีค่ามากที่สุด เทียบเท่ากับ 15.36 มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อลิตรสารสกัด เมื่อนำสารสกัดจากใบตำลึงมาศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 พบว่า ความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดจะมีค่าที่เหมาะสมอยู่ช่วงหนึ่ง โดยที่ความเข้มข้น 0.1-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดมีความเป็นพิษต่อเซลล์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่สูงขึ้น โดยที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดใบตำลึงเพศผู้จังหวัดนครปฐมมีความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งเต้านมมากที่สุด (73.15%) แต่ที่ความเข้มข้น 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากใบตำลึงเพศเมียทั้งสองจังหวัดและสารสกัดใบตำลึงเพศผู้จากจังหวัดนครปฐมมีค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ลดลง ในขณะที่สารสกัดใบตำลึงเพศผู้จากจังหวัดสุพรรณบุรีมีค่าความเป็นพิศต่อเซลล์สูงขึ้น (83.17%) จากการศึกษาปริมาณสารประกอบพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบใบตำลึงจึงถูกนำมาใช้เพื่อเป็นข้อมูลในการที่จะนำใบตำลึงไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ นอกเหนือจากการนำมาบริโภค ไม่ว่าจะเป็นด้านเภสัชศาสตร์ เวชสำอาง หรือแม้แต่ด้านการแพทย์ต่อไป

คำสำคัญ: พฤกษเคมี, เซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7, สารต้านอนุมูลอิสระ, เอทานอลร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Antioxidant and cytotoxic activity of *Coccinia grandis* L. leave extracts		
Students	Miss Daruni	Somphakdi	Student ID 58050760
	Miss Thanyapornlak	Meephayung	Student ID 58050766
	Miss Thitima	Khammeema	Student ID 58050767
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2018		
Advisor	Asst. Prof. Dr.Suttijit Sriwatcharakul		

Abstract

In this research, extracted crude from male and female *Coccinia grandis* L. leaves from Nakhonpathom and Suphanburi provinces, by using 95 percent ethanol as a solvent. Analyzed antioxidants by using DPPH Radical Scavenging Assay method, it found that the crude extract from male gourd leaves from Suphanburi had the best ability to trap free radicals with IC_{50} value of 7.25 mg/ml. And concluded that when the extract concentration increased, the percentage of antioxidant activity of the extract increased. Study of phytochemicals in crude extracts of *C. grandis* L. leaves by the total amount of phenolic compounds it was found that the crude extract of male leaf from Suphanburi had the highest amount of phenolic compounds and of tannin was 973.3 mg GAE/g extract and 644.83 mg TAE/g extract, respectively. Determining the amount of flavonoids it was found that the highest amount of flavonoids from the crude extract of female leaves from Suphanburi was 3180.00 mg QE/g extract. And quantification of anthocyanin compounds, it was found that the highest anthocyanin content of crude extracts of male leaves from Nakhonpathom value of 15.36 mg Cyanidine-3-glucoside/ l extract. And study of toxicity of crude extracts to MCF-7 breast cancer cells, was found that the toxicity of the extracts to MCF-7 cells lines would have an effective concentration at 0.1-1000 µg/ml. At 1000 µg/ml the male *C. grandis* L. leave extract from Nakhonpathom province, gave the most toxic to breast cancer cells (73.15%). But at a concentration of 10000 µg/ml extract from female *C. grandis* L. leaves in both provinces and the leaves male leave from Nakhonpathom the cytotoxic had decreased. While the cytotoxic of male gourd extract from Suphanburi province continued to increase continuously (83.17%). From the study

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

of the amount of phytochemicals in *Coccinia grandis* L. leaves crude extracts, were used as information in order to use the *C. grandis* L. leaves for other aspects. In addition to consumption whether in pharmaceutical, cosmetic, or even in the medical field.

Keyword: Phytochemicals, MCF-7 breast cancer cells, Antioxidants, Ethanol 95%, *Coccinia grandis* L.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์โดยสารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย (*Coccinia grandis* L.) จะสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลือเป็นอย่างดียิ่งจากอาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย

คณะผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาของงานวิจัยนี้ ซึ่งท่านได้สละเวลาให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่างๆอันประโยชน์อย่างยิ่งในการทำวิจัย การปรับปรุงงานวิจัยโดยเฉพาะอย่างยิ่งท่านคอยชี้แนะ รวมทั้งช่วยแก้ปัญหาต่างๆที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงาน คำแนะนำของท่านทำให้คณะผู้วิจัยได้ข้อมูลที่ครบถ้วน และช่วยทำให้โครงงานวิจัยนี้มีความถูกต้องสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

สุดท้ายนี้ คณะผู้ทำงานวิจัย ขอขอบพระคุณบิดามารดา ครอบครัว ซึ่งเปิดโอกาสให้ได้รับการศึกษาเล่าเรียนคอยสนับสนันในทุกด้าน และขอขอบคุณเพื่อนๆผู้ร่วมจัดทำโครงงานวิจัยนี้จนทำให้งานโครงงานวิจัยฉบับนี้ลุล่วงไปด้วยดี

ดรุณี สมภักดี
ธัญญภรณ์ลักษณ์ มีพยุง
ธิติมา คำมีมา
พฤษภาคม 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญ(ต่อ)	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
1.3 ขอบเขต	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ตำลึง (Coccinia grandis L.)	3
2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	3
2.1.2 การขยายพันธุ์	6
2.1.3 คุณค่าทางอาหารและประโยชน์ของตำลึง	6
2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ	8
2.2.1 บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระ	9
2.2.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)	10
2.2.3 แอนโทไซยานิน (Anthocyanins)	12
2.2.4 สารเคอร์ซีติน (Quercetin)	13
2.2.5 ฟีนอล (Phenol)	14
2.2.6 แทนนิน (Tannin)	15
2.3 มะเร็งเต้านม	17
2.3.1 เต้านม	17
2.3.2 มะเร็งเต้านม	18
2.4 เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมมนุษย์ (Michigan Cancer Foundation)	24
2.5 การทดสอบความเป็นพิษ	25
2.6 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	25
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	28
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	34
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	44
เอกสารอ้างอิง	46
ภาคผนวก	48
ภาคผนวก ก	49
ภาคผนวก ข	51
ภาคผนวก ค	53
ภาคผนวก ง	55
ภาคผนวก จ	57
ภาคผนวก ฉ	59
ภาคผนวก ช	61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ปริมาณสารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจากจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรี	34
4.2 แสดงร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (% scavenging) ระหว่างสารสกัดหยาบใบตำลึงที่ความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	35
4.3 เปรียบเทียบร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดยาบใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรีที่ความเข้มข้นต่างๆ	35
4.4 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด (IC_{50}) ของสารสกัดหยาบจากใบตำลึง	36
4.5 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย	38
4.6 แสดงปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย	38
4.7 แสดงปริมาณสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย	39
4.8 แสดงปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย	40
4.9 แสดงร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย	40
4.10 แสดงร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียที่ความเข้มข้นต่างๆ	41
4.11 แสดงค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมร้อยละ 50 (CC_{50})	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ตำลึง	3
2.2 ลักษณะของใบตำลึง	4
2.3 ลักษณะดอกของตำลึง	5
2.4 ลักษณะผลของตำลึง	5
2.5 ชนิดของอนุมูลอิสระ	9
2.6 โครงสร้างของฟลาโวนอยด์ชนิดต่าง ๆ	11
2.7 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน	13
2.8 โครงสร้างของเคอร์ซิติน	14
2.9 โครงสร้างของฟีนอล	15
2.10 โครงสร้างของแทนนิน	17
2.11 โครงสร้างของเต้านม	18
3.1 ใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย	28
4.1 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (% scavenging) ระหว่างสารสกัดหยาบใบตำลึงที่ความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	36
4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจังหวัดนครปฐม	42
4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจังหวัดสุพรรณบุรี	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ตำลึง (Lvy Gourd) เป็นพืชผักสมุนไพร เป็นไม้เลื้อยที่มีมือจับ ใช้เลื้อยเกาะไม้หลักหรือต้นไม้ใหญ่ มีสีเขียวจัด ตำลึงเป็นไม้เถา เป็นพืชยืนต้น ใบและยอดตำลึง มีสีเขียวใช้รับประทาน มีถิ่นกำเนิดในประเทศเอเชียใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นพืชปลูกในเอเชียเขตร้อน และได้นิยมมีการปลูกกันในหลายประเทศทั่วไป เป็นพืชประจำถิ่นของไทย ในแต่ละท้องถิ่นจะมีชื่อเรียกต่างกัน มีทั้งเพศผู้ละเพศเมีย ซึ่งตำลึงเพศเมียและเพศผู้จะมีลักษณะของใบที่แตกต่างกัน ส่วนมากนิยมนำใบตำลึงเพศเมียมารับประทาน เนื่องจากใบตำลึงเพศผู้เมื่อนำมารับประทานอาจทำให้เกิดอาการท้องร่วงได้ ตำลึงมีสรรพคุณทางยา โดยรากและใบ มีสรรพคุณฤทธิ์ช่วยลดน้ำตาลในเลือด ช่วยย่อยอาหารจำพวกแป้ง ใช้ภายนอกเป็นยาแก้พิษ แก้คันเนื่องจากแมลงสัตว์กัดต่อยหรือถูกพืชพิษ ดับพิษร้อน ดอก นำมาตำแล้วพอกที่แผลหรือนำมาทาแก้คัน น้ำยาง ซึ่งจะเห็นได้ว่าตำลึงมีประโยชน์มากมาย แต่ในปัจจุบันยังไม่นิยมมีการนำตำลึงมาแปรรูป งานวิจัยของเราจึงเป็นอีกหนึ่งงานวิจัยที่จะเป็นงานให้ศึกษาเกี่ยวกับผู้ที่สนใจที่จะนำตำลึงไปพัฒนาและต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปในด้านต่างๆในอนาคตต่อไป

ในปัจจุบันคนส่วนใหญ่ใส่ใจสุขภาพมากขึ้นและรับประทานอาหารหรือยาก็มีแนวโน้มที่จะรับประทานผลิตภัณฑ์ที่มาจากธรรมชาติมากขึ้น มีการใช้พืชที่มีฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระมาทดสอบกันอย่างแพร่หลาย และมีแนวโน้มว่ามีงานวิจัยที่ใช้สารสกัดมากขึ้น ซึ่งจะนำไปสู่งานวิจัยเพื่อทดสอบการใช้สารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ โดยงานวิจัยนี้ได้เห็นถึงความสำคัญในการนำใบตำลึงมาทดสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.ศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ของใบตำลึง โดยวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity)

2.ศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดจากใบตำลึง

3.เปรียบเทียบความแตกต่างประสิทธิภาพ ของสารสกัดจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียในจังหวัดกรุงเทพมหานคร และจังหวัดสุพรรณบุรี ด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ จากนั้นนำมาทดสอบด้วยวิธี DPPH และหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด รวมถึงศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ (MTT Cytotoxicity assay) เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.ทำให้ทราบถึงผลของการใช้สารสกัดจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียที่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระ สารพฤกษเคมี และความเป็นพิษต่อเซลล์

2.เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าให้กับตำลึงให้เกิดประโยชน์สูงสุด

3.เป็นข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับคุณสมบัติของใบตำลึงให้แก่ผู้ที่สนใจใช้ในการศึกษาค้นคว้าและวิจัย สำหรับนำไปประยุกต์ใช้ทางการแพทย์หรือใช้เพื่อพัฒนายารักษาโรคและหลีกเลี่ยงอันตรายจากการใช้สารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ตำลึง (*Coccinia grandis* L.)

ชื่อวิทยาสาสตร์ : *Coccinia grandis* (L.) Voigt

ชื่อสามัญ : Ivy Gourd

วงศ์ : Cucurbitaceae

ชื่ออื่น : ผักแคบ (ภาคเหนือ) ตำลึง,สี่บาท (ภาคกลาง)

รูปที่ 2.1 ตำลึง

ที่มา : http://farmorganicseed.com/สวนของเรา/ตระกูลผักพื้นบ้าน/เมล็ดผักตำลึง

(สืบค้นวันที่ 4/1/2562)

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ต้นตำลึงประกอบด้วย

1. ใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบเป็นใบเดี่ยว มีลักษณะเป็น 3 แฉก หรือ 5 แฉก มีรูปร่าง 5 เหลี่ยม ใบกว้าง 3-4 เซนติเมตร ก้านใบยาว 3-5 เซนติเมตร โคนใบมีลักษณะเป็นรูปหัวใจ มีมือเกาะยื่นออกมาจากที่ข้อ ออกเรียงสลับกัน คนละข้างตามกิ่ง มีก้านใบสั้น ผิวใบมันเรียบ แผ่นใบหยักเป็นแฉก ปลายใบเป็นติ่งแหลม ใบอ่อนมีสีเขียวอ่อน ใบแก่มีสีเขียวเข้ม ไม่มีขน ใบตำลึงตัวเมียจะไม่มีแฉกลึก ใช้ใบแก่และใบอ่อนนำมารับประทานได้ ให้รสกรอบ และนุ่มกว่า จะนิยมรับประทานมากกว่าตำลึงตัวผู้ ส่วนใบตำลึงตัวผู้จะมีแฉกเว้าลึกกว่า

ใบตำลึงเพศเมีย ใบตำลึงเพศผู้

รูปที่ 2.2 ลักษณะของใบตำลึง

ที่มา : https://www.hongthongrice.com/home/2017/11/13/ivy-gourd

(สืบค้นวันที่ 4/1/2562)

2. ดอก

ดอกเป็นดอกเดี่ยวหรือดอกคู่ ดอกช่อออกตามซอกใบ กลีบดอกจะมีสีขาวถึงขาวนวล ก้านช่อดอกจะสั้น แตกกิ่งช่อดอกตรงปลาย โดยแยกกันอยู่คนละต้น ดอกเพศผู้ กลีบดอกของดอกมีสีขาว มีโคนกลีบติดกันทำให้ มีลักษณะเป็นกรวยปากแตร มีเกสร 3 อัน เป็นดอกเดี่ยว ก้านดอกยาว มีขนาด 4-6 เซนติเมตร กลีบดอก 5 กลีบ อับเรณูขนาดใหญ่รูปขอบขนาน สีเหลืองเป็นก้อนอยู่ในคอดอก ดอกเพศเมีย กลีบดอกของดอกมีสีขาว มีโคนกลีบติดกันทำให้ มีลักษณะเป็นรูประฆัง มีเกสร 1 อัน เป็นดอกเดี่ยว ก้านดอกยาว กลีบดอกเหมือนดอกเพศผู้ ยอดเกสรแยกเป็น 3-5 แฉก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.3 ลักษณะดอกของตำลึง

ที่มา : http://www.dnp.go.th/botany/detail.aspx?words=ผักตำลึง&typeword=group

(สืบค้นเมื่อ 4/1/2562)

3. ผล

มีรูปร่างคล้ายแตงกวา แต่มีขนาดเล็กกว่า ผลที่อ่อนมีสีเขียว และมีลายขาว พอสุกจะกลายเป็นสีแดงสด เนื้อลักษณะสีแดง กว้างประมาณ 2.5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 5 เซนติเมตร เมล็ดแบนรี มีจำนวนมาก ขนาด 2-3 มิลลิเมตร

รูปที่ 2.4 ลักษณะผลของตำลึง

ที่มา : http://www.dnp.go.th/botany/detail.aspx?words=ผักตำลึง&typeword=group

(สืบค้นเมื่อ 4/1/2562)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 การขยายพันธุ์

การปลูกตำลึงมี 2 วิธีคือ วิธีการปลูกด้วยการเพาะเมล็ด และวิธีการปลูกด้วยเถา

1.วิธีการปลูกด้วยเพาะเมล็ดตำลึง เราจะต้องเตรียมเมล็ดพันธุ์ตำลึงที่แก่จัด แล้วเตรียมดินร่วนซุยในการปลูก แล้วเตรียมหลุม โดยปลูกระยะต้นห่างกันประมาณ 50 เซนติเมตร ระยะห่างของแถวประมาณ 1 เมตร แล้วจะนำเมล็ดตำลึงประมาณ 2 เมล็ด มาหยอดลงในหลุม ใส่ฝังลงดินกลบจนมิด แล้วรดน้ำวันละครั้ง อย่าให้แฉะจนเกินไป หลังจากที่ต้นกล้างอกแล้ว ให้ทำหลักปักไว้ ให้ต้นตำลึงใช้เลื้อย ควรปลูกในหน้าฝนจะดี ต้นตำลึงจะงอกงามเร็วกว่า

2.วิธีการปลูกด้วยเถา เราจะเอาเถาตำลึงที่แก่ มาตัดออกเป็นท่อนๆ ให้ท่อนยาวประมาณ 5-8 นิ้ว แล้วนำไปปักชำไว้ หรือจะนำไปปลูกลงในหลุมเลยก็ได้ หลังออกรากและใบงอกแล้ว ให้ทำหลักปักไว้ ให้ต้นตำลึงใช้เลื้อย ควรปลูกในหน้าฝนจะดี ต้นตำลึงจะงอกงามเร็วกว่า

ต้นตำลึงที่เราเห็นโดยทั่ว ๆ ไปมักจะขึ้นเองเพราะเป็นไม้ที่ทนทาน ขึ้นง่าย ตายยากอยู่แล้ว ดังนั้นผู้ปลูกจึงแทบจะไม่ต้องดูแลเลย แต่ถ้าหากว่าเราอยากให้ตำลึงงอกงามดีแล้วละก็สมควรที่จะให้ความเอาใจใส่มันบ้างโดยการหมั่นพรวนดิน ดายหญ้าและใส่ปุ๋ยให้โคนต้นบ้าง จะเป็นปุ๋ยหมักหรือปุ๋ยคอกก็ได้ แล้วผู้ปลูกก็จะมียอดตำลึงอวบงาม รสหวาน ไว้รับประทานต่อไปอีกนาน

2.1.3 คุณค่าทางอาหารและประโยชน์ของตำลึง

ตำลึงประกอบไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุหลายชนิด โดยใบและยอดอ่อนของตำลึง 100 กรัม จะให้พลังงานกับร่างกาย 35 กิโลแคลอรี, โปรตีน, ใยอาหาร 1 กรัม, เ[ตาแคโรทีน วิตามินเอ 18,608 IU, วิตามินบี 1 0.17 มิลลิกรัม, วิตามินบี 2 0.13 มิลลิกรัม, วิตามินบี 3 1.2 มิลลิกรัม, วิตามินซี 34 มิลลิกรัม , ธาตุแคลเซียม 126 มิลลิกรัม, ธาตุฟอสฟอรัส 30 กรัม, ธาตุเหล็ก 4.6 มิลลิกรัม เป็นต้น

สรรพคุณของตำลึง

- ช่วยต่อต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันความเสื่อมความเซลล์ต่าง ๆ ในร่างกาย
- ช่วยบำรุงผิวพรรณ ช่วยซ่อมแซมและสร้างเนื้อเยื่อในร่างกาย
- ช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง
- ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งในกระเพาะอาหาร
- ช่วยรักษาโรคเบาหวาน ด้วยการใช้เถาแก่ 1 กำมือ นำมาต้มกับน้ำหรือจะใช้น้ำคั้นจากผลดิบนำมาดื่มวันละ 2 รอบ เช้า,เย็น จะช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด เพิ่มระดับอินซูลิน
- ช่วยป้องกันการเกิดโรคโลหิตจาง (ใบ, น้ำคั้นตำลึง)
- ช่วยป้องกันโรคหัวใจขาดเลือด จึงช่วยป้องกันการเกิดอัมพาตด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ช่วยบำรุงกระดูกและฟันให้แข็งแรง (แคลเซียม)
- ช่วยบำรุงและรักษาสายตา (วิตามินเอ)
- ช่วยบำรุงเลือด (ใบ)
- ช่วยเพิ่มการไหลเวียนของโลหิต (ใบ)
- ช่วยป้องกันและรักษาโรคหลอดเลือดแข็ง ตีบตัน และแตกได้
- ช่วยบำรุงน้ำนมแม่ (ใบ)
- ช่วยป้องกันการเกิดโรคเลือดออกตามไรฟัน (วิตามินซี)
- ใช้ดับพิษร้อน แก้ไข้ตัวร้อน (ใบ)
- ช่วยลดไข้ (ราก)
- ช่วยแก้อาเจียน (ราก)
- แก้อาการวิงเวียนศีรษะ ด้วยการใช้เถาตำลึงชงกับน้ำดื่ม (เถา)
- ใช้แก้อาการตาแดง เจ็บตา (ใบ)
- ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคจอประสาทตาเสื่อม และยังช่วยป้องกันการเสื่อมของศูนย์จอตาได้อีกด้วย เหมาะสำหรับผู้ที่ต้องนั่งอยู่หน้าคอมพิวเตอร์นาน ๆ และมีอาการสายตาอ่อนล้า
- แก้อาการตาแดง ตาฟาง ตาช้ำ ตาแฉะ พิษอักเสบในตา ด้วยการใช้เถาตำลึง นำน้ำต้มจากเถามาหยอดตา (เถา)
- ช่วยแก้อาการตาช้ำแดง ด้วยการตัดเถาเป็นท่อนยาว 2 นิ้วนำมาคลึงพอช้ำแล้วเป่า จะเกิดฟองใช้หยอดตา (เถา)
- แก้อาการตาฝ้า (ราก)
- แก้อาการผิดสำแดงเพราะกินของแสลง โดยใช้เถาตำลึงตัดเป็นท่อนยาว 1 คืบ (จำนวน 3-4 ท่อน) นำไปใส่ในหม้อดินสุมไฟด้วยฟางจนไหม้เป็นขี้เถ้า นำมาบดให้ละเอียดแล้วผสมกับน้ำซาวข้าวดื่มครั้งละ 1 ถ้วยชา (เถา)
- ช่วยลดอาการท้องอืดท้องเฟ้อ จุกเสียดแน่นท้อง ด้วยการรับประทานใบตำลึงสด ๆ (ใบ)
- ใช้เป็นยาถ่าย ยาระบาย ช่วยระบายท้อง (เปลือกราก, หัว)
- ช่วยขับสารพิษในลำไส้ (ใบ)
- ช่วยป้องกันอาการท้องผูก (ใบ)
- ช่วยแก้ผดผื่นคัน ด้วยการใช้ใบตำลึงนำมาตำแล้วทาบริเวณที่คัน (ใบ, ดอก)
- ช่วยลดอาการคันและการอักเสบเนื่องจากพืชมีพิษหรือถูกแมลงสัตว์กัดต่อย เช่น หมามุ่ย ถูกตัวบุ้ง ยุงกัด ใบตำแย แพ้ละอองข้าว พิษคูน พิษกาฬ เป็นต้น ด้วยการใช้ใบสด 1 กำ นำมาตำให้ละเอียดผสมกับน้ำ แล้วคั้นเอาน้ำมาทาบริเวณดังกล่าวจนกว่าจะหายดี (ใบ)
- ช่วยแก้ฝีแดง (ใบ)
- ช่วยดับพิษฝี (ใบ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แก้อักเสบ ด้วยการใช้น้ำจากเถาทาบริเวณที่เป็น (เถา)
- ช่วยดับพิษต่าง ๆ (เถา, ราก)
- ใช้รักษาแผลอักเสบ ด้วยการใช้ใบสดหรือรากสด นำมาตำแล้วพอกบริเวณแผล (ใบ, ราก
- ช่วยบรรเทาอาการปวดแสบปวดร้อน (ใบ)
- ช่วยแก้หิด ด้วยการใช้เมล็ดตำผสมน้ำมันมะพร้าวแล้วนำมาทาบริเวณที่เป็น (เมล็ด)
- แก้งูสวัด เริม ด้วยการใช้ใบสดประมาณ 2 กำมือ (ล้างให้สะอาด) นำมาผสมกับพิมเสนหรือดินสอพอง 1 ใน 4 ส่วน แล้วนำมาพอกบริเวณที่เป็น (ใบ)
- ช่วยป้องกันการเป็นตะคริว (ใบ)

อีกทั้งยังมีประโยชน์ช่วยกำจัดกลิ่นตัว กลิ่นเต่า ด้วยการใช้ต้นตำลึง (ทั้งเถาและใบ) นำมาตำผสมกับปูนแดงแล้วทาบริเวณรักแร้ ใช้ทำทรีตเม้นต์ทำให้ผิวหน้าเต่งตึง ด้วยการใช้ยอดตำลึงครึ่งถ้วยและน้ำผึ้งแท้ครึ่งถ้วย นำมาผสมกันแล้วปั่นในโถให้ละเอียด แล้วนำมาพอกหน้า ทิ้งไว้ประมาณ 20 นาทีแล้วล้างออก (ยอดตำลึง) ใช้เป็นยารักษาตาไก่ (ไก่ที่ถูกยุงกัดจนตาบวม เป็นพยาธิ มีหนองขาวและแข็งภายในของเปลือกตา) ใช้เถาตำลึงแก่ ๆ (ขนาดเท่านิ้วก้อย) มาตัดเป็นท่อน ๆ (ตัดข้อทิ้ง) แล้วใช้ปากเป่าด้านหนึ่งจนเกิดฟอง หลังจากนั้นให้เอามือเปิดเปลือกตาไก่ออกแล้วเอาฟองที่ได้หยอดตาไก่วันละครั้งจนหายดี (เถา) นิยมใช้ยอดและใบกินเป็นผักสด อาจจะลวกหรือต้มจิ้มกินกับน้ำพริก และใช้ในการประกอบอาหารได้หลายอย่าง เมนูตำลึง เช่น แกงจืด ต้มเลือดหมู แกงเลียง ก๋วยเตี๋ยว ผัดไฟแดง ไข่เจียว เป็นต้น (ยอด, ใบ) ผลอ่อนของตำลึงนำมากินกับน้ำพริก หรือจะนำมาดองกิน ส่วนผลสุกมีรสอมหวาน กินได้เช่นกัน (ผล) ตำลึงมีฤทธิ์เป็นยาเย็น เมื่อทาน้ำตำลึงที่ผิวหนังแล้วไม่รู้สึกเย็นแปลว่าไม่ถูกโรค ให้หยุดใช้ทันที

2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือโมเลกุลของสารที่สามารถจับกับตัวรับและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลสารอื่น ๆได้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวเนื่องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ ปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถให้ผลิตภัณฑ์เป็นสารอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งสารอนุมูลอิสระเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และทำลายเซลล์ของร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้ายุติปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ด้วยการเข้าจับกับสารอนุมูลอิสระและยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยถูกออกซิไดซ์ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงถือเป็นตัวรีดิวซ์ อาทิ ไธออล กรดแอสคอร์บิก และโพลีฟีนอล

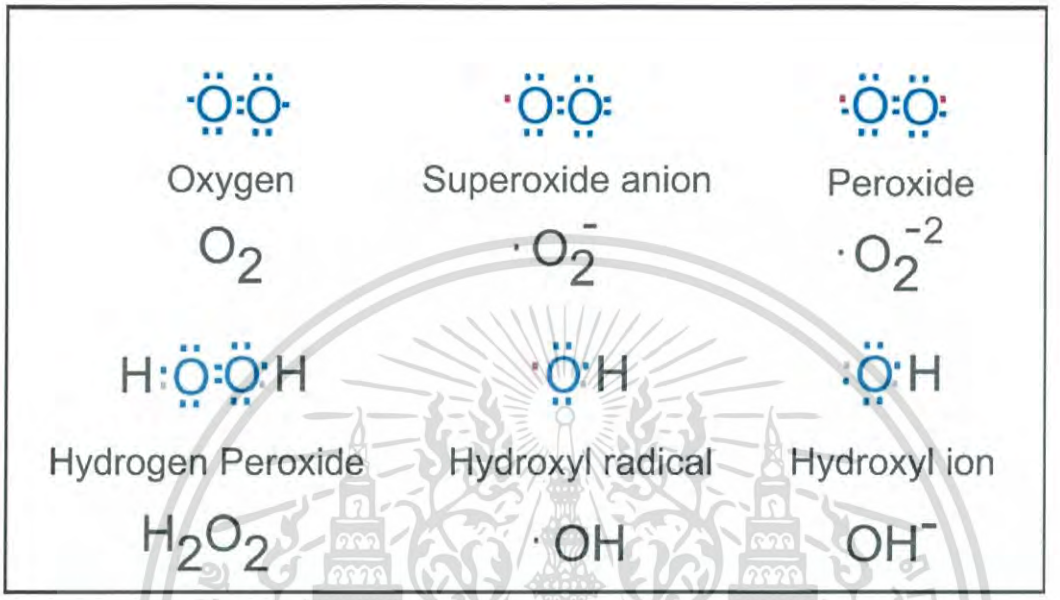
อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายเนื่องจากมีมูลเหตุจากออกซิเจน จึงมีชื่อเรียกเป็นภาษาอังกฤษว่า reactive oxygen species (ROS) อนุมูลอิสระที่สำคัญ ได้แก่

ซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน (superoxide anion); $\cdot O_2^-$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide); H_2O_2

ไฮดรอกซิลแรดดิเคิล (hydroxyl radical); · OH



รูปที่ 2.5 ชนิดของอนุมูลอิสระ

ที่มา : http://www.scimath.org/article-biology/item/6903-2017-05-14-06-44-33

(สืบค้นวันที่ 4/1/2562)

2.2.1 บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระ

ทำไมการที่สารต้านอนุมูลอิสระสามารถป้องกันหรือกำจัดอนุมูลอิสระได้จึงมีความสำคัญ มีงานวิจัยมากมายบ่งชี้ว่า สารต้านอนุมูลอิสระสามารถลดความเสี่ยงต่อโรคหลายโรคโดยเฉพาะโรคเรื้อรังที่สัมพันธ์กับอาหาร เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคสมอง (เช่น อัลไซเมอร์) เป็นต้น รวมทั้งช่วยชะลอกระบวนการบางขั้นตอนที่ทำให้เกิดความแก่โดยปกติร่างกายสามารถกำจัดอนุมูลอิสระก่อนที่มันจะทำอันตราย แต่ถ้ามีการสร้างอนุมูลอิสระเร็วหรือมากเกินกว่าร่างกายจะกำจัดทัน อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะสร้างความเสียหายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อได้ ซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพ สารต้านอนุมูลอิสระลดความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้ 2 ทาง คือ ลดการสร้างอนุมูลอิสระในร่างกาย ลดอันตรายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แม้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระไม่สามารถแก้ไขความเสียหายที่เกิดขึ้นแล้ว แต่สามารถชะลอให้ความเสียหาย เกิดช้าลงได้ โดยเฉพาะโรคเรื้อรังซึ่งเป็นผลลัพธ์สะสมที่เกิดจากเซลล์และเนื้อเยื่อในร่างกายถูกทำอันตรายและเสียหายเป็นปีๆ (โดยมากเป็นเวลาหลายสิบปี) เห็นได้จากการรวบรวมความชุกของโรคว่าโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง เป็นมากในผู้ใหญ่วัยกลางคนหรือผู้สูงอายุ ดังนั้นบุคคลทุกเพศทุกวัยจึงควรได้รับสารต้านอนุมูลอิสระให้พอเพียงต่อความต้องการในแต่ละวัน เพื่อให้เกิดความสมดุลในร่างกายระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระ และอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น

สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารแอนติออกซิแดนซ์ (antioxidants) ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี ซีลีเนียม บีตาแคโรทีน วิตามินเอ พฤกษาเคมีต่าง ๆ (phytochemicals) เช่น สารประกอบฟีโนลิก (polyphenol) จากชาและสมุนไพรบางชนิด ไอโซฟลาโวน (isoflavones) จากถั่วเหลือง เป็นต้น เพื่อให้ร่างกายได้รับสารต้านอนุมูลอิสระพอเพียงกับความต้องการ เราควรกินผักผลไม้สีเข้มเป็นประจำโดยล้างให้สะอาดทุกครั้ง นอกจากจะได้รับสารต้านอนุมูลอิสระแล้ว ยังจะได้รับใยอาหารด้วย ร่างกายของเราจำเป็นต้องได้รับใยอาหารเช่นกัน เนื่องจากใยอาหาร ช่วยในการขับถ่าย ช่วยเพิ่มปริมาณอุจจาระ ช่วยป้องกัน อาการท้องผูก ช่วยนำโคเลสเตอรอลออกจากร่างกาย เร่งการนำสารพิษที่อาจทำให้เป็นมะเร็งบางชนิดออกจากร่างกายเร็วขึ้น

2.2.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

ฟลาโวนอยด์ เป็นสารพฤกษเคมีที่มีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระ พบในเม็ดสีชนิดละลายในน้ำของผัก ผลไม้ เมล็ดธัญพืช ใบไม้ และเปลือกไม้ (ฟลาโวนอยด์ ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในร่างกายของคนเรา คือ ไบโอฟลาโวนอยด์) ฟลาโวนอยด์มีอยู่มากมายหลายชนิด และพืชแต่ละชนิดจะมีฟลาโวนอยด์แต่ละประเภทในความเข้มข้นที่ต่างกันไป แท้จริงแล้ว มีการศึกษาหลายชิ้นพบว่าฟลาโวนอยด์บางชนิดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเหนือกว่าวิตามินซีหรือวิตามินอี ถึง 50 เท่า และฟลาโวนอยด์ในองุ่นแดงมีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันแอลดีแอล (LDL) (สัมพันธ์กับการอุดตันของเส้นเลือดแดงและการเกิดโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด) มากกว่าวิตามินอี ถึงกว่าหนึ่งพันเท่า ฟลาโวนอยด์ชนิดต่าง ๆ ที่พบบางส่วนมีดังนี้

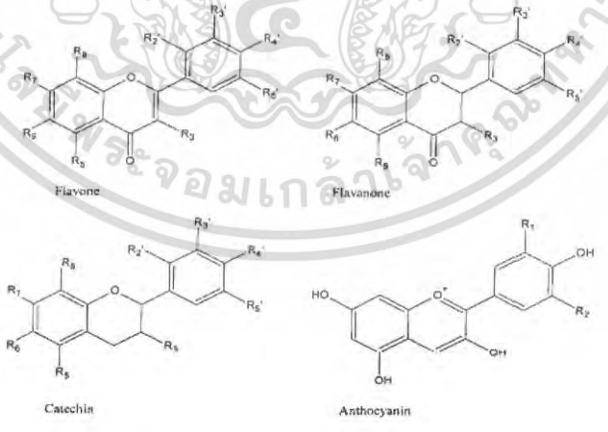
1. แคเทคิน (Catechin) เป็นหนึ่งในสมาชิกของตระกูลพอลิฟีนอล-ฟลาโวนอยด์ มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย กลุ่มสแตฟไฟโลคอกคัส (Staphylococcus) ซึ่งดื้อต่อยาหลายชนิด การติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดอันตรายถึงชีวิตได้ แคเทคินยังช่วยควบคุมระดับคอเลสเตอรอลในเลือดของผู้ที่รับประทานอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง และ ยังช่วยป้องกันฟันผุและโรคเหงือกได้อีกด้วย ยังมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่พบว่า แคเทคินอาจช่วยลดอัตราการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารและมะเร็งปอด ช่วยป้องกันการทำลายของดีเอ็นเอ(DNA) จากอนุมูลอิสระ และยังช่วยชะลอการเกิดของโรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว แคเทคินพบมากในชาเขียว องุ่น (น้ำองุ่น, ไวน์องุ่น)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เรสเวอราทรอล (Resveratrol) สมาชิกสำคัญอีกหนึ่งจากตระกูลพอลิฟีนอล – ฟลาโวนอยด์ มีการศึกษาพบว่า มันช่วยลดความเสี่ยงของโรคหัวใจและเส้นเลือดในสมองตีบ โดยการยับยั้งการก่อตัวของลิ่มเลือดและไขมันชนิดแอลดีแอล (LDL) ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี และยังพบว่า มันยังช่วยยับยั้งการสร้างเซลล์มะเร็ง และสามารถเปลี่ยนเซลล์มะเร็งร้ายให้กลับคืนเป็นเซลล์ปกติได้ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เรสเวอราทรอล พบในในผิวและเมล็ดขององุ่น (ไวน์แดง) และถั่วลิสง

3. โปรแอนโทไซยานิดินส์และแอนโทไซยานิดินส์ (Proanthocyanidins & Anthocyanidins, PCOs) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า โอลิโกเมอริก โปรแอนโทไซยานิดินส์ (OPCs) ฟลาโวนอยด์เหล่านี้เป็นผู้คุ้มกันผนังหลอดเลือดที่ทรงพลัง และยังโดดเด่นในการเชื่อมโยงและสร้างความแข็งแรงให้เส้นสายโปรตีนคอลลาเจน โดยเฉพาะคอลลาเจนบริเวณเนื้อเยื่ออ่อน เส้นเอ็น และกระดูก ด้วยเหตุผลดังกล่าว OPCs จึงช่วยส่งเสริมการไหลเวียนของเลือดไปหล่อเลี้ยงต่อมและอวัยวะทั่วร่างกาย ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการป้องกันและรักษาโรค ช่วยรักษาเส้นเลือดฝอยที่เปราะแตกง่าย เช่น อาการฟกช้ำ เส้นเลือดขอดบริเวณขา และริดสีดวงทวาร และยังมีส่วนสำคัญในการป้องกันโรคกระดูกพรุน OPCs มีคุณสมบัติการละลายน้ำได้ดี ส่งผลให้ช่วยต่อสู้กับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในของเหลวรอบเนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้เป็นอย่างดี เป็นสารต้านอนุมูลอิสระหนึ่งในไม่กี่ตัวที่สามารถผ่านระบบกั้นระหว่างเส้นเลือดกับสมองได้ ดังนั้น มันจึงสามารถช่วยปกป้องสมองและเนื้อเยื่อประสาทจากการเข้าทำลายของอนุมูลอิสระได้ พบมากใน สารสกัดจากเมล็ดองุ่น และเปลือกสน

สารต้านอนุมูลอิสระจำพวกไบโอฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารที่พบมากในผักและผลไม้ จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง จากการศึกษาวิจัยทางคลินิกแสดงให้เห็นว่า สารอาหารชนิดนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกและเส้นเลือดภายในเนื้องอกได้



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของฟลาโวนอยด์ชนิดต่าง ๆ

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2951/flavonoid

(สืบค้นวันที่ 4/1/2562)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 แอนโทไซยานิน (Anthocyanins)

แอนโทไซยานิน เป็นรงควัตถุหรือสารสี (pigment) ที่ให้สีแดง ม่วง และน้ำเงิน ใช้เป็นสารให้สี (coloring agent) ธรรมชาติในอาหาร สารสกัดแอนโทไซยานิน มีสมบัติเป็นโภชนะเภสัช(nutraceutical) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ ช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและเส้นเลือดอุดตันในสมอง ด้วยการยับยั้งไม่ให้เลือดจับตัวเป็นก้อน ชะลอความเสื่อมของดวงตา ช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) อีโคไล (Escherichia coli) ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงและอาหารเป็นพิษด้วยจัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) กลุ่มพอลิฟีนอล (polyphenol)สีของแอนโทไซยานิน เป็นสารสีที่พบได้ทั่วไปในดอกไม้ ผลไม้บางชนิด ใบหรือลำต้นของพืชบางชนิดที่มีสีตั้งแต่สีแดงถึงน้ำเงินเข้ม ในสภาพที่เป็นกรดมีค่า pH ต่ำกว่า 3 (เป็นกรดสูง) จะทำให้แอนโทไซยานินมีสีแดง ในสภาพที่ค่อนข้างเป็นกลาง หรือมีค่า pH ประมาณ 7-8 แอนโทไซยานินจะมีสีม่วง และเมื่อสภาพเป็นเบสหรือมีค่า pH มากกว่า 11 (เป็นเบสสูง) แอนโทไซยานินจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน

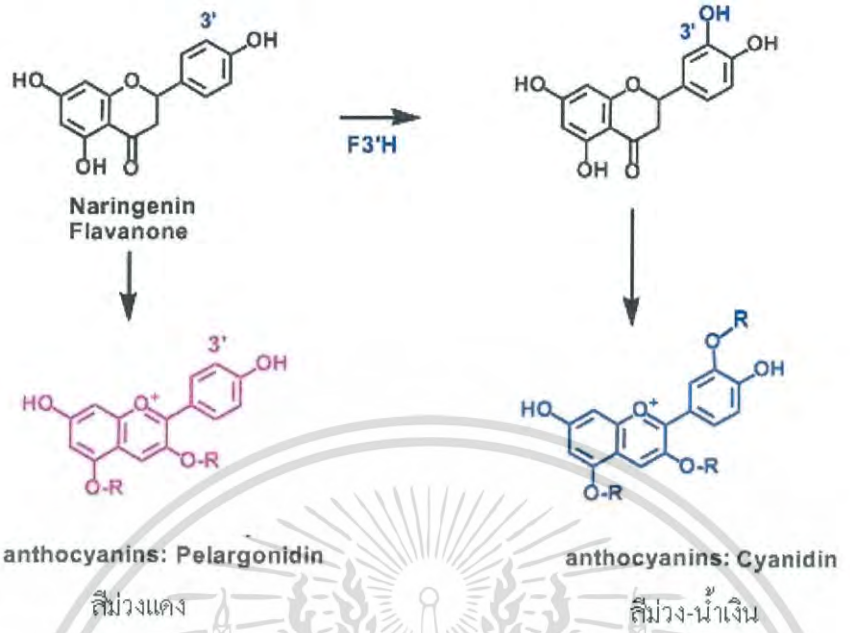
โครงสร้างของแอนโทไซยานิน ประกอบด้วยสารประกอบ 2 หรือ 3 ชนิด ได้แก่

1. แอนโทไซยานิดิน หรืออะไกลโคน (Aglycone) มีโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วยคาร์บอนเชื่อมต่อกันในรูป C-6-C-3-C-6 เชื่อมต่อกัน ซึ่งแอนโทไซยานิดินที่พบมากในปัจจุบันจะมีอยู่ 6 ชนิด คือ เพลาโกนิดินไซยานิดิน เดลฟินิดิน พีโอนิดิน เพทุนิดิน และมอลวิดิน

2. น้ำตาล ซึ่งจะเกิดพันธะกับคาร์บอน ตำแหน่งที่ 3 หรือตำแหน่งที่ 3 และ 5 โดยน้ำตาลที่เกิดพันธะได้ เช่น กลูโคส กาแลกโตส รูติโนส แรมโนส เป็นต้น

3. โครงสร้างที่เป็นกรด ซึ่งส่วนนี้อาจมีหรือไม่มีก็ได้ แอนโทไซยานินที่มีกรดเป็นองค์ประกอบเรียกว่า นอนอะซิเลตเทต แอนโทไซยานิน ถ้าไม่มีกรดเป็นองค์ประกอบเรียกว่า อะซิเลตเทต แอนโทไซยานิน โดยกรดจะเกิดเอสเทอริฟิเคชัน กับน้ำตาล กรดที่เกิดพันธะเอสเทอร์กับน้ำตาล เช่น กรดคูมาริก กรดเฟอร์รูริ กรดคาร์เฟอิก เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1103/anthocyanin

(สืบค้นวันที่ 4/1/2562)

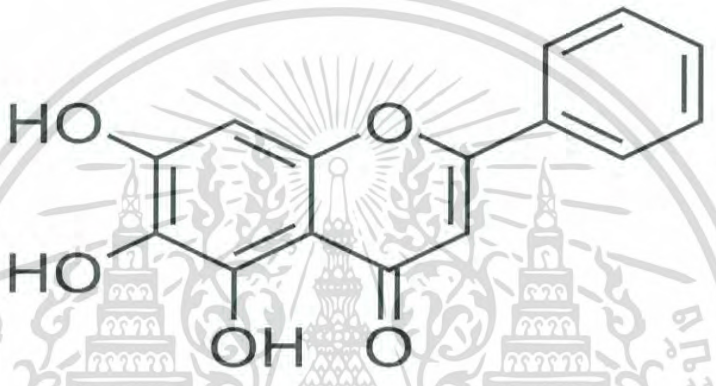
2.2.4 สารเคอร์ซีติน (Quercetin)

เควอซิทิน เป็นหนึ่งในสารพฤกษเคมี หรือ ไฟโตนิวเทรียนท์ หมายถึง สารเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบเฉพาะในพืช สารกลุ่มนี้อาจเป็นสารที่ทำให้พืชผักชนิดนั้นๆ มีสี กลิ่นหรือรสชาติที่เป็นลักษณะเฉพาะตัว สารพฤกษเคมีเหล่านี้หลายชนิดมีฤทธิ์ต่อต้านหรือป้องกันโรคบางชนิดและโรคสำคัญที่มักอ้างว่าสารกลุ่มนี้ช่วยป้องกันได้คือ“โรคมะเร็ง”

เควอซิทิน เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นสารที่ให้ฤทธิ์ในการต้าน ออกซิเดชั่นสูงที่สุด มีมากในหัวหอม หอมแดง และพืชตระกูลถั่ว ให้ฤทธิ์ในการป้องกันการอักเสบ ป้องกันแบคทีเรีย และไวรัส ช่วยเพิ่มภูมิต้านทานโรค ควบคุมการออกฤทธิ์ของฮอร์โมน ช่วยป้องกันอาการแพ้ ป้องกันการแข็งตัวของเลือด ป้องกันการเกิดออกซิเดชั่น ในหลอดเลือด และป้องกันหลอดเลือดเลี้ยงสมองอุดตัน ป้องกันไม่ให้เกิดลิ่มเลือดในหลอดเลือด ลดการเป็นพิษต่อเซลล์ไขมันแอลดีแอล (LDL) จากการทดลองกลไกที่สำคัญในการทำงานของหลอดเลือด หัวใจและลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ นอกจากจะมีบทบาทสำคัญในการต่อต้านเซลล์มะเร็ง แล้วยังยับยั้งวงจรชีวิตเซลล์ หยุดการขยายตัวของเซลล์ และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รวมถึงการทำให้เกิดอะพ็อพโทซิส (apoptosis) หรือการตายของเซลล์ในการเจริญเติบโตของเซลล์เต้านมที่ผิดปกติได้ เควอซิทิน ได้รับการพิสูจน์ให้เห็นว่า เป็นตัวนำการตายของเซลล์ในเซลล์เนื้องอกลำไส้ รวมทั้งยังช่วยยับยั้งฟอสโฟริลเลชั่น (phosphorylation) ของกลุ่มเซลล์ ที่ได้รับสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์เนื้องอก และลดทางการเจริญเติบโต ในเซลล์เนื้องอกชนิดนี้ การได้รับฟลาโวนอล และ ฟลาโวนในระดับที่สูง (มากกว่า 30 มิลลิกรัมต่อวัน) จะช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคลมชักในระยะแรก ในผู้ป่วยสูงอายุได้สองในสามส่วน เควอซิทิน คือ ฟลาโวนอยด์ที่สำคัญ ในอาหารที่ทำการศึกษาในครั้งนี้



รูปที่ 2.8 โครงสร้างของเคอร์ซิทิน

ที่มา : http://thaiknows.blogspot.com/2018/03/quercetin.html

(สืบค้นวันที่ 4/1/2562)

2.2.5 ฟีนอล (Phenol)

ฟีนอล (Phenol) เป็นสารประกอบอะโรมาติคที่ผลิตได้จากสารประกอบอะโรมาติคชนิดอื่นๆ เช่น เบนซีน โทลูอีน เป็นสารที่ถูกนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์เคมีหลายชนิด อาทิ สีย้อม สารเคมีกำจัดวัชพืช และศัตรูพืช ยาในทางการแพทย์ เป็นต้น

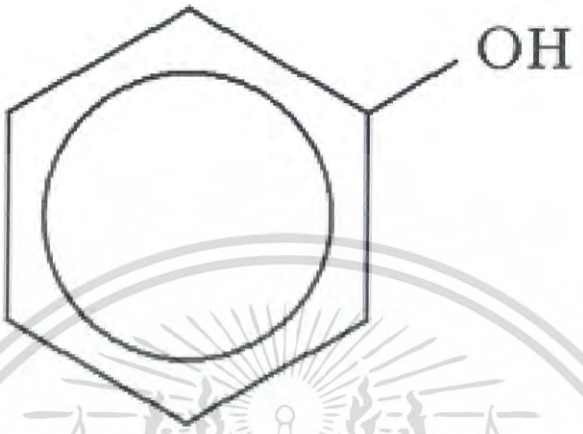
ฟีนอลมีสูตรเคมี C_6H_5OH เป็นสารสารประกอบที่มีหมู่ hydroxyl (OH) ต่อกับกลุ่มอะโรมาติค มีสถานะเป็นของแข็งสีชมพูอ่อน มวลโมเลกุลเท่ากับ 94.01 กรัม/โมล สามารถละลายได้ดีในแอลกอฮอร์ คาร์บอนเตทตระคลอไรด์ และอะซิติคเอซิด เป็นต้น หากมีหมู่อื่นแทนที่หมู่ OH หรือมาเกาะกับวงแหวนของฟีนอล เช่น CH3 หรือ Cl จะได้เป็นอนุพันธ์ของฟีนอล ซึ่งเรียกแตกต่างกันตามหมู่แทนที่ที่มาเกาะ

อนุพันธ์ของฟีนอล และคุณสมบัติ Hydroczybenzene (phenol)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักโมเลกุล (กรัม/โมล) : 94.1 ความหนาแน่น (กรัม/ซีซี) : 1.132

จุดหลอมเหลว °C : 40.9 จุดเดือด °C : 181.8



รูปที่ 2.9 โครงสร้างของฟีนอล

ที่มา : https://www.siamchemi.com (สืบค้นวันที่ 4/1/2562)

2.2.6 แทนนิน (Tannin)

แทนนิน (tannin) เป็นสารที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมไม้อัด ไม้แปรรูป นิยมนำมาใช้มากสำหรับการผลิตกาวสำหรับเกาะยึดไม้ รวมถึงมีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆอย่างกว้างขวาง อาทิ อุตสาหกรรมฟอกหนัง อาหาร ยา และอื่น ๆ

แทนนินถูกค้นพบครั้งแรกเมื่อ ค.ศ. 1796 เรียกว่า tannare ที่มาจากภาษาลาติน แปลว่า เปลือกต้นโอ๊ค เป็นสารประกอบจำพวกโพลีฟีนอล (polyphenol) ที่ละลายได้ในน้ำ และแอลกอฮอล์ให้สีเหลืองหรือสีน้ำตาล มีน้ำหนักโมเลกุล 500-3000 ดาลตัน มีโครงสร้างสลับซับซ้อน และแตกต่างกันในแต่ละชนิดพืช แทนนินทั่วไปจะมีสีเหลืองหรือน้ำตาล มีรสขม ฝาด พบได้ในพืชทุกชนิดในส่วนของเปลือก ใบ ผล ซึ่งพบปริมาณมากในเปลือกไม้

คุณสมบัติทางกาย และเคมี

– แทนนินส่วนมากไม่สามารถตกผลึกได้ แต่สามารถตกตะกอนได้กับสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต กรดโครมิค

– มีรสฝาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

– จับตัวกับโปรตีนของหนังสัตว์ได้ดี

– สามารถละลายได้ดีในน้ำ แอลกอฮอล์ อะซิโตน ไม่ละลายในอีเทอร์ คลอโรฟอร์ม

– ทำปฏิกิริยากับเกลือของเหล็กได้สารประกอบสีน้ำเงินหรือสีเขียว

– ในสารละลายที่มีคุณสมบัติเป็นด่าง แทนนินจะดูดซับออกซิเจนเปลี่ยนสารละลายเป็นสีคล้ำขึ้น

– ทำปฏิกิริยากับสารละลายโพแทสเซียมเฟอริคไซยาไนด์ และแอมโมเนียเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้ม

ชนิดของแทนนิน

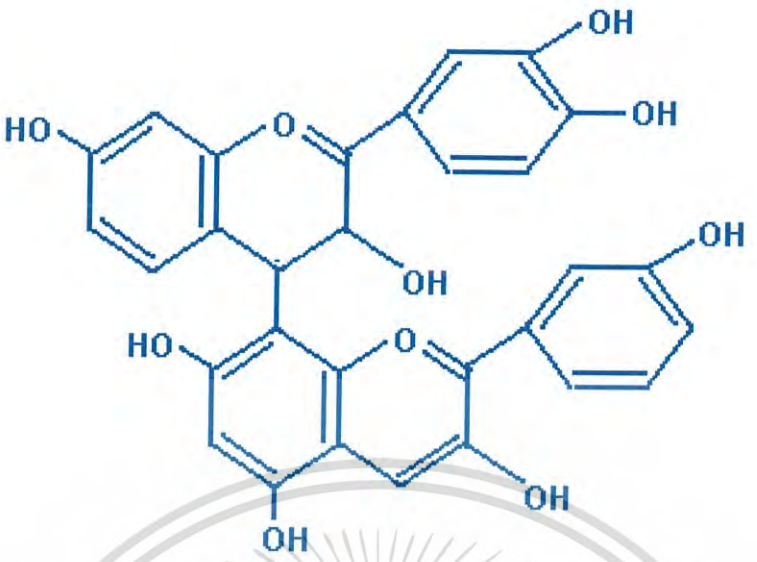
1. ไฮโดรไลเซเบอ แทนนิน (Hydrolyzable tannins) เป็นชนิดของแทนนินที่ประกอบด้วยโครงสร้างของสาร 2 กลุ่ม คือ ส่วนที่เป็นน้ำตาล ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส และสารประกอบโพลีออล ส่วนที่เป็นกรดฟีนอลิก ได้แก่ กรดแกลลิก กรดเฮกซะไฮดรอกซิลไดฟีนิก อนุพันธ์ของ HHDP ทั้งนี้องค์ประกอบส่วนใหญ่จะพบส่วนกรดฟีนอลมากกว่าน้ำตาล แบ่งออกเป็นชนิดย่อยได้ 2 ชนิด คือ

– แกลโลแทนนิน (Gallotannins) เป็นสารที่ประกอบด้วยกรดแกลลิกเชื่อมต่อกับน้ำตาลด้วยพันธะเอสเทอร์ เมื่อสลายตัวจะได้กรดแกลลิก และน้ำตาลกลูโคส พบในพืช ได้แก่ โกศน้ำเต้า กานพลู กุหลาบแดง และเหลือก

– แอลลาจิกแทนนิน (Ellagitannins) เป็นชนิดที่ประกอบด้วยโครงสร้างของกรดเฮกซะไฮดรอกซิไดฟีนิก (Hexahydroxydiphenic acid) เช่น กรดชิบิวลิก และกรดไฮโดรเฮกซะไฮดรอกซิไดฟีนิกที่รวมอยู่กับน้ำตาลแอลลาจิกแทนนิน เมื่อสลายตัวจะได้กรดเฮกซะไฮดรอกซิไดฟีนิก และเกิดปฏิกิริยาที่ได้กรดแอลลาจิกตามมา พบได้ในพืช เช่น ผลทับทิม ผลสมอไทย ต้นโอ๊ค ต้นยูคาลิปตัส เป็นต้น

2. คอนเดนเซด แทนนิน (Condensed tannins) เป็นสารประกอบโพลีฟีนอล (polyphenol) ที่มีความซับซ้อน มีสภาพความคงตัวสูง สลายตัวด้วยน้ำยากกว่าชนิดไฮโดรไลเซเบอ แทนนิน พบได้ในกลุ่มพืช อบเชย ชินโคนา หลิว โอ๊ค โกโก้ และใบชา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.10 โครงสร้างของแทนนิน

ที่มา : https://www.siamchemi.com (สืบค้นวันที่ 4/1/2562)

2.3 มะเร็งเต้านม

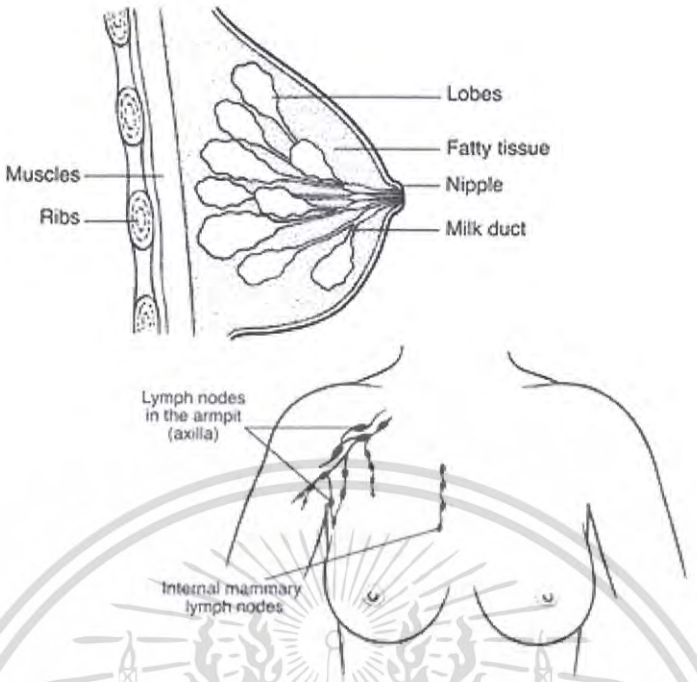
2.3.1 เต้านม

เต้านม คืออวัยวะส่วนหนึ่งของร่างกายผู้หญิงอยู่บริเวณหน้าอกทั้งสองข้าง เต้านมของเด็กหญิงจะแบนราบ และจะพัฒนาขยายขึ้นในช่วงที่ผู้หญิงเริ่มเป็นวัยรุ่น เต้านมใช้สำหรับป้อนนมเด็ก โดยเมื่อผู้หญิงมีลูกเต้านมจะผลิตน้ำนม การแสดงเต้านมในที่สาธารณะจะถูกห้ามตามกฎหมายในขณะที่บางสถานที่จะสามารถแสดงได้ และยังเป็นสัญลักษณ์ที่ใช้แสดงถึงความเป็นผู้หญิง ซึ่งเทคโนโลยีในปัจจุบัน สามารถแก้ไขตกแต่งลักษณะภายนอกของเต้านมให้มีลักษณะตามต้องการได้ เช่น การศัลยกรรมหน้าอกให้ใหญ่ขึ้นหรือทำให้เล็กลง การเปลี่ยนรูปทรงให้สวยงามขึ้น การลดการหย่อนคล้อยลง ทั้งนี้การจะทำการศัลยกรรมหน้าอกนั้น จำเป็นต้องทำโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านเท่านั้น

เต้านมของคนเราประกอบไปด้วยไขมัน เนื้อเยื่อ ต่อมน้ำนมนมประมาณ 15-20 lobes ภายใน lobe ประกอบ lobules และมีถุง bulbs ติดอยู่กับท่อน้ำนมซึ่งจะเปิดยังหัวนม (nipple) ภายในเต้านมยังมีหลอดเลือด และน้ำเหลือง(lymph) ซึ่งจะไปรวมกันยังต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ (axillary lymph node)

เต้านมคนเราเปลี่ยนแปลงตามอายุ และตามรอบประจำเดือน การที่เราหมั่นคลำเต้านมตัวเองจะทำให้เรารู้ลักษณะปกติของเต้านม เราสามารถพบการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นที่เต้านมตั้งแต่แรก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.11 โครงสร้างของเต้านม

ที่มา : https://breastcancerinfoarticle.wordpress.com/2011/09/24/โครงสร้างของเต้านม

(สืบค้นวันที่ 4/1/2562)

ลักษณะเต้านมในแต่ช่วงเวลาของรอบเดือนจะมีลักษณะไม่เหมือนกัน ช่วงก่อนมีรอบเดือนเต้านมจะตึงและคัดเมื่อคลำจะรู้สึกตึง คลำได้ต่อมน้ำนม แต่หลังจากประจำเดือนมาแล้วเต้านมจะนิ่มขึ้น เต้านมในวัยทองจะเหลวนิ่ม เนื่องต่อมน้ำนมไม่ทำงาน สำหรับท่านที่ตัดมดลูกโดยที่ไม่ได้ตัดรังไข่ เต้านมของท่านยังคงเหมือนเดิม

2.3.2 มะเร็งเต้านม

มะเร็ง คือ โรคที่เกิดจากความผิดปกติของเซลล์ในอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย โดยมีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติเกิดเป็นก้อนเนื้อที่มีการลุกลามไปยังอวัยวะข้างเคียง หรือกระจายไปยังส่วนอื่นๆ ของร่างกายได้ ผ่านทางระบบเลือด หรือระบบทางเดินน้ำเหลือง โรคมะเร็งมีหลากหลายชนิดขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่เป็นจุดกำเนิดของโรค และชนิดของเซลล์มะเร็ง โดยทั่วไปมะเร็งแบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ได้ดังนี้

1. Carcinoma มะเร็งคาซิโนมา คือ มะเร็งที่มีจุดกำเนิดมาจากผิวหนัง หรือ เนื้อเยื่อบุอวัยวะ
2. Sarco ma มะเร็งซาโคมา คือ มะเร็งที่มีจุดกำเนิดมาจากกระดูก กระดูกอ่อน ไขมัน กล้ามเนื้อ หรือเส้นเลือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Leukemia มะเร็งลิวคีเมีย คือ มะเร็งที่มีจุดกำเนิดมาจากเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือดในไขกระดูก ทำให้มีความผิดปกติของเม็ดเลือด
4. Lymphoma and myeloma มะเร็งลิมโฟมา และ ไมอีโลมา คือ มะเร็งที่มีจุดกำเนิดมาจากเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกัน
5. Central nervous system cancers มะเร็งระบบสมอง และไขสันหลัง

โรคมะเร็งต่างจากเนื้องอกที่ ก้อนเนื้อ หรือ แผลมะเร็ง โตเร็ว ลุกลามเข้าอวัยวะข้างเคียง เข้าต่อมน้ำเหลือง และแพร่กระจายเข้าหลอดเลือด,กระแสเลือด และหลอดน้ำเหลืองไปยังเนื้อเยื่อหรืออวัยวะต่างๆได้ทั่วร่างกาย โดยมักแพร่สู่ ปอด ตับ สมอง กระดูก และไขกระดูก ดังนั้นโรคมะเร็งจึงเป็นโรคเรื้อรัง รุนแรง มีการรักษาที่ซับซ้อนและต่อเนื่อง ส่วนโรคเนื้องอก ได้แก่ มีก้อนเนื้อผิดปกติ แต่โตช้า ไม่ลุกลามเข้าเนื้อเยื่อ/อวัยวะข้างเคียง เพียงกด หรือ เบียดทับเมื่อก้อนโตขึ้น ไม่ลุกลามเข้าต่อมน้ำเหลือง ไม่แพร่กระจายทางกระแสโลหิต และทางกระแสน้ำเหลือง จึงเป็นโรคมักรักษาได้หายโดยเพียงการผ่าตัด

มะเร็งเต้านม (Breast cancer) เป็นโรคมะเร็งที่เกิดจากเนื้อเยื่อที่มีความผิดปกติส่วนใดส่วนหนึ่งภายในเต้านมเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์มะเร็งและขยายใหญ่ขึ้นจนกลายเป็นก้อนเนื้อร้าย ก่อนจะลุกลามไปสู่เนื้อเยื่อข้างเคียงและแพร่กระจายไปยังเซลล์อื่นของร่างกาย มะเร็งชนิดนี้สามารถพบได้ทั้งในเพศหญิงและเพศชาย แต่พบในเพศชายในอัตราที่น้อยมาก

2.3.2.1 สาเหตุการเกิดมะเร็งเต้านมและอาการ

สาเหตุของมะเร็งเต้านมยังไม่พบสาเหตุการเกิดที่แน่ชัด แต่พบปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคได้มากขึ้น โดยเฉพาะในเพศหญิง ทั้งจากสภาพแวดล้อมภายนอก พฤติกรรมการใช้ชีวิต อายุที่มากขึ้น ผู้หญิงที่ไม่มีบุตร หรือมีช่วงระยะของการมีประจำเดือนนาน และอีกหลายปัจจัย ทั้งนี้บางปัจจัยสามารถแก้ไขได้ แต่บางปัจจัยไม่สามารถควบคุมได้ เช่น ความบกพร่องของระบบภูมิคุ้มกัน ความผิดปกติทางพันธุกรรม หรือเชื้อชาติ เป็นต้น

อาการแสดงเฉพาะ คือ มีก้อนแข็งในเต้านมในระยะแรก ๆ จะไม่มีอาการเจ็บปวด เคลื่อนไหวได้ ในระยะนี้จะทราบได้ยากนอกจากตัวผู้ป่วยเองคลำก้อนได้ และมาปรึกษาหมอ เมื่อโรคเป็นมากขึ้น ก้อนจะโตขึ้น คลำหรือมองเห็นชัดเจน เริ่มติดแน่นกับที่ หรือมีการดึงรั้งหนังหรือหัวนมให้บุ๋มลง บางรายมีน้ำเหลืองหรือเลือดออกจากหัวนม หากมีอาการอุดตันของหลอดน้ำเหลือง จะทำให้มีการบวมแดง ถ้าเป็นมากก้อนจะแตกเป็นแผลและปวดเหมือนเป็นฝี ผู้ป่วยบางรายอาจมาด้วยต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้โต หรือมีอาการทางปอด ตับ หรืออวัยวะอื่น ๆ

อาการแสดงของโรคมะเร็งเต้านม

- มีก้อนหรือมีการหนาตัวขึ้นของเต้านมหรือบริเวณใต้วงแขน

- มีการเปลี่ยนขนาดหรือรูปร่างในเต้านมโตที่เจริญเต็มที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- มีสารคัดหลั่งจากหัวนมซึ่งไม่ใช่น้ำนม

- มีการเปลี่ยนแปลงขนาดและรูปร่างของหัวนม

- มีการเปลี่ยนสีหรือพื้นผิวของหัวนมและลานนม หรือผิวหนังบนเต้านม (มีรอยบุ๋ม มีผื่น หรือรอยย่น)

2.3.2.2 ระยะของมะเร็งเต้านม

ระยะของโรคมะเร็งเป็นเพียงส่วนหนึ่งของการวินิจฉัย คุณจะได้รับการตรวจอีกมาก ก่อนจะได้การวินิจฉัยอย่างถูกต้องครอบคลุม และการวางแผนการรักษา และในบทความนี้จะขอพาทุกท่านมารู้จักทางเลือกในการรักษาต่าง ๆ กันก่อน เพื่อเลือกทางที่เหมาะสมก่อนจะเริ่มการรักษา

มะเร็งเต้านมระยะที่หนึ่ง

มะเร็งเต้านมระยะแรกเป็นระยะที่มีก้อนขนาดเล็กมาก หรือเป็นเพียงกลุ่มของเซลล์มะเร็งในเต้านม หรือในต่อมน้ำเหลืองข้างเคียง มะเร็งเต้านมระยะแรกจะถูกจัดเป็น T0N0M0 ในการจัดระบบแบบ TNM (TNM system) โดยตัวเลขดังกล่าวเป็นการให้คะแนนสำหรับก้อนมะเร็ง (tumor) การกระจายไปต่อมน้ำเหลือง (node status) และการแพร่กระจายไปยังที่อื่น (metastasis) ถ้ามะเร็งของคุณถูกจัดเป็น T1 นั่นหมายความว่าก้อนมีขนาดเล็กกว่าหรือเท่ากับ 2 เซนติเมตร อาจมีการแพร่กระจายในระดับที่ตามองไม่เห็น (micrometastasis) ที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.1 เซนติเมตร ถ้าไม่พบก้อนในเต้านม แต่พบเซลล์มะเร็งในต่อมน้ำเหลืองข้างเคียงก็จะถูกจัดเป็น N1

มะเร็งเต้านมระยะ 1A: คุณมีก้อนขนาดเล็กกว่า 2 เซนติเมตร และไม่มีก้อนหรือเซลล์มะเร็งนอกเต้านม

มะเร็งเต้านมระยะ 1B: เป็นได้อย่างน้อย 2 สถานการณ์

1. มีก้อนขนาดเล็กกว่า 2 เซนติเมตร หรือมีกลุ่มเซลล์มะเร็งเล็ก ๆ ในต่อมน้ำเหลือง

2. ไม่มีก้อนในเต้านม แต่มีกลุ่มเซลล์มะเร็งขนาดใหญ่กว่า 2 มิลลิเมตร แต่ไม่เกิน 2 เซนติเมตร ในต่อมน้ำเหลือง

มะเร็งเต้านมระยะ 1B แบบอื่นที่เป็นได้: อาจมีทั้งก้อนขนาด 2 เซนติเมตรในเต้านม และมีการกระจายไปยังต่อมน้ำเหลือง

มะเร็งเต้านมระยะที่ 2

มะเร็งเต้านมระยะที่ 2 เป็นก้อนมะเร็งที่มีขนาดอย่างน้อย 2 ซม. ไปจนถึง 5 ซม. ในเต้านมหรือในต่อมน้ำเหลืองระยะที่ 2 จะมีการให้คะแนนโดย TNM System โดย TNM จะบ่งบอกถึงจำนวนของก้อนมะเร็ง ระยะของต่อมน้ำเหลือง และการแพร่กระจายของมะเร็ง บางครั้งไม่สามารถตรวจพบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก้อนมะเร็ง แต่เซลล์อาจจับกลุ่มอยู่ในต่อมน้ำเหลืองใกล้ ๆ กับเต้านม ซึ่งมะเร็งเต้านมระยะที่ 2 จะแบ่งเป็น 5 ระยะ ดังนี้

Stage 2A: T0, N1, M0: ไม่พบก้อนมะเร็งในเนื้อเยื่อเต้านม แต่เซลล์มะเร็งจะอยู่ในต่อมน้ำเหลืองใกล้กับเต้านม

Stage 2A: T1, N1, M0: จะพบก้อนมะเร็งขนาด 2 ซม. หรือเล็กกว่า จะไปยังต่อมน้ำเหลืองอย่างน้อย 1 ต่อม หรือก้อนมะเร็งแพร่ไปยังเนื้อเยื่อใกล้เคียงน้อยที่สุด 0.1 ซม. และแพร่ไปยังต่อมน้ำเหลืองอย่างน้อย 1 ต่อม

Stage 2A: T2, N0, M0: จะมีก้อนมะเร็งขนาดใหญ่กว่า 2 ซม. หรือเล็กกว่า 5 ซม. แต่ไม่มีผลต่อต่อมน้ำเหลืองอื่น ๆ

Stage 2B: T2, N1, M0: จะมีก้อนมะเร็งขนาดใหญ่กว่า 2 ซม. หรือเล็กกว่า 5 ซม. และมีการแพร่กระจายไปต่อมน้ำเหลืองใกล้เคียง

Stage 2B: T3, N0, M0: ก้อนมะเร็งขนาดใหญ่กว่า 5 ซม. แต่ไม่พบบริเวณหน้าอกหรือผิวหนัง และไม่ไปยังต่อมน้ำเหลืองอื่น ๆ

มะเร็งเต้านมระยะที่ 3

มะเร็งเต้านมระยะที่ 3 เป็นระยะที่รุนแรงกว่าระยะที่ 2 แต่ก็ยังไม่มีการกระจายของโรคไปยังอวัยวะอื่น ในการวินิจฉัยของระยะนี้ มะเร็งยังไม่ได้แพร่กระจายจากเต้านมไปยังอวัยวะหรือตำแหน่งอื่น ๆ ที่ห่างออกไปในร่างกาย แต่เซลล์มะเร็งได้แพร่ไปยังต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้แล้ว หรืออยู่ที่ต่อมน้ำเหลืองใต้กระดูกหน้าอก หรือแม้แต่ต่อมน้ำเหลืองใต้กระดูกไหปลาร้า ก้อนเนื้อมะเร็งในระยะที่ 3 อาจมีขนาดตั้งแต่น้อยกว่า 2 เซนติเมตร จนถึงใหญ่กว่า 5 เซนติเมตร แต่ในบางครั้งก็ไม่เจอมะเร็งในเนื้อเต้านมเลย มะเร็งเต้านมระยะที่ 3 เป็นมะเร็งเต้านมลุกลามที่อาจอธิบายได้ใน 3 กรณี คือ 3A, B และ C ซึ่งจะแบ่งย่อยต่อไปด้วยขนาดของก้อนมะเร็งและต่อมน้ำเหลือง ในกรณีที่ใช้การแบ่งแบบระบบ TNM system แม้ว่าอาจมีการลุกลามไปต่อมน้ำเหลืองได้ แต่มะเร็งเต้านมในระยะที่สามยังไม่ถือเป็นระยะที่มีการแพร่กระจาย

มะเร็งเต้านมระยะ 3A

ระยะ 3A: T0, N2, M0 ไม่มีก้อนมะเร็งในเนื้อเต้านม แต่พบเซลล์มะเร็งในต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้หรือต่อมน้ำเหลืองในเต้านม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะ 3A: T1, N2, M0 ก้อนมะเร็งมีขนาด 2 เซนติเมตรหรือเล็กกว่านั้น หรือลุกลามเลยออกไปจากเนื้อเต้านมเล็กน้อย และนอกเหนือจากนั้นคือมะเร็งมีการกระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้หรือต่อมน้ำเหลืองในเต้านม

ระยะ 3A: T2, N2, M0 ก้อนมะเร็งมีขนาดมากกว่า 2 เซนติเมตร แต่ไม่เกิน 5 เซนติเมตร มะเร็งมีการแพร่กระจายไปยังต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้หรือในเต้านม

ระยะ 3A: T3, N1, M0 ก้อนมะเร็งมีขนาดมากกว่า 5 เซนติเมตร และยังไม่ลุกลามไปยังผิวหนังเต้านมหรือกล้ามเนื้อหน้าอก พบมะเร็งในต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้

ระยะ 3A: T3, N2, M0 ก้อนมะเร็งมีขนาดใหญ่กว่า 5 เซนติเมตร และยังไม่ลุกลามไปยังผิวหนังเต้านมหรือกล้ามเนื้อหน้าอก พบมะเร็งในต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้หรือในต่อมน้ำเหลืองในเนื้อเต้านม

มะเร็งเต้านมระยะ 3B

ระยะ 3B: T4, N0, M0 ก้อนมะเร็งอาจมีขนาดเท่าใดก็ได้และลุกลามไปยังผิวหนังเต้านม หรือโตเข้าไปในผนังหน้าอกโดยไม่ลุกลามไปยังกล้ามเนื้อ pectoralis บางครั้งมะเร็งอาจจะไปถึงทั้งผิวหนังเต้านมและผนังหน้าอก ซึ่งอาจเป็น inflammatory breast cancer ได้เช่นกัน

ระยะ 3B: T4, N1, M0 ก้อนมะเร็งอาจมีขนาดเท่าใดก็ได้และอาจอยู่ชิดผิวหนังหรือผนังหน้าอก หรืออาจเป็น inflammatory breast cancer โดยพบมะเร็งในต่อมน้ำเหลืองใต้รักแร้ใกล้เต้านมข้างที่เป็นโรค

ระยะ 3B: T4, N2, M0 ก้อนมะเร็งอาจมีขนาดเท่าใดก็ได้และอาจลุกลามไปที่ผิวหนังเต้านมหรือผนังหน้าอก หรืออาจเป็น inflammatory breast cancer และยังพบมะเร็งในต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้หรือต่อมน้ำเหลืองในเต้านม

มะเร็งเต้านมระยะ 3C

ระยะ 3C: T ใดๆ N3, M0 ก้อนมะเร็งจะมีขนาดใดก็ได้ แต่ยังอยู่ในเนื้อเต้านมเท่านั้น โดยไม่ลุกลามไปยังผนังหน้าอกและผิวหนังเต้านม ต่อมน้ำเหลืองนั้นอาจมีมะเร็งกระจายไปที่รักแร้ ภายในเต้านมเหนือหรือใต้กระดูกไหปลาร้าก็ได้ นอกจากนั้น ยังอาจพบมะเร็งในหลาย ๆ ตำแหน่งของต่อมน้ำเหลืองเหล่านี้ได้ด้วย

มะเร็งเต้านมระยะที่ 4

โรคมีการแพร่กระจายเข้าหลอดเลือดไปยังอวัยวะอื่น ๆ ของร่างกาย เช่น ตับ สมอง ปอด กระดูก ซึ่งเป็นระยะที่รักษาไม่หายขาด

การวินิจฉัยมะเร็งเต้านมแพทย์จะตรวจดูความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับเต้านม พร้อมทั้งประเมินวิธีการรักษาในขั้นตอนต่อไป แพทย์อาจมีการตรวจเอกซเรย์เต้านม (Mammogram) อัลตรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซาวด์ (Ultrasound) หรือการตรวจเอกซเรย์ด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Magnetic Resonance Imaging: MRI) เพื่อดูก้อนเนื้อหรือเซลล์ที่เกิดความผิดปกติก่อนจะมีการเจาะชิ้นเนื้อ (Biopsy) ออกมาตรวจวิเคราะห์ ทั้งนี้ การเลือกใช้วิธีใดในการตรวจวินิจฉัยหรือตรวจในขั้นตอนใดก่อน แพทย์จะดูอาการและสิ่งที่ตรวจพบจากการตรวจร่างกายเป็นข้อมูลเบื้องต้น

2.3.2.3 การรักษามะเร็งเต้านม

การรักษาโรคมะเร็งเต้านมนั้นมีหลายวิธี แพทย์จะพิจารณาเลือกใช้ขึ้นอยู่กับระดับอาการและความรุนแรงของผู้ป่วยแต่ละรายได้แก่

1. การผ่าตัด

เป็นการผ่าตัดเอาก้อนเนื้อมะเร็งออกไป และรวมถึงเนื้อเยื่อที่เสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งให้หมดไป ไม่ให้เหลืออยู่เพื่อป้องกันการกลับเป็นซ้ำ เช่น ถ้าตรวจพบเซลล์มะเร็งเต้านม แพทย์อาจพิจารณาผ่าตัดเต้านมทิ้งออกทั้งเต้า การรักษาวิธีนี้จะเลือกใช้ในผู้ป่วยที่ตรวจเจอมะเร็งเต้านมในระยะแรก เป็นผู้ป่วยที่มีการตรวจร่างกายสม่ำเสมอ และเพิ่งตรวจเจอเซลล์มะเร็ง โดยมีปัจจัยที่จะต้องพิจารณาร่วมกับการผ่าตัด คือ ลักษณะของมะเร็ง (Tumor Features) ตำแหน่ง ขนาดของก้อน และการกระจายตัวของมะเร็ง นอกจากนี้ต้องพิจารณาปัจจัยด้านตัวผู้ป่วยเอง เช่น ผู้ป่วยอายุน้อยอาจเลือกใช้วิธีอื่น เนื่องจากมีผลกับภาพลักษณ์ พันธุกรรม หรือปัจจัยเสี่ยงต่าง ๆ โรคประจำตัวที่ไม่สามารถรักษาวิธีอื่น ๆ ได้

2. รังสีรักษา

รังสีรักษาหรือที่เรารู้จักกันว่าการฉายรังสี เป็นวิธีการรักษาที่มีความสำคัญอีกแบบหนึ่งสำหรับผู้ป่วยโรคมะเร็งทั้งในระยะเริ่มต้นและระยะแพร่กระจาย เป็นการรักษาเฉพาะตำแหน่งเช่นเดียวกับการผ่าตัด เพราะแพทย์จะฉายรังสีเฉพาะบริเวณที่มีก้อนมะเร็ง โดยให้เนื้อเยื่อข้างเคียงได้รับความเสียหายน้อยที่สุด การให้รังสีนอกจากเพื่อทำให้หายขาดจากโรคแล้ว ยังใช้เพื่อบรรเทาอาการจากโรคในกรณีที่ไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้ วิธีนี้มีข้อดีคือ ผู้ป่วยไม่ต้องอยู่โรงพยาบาลและอาการแทรกซ้อนน้อยมาก เพราะว่าใช้รังสีจำนวนค่อนข้างน้อย แต่ก็มีข้อเสียเล็กน้อยคือ จะได้ผลช้ากว่าวิธีการผ่าตัดเล็กน้อย

3. เคมีบำบัด

การให้เคมีบำบัดในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเต้านมหรือที่เราเรียกกันว่าคีโมนั้น จะมีสูตรยาเคมีหลายสูตร มีทั้งแบบใช้ยาตัวเดียวหรือยาหลายตัวผสมกัน ทั้งแบบยาฉีดหรือยากิน ทั้งแบบให้ยาทุกสัปดาห์และทุก 3-4 สัปดาห์ ใช้เวลาในการให้ยาเคมีครบประมาณ 3-6 เดือน และนอกจากยาเคมีจะไปทำลายเซลล์มะเร็งที่มีการเจริญเติบโตและแบ่งตัวอย่างรวดเร็วในร่างกายแล้ว ยังไปทำลายเซลล์ปกติของร่างกายที่มีการเจริญแบ่งตัวด้วย เช่น เซลล์เม็ดเลือด เกล็ดเลือด เนื้อเยื่อในช่องปาก ลำไส้ และเส้นผม เป็นต้น ทำให้มีผลข้างเคียง เช่น การติดเชื้อ แผลในปาก เบื่ออาหาร คลื่นไส้อาเจียน ท้องเสีย และผมร่วงได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การรักษาโดยใช้ฮอร์โมน

การใช้ยาต้านฮอร์โมนในการรักษามะเร็งเต้านมหรือการใช้วิธีการทางด้านฮอร์โมนก็คือ หากมะเร็งเต้านมนั้นตอบสนองต่อฮอร์โมน คือจะเติบโตขึ้น เมื่อได้รับการกระตุ้นจากฮอร์โมน เราก็รักษาโดยการลดปริมาณฮอร์โมนในร่างกายลง หรือใช้ยาที่เข้าไปขัดขวางการส่งสัญญาณของฮอร์โมนที่เซลล์มะเร็ง โดยทั่ว ๆ ไปแล้วการรักษาด้วยวิธีฮอร์โมนจะได้ผลดีในผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่ตรวจพบว่ามีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนอยู่ในเซลล์ ซึ่งพบได้ประมาณ 60 - 70% ของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมทั้งหมด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้สูงอายุ เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างมาก ทั้งนี้เป็นเพราะว่ามีผลข้างเคียงน้อยกว่าการให้เคมีบำบัดมาก และวิธีการบริหารยาก็สะดวกสำหรับผู้ป่วยมากกว่าการให้เคมีบำบัด การรักษาด้วยวิธีการทางด้านฮอร์โมนสามารถใช้ได้กับทั้งผู้ป่วยมะเร็งเต้านมที่ยังมีประจำเดือนอยู่และหมดประจำเดือนแล้ว แต่วิธีการเลือกใช้จะแตกต่างกัน ซึ่งมีเงื่อนไขว่า การตรวจชิ้นเนื้อมะเร็งจะต้องมีเซลล์ที่มีตัวรับสัญญาณฮอร์โมนอยู่ในเซลล์ที่ทำการตรวจ มี 2 ชนิด คือ เอสโตรเจนรีเซปเตอร์ (Estrogen receptor, ER) และโปรเจสโปรเจสเตอโรนรีเซปเตอร์ (Progesterone receptor, PR)

นอกเหนือการรักษาด้วยวิธีต่าง ๆ แล้ว การใช้ยาที่ออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็ง (targeted therapy) ก็เป็นทางเลือกที่จะใช้ในการรักษาร่วมกับวิธีอื่น ๆ ได้ สิ่งสำคัญที่สุดและเป็นหัวใจของการรักษาโรคมะเร็งเต้านมคือ “การตรวจเต้านมด้วยตนเอง” หากตรวจพบก่อนและเร็วที่สุด การรักษาก็จะทำได้เร็วและมีโอกาสที่เซลล์มะเร็งจะไม่ลุกลามไปยังเนื้อเยื่อและอวัยวะอื่น ๆ ช่วยให้ผู้ป่วยสามารถมีชีวิตอยู่ได้ตามปกติต่อไป

2.4 เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมมนุษย์ (Michigan Cancer Foundation)

MCF-7 (Michigan Cancer Foundation) คือเซลล์ไลน์ที่แยกได้ครั้งแรกในปี 1970 จากเนื้อเยื่อเต้านมของผู้หญิง ผิวขาว วัย 69 ปี ซง mcf-7 ปีของทั้งสอง mastectomies เธอได้รับ แรก พบว่าเยื่อคือเนื้องอก ห้าปีต่อมาการผ่าตัดครั้งที่สองเผยให้เห็นมะเร็งของต่อมในมะเร็งซึ่งเกิดจากเยื่อหุ้มปอดซึ่งในที่สุดจะส่งผลให้เซลล์ MCF-7 ผู้บริจาคได้รับการรักษามะเร็งเต้านมด้วยรังสีรักษาและฮอร์โมน MCF-7 เป็นเซลล์มะเร็งเยื่อบุผิวที่ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางที่ได้จาก adenocarcinoma เต้านมมีลักษณะของเยื่อบุผิวเต้านมที่แตกต่างกัน เซลล์ MCF7 สามารถใช้ในการตรวจจับการเปลี่ยนแปลง PI3K และ MAPK พร้อมกับการตรวจจับ phsophorylation ของ ERK และ Akt ได้ง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 การทดสอบความเป็นพิษ

การทดสอบความเป็นพิษ เป็นวิธีที่นำเซลล์ชนิดต่าง ๆไปทดสอบกับสารที่สนใจ จากนั้นนำมาวัดความมีชีวิตเพื่อประเมินค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งมักจะนำไปประยุกต์ด้านการทดสอบหาสารที่มีคุณสมบัติออกฤทธิ์ทำลายเซลล์มะเร็ง หรือประเมินความปลอดภัยของสารที่เป็นองค์ประกอบต่าง ๆในผลิตภัณฑ์จำพวก ยา เครื่องสำอาง สารปรุงแต่งอาหาร ผลิตภัณฑ์ที่ใช้บริโภคต่าง ๆ หรือสารเคมีที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม โดยการใช้เซลล์สัตว์เป็นแบบจำลองเป็นที่นิยมมากกว่าการใช้สัตว์ทดลอง เนื่องจากทำการประเมินความเป็นพิษของสารได้รวดเร็ว และลดค่าใช้จ่าย

2.6 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT

MTT assay หลักการคือ การตรวจการทำงานของเอนไซม์ สาร MTT จะเข้าไปในไมโตคอนเดรียของเซลล์ที่มีชีวิต และจะถูกรีดิวส์โดยเอนไซม์ในไมโตคอนเดรียให้อยู่ในรูปของ Formazan ซึ่งเป็นผลึกสีม่วง อยู่ภายในเซลล์ที่มีชีวิต แล้วทำการละลาย formazan ด้วยตัวทำละลาย เช่น DMSO: SDS หรืออะไรก็ได้ที่จะทำให้เซลล์แตก และวัดค่าการดูดกลืนแสง ใช้ความยาวคลื่นที่สัมพันธ์กับ formazan

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.7.1 ศึกษาประสิทธิภาพและการประเมินความเป็นพิษของสารสกัดจากใบตำลึงในหนูวิสตาร์เพศผู้

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดของสารสกัดจากใบตำลึง *Coccinia grandis* (L.) (Cucurbitaceae) โดยการให้ทางปาก รวมไปถึงผลกระทบทางพิษวิทยา การชักนำให้เป็นเบาหวานด้วย alloxan และสุขภาพในหนูวิสตาร์ วิธีการ ให้สารสกัดน้ำจากใบของตำลึงความเข้มข้น (0.25-2.00 กรัมต่อกิโลกรัม) ให้กับหนูที่เหนี่ยวนำให้เป็นเบาหวานด้วย alloxan (150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) หนูวิสตาร์ถูกแบ่งเป็นกลุ่มละ6 ตัว (n = 6) เพื่อทำการประเมินความเป็นพิษเฉียบพลันหนูวิสตาร์ที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นเดียวกันและสังเกตเป็นเวลาสามวัน ความเป็นพิษกึ่งเฉียบพลันทำการประเมินโดยการให้สารสกัดทุกวันเป็นเวลา 30 วัน ที่ความเข้มข้นที่แสดงให้เห็นว่ามีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดสูงที่สุด มีการตรวจสอบอาการความเป็นพิษ น้ำหนักตัวของสัตว์ การบริโภคอาหารและน้ำ ในช่วงระยะเวลาการศึกษา ผลของสารสกัดเกี่ยวกับชีวเคมี (พารามิเตอร์ไขมันและกิจกรรมของเอนไซม์ตับ) พารามิเตอร์ทางโลหิตวิทยา (การนับเม็ดเลือด) และผลกระทบทางเนื้อเยื่อในอวัยวะต่างๆ ได้รับการประเมินเมื่อสิ้นสุดการศึกษา ผลการทดลอง พบว่าในหนูที่เป็นเบาหวาน กลูโคสมีความทนทานต่อสารสกัดจากใบตำลึงสูงสุดที่ความเข้มข้น 0.75 กรัมต่อกิโลกรัม สารสกัดดังกล่าวไม่มีผลต่อการบริโภคอาหาร ปริมาณการดื่มน้ำ น้ำหนัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อวัยวะสัมพันธ์ หรือผลกระทบทางชีวเคมี ค่าทางโลหิตวิทยาและทางจุลพยาธิวิทยาอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) สรุป สารสกัดที่ความเข้มข้น 0.75 กรัมต่อกิโลกรัมมีความปลอดภัยทางพิษวิทยาและยังเป็นสารที่มีฤทธิ์ลดน้ำตาลในเลือดของหนูวิสตาร์

2.7.2 การตรวจสอบฤทธิ์การต้านเบาหวานและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบตำลึงในการต้าน Streptozotocin ที่ใช้เหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานในหนูทดลอง

วัตถุประสงค์: เพื่อวิเคราะห์หาคุณสมบัติการต้านเบาหวานและการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบตำลึงในหนูที่เป็นโรคเบาหวานและการศึกษาความสัมพันธ์ของทั้งสองคุณสมบัตินี้ในร่างกาย วิธีการ: สารสกัดใบตำลึงจากเอทานอลให้ผลการทดลองในหลอดดีที่สุดใช้ Streptozotozinในการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเบาหวานในหนูเผือกเป็นเวลา 21 วัน วัดพารามิเตอร์ของสารชีวเคมี,การวิเคราะห์ทางจุลพยาธิวิทยาไกลโคลเจน ในตับและกล้ามเนื้อและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหนูปกติ,กลุ่มควบคุมเบาหวาน ,กลุ่มได้รับยามาตรฐาน(metformin)และหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดโดยนำมาเปรียบเทียบกัน ผล : ทำการรักษาหนูที่ถูกกระตุ้นให้เป็นเบาหวานด้วย streptozotozinโดยใช้สารสกัดจากใบตำลึงที่สกัดด้วยเอทานอล(500มิลลิกรัม/กิโลกรัม)ผลคือน้ำตาลในเลือดลดลง (312-169 มิลลิกรัม/ 100มิลลิลิตร) หนูมีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น(181-210กรัม)และซีรัมอินซูลินเพิ่มขึ้น(1.28-3.10IU/เดซิลิตร)อย่างมีนัยสำคัญการทำงานของตับและไตเป็นปกติโดยดูจากชนิดของไขมัน เมื่อเปรียบเทียบกับหนูที่เป็นโรคเบาหวานและใกล้เคียงกับหนูที่ใช้ยา metformin สภาวะเครียดจากการถูกออกซิไดซ์จากการกระตุ้นให้กลูต้าไธโอน (glutathione) ลดลงส่วนเอนไซม์แคตาเลส (catalase) ในเนื้อเยื่อตับและไตทำงานฟื้นตัวถึง 60%ของการรักษา การศึกษาทางจุลพยาธิวิทยาของตับอ่อนแสดงให้เห็นถึงผลการฟื้นตัวที่ดีในหนูที่เป็นโรคเบาหวาน ข้อสรุป: ผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่า สารสกัดจากใบตำลึงที่สกัดด้วยเอทานอล มีฤทธิ์ต้านเบาหวานสูง และสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการจัดการกับโรคเบาหวานได้

2.7.3 บทบาทในการป้องกันภาวะแทรกซ้อนโรคเบาหวานของ *Coccinia grandis* (L.) ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ, ต้านการเกิดปฏิกิริยา glycation และกระตุ้นการหลั่งอินซูลิน ในหลอดทดลอง

มีความพยายามในการพัฒนาแพทย์ทางเลือกในการรักษาโรคเบาหวานและโรคแทรกซ้อน ประเมินการรักษาโรคเบาหวานของผลที่โตเต็มที่แต่ยังไม่สุกของ *Coccinia grandis* (CGF). Oxidative stress และ glycation มีบทบาทสำคัญในการแสดงออกของโรคเบาหวานละภาวะแทรกซ้อนของหลอดเลือด สารที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและต้านการเกิดปฏิกิริยา glycation อาจชะลอการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา ในการศึกษานี้ประเมินศักยภาพพืช *Coccinia grandis* ในหลอดทดลองของการต้านอนุมูลอิสระ, ต้านการเกิดปฏิกิริยา glycation และคุณสมบัติกระตุ้นการหลั่งอินซูลินใน RINm5F cells ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH (1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl), hydrogen peroxide และ superoxide anion ในขณะที่การยับยั้งการเกิด Protein glycation ทดสอบโดยใช้ albumin-fructose

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

glycation model ในหลอดทดลอง การยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา glycation ทดสอบโดยดูค่าความแตกต่างของสารชีวเคมี เช่น fructosamine, protein carbonyl group และ protein aggregation โดยใช้ thioflavin T fluorescence สารสกัด *C. grandis* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านการเกิด glycation โดยขึ้นอยู่กับปริมาณอย่างมีนัยสำคัญ และยังแสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติกระตุ้นการหลั่งอินซูลินที่เพิ่มขึ้น 1.28 และ 1.71 เท่าอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับตัวควบคุมที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.50 mg/mL ตามลำดับ. ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นถึงบทบาทการต้านโรคเบาหวานของสารสกัด CGF อาจเกิดจากผลของสารสกัดที่มีต่อการต้านอนุมูลอิสระ, ต้านการเกิด glycation และการหลั่งอินซูลิน ปัจจุบันมีการพิสูจน์ผลการทดลองว่าผลของ *C. grandis* มีศักยภาพในการต้านโรคเบาหวาน ซึ่งอาจใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพและรักษาโรคเบาหวานและภาวะแทรกซ้อนที่เกี่ยวข้อง จากการทดลองนี้ยังแสดงว่าพืชชนิดนี้เป็นแหล่งในการพัฒนาสารต้านการเกิด glycation จากธรรมชาติ และยังเป็นอินซูลินชนิดใหม่อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการ

3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ

ส่วนใบของตำลึง (*Coccinia grandis* L.) เพศผู้และเพศเมียเก็บในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2561 จากจังหวัดสุพรรณบุรีและจังหวัดนครปฐม

รูปที่ 3.1 ใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย

ที่มา: http://www.sangroiyim.com/5449.html (สืบค้นวันที่ 12/6/2562)

3.2 สารเคมี

3.2.1 เอทานอลร้อยละ 95 และ 99.9

3.2.2 Folin-Ciocalteu's reagent

3.2.3 โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)

3.2.4 กรดแกลลิก

3.2.5 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

3.2.6 α-tocopherols (วิตามิน E)

3.2.7 เมทานอลร้อยละ 30

3.2.8 โซเดียมไนไตรท์ร้อยละ 5 ($NaNO_2$)

3.2.9 อะลูมิเนียมคลอไรด์ร้อยละ 10

3.2.10 โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ (NaOH)

3.2.11 เควอซิทิน (Quercetin)

3.2.12 โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)

3.2.13 โซเดียมอะซีเตท (CH_3COONa)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.14 Folin-Denis's reagent
3.2.15 กรดแทนนิก
3.2.16 อาหาร RPMI 1640
3.2.17 Fetal Bovine Serum (FBS)
3.2.18 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)
3.2.19 Phosphate buffer (PBS)
3.2.20 Dimethyl sulfoxide (DMSO)
3.2.21 Trypan blue

3.3 อุปกรณ์

3.3.1 เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator)
3.3.2 เครื่องปั่น (Blender)
3.3.3 เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (Balance)
3.3.4 เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (Microplate Reader)
3.3.5 เครื่องอบลมร้อน (Hot air oven)
3.3.6 เครื่องเขย่าสาร (Vortex)
3.3.7 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
3.3.8 เครื่อง Water bath
3.3.9 บีกเกอร์
3.3.10 ไมโครปิเปตขนาด 200 ไมโครลิตร, 1000 ไมโครลิตร, 10 มิลลิลิตร
3.3.11 ทิป ขนาด 200 ไมโครลิตร, 1000 ไมโครลิตร, 10 มิลลิลิตร
3.3.12 เพลท 96 หลุม
3.3.13 เพลท
3.3.14 กระบอกตวงขนาด 1000 มิลลิลิตร
3.3.15 แท่งแก้ว
3.3.16 ผ้าขาวบาง
3.3.17 ฟอยล์ (Foil)

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 กระบวนการการสกัดสารจากใบตำลึง

เก็บตำลึงส่วนใบเพศผู้และเพศเมีย จากจังหวัดสุพรรณบุรีและจังหวัดนครปฐม นำมาทำความสะอาดและตากในที่ร่มให้แห้ง และนำมาอบด้วยตู้อบลมร้อนเพื่อลดความชื้นที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำมาปั่นจนละเอียดและนำไปชั่งน้ำหนักพืชตัวอย่าง แล้วนำผงของใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจากทั้งสองจังหวัด มาอย่างละ 100 กรัม ใส่ในผ้าขาวบางโดยทำการมัดปลายให้แน่น และใส่ลงในบีกเกอร์ที่มีเอทานอลร้อยละ 95 ซึ่งเป็นตัวทำละลาย ปริมาตร 900 มิลลิลิตร ใช้ฟอยล์ปิดให้สนิท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แช่ทิ้งไว้ประมาณ 10–12 วัน จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาทำให้เข้มข้นขึ้นโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศและวางบน water bath อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียที่มีความเข้มข้นมากขึ้น จากนั้นเก็บสารสกัดหยาบในขวดแก้วที่ปิดด้วยฟอยล์

3.4.2 การทดสอบฤทธิ์ทางกายภาพ

3.4.2.1 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH radical scavenging assay (DPPH) อนุมูลอิสระที่ใช้คือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) โดยนำสารสกัดหยาบมาละลายด้วยเอทนอลร้อยละ 99.9 แล้วปรับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากใบตำลึงโดยเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารสกัดแต่ละความเข้มข้นปริมาณ 10 ไมโครลิตร และเติม DPPH ปริมาณ 190 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของ 96 well plate โดยใช้ความเข้มข้นละ 5 หลุม แล้วนำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ โดยใช้ α-tocopherols (วิตามิน E) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ เป็นสารมาตรฐาน และใช้เอทานอลร้อยละ 99.9 เป็น blank นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง DPPH ที่ 50% (IC_{50}) จากสมการดังนี้

$$\% \text{ การยับยั้ง} = \left[\frac{(A-B)}{B}\right] X\ 100$$

A= ค่าการดูดกลืนแสงของ Blank

B= ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบ

3.4.3 การหาปริมาณสารพฤกษเคมี

3.4.3.1 การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดใบตำลึง

เตรียมสารสกัดหยาบให้มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลร้อยละ 99.9 เป็นตัวทำละลาย จากนั้นใส่สารสกัดหยาบปริมาณ 20 ไมโครลิตร ลงใน 96 well plate เติม Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาณ 100 ไมโครลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 75 ปริมาณ 80 ไมโครลิตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Gallic acid ที่ความเข้มข้น 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมของสารสกัด

3.4.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดใบตำลึง

โดยนำสารสกัดหยาบความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาละลายด้วยเมทานอลร้อยละ 30 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อะลูมิเนียมคลอไรด์ร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่น 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานของ เควอซิทิน จากนั้นจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของเควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด

3.4.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดใบตำลึง

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดใบตำลึง จะวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Denis โดยการเตรียมสารสกัดหยาบความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร มาละลายในเมทานอลร้อยละ 30 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 7.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Denis ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบแทนนินจากกราฟมาตรฐานของกรดแทนนิก จากนั้นจะรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด

3.4.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินรวมในสารสกัดใบตำลึง

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินรวมในสารสกัดใบตำลึง ด้วยวิธี pH differential โดยการเตรียมสารสกัดหยาบปริมาตร 30 ไมโครลิตร ที่ได้จากการชั่งสารสกัด 40 มิลลิกรัม มาละลายในน้ำ 1000 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง 2 หลอด โดยในหลอดที่ 1 มีสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ pH 1 ปริมาตร 270 ไมโครลิตร และหลอดที่ 2 มีสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซีเตรท pH 4.5 ปริมาตร 270 ไมโครลิตร ผสมด้วยเครื่อง Vortex ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (microplate reader) จากนั้นนำมาคำนวณความแตกต่างระหว่างค่าการดูดกลืนแสง

$A = (A_{520} - A_{700})$ ที่ pH 1.0 $- (A_{520} - A_{700})$ ที่ pH 4.5

ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน (มิลลิกรัมต่อลิตร) $= (A \times MW \times DF \times 1000)/(e \times 1)$

เมื่อ A คือ ความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่ pH ต่างกัน

MW คือ น้ำหนักโมเลกุลของแอนโทไซยานิน (449.2)

DF คือ อัตราการเจือจาง

e คือ cyaniding-3-glucoside molar absorbance (26,900)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากใบตำลึงที่มีผลต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ด้วยวิธี MTT

3.4.4.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ

ชั่งสารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดเซนตริฟิวก์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเติม DMSO 1 มิลลิลิตร เพื่อให้สารตัวอย่างละลายได้ดีขึ้น สารละลายที่ได้จะมีความเข้มข้น 100,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตมา 1 มิลลิลิตร นำมาทำการเจือจางด้วยอาหาร RPMI 1640 ได้ความเข้มข้นดังนี้ 0.1, 1, 10, 100, 1000 และ 10000 ไมโครกรัมต่อลิตร

3.4.4.2 การเตรียมเซลล์ไลน์มะเร็งเต้าน (MCF-7)

การเพาะเลี้ยงเซลลมะเร็งเตานมของมนุษย์ชนิด MCF7 (human breast cancer cell line) โดยเลี้ยงกับอาหารเลี้ยงเซลลชนิด RPMI 1640 ที่มี FBS ร้อยละ 10 ในขวดเพาะเลี้ยงเซลลขนาด 25 ลูกบาศกเซนติเมตร ทำการ subculture โดยนำอาหารเกาทั้งหมดออกจากขวดเพาะเลี้ยงเซลล และลางด้วยสารละลาย PBS ปริมาตร 3-5 มิลลิลิตร จากนั้นดูดสารละลาย PBS ออกใส่อาหารเพาะเลี้ยงเซลลที่มี FBS ร้อยละ 10 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-5 นาที แล้วเคาะขวดเพาะเลี้ยงเซลลกับฝามือเบาๆหรือใชการดูด-ปล่อยเซลลเบาๆ นำเซลล์มาทำการย้อมสีโดยดูดเซลล์มา 0.4 มิลลิลิตร ใส่หลอดปั่นแยกสารขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นดูดสีย้อม Trypan blue ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และนำไปนับจำนวนเซลล์ด้วยการใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Heamacytometer) โดยเซลล์ที่มีชีวิตจะไม่ติดสีย้อมของ Trypan blue ซึ่งมีสีฟ้าหรือสีน้ำเงิน จำนวนเซลล์ที่นับได้จะนำไปคำนวณหาค่า Dilution number เพื่อใช้เป็นข้อมูลการเจือจาง cell suspension ให้ได้ stock suspension จำนวน 100,000 (10^5) เซลล์

ตัวอย่างการคำนวณ

สมมติให้จำนวนเซลล์เฉลี่ยที่นับได้ = 100 เซลล์ต่อ chamber (1 chamber = 4 square)

ปริมาตร 1 ช่องเล็ก = พื้นที่ผิว × ความลึก

$= 1 \times 1 \times 0.1\ mm^3$

$= 0.1 \times 0.1 \times 0.01\ cm^3$

$= 0.0001\ cm^3$ หรือ $10^4\ cm^3$

3.4.4.3 การเตรียมสารละลาย MTT

เจือจางสารละลาย MTT ใน nomal saline ความเข้มข้น 0.85 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายจนหมดไม่ให้มีตะกอน เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4.4 การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม(MCF-7)

นำเซลล์มาเพาะเลี้ยงในถาดหลุมเลี้ยงเซลล์ชนิด 96 หลุม (96 well plate) มีความหนาแน่น 1×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตรต่อหลุมและบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ 24 ชั่วโมง เติมสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นต่าง ๆปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในเซลล์และบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทดสอบด้วยวิธี MTT assay โดยใช้สารละลาย MTT ปริมาตร 10 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วเติมสารละลาย Formazan ที่ละลายด้วย DMSO 150 ไมโครลิตร ต่อ 1 หลุม จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (microplate reader) คาการดูดกลืนแสงที่วัดไดนำมาคำนวณหาเปอรเซ็นตการมีชีวิตรอดของเซลล วาดกราฟระหว่างค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ และความเข้มข้นของสารสกัดที่ใชทดสอบ ในแกน y และ x ตามลำดับ จากนั้นหาความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้คาการการมีชีวิตของเซลลลดลงครึ่งหนึ่ง (50% cytotoxicity: CC_{50})

3.4.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลทั้งหมดที่ได้วิเคราะห์หา ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานและวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี One-Way ANOVA โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ IBM SPSS Statistics 25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอธิบายผล

4.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากตำลึง

สารสกัดหยาบที่ใช้ในการทดลองได้จากการนำใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจากจังหวัดนครปฐม และสุพรรณบุรี ตากให้แห้งในที่ร่มและบดให้เป็นผงละเอียด นำมาสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 แล้วนำสารสกัดที่ได้มากรองและนำไประเหยแยกตัวทำละลายเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจากทั้งสองจังหวัด ปริมาณสารสกัดหยาบแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจากจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรี

สถานที่เก็บ	ปริมาณสารสกัดหยาบ (กรัม)		ร้อยละผลได้	
	เพศผู้	เพศเมีย	เพศผู้	เพศเมีย
นครปฐม	4.8709	8.1198	3.2691	2.8292
สุพรรณบุรี	4.413	7.2319	2.9578	2.3652

4.2 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตำลึง

4.2.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity)

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจาก 2 จังหวัด ได้แก่ นครปฐม และสุพรรณบุรีที่ทำการสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 มาศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging method) แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชเป็นสารที่มีความเสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้ ซึ่งสารสกัดหยาบที่ใช้ทดสอบจะกำจัดสารอนุมูลอิสระดังกล่าวโดยการให้ไฮโดรเจน โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงการเปลี่ยนสีของสารละลายจากสีม่วงเป็นสีเหลือง จากตารางที่ 4.2 พบว่าสารสกัดใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียของทั้งสองจังหวัดที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยสารสกัดใบเพศผู้จากจังหวัดสุพรรณบุรีมีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ใบเพศผู้จังหวัดนครปฐม ใบเพศเมียจังหวัดสุพรรณบุรี และใบเพศเมียจังหวัดนครปฐม ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (% scavenging) ระหว่างสารสกัดหยาบใบตำลึงที่ความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สถานที่เก็บ	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	
		เพศผู้	เพศเมีย
นครปฐม	1.25	5.00±0.63^{e}	0.67±0.79^{f}
	2.5	17.48±2.25^{d}	6.91±0.79^{e}
	5	32.54±0.75^{c}	23.01±0.68^{d}
	10	56.79±1.57^{a}	39.31±1.07^{b}
สุพรรณบุรี	1.25	5.99±1.01^{e}	1.70±1.67^{f}
	2.5	29.99±0.94^{c}	9.50±0.52^{e}
	5	51.58±1.47^{b}	27.90±0.63^{c}
	10	58.10±1.81^{a}	51.72±2.79^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันในแนวคอลัมน์แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางพบว่าในสารสกัดใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้น

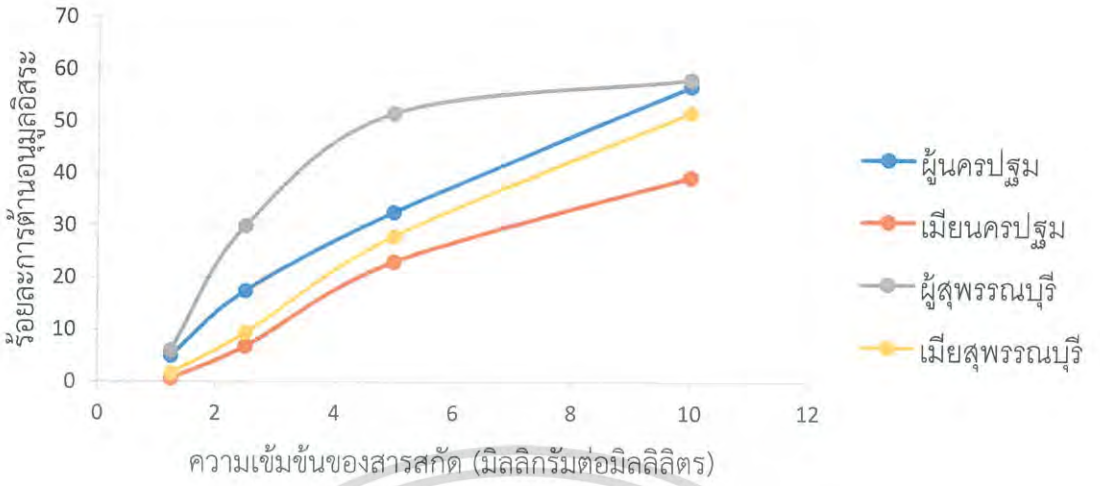
ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรีที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ DPPH			
	เพศผู้นครปฐม	เพศเมียนครปฐม	เพศผู้สุพรรณบุรี	เพศเมียสุพรรณบุรี
1.25	5.00±0.63^{a}	0.67±0.79^{bc}	5.99±1.01^{a}	1.70±1.67^{ab}
2.5	17.48±2.25^{b}	6.91±0.79^{c}	29.99±0.94^{a}	9.50±0.52^{c}
5	32.54±0.75^{b}	23.01±0.68^{d}	51.58±1.47^{a}	27.90±0.63^{c}
10	56.79±1.57^{a}	39.31±1.07^{c}	58.10±1.81^{a}	51.72±2.79^{b}

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันในแถวแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางพบว่าที่ความเข้มข้นเดียวกัน สารสกัดใบตำลึงเพศผู้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัดใบตำลึงเพศเมีย และสารสกัดใบตำลึงจากจังหวัดสุพรรณบุรีดีกว่าจังหวัดนครปฐม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (% scavenging) ระหว่างสารสกัดหยาบใบตำลึงที่ความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สรุปได้ว่าเมื่อความเข้มข้นสารสกัดเพิ่มขึ้นจะทำให้ร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 4.1 สำหรับตัวควบคุมเชิงบวกที่ใช้คือ สารละลายมาตรฐานวิตามินอี (α-Tocopheral) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากตำลึง โดยมีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 78.2

ค่า IC_{50} คือ ความเข้มข้นของสารสกัดที่ลดความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่ง จากปริมาณทั้งหมด ดังนั้นหากสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมาก ค่า IC_{50} จะมีค่าน้อย

ตารางที่ 4.4 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด (IC_{50}) ของสารสกัดหยาบจากใบตำลึง

สถานที่เก็บ	IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	เพศผู้	เพศเมีย
นครปฐม	8.39 ± 0.26^{c}	10.59 ± 0.32^{a}
สุพรรณบุรี	7.26 ± 0.14^{d}	9.52 ± 0.35^{b}

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.3 พบว่าสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้จังหวัดสุพรรณบุรีมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ซึ่งมีค่า IC_{50} คือ 7.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ เพศผู้จังหวัดนครปฐม เพศเมียจังหวัดสุพรรณบุรี และเพศเมียจังหวัดนครปฐม เท่ากับ 8.55, 9.47 และ 12.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Packirisamy Meenatchi และคณะ(2017) ด้วยวิธี DPPH scavenging activity โดยใช้ผลแก่ที่ยังไม่สุกของตำลึง และใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.165 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่า IC_{50} น้อยกว่าผลการทดลองที่ได้ แสดงให้เห็นถึงฤทธิ์ในการดักจับอนุมูลอิสระที่สูงกว่า เนื่องจากการใช้ส่วนของตำลึงที่นำมาทำการสกัดต่างกัน และตัวทำละลายที่แตกต่างกัน เป็นผลทำให้ค่าของ IC_{50} ที่ได้แตกต่างกัน

จากงานวิจัยของ Umaamaheswari and Chatterjee2007 ทำการทดลองสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากใบตำลึงด้วยสารละลายเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 จากนั้นนำไปสกัดแยกออกเป็นส่วนต่างๆด้วย Petroleum, chloroform และ ethyl acetate แล้วนำสารสกัดจากแต่ละส่วนไปทดสอบกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานอื่นๆ ได้แก่ ascorbic acid, alpha-tocopherol, curcuminและ butylated hydroxyl tolurne ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากแต่ละส่วนมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดแต่ละส่วนพบว่ามีองค์ประกอบของสารประกอบกลุ่ม phenolic และ flavonoid และตัวทำละลายที่ใช้สกัดแต่ละส่วนมีผลต่อปริมาณของสารประกอบทั้งสองกลุ่ม จึงแสดงให้เห็นว่าสารประกอบกลุ่ม phenolic และ flavonoid ซึ่งเป็นสารพฤกษเคมีที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

4.3 การหาปริมาณสารพฤกษเคมี

4.3.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบตำลึง (Total phenolic content)

จากการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมดโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu ในสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจากจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรี ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน และใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นแบลงค์ วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์(Microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรและเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก พบว่าสารสกัดเพศผู้จากจังหวัดสุพรรณบุรีมีค่ามากที่สุด รองลงมาคือ เพศเมียจังหวัดสุพรรณบุรี เพศผู้จังหวัดนครปฐม และเพศเมียจังหวัดนครปฐม ตามลำดับ ซึ่งแสดงดังตารางที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย

สถานที่เก็บ	ปริมาณสารฟีนอลลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด)	
	เพศผู้	เพศเมีย
นครปฐม	434.9±25.14 ^{c}	417.6±14.44 ^{c}
สุพรรณบุรี	973.3±44.50^{a}	657.8±20.40^{b}

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมดของ Packirisamy Meenatchi และคณะ (2017) ด้วยวิธี Total phenolic content โดยใช้ผลแก่ที่ยังไม่สุกของตำลึง และใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมดเท่ากับ 15.47 ± 1.12 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ในขณะที่จากการทดลองนี้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมดสูงกว่า เนื่องจากผลที่ได้จากการใช้ส่วนของตำลึงที่นำมาทำการสกัดต่างกัน และตัวทำละลายที่แตกต่างกัน เป็นผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้แตกต่างกัน

4.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบตำลึง

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจะวิเคราะห์ตามวิธีของ Kathirvel และ Sujatha(2012) ในสารสกัดหยาบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจากจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรี ความเข้มข้นร้อยละ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ควอซิตินเป็นสารมาตรฐาน พบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาบของใบตำลึงเพศเมียจากจังหวัดสุพรรณมากที่สุด รองลงมาคือ เพศผู้จังหวัดสุพรรณบุรี เพศผู้จังหวัดนครปฐม และเพศเมียจังหวัดนครปฐม ตามลำดับ โดยสารสกัดใบเพศผู้และเพศเมียจากจังหวัดสุพรรณบุรี ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งแสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.6 แสดงปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย

สถานที่เก็บ	ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (มิลลิกรัมควอซิตินต่อกรัมสารสกัด)	
	เพศผู้	เพศเมีย
นครปฐม	1812.50±117.57^{b}	755.00±46.73^{c}
สุพรรณบุรี	3107.50±184.59^{a}	3180.00±62.25^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของ Packirisamy Meenatchi และคณะ(2017) โดยใช้ผลแก่ที่ยังไม่สุกของตำลึง และใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดหยาบผลแก่ที่ยังไม่สุกของตำลึงมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 6.82 ± 0.67 มิลลิกรัมของควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด ในขณะที่จากการทดลองนี้มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดสูงกว่ากันมาก เนื่องจากการใช้ส่วนของตำลึงที่นำมาทำการสกัดต่างกัน และตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่ได้แตกต่างกัน

4.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบจากใบตำลึง

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากใบตำลึงจะวิเคราะห์ด้วยวิธี Follin-Denis (Kathirvel และ Sujatha 2012) ในสารสกัดหยาบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจากจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรี ความเข้มข้นร้อยละ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้กรดแทนนิกเป็นสารมาตรฐาน พบว่า ปริมาณแทนนินในสารสกัดหยาบของใบตำลึงเพศผู้จังหวัดสุพรรณบุรีมากที่สุด รองลงมาคือ เพศผู้จังหวัดนครปฐม เพศเมียจังหวัดนครปฐม และเพศผู้จังหวัดสุพรรณบุรี ตามลำดับ โดยสารสกัดแต่ละชนิดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งแสดงดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.7 แสดงปริมาณสารประกอบแทนนินในสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย

สถานที่เก็บ	ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมสารสกัด)	
	เพศผู้	เพศเมีย
นครปฐม	519.00±159.11[a]	399.83±99.03[a]
สุพรรณบุรี	644.83±171.86[a]	349.00±76.02[a]

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากผลการศึกษาปริมาณสารประกอบแทนนินของ วันเพ็ญ สุทธิโกมินทร์ (2002) ได้ทำการศึกษาหาปริมาณแทนนินโดยใช้ใบตำลึงสด ซึ่งมีปริมาณสารประกอบแทนนินเท่ากับ 72.37-167.29 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสดของตำลึง จากการทดลองนี้มีการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายจึงทำให้ได้ปริมาณสารประกอบแทนนินที่มากกว่า

4.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบจากใบตำลึง (pH differential)

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบจากใบตำลึงที่ความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยทำการทดลองด้วยวิธี pH differential ทำการเจือจางสารสกัดในอัตราส่วน 1 ต่อ 9 ของสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ (0.0025 M, pH 1.0) หรือ สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซีเตท (0.4 M, pH 4.5) พบว่า ปริมาณแอนโทไซยานินของสารสกัดหยาบจากใบตำลึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพศผู้จังหวัดนครปฐมมีค่ามากที่สุด รองลงมาคือ เพศเมียจังหวัดนครปฐม เพศเมียจังหวัดสุพรรณบุรี และเพศผู้จังหวัดสุพรรณบุรี ตามลำดับ ซึ่งแสดงดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.8 แสดงปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย

สถานที่เก็บ	ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อลิตรสารสกัด)	
	เพศผู้	เพศเมีย
นครปฐม	15.36±8.54[a]	3.67±4.71[a]
สุพรรณบุรี	2.00±2.81[a]	3.00±4.68[a]

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4.4 การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7

ตารางที่ 4.9 แสดงร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย

สถานที่เก็บ	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละของความเป็นพิษ	
		เพศผู้	เพศเมีย
นครปฐม	0.1	54.76±2.35[de]	42.22±17.26[ab]
	1	59.57±1.03[cd]	49.51±9.19[ab]
	10	61.64±1.09[cd]	53.79±10.30[ab]
	100	68.26±3.40[bc]	54.91±6.77[ab]
	1000	73.15±1.93[b]	62.49±11.22[ab]
	10000	29.04±3.26[g]	44.05±5.99[ab]
สุพรรณบุรี	0.1	41.61±2.32[f]	32.86±5.22[b]
	1	47.86±2.27[ef]	45.69±1.42[ab]
	10	49.56±3.10[ef]	54.87±3.25[ab]
	100	54.74±2.64[de]	62.99±7.17[ab]
	1000	65.20±5.62[bc]	65.66±10.53[ab]
	10000	83.17±2.95[a]	52.24±5.63[ab]

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันในคอลัมน์แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ของสารสกัดหยาบของใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจากจังหวัดนครปฐมและสุพรรณบุรี โดยทำการเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดหยาบดังกล่าวด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ให้ได้ความเข้มข้น 0.1, 1, 10, 100, 1000 และ 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ นำสารสกัดมาทดสอบกับเซลล์มะเร็ง 5 ซ้ำ แล้วนำไปบ่มและเขย่าในเครื่องไมโคร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพลทรีดเดอร์ (microplate reader) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร เพื่อทำการคำนวณหาค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง และหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 (CC_{50})

จากตารางที่ 4.9 พบว่าสารสกัดจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น โดยสารสกัดใบตำลึงเพศผู้จังหวัดนครปฐมมีความเป็นพิษกับเซลล์มะเร็งเต้านมมากที่สุด

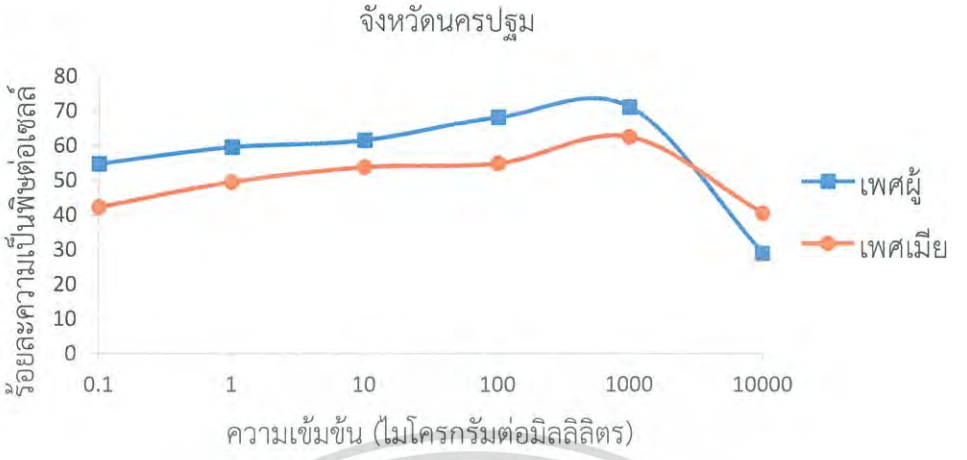
ตารางที่ 4.10 แสดงร้อยละความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละของความเป็นพิษ			
	เพศผู้นครปฐม	เพศเมียนครปฐม	เพศผู้สุพรรณบุรี	เพศเมียสุพรรณบุรี
0.1	54.76±2.35[a]	42.22±17.26[a]	41.61±2.32[a]	32.86±5.22[a]
1	59.57±1.03[a]	49.51±9.19[a]	47.86±2.27[a]	45.69±1.42[a]
10	61.64±1.09[a]	53.79±10.30[a]	49.56±3.10[a]	54.87±3.25[a]
100	68.26±3.40[a]	54.91±6.77[a]	54.74±2.64[a]	62.99±7.17[a]
1000	73.15±1.93[a]	62.49±11.22[a]	65.20±5.62[a]	65.66±10.53[a]
10000	29.04±3.26[c]	44.05±5.99[b]	83.17±2.95[a]	52.24±5.63[b]

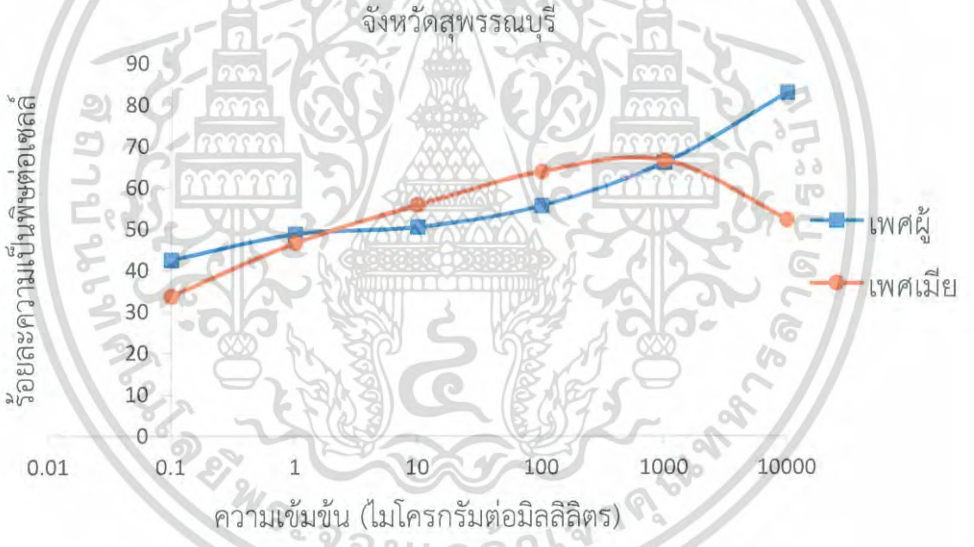
หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันในแถวแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางพบว่าที่ความเข้มข้นเดียวกัน สารสกัดใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียมีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นที่ความเข้มข้น 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเพศผู้จังหวัดสุพรรณบุรีมีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์สูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจังหวัดนครปฐม



รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจังหวัดสุพรรณบุรี

ตารางที่ 4.11 แสดงค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมร้อยละ 50 (CC_{50})

สถานที่เก็บ	ค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมร้อยละ 50 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	เพศผู้	เพศเมีย
นครปฐม	0.007	2.74
สุพรรณบุรี	3.05	3.88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ที่ดีที่สุดคือ สารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้จังหวัดนครปฐม รองลงมาคือ เพศเมียจังหวัดนครปฐม เพศผู้จังหวัดสุพรรณบุรี และเพศเมียจังหวัดสุพรรณบุรี ตามลำดับ ซึ่งแสดงดังตารางที่ 4.10

จากการทดลองพบว่าความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดจากใบตำลึง จะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่สูงขึ้น (0.1-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) แต่ที่ความเข้มข้น 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรความเป็นพิษจะลดลง เนื่องจากช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของใบตำลึงที่เหมาะสม จะมีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมที่ได้ผลดีกว่าช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของใบตำลึงที่สูงเกินไป ยกเว้นสารสกัดใบเพศผู้จากจังหวัดสุพรรณบุรี จะมีความเป็นพิษเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น

จากงานวิจัยของ AHMED HASSAN ARBAB (2017) โดยใช้ผลแก่ที่ยังไม่สุกของตำลึง และใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ซึ่งใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 0, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ HepG2.2.15 ด้วยวิธี MTT assay โดยเลี้ยงเซลล์ในอาหาร RPMI 1640 มีค่า CC_{50} เท่ากับ 219.44 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากการทดลองนี้ พบว่าสารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจากจังหวัดนครปฐม มีค่า CC_{50} เท่ากับ 1210 และ 2.74 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสารสกัดหยาบจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจากจังหวัดสุพรรณบุรี มีค่า CC_{50} เท่ากับ 3.05 และ 3.88 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีผลน้อยกว่า อาจเป็นผลมาจากสารสกัดหยาบจากส่วนที่แตกต่างกัน หรือแหล่งที่เก็บตำลึงมาจากต่างสถานที่ และเซลล์ที่ใช้ในการทดสอบต่างกัน ทำให้ค่า CC_{50} ที่ได้แตกต่างกัน

จากงานวิจัยของ วิภพ(2556) พบว่าฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบจากธรรมชาติที่สามารถออกฤทธิ์ต้านมะเร็งซึ่งได้แก่ การยับยั้งการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนของเซลล์ การหยุดวงวัฏจักรของเซลล์และชักนำการตายแบบอะพอพโตซิส รวมถึงการยับยั้งการอักเสบที่เกี่ยวกับโรคมะเร็ง นอกจากการออกฤทธิ์โดยตรงต่อเซลล์มะเร็งสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ยังสามารถยับยั้งการตอบสนองของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันซึ่งจะส่งผลในการยับยั้งการอักเสบที่เกิดจากโรคมะเร็ง ดังนั้นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์จึงมีศักยภาพในการรักษาโรคมะเร็ง โดยการชักนำให้เซลล์มะเร็งเกิดการตายแบบอะพอพโตซิส การยับยั้งความรุนแรงและการพัฒนาของโรคมะเร็ง รวมถึงการแก้ปัญหาเรื่องการดื้อยาแบบหลายขนานของเซลล์มะเร็งได้ จากการทดลองเรื่องสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย พบว่าสารสกัดหยาบจากใบตำลึงทั้งสองเพศมีสารประกอบฟลาโวนอยด์ จึงมีผลกับความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์พฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบของใบตำลึง ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างส่วนของใบตำลึงทั้งเพศผู้และเพศเมียจาก 2 จังหวัด คือ จังหวัดสุพรรณบุรีและจังหวัดนครปฐม โดยทำการเปรียบเทียบผลของสารสกัดหยาบของใบตำลึงระหว่างเพศผู้และเพศเมียจากจังหวัดสุพรรณบุรีและจังหวัดนครปฐม

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity) พบว่าสารสกัดหยาบของใบตำลึงเพศผู้จากจังหวัดสุพรรณบุรีมีปริมาณร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เข้มข้น 1.25, 2.5, 5, 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สูงที่สุด จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) สารสกัดของใบตำลึงเพศผู้จากจังหวัดสุพรรณบุรีมีค่าน้อยที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 7.249 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสามารถต้านอนุมูลอิสระ(IC_{50}) ได้ดีที่สุด

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์พฤกษเคมีบางชนิดในสารสกัดจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย พบว่าสารสกัดจากใบตำลึงเพศผู้จากจังหวัดสุพรรณบุรีมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบแทนนินสูงที่สุด มีค่าเทียบเท่ากับ 973.30 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และ 644.83 มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ พบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงที่สุด มีค่าเทียบเท่ากับ 3180.00 มิลลิกรัมควอซิตินต่อกรัมสารสกัด จากสารสกัดของใบตำลึงเพศเมียของจังหวัดสุพรรณบุรีและพบปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 15.36 มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อกรัม จากสารสกัดหยาบของใบตำลึงเพศผู้จากจังหวัดนครปฐม

จากการวิเคราะห์ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ด้วยวิธี MTT ทำการวิเคราะห์ที่ความเข้มข้น 0.1, 1, 10, 100,1000 และ 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นต่ำ (0.1-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) สารสกัดจากใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจากสุพรรณบุรีและจังหวัดนครปฐมมีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นสารสกัดหยาบจากใบตำลึงที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบต่อเซลล์มะเร็งเต้านมจะลดลงต่ำกว่า ความเข้มข้นช่วง 0.1 ถึง 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เนื่องจากช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของใบตำลึง ที่มีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมที่จะมีช่วงความเข้มข้นของสารสกัดหยาบของใบตำลึงที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2ข้อเสนอแนะ

1. ในการสกัดสารสกัดหยาบจากใบตำลึง อาจเลือกใช้ตัวทำละลายอื่นๆ เพื่อนำผลการทดลองมาเปรียบเทียบกัน

2. อาจเลือกใช้ส่วนประกอบอื่นๆของตำลึง หรือใช้ใบตำลึงในแหล่งต่างๆมากขึ้น

3. ในการทดสอบควรเลือกใช้เซลล์ไลน์ชนิดอื่นๆ นอกเหนือจากเซลล์มะเร็งเต้านม

4. เป็นการนำตำลึงมาพัฒนาให้เกิดประโยชน์ในหลายๆด้าน ทั้งด้านเกษตร และอุตสาหกรรม ยารักษาโรค ผลิตภัณฑ์ต่างๆได้

5. เป็นการเพิ่มรายได้ เพิ่มมูลค่าของตำลึงให้สูงขึ้นในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

สุวรรณี แสนทวีสุข และคณะ. (2555).ปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรบางชนิด. แก่นเกษตร40 ฉบับพิเศษ 2.หน้า480

โอภาวัชระคุปต์.(2549). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. โรงพิมพ์ พีเอส ปริ๊นท์, กรุงเทพมหานคร.

สุรศักดิ์ ใจเขียนดี.(2013).ความสามารถต้านอนุมูลอิสระและสารออกฤทธิ์ของสารสกัดจากพืชสมุนไพรรักษาโรคเบาหวาน.สาขาวิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา.

กุณฑิกา อนุชนและ ณัฐณิชาช์ ภัทร์ธีนันท์.(2554).การพัฒนาเจลใบตำลึงเพื่อบรรเทาสิว.ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

พริมา พิริยางกูรและคณะ. (2018).ผลกระทบของวิธีการปรุงต่อปริมาณฟีนอลิก วิตามินซี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในใบตำลึง. วิทยาศาสตร์เกษตร 49 ฉบับที่ 2.หน้า 653-656

นายอดิศักดิ์ จูมวงษ์.(2555).การประเมินความสามารถการต้านออกซิเดชันในผลไม้พื้นบ้านไทยบางชนิดในจังหวัดเชียงใหม่.มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

วันเพ็ญ สุทธิโกมินทร์.ผลการลวก ต้ม และผัด ต่อปริมาณธาตุเหล็ก, วิตามินซี, ไฟเตทและแทนนินในผักที่นิยมบริโภคในประเทศไทย.วิทยานิพนธ์ไทย มหาวิทยาลัยมหิดล.

วิภพ สุทธนะ.(2556).ฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์:กลไกการออกฤทธิ์.ศรีนครินทร์เวชสาร หน้า 567-582

พรนิภา สายใจดี.ผักตำลึงออแกนิค.ระบบออนไลน์.แหล่งที่มา http://farmorganicseed.com/สวนของเรา/ตระกูลผักพื้นบ้าน/เมล็ดผักตำลึง (สืบค้นวันที่ 4/1/2562)

เจียเม้งมาร์เก็ตติ้ง จำกัด.(2017).“ตำลึง” เคล็ดลับความสวย.ระบบออนไลน์.แหล่งที่ https://www.hongthongrice.com/home/2017/11/13/ivy-gourd(สืบค้นวันที่4/1/2562)

สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช.(2560).ระบบออนไลน์.แหล่งที่มา http://www.dnp.go.th/botany/detail.aspx?words=ผักตำลึง&typeword=group (สืบค้นเมื่อ 4/1/2562)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธัชชัย ตระกูลเลิศยศ.(2560).อนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระ (Free radical and Antioxidant). ระบบออนไลน์.แหล่งที่มา http://www.scimath.org/article-biology/item/6903-2017-05-14-06-44-33 (สืบค้นวันที่ 4/1/2562)

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์.(2004). Flavonoid / ฟลาโวนอยด์.ระบบออนไลน์.แหล่งที่มา http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2951/flavonoid

(สืบค้นวันที่ 4/1/2562)

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์.(2004).anthocyanin / แอนโทไซยานิน.ระบบออนไลน์.แหล่งที่มา http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1103/anthocyanin

(สืบค้นวันที่ 4/1/2562)

พวงทอง ไกรพิบูลย์.มะเร็ง (Cancer).ระบบออนไลน์.แหล่งที่มา http://haamor.com/th/มะเร็ง/ (สืบค้นวันที่ 6/1/2562)

Meenatchi,P.,Purushothaman,A. and Maneemegalai,S.2017. Antioxidant, antiglycation and insulinotrophic properties of Coccinia grandis (L.) in vitro: Possible role in prevention of diabetic complications. Journal of Traditional and Complementary Medicine 7:54-64.

Hassanarbab,A. 2017.In vitro evaluation of novel antiviral activities of 60 medicinal plants extracts against hepatitis B virus. EXPERIMENTAL AND THERAPEUTIC MEDICINE 14: 626-634.

Hasan,F.,Sikdar,B.2016.SCREENING OF ANTIMICROBIAL, CYTOTOXIC AND PESTICIDAL ACTIVITIES OF COCCINIA GRANDIS (L.) VOIGT. J Microbiol Biotech Food Sci / Hasan and Sikdar: 5 (6) 584-588

Umamaheswari,M.,Chatterjee T K.2008.In Vitro Antioxidant Activities of the Fractions of Coccinia Grandis L. Leaf Extract. Afr J Tradit Complement Altern Med.5(1):61–73

Attanayake,A.2013.Efficacy and toxicological evaluation of Coccinia grandis (Cucurbitaceae) extract in male Wistar rats. Asian Pacific Journal of Tropical Disease.Pages 460-466

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

การวิเคราะห์ DPPH radical scavenging assay ในสารสกัดหยาบใบตำลึง

1. การเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ DPPH radical scavenging assay

1. เตรียมสารละลายตัวอย่างในเอทนอล ได้แก่ ใบตำลึงเพศผู้และเพศเมียจากจังหวัดนครปฐม และจังหวัดสุพรรณบุรี

2. ทำการเจือจางสารสกัดหยาบใบตำลึง โดยวิธี two-fold dilution ที่ความเข้มข้น 10, 5, 2.5, 1.25 และ 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การเตรียมสารละลาย DPPH ใน Absolute Ethanol

โดยการชั่ง DPPH 0.039 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร จะได้สารละลายความเข้มข้น DPPH 1000 ไมโครโมล นำมาเจือจางเพื่อลดความเข้มข้นลงครึ่งหนึ่ง โดยใช้ปิเปตดูดสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมลงใน Absolute Ethanol ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 500 ไมโครโมล

หมายเหตุ: 1. การเตรียมสารละลาย DPPH ต้องเตรียมทันทีก่อนนำไปใช้

2. การคำนวณความเข้มข้นของ DPPH (น้ำหนักโมเลกุลของ DPPH = 394.33 กรัมต่อโมล)

น้ำหนักสาร (กรัม) $= 1\times10^{-4}$ โมลต่อลิตร $\times$ 394.33 กรัมต่อโมล

$= 0.039$ กรัมต่อลิตร

3. การเตรียมสารละลายวิตามินอี (α-tocopherol)

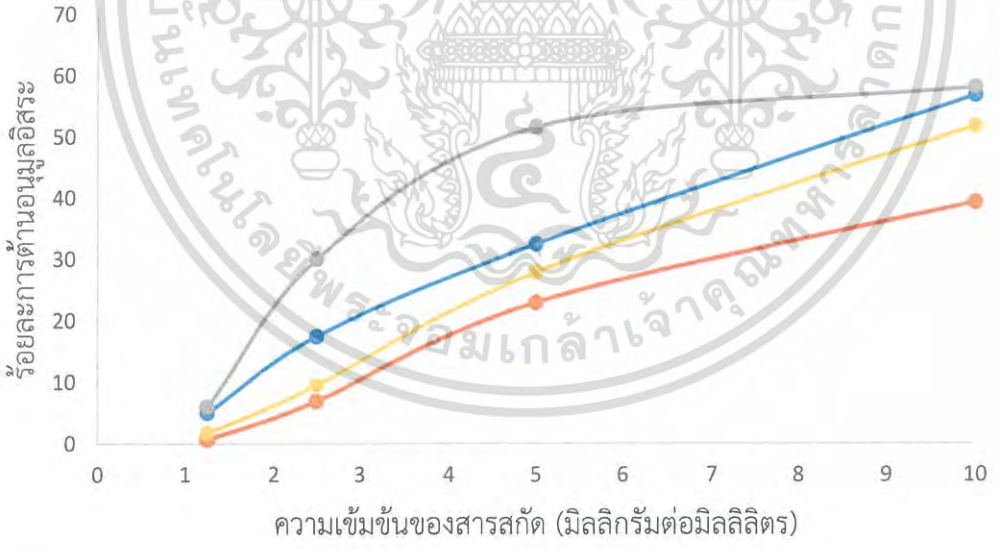
เตรียมสารละลายวิตามินอี หรือ α-tocopherol ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ โดยทำการชั่งวิตามินอี 0.0215 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางก-1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบตำลึงที่ความเข้มข้น 1.25, 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สถานที่เก็บ	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	
		เพศผู้	เพศเมีย
นครปฐม	10	56.79 ± 1.57^{a}	39.31 ± 1.07^{c}
	5	32.54 ± 0.75^{d}	23.01 ± 0.68^{f}
	2.5	17.48 ± 2.25^{g}	6.91 ± 0.79^{hi}
	1.25	5.00 ± 0.63^{ji}	0.67 ± 0.79^{j}
สุพรรณบุรี	10	58.10 ± 1.81^{a}	51.72 ± 2.79^{b}
	5	51.58 ± 1.47^{b}	27.90 ± 0.63^{e}
	2.5	29.99 ± 0.94^{de}	9.50 ± 0.52^{h}
	1.25	5.99 ± 1.01^{hi}	1.70 ± 1.67^{ji}

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปภาพที่ก-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของสารสกัด

หมายเหตุ: เพศผู้จังหวัดสุพรรณบุรี เพศผู้จังหวัดนครปฐม เพศเมียจังหวัดสุพรรณบุรี เพศเมียจังหวัดนครปฐม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic) ในสารสกัดหยาบใบตำลึง

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐาน โดยมีหลักการคือ สารประกอบฟีนอลิกจะทำปฏิกิริยากับ Folin- cicocalteu reagent เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสน้ำเงิน ซึ่งสามารถตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

1. สารเคมี

1. Folin- cicocalteu reagent

2. โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 7.5

3. สารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นเริ่มต้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร

2. นำมาเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1, 0.1, 0.01, 0.001 และ 0.0001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ใส่ลงใน well plate ปริมาตร 20 ไมโครลิตร

4. เติมสารละลาย Folin- cicocalteu ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

5. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

6. นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

7. เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิกในหน่วยมิลลิกรัม

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

1. เตรียมสารสกัดหยาบให้ได้ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. ปิเปตสารสกัดปริมาตร 20 ไมโครลิตร ต่อหลุม ใส่ใน 96 well plate

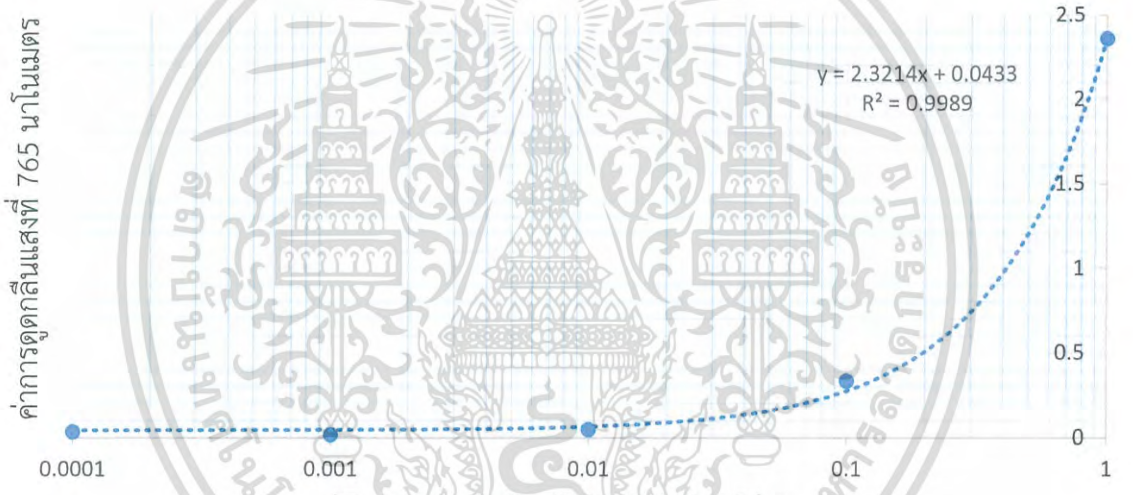
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ปิเปตสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของ 96 well plate

5. เติมสาร Folin- cicocalteu ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของ 96 well plate

6. บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร



รูปภาพที่ข-1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบตำลึง

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยใช้สารละลายควอซิตินเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์มาตรฐาน ซึ่งสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

1.สารเคมี

1. สารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30
2. สารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5
3. สารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10
4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์

2. การเตรียมสารละลายกราฟมาตรฐานควอซิติน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานควอซิตินความเข้มข้นเริ่มต้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. นำมาเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1000, 100, 10 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานควอซิตินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ใส่ลงในหลอดทดลอง ปริมาตร 250 ไมโครลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 1.25 มิลลิลิตร
4. เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที
5. เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 6 นาที
6. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 275 ไมโครลิตร
7. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
8. เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณสารละลายควอซิตินในหน่วยมิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

1. ชั่งสารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัม ละลายในเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ให้ได้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. ปิเปตสารสกัดหยาบปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วเติมน้ำกลั่น 1.25 มิลลิลิตร

3. เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที

4. เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 6 นาที

5. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 275 ไมโครลิตร

6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

7. รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด

รูปภาพที่ค-1 กราฟมาตรฐานของควอซิติน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบตำลึง

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด โดยวิธี Folin-Denis ซึ่งสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบแทนนินต่อกรัมของสารสกัด

1. สารเคมี

1. สารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30

2. สารละลาย Folin-Denis

3. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 35

4. สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก

2. การเตรียมสารละลายกราฟมาตรฐานกรดแทนนิก

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิก ความเข้มข้นเริ่มต้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. ทำการเจือจางสารละลายกรดแทนนิกให้ได้ระดับความเข้มข้น 1000, 100, 10, 1 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 7.5 มิลลิลิตร

4. เติมสารละลาย Folin-Denis ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

5. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

6. เติมน้ำกลั่นให้ได้ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

7. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

8. เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณสารละลายกรดแทนนิกในหน่วยมิลลิกรัม

3. การวิเคราะห์ปริมาณแทนนิกทั้งหมด

1. เตรียมสารสกัดหยาบความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายด้วยเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 7.5 มิลลิลิตร

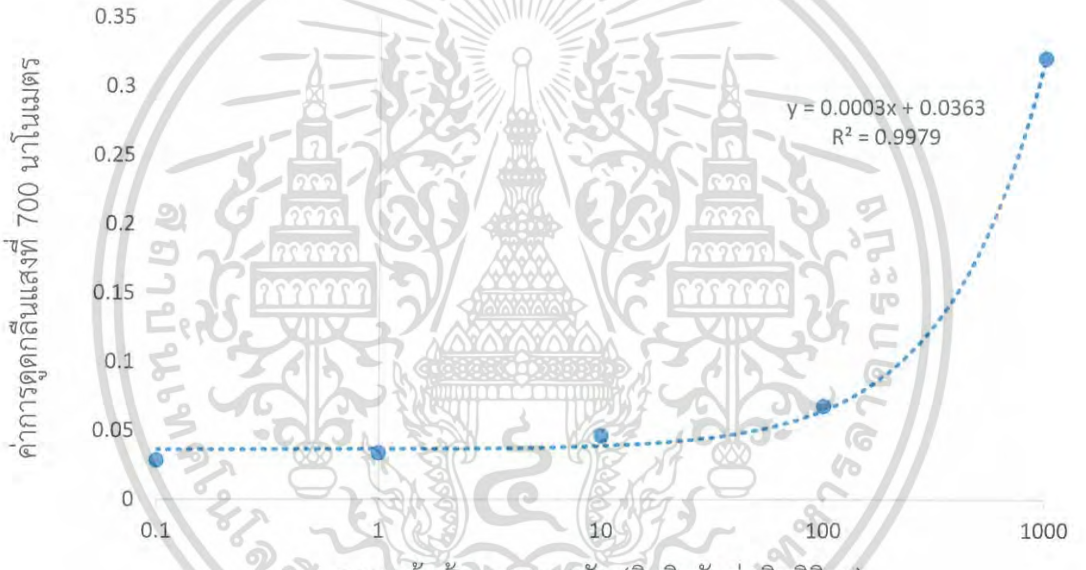
3. เติมสารละลาย Folin-Denis ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

4. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

5. เติมน้ำกลั่นให้ได้ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

7. รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด



รูปภาพที่-1 กราฟมาตรฐานของกรดแทนนิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมดในสารสกัดหยาบใบตำลึง

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมด ใช้วิธี pH differential โดยใช้ระบบ 2 บัฟเฟอร์ คือ 0.025 โมลาร์ โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ที่ pH 1.0 และ 0.4 โมลาร์ โซเดียมอะซีเตรท (CH_3COONa) ที่ pH 4.5 ซึ่งสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)

1. สารเคมี

1. โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) 0.025 โมลาร์ ที่ pH 1.0

2. โซเดียมอะซีเตรท (CH_3COONa) 0.4 โมลาร์ ที่ pH 4.5

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมด

1. เตรียมสารสกัดหยาบปริมาตร 30 ไมโครลิตร (ชั่งสารสกัด 40 มิลลิกรัม ละลายในน้ำ 1000 ไมโครลิตร) ลงในหลอดทดลอง 2 หลอด

2. โดยหลอดที่ 1 มีสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ pH 1 ปริมาตร 270 ไมโครลิตร และหลอดที่ 2 มีสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซีเตรท pH 4.5 ปริมาตร 270 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

3. ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (microplate reader) จากนั้นนำมาคำนวณความแตกต่างระหว่างค่าการดูดกลืนแสง

A = (A520 – A700) ที่ pH 1.0 – (A520 – A700) ที่ pH 4.5

ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน (มิลลิกรัมต่อลิตร) = (A×MW×DF×1000)/(e×1)

เมื่อ A คือ ความแตกต่างของค่าการดูดกลืนแสงที่ pH ต่างกัน

MW คือ น้ำหนักโมเลกุลของแอนโทไซยานิน (449.2)

DF คือ อัตราการเจือจาง

e คือ cyaniding-3-glucoside molar absorbance (26,900)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางจ-1 ผลการวิเคราะห์ของสารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบตำลึงเพศผู้และเพศเมีย

สถานที่เก็บ	ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อลิตรสารสกัด)	
	เพศผู้	เพศเมีย
นครปฐม	15.36±8.54[a]	3.67±4.71[a]
สุพรรณบุรี	2.00±2.81[a]	3.00±4.68[a]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยใช้เซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7

1.การเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์ (RPMI 1640) ที่มี $NaHCO_3$

นำอาหาร RPMI 1640 ที่มี $NaHCO_3$ 5 กรัมต่อลิตร ผสมกับน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 1 ลิตร โดยใช้เครื่อง magnetic stirrer ในการกวนอาหาร และปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 6.8-7.0 จากนั้นนำมาทำการฆ่าเชื้อโดยกรองผ่าน membrane filter ขนาด 0.22 ไมครอน เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. การเตรียม Phosphate buffer solution (PBS)

ปริมาตรที่เตรียม 1000 มิลลิลิตร

NaCl	8.0	กรัม
KCl	2.0	กรัม
KH_2HPO_4	0.2	กรัม
Na_2HPO_4	2.9	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

ผสมสารเคมีที่ได้ด้วยเครื่อง magnetic stirrer จากนั้นนำมาทำการฆ่าเชื้อโดยกรองผ่าน membrane filter ขนาด 0.22 ไมครอน เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. การเตรียมสารละลาย MTT (ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร)

1. ชั่งสารละลาย MTT 50 มิลลิกรัม

2. ละลายใน PBS 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และเก็บไว้ในขวดสีชา

4. การ inactivate Fetal Bovine Serum (FBS)

1. นำซีรั่มมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนละลาย

2. นำซีรั่มมาทำการ inactivate ใน water bath ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การนับเซลล์มีชีวิต

ใช้สารละลาย Trypan blue และ Heamacytometer ในการนับเซลล์แต่ละจานเพาะเลี้ยง ดูดสารละลาย Trypan blue 0.1 มิลลิลิตร และตัวอย่างเซลล์ 0.4 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดปั่นแยกขนาด 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นทำการหยอดลงใน Heamacytometer แล้วนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อนับจำนวนเซลล์มีชีวิต (ไม่ติดสี) ในช่องขนาด 1 ตารางมิลลิเมตร บริเวณมุมทั้ง 4 ของตาราง จากนั้นนำไปคำนวณหาจำนวนเซลล์เฉลี่ยต่อช่อง

ปริมาตรของช่อง Heamacytometer = 1 มิลลิเมตร × 1 มิลลิเมตร × 0.1 มิลลิเมตร

= 0.1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร = 10^4 ลูกบาศก์เซนติเมตร

จำนวนเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตร = จำนวนเซลล์เฉลี่ยต่อช่อง × ค่าความเจือจาง × 10^4

หากต้องการปลูกเซลล์ตั้งต้นจากขวดเพาะเลี้ยงเดิม ไปยังขวดเพาะเลี้ยงใหม่ ให้มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นและปริมาตรตามต้องการสามารถนำค่าที่ได้มาคำนวณ โดยสมการ

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

โดยที่ ; C_1 = ความหนาแน่นเซลล์ต่อมิลลิลิตรที่ได้

V_1 = ปริมาตรที่ต้องการ

C_2 = ความหนาแน่นเซลล์ต่อมิลลิลิตรที่ต้องการ

V_2 = ปริมาตรทั้งหมดที่ต้องใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

1. การวิเคราะห์ค่าการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบใบตำลึงที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังต่อไปนี้

Descriptives

DPPH								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
M.N 10 มก/มล	4	56.7884	3.1331	1.5666	51.8029	61.7739	52.2155	59.3052
5 มก/มล	4	32.5417	1.5067	0.7534	30.1441	34.9392	30.8047	34.0659
2.5 มก/มล	4	17.4761	4.5033	2.2516	10.3103	24.6418	13.3641	23.8568
1.25 มก/มล	4	4.9982	1.2523	0.6261	3.0056	6.9909	4.1475	6.8415
M.S 10 มก/มล	4	58.1000	3.6289	1.8145	52.3255	63.8744	54.0588	61.5739
5 มก/มล	4	51.5775	2.9300	1.4650	46.9151	56.2398	48.1035	54.3424
2.5 มก/มล	4	29.9894	1.8717	0.9359	27.0110	32.9677	27.2598	31.5136
1.25 มก/มล	4	5.9908	2.0285	1.0143	2.7629	9.2186	3.5803	8.5431
F.N 10 มก/มล	4	39.3123	2.1442	1.0721	35.9005	42.7241	36.3346	41.0138
5 มก/มล	4	23.0060	1.3600	0.6800	20.8419	25.1701	21.7299	24.8493
2.5 มก/มล	4	6.9124	1.5768	0.7884	4.4034	9.4215	5.4236	8.5431
1.25 มก/มล	4	0.6735	1.5811	0.7905	-1.8423	3.1894	-0.6735	2.8713
F.S 10 มก/มล	4	51.7192	5.5770	2.7885	42.8450	60.5935	47.3945	59.7306
5 มก/มล	4	27.8979	1.2603	0.6301	25.8925	29.9033	26.8345	29.5285
2.5 มก/มล	4	9.5002	1.0315	0.5157	7.8589	11.1415	7.9759	10.2446
1.25 มก/มล	4	1.7015	3.3322	1.6661	-3.6007	7.0037	0.0354	6.6998
Total	64	26.1366	20.1808	2.5226	21.0955	31.1776	-0.6735	61.5739

หมายเหตุ; M.N = เพศผู้นครปฐม, M.S = เพศผู้สุพรรณบุรี, F.N = เพศเมียนครปฐม, F.S = เพศเมียสุพรรณบุรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Homogeneous Subsets

DPPH												
Duncan[a]												
สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
F.N 1.25 มก/มล	4	0.67										
F.S 1.25 มก/มล	4	1.70	1.70									
M.N 1.25 มก/มล	4		5.00	5.00								
M.S 1.25 มก/มล	4			5.99								
F.N 2.5 มก/มล	4			6.91								
F.S 2.5 มก/มล	4				9.50							
M.N 2.5 มก/มล	4					17.48						
F.N 5 มก/มล	4						23.01					
F.S 5 มก/มล	4							27.90				
M.S 2.5 มก/มล	4							29.99	29.99			
M.N 5 มก/มล	4								32.54			
F.N 10 มก/มล	4									39.31		
M.S 5 มก/มล	4										51.58	
F.S 10 มก/มล	4										51.72	
M.N 10 มก/มล	4											56.79
M.S 10 มก/มล	4											58.10
Sig.		0.60	0.09	0.36	0.09	1.00	1.00	0.28	0.19	1.00	0.94	0.50

หมายเหตุ; M.N = เพศผู้นครปฐม, M.S = เพศผู้สุพรรณบุรี, F.N = เพศเมียนครปฐม,

F.S = เพศเมียสุพรรณบุรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบตำลึงที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังต่อไปนี้

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
M.N	4	0.0435	0.0050	0.0025	0.0355	0.0515	0.0384	0.0501
M.S	4	0.0973	0.0089	0.0045	0.0832	0.1115	0.0845	0.1043
F.N	4	0.0418	0.0029	0.0014	0.0372	0.0464	0.0389	0.0457
F.S	4	0.0658	0.0041	0.0020	0.0593	0.0723	0.0600	0.0694
Total	16	0.0621	0.0237	0.0059	0.0494	0.0747	0.0384	0.1043

Homogeneous Subsets

Duncan[a]				
สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
F.N	4	0.04176		
M.N	4	0.04349		
F.S	4		0.06578	
M.S	4			0.09733
Sig.		0.676	1.000	1.000

หมายเหตุ; M.N = เพศผู้นครปฐม, M.S = เพศผู้สุพรรณบุรี, F.N = เพศเมียนครปฐม, F.S = เพศเมียสุพรรณบุรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบตำลึงที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังต่อไปนี้

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
M.N	4	1812.5000	235.1418	117.5709	1438.3369	2186.6631	1615.00	2145.00
M.S	4	3107.5000	369.1770	184.5885	2520.0570	3694.9430	2715.00	3605.00
F.N	4	755.0000	93.4523	46.7262	606.2965	903.7035	655.00	865.00
F.S	4	3180.0000	124.4990	62.2495	2981.8943	3378.1057	3045.00	3335.00
Total	16	2213.7500	1056.1873	264.0468	1650.9475	2776.5525	655.00	3605.00

Homogeneous Subsets

Duncan[a]				
สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
F.N	4	755.0000		
M.N	4		1812.5000	
F.S	4			3107.5000
M.S	4			3180.0000
Sig.		1.0000	1.0000	0.6668

หมายเหตุ; M.N = เพศผู้นครปฐม, M.S = เพศผู้สุพรรณบุรี, F.N = เพศเมียนครปฐม, F.S = เพศเมียสุพรรณบุรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.การวิเคราะห์ปริมาณแทนนินทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบตำลึงที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังต่อไปนี้

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
M.N	4	519.0000	318.2184	159.1092	12.6435	1025.3565	174.0000	810.6667
M.S	4	644.8333	343.7201	171.8601	97.8979	1191.7687	204.0000	967.3333
F.N	4	399.8333	198.0530	99.0265	84.6868	714.9799	250.6667	687.3333
F.S	4	349.0000	152.0356	76.0178	107.0775	590.9225	147.3333	480.6667
Total	16	478.1667	265.1163	66.2791	336.8961	619.4372	147.3333	967.3333

Homogeneous Subsets

Duncan[a]		
สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05
		1
F.S	4	349.00000
F.N	4	399.83333
M.N	4	519.00000
M.S	4	644.83333
Sig.		0.169

หมายเหตุ; M.N = เพศผู้นครปฐม, M.S = เพศผู้สุพรรณบุรี, F.N = เพศเมียนครปฐม,

F.S = เพศเมียสุพรรณบุรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดหยาบใบตำลึงที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังต่อไปนี้

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
M.N	5	2.003866	318.2184	6.2926219	2.8141461	-5.809456	9.817188	-5.0097
M.S	5	15.362974	343.7201	19.0908498	8.5376876	-8.341447	39.067395	0.0000
F.N	5	3.005799	198.0530	10.4551556	4.6756877	-9.975991	15.987590	-8.3494
F.S	5	3.673755	152.0356	10.5216226	4.7054127	-9.390565	16.738075	-15.0290
Total	20	6.011599	265.1163	12.7451585	2.8499041	0.046681	11.976516	-15.0290

Homogeneous Subsets

Duncan[a]		
สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05
		1
M.S	5	2.003866
F.S	5	3.005799
F.N	5	3.673755
M.N	5	15.362974
Sig.		0.138

หมายเหตุ; M.N = เพศผู้นครปฐม, M.S = เพศผู้สุพรรณบุรี, F.N = เพศเมียนครปฐม, F.S = เพศเมียสุพรรณบุรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบใบตำลึงต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7

Descriptives

cytotoxic									
สถานที่เก็บ	ความเข้มข้น (µg/ml)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
						Lower Bound	Upper Bound		
M.N	0.1	5	54.7600	5.2610	2.3528	48.2276	61.2924	48.7271	61.9199
	1	5	59.5731	2.3102	1.0331	56.7046	62.4415	57.1466	62.9806
	10	5	61.6415	2.4410	1.0916	58.6106	64.6724	57.6107	63.9751
	100	3	68.2622	5.8933	3.4025	53.6223	82.9020	63.3121	74.7812
	1000	3	73.1459	3.3480	1.9330	64.8291	81.4628	70.7372	76.9690
	10000	5	29.0374	7.2866	3.2587	19.9899	38.0849	19.2920	38.2525
F.N	0.1	5	42.2169	38.5874	17.2568	-5.6957	90.1295	-25.0597	70.8698
	1	5	49.5094	20.5450	9.1880	23.9994	75.0194	13.1265	62.8481
	10	5	53.7921	23.0319	10.3002	25.1942	82.3900	12.9276	68.9472
	100	5	54.9059	15.1311	6.7669	36.1181	73.6937	29.1037	67.8865
	1000	5	62.4901	25.0829	11.2174	31.3455	93.6346	18.2312	78.2286
	10000	4	44.0533	11.9804	5.9902	24.9898	63.1168	33.6118	54.4285
M.S	0.1	5	41.6061	5.1888	2.3205	35.1633	48.0488	36.8009	50.3808
	1	5	47.8607	5.0742	2.2692	41.5603	54.1611	42.6768	55.9956
	10	4	49.5647	6.1994	3.0997	39.7001	59.4294	41.8933	56.1915
	100	4	54.7388	5.2757	2.6378	46.3441	63.1336	49.5321	61.8063
	1000	5	65.2013	12.5638	5.6187	49.6013	80.8013	52.9271	84.1349
	10000	5	83.1665	6.5899	2.9471	74.9840	91.3490	75.1360	91.1317
F.S	0.1	5	32.8574	11.6708	5.2193	18.3662	47.3486	16.6920	47.4429
	1	5	45.6931	3.1732	1.4191	41.7531	49.6332	41.3710	49.9238
	10	5	54.8727	7.2672	3.2500	45.8493	63.8961	43.8520	62.1980
	100	5	62.9946	16.0321	7.1698	43.0880	82.9011	36.4744	77.3449
	1000	5	65.6583	23.5536	10.5335	36.4126	94.9040	23.8738	79.2383
	10000	3	52.2416	9.7490	5.6286	28.0236	76.4595	44.7116	63.2535
Total		111	54.1762	18.0808	1.7162	50.7752	57.5772	-25.0597	91.1317

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Homogeneous Subsets

cytotoxic							
Duncan[a,b]							
สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
M.N 10000.00	5	29.037391					
F.S 0.10	5	32.857439	32.857439				
M.S 0.10	5	41.606081	41.606081	41.606081			
F.N 0.10	5	42.216919	42.216919	42.216919			
F.N 10000.00	4	44.053302	44.053302	44.053302	44.053302		
F.S 1.00	5	45.693133	45.693133	45.693133	45.693133		
M.S 1.00	5	47.860707	47.860707	47.860707	47.860707		
F.N 1.00	5	49.509414	49.509414	49.509414	49.509414	49.509414	
M.S 10.00	4	49.564733	49.564733	49.564733	49.564733	49.564733	
F.S 10000.00	3	52.241557	52.241557	52.241557	52.241557	52.241557	
F.N 10.00	5		53.792098	53.792098	53.792098	53.792098	
M.S 100.00	4		54.738837	54.738837	54.738837	54.738837	
M.N 0.10	5		54.760011	54.760011	54.760011	54.760011	
F.S 10.00	5		54.872678	54.872678	54.872678	54.872678	
F.N 100.00	5		54.905861	54.905861	54.905861	54.905861	
M.N 1.00	5			59.573058	59.573058	59.573058	
M.N 10.00	5			61.641474	61.641474	61.641474	61.641474
F.N 1000.00	5			62.490056	62.490056	62.490056	62.490056
F.S 100.00	5			62.994551	62.994551	62.994551	62.994551
M.S 1000.00	5			65.201298	65.201298	65.201298	65.201298
F.S 1000.00	5			65.658317	65.658317	65.658317	65.658317
M.N 100.00	3				68.262176	68.262176	68.262176
M.N 1000.00	3					73.145938	73.145938
F.S 10000.00	5						83.166482
Sig.		0.053	0.073	0.054	0.052	0.056	0.068

หมายเหตุ; M.N = เพศผู้นครปฐม, M.S = เพศผู้สุพรรณบุรี, F.N = เพศเมียนครปฐม,

F.S = เพศเมียสุพรรณบุรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้