การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไย

A PRELIMINARY STUDY ON BIOLOGICAL ACTIVITES OF POLYSACCHARIDE EXTRACTS FROM *Dimocarpus longan* SEED

นุสดารัตน์ อินอ่ำ
พงษ์อมร จิรชยเศรษฐ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

A PRELIMINARY STUDY ON BIOLOGICAL ACTIVITES OF POLYSACCHARIDE EXTRACTS FROM *Dimocarpus longan* SEED

NUSADARUT INUM

PONGAMON JIRACHAYASAD

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 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไย A Preliminary Study on Biological Activities of Polysaccharide Extracts from *Dimocarpus longan* Seed
ชื่อนักศึกษา	นางสาวนุสดารัตน์ อินอ่ำ รหัสนักศึกษา 57050714 นายพงษ์อมร จิรชยเศรษฐ รหัสนักศึกษา 57050731
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2560

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ	
ดร.วิมลมาศ บุญมี กรรมการ	
ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไย
ชื่อนักศึกษา	นางสาวนุสดารัตน์ อินอ่ำ รหัสนักศึกษา 57050714
	นายพงษ์อมร จิรชยเศรษฐ รหัสนักศึกษา 57050731
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษนี้ เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถา (*Dimocarpus longan* var. *obtusus*) และเมล็ดลำไยอีดอ (*Dimocarpus longan*) ที่สกัดด้วยด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยอีดอมีปริมาณเบต้ากลูแคน และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากกว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา แต่สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถามีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ และฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสดีกว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยอีดอ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและเมล็ดลำไยอีดอมีผลที่ใกล้เคียงกัน ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT กับเซลล์ไลน์สามชนิด ได้แก่ เซลล์ผิวหนังชนิด HaCat เซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และเซลล์มะเร็งปากมดลูกชนิด HeLa พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของทั้งเมล็ดลำไยเถาและเมล็ดลำไยอีดอที่ความเข้มข้น 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งการทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar well diffusion ที่ความเข้มข้น 5000 ไมโครกรัมต่อหลุม พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำสำคัญ : พอลิแซ็กคาไรด์ เมล็ดลำไยเถา ฤทธิ์ทางชีวภาพ สารสกัด

Title	A Preliminary Study on Biological Activities of Polysaccharide Extracts from *Dimocarpus longan* Seed
Student	Miss Nusadarut Inum Student ID 57050714
	Mr. Pongamon Jirachayasad Student ID 57050731
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2017
Advisor	Asst.Prof.Dr. Supattra Poeaim

Abstract

The purpose of this study was to investigate the bioactivities of polysaccharide from *Dimocarpus longan* var. *obtusus* and *Dimocarpus longan* seed. The polysaccharides were extracted using sodium hydroxide and water. The beta-glucan content and total phenolic compound in crude polysaccharide from *D. longan* seed were higher than that from *D. longan* var. *obtusus* seed. The crude polysaccharide from *D. longan* var. *obtusus* seed was demonstrated the total polysaccharide and anti-tyrosinase activity better than *D. longan* seed. The polysaccharide from both seeds exhibited similar antioxidant activity. The cytotoxicity was evaluated in three cell lines: HeLa, MCF-7 and HaCat using MTT colorimetric assay. At the polysaccharide concentration of 2,000 µg/mL, both of samples showed similar results and less cytotoxic effect than 30%. The antimicrobial activity of polysaccharides was evaluated by agar well diffusion assay. At concentration 5000 µg/well, the polysaccharides did not present any antimicrobial activity.

Keywords: Bioactivity, *Dimocarpus longan* var. *obtusus*, Polysaccharide, Polysaccharide extraction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเล่มนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากผู้จัดทำได้รับความช่วยเหลือจากผู้มีพระคุณหลายท่านดังนี้

ขอขอบพระคุณอย่างสูงสำหรับอาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ ช่วยเหลือ ชี้แนะแนวทาง ให้กำลังใจ ในการดำเนินการและแก้ไขปัญหาอย่างใกล้ชิด รวมทั้งตรวจเล่มโครงงานพิเศษเล่มนี้ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ตลอดจนอบรม และฝึกทักษะในห้องปฏิบัติการให้มีความชำนาญ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ และ ดร.วิมลมาศ บุญมี กรรมการในการสอบโครงงานพิเศษ ที่ให้คำแนะนำในการปรับปรุง แก้ไขโครงงานพิเศษเล่มนี้ให้สำเร็จลุล่วงสมบูรณ์ได้ไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณชาวบ้านในพื้นที่จังหวัดชลบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ อนุญาตในการเก็บตัวอย่างที่นำมาใช้ศึกษาในโครงงานพิเศษครั้งนี้

ขอขอบคุณพี่ๆเป็นอย่างมากโดยเฉพาะ พี่เกษรา พี่กฤษดา พี่อัจฉรา พี่สุภานัน นักศึกษาปริญญาโทห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ พี่นักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความช่วยเหลือให้ความรู้ คำแนะนำ ชี้แนะแนวทางในการแก้ไขปัญหา การยืมอุปกรณ์ การใช้เครื่องมือต่างๆ จนสำเร็จไปได้ด้วยดี

และสุดท้ายขอขอบคุณ ครอบครัว และเพื่อนๆ พี่น้อง ที่ให้กำลังใจ ความช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้ จนสำเร็จตามดังที่คาดหวังไว้ ซึ่งหากโครงงานพิเศษนี้มีส่วนผิดพลาดประการใด ทางผู้จัดทำขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

นุสดารัตน์ อินอ่ำ

พงษ์อมร จิรชยเศรษฐ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ช
สารบัญรูป ..... ญ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 ลำไย 3
2.1.1 การจำแนกสายพันธุ์ลำไย 3
2.1.2 การใช้ประโยชน์ทางเภสัชวิทยา และสารสำคัญในลำไย 4
2.2. พอลิแซ็กคาไรด์และเบต้ากลูแคน 5
2.3 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพทางด้านต่างๆในเมล็ดลำไย 6
2.3.1 สารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 6
2.3.2 เอนไซม์ไทโรซิเนส และกระบวนการเกิดเม็ดสีเมลานิน 8
2.3.3 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยเทคนิค MTT 10
2.3.4 การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ 10
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 12
3.1 ตัวอย่างพืช 12
3.2 อุปกรณ์และสารเคมี 12
3.2.1 อุปกรณ์ 12
3.2.2 สารเคมี 13
3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ 14
3.3.1 แบคทีเรียแกรมลบ 14
3.3.2 แบคทีเรียแกรมบวก 14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3.3 ยีสต์ 15
3.4 เซลล์ไลน์ 15
3.5 เตรียมกากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ 15
3.6 การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ 15
3.6.1 สกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากตัวทำละลายน้ำ 15
3.6.2 สกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 16
3.7 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา 16
3.7.1 การวิเคราะห์หาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด 16
3.7.2 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 16
3.7.3 ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS radical scavenging activity 17
3.7.4 ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay 17
3.7.5 ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วยวิธี Dopachrome 18
3.7.6 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยวิธี MTT Test 19
3.7.7 การทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ ด้วยเทคนิค Agar Well Diffusion 20
3.7.8 การวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคน ด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูป Mixed-linkage Beta-glucan 22
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปราย 23
4.1 ผลการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ 23
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไย 24
4.2.1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด 24
4.2.2 ผลการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวม 25
4.2.3 ผลการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระ 26
4.2.4 ผลการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส 29
4.2.5 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ 32
4.2.6 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 33
4.2.7 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคน 35
บทที่ 5 สรุปการวิจัยและข้อเสนอแนะ 37
เอกสารอ้างอิง 38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก 41
ภาคผนวก ก 42
ภาคผนวก ข 46
ภาคผนวก ค 58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

3.1 อัตราส่วนของสารต่างๆที่ใช้ในการทดสอบเอนไซม์ไทโรซิเนส 18
4.1 ลักษณะสีของสารสกัดหยาบ น้ำหนัก และร้อยละผลได้ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของลำไยทั้ง 4 ตัวอย่าง 23
4.2 ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและเมล็ดลำไยอีดอ 25
4.3 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา 26
4.4 ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ค่า IC_{50} และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและเมล็ดลำไยอีดอ 27
4.5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา และเมล็ดลำไยอีดอ 29
4.6 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Dopachrome ค่า IC_{50} ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัด พอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและเมล็ดลำไยอีดอ 31
4.7 ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและเมล็ดลำไยอีดอ 33
4.8 แสดงปริมาณเบต้ากลูแคน % w/w (dry wt. basis) ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา และเมล็ดลำไยอีดอ 36
ข-1 ความเข้มข้นของสารมาตรฐานกลูโคสและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ที่ทดสอบด้วยวิธี Phenol-sulfuric acid 46
ข-2 ความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแกลลิกและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ที่ทดสอบด้วยวิธี Folin-Ciocalteu 48
ข-3 ความเข้มข้นของสารมาตรฐานสารละลายโทรล็อกซ์และค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ ที่ทดสอบด้วยวิธี ABTS 50
ข-4 ความเข้มข้นของสารมาตรฐานสารละลายกรดแอสคอร์บิกและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ที่ทดสอบด้วยวิธี FRAP 52
ข-5 ความเข้มข้นของสารมาตรฐานสารละลายกรดแอสคอร์บิกและค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ที่ทดสอบด้วยวิธี Dopachrome 54
ข-6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐาน D–glucose ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ทดสอบด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูป Mixed-linkage Beta-glucan 56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ค-1.1 วิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ โดยวิธี Duncan. 58
ค-1.2 การเปรียบเทียบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำโดยวิธี Duncan 58
ค-2.1 วิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ โดยวิธี Duncan..... 59
ค-2.2 ผลการเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยน้ำและโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยวิธี Duncan..... 59
ค-3.1 วิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำโดยวิธี Duncan..... 60
ค-3.2 ผลการเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำโดยวิธี Duncan. 60
ค-4.1 วิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ FRAP ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำโดยวิธี Duncan..... 61
ค-4.2 ผลการเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ FRAP ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ โดยวิธี Duncan. 61
ค-5.1 วิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำโดยวิธี Duncan..... 62
ค-5.2 ผลการเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำโดยวิธี Duncan..... 62
ค-6.1 วิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ชนิด HeLa ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียม-ไฮดรอกไซด์และน้ำโดยวิธี Duncan..... 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ค-6.2 ผลการเปรียบเทียบร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ชนิด HeLa ในสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยน้ำและโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยใช้วิธี Duncan 63

ค-6.3 วิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ชนิด MCF-7 ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำโดยวิธี Duncan 64

ค-6.4 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ MCF-7 ในสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยน้ำและโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยวิธี Duncan 64

ค-6.5 วิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ชนิด HaCat ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำโดยวิธี Duncan 64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ลักษณะลำไยเถา	4
2.2	ขบวนการชีวสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินจากกรดอะมิโนไทโรซีน	9
3.1	แผนผังการทดลองการใส่สารสกัดต่อเซลล์ไลน์ ใน 96-well plate	20
3.2	หลุมที่เจาะบนอาหารแข็ง MHA	21
4.1	สารละลายสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (DLN01-03) และน้ำ (DLH01-03) และสารละลายสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยอีดอที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (DLN04) และน้ำ (DLH04)	24
4.2	กราฟแสดงร้อยละการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา และเมล็ดลำไยอีดอที่ความเข้มข้นต่างๆ	28
4.3	กราฟแสดงร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและเมล็ดลำไยอีดอ ที่ความเข้มข้นต่างๆ	30
4.4	แสดงลักษณะของเซลล์ HeLa, MCF-7 และ HaCat ที่กำลังขยาย 100 เท่า	32
4.5	ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 5000 ไมโครกรัมต่อหลุม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	34
4.6	ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยน้ำ ที่ความเข้มข้น 5000 ไมโครกรัมต่อหลุม เป็นเวลา 24ชั่วโมง	35
ข-1	กราฟมาตรฐานแสดงความเข้มข้นมาตรฐานกลูโคส (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร	46
ข-2	กราฟมาตรฐานแสดงความเข้มข้นมาตรฐานกรดแกลลิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร	48
ข-3	กราฟมาตรฐานแสดงความเข้มข้นมาตรฐานสารละลายโทรล็อกซ์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) กับค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS	50
ข-4	กราฟมาตรฐานแสดงความเข้มข้นมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร	52
ข-5	กราฟมาตรฐานแสดงความเข้มข้นมาตรฐานสารละลายกรดแอสคอร์บิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) กับค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส	54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

พืชในธรรมชาตินับว่ามีความสำคัญอย่างมากต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์ ซึ่งเป็นการนำพืชมาใช้ประโยชน์ในหลายๆด้าน เนื่องจากประเทศไทย เป็นประเทศอยู่ในภูมิศาสตร์ที่มีความอุดมสมบูรณ์เหมาะสมแก่การทำเกษตรกรรม เพาะปลูกพืช ผัก ผลไม้ จึงมีพืชมากมายหลากหลายชนิด ทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจ พืชสมุนไพร พืชอนุรักษ์หายาก เป็นต้น

พอลิแซ็กคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ ประกอบด้วยโมโนแซ็กคาไรด์ ตั้งแต่ 6 โมเลกุลเป็นต้นไปมาต่อกันด้วยพันธะ Glycosidic มีมวลโมเลกุลสูง พบมากที่สุดในธรรมชาติเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในของเนื้อเยื่อหลายชนิดของพืชและสัตว์ (รัชฎา, 2544) ซึ่งยังไม่มีงานวิจัยการศึกษาสารพอลิแซ็กคาไรด์ในลำไยอย่างกว้างขวาง แต่มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับสารสกัดพอลิ-แซ็กคาไรด์ในพืชชนิดอื่น เช่น การสกัดสารเจลพอลิแซ็กคาไรด์จากเปลือก *Durio zibethinus* (ทุเรียน) เพื่อผลิตแผ่นเจลแปะแผล ซึ่งมีโครงสร้างของ α-helix และมีน้ำตาลพวก uronic acid aldose ketose sugar และ pentose sugar เมื่อละลายน้ำจะมีลักษณะพองและหนืด (สุนันท์ และคณะ, 2553) สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยเชื้อ *Boletus colossus* Heim. (เห็ดตับเต่า) มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้อนุมูลอิสระลดลงครึ่งหนึ่ง (Inhibitory Concentration) หรือ IC_{50} = 85.59 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเส้นใยยังมีองค์ประกอบของโครงสร้างเป็น α-configuration และ β-configuration (พรพิมล, 2558)

ลำไยเถา หรือลำไยเครือ ชื่อวิทยาศาสตร์ *Dimocarpus longan* var. *obtusus* จัดอยู่ในวงศ์ Sapindaceae ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกันกับลำไยต้น เป็นพืชที่นิยมปลูกไว้เป็นไม้ประดับมากกว่ารับประทาน มีเมล็ดที่ใหญ่และเนื้อหุ้มเมล็ดบางกว่าลำไยต้นที่นิยมรับประทานหรือจำหน่ายตามท้องตลาด เป็นพืชหายากซึ่งจะนิยมปลูกบางพื้นที่ โดยพบมากในเขตจังหวัดชลบุรี (เสาวลักษณ์, 2527) ปัญญา (2553) ได้กล่าวว่าส่วนต่างๆของลำไยต้นมีสรรพคุณทางยา ซึ่งเป็นวิธีพื้นบ้านที่ใช้ในการรักษา เช่น ใช้ดอกสดประมาณ 5-30 กรัม นำมาต้มน้ำรับประทานจะช่วยแก้โรคเกี่ยวกับฝีหนอง เมล็ดลำไยนำมาต้มหรือบดเป็นผงรับประทานรสชาติจะมีรสฝาดแก้อาการปัสสาวะขัด หรือใช้เป็นยาภายนอกจะช่วยรักษา กลากเกลื้อน แผลมีหนอง แก้ปวด สมานแผล ใช้ห้ามเลือดได้ รากหรือเปลือกราก นำมาต้มน้ำรับประทานมีรสฝาด แก้สตรีตกขาวมากผิดปกติ ขับพยาธิเส้นด้าย เนื้อหากกินในปริมาณที่เหมาะสมจะช่วยบำรุงเลือด หัวใจและม้าม มีรายงานวิจัยเกี่ยวกับประโยชน์จากส่วนต่างๆของลำไย เช่น การพัฒนาแผ่นแปะแผลที่มีส่วนผสมจากสารสกัดของเมล็ดลำไย (วีรยา, 2013) ซึ่งฤทธิ์และสรรพคุณของสารสกัดจากลำไยเถา ยังไม่มีการศึกษาอย่างกว้างขวางมากนัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงสนใจเมล็ดลำไยเถาซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากการรับประทานและเมล็ดมีลักษณะที่ใหญ่กว่าลำไยสายพันธุ์อื่น ๆ มาทดสอบหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ความเป็นพิษต่อเซลล์ การยับยั้งจุลินทรีย์ ปริมาณเบต้ากลูแคน และปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา เพื่อพัฒนาของเหลือทิ้งให้เกิดประโยชน์

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา

1.2.2 เปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยด่าง (โซเดียมไฮดรอกไซด์) กับน้ำ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ในการวิจัยฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นจากสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา โดยเก็บตัวอย่างเมล็ดลำไย สายพันธุ์ลำไยเถาจากอำเภอเมือง อำเภอศรีราชา และอำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี และเมล็ดลำไย สายพันธุ์ลำไยอีดอจากนั้นนำเมล็ดลำไยมาสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์โดยใช้ 2 วิธีคือใช้ตัวทำละลายที่เป็นด่าง (1 M NaOH) และน้ำ เมื่อได้สารสกัดหยาบทั้งหมดแล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ การวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน (Glucose) การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน (Gallic acid) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2′-azino-bis[3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid] (ABTS) เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน (Trolox) การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดย วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน (Ascorbic acid) การทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดโดยวิธี 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) ในเซลล์ไลน์ การยับยั้งจุลินทรีย์ ปริมาณเบต้ากลูแคน และทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ของสารสกัดที่สกัดด้วยด่างกับสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำ และเปรียบเทียบระหว่าง ลำไยลำไยเถากับลำไยอีดอ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 เป็นการนำของเหลือทิ้งที่เป็นเมล็ดที่ไม่สามารถรับประทานโดยตรงได้ มาศึกษาหาประโยชน์ และฤทธิ์ทางชีวภาพ

1.4.2 สามารถนำผลของสารสกัดที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นจากเมล็ดลำไยเถา ไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการอุตสาหกรรมทางอาหาร ทางเวชสำอาง และทางการแพทย์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลำไย

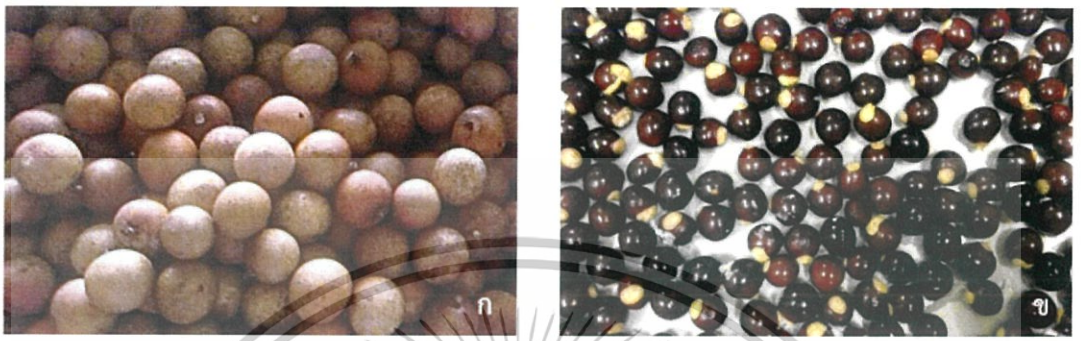
ลำไย (Longan) เป็นไม้ยืนต้น จัดเป็นไม้ผลเขตร้อนและกึ่งร้อน มีถิ่นกำเนิดในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ตั้งแต่ทางตอนใต้ของจีนจนถึงอินโดนีเซีย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dimocarpus longan* ซึ่งจัดอยู่ในวงศ์ Sapindaceae หรือ Soapberry ลำไยสามารถปลูกครั้งเดียว สามารถเก็บผลผลิตได้นาน 10-20 ปีและเจริญเติบโตได้ดีในประเทศไทย พบได้ส่วนมากในภาคเหนือ เช่น จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย พะเยา แพร่ ลำพูน ลำปาง อุตรดิตถ์ และตาก ส่วนในภาคอื่นๆนิยมปลูกกันไม่มากนัก เช่น จังหวัดจันทบุรี เลย และหนองคาย โดยนิยมบริโภคผล ซึ่งลักษณะรูปร่างของผลเป็นทรงกลม โดยเส้นผ่านศูนย์กลาง เนื้อภายใน เมล็ด และความหวาน จะแต่ขึ้นกับแต่ละสายพันธุ์ เนื่องจากเป็นผลไม้ที่มีรสชาติหวานอร่อย มีกลิ่นหอม และเป็นพืชทางเศรษฐกิจทั้งในประเทศและส่งออกต่างประเทศ ปัจจุบันมีการนำไปแปรรูปเพื่อเพิ่มผลผลิต เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค และโรงงานอุตสาหกรรม (คีรี, 2540)

2.1.1 การจำแนกสายพันธุ์ลำไย

เสาวลักษณ์ (2527) ได้จำแนกลำไยตามลักษณะผล เนื้อ เมล็ด และรสชาติออกเป็น 5 ชนิด โดยเป็นลำไยต้น (*Dimocarpus longan*) ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและนิยมรับประทาน แบ่งออกเป็น 4 สายพันธุ์ ได้แก่ 1.ลำไยกะโหลก มีผลขนาดใหญ่ เนื้อหนา มีรสหวาน เมล็ดมีขนาดเล็ก สีน้ำตาลแก่ เช่น ลำไยสีชมพู ลำไยตลับนาค ลำไยเบี้ยวเขียว ลำไยอีแดง ลำไยอีดอ ลำไยอีดำ ลำไยอีแห้ว ลำไยอีเหลือง ลำไยพวงทอง ลำไยเพชรสาครทวาย ลำไยปู่มาตีนโค้ง 2.ลำไยกระดูก เป็นลำไยพันธุ์พื้นเมือง มีเนื้อน้อย มีความหวานน้อยกว่าพันธุ์น้อยกว่าพันธุ์กะโหลก ขนาดเมล็ดใหญ่กว่าพันธุ์กะโหลก มีสีน้ำตาลดำ เปลือกผลมีสีน้ำตาลแดงจางๆ 3.ลำไยกะโหลกไม่แท้ หรือลำไยธรรมดา ลักษณะผลมีขนาดกลางระหว่างลำไยกะโหลกและลำไยกระดูก มีเนื้อหนากว่าลำไยกระดูก เนื้อกรอบและแฉะ 4.ลำไยสายน้ำผึ้ง มีลักษณะคล้ายลำไยพันธุ์กะโหลกไม่แท้ เมล็ดเล็ก เนื้อสีเหลืองอ่อน เนื้อกรอบหอม และแบ่งเป็นลำไยพันธุ์พิเศษ 5.ลำไยเถาหรือลำไยเครือ มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Dimocarpus longan* var. *obtusus* มีลำต้นเลื้อยคล้ายเถาวัลย์ นิยมปลูกเป็นไม้ประดับมากกว่าที่จะนำมาเพื่อรับประทานผล ถิ่นกำเนิดอยู่ตามป่าแถบภูเขาบรรทัด อำเภอศรีขรภูมิ จังหวัดสุรินทร์ของประเทศไทย และพบที่เสียมราฐ พนมเปญ ประเทศกัมพูชา โดยชาวบ้านที่อาศัยอยู่ตามภูเขานี้ได้พบและได้เก็บเอาไปรับประทานกันตามบ้าน และทิ้งเมล็ดไว้ตามที่ต่างๆ ซึ่งภายหลังเมล็ดเหล่านี้ได้งอก และเลื้อยไปตามรั้วบ้าน เนื่องจากลำต้นของลำไยชนิดนี้ไม่มีแก่น (pith) มีเยื่อบาง จึงสามารถพันเข้ากับหลักหรือรั้วได้ โดยทั่วไปลำไยชนิดนี้ขึ้นได้ทั่วไปในที่ๆมีความชื้น จะเริ่มให้ผลเมื่ออายุ 3 ปี และให้ผลมากขึ้นตามอายุ ต้นที่สมบูรณ์ดีจะให้ผล 2 ครั้งต่อปี ในปัจจุบันพบลำไยเถาหรือลำไยเครือมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้นำไปดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนมากขึ้นในหลายพื้นที่ เช่น จังหวัดชลบุรี ซึ่งลักษณะผลของลำไยเถา ผลกลม เปลือกมีสีน้ำตาล (รูปที่ 2.1 ก) และลักษณะเมล็ดของลำไยเถา มีขนาดใหญ่ ค่อนข้างกลม มีสีน้ำตาลเข้มออกแดง (รูปที่ 2.1 ข)



รูปที่ 2.1 ลักษณะลำไยเถา (ก) ผลของลำไยเถา (ข) เมล็ดของลำไยเถา

2.1.2 การใช้ประโยชน์ทางเภสัชวิทยา และสารสำคัญในลำไย

รายงานการวิจัยของ เพียงเพ็ญ (2554) ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดเมล็ดลำไยต่อการทำงานของเกล็ดเลือด โดยใช้เมล็ดลำไยสด 3 สายพันธุ์ ได้แก่ เบี้ยวเขียว ชมพู และอีดอ มาทำการอบแห้ง จากนั้นแยกส่วนที่เป็นเปลือกเมล็ดกับเนื้อเมล็ด สกัดด้วยน้ำร้อน พบว่าเมล็ดลำไยอบแห้งพันธุ์อีดอ ให้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด คือ 7.75% ของน้ำหนักผงแห้ง เปรียบเทียบกับพันธุ์ชมพูและเบี้ยวเขียว คือ 5.39% และ 6.30% ตามลำดับ ทำการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณของสารสำคัญในกลุ่ม polyphenolic compounds 3 ชนิด คือ กรดแกลลิก คอริลาจิน และกรดแอลลาจิก ในสารสกัดน้ำจากเมล็ดลำไยอบแห้ง ด้วยเครื่องมือ HPLC (High Performance Liquid Chromatograph) พบว่าในส่วนที่ทำการสกัด ของทั้ง 3 สายพันธุ์พบปริมาณ corilagin สูงที่สุด และพบมากที่สุดจากส่วนของเนื้อในเมล็ด จากผลการวิจัยลำไยพันธุ์อีดอ มีปริมาณสารสารสำคัญในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด คือสารสกัดจากทั้งเมล็ดพบกรดแกลลิก 12.4712±0.3856 มิลลิกรัมต่อกรัม คอริลาจิน 30.4067±0.9872 มิลลิกรัมต่อกรัม กรดแอลลาจิก 4.7284±0.1775 มิลลิกรัมต่อกรัม ส่วนสารสกัดจากเปลือกเมล็ดพบกรดแกลลิก 13.1872±0.6131 มิลลิกรัมต่อกรัม คอริลาจิน 30.9336±1.5529 มิลลิกรัมต่อกรัม กรดแอลลาจิก 5.0508±0.3944 มิลลิกรัมต่อกรัม และในสารสกัดจากเนื้อเมล็ดพบกรดแกลลิก 7.3542±0.2327 มิลลิกรัมต่อกรัม คอริลาจิน 23.8197±0.7838 มิลลิกรัมต่อกรัม กรดแอลลาจิก 2.9244±0.0453 มิลลิกรัมต่อกรัม ซึ่งสารแต่ละชนิดได้มีรายงานฤทธิ์ต้านการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 พอลิแซ็กคาไรด์ และเบต้ากลูแคน

พอลิแซ็กคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีมากที่สุด ประกอบด้วยโมโนแซ็กคาไรด์หลายๆหน่วยต่อเข้าด้วยกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ พอลิแซ็กคาไรด์มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงระหว่างพันถึงหนึ่งล้าน ตามชนิดคาร์โบไฮเดรต พอลิแซ็กคาไรด์ เป็นส่วนประกอบของน้ำหนักแห้งในพืช 60-90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีหน้าที่เป็นสารโครงสร้างและคลังอาหาร ในสัตว์มีพอลิแซ็กคาไรด์ปริมาณน้อยมาก พบน้อยกว่าร้อยละ 1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว แป้งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่พืชเก็บสะสมไว้ในเมล็ด ลำต้น และส่วนต่าง ๆ ของพืช เซลลูโลสเป็นสารโครงสร้างในพืช และไกลโคเจนพบปริมาณน้อยในสัตว์ซึ่งแบ่งประเภทของพอลิแซ็กคาไรด์ได้ตามหน้าที่ และตามหน่วยของโมโนแซ็กคาไรด์ (ประดิษฐ์, 2549) ปัจจุบันมีการศึกษาถึงฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดพอลิแซ็กไรด์กันอย่างกว้างขวางมากขึ้น ในลำไยพบการรายงานของ Apinya และคณะ (2016) ศึกษาฤทธิ์สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของ *Dimocarpus longan* Lour. (ลำไยสายพันธุ์อีดอ) ที่สกัดด้วยน้ำ โดยใช้ส่วน ดอก เมล็ด และเยื่อของส่วนต้น โดยทำการวิเคราะห์หาสารสำคัญด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) พบสารคอริลาจิน กรดแอลลาจิก และกรดแกลลิก ซึ่งพบว่าเมล็ดมีปริมาณกรดแกลลิกสูงที่สุดมากกว่าส่วนดอก เยื่อของส่วนต้น คือ 5.77±0.007 มิลลิกรัมต่อกรัม และปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ที่สูงที่สุด 794.2 มิลลิกรัมต่อกรัม ยังพบว่าเมล็ดมีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกที่น้อยกว่าส่วนดอก คือ 70.22±0.61 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 471.03±6.32 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังทำการประเมินผลการต้านการอักเสบในการผลิตไนตริกออกไซด์ (NO) ของ lipopolysaccharide (LPS) ที่กระตุ้นจากเซลล์ไลน์ RAW 264.7 macrophages โดยทำการตรวจสอบโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตไนตริกออกไซด์ด้วยการทำ Western blot ผลพบว่า สารสกัด พอลิแซ็กคาไรด์จากส่วนดอก มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการยับยั้งไนตริกออกไซด์ ตามด้วยส่วนเมล็ด และเยื่อของส่วนต้น มีค่าความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งไนตริกออกไซด์ ได้ร้อยละ 50 (Inhibitory Concentration IC_{50}) เท่ากับ 128.2, 1127.4 และ 1260.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เบต้ากลูแคน (Beta 1,3-d glucan) เป็นสารชีวโมเลกุล ประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ มีโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสมาต่อเรียงกันเป็นสายยาว อาจมีแขนงหรือไม่ก็ได้ พบได้ในธรรมชาติ ซึ่งส่วนใหญ่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการตอบสนองภูมิคุ้มกันที่ต่างกันออกไป โดย 1,3-linked glucose (1,3-d glucan) chain เป็นเบต้ากลูแคนที่มีการวิจัยมากที่สุด และเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้ดีกว่าเบต้ากลูแคนประเภทอื่น (องอาจ, 2557) วิทยา (2559) ได้กล่าวว่า เบต้ากลูแคน สามารถพบได้ในธรรมชาติแหล่งที่ใช้เป็นอาหารรับประทาน เช่น ยีสต์ขนมปัง ยีสต์เหล้าเบียร์ เห็ด รา แบคทีเรีย สาหร่าย รำข้าวโอ๊ต และรำข้าวบาร์เลย์ เป็นต้น เบต้ากลูแคนแต่ละชนิดจะมีโครงสร้างที่ต่างกัน เบต้ากลูแคนจากแบคทีเรีย และสาหร่าย มักจะเป็นสายยาวที่ต่อกันด้วยพันธะ β-1,3 และไม่มีแขนง เบต้ากลูแคนจากยีสต์ เห็ด และรา มีสายหลักต่อกันด้วยพันธะ β-1,3 และมีสายแยกแขนงออกมาที่ต่อกันด้วยพันธะ β-1,6 เบต้ากลูแคนจากรำข้าวโอ๊ต และบาร์เลย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นสายหลักที่ต่อกันด้วยพันธะ β-1,4 และสายแขนงด้วยพันธะ β-1,3 ความแตกต่างกันในโครงสร้าง ความยาว สายหลัก สายแขนง อัตราส่วนของสายแขนงที่แตกออกมาจากสายหลัก และโครงสร้างแบบสามมิติที่ต่างกัน เช่น โครงสร้างแบบบันไดเวียนสามเกลียว โครงสร้างแบบบันไดเกลียวเวียนเกลียว หรือพันกันแบบไร้ทิศทาง เป็นต้น นอกจากนี้ขนาดโดยรวมคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น ความสามารถในการละลายน้ำ ซึ่งความแตกต่างกันทางด้านโครงสร้างและด้านกายภาพ จะส่งผลถึงอันตรายจากการบริโภคอย่างต่อเนื่องอีกด้วย ดังนั้นจึงต้องมีการระบุถึงแหล่งที่มาของเบต้ากลูแคนเสมอ รายงานการวิจัยของศลักษณา และคณะ (2558) ได้ทำการวิจัยครีมที่มีส่วนผสมจากสารสกัดเบต้ากลูแคนที่มีผลในการรักษาลดริ้วรอยบนใบหน้าและผลข้างเคียงที่เกิดขึ้น โดยทดสอบกับอาสาสมัครเพศหญิงอายุ 35-60 ปี จำนวน 24 ราย ได้รับการทาครีมผสมเบต้ากลูแคนจากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* 3% ที่ครึ่งหนึ่งของใบหน้า และทายาหลอกอีกครึ่งของใบหน้า วันละ 2 เวลา คือตอนเช้า และก่อนนอน เป็นเวลา 14 สัปดาห์ โดยทำการใช้เครื่อง Visia version 6 เพื่อวัดค่าริ้วรอย และค่าการจัดอันดับ Percentile ที่ริ้วรอยบริเวณรอบดวงตา ผลการทดสอบพบว่า ใบหน้าบริเวณที่ทาครีมผสมสารสกัดเบต้ากลูแคน 3% มีริ้วรอยลดลง อีกทั้งผลการจัดอันดับค่า Percentile มีอันดับที่ดีขึ้น และอาสาสมัครยังมีความพึงพอใจครีมที่ผสมสารสกัดเบต้ากลูแคน 3% มากกว่ายาหลอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งสรุปได้ว่าการทาครีมผสมสารสกัดเบต้ากลูแคน 3% นั้นได้ผลในการรักษาริ้วรอย และไม่พบอาการข้างเคียงใด ๆ ซึ่งในลำไยยังไม่มีรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเบต้ากลูแคน

2.3 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.3.1 สารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

นุชนิภา (2558) ได้กล่าวว่า สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารประกอบอินทรีย์กลุ่มใหญ่ที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติกและมีหมู่ไฮดรอกซิลเป็นหมู่แทนที่โครงสร้างหลักของสารประกอบฟีนอลิกคือฟีนอล (phenol) แต่ส่วนใหญ่จัดเป็นพอลิฟีนอลิก (polyphenolic) ส่วนใหญ่พบในพืช พบในสัตว์จำนวนน้อยซึ่งในพืชสร้างขึ้นเพื่อเป็นประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิดสารประกอบฟีนอลิกจากพืชมีความสำคัญในทางเศรษฐกิจทั่วโลกให้ความสนใจ เนื่องจากคุณสมบัติและยังเห็นแนวทางในการนำมารับประทานหรือเป็นอาหารเสริมที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ มีรายงานการศึกษาสารประกอบโพลีฟีนอล สุรินทร์ และคณะ (2558) ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเมล็ดและสารประกอบโพลีฟีนอลของลำไยสายพันธุ์ต่างๆ ซึ่งปลูกอยู่ที่สถานีวิจัยและพัฒนาลำไย หริภุญไชย โดยทำการแยกลำไยออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มที่ 1 ลำไยที่ปลูกในภาคเหนือและภูมิภาคอื่นๆ ในประเทศไทย จำนวน 8 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ดอก้านอ่อน พันธุ์เบี้ยวเขียวเชียงใหม่ พันธุ์แห้ว พันธุ์ชมพู พันธุ์พวงทอง พันธุ์เวียดนาม พันธุ์เพชรยะลา และพันธุ์เถา กลุ่มที่ 2 ลำไยพันธุ์ดอ จำนวน 17 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ดออัณฑะสุนัข พันธุ์ดอดอนไชย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ดอหอม พันธุ์ดอตาเห็น พันธุ์ดอใบดำ พันธุ์ดอคำลาง พันธุ์ดอน้ำผึ้ง พันธุ์ดอยอดขาวน่าน พันธุ์ดอ49 พันธุ์ดอบ้านโฮ่ง พันธุ์ดอกระดูกด่านซ้าย พันธุ์ดอสุขุม พันธุ์ดอแจ้ พันธุ์ดอยอดแดง พันธุ์ดอยอดขาว พันธุ์ดอก้านอ่อน และพันธุ์ดอก้านแข็ง โดยศึกษาจากลักษณะทางกายภาพและการหาปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลด้วยเครื่องมือ High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) ผลการศึกษาพบว่าลักษณะเมล็ดของสายพันธุ์ลำไยเพชรยะลา ลำไยเถา และลำไยเวียดนาม มีขนาดใหญ่กว่าสายพันธุ์ที่ปลูกในภาคเหนือของประเทศไทย ในขณะที่พันธุ์พวงทองมีขนาดเมล็ดเล็กสุดในตัวอย่างทั้งหมดที่ศึกษา และรูปร่างของเมล็ดในบางพันธุ์สามารถใช้จำแนกลักษณะเด่นเฉพาะพันธุ์ได้ ปริมาณสารประกอบโพลีฟี-นอลในเมล็ดที่วิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่ามีกรดแอลลาจิกมากกว่ากรดแกลลิก ในสายพันธุ์เถามีปริมาณกรดทั้งสองชนิดน้อยกว่าทุกสายพันธุ์ ที่ทำการศึกษา ส่วนการเปรียบเทียบเฉพาะกลุ่มสายพันธุ์ดอ สายพันธุ์ดออัณฑะสุนัขมีขนาดเมล็ดใหญ่ แต่มีสารโพลี-ฟีนอลน้อย โดยสายพันธุ์ดอก้านแข็งมีปริมาณกรดแอลลาจิก และกรดแกลลิกปริมาณสูง มีค่าเท่ากับ 2.22±0.14 และ 1.21±0.14 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

นันทีทิพ (2559) ได้กล่าวว่า ในร่างกายคนเราปกติมีการสร้างอนุมูลอิสระ (free radicle) อยู่ตลอดเวลาด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ทำให้มีการสูญเสียอิเล็กตรอนเกิดขึ้นโดยเฉพาะในกระบวนการหายใจระดับเซลล์มีการใช้ออกซิเจน (oxygen) จะทำให้มีการสร้างอนุมูลอิสระขึ้นอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นนี้ เป็นโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนไม่ครบคู่ขาดความเสถียร แต่มีความไวในการทำปฏิกิริยา (reactive) จึงสามารถเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆได้ง่ายซึ่งจะเรียกอนุมูลอิสระที่เป็นโมเลกุลของออกซิเจนว่ารีแอ็กทีฟ-ออกซิเจนสปีชีส์ (reactive oxygen species, ROS) ซึ่งมีหลากหลายชนิด ปฏิกิริยาออกซิเดชันถึงแม้จะจะมีความสำคัญในการทำงานของเซลล์ แต่หากมีปริมาณที่มากเกินไปอนุอิสระที่เกิดก็สามารถที่จะส่งผลเสีย และเกิดอันตรายต่อเซลล์ได้ในร่างกายจึงมีเอนไซม์หรือสารที่มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันหรือสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ที่ช่วยทำหน้าที่รักษาสมดุลของสภาวะออกซิเจนของเซลล์ซึ่งสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) หรือวิตามินซี โทโคฟีรอล (tocopherol) หรือวิตามินอี กลูต้าไธโอน (Glutathione, GSH) ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase, SOD) และเพอร์ออกซิเดส (peroxidase) ชนิดต่างๆ เป็นต้น หากร่างกายขาดสมดุลระหว่างการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้อาจส่งผลให้ร่างกายเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่อระบบต่างๆในร่างกายทั้งระบบหลอดเลือดประสาท และหัวใจ ในปัจจุบันจึงมีการใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีสารออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระกันอย่างแพร่หลายเพื่อป้องกันการเกิดภาวะเครียดออกซันในร่างกาย ซึ่งช่วยเป็นแนวทางในการชะลอหรือป้องกันการเกิดโรคต่างๆได้ มีวิธีที่ใช้ทดสอบการวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีต่างๆมากมาย ได้แก่ การต้านอนุมูลอิสระ DPPH การต้านอนุมูลอิสระ ABTS การวัดความสามารถในการรีดิวซ์สรประกอบเชิงซ้อนเฟอร์ริก เป็นต้น เช่น ตัวอย่างการทดสอบการต้านอนุมูลด้วยอิสระ ด้วยวิธี ABTS ซึ่ง Re และคณะ (1999) ได้กล่าวว่าวิธี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ในรูปแบบอื่นๆ ก่อนได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารนี้ก่อนทุกครั้ง

ABTS เป็นวัดทางอ้อมโดยใช้สาร 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) หรือ ABTS มีสูตรโมเลกุล $C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$ มาทำให้เป็นอนุมูลอิสระ โดยการออกซิไดซ์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตให้กลายเป็น $ABTS^+$ ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีสีฟ้าเขียว สามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 660, 734 และ 820 นาโนเมตร แต่นิยมวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร โดยปรับค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น $ABTS^+$ ให้เป็น 0.700 ±0.02 เมื่อเติมสารทดสอบที่มีกิจกรรมต้านออกซิเดชัน จะทำให้ $ABTS^+$ ลดลง ซึ่งทำให้สีจางลงและสามารถนำไปคำนวณเป็น % inhibition ได้ตามสมการ

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{734} \text{ Control} - A_{734} \text{ Sample}) / A_{734} \text{ Control}] \times 100$$

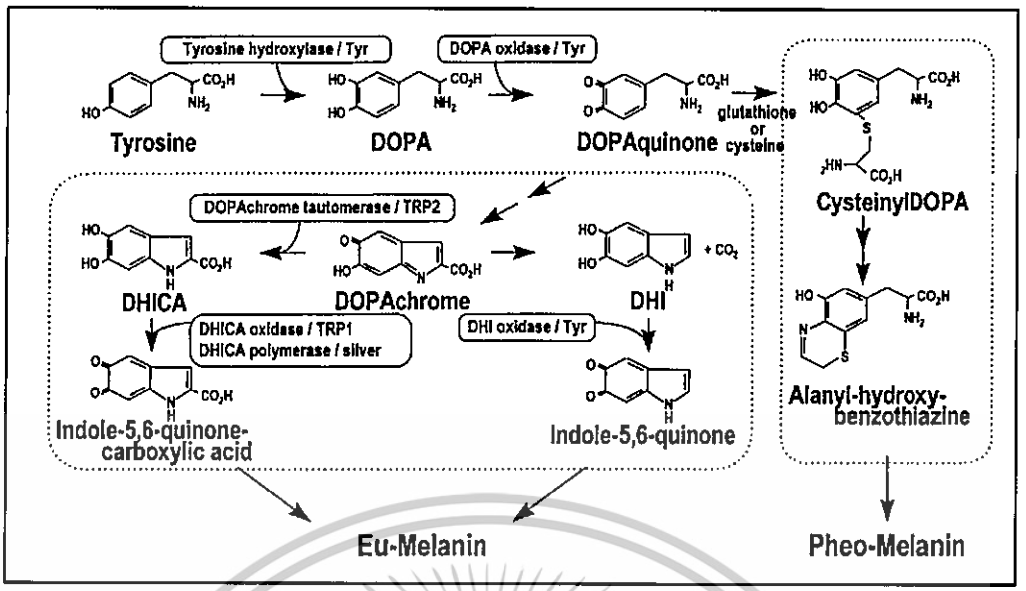
ผลการวิเคราะห์จะคำนวณเป็นค่าที่สัมพันธ์กับสารต้านออกซิเดชันมาตรฐาน Trolox จึงมีชื่อว่า Trolox Equivalent Antioxdant Capacity (TEAC)

ข้อดีของวิธีนี้ คือ ทำได้ง่าย อนุมูล $ABTS^{+\bullet}$ จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับ สารต้านออกซิเดชันอนุมูล $ABTS^{+\bullet}$ ละลายได้ทั้งในน้ำและสารอินทรีย์ จึงทำให้ศึกษาได้ทั้งในสารละลายในน้ำหรือละลายในไขมัน ส่วนข้อเสียของวิธีนี้ คือ ABTS ไม่เป็นสารตามธรรมชาติที่ก่อให้เกิดอนุมูลในเซลล์หรือในร่างกาย ซึ่งในเมล็ดลำไยยังไม่มีใครศึกษาด้วยวิธีนี้กว้างขวางมากนัก แต่มีรายงานการวิจัยของสายสุนีย์ (2554) ทำการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของน้ำลำไยที่สกัดเข้มข้นของลำไย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ชมพู 2 ตัวอย่าง พันธุ์เบี้ยวเขียว และพันธุ์กะโหลก 2 ตัวอย่าง เทียบกับสารละลายมาตรฐานวิตามินซี พบว่าน้ำลำไยพันธุ์เบี้ยวเขียว มีร้อยละในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS สูงที่สุด คือ 33.12 และ30.65 ตามด้วย ลำไยพันธุ์กะโหลก 32.62 สายพันธุ์ชมพู 24.67 และ21.72 ตามลำดับ

2.3.2 เอนไซม์ไทโรซิเนส และกระบวนการเกิดเม็ดสีเมลานิน

สุพัตรา (2555) ได้กล่าวว่า เอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) เป็นเอนไซม์โมโนออกซิจิเนสมีทองแดงเป็นองค์ประกอบในโมเลกุล (copper monooxygenase enzyme) เป็นเอนไซม์ที่สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ โดยในมนุษย์จะพบเอนไซม์ไทโรซิเนสในเมลาโนโซม (melanosome) ถูกสร้างขึ้นโดยเซลล์เมลาโนไซต์ (melanocyte) ที่ชั้นล่างสุดของผิวหนังกำพร้า เอนไซม์ไทโรซิเนสมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการสร้างเม็ดสีเมลานินของผิวหนัง มีหน้าที่เร่งปฏิกริยาไฮดรอกซิเลชั่น (hydroxylation) ในการเปลี่ยนกรดอะมิโนชนิดไทโรซีน (tyrosine) ไปเป็นสาร DOPA จากนั้นโดปาควิโนน (DOPAquinone) จะถูกเปลี่ยนผ่านสารตัวกลางอีกหลายตัวจนเกิดเป็นพอลิเมอไรเซชั่น (polymerization) ไปเป็นเม็ดสีเมลานิน ซึ่งแสดงดังรูปที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 ขบวนการชีวสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินจากกรดอะมิโนไทโรซีน

ที่มา : https://patentimages.storage.googleapis.com/US6579848B1/US06579848-20030617-D00000.png

เมลานินบนผิวหนังที่ถูกสร้างขึ้นมี 2 ชนิดคือกลุ่มยูเมลานิน (eumelanin) เป็นชนิดสีน้ำตาลหรือสีดำ และกลุ่มฟีโอเมลานิน (phaeomelanin) เป็นชนิดสีเหลืองหรือสีส้ม โดยยูเมลานินและฟีโอเมลานินจะมีความแตกต่างกันไปตามแต่ละบุคคลขึ้นอยู่กับกรรมพันธุ์สายพันธุ์และเชื้อชาติ ซึ่งในปัจจุบัน มีการนำความรู้ในกระบวนการสร้างและเกิดเม็ดสีเมลานินมาพัฒนาทางด้านเวชสำอางและประยุกต์ในเครื่องสำอางที่มีผลทำให้ผิวขาวลดรอยจุดด่างดำลบเลือนฝ้ากระ มักจะมีส่วนของสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน มีรายงานเกี่ยวกับการวิจัยของปฏิมา และคณะ (2556) ทำการศึกษาสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ครีมที่มีส่วนผสมจากสารสกัดตรีผลาคือ มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* L.) สมอไทย (*Terminalia chebula* Retz.) และสมอพิเภก (*Terminalia bellirica* Roxb.) มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยพบว่าสารสกัดทั้ง 3 ชนิด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้น้อยกว่ากรดแอสคอร์บิก ซึ่งเป็นสารเปรียบเทียบโดยมีปริมาณของสารที่ทำให้อนุมูลอิสระลดลงครึ่งหนึ่ง (Effective Dose) หรือ ED_{50} คือกรดแอสคอร์บิก ED_{50} = 1.78 µg/ml มะขามป้อม ED_{50} = 2.28 µg/ml สมอพิเภก ED_{50} = 5.06 µg/ml สมอไทย ED_{50} = 5.88 µg/ml และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้น้อยกว่าสารมาตรฐานกรดโคจิก โดยกรดโคจิก มีค่าคือ ED_{50} = 0.04 µg/ml สมอพิเภก ED_{50} = 1.18 µg/ml สมอไทย ED_{50} = 1.50 µg/ml และมะขามป้อม ED_{50} = 1.75 µg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยเทคนิค MTT

การทดสอบความเป็นของสารที่มีต่อร่างกายของสัตว์และคน *(in vivo)* จะมีความซับซ้อนมากกว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ซึ่งเป็นการทดสอบภายนอกร่างกายคน และสัตว์ *(in vitro)* โดยจะทำการทดสอบสารที่ต้องการประเมินผลในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ก่อนที่จะนำมาทดสอบในร่างกายของคนและสัตว์ในขั้นตอนต่อไป เช่น ยา อาหารเสริม เครื่องสำอาง สารเคมี สารกำจัดศัตรูพืช สารเคมีที่ใช้โรงงานอุตสาหกรรม และมักนิยมใช้กับสารเคมีที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง (cancer chemotherapy) สารก่อมะเร็ง (carcinogenicity) สารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenicity) ฯลฯ (อุ่นเรือน และคณะ, 2555) มีรายการวิจัยของ Wang และคณะ (2014) ได้ทำการศึกษากิจกรรมการต้านเนื้องอกของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำจากเมล็ดลำไยต้น ซึ่งวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 57 กิโลดาลตัน (kD) ใช้เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีวิเคราะห์องค์ประกอบชนิดของน้ำตาล พบว่าประกอบด้วย น้ำตาลแรมโนส แมนโนส อะราบิโนส กลูโคส และกาแล็กโตส ที่มีอัตราส่วนเป็น 2.4 : 1.5 : 2.3 : 5.6 : 6.5 ซึ่งผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี Methyltetrazolium (MTT) แสดงให้เห็นผลปริมาณในการยับยั้งการแพร่กระจายมะเร็งปอด A549 ของมนุษย์ ซึ่งสอดคล้องกับเอนไซม์ที่บ่งบอกว่าเนื้อเยื่อได้รับบาดเจ็บ (lactate dehydrogenase) ที่ปล่อยจากเซลล์ A549 และได้ตรวจสอบกลไกการยับยั้ง และมีผลการต้านเนื้องอกในร่างกาย ผลแสดงให้เห็นว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยน้ำของเมล็ดลำไย มีความสามารถในการหยุดระยะ G1 ในวัฏจักรเซลล์ กระตุ้นเอนไซม์ caspases-3, caspases-9 และ poly[ADP (ribose)] polymerase (PARP) การศึกษากับเซลล์ A549 ผลการศึกษาในสัตว์ทดลอง แสดงให้เห็นว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำจากเมล็ดลำไย สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอก xenograft A549 และเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์ ซึ่งผลในการทดลองนี้อาจจะมีประโยชน์ในการป้องกันกระบวนการเกิดเนื้องอกในปอด

2.3.4 การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และการทำให้ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์หรือการกำจัดจุลินทรีย์มีด้วยกันหลายวิธี มีวิธีที่ได้รับความนิยมในการทดสอบคือ การทดสอบความไวของจุลินทรีย์ต่อยาต้านจุลชีพ เช่น แบคทีเรียชนิดเดียวกัน แต่ต่างสายพันธุ์ อาจมีความไวต่อยาต้านจุลชีพที่ต่างกัน หรือสายพันธุ์ที่เคยไวต่อยา แต่เกิดการดื้อยาในเวลาต่อมา การทดสอบความไวของแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพ จึงเป็นแนวทางในการให้ยารักษาผู้ป่วย เพื่อศึกษาคุณสมบัติของเชื้อที่อาจมียีนที่ดื้อย่าที่ใช้รักษา ซึ่งวิธีการทดสอบความไวหรือการดื้อยาต้านจุลชีพของแบคทีเรียได้ถูกกำหนดเป็นมาตรฐานไว้โดย National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), Subcommittee on antimicrobial susceptibility testing สิ่งที่ใช้กำหนดเป็นมาตรฐาน เพื่อควบคุมคุณภาพของการทดสอบสามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้คือ ปริมาณของแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ สายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ อาหารเลี้ยงเชื้อ ขนาดความเข้มข้นของยาที่ใช้ทดสอบ ซึ่งวิธีการที่ใช้ทดสอบความไวของแบคทีเรียต่อยาต้านจุลชีพสามารถทำได้หลายวิธีด้วยกัน (กนกรัตน์, 2548) มีรายงานการวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของ Nuchanart และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ลำไยต้น *Dimocarpus longan* Lour. ซึ่งมีสารประกอบพอลิฟีนอลที่แสดงคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง ทำการศึกษาประเมินฤทธิ์การต้านเชื้อราของสารสกัดจากลำไยในการเปรียบเทียบกับสารที่ใช้งาน ผลการศึกษาพบว่าเมล็ดลำไยมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรากับยีสต์ก่อโรค (สายพันธุ์ *Candida* และ *Cryptococcus neoformans*) ในทางตรงกันข้ามเนื้อลำไย และผลทั้งหมดไม่ได้แสดงให้เห็นถึงผลในการยับยั้งใดๆ กรดแอลลาจิกในเมล็ดลำไยมีฤทธิ์ต้านเชื้อรามากที่สุด ตามด้วย คอริลาจิน และกรดแกลลิก ตามลำดับ กรดแอลลาจิกมีฤทธิ์ในการต้าน *Candida parapsilosis* และ *Cryptococcus neoformans* มีประสิทธิภาพมากกว่า *Candida krusei* และ *Candida albicans* ในบางสายพันธุ์ ซึ่งลำไยสายพันธุ์ใบดำ มีฤทธิ์ต้านเชื้อราที่สูง ค่าความเข้มข้นของยาในระดับต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration, MIC) คือ 500-4,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เนื่องจากมีปริมาณกรดเอลลาจิกและกรดแกลลิกที่สูงกว่า ลำไยพันธุ์อีดอ MIC = 1,000-8,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรีย คอริลาจินและกรดแกลลิมีฤทธิ์อ่อนถึงปานกลาง มีผลยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus mutans* ตามลำดับ สารสกัดเมล็ดลำไยใช้ในผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปาก ในน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารสกัด 0.5% มีฤทธิ์ต้านเชื้อราและแบคทีเรียที่ดีเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์ ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากเมล็ดลำไย มีสารประกอบฟีนอลิกสามารถใช้เป็นสารป้องกันเชื้อราและแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์ดูแลช่องปากสำหรับการรักษาของโรคติดเชื้อจากจุลินทรีย์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างพืชจากแหล่งที่มาโดยเป็นลำไย โดยแบ่งเป็นสองกลุ่ม กลุ่มแรก สายพันธุ์ลำไยเถา ที่เก็บจากต้นลำไยของชาวบ้านในพื้นที่จังหวัดชลบุรี ทั้งหมด 3 ตัวอย่าง และกลุ่มที่สอง สายพันธุ์ ลำไยอีดอ โดยซื้อจากตลาดในเขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร จำนวน 1 ตัวอย่าง และนำเมล็ดมาใช้ ในการทดลอง

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1 อุปกรณ์

- Alcohol burner
- Autoclave
- Autopipette
- Beaker
- Blender
- Cell curture flask
- Centrifuge
- Cotton swab sterilize
- Cuvette
- Duran
- Hemacytometer
- Hot air oven
- Incubator 37°C control CO_2 5%
- Inverted microscope
- Loop
- Micropipette
- Microplate 96 well
- Microplate reader
- Microscope
- Microtube
- Parafilm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- pH meter
- Plate
- Refrigerator
- Spatula
- Spectrophotometer
- Spin down
- Tip
- Tube
- Vernier caliper digital
- Vortex
- Waterbath
- Wieght digital scale

3.2.2 สารเคมี

- 2,2′-azino-bis[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid] (ABTS)
- 2,4,6-tris[2-pyridyl]-s-triazine
- 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)
- 3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine
- 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox)
- Acetate buffer
- Ascorbic acid
- Clorox
- Distilled water
- Ethanol
- Ferric chloride • $6H_2O$
- Fetal bovine serum
- Folin-ciocalteu's reagent 10%
- Gallic acid
- Gentamicin
- Glucose : $C_6H_{12}O_6$
- Hydrochloric acid
- Ketoconazole
- Kit Mixed-linkage beta glucan
- L-Dopa

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Methanol
- Mueller Hintone Agar (MHA)
- Nutrient Agar (NA)
- Phenol
- Phosphate buffer
- Phosphate buffer saline (PBS)
- Potassium persulfate : $K_2S_2O_8$
- Potato Dextose Agar (PDA)
- Roswell Park Memorial Institue (RPMI-1640)
- Sodium acetate buffer
- Sodium carbonate : Na_2CO_3
- Sodium hydroxide : NaOH
- Sodium phosphate buffer
- Sulfuric acid : H_2SO_4
- Tyrosinase
- Trypan blue
- Trypsin

3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษา ได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ.ดร.จิตติ ท่าไว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ได้แก่

3.3.1 แบคทีเรียแกรมลบ

Escherichia coli ATCC 9341

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

Salmonella typhimurium DMST 0562

3.3.2 แบคทีเรียแกรมบวก

Bacillus cereus DMST 5040

Bacillus subtilis ATCC 6633

Micrococcus luteus ATCC 9341

Staphylococcus aureus TISTR 1466

Staphylococcus epidermidis ATCC 12228

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3 ยีสต์

Candida albicans DMST 5815

3.4 เซลล์ไลน์

เซลล์ไลน์ที่ใช้ในการศึกษามีทั้งหมด 3 เซลล์ ดังนี้

HeLa; human cervical carcinoma cell line (เซลล์มะเร็งปากมดลูก) และ MCF-7; human breast carcinoma cell line (เซลล์มะเร็งเต้านม) ได้รับความอนุเคราะห์มาจาก ดร.พรทิชา พิชา งานวิจัยสารบำบัดมะเร็ง สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

HaCat; human immortalized keratinocyte cell line (เซลล์ผิวหนังมนุษย์) ได้รับความอนุเคราะห์มาจาก ผศ.ดร.นพ.อมรพันธ์ เสรีมาศพันธุ์ ห้องปฏิบัติการนาโนชีวเวชศาสตร์ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.5 เตรียมกากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ

นำเมล็ดลำไย สายพันธุ์ลำไยเถาทั้ง 3 แหล่งที่มา และเมล็ดลำไย สายพันธุ์อีดอ เพื่อแยกส่วนที่เป็นเนื้อหุ้มเมล็ดออกจากเมล็ด ล้างเมล็ดให้สะอาด ผึ่งให้เมล็ดแห้ง ทุบให้เมล็ดแตกพอหยาบๆ ชั่งน้ำหนักก่อนอบ อบในตู้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เวลา 6-7 วัน โดยชั่งน้ำหนักแห้งที่คงที่ นำเมล็ดแห้งที่ได้ปั่นด้วยเครื่องปั่น จากนั้นเก็บไว้ในถุงปิดปากให้มิดชิด

3.6 การสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์

3.6.1 สกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์จากตัวทำละลายน้ำ

สกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์ ดัดแปลงตามวิธีของนภัสสร และคณะ (2553) ชั่งกากเมล็ดลำไย สายพันธุ์ลำไยเถา 10 กรัม และเช่นเดียวกับกากเมล็ดลำไยสายพันธุ์ลำไยอีดอ 10 กรัม จากนั้นเติมตัวทำละลายน้ำกลั่นปราศจากเชื้อลงในขวดตัวอย่าง อัตราส่วนกากต่อปริมาตรตัวทำละลายเป็น 1 ต่อ 20 (กรัม ต่อ มิลลิลิตร) ต้มในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส 4 ชั่วโมง จากนั้นกรองตะกอนออกด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนใสปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 รอบต่อนาที 10 นาที นำส่วนใสใส่ขวด เติมตัวทำละลายเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ที่เย็นจัดเพื่อทำการตกตะกอนสารพอลิแซ็กคาไรด์ ปริมาตรเอทานอลเติมปริมาตรเป็น 2 เท่าของส่วนใส เก็บขวดไว้ในที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ข้ามคืน เมื่อครบเวลานำไปปั่นเหวี่ยงตะกอนที่ความเร็วรอบ 8000 รอบต่อนาที เทส่วนใสทิ้ง ล้างตะกอนด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 รอบต่อนาที เก็บตะกอนในเพลท และทำให้สารสกัดแห้งด้วยเครื่องการทำแห้งแบบเหยือกแข็งด้วยสุญญากาศ (Freeze dry) จากนั้นชั่งน้ำหนักที่ได้ เก็บในตู้เย็น 4-6 องศาเซลเซียส โดยให้รหัสตัวอย่างสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยน้ำเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DLH01 สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถา ตัวอย่างที่ 1

DLH02 สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถา ตัวอย่างที่ 2

DLH03 สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถา ตัวอย่างที่ 3

DLH04 สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยอีดอ

3.6.2 สกัดสารพอลิแซ็กคาไรค์จากโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์

ดำเนินการตามวิธี ข้อ 3.6.1 โดยเปลี่ยนตัวทำละลายน้ำเป็นโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ โดยให้รหัสตัวอย่างสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็น DLN01 สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถา ตัวอย่างที่ 1

DLN02 สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถา ตัวอย่างที่ 2

DLN03 สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถา ตัวอย่างที่ 3

DLN04 สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยอีดอ

3.7 ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์

3.7.1 การวิเคราะห์หาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดในสารสกัด (Determination of Total Polysaccharide in Crude polysaccharide) ดัดแปลงตามวิธีของ Chia และคณะ (2009) เตรียมสารสกัดให้มีความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสารสกัด 0.2 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติมสารละลายฟีนอล 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร และ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ตามลำดับ เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร โดยทำการเปรียบเทียบกับสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40, 50, 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และรายงานผลในรูปของมิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัมสารสกัด (mg glucose/g extract)

3.7.2 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ในสารสกัดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu วิเคราะห์ตามวิธีของ Aline และคณะ (2005) เตรียมสารสกัดให้มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารสกัด 10 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 1 มิลลิลิตร หยดสารละลายปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลท (96-well plate) จากนั้นใส่สารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เขย่าเล็กน้อย บ่มในที่มืด 6 นาที จากนั้นทำการเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าเล็กน้อย บ่มในที่มืด 30 นาที เมื่อครบเวลานำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบ โดยเปรียบเทียบกับสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานสารละลายกรดแกลลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(gallic acid) ที่ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รายงานผลในรูปของมิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg gallic acid equivalents (GAE)/g extract) และเปรียบเทียบผลที่ได้จากตัวอย่างสารสกัดทั้งหมด

3.7.3 ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS radical scavenging activity

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) ด้วยวิธี ABTS radical scavenging activity ดัดแปลงตามวิธีของ Roberta และคณะ (1999) เตรียมสารละลาย ABTS ให้มีความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ โดยทำการกระตุ้นสารละลาย ABTS ด้วยโปแตสเซียมเปอร์ซัลเฟต จนได้เป็น $ABTS^{+}$ ที่มีลักษณะเป็นสารละลายสีฟ้าเขียว วัดค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.7±0.02 เตรียมสารละลายให้มีความเข้มข้น 250, 500, 750, 1000, 1500 และ 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายสารสกัดที่ได้ปริมาตร 10 ไมโครลิตร จากนั้นหยดสารละลาย $ABTS^{+}$ ปริมาตร 190 ไมโครลิตร ลงไปในหลุมตามลำดับ และบ่มในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที เมื่อครบเวลานำไมโครเพลทมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 743 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ที่ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นตัวควบคุมเชิงลบ คำนวณหาร้อยละของการยับยั้งของปฏิกิริยาการดักจับอนุมูลอิสระ

การคำนวณร้อยละการยับยั้งของปฏิกิริยาการดักจับอนุมูลอิสระ (Free Radical Scavenging) คำนวณได้ดังสมการต่อไปนี้

$$\% \text{ inhibition} = [(OD_{734} \text{ control} - OD_{734} \text{ sample}) / OD_{734} \text{ control}] \times 100$$

จากนั้นหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งปฏิกิริยาได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (Inhibition Concentration : IC_{50}) จากกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นของสารสกัดโดยใช้โปรแกรม GraphPad Prism 7.0 ทำการเปรียบเทียบผลที่ได้จากตัวอย่างสารสกัดทั้งหมดและแสดงผลความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดเทียบสารมาตรฐาน Trolox แสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมโทรล็อกซ์ต่อกรัมสารสกัด (mg TE/g extract)

3.7.4 ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) ด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ดัดแปลงตามวิธีของ Shaida และคณะ (2011) เตรียมสารละลายให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการเจือจางให้สารละลายสารสกัดด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้มีความเข้มข้น 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารละลาย FRAP ที่ประกอบด้วยสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ 300 มิลลิโมลาร์ pH 3.6 10 มิลลิลิตร สารละลาย TPTZ 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 10:1:1) จะได้สารละลายสีน้ำตาลใส จากนั้นหยดสารสกัดลงในไมโครเพลท (96-well plate) 100 ไมโครลิตร เติมสารละลาย FRAP 100 ไมโครลิตร บ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลานำมาว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร และใช้สารละลายวิตามินซีเป็นสารละลายมาตรฐานตัวควบคุมเชิงบวกที่ความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รายงานผลในรูปของ mg ascorbic acid equivalents (AAE)/g extract เปรียบเทียบผลที่ได้จากตัวอย่างสารสกัดทั้งหมด

3.7.5 ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วยวิธี Dopachrome

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase inhibitory activities) ด้วยวิธี Dopachrome ดัดแปลงตามวิธีของบุญชู และคณะ (2541) เตรียมสารละลายให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการเจือจางให้สารละลายสารสกัดด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้มีความเข้มข้น นำสารละลายสารสกัดที่ได้ทดสอบดังตารางที่ 3.1 โดยหยดสารละลายต่างๆลงในหลุมไมโครเพลท (96-well plate)

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนของสารต่างๆที่ใช้ในการทดสอบเอนไซม์ไทโรซิเนส

ชุดทดสอบ	0.05 โมลาร์ Phosphate buffer pH 6.8 (µL)	สารสกัด (µL)	เอนไซม์ไทโรซิเนส (µL)	2.5 มิลลิโมลาร์ L-Dopa (µL)
A (Control)	140	-	20	40
B (Blank control)	160	-	-	40
C (Teat sample)	80	60	20	40
D (Blank sample)	100	60	-	40

ผสมตัวอย่างลงในหลุมทดสอบจากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 30 นาทีเมื่อครบเวลาวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ 492 นาโนเมตร ทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

$$\% \text{ Tyrosinase inhibition} = [(A-B) - (C-D)]/(A-B) \times 100$$

โดย A, B, C และ D คือผลต่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร

จากนั้นหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งปฏิกิริยาได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) จากกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสกับความเข้มข้นของสารสกัดโดยใช้โปรแกรม GraphPad Prism 7.0 และใช้กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) เป็นสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น ทำการเปรียบเทียบผลที่ได้จากตัวอย่างสารสกัดทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7.6 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยวิธี MTT Test

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์(Cytotoxicity Test) ด้วยวิธี 3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) ดัดแปลงตามวิธีของ Yamin และคณะ (2012)

3.7.6.1 การปลูกเซลล์ลงไมโครเพลท (96-well plate)

เลี้ยงเซลล์ไลน์ที่เป็นเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็งในอาหาร RPMI 1640 ที่มี FBS และ ยาปฏิชีวนะ ในตู้บ่ม 37 องศาเซลเซียส ที่มี CO_2 5 เปอร์เซ็นต์ และทำการนับจำนวนเซลล์โดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ ย้อมสีด้วยทริปแพนบลู จากนั้นเจือจางความเข้มข้นเซลล์ตามที่ต้องการหยอดเซลล์ลงในหลุมไมโครเพลท หลุมละ 100 ไมโครลิตร นำไมโครเพลทหลังจากหยอดเซลล์ไปบ่มในตู้บ่ม 37 องศาเซลเซียส ที่มี CO_2 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.7.6.2 การทดสอบสารสกัด

เตรียมสารสกัดให้มีความเข้มข้น 4000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเจือจางสารสกัดด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ (ความเข้มข้นสารสกัดในหลุมเท่ากับ 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) จากนั้นเติมสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงหลุมทดสอบในไมโครเพลทที่บ่มเซลล์ไว้ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ นำไมโครเพลทหลังจากหยอดเซลล์ไปบ่มในตู้บ่ม 37 องศาเซลเซียส ที่มี CO_2 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การใส่สารที่ทดสอบจะแสดงดังรูปที่ 3.1

3.7.6.3 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ วิเคราะห์ตามวิธีของ Yamin และคณะ (2012) นำไมโครเพลทที่บ่มเซลล์ไลน์กับสารสกัดมาเติมสารละลาย MTT ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีสีเหลือง หลุมละ 50 ไมโครลิตรนำไปบ่มในตู้บ่ม 37 องศาเซลเซียส ที่มี CO_2 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา ดูดสารละลาย MTT ออก ทำการละลายผลึกฟอร์มาซาน (Formazan) ด้วยสารละลาย DMSO 100 เปอร์เซ็นต์ กับเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ในอัตราส่วน 1:1 หลุมละ 100 ไมโครลิตร จะได้สารละลายสีม่วง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (Microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณ ร้อยละเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่แสดงความเป็นพิษของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น จากสมการ

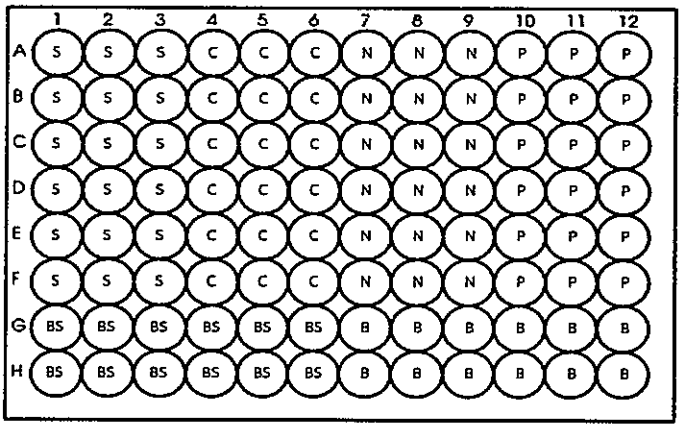
$$\% \text{ Cytotoxicity} = (A-B)/B \times 100$$

โดย A = ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม (โดยหักลบกับค่าการดูดกลืนแสงของ Blank แล้ว)

B = ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่มีเซลล์ในสารสกัดแต่ละความเข้มข้น (โดยหักลบกับค่าการดูดกลืนแสงของ Blank แล้ว)

และคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 (IC_{50}) โดยใช้โปรแกรม GraphPad Prism 7.0 ทำการเปรียบเทียบผลที่ได้จากตัวอย่างสารสกัดทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.1 แผนผังการทดลองการใส่สารสกัดต่อเซลล์ไลน์ ใน 96-well plate

โดย B : Blank (อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ RPMI 1640 ที่มี FBS 5 เปอร์เซ็นต์)

C: Control (เซลล์ไลน์และอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ RPMI 1640 ที่มี FBS 5%)

N: Negative Control (เซลล์ไลน์และอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ RPMI 1640 ที่มี FBS 5% ที่เติม PBS อัตราส่วน 1:1)

S: Sample (เซลล์ไลน์ ที่เติมสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ)

BS: Blank Sample (สารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ)

P: Positive Control (เซลล์ไลน์ที่เติมยา Mitomycin C ซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญของเซลล์)

3.7.7 การทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ ด้วยเทคนิค Agar Well Diffusion

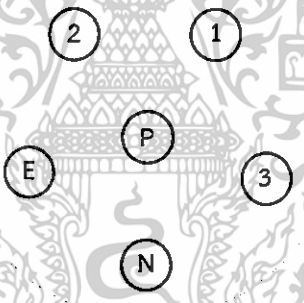
3.7.7.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

การทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค Agar Well Diffusion ดัดแปลงตามวิธีของ Rauha และคณะ (2000) เตรียมอาหารแข็ง (Nutrient agar) ที่ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ เทอาหารอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อภายใต้สภาวะปลอดเชื้อจากนั้นแยกเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 8 สายพันธุ์ให้บริสุทธิ์ให้เป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ ด้วยเทคนิค streak plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำโคโลนีเดี่ยวที่แยกได้มาทำการเจือจางด้วยน้ำเกลือ 0.85 เปอร์เซ็นต์ วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร ให้ได้อยู่ในช่วง 0.08 ถึง 0.13 จากนั้นนำไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุ่มลงในตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำการเจือจางแล้วนำมา swab ลงบนอาหารแข็ง Mueller Hintone Agar (MHA) โดยทำการ swab ให้ทั่วบนผิววุ้นคว่ำจานเพาะเชื้อให้แห้งประมาณ3 ถึง 5 นาที เพื่อให้ส่วนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7.7.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ ด้วยวิธีการแพร่บนวุ้น (Agar Well Diffusion)

นำทิปที่ผ่านการฆ่าเชื้อเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 5 มิลลิเมตร มาทำการเจาะหลุมบนอาหารแข็ง MHA ทำการ swab จุลินทรีย์และแห้งแล้วจำนวน 6 หลุมต่อ 1 จานเพาะเชื้อให้มีระยะห่างกันดังแสดงในรูปที่ 3.2 หยดสารสกัดความเข้มข้น 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรปริมาตร 20 ไมโครลิตรลงในหลุมที่เจาะ จะได้ความเข้มข้นเป็น 5000 ไมโครกรัมต่อหลุม โดยใช้ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน (Gentamicin) ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร เป็นตัวควบคุมเชิงบวก สำหรับแบคทีเรีย และใช้ยาคีโตโคนาโซล (Ketoconazole) ความเข้มข้น 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร เป็นตัวควบคุมเชิงบวก สำหรับยีสต์ ใช้น้ำปราศจากเชื้อเป็นตัวควบคุมเชิงลบบ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการบันทึกผลโดยทำการวัดบริเวณที่เกิดการยับยั้ง (inhibition zone) ด้วยเครื่องเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ดิจิตอล ในหน่วยมิลลิเมตร (mm) โดยทำการเทียบกับบริเวณที่เกิดการยั้บยั้งของตัวควบคุมเชิงบวก



รูปที่ 3.2 แสดงหลุมที่เจาะบนอาหารแข็ง MHA

หมายเหตุ: หมายเลข 1 คือสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ลำไยเถาตัวอย่างที่ 1
หมายเลข 2 คือสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ลำไยเถาตัวอย่างที่ 2
หมายเลข 3 คือสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ลำไยเถาตัวอย่างที่ 3
สัญลักษณ์ E คือสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ลำไยอีดอ
สัญลักษณ์ P คือยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน (Gentamicin)
สัญลักษณ์ N คือน้ำปราศจากเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7.8 การวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคน ด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูป Mixed-linkage Beta-glucan

การวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคน ด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูป Mixed-linkage Beta-glucan ซึ่งจะทำการทดสอบตามวิธีการ McCleary method ของชุดทดสอบสำเร็จรูป ทำการชั่งสารสกัด น้ำหนักประมาณ 80 ถึง120 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดทดลอง เติมเอทานอลร้อยละ 50 ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร และโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 20 มิลลิโมลาร์ pH 6.5 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 100 องศาเซลเซียส ทันที จากนั้นเขย่าให้เข้ากันบ่มต่ออีก 2 นาที เมื่อครบเวลา นำมาบ่มต่อที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที เติม Lichenase 10 U ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งต้องปิดฝาหลอดหรือปิดด้วยพาราฟิล์ม โดยทำการเขย่า 3 ถึง 4 ครั้งในช่วงของการบ่ม เมื่อครบเวลาทำการเติมโซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ 200 มิลลิโมลาร์ pH 4.0 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1000 g 10 นาที ดูดส่วนใสใส่หลอดทดลองปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จำนวน 3 หลอด ทำการเติม beta-glucosidase 0.2 U (ละลายในโซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ 50 มิลลิโมลาร์ pH 4.0) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ50 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที เติมสารละลาย GOPOD Reagent Enzymes ปริมาตร 3 มิลลิลิตร บ่มต่อที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที เมื่อครบเวลานำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เทียบกับ Blank และใช้สารละลาย D-Glucose ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสารละลายมาตรฐาน วิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคนเทียบกับตัวอย่างผงข้าวบาร์เลย์มาตรฐานที่ใช้เป็นตัวควบคุม จากสมการ (1)

β-glucan (“as is”) (% w/w) = $\Delta A \times F/W \times FV \times D \times 0.9$ ..... (1)

โดย ΔA = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง – ค่าการดูดกลืนแสงของ Blank

F = 100 / ค่าการดูดกลืนแสงของ D-Glucose ที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน

W = น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (มิลลิกรัม)

FV = ปริมาตรสุดท้ายในหลอดทดลอง 9.4 มิลลิลิตร

D = ค่าการเจือจาง ก่อนเติม β-glucosidase หากทำการเจือจาง

จากนั้นแทนค่า β-glucan (“as is”) (%w/w) ลงในสมการ (2) เพื่อหาค่า β-glucan % w/w (dry wt. basis)

β-glucan % w/w (dry wt. basis)

= β-glucan (“as is”) (%w/w) x (100/100 – moisture content (%w/w)) .....(2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปราย

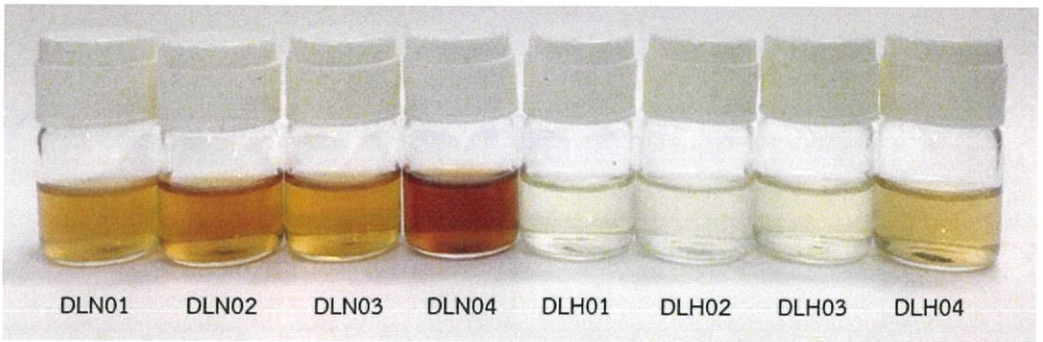
4.1 ผลการสกัดสารพอลิแซ็กคาไรด์

จากตัวอย่างลำไยทั้งหมด 4 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นสารสกัดจากเมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 ตัวอย่าง (DLN01, DLN02 และ DLN03) สกัดด้วยน้ำ 3 ตัวอย่าง (DLH01, DLH02 และ DLH03) และสารสกัดจากเมล็ดลำไยอีดอที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (DLN04) และสกัดด้วยน้ำ (DLH04) โดยสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส แล้วนำส่วนใสมาตกตะกอนด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งตะกอนที่ได้คือสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ ปริมาณและร้อยละผลได้ของสารสกัดหยาบแสดงดังตารางที่ 4.1 และสีของสารละลายสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เมื่อทำการละลายน้ำ พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยอีดอ จะมีสีที่เข้มกว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถา ทั้งสารสกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เป็นสีน้ำตาลแดงและสารสกัดด้วยน้ำที่เป็นสีน้ำตาลอ่อนดังรูปที่ 4.1 และร้อยละผลได้ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์มีน้ำหนักของสารสกัดที่มากกว่าที่สกัดด้วยน้ำ 4-5 เท่า

ตารางที่ 4.1 ลักษณะสีของสารสกัดหยาบ น้ำหนัก และร้อยละผลได้ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของลำไยทั้ง 4 ตัวอย่าง

สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์	ตัวทำละลาย	ตัวอย่างสารสกัด	ลักษณะสีของสารสกัดหยาบ	น้ำหนัก (กรัม)
ลำไยเถา	NaOH	DLN01	ผงสีน้ำตาลแดง	4.02
		DLN02	ผงสีน้ำตาลแดง	4.27
		DLN03	ผงสีน้ำตาลแดง	6.52
	H_2O	DLH01	ผงสีน้ำตาลอ่อน	1.03
		DLH02	ผงสีน้ำตาลอ่อน	1.33
		DLH03	ผงสีน้ำตาลอ่อน	1.237
ลำไยอีดอ	NaOH	DLN04	ผงสีน้ำตาลแดงเข้ม	4.31
	H_2O	DLH04	ผงสีน้ำตาลอ่อนออกดำ	0.55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 สารละลายสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (DLN01-03) และน้ำ (DLH01-03) และสารละลายสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยอีดอที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (DLN04) และน้ำ (DLH04)

4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไย

4.2.1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยในการวิเคราะห์ใช้สารละลายกลูโคสเป็นสารมาตรฐานวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และทำการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกลูโคส พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ตัวอย่าง DLN03, DLN02 และ DLN01 มีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์คือ 180.80, 181.37 และ 184.75 มิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัมของน้ำหนักสารสกัด ตามลำดับ ซึ่งมีมากกว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำ และสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ยังมีปริมาณพอลิแซ็ก-คาไรด์ที่มากกว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของลำไยอีดอที่สกัดด้วยด่างและน้ำ เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ตัวอย่าง DLN01 และ DLN02 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนในตัวอย่างอื่นๆ มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงในตารางที่ 4.2 ซึ่งผลการทดลองไม่สอดคล้องกับผลการทดลองของ Apinya และคณะ (2016) ที่ทำการวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาร์ไรด์ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยน้ำ ได้ปริมาณเท่ากับ 794.2 มิลลิกรัมต่อกรัม เนื่องจากขั้นตอนวิธีการในการสกัดที่แตกต่างกัน อาจส่งผลให้การวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ ผลการทดลองไม่เป็นไปในทางเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและเมล็ดลำไยอีดอ

ตัวอย่างสารสกัด	ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด (mg Glucose/g extract)
DLN01	180.80^{b}±1.16
DLN02	181.37^{b}±1.29
DLN03	184.75^{a}±1.09
DLN04	89.37^{c}±1.87
DLH01	32.31^{f}±1.30
DLH02	84.30^{d}±0.31
DLH03	36.44^{e}±0.53
DLH04	38.26^{e}±1.21

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังตัวด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติด้วย โดยเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

± SD คือ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (standard error of the mean)

4.2.2 **ผลการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวม**

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและเมล็ดลำไยอีดอที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยในการวิเคราะห์ใช้สารละลายกรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท และทำการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ตัวอย่าง DLN04 มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด คือ 7.26 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักสารสกัด รองลงมา ได้แก่ ตัวอย่าง DLN03 และ DLN02 มีปริมาณฟีนอลิกรวมคือ 4.98 และ 4.77 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักสารสกัด ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำ เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ตัวอย่าง DLN03 และ DLN02 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และที่สกัดด้วยน้ำตัวอย่าง DLH01 และ DLH03 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงในตารางที่ 4.3 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของสุรินทร์ และคณะ (2558) ที่ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในเมล็ดลำไย จำนวน 8 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ดอก้านอ่อน พันธุ์เบี้ยวเชียวเชียงใหม่ พันธุ์แห้ว พันธุ์ชมพู พันธุ์พวงทอง พันธุ์เวียดนาม พันธุ์เพชรยะลา และพันธุ์เถา ด้วยเครื่อง HPLC พบว่า ในเมล็ดลำไยสายพันธุ์อีดอมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ในกลุ่มโพลีฟีนอลสูงที่สุด และในเมล็ดลำไยสายพันธุ์ลำไยเถามีปริมาณสารประกอบรวม ในกลุ่มโพลีฟีนอลน้อยที่สุด

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ไม่อนุญาตให้ใช้เพื่อการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา และเมล็ดลำไยอีดอ

ตัวอย่างสารสกัด	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mg GAE/g extract)
DLN01	4.21^{c}±0.26
DLN02	4.77^{b}±0.02
DLN03	4.98^{b}±0.16
DLN04	7.26^{a}±0.09
DLH01	2.67^{e}±0.07
DLH02	3.50^{d}±0.10
DLH03	2.70^{e}±0.09
DLH04	2.33^{f}±0.04

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังตัวด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติด้วย โดยเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
± SD คือ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (standard error of the mean)

4.2.3 ผลการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระ

4.2.3.1 ผลการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

จากการทดลองวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของสารสกัดที่ความเข้มข้น 250, 500, 750, 1000, 1500 และ 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยในการวิเคราะห์ใช้สารละลายโทรล็อกซ์เป็นสารละลายมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์มีค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS สูงกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยน้ำ โดยตัวอย่าง DLN03 มีค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS ที่ร้อยละ 50 ดีที่สุด คือ IC_{50} = 1318.69 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังรูปที่ 4.2 และเมื่อทำการเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์ตัวอย่าง DLN03 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS คือ 150.74 มิลลิกรัมโทรล็อกซ์ต่อกรัมสารสกัด ซึ่งมีค่ามากกว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยน้ำ และสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไย อีดอที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ เมื่อวิเคราะห์ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ที่แตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงในตารางที่ 4.4 พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยตัวอย่าง DLN03 มีค่าสูงที่สุด และตัวอย่าง DLH01 กับ DLH04 ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

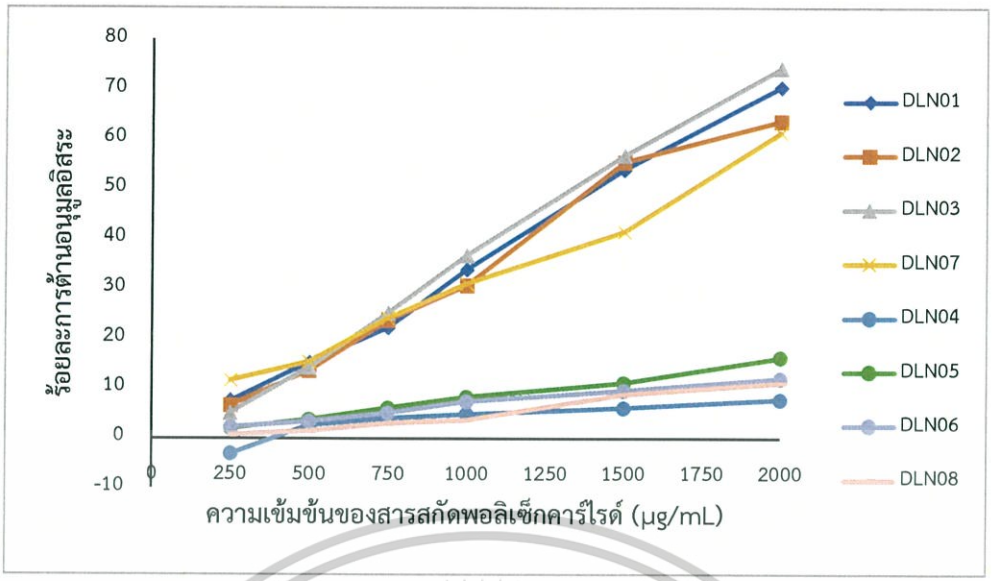
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ค่า IC_{50} และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา และเมล็ดลำไยอีดอ

ตัวอย่างสารสกัด	ความเข้มข้นของสารสกัด (µg/mL)						IC_{50} (µg/mL)	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (mg TE/g extract)
	250	500	750	1000	1500	2000		
DLN01	7.58±0.39	15.18±0.37	22.15±1.52	33.84±0.87	53.86±0.99	70.54±0.35	1389.44	121.75^{c}±1.56
DLN02	6.61±2.86	13.58±0.76	23.65±0.80	30.66±0.76	55.45±0.31	63.69±1.96	1382.05	126.89^{b}±2.48
DLN03	5.06±2.05	14.23±2.05	25.18±2.17	36.74±2.58	56.70±1.36	74.31±1.98	1318.69	150.74^{a}±1.78
DLN04	7.13±0.21	15.37±0.46	24.03±1.29	31.09±1.45	41.46±1.73	57.95±1.67	1740.60	114.91^{d}±2.76
DLH01	-3.08±0.63	2.62±1.29	4.04±0.17	4.86±0.18	6.05±0.47	7.74±0.91	>2000	17.22^{g}±2.14
DLH02	1.95±0.24	3.81±0.52	6.12±0.57	8.31±0.23	11.12±0.73	16.20±0.16	>2000	33.17^{e}±0.45
DLH03	2.21±0.29	3.34±0.57	5.08±1.47	7.36±0.93	9.53±1.31	12.00±1.28	>2000	28.07^{f}±1.50
DLH04	0.69±0.03	1.44±0.30	2.96±0.53	3.66±1.29	8.83±1.22	11.20±0.66	>2000	14.15^{g}±2.21

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังตัวด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติด้วย โดยเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

± SD คือ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (standard error of the mean)



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงร้อยละการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา และเมล็ดลำไยอีดอที่ความเข้มข้นต่างๆ

4.2.4.2 ผลการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

จากการทดลองวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดที่ความเข้มข้น 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยในการวิเคราะห์ใช้สารละลายกรดแอสคอร์บิกเป็นสารละลายมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท และเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแอสคอร์บิก พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ตัวอย่าง DLN04 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ FRAP สูงที่สุด คือ 2.17 มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมสารสกัด รองลงมา ได้แก่ ตัวอย่าง DLN03 และ DLN02 คือ 1.41 และ 1.40 มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าสารที่สกัดด้วยน้ำ เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ตัวอย่าง DLN03 และ DLN02 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงในตารางที่ 4.5 จากรายงานการวิจัยของอรรวรรณ (2555) ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเปลือกและเมล็ดของผลไม้ไทย โดยทำการศึกษาผลไม้ไทย 16 ชนิด 27 ตัวอย่าง หนึ่งในตัวอย่างที่ทำการศึกษามีเมล็ดลำไย สายพันธุ์กะโหลกเบี้ยว การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ มีการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าเมล็ดลำไยพันธุ์กะโหลกเบี้ยว มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ FRAP เท่ากับ 711.44±31.98 ไมโครโมลโทรล็อกซ์ต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ซึ่งสูงเป็นอันดับที่ 4 ของตัวอย่างที่ทำการศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา และเมล็ดลำไยอีดอ

ตัวอย่าง	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (mg AAE/g extract)
DLN01	1.27^{d}±0.02
DLN02	1.40^{b}±0.00
DLN03	1.41^{b}±0.01
DLN04	2.17^{a}±0.02
DLH01	0.81^{g}±0.05
DLH02	1.14^{e}±0.04
DLH03	1.03^{f}±0.04
DLH04	1.33^{c}±0.04

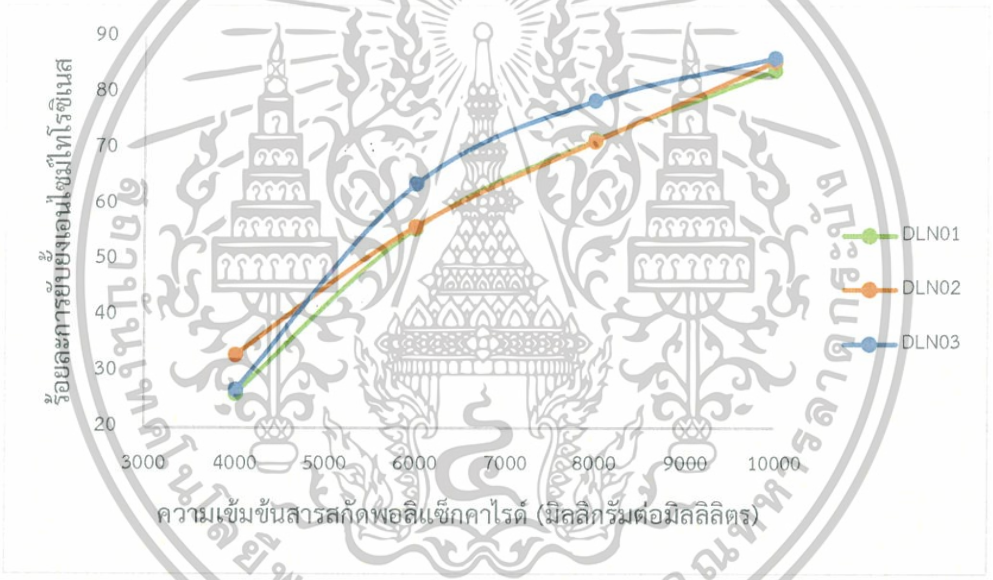
หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังตัวด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติด้วย โดยเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
± SD คือ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (standard error of the mean)

4.2.4 ผลการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

จากการทดลองวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วยวิธี Dopachrome ของสารสกัดที่ความเข้มข้น 4000, 6000, 8000 และ 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยในการวิเคราะห์ใช้สารละลายกรดแอสคอร์บิกเป็นสารละลายมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท และทำการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแอสคอร์บิก พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ตัวอย่าง DLN03 มีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่สูงที่สุด รองลงมาคือ DLN02 และ DLN01 โดยมีค่า IC_{50} คือ 5141.08, 5402.42 และ 5533.13 ตามลำดับ แสดงในรูปที่ 4.7 และเมื่อเทียบกับสารละลายกรดแอสคอร์บิกแล้วพบว่า ตัวอย่าง DLN03 มีค่าสูงสุด รองลงมา DLN02 และ DLN01 nโดยมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสคือ 14.80, 13.40 และ 12.67 มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ซึ่งในสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์มีค่ามากกว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำ ทั้งสารสกัดของเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ โดยสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำ ที่ความเข้มข้นสูงสุด 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่น้อยกว่า 50 จึงไม่สามารถหาค่า IC_{50} ได้ เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์แต่ละตัวอย่าง มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดด้วยน้ำตัวอย่าง DLH01, DLH02 และ DLH04 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เช่นเดียวกันกับตัวอย่าง DLH01 และ DLH03 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นกัน แสดงในตารางที่ 4.6 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวรรณวิษา และคณะ (2558) ทำการศึกษาฤทธิ์สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเห็ด *Pleurotus giganteus* และ *Calocybe indica* ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยพบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ของ *Calocybe indica* มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.13 mg/mL ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสดีที่สุด และสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ของ *Pleurotus giganteus* มีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.35 mg/mL แต่ในสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสน้อย มีค่า IC_{50} มากกว่า 10 mg/mL



รูปที่ 4.3 กราฟแสดงร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา ที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Dopachrome ค่า IC_{50} ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา และเมล็ดลำไยอีดอ

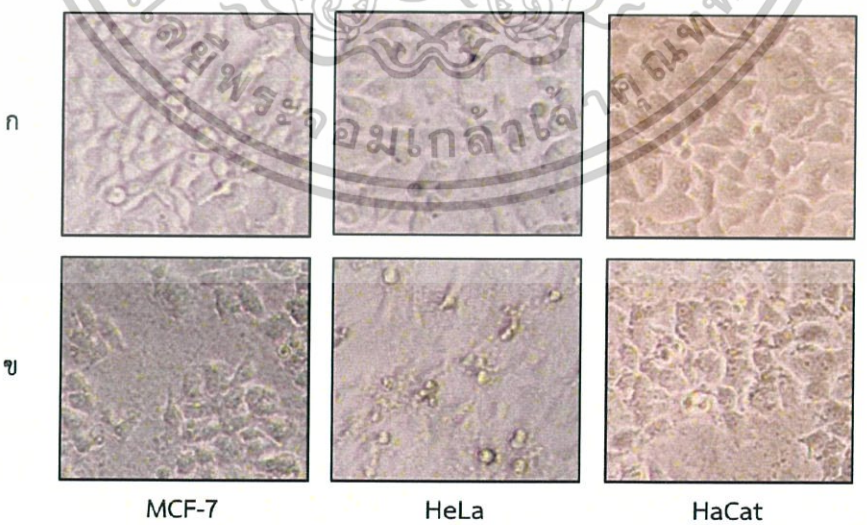
ตัวอย่างสารสกัด	ความเข้มข้นของสารสกัด (µg/mL)				IC_{50} (µg/mL)	ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (mg AAE/g extract)
	4000	6000	8000	10000		
DLN01	26.20±0.33	55.85±1.05	71.78±1.00	84.27±1.53	5533.13	12.81^{c}±1.73
DLN02	32.49±2.60	54.39±2.27	71.47±0.99	85.93±0.99	5402.42	13.41^{b}±0.86
DLN03	26.96±0.22	63.83±1.63	78.81±2.08	86.49±0.41	5141.08	14.80^{a}±1.35
DLN04	-	-	-	33.32±2.34	>10000	5.14^{d}±0.51
DLH01	-	-	-	3.89±0.45	>10000	0.60^{ef}±0.10
DLH02	-	-	-	6.30±1.88	>10000	0.97^{e}±0.41
DLH03	-	-	-	2.58±0.43	>10000	0.40^{f}±0.09
DLH04	-	-	-	5.49±0.72	>10000	0.85^{e}±0.16

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังตัวด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติด้วย โดยเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

± SD คือ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (standard error of the mean)

4.2.5 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

จากการทดลองวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์ ด้วยวิธี MTT ของสารสกัดพอลิแซ็ก-คาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่ความเข้มข้น 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยในการวิเคราะห์ใช้ยา Mitomycin C เป็นตัวควบคุมเชิงบวก วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท โดยทำการทดสอบกับเซลล์ไลน์ 3 ชนิดได้แก่ เซลล์มะเร็งปากมดลูกชนิด HeLa เซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และเซลล์ผิวหนังปกติชนิด HaCat ซึ่งทำให้ลักษณะของเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงไปหลังจากการทดสอบด้วยสารสกัด โดยหลังจากทดสอบด้วย สารสกัดมีเซลล์ที่มีชีวิตลดลงเล็กน้อยดังรูปที่ 4.10 เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี MTT แล้วนำไปคำนวณเป็นร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่าสารสกัดทั้งหมดมีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ แสดงในตารางที่ 4.7 เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าในเซลล์ HaCat สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ทุกตัวอย่าง มีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ HaCat ที่ต่ำมาก โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนการทดสอบในเซลล์ HeLa และ MCF-7 เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำในทุกตัวอย่าง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ Mitomycin C ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ซึ่งเป็นตัวควบคุมเชิงบวก มีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ HeLa, MCF-7 และ HaCat เท่ากับ 61.58, 60.84 และ 67.68 ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองนี้มีผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wang และคณะ (2014) ที่ทำการทดสอบ MTT ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยในเซลล์ไลน์มะเร็งปอด A549 มีความเป็นพิษที่ไม่สูงมาก โดยทดสอบด้วยสารสกัดที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-800 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละความเป็นพิษสูงสุด ค่าร้อยละความเป็นพิษเท่ากับร้อยละ 42.2



รูปที่ 4.4 ลักษณะของเซลล์ HeLa, MCF-7 และ HaCat ที่กำลังขยาย 100 เท่า (ก) เซลล์หลุมควบคุม (ข) เซลล์หลังจากเติมสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา ความเข้มข้น 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มไว้ 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและเมล็ดลำไยอีดอ

ตัวอย่างสารสกัด	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ (% Cytotoxicity)		
	HeLa	MCF-7	HaCat
DLN01	21.12^{a}±2.53	28.05^{a}±2.06	8.92^{abc}±1.60
DLN02	19.82^{ab}±2.27	21.28^{b}±0.97	6.38^{cd}±2.61
DLN03	16.82^{b}±1.67	22.68^{b}±0.89	4.55^{de}±0.80
DLN04	21.63^{a}±0.71	29.24^{a}±1.98	7.52^{bcd}±2.18
DLH01	3.35^{c}±2.44	3.40^{e}±0.70	11.42^{a}±0.81
DLH02	5.01^{c}±1.15	8.89^{d}±2.48	2.53^{e}±0.67
DLH03	4.85^{c}±1.57	3.10^{e}±0.89	6.42^{cd}±2.44
DLH04	4.18^{c}±2.81	11.91^{c}±2.66	10.31^{ab}±2.77
Mitomycin C	61.58±1.49	60.84±2.73	67.68±2.62

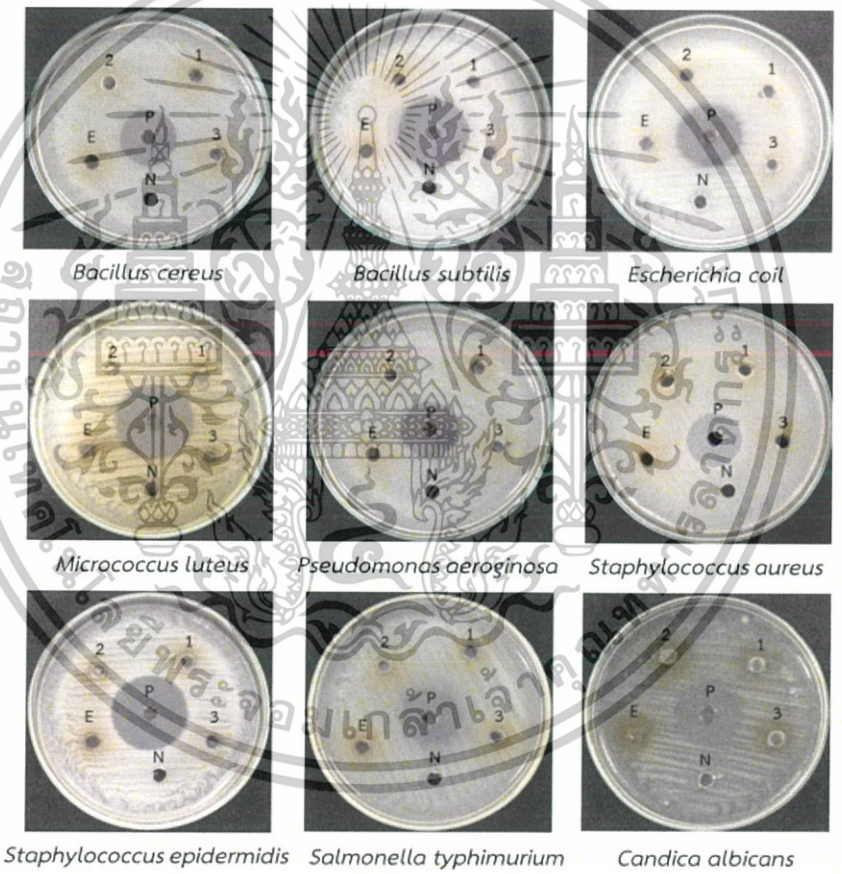
หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังตัวด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติด้วย โดยเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ± SD คือ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (standard error of the mean)

4.2.6 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยวิธี Agar Well Diffusion ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์คือ *Escherichia coli* ATCC 9341, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* DMST 0562, *Bacillus cereus* DMST 5040, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 และ *Candida albicans* พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและเมล็ดลำไยอีดอ ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 9 ชนิด เนื่องจากไม่มีบริเวณ clear zone เกิดขึ้น โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับแบคทีเรีย และยาคีโตโคนาโซล ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับยีสต์ เป็นตัวควบคุมเชิงบวกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 9 ชนิด โดยออกฤทธิ์ยับยั้งได้มากที่สุดคือ *Bacillus cereus* เปรียบเทียบจากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ในแต่ละชนิดของจุลินทรีย์ ในการเก็บผลการทดสอบ โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยใช้เวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ดิจิตอล ส่วนตัวควบคุมเชิงลบที่ใช้คือน้ำซึ่งเป็นตัวทำละลายของสารสกัด พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 9 ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

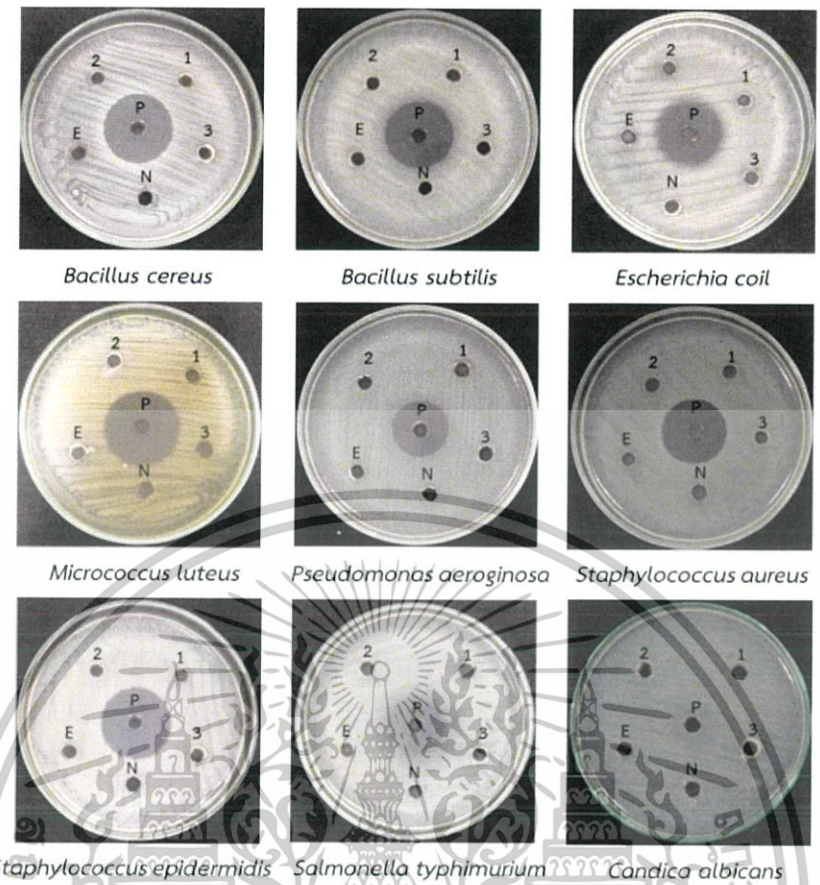
ซึ่งแสดงดังรูปที่ 4.5 และ 4.6 โดยผลการทดลองมีผลที่สอดคล้องกับงานวิจัยของเกษรา (2560) ซึ่งทำการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดสกุลนางรม โดยพบว่าสารที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำการศึกษา ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ซึ่งรายงานการวิจัยของเกษรา ได้อ้างอิงถึง Davidson and Parish (1989) ว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์เป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง อาจทำให้การแพร่กระจายของสารนั้นไปได้ไม่ดี และสารพอลิ-แซ็กคาไรด์ที่ใช้ในการทดลอง อาจจะยังไม่มีความบริสุทธิ์ไม่เพียงพอ ทำให้มีสารอื่นปะปน เช่น โปรตีน เป็นต้น ทำให้ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์



รูปที่ 4.5 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ความเข้มข้น 5000 ไมโครกรัมต่อหลุม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

หมายเหตุ : หมายเลข 1 คือ ตัวอย่างสารสกัด DLN01, หมายเลข 2 คือ ตัวอย่างสารสกัด DLN02 หมายเลข 3 คือ ตัวอย่างสารสกัด DLN03, สัญลักษณ์ E คือ ตัวอย่างสารสกัด DLN04, สัญลักษณ์ P คือ ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน, สัญลักษณ์ N คือ น้ำปราศจากเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยน้ำ ที่ความเข้มข้น 5000 ไมโครกรัมต่อหลุม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

หมายเหตุ : หมายเลข 1 คือ ตัวอย่างสารสกัด DNH01, หมายเลข 2 คือ ตัวอย่างสารสกัด DLH02, หมายเลข 3 คือ ตัวอย่างสารสกัด DLH03, สัญลักษณ์ E คือ ตัวอย่างสารสกัด DLH04, สัญลักษณ์ P คือ ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน, สัญลักษณ์ N คือ น้ำปราศจากเชื้อ

4.2.7 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคน

ผลการทดสอบปริมาณเบต้ากลูแคนของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ โดยใช้ โอ๊ต และบาร์เล่ย์จากชุดทดสอบสำเร็จรูป Mixed-linkage Beta-glucan เป็นตัวควบคุม ผลการทดลองพบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยด่างมีปริมาณมากกว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยน้ำ และพบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยอีดอที่สกัดด้วยด่างมีปริมาณเบต้ากลูแคนสูงกว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยด่างและน้ำ ส่วนสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยอีดอที่สกัดด้วยน้ำมีปริมาณเบต้ากลูแคนที่ใกล้เคียงกันกับสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยน้ำ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.8 เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่า สารสกัดทุกตัวอย่างมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยสารสกัดตัวอย่าง DLN04 มีปริมาณเบต้าสูงที่สุดในทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ปริมาณเบต้ากลูแคน % w/w (dry wt. basis) ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา และเมล็ดลำไยอีดอ

ตัวอย่างสารสกัด	ปริมาณเบต้ากลูแคน % w/w (dry wt. basis)
DLN01	0.26^{c} ±0.02
DLN02	0.32^{b} ±0.01
DLN03	0.22^{d} ±0.01
DLN04	0.58^{a} ±0.01
DLH01	0.10^{f} ±0.01
DLH02	0.03^{g} ±0.01
DLH03	0.13^{e} ±0.01
DLH04	0.10^{f} ±0.01
โอ๊ต	8.97 ±0.16
บาร์เล่ย์	4.21 ±0.26

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังตัวด้วยอักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติด้วย โดยเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

± SD คือ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (standard error of the mean)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ทำการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพทางด้านต่างๆ เบื้องต้นจากตัวอย่างลำไยทั้งหมด 4 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 3 ตัวอย่าง (DLN01, DLN02, DLN03) สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยน้ำ 3 ตัวอย่าง (DLH01, DLH02, DLH03) สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เมล็ดลำไยอีดอที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (DLN04) และสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยน้ำ (DLH04)

จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพทางด้านต่างๆ เบื้องต้นของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์เมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ได้แก่ ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ความเป็นพิษต่อเซลล์ การยับยั้งจุลินทรีย์ และปริมาณเบต้ากลูแคน พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ส่วนใหญ่มีฤทธิ์ที่ดี และมากกว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดด้วยน้ำ และยังพบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยอีดอมีปริมาณเบต้ากลูแคน และสารประกอบฟีนอลิกรวม มากกว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถา แต่สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถามีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์มากกว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยอีดอ ในฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระทั้งวิธี ABTS และวิธี FRAP พบว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยอีดอ และเมล็ดลำไยเถา มีฤทธิ์ที่ใกล้เคียงกัน เช่นเดียวกับฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ ที่พบว่าไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ และการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ ที่มีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังชนิด HaCat เซลล์มะเร็งเต้านมชนิด MCF-7 และเซลล์มะเร็งปากมดลูกชนิด HeLa น้อยกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ ในเซลล์ไลน์ที่ใช้ในการทดสอบ อย่างไรก็ตาม ฤทธิ์ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถาที่มีฤทธิ์มากกว่าสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยอีดอที่เห็นได้ชัดในฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ของเมล็ดลำไยเถาที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์มีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงถึง 84-86 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางเวชสำอางที่ช่วยในเรื่องของการช่วยให้ผิวกระจ่างใส ลดรอยฝ้า กระ จุดด่างดำบนผิวหนัง และรวมถึงการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ทดสอบในเซลล์ผิวหนัง พบว่ามีความเป็นพิษที่น้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้อาจมีการศึกษาฤทธิ์ทางด้านอื่นๆเพิ่มเติม เพื่อนำไปเป็นข้อมูลในการพัฒนาและนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่างๆต่อไปได้ในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กนกรัตน์ ศิริพานิชกร. 2548. **"คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยาภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสาธารณสุข-ศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล."** พิมพ์ครั้งที่ 3. บุญศิริการพิมพ์

เกษรา คงกล้า. 2560. "การประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเห็ดสกุลนางรม เพื่อประโยชน์ทางเวชสำอาง." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คีรี อำพันสวัสดิ์. 2540. "ไม้ผลเศรษฐกิจ." พิมพ์ครั้งที่1, กรุงเทพฯ

ดาวัลย์ ฉิมภู่. 2553. **"ชีวเคมี."** พิมพ์ครั้งที่ 4, กรุงเทพฯ :สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นฤพร สุตัณฑวิบูลย์, พนิดา วัยมหสุวรรณ และ สุนันท์ พงษ์สามารถ. 2553 "ผลิตภัณฑ์เจลและแผ่นแปะแผลของสารสกัดพอลิแซคคาไรด์จากเปลือกทุเรียน." ภาควิชาชีวเคมีและจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นภัสสร เพียสุระ, ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์, อรพิน เกิดชูชื่น และ โศรดา วัลภา. 2553. "การเปรียบเทียบพอลิแซคคาไรด์ของ *Enteromorpha intestinalis* โดยการสกัดด้วยด่างและน้ำร้อน." วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 41(3/1) (พิเศษ): 677-680

นันทีทิพ ลิ้มเพียรชอบ. 2559. **"ไบโอแอ็กทิฟเพปไทด์ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา."** พิมพ์ครั้งที่1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นุชนิภา นันทะวงศ์. 2558. **"ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ."** พิมพ์ครั้งที่1. เชียงใหม่: สำนักพิมพ์เอราวัณการพิมพ์.

บุญชู ศรีตุลารักษ์ และคณะ. 2541. "สารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากมะหาด." **Thai Journal Pharmaceutical Science. 22**, 149–155

ปฏิมา บุญมาลี และปัทมา เทียนวรรณ. 2556. "ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและเอนไซม์ไทโรซิเนสของครีมตรีผลา." โครงงานพิเศษปริญญาเภสัชศาสตร์บัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

ประดิษฐ์ มีสุข. 2549. **"ชีวเคมีเบื้องต้น (เคมีชีวิต)."** สงขลา : ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

ปัญญา ไพศาลอนันต์. 2553. **"ฉันชื่อลำไย บำรุงหัวใจ บำรุงประสาท."** กรุงเทพฯ :แบงค์คอกบุ๊คส์

พรพิมล กิจวิชา. 2558. "การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบพอลิแซ็กคาไรด์จากเส้นใยของเชื้อเห็ดตับเต่า." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต โครงการจัดตั้งภาควิชาเคมี คณะศิลป-ศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพียงเพ็ญ ธิโสดา. 2554. "ฤทธิ์ของสารสกัดเมล็ดลำไยต่อการทำงานของเกล็ดเลือด." คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

รัชฎา แก่นสาร์. 2544. "ชีวเคมี." พิมพ์ครั้งที่ 2. นนทบุรี : โครงการสวัสดิการวิชาการ สถาบันพระบรมราชชนก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

วิทยา กดุมภะ. 2559. **"เบต้ากลูแคนเสริมภูมิคุ้มกัน."** กรุงเทพฯ สำนักพิมพ์ เพชรประกาย

วรรณวิษา ศรีอยู่พุ่ม, สรนันท์ ชวลิตนิติธรรม และ อัมภัสชา รังสิพราหมณกุล. 2558. "ฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิดของสารสกัดจาก *Pleurotus giganteus* และ *Calocybe indica*." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า-เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

วีรยา บรีดาลิขิต. 2013 "การพัฒนาแผ่นแปะผิวที่ผสมสารสกัดเมล็ดลำไย." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์เภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่และบัณฑิตวิทยาลัย

ศลักษณา น้อยวงศ์ และ ปองศิริ คุณงาม. 2558. "การศึกษาผลของครีมเบต้ากลูแคนในการลดริ้วรอยรอบดวงตา." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์

สายสุนีย์ เหลี่ยวเรืองรัตน์. 2554. "รายงานวิจัย โครงการ ฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การวิเคราะห์ทางเคมีของสารประกอบสำคัญ และการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ จากใบ เนื้อ ผล เปลือกผล และเมล็ดลำไย." สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา

สุพัตรา ม่วงงาม. 2555. "ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบพญายาและลูกเดือยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส." วิทยานิพนธ์วิทยาศาตร์มหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์.

สุรินทร์ นิลสำราญจิต และ สุริยา ตาเที่ยง. 2558. "สัณฐานวิทยาและสารประกอบโพลีฟีนอลของเมล็ดลำไย." วารสารเกษตร 31(2): 167 – 175

เสาวลักษณ์ ภูมิวสนะ. 2527. **"ไม้ผลที่น่าสนใจ."** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว

องอาจ ผ่องลักษณ์. 2557. **"เบต้ากลูแคน."** พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์ หจก.มีเดีย เพรส

อรวรรณ กริ่งเกษมศรี. 2555. "ปริมาณสารโพลีฟีนอล และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ของเปลือกและเมล็ดของผลไม้ไทย." วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์-สิ่งแวดล้อม ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยศิลปากร

Aline, M. Charles, E.L. Marco, R. Jeanne, M. and Odile, G.N. 2005 "Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity." **Journal of Food Chemistry 91,** 571–577.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Davidson, P.M. and Parish, M.E. 1989. "Methods for testing the efficacy of food antimicrobials." **Journal of Food Technology 43**, 148-155.

Rangkadilok, N. Tongchusak, S. Boonhok, R. Chaiyaroj, S. Junyaprasert, V.B. Buajeeb, W. Akanimanee, J. Raksasuk, T. Suddhasthira, T. and Satayavivad, J. 2012. "In vitro antifungal activities of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) seed extract," **Journal of Fitoterapia 83**, 545–553.

Rauha, J. Remes, S. Heinonen, M. Hopia, A. Kahaonen, M. Kujala, T. 2000. "Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds." **Journal of Food Microbiology 25**, 3-12.

Re, R. Pellegrini, N. Proteggente, A. Pannala, A. Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay." **Journal of Free Radic Biology Medicine 26**, 1231-1237.

Sulaiman, S.F. Md, N.A. Yusoff. Eldeen, I.M. Seow, E.M. Sajak, A.A.B. Supriatno and Ooi K.L. 2011. "Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa* sp.)." **Journal of Food Composition and Analysis 24**, 1–10.

Thiantanawat, A. Satayavivad, J. Kunworarath, N. Rangkadilok, N. and Suriyo, T. 2016. "Longan (*Dimocapus longan* Lour.) inhibits lipopolysaccharide-stimulated nitric oxide production in macrophages by suppressing NF-kB and AP-signaling pathways." **Journal of Ethonophamacology 179**, 156-161.

Wang, C.C. Chang, S.C. and Chen, B.H. 2009. "Chromatographic determination of polysaccharides in *Lycium barbarum Linnaeus.*" **Journal of Food Chemistry 116**, 595–603.

Wang, H. Zhang, X. Li, Y. Chen, R. Ouyang, S. Sun, P. Pan, L. Ren, H and Yang, B. 2014. "Antitumor activity of a polysaccharide from longan seed on lung cancer cell line A549 in vitro and *in vivo*." **Journal of Tumor Biology 35**, 7259-7266.

Yamin, B. Sobia, N. Abdul, w. Sabbir A. and M. Fayyaz, C. 2012 "*In vitro* cytotoxic activity of aesculusindica against breast adenocarcinoma cell line (MCF-7) and phytochemical analysis." **Journal of Pharmaceutical Sciences 25**, 183-187.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

1. การเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ (NaOH 1 M)

โซเดียมไฮดรอกไซด์	40	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดไว้ที่อุณหภูมิห้อง

2. การเตรียมสารละลาย ABTS

2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (7 mM)	192.04	มิลลิกรัม
Potassium persulfate (2.45 mM)	33.115	มิลลิกรัม

2.1 ชั่งสาร ABTS 192.04 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และชั่ง Potassium persulfate 33.115 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร

2.2 ผสมสารละลายทั้งสองเข้าด้วยกัน ใส่ขวดสีชา ทิ้งไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิห้อง (เกิดการฟอกสีเขียวจางเป็นสีเขียวเข้ม)

3 การเตรียมสารละลาย FRAP

Acetate buffer 300 mM	10	มิลลิลิตร
2,4,6-tris[2-pyridyl]-s-triazine (10 mM)	3.1233	มิลลิกรัม
HCl 40 mM	1	มิลลิลิตร
Ferric chloride • $6H_2O$ (20 mM)	5.404	มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	1	มิลลิลิตร

3.1 ทำการชั่งสาร 2,4,6-tris[2-pyridyl]-s-triazine 10 mM 3.1233 มิลลิกรัม ละลายใน HCl 40 mM 1 มิลลิลิตร และ ชั่งสาร Ferric chloride • $6H_2O$ 5.404 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร

3.2 ผสมสารละลาย 2,4,6-tris[2-pyridyl]-s-triazine 10 mM 1 มิลลิลิตร และสารละลาย Ferric chloride • $6H_2O$ 5.404 มิลลิกรัม (20 mM) 1 มิลลิลิตร ลงในสารละลาย Acetate buffer 300 mM ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ได้สารละลายสีน้ำตาลอ่อนๆ เก็บใส่ขวดและควรเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนใช้

4. การเตรียมสารละลาย Folin reagent 10 เปอร์เซ็นต์

Folin	10	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	90	มิลลิลิตร

ทำการละลาย Folin 10 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร เก็บในขวดที่สะอาด หุ้มด้วยฟอยล์ ใส่ตู้เย็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การเตรียมสารละลาย Na_2CO_3 7.5 เปอร์เซนต์

Na_2CO_3	7.5	กรัม

ทำการชั่ง Na_2CO_3 7.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวด

6. การเตรียมสารละลาย phenol 5 เปอร์เซ็นต์

Phenol	5	กรัม

ทำการชั่ง phenol 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวด

7. การเตรียมสารละลาย Phosphate buffer

$NaHPO_4 \cdot 2H_2O$	3.90	กรัม
$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$	4.45	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

7.1 ชั่ง $NaHPO_4 \cdot 2H_2O$ 3.90 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวด

7.2 ชั่ง $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ 4.45 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวด

7.3 ผสมสารละลาย $NaHPO_4 \cdot 2H_2O$ ปริมาตร 24.5 มิลลิลิตร และสารละลาย $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ ปริมาตร25.5 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน ปรับพีเอชให้ได้ 6.8 และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวด

7.4 ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

7.5 เก็บสารละลายในตู้เย็น

8. การเตรียมสารละลาย L-Dopa

3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine (2.5 mM)	12.3243	มิลลิกรัม
Phosphate buffer	25	มิลลิลิตร

ทำการชั่งสาร 3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine 12.3243 มิลลิกรัม ละลายในสารละลาย Phosphate buffer 25 มิลลิลิตรที่เย็น เก็บใส่ขวด

9 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA)

อาหารสำเร็จรูป Nutrient Broth	13	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
Agar	17	กรัม

9.1 ชั่งอาหาร Nutrient Broth 13 กรัม และ ชั่ง Agar 17 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

9.2 ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

10. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA)

อาหารสำเร็จรูป Potato dextrose agar	13	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10.1 ชั่งอาหาร Potato dextrose agar 39 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

10.2 ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

11. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton agar

อาหารสำเร็จรูป Mueller-Hinton broth	21	กรัม
น้ำกลั่น	1000	กรัม
Agar	17	กรัม

11.1 ชั่งอาหารสำเร็จรูป Mueller-Hinton broth 13 กรัม และ ชั่ง Agar 17 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

11.2 ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

12. การเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI-1640

อาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI-1640	1	ซอง
น้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ	1000	มิลลิลิตร
Na_2CO_3	2	กรัม

12.1 ชั่ง Na_2CO_3 2 กรัมและเทอาหารเลี้ยงเซลล์ 1 ซอง ใส่ลงในบีกเกอร์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

12.2 เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ 1000 มิลลิลิตร ใส่แท่งคนแม่เหล็กกวนจนผงละลายหมด

12.3 นำอาหารที่ละลายจนหมดแล้วมากรองในตู้ปราศจากเชื้อ ด้วยเครื่องกรองที่มีแผ่นกรองโดยรูกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร เก็บอาหารใส่ขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เก็บใส่ตู้เย็นและแบ่งอาหารที่กรองแล้วใส่ขวดขนาดเล็กที่ผ่านการฆ่าเชื้อเพื่อทำการทดสอบอาหารที่กรองแล้วว่ามีการปนเปื้อนหรือไม่ ซึ่งทำการบ่มในตู้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง หากอาหารไม่มีการปนเปื้อนสีของของอาหารจะใสเหมือนเดิม แต่หากมีการปนเปื้อนสีของอาหารจะขุ่น

13. การเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI-1640 ที่มีซีรั่ม 8 เปอร์เซ็นต์

อาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI-1640	92	มิลลิลิตร
Fetal bovine serum	8	มิลลิลิตร
ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร	100	ไมโครลิตร

13.1 อาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI-1640 92 มิลลิลิตร ทำการเติม Fetal bovine serum 8 มิลลิลิตร และยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซินความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร 100 ไมโครลิตร

13.2 ทำการกรองอาหารที่เติม Fetal bovine serum และยาปฏิชีวนะแล้ว ด้วยตัวกรองที่มีขนาดรูกรอง 0.22 ไมโครเมตร เก็บใส่ขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เก็บใส่ตู้เย็นและแบ่งอาหารที่กรองแล้วใส่ขวดขนาดเล็กที่ผ่านการฆ่าเชื้อเพื่อทำการทดสอบอาหารที่กรองแล้วว่ามีการปนเปื้อนหรือไม่ ซึ่งทำการบ่มในตู้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง หากอาหารไม่มีการปนเปื้อนสีของของอาหารจะใสเหมือนเดิม แต่หากมีการปนเปื้อนสีอาหารจะขุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14. การเตรียมสารละลาย Phosphate buffer saline (PBS)

Phosphate buffer saline สำเร็จรูป	1	เม็ด
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

14.1 Phosphate buffer saline สำเร็จรูป 1 เม็ด ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

14.2 กรอง Phosphate buffer saline ที่ละลายแล้วด้วยกระดาษ whatman เบอร์ 1 ลงขวด

14.3 ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ 121 องศาเซลเซียส 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

14.4 เก็บใส่ถุงในตู้เย็น

15. ทริปซิน 0.25 เปอร์เซ็นต์

ทริปซิน	0.25	กรัม
EDTA	3.74	กรัม
Phosphate buffer saline	100	มิลลิลิตร

15.1 ชั่งทริปซิน 0.25 กรัม และEDTA 3.74 กรัม ละลายใน Phosphate buffer saline ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ละลายจนหมด

15.2 ปรับพีเอชให้ได้ 7.4 และปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

15.3 ทำการกรองทริปซินด้วยตัวกรองที่มีขนาดรูกรอง 0.22 ไมโครเมตรในตู้ปราศจากเชื้อ เก็บใส่ขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เก็บใส่ถุงในตู้เย็น

16. การเตรียมสารละลาย MTT

MTT	2	กรัม
Phosphate buffer saline	1	มิลลิลิตร

ชั่งสาร MTT 2 กรัม ละลายใน Phosphate buffer saline 1 มิลลิลิตร ในขวดที่สะอาด เก็บใส่ตู้เย็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

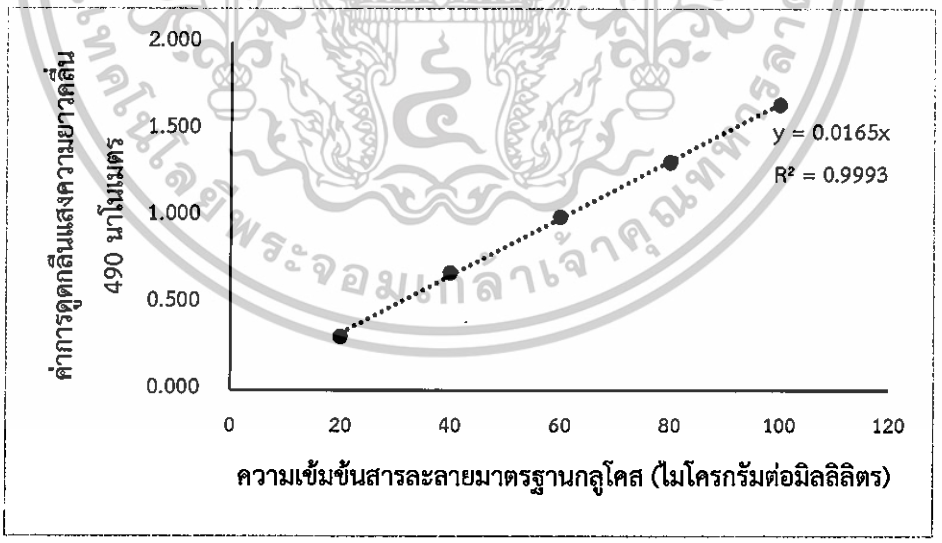
ภาคผนวก ข

1. การคำนวณปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด

ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร วิเคราะห์ด้วยวิธี Phenol-sulfuric acid แสดงดังตารางภาคผนวกที่ ข-1 และได้กราฟมาตรฐานกลูโคส แสดงดังรูปภาคผนวกที่ ข-1

ตารางภาคผนวกที่ ข-1 ความเข้มข้นของสารมาตรฐานกลูโคสและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ที่ทดสอบด้วยวิธี Phenol-sulfuric acid

ความเข้มข้นสารมาตรฐานกลูโคส (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร			ค่าเฉลี่ย	SD
	1	2	3		
20	0.31	0.32	0.34	0.31	0.02
40	0.68	0.70	0.65	0.68	0.02
60	1.02	0.98	1.00	1.00	0.01
80	1.26	1.34	1.34	1.31	0.04
100	1.69	1.59	1.65	1.65	0.04



รูปภาคผนวกที่ ข-1 กราฟมาตรฐานแสดงความเข้มข้นมาตรฐานกลูโคส (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

หมายเหตุ : R^2 คือ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination)

จากกราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคส (รูปภาคผนวกที่ ข-1) ได้สมการมาตรฐานดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Y = 0.0165X

โดยที่ Y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

X คือ ความเข้มข้นของสารมาตรฐานสารละลายกลูโคส (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

<u>ตัวอย่างการการคำนวณปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด</u>

ตัวอย่างสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาจากตัวอย่างที่ 1 ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด ด้วยวิธี Phenol-sulfuric acid วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ซึ่งค่าเฉลี่ยได้เท่ากับ 1.49155

นำสมการจากรูป ข-1 นำมาหาค่า X จะได้ X = Y/0.0165

เมื่อแทนค่า Y ด้วยค่าการดูดกลืนแสง จะได้ X = 1.49155/0.0165

X = 90.40 ไมโครกรัมกลูโคสต่อมิลลิลิตร

จากนั้นนำค่าที่ได้มาหารด้วยความเข้มข้นของสารสกัดที่นำมาทดสอบคือ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

= 90.397 ไมโครกรัมกลูโคสต่อกรัมสารสกัด / 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

= 0.180794 ไมโครกรัมกลูโคสต่อมิลลิกรัมสารสกัด

ซึ่งค่าที่ได้จะมีหน่วยเป็น ไมโครกรัมกลูโคสต่อมิลลิกรัมสารสกัด ทำการเปลี่ยนหน่วยเป็น มิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัมสารสกัด ดังนั้นสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์มีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดเท่ากับ 180.795 มิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัมสารสกัด ทำการคำนวณในแต่ละซ้ำของการทดลอง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในทุกตัวอย่างของสารสกัด

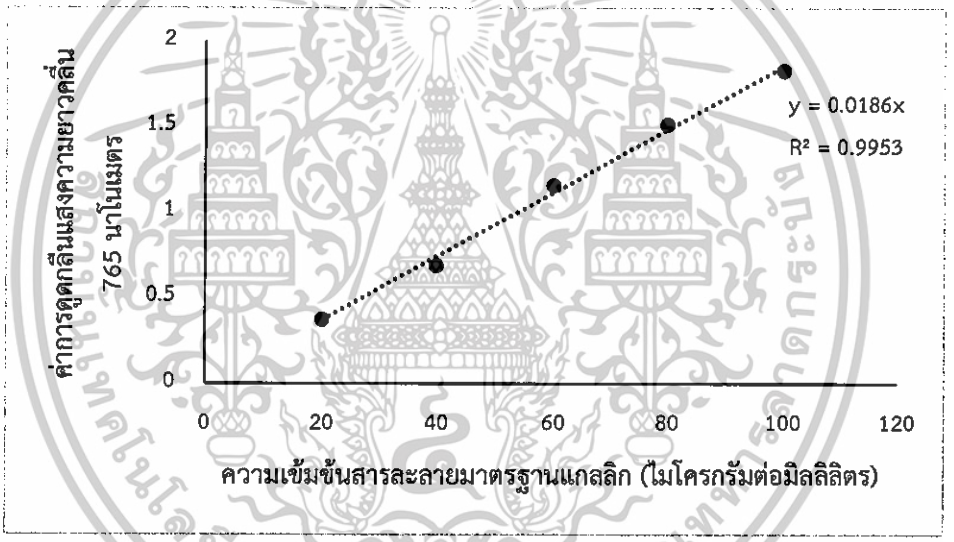
2. การคำนวณปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu แสดงดังตารางภาคผนวกที่ ข-2 และได้กราฟมาตรฐานโทรล็อกซ์ แสดงดังรูปภาคผนวกที่ ข-2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ข-2 ความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแกลลิกและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ที่ทดสอบด้วยวิธี Folin-Ciocalteu

ความเข้มข้นสารมาตรฐานกรดแกลลิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร			ค่าเฉลี่ย	SD
	1	2	3		
20	0.38	0.37	0.38	0.38	0.01
40	0.69	0.72	0.66	0.69	0.02
60	1.18	1.15	1.15	1.16	0.01
80	1.53	1.52	1.50	1.52	0.01
100	1.84	1.83	1.82	1.83	0.01



รูปภาคผนวกที่ ข-2 กราฟมาตรฐานแสดงความเข้มข้นมาตรฐานกรดแกลลิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

หมายเหตุ : R^2 คือ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination)

จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (รูปภาคผนวกที่ ข-2) ได้สมการมาตรฐานดังนี้

$$Y = 0.0186X$$

โดยที่ Y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

X คือ ความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตัวอย่างการการคำนวณปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด</u>

ตัวอย่างสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาจากตัวอย่างที่ 1 ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Phenol-sulfuric acid วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ซึ่งค่าเฉลี่ยได้เท่ากับ 0.78367

นำสมการเส้นตรงจากรูป ข-2 นำมาหาค่า X จะได้ $X = Y/0.0186$

เมื่อแทนค่า Y ด้วยค่าการดูดกลืนแสง จะได้ $X = 0.78367/0.0186$

$X = 2.1326$ ไมโครกรัมกลูโคสต่อมิลลิลิตร

จากนั้นนำค่าที่ได้มาหารด้วยความเข้มข้นของสารสกัดที่นำมาทดสอบคือ 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

= 2.1326 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด / 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

= 0.004213 ไมโครกรัมกลูโคสต่อมิลลิกรัมสารสกัด

ซึ่งค่าที่ได้จะมีหน่วยเป็น ไมโครกรัมกลูโคสต่อมิลลิกรัมสารสกัด ทำการเปลี่ยนหน่วยเป็นมิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัมสารสกัด ดังนั้นสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 4.213 มิลลิกรัมกลูโคสต่อกรัมสารสกัด ทำการคำนวณในแต่ละซ้ำของการทดลอง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในทุกตัวอย่างของสารสกัด

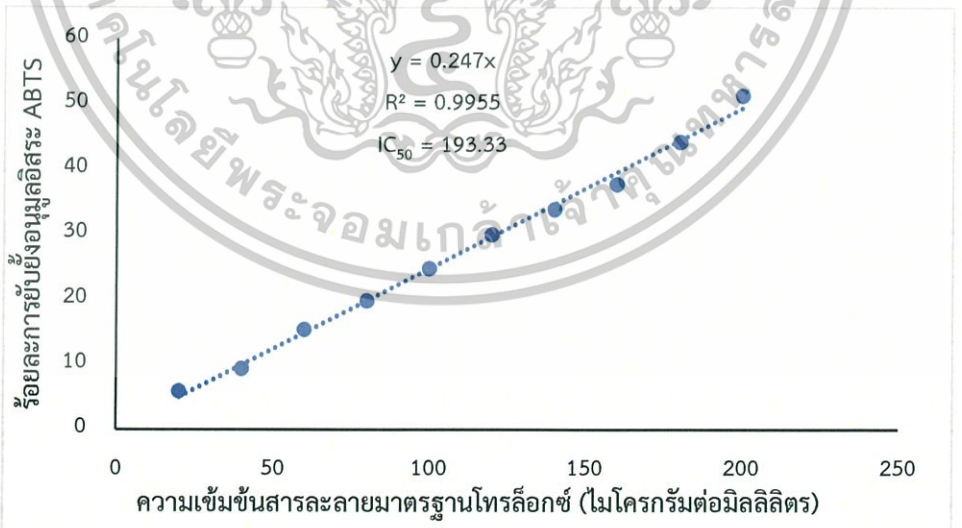
3. การคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

ค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานสารละลายโทรล็อกซ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS แสดงดังตารางภาคผนวกที่ ข-3 นำมาสร้างกราฟมาตรฐานสารละลายโทรล็อกซ์ระหว่างค่าเฉลี่ยร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ ABTS กับความเข้มข้นต่างๆของสารละลายมาตรฐานโทรล็อกซ์และได้กราฟมาตรฐานสารละลายโทรล็อกซ์ แสดงดังรูปภาคผนวกที่ ข-3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ข-3 ความเข้มข้นของสารมาตรฐานสารละลายโทรล็อกซ์และค่าร้อยละการยับยั้งการต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี ABTS

ความเข้มข้นของสารละลายโทรล็อกซ์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ในแต่ละซ้ำของการทดลอง			ค่าเฉลี่ย	SD
	1	2	3		
20	3.84	5.01	8.34	5.90	2.14
40	8.00	8.12	11.48	9.36	1.84
60	17.98	12.22	15.36	15.34	2.38
80	19.47	17.55	21.91	19.78	1.96
100	22.44	25.22	26.24	24.77	1.75
120	31.88	27.88	29.74	29.96	1.63
140	34.99	30.28	35.84	33.82	2.55
160	37.64	35.88	39.28	37.71	1.53
180	45.64	43.55	43.03	44.18	1.04
200	52.43	52.54	48.39	51.29	1.69
IC_{50}	192.18	194.47	-	193.33	1.62



รูปภาคผนวกที่ ข-3 กราฟมาตรฐานแสดงความเข้มข้นมาตรฐานสารละลายโทรล็อกซ์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) กับค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS

หมายเหตุ : R^2 คือ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกราฟมาตรฐานสารละลายโทรล็อกซ์ (รูปภาคผนวกที่ ข-3) ได้สมการมาตรฐานดังนี้

$$Y = 0.247X$$

โดยที่ Y คือ ค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระของวิธี ABTS

X คือ ความเข้มข้นของสารมาตรฐานสารละลายโทรล็อกซ์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

<u>ตัวอย่างการการคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS</u>

ตัวอย่างสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาจากตัวอย่างที่ 1 ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอก-ไซด์ ความเข้มข้น 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ซึ่งค่าเฉลี่ยร้อยละการยับยั้งได้เท่ากับ 70.54

นำสมการเส้นตรงจากรูป ข-3 นำมาหาค่า X จะได้ $X = Y/0.247$

เมื่อแทนค่า Y ด้วยค่าการดูดกลืนแสง จะได้ $X = 70.54/0.247$

$X = 285.587$ ไมโครกรัมโทรล็อกซ์ต่อมิลลิลิตร

จากนั้นนำค่าที่ได้มาหารด้วยความเข้มข้นของสารสกัดที่นำมาทดสอบคือ 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

= 285.587 ไมโครกรัมโทรล็อกซ์ต่อกรัมสารสกัด / 2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

= 0.142739 ไมโครกรัมโทรล็อกซ์ต่อมิลลิกรัมสารสกัด

ซึ่งค่าที่ได้จะมีหน่วยเป็น ไมโครกรัมโทรล็อกซ์ต่อมิลลิกรัมสารสกัด ทำการเปลี่ยนหน่วยเป็น มิลลิกรัมโทรล็อกซ์ต่อกรัมสารสกัด ดังนั้นสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ทั้งหมดเท่ากับ 142.739มิลลิกรัมโทรล็อกซ์ต่อกรัมสารสกัด ทำการคำนวณในแต่ละซ้ำของการทดลอง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในทุกตัวอย่างของสารสกัด

4. การคำนวณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP แสดงดังตารางภาคผนวกที่ ข-4 และได้กราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก แสดงดังรูปภาคผนวกที่ ข-4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ข-4 ความเข้มข้นของสารมาตรฐานสารละลายกรดแอสคอร์บิกและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ที่ทดสอบด้วยวิธี FRAP

ความเข้มข้นสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร			ค่าเฉลี่ย	SD
	1	2	3		
1	0.13	0.12	0.11	0.12	0.01
5	0.30	0.28	0.29	0.29	0.01
10	0.55	0.52	0.53	0.53	0.02
20	0.98	0.98	0.98	0.98	0.00
30	1.35	1.38	1.35	1.36	0.02
40	1.78	1.77	1.79	1.78	0.00
50	2.15	2.15	2.18	2.16	0.02

รูปภาคผนวกที่ ข-4 กราฟมาตรฐานแสดงความเข้มข้นมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

หมายเหตุ : R^2 คือ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination)

จากกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (รูปภาคผนวกที่ ข-4) ได้สมการมาตรฐานดังนี้

$$Y = 0.0446X$$

โดยที่ Y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร

X คือ ความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างการการคำนวณความสามารถในการรีดิวซ์ Fe^{3+}-TPTZ ด้วยวิธี FRAP

ตัวอย่างสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาจากตัวอย่างที่ 1 ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอก-ไซด์ ความเข้มข้น 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี FRAP วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ซึ่งค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.566

นำสมการเส้นตรงจากรูป ข-4 นำมาหาค่า X จะได้ $X = Y/0.0446$

เมื่อแทนค่า Y ด้วยค่าการดูดกลืนแสง จะได้ $X = 0.566/0.0446$

$X = 12.69$ ไมโครกรัมกลูโคสต่อมิลลิลิตร

จากนั้นนำค่าที่ได้มาหารด้วยความเข้มข้นของสารสกัดที่นำมาทดสอบคือ 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

= 12.69 ไมโครกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมสารสกัด / 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

= 0.001269 ไมโครกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อมิลลิกรัมสารสกัด

ซึ่งค่าที่ได้จะมีหน่วยเป็น ไมโครกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อมิลลิกรัมสารสกัด ทำการเปลี่ยนหน่วยเป็น มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมสารสกัด ดังนั้นสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์มีความสามารถในการรีดิวซ์ Fe^{3+}-TPTZ ด้วยวิธี FRAPทั้งหมดเท่ากับ 1.269 มิลลิกรัมโทรล็อกซ์ต่อกรัมสารสกัด คำนวณในแต่ละซ้ำของการทดลอง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในทุกตัวอย่างของสารสกัด

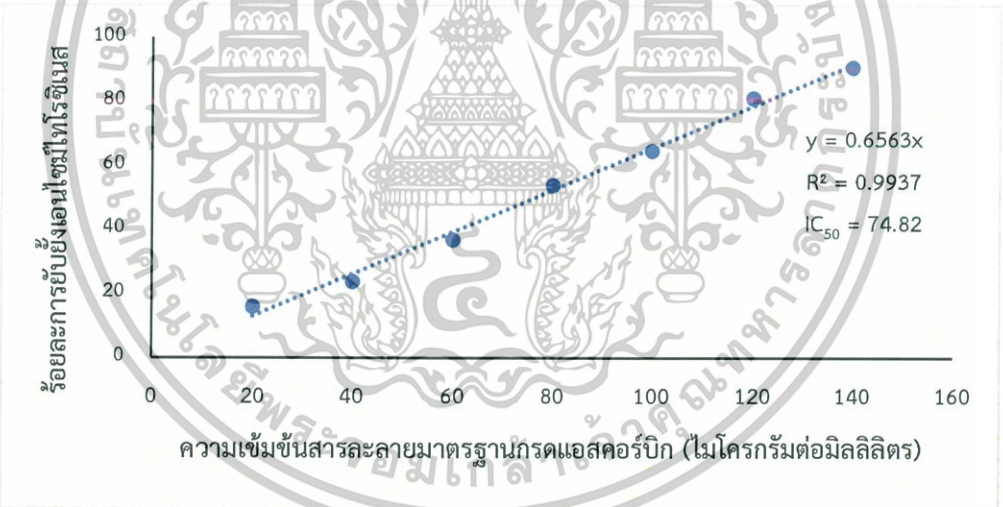
5. การคำนวณความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานสารละลายกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Dopachrome แสดงดังตารางภาคผนวกที่ ข-5 นำมาสร้างกราฟมาตรฐานสารละลายกรดแอสคอร์บิกระหว่างค่าเฉลี่ยร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสกับความเข้มข้นต่างๆ ของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกและได้กราฟมาตรฐานสารละลายกรดแอสคอร์บิก แสดงดังรูปภาคผนวกที่ ข-5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ข-5 ความเข้มข้นของสารมาตรฐานสารละลายกรดแอสคอร์บิกและค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ทดสอบด้วยวิธี Dopachrome

ความเข้มข้นของสารละลายกรดแอสคอร์บิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วยวิธี Dopachrome			ค่าเฉลี่ย	SD
	1	2	3		
20	15.75	17.81	14.38	15.98	1.41
40	24.83	24.83	21.75	23.80	1.45
60	38.87	36.64	34.93	36.82	1.61
80	53.77	53.08	54.79	53.88	0.70
100	62.67	66.78	64.90	64.78	1.68
120	83.39	77.23	83.22	81.28	2.87
140	91.27	91.44	90.07	90.92	0.61
IC_{50}	73.80	76.25	74.40	74.82	1.28



รูปภาคผนวกที่ ข- 5 กราฟมาตรฐานแสดงความเข้มข้นมาตรฐานสารละลายกรดแอสคอร์บิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) กับค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

หมายเหตุ : R^2 คือ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination)

จากกราฟมาตรฐานสารละลายกรดแอสคอร์บิก (รูปภาคผนวกที่ ข-5) ได้สมการมาตรฐานดังนี้

$$Y = 0.6563X$$

โดยที่ Y คือ ค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

X คือ ความเข้มข้นของสารมาตรฐานสารละลายกรดแอสคอร์บิก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตัวอย่างการการคำนวณความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Dopachrome</u>

ตัวอย่างสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาจากตัวอย่างที่ 1 ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอก-ไซด์ ความเข้มข้น 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วยวิธี Dopachrome วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ซึ่งค่าเฉลี่ยร้อยละการยับยั้งได้เท่ากับ 84.27

นำสมการเส้นตรงจากรูป ข-5 นำมาหาค่า X จะได้ $X = Y/0.6563$

เมื่อแทนค่า Y ด้วยค่าการดูดกลืนแสง จะได้ $X = 84.27/ 0.6563$

$X = 128.402$ ไมโครกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อมิลลิลิตร

จากนั้นนำค่าที่ได้มาหารด้วยความเข้มข้นของสารสกัดที่นำมาทดสอบคือ 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

= 128.402 ไมโครกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมสารสกัด / 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

= 0.0128402 ไมโครกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อมิลลิกรัมสารสกัด

ซึ่งค่าที่ได้จะมีหน่วยเป็น ไมโครกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อมิลลิกรัมสารสกัด ทำการเปลี่ยนหน่วยเป็นมิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมสารสกัด ดังนั้นสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ทั้งหมดเท่ากับ 12.840 มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมสารสกัด คำนวณในแต่ละซ้ำของการทดลอง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในทุกตัวอย่างของสารสกัด

6. การคำนวณเบต้ากลูแคน % w/w (dry wt. basis)

ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน D – Glucose ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร วิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูป Mixed-linkage Beta-glucan แสดงดังตารางภาคผนวกที่ ข-6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ข-6 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐาน D–glucose ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ทดสอบด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูป Mixed-linkage Beta-glucan

หลอดทดลอง	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร
1	0.94
2	0.93
3	1.02
4	1.03
5	0.99
ค่าเฉลี่ย	0.98

ตัวอย่างการคำนวณปริมาณเบต้ากลูแคน % w/w (dry wt. basis)

ตัวอย่างสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาจากตัวอย่างที่ 1 ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ปริมาณ 109.5 มิลลิกรัม นำมาวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคน ด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูป Mixed-linkage Beta-glucan วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ซึ่งได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.0278 นำมาแทนค่าในสมการ (1)

β-glucan (“as is”) (% w/w) = $\Delta A \times F/W \times FV \times D \times 0.9$ .....(1)

= 0.0278 x (100/0.981)/109.5 x 9.4 x 1

= 0.243

โดย ΔA = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง – ค่าการดูดกลืนแสงของ Blank

F = 100 / ค่าการดูดกลืนแสงของ D-Glucose ที่ใช้เป็นสารมาตรฐาน

W = น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (มิลลิกรัม)

F = ปริมาตรสุดท้ายในหลอดทดลอง 9.4 มิลลิลิตร

D = ค่าการเจือจาง ก่อนเติม β-glucosidase หากทำการเจือจาง

จากนั้นแทนค่า β-glucan (“as is”) (%w/w) = 0.243 ลงในสมการ (2) เพื่อหาค่า β-glucan % w/w (dry wt. basis)

β-glucan % w/w (dry wt. basis)

= β-glucan (“as is”) (%w/w) x (100/100 – moisture content (%w/w)).....(2)

= 0.243 x (100/100-9.34)

= 0.268

โดย moisture content (% w/w) = ค่าความชื้นของสารตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งค่าที่ได้เป็นปริมาณเบต้ากลูแคนของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาจากตัวอย่างที่ 1 ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ มีหน่วยเป็น % w/w (dry wt. basis) ดังนั้น ปริมาณเบต้ากลูแคนของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาจากตัวอย่างที่ 1 ที่สกัดด้วยโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ เท่ากับ 0.268 % w/w (dry wt. basis) ทำการคำนวณในแต่ละซ้ำของการทดลองแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในทุกตัวอย่างของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เพื่อเป็นการวิเคราะห์ความแตกต่างของผลการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ ด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 24 โดยใช้วิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ได้ผล ดังต่อไปนี้

1. ผลการวิเคราะห์ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด

ตารางภาคผนวกที่ ค-1.1 วิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอที่สกัดด้วยโซเดียม-ไฮดรอกไซด์และน้ำ โดยวิธี Duncan

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	99085.906	7	14155.129	10233.525	.000
Within Groups	22.131	16	1.383		
Total	99108.038	23			

ตารางภาคผนวกที่ ค-1.2 การเปรียบเทียบปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมดของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำโดยใช้วิธี Duncan

Sample	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
DLH01	3	32.310					
DLH03	3		36.447				
DLH04	3		38.263				
DLH02	3			84.297			
DLN04	3				89.373		
DLN01	3					180.795	
DLN02	3					181.373	
DLN03	3						184.750
Sig.		1.000	.077	1.000	1.000	.555	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ผลการวิเคราะห์ปริมาณปริมาณฟีนอลิกรวม

ตารางภาคผนวกที่ ค-2.1 วิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดพอลิแซ็ก-คาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ โดยวิธี Duncan

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	56.067	7	8.010	502.563	.000
Within Groups	.255	16	.016		
Total	56.322	23			

ตารางภาคผนวกที่ ค-2.2 ผลการเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยน้ำและโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยวิธี Duncan

Sample	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
DLH01	3	2.330					
DLH03	3		2.673				
DLH04	3		2.700				
DLH02	3			3.497			
DLN04	3				4.210		
DLN01	3					4.770	
DLN02	3					4.977	
DLN03	3						7.260
Sig.		1.000	.799	1.000	1.000	.062	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS

ตารางภาคผนวกที่ ค-3.1 วิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ โดยใช้วิธี Duncan

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	69587.376	7	9941.054	2335.115	.000
Within Groups	68.115	16	4.257		
Total	69655.491	23			

ตารางภาคผนวกที่ ค-3.2 ผลการเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำโดยวิธี Duncan

Sample	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
DLH04	3	14.148						
DLH01	3	17.219						
DLH03	3		28.0713					
DLH02	3			33.1663				
DLN04	3				114.9010			
DLN01	3					121.752		
DLN02	3						124.872	
DLN03	3							150.738
Sig.		.078	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ FRAP

ตารางภาคผนวกที่ ค-4.1 วิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการต้านอนุมุลอิสระ FRAP ของสารสกัด พอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ โดยวิธี Duncan

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.357	7	.480	466.027	.000
Within Groups	.016	16	.001		
Total	3.374	23			

ตารางภาคผนวกที่ ค-4.2 ผลการเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมุลอิสระ FRAP ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ โดยวิธี Duncan

Sample	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
DLH01	3	.810						
DLH03	3		1.027					
DLH02	3			1.137				
DLN01	3				1.273			
DLH04	3					1.333		
DLN02	3						1.400	
DLN03	3						1.410	
DLN04	3							2.170
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	.708	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ตารางภาคผนวกที่ ค-5.1 วิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัด พอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ โดยวิธี Duncan

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	870.758	7	124.394	2938.116	.000
Within Groups	.677	16	.042		
Total	871.435	23			

ตารางภาคผนวกที่ ค-5.2 ผลการเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ โดยวิธี Duncan

Sample	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
DLH03	3	.393					
DLH01	3	.592	.592				
DLH04	3		.837				
DLH02	3		.959				
DLN04	3			5.078			
DLN01	3				12.669		
DLN02	3					13.404	
DLN03	3						14.799
Sig.		.252	.054	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ผลการวิเคราะห์ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์

ตารางภาคผนวกที่ ค-6.1 วิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ชนิด HeLa ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ โดยวิธี Duncan

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1489.257	7	212.751	52.520	.000
Within Groups	64.814	16	4.051		
Total	1554.071	23			

ตารางภาคผนวกที่ ค-6.2 ผลการเปรียบเทียบร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ชนิด HeLa ในสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยน้ำและโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยใช้วิธี Duncan

Sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
DLH02	3	3.3471		
DLH03	3	4.1766		
DLH01	3	4.8480		
DLH04	3	5.0060		
DLN03	3		16.8161	
DLN02	3		19.8180	19.8180
DLN04	3			21.1214
DLN01	3			21.6349
Sig.		.367	.086	.310

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค-6.3 วิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ชนิด MCF-7 ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ โดยวิธี Duncan

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2356.590	7	336.656	110.448	.000
Within Groups	48.769	16	3.048		
Total	2405.359	23			

ตารางภาคผนวกที่ ค-6.4 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ MCF-7 ในสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยน้ำและโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยใช้วิธี Duncan

Sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
DLH01	3	3.0970				
DLH02	3	3.3950				
DLH03	3		8.8873			
DLH04	3			11.9102		
DLN03	3				21.2769	
DLN02	3				22.6819	
DLN01	3					28.0465
DLN04	3					29.2387
Sig.		.837	1.000	1.000	.339	.415

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค-6.5 วิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ชนิด HaCat ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ โดยวิธี Duncan

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	182.050	7	26.007	7.052	.001
Within Groups	59.005	16	3.688		
Total	241.055	23			

ตารางภาคผนวกที่ ค-6.6 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ HaCat ในสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยน้ำและโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยใช้วิธี Duncan

Sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
DLH02	3	2.5256				
DLN03	3	4.5464	4.5464			
DLH03	3		6.3834	6.3834		
DLH01	3		6.4202	6.4202		
DLN02	3		7.5224	7.5224	7.5224	
DLN01	3			8.9186	8.9186	8.9186
DLH04	3				10.3147	10.3147
DLN04	3					11.4170
Sig.		.216	.099	.155	.110	.150

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ผลการวิเคราะห์ปริมาณเบต้ากลูแคน

ตารางภาคผนวกที่ ค-7.1 วิเคราะห์ความแปรปรวนของร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ชนิด HaCat ของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถาและลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ โดยวิธี Duncan

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.068	7	.153	1141.127	.000
Within Groups	.004	32	.000		
Total	1.072	39			

ตารางภาคผนวกที่ ค-7.2 ผลการเปรียบเทียบปริมาณเบต้ากลูแคนของสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเมล็ดลำไยเถา และลำไยอีดอ ที่สกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำ โดยวิธี Duncan

Sample	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
DLH02	5	.0260						
DLH01	5		.0994					
DLH04	5		.1040					
DLH03	5			.1296				
DLN03	5				.2192			
DLN01	5					.2572		
DLN02	5						.3158	
DLN04	5							.5796
Sig.		1.000	.534	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้