การทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์โดยสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่ง (*Asparagus officinalis* L.)

ANTIMICROBIAL ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC ACTIVITIES OF *Asparagus officinalis* L. EXTRACTS

กรองทิพย์ เจริญกิตตินุกูล

ชื่นสุมน สังข์สุข

ณัฐวุฒิ นิลโท

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANTIMICROBIAL ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC ACTIVITIES OF *Asparagus officinalis* L. EXTRACTS

KRONGTHIP CHAROENKITTINUKUL

CHEUNSUMON SANGSUK

NUTTHAWUT NILTHO

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT
FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG ACADEMIC
YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์โดยสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่ง Antimicrobial antioxidant and cytotoxic activities of *Asparagus officinalis* L. extract.
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกรองทิพย์ เจริญกิตตินุกูล รหัสนักศึกษา 56050797 นางสาวชื่นสุมน สังข์สุข รหัสนักศึกษา 56050827 นายณัฐวุฒิ นิลโท รหัสนักศึกษา 56050835
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2559

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

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความเป็นพิษต่อเซลล์โดยสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่ง Antimicrobial antioxidant and cytotoxic activities of *Asparagus officinalis* L.extract.
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกรองทิพย์ เจริญกิตตินุกูล รหัสนักศึกษา 56050797
	นางสาวชื่นสุมน สังข์สุข รหัสนักศึกษา 56050827
	นายณัฐวุฒิ นิลโท รหัสนักศึกษา 56050835
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิตเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

บทคัดย่อ

ในการวิจัยครั้งนี้ ได้ทำการสกัดสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่งได้แก่ ลำต้น ใบ และราก และนำมาวิเคราะห์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 50 mg/ml กับแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922 *Salmonella typhimurium* TISTR 5562 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Bacillus subtilis* ATCC 6633 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 ด้วยวิธี Agar well diffusion พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B.subtilis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกได้ เมื่อศึกษาหาความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B.subtilis* พบว่าสารสกัดหยาบจากทุกส่วนของหน่อไม้ฝรั่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด ที่ความเข้มข้น 0.7813 mg/ml การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging assay พบว่าสารสกัดจากส่วนลำต้นมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.331 mg/ml โดยจากการศึกษาสารพฤกษเคมีในสารสกัดหาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าสารสกัดหยาบจากใบของหน่อไม้ฝรั่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดทั้งหมดเทียบเท่ากับ 2,663.65 mgGAE/ g สารสกัด ส่วนการศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่าสารสกัดหยาบจากใบมีปริมาณฟลาโวนอยด์ 5,062.67 mgQE/ g สารสกัด เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด พบว่าสารสกัดจากส่วนใบมีปริมาณแทนนินมากที่สุดเทียบเท่ากับ 1,643.33 mgTAE/ g สารสกัด และวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินรวมที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่ง พบว่าสารสกัดจากส่วนของรากมีปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุดเทียบเท่ากับ 43.12 mg cyanidin-3-glucoside/ l สารสกัด และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ที่ความเข้มข้นสูงสุดของการทดสอบ 10,000 µl/ml พบว่าสารสกัดหยาบจากใบของต้นหน่อไม้ฝรั่งมีความเป็นพิษต่อเซลล์มากที่สุด มีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 เท่ากับ 124.26 µg/ml

คำสำคัญ : หน่อไม้ฝรั่ง, การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย, กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ, ความเป็นพิษต่อเซลล์,สารพฤกษเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	ANTIMICROBIAL ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC ACTIVITIES OF *Asparagus officinalis* L. EXTRACTS
Students	KRONGTHIP CHAROENKITTINUKUL 56050797
	CHEUNSUMON SANGSUK 56050827
	NUTTHAWUT NILTHO 56050835
Degree	Bachelor of Science
Department	Biotechnology
Academic Year	2016
Advisor	Dr. Suttijit Sriwatcharakul
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)

Abstract

In this study, the ethanolic crude extracts from the stem, leaves and root of *Asparagus officinalis* L. were analyzed for the inhibition of the microorganisms growth with initial concentration of crude extracts 50 mg/ml using the 5 bacteria species ; *Escherichia coli* ATCC 25922 ,*Salmonella typhimurium* TISTR 5562 , *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ,*Bacillus subtilis* ATCC 6633 and *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 . The agar well diffusion results were found the extracts inhibit gram positive bacteria species; *B.subtilis*. The study of minimum inhibition concentration showed the lowest concentration of all extracts at 0.7813 mg/ml Analysis of antioxidant by DPPH scavenging assay method found that the stem extract gave the best antioxidant activity with IC_{50} values 3.331 mg/ml.The determination of total phenolic compounds showed the highest total phenolic content in the leaves extract 2,663.65 mgGAE/ g extract. Analysis of total flavonoid compounds showed the highest total flavonoid compounds content in the leaves extract 5,062.67 mgQE/ g extract. Analysis of tanin compounds showed the highest tannin compounds content in the leaves extract 1,643.33 mgTAE/ g extract. Analyze of anthocyanin compounds by pH differential method showed the highest anthocyanin compounds content in the root extract 43.12 mg cyanidin-3-glucoside/ l extract. The cytotoxicity studies of crude extracts with MCF-7 breast cancer cells by MTT assay method at the maximum concentration 10,000 µg/ml found that leaves extract had the most of cytotoxicity. Give CC_{50} values at 124.26 µg/ml.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Keyword : *Asparagus officinalis* ,antimicrobial, antioxidant, cytotoxicity, Phytochemicals

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสาตรบัณฑิต ซึ่งสำเร็จลุล่วงด้วยดี เนื่องจากการให้ความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล ที่คอยให้ความช่วยเหลือดูแล แนะแนวทางการแก้ปัญหาและข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่ในตลอดการโครงงานพิเศษ รวมทั้งยังให้ความรู้แก่คณะผู้จัดทำ และกราบขอบพระคุณ ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ ที่กรุณาแนะนำข้อบกพร่องแก้ไข ปรับปรุงรายงานโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล ที่ช่วยชี้นำแนวทางในการดำเนินงานวิจัย และนำข้อบกพร่องแก้ไข เล่มโครงงานพิเศษฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณคณะอาจารย์ในสาขาวิชาชีววิทยาทุกท่านที่มอบความรู้และทักษะการปฏิบัติงานต่างๆซึ่งสามารถนำมาใช้ในการทำโครงงานพิเศษฉบับนี้ได้เป็นอย่างดี

ขอกราบขอบพระคุณเจ้าหน้าที่และนักวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี อำนวยความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการ รวมทั้งให้คำแนะนำในการปฏิบัติการ

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดาของผู้จัดทำที่ให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจและคำปรึกษาที่ดี สนับสนุนทั้งกำลังกายและกำลังทรัพย์

ขอขอบพระคุณพี่ น้อง และเพื่อนๆทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือให้ความช่วยเหลือให้ข้อคิดเห็นแนะนำสิ่งต่างๆและมิตรภาพที่ดีตลอดมา

กรองทิพย์ เจริญกิตตินุกูล
ชื่นสุมน สังข์สุข
ณัฐวุฒิ นิลโท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ฌ
สารบัญรูป	ญ
คำย่อและสัญลักษณ์	ฏ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 หน่อไม้ฝรั่ง (*Asparagus officinalis* L.)	3
2.1.1 ลักษณะทางพฤษศาสตร์	3
2.1.2 ประเภทของหน่อไม้ฝรั่ง	6
2.1.3 พันธุ์หน่อไม้ฝรั่ง	7
2.1.4. คุณค่าทางอาหารของหน่อไม้ฝรั่ง	7
2.2 การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร	9
2.2.1 น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย	9
2.2.2 การเลือกตัวทำละลาย	10
2.2.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้น (Concentration)	10
2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ	11
2.3.1 บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระ	12
2.3.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)	13
2.3.3 แอนโทไซยานิน (anthocyanins)	14
2.3.4 สารเคอร์ซีทิน (quercetin)	15
2.3.5 ฟีนอล (Phenol)	15
2.3.6 วิตามินอี (Vitamin E)	16
2.4 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5 ยาต้านจุลชีพ	18
2.6 มะเร็งเต้านม	19
2.7 เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์	24
2.8 การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์	25
2.9 การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยเทคนิค Methyl tetrazolium (MTT)	25
2.10 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง	26
2.10.1 เชื้อ *Eschrichia coli*	26
2.10.2 เชื้อ *Staphylococcus aureus*	27
2.10.3 เชื้อ *Bacillus subtilis*	28
2.10.4 เชื้อ *Staphylococcus epidermidis*	29
2.10.5 เชื้อ *Salmonella typhimurium*	29
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการ	31
3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ	31
3.2 เชื้อจุลินทรีย์	31
3.3 สารเคมี	31
3.4 อุปกรณ์	32
3.5 วิธีการทดลอง	33
3.5.1 กระบวนการสกัดสารจากหน่อไม้ฝรั่ง	33
3.5.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ	33
3.5.2.1 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย	33
3.5.2.2 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ	34
3.5.3 การหาปริมาณสารพฤกษเคมี	35
3.5.3.1 การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	35
3.5.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	35
3.5.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด	36
3.5.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินรวม	36
3.5.4 การทดสอบความเป็นพิษเซลล์ ด้วยวิธี MTT	37
3.5.4.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ	37
3.5.4.2 การเตรียมเซลล์ไลน์มะเร็งเต้านม	37
3.5.4.3 การเตรียมสารละลาย MTT	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.5.3.4 การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม	38
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปราย	39
4.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่ง	39
4.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากหน่อไม้ฝรั่ง	40
4.2.1 แพร่บนวุ้นอาหารเบื้องต้น (Agar well diffusion)	40
4.2.2 การหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดหยาบ	47
4.3 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากหน่อไม้ฝรั่ง	49
4.3.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช	49
4.4 การหาปริมาณสารพฤกษเคมี	51
4.4.1การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	51
4.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	52
4.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด	53
4.4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานิน (pH differential)	54
4.5 การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7	55
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	58
5.1 สรุปผลการวิจัย	58
5.2 ข้อสนอแนะ	59
เอกสารอ้างอิง	60
ภาคผนวก ก	62
ภาคผนวก ข	64
ภาคผนวก ค	66
ภาคผนวก ง	68
ภาคผนวก จ	70
ภาคผนวก ฉ	72
ภาคผนวก ช	74
ภาคผนวก ซ	76
ภาคผนวก ฌ	104

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ลักษณะและปริมาณของสารสกัดหยาบจากต้นหน่อไม้ฝรั่ง	39
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	40
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E.coli* ของสารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆ	41
4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่ง ที่ความเข้มข้นต่างๆ	42
4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S.epidermidis* ของสารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆ	43
4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. typhimurium* ของสารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆ	43
4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ของสารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่ง ที่ความเข้มข้นต่างๆ	47
4.8 แสดงร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด	50
4.9 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด (IC_{50})	51
4.10 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด	52
4.11 แสดงปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	52
4.12 แสดงปริมาณของสารแทนนินในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่ง	53
4.13 แสดงปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน	54
4.14 ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7	55
4.15 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 (CC_{50})	56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
รูปที่ 2.1 หน่อไม้ฝรั่ง	3
รูปที่ 2.2 ลักษณะรากของหน่อไม้ฝรั่ง	4
รูปที่ 2.3 ลักษณะลำต้นใบหน่อไม้ฝรั่ง	5
รูปที่ 2.4 ลักษณะผลและดอกของหน่อไม้ฝรั่ง	6
รูปที่ 2.5 ลักษณะ rotary evaporator	11
รูปที่ 2.6 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน	14
รูปที่ 2.7 โครงสร้างของฟีนอล	15
รูปที่ 2.8 โครงสร้างของวิตามินอี (Vitamin E)	17
รูปที่ 2.9 โครงสร้างของเต้านม	20
รูปที่ 2.10 ลักษณะเต้านมที่เป็นมะเร็งเต้านม	22
รูปที่ 2.11 ลักษณะมะเร็งเต้านมทั้ง 4 ระยะ	24
รูปที่ 2.12 ลักษณะเซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ MCF-7	25
รูปที่ 2.13 เชื้อ *Escherichia coli*	26
รูปที่ 2.14 เชื้อ *Staphylococcus aureus*	27
รูปที่ 2.15 เชื้อ *Bacillus subtilis*	28
รูปที่ 2.16 เชื้อ *Staphylococcus epidermidis*	29
รูปที่ 2.17 เชื้อ *Salmonella typhimurium*	30
รูปที่ 4.1 ลักษณะของสารสกัดหยาบจากต้นหน่อไม้ฝรั่ง	39
รูปที่ 4.2 แสดงฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากลำต้นของหน่อไม้ฝรั่ง ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 200 , 150 , 100, 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	44
รูปที่ 4.3 แสดงฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบของหน่อไม้ฝรั่ง ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 200 , 150 , 100, 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	45
รูปที่ 4.4 แสดงฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากรากของหน่อไม้ฝรั่ง ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 200 , 150 , 100, 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	46
รูปที่ 4.5 แสดงฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากลำต้น (A) ราก (B) และใบ (C) ของหน่อไม้ฝรั่งในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis*	48
รูปที่ 4.6 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ(%scavenging) ระหว่างสารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่ง ความเข้มข้น 0.625,1.25,2.5,5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	50
รูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกับความเข้มข้น ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นหน่อไม้ฝรั่ง	56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อสัญลักษณ์

คำย่อ	ความหมาย
MTT	Methyl tetrazolium
DPPH	2,2-diphenyl-l-picrylhydrazyl
MCF-7	Michigan Cancer Foundation-7
µg/ml	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
mg/ml	มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
mgGAE/ g สารสกัด	มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด
mgGAE / g dry weight	มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งสารสกัด
mgQE/ g สารสกัด	มิลลิกรัมควอซิทินต่อกรัมสารสกัด
mgQE / g dry weight	มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งสารสกัด
mgTAE/ g สารสกัด	มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมสารสกัด
mgTAE / g dry weight	มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งกรัม
IC_{50}	Inhibition Concentration 50 %
CC_{50}	Cytotoxicity Concentration 50 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ลักษณะทั่วไปของหน่อไม้ฝรั่ง (Asparagus) หน่อไม้ฝรั่ง เป็นพืชผักที่ได้รับความสนใจมากในปัจจุบัน เพราะเป็นพืชที่มีแนวโน้ม ในด้านความต้องการของตลาดสูง ทั้งการส่งออกในรูปหน่อสดและอุตสาหกรรมแปรรูป ดังนั้นเกษตรกรจึงเริ่มหันมาปลูกหน่อไม้ฝรั่ง กันมากขึ้น ๆ หน่อไม้ฝรั่งที่พบเห็นอยู่ทั่ว ๆ ไป มีทั้งชนิดหน่อสีขาวซึ่งใช้สำหรับแปรรูป มีปลูกกันมากที่จังหวัด สุพรรณบุรี และชนิดหน่อสีเขียว ซึ่งใช้รับระทานสด มีปลูกกันมากที่จังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี นนทบุรี และนครราชสีมา ไม่ว่าจะเป็นหน่อชนิดใดก็ตาม การปลูกจะมาจากพันธุ์เดียวกัน หรืออาจจะปลูกจากต่างพันธุ์กันก็ได้ แต่จะให้ผลผลิตหน่อสีขาว หรือสีเขียวขึ้นอยู่กับวิธีการปฏิบัติซึ่ง แตกต่างกัน ถ้าต้องการให้ได้หน่อสีขาว ในขณะที่ประเทศไทยนั้นสามารถปลูกและเก็บเกี่ยว หน่อไม้ฝรั่ง ได้ตลอดทั้งปี เราจึงควรใช้ความได้เปรียบนี้ผลิตหน่อไม้ฝรั่งเพื่อการส่งออกในช่วงเวลาที่ประเทศเหล่านั้นไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ อันเนื่องมาจากฤดูกาลไม่เหมาะสม เนื่องจากหน่อไม้ฝรั่งเป็นพืชค่อนข้างใหม่ เทคโนโลยีการผลิตที่เหมาะสม สำหรับประเทศไทย อยู่ในขั้นกำลังพัฒนา แม้ว่าจะมีการปลูกหน่อไม้ฝรั่งในประเทศไทยมานานแล้วก็ตาม แต่วิธีการปลูก พันธุ์ที่ใช้ปลูก การปฏิบัติดูแล รักษา ตลอดจนเทคนิคต่าง ๆ ในการเพิ่มผลผลิตและวิธีการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อให้ได้หน่อที่มีคุณภาพที่ดีที่สุดเป็นที่ต้องการ ของตลาดยังไม่เป็นที่เปิดเผยมากนัก หน่อไม้ฝรั่งเป็นพืชผักประเภทใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีอายุหลายปี

ในปัจจุบันได้มีการใช้พืชที่มีฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระมาทดสอบ โดยถือว่าได้มีการยอมรับกันอย่างแพร่หลายและมีแนวโน้มว่าจะมีงานวิจัยที่ใช้สารสกัดจากพืชเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งจะนำไปสู่งานวิจัยเพื่อทดสอบการใช้สารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ มีการนำสารสกัดจากพืชมาใช้ในการทดสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งจุลินทรีย์โดยงานวิจัยนี้ได้เห็นถึงความสำคัญในการนำลำต้น ใบ รากของหน่อไม้ฝรั่งที่เหลือจากการตัดยอดอ่อนไปแล้วมานำมาทดสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การยับยั้งจุลินทรีย์ต่างๆ โดยที่สารสกัดจากหน่อไม้ฝรั่งได้จัดเป็นพืชชนิดหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ทดสอบด้วยเช่นกัน

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. ศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ของส่วนต่างๆของต้นหน่อไม้ฝรั่ง โดยการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) สารประกอบแทนนิน แอนโทไซยานิน ฟลาโวนอยด์ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย เชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial) ของสารสกัดจากราก ใบ และลำต้นของหน่อไม้ฝรั่ง

3. เพื่อศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดจากราก ใบ ลำต้นของหน่อไม้ฝรั่ง

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนใบ ลำต้น และรากของหน่อไม้ฝรั่ง ที่พบในจังหวัดสุพรรณบุรี ด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 โดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ จากนั้นนำมาทดสอบด้วยวิธี DPPH และหาปริมาณฟินอลิก แทนนิน ฟวาโวนอยด์ แทนนินและแอนโทไซยานินทั้งหมดและทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ และศึกษาความเป็นพาต่อเซลล์ (MTT Cytotoxicity assay) เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากส่วนของราก ใบและลำต้นของต้นหน่อไม้ฝรั่ง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.ทำให้ทราบถึงผลของการใช้สารสกัดส่วนราก ใบ และลำต้นของต้นหน่อไม้ฝรั่งที่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

2.สามารถนำไปประยุกต์ใช้ทางการแพทย์หรือพัฒนาเพื่อใช้กับยารักษาโรคและหลีกเลี่ยงอันตรายจากสารเคมีช่วยเพิ่มความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

3.เป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าของหน่อไม้ฝรั่งให้เกิดประโยชน์สูงสุด

4.เป็นข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อหน่อไม้ฝรั่งสำหรับผู้ที่สนใจใช้ในการศึกษาวิจัยและค้นคว้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ต้นหน่อไม้ฝรั่ง (*Asparagus officinalis* L.)

รูปที่ 2.1 ต้นหน่อไม้ฝรั่ง

ที่มา : http://poonitafarm.blogspot.com/2012/04/blog-post_29.html (สืบค้นวันที่2/1/2559)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Asparagus officinalis* L.

ชื่อสามัญ : Asparagus

วงศ์ : Liliaceae

สถานที่พบ : พบได้ทั่วไปส่วนมากพบได้ที่จังหวัด สุพรรณบุรี และชนิด หน่อสีเขียว ซึ่งใช้รับปประทานสด มีปลูกกันมากที่จังหวัดนครปฐม กาญจนบุรี นนทบุรี และนครราชสีมา

2.1.1 ลักษณะทางพฤษศาสตร์

หน่อไม้ฝรั่งประกอบด้วย

1. ราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รากของหน่อไม้ฝรั่งมี 2 ชนิดคือ รากเนื้อ หรือรากแก้ว (fleshy root หรือ tuberous root) และรากฝอย (fibrous root)

1.1 รากเนื้อ เกิดจากส่วนตาของลำต้นใต้ดิน (root stock) มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1/8 - 1/4 นิ้ว ทำหน้าที่เก็บสะสมอาหารและยึดลำต้นให้ตั้งอยู่ได้ เป็นรากที่ดูดซึมอาหารได้ดีเท่ารากฝอย ที่ผิวนอกของรากเนื้อมีรากขนอ่อน (root hair) ปกคลุมอยู่ทั่วไป รากเนื้อจะแผ่ขยายได้ปีละ 1 ฟุต สำหรับความลึกของการหยั่งรากขึ้นอยู่กับความลึกของหน้าดิน ความลึกของระดับน้ำใต้ดิน และความชื้นในดิน โดยทั่วไปจะสามารถหยั่งลึกลงไปในดินได้มากกว่า 1 เมตร จึงควรเลือกปลูกหน่อไม้ฝรั่งในดินที่มีหน้าดินลึก

1.2 รากฝอย เป็นรากที่แตกออกจากรากเนื้อ ทำหน้าที่ดูดซึมอาหารในดิน (absorptive root) และยึดเหนี่ยวให้ดินตั้งอยู่ได้ ปกติจะทำหน้าที่ได้เพียง 1 ปี ก็จะหายไป

รูปที่ 2.2 ลักษณะรากของหน่อไม้ฝรั่ง

ที่มา : http://zen-hydroponics.blogspot.com/2014/08/asparagus.html (สืบค้นวันที่ 3/1/60)

1.3 ลำต้นและใบ

ส่วนของลำต้นใต้ดิน (root stock หรือ rhizome หรือ crown) ติดอยู่กับส่วนราก ส่วนของลำต้นเหนือดินจะเจริญมากจากตาข้างของลำต้นใต้ดิน เมื่อเจริญขึ้นมาเป็นยอดแล้วเรียกว่า ตายอด (bud shoot) หรือสเปียร์ หรือหน่อ ปลายของหน่อจะปกคลุมด้วยใบแท้ ซึ่งต่อมาเมื่อหน่อเจริญขึ้น จะเห็นใบแท้เป็นเกล็ดบาง ๆ อยู่บริเวณข้อ ลำต้นเหนือดินจะมีความสูงประมาณ 90-120 เซนติเมตร มีลักษณะคล้ายเฟิร์น ส่วนที่เห็นว่าเป็นใบนั้นแท้จริงแล้วไม่ใช่ใบจริง ๆ แต่เป็นกิ่งก้านที่เปลี่ยนไป ทำหน้าที่แทนใบ เรียกว่า คลาโดด (cladodes) หรือคลาโดฟิล (cladophyll) ซึ่งเป็นส่วนที่สร้างอาหารให้แก่ต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.3 ลักษณะลำต้นใบหน่อไม้ฝรั่ง
ที่มา : ถ่ายไว้วันที่ 14 สิงหาคม 2559

1.4 ดอกและผล

หน่อไม้ฝรั่งเป็นพืชที่มีต้นตัวผู้และต้นตัวเมียแยกต้นกันคือ มีต้นที่ให้ดอกตัวผู้ และต้นที่ให้ดอกตัวเมียอย่างละเท่า ๆ กัน ซึ่งต้องอาศัยแมลงเป็นตัวช่วยผสมเกสร สำหรับต้นตัวผู้อาจให้ดอกที่เป็นดอกสมบูรณ์เพศ แต่น้อยมาก ในประเทศที่มีอากาศร้อนชื้นเช่นในประเทศไทยนั้น ต้นกล้าหน่อไม้ฝรั่งจะเจริญเติบโตเร็วมาก ภายในเวลา 4 เดือน นับจากวันงอก ต้นหน่อไม้ฝรั่งก็จะออกดอก การจำแนกว่าต้นใดเป็นตัวผู้ และต้นใดเป็นตัวเมีย สังเกตดูได้จากลักษณะดอกดังนี้

1.4.1 ดอกตัวผู้ มีลักษณะเป็นรูประฆัง มีสีเขียวแกมเหลือง มีขนาดดอกใหญ่ และยาวกว่าดอกตัวเมีย ดอกส่วนใหญ่จะอยู่ตามข้อ และอยู่เป็นกลุ่ม ๆ ละ 2-3 ดอก ภายในดอกประกอบด้วยอับเรณู 6 อัน และเกสรตัวเมียที่ไม่สมบูรณ์

1.4.2 ดอกตัวเมีย มีขนาดเล็ก มองเห็นได้ชัดเจน และมีไม่มากเหมือนดอกตัวผู้ ประกอบด้วยเกสรตัวผู้ 6 อัน ที่ไม่สมบูรณ์ รังไข่ 3 พู และก้านเกสรตัวเมียขนาดสั้น ดอกตัวเมียและดอกสมบูรณ์เพศจะให้ผลแบบเบอรี่ (berry) ขนาดเล็ก ขณะที่ผลยังอ่อนอยู่จะมีสีเขียว เมื่อผลแก่จะเปลี่ยนเป็นสีแดง ผลมีรูปร่างค่อนข้างกลม โดยปกติแต่ละผลจะมี 3 เมล็ด บางผลมีถึง 6 เมล็ด เมล็ดมีสีดำรูปร่างกึ่งกลมกึ่งเหลี่ยม มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1/8 นิ้ว

โดยปกติหน่อไม้ฝรั่งที่ให้ดอกตัวผู้ หรือเรียกง่าย ๆ ว่า ต้นตัวผู้ โดยเฉลี่ยจะได้หน่อสดมากกว่า และนานกว่าต้นตัวเมีย แต่ต้นตัวเมียจะให้หน่อสดที่มีขนาดเฉลี่ยแล้วใหญ่กว่าหน่อสดของต้นตัวผู้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.4 ลักษณะผลและดอกของหน่อไม้ฝรั่ง

ที่มา : http://zen-hydroponics.blogspot.com/2014/08/asparagus.html (สืบค้นวันที่ 3/1/60)

2.1.2 ประเภทของหน่อไม้ฝรั่ง

หน่อไม้ฝรั่งที่นิยมปลูกกันในประเทศไทยมี 2 ลักษณะคือ ปลูกแบบหน่อเขียว และปลูกแบบหน่อขาว

- หน่อเขียว คือ หน่อไม้ฝรั่งที่มีการปล่อยให้หน่ออ่อนงอกพ้นเหนือดิน และได้รับแสงแดดอย่างเพียงพอ จึงทำให้ได้หน่อที่มีสีเขียว ปกติจะใช้บริโภคสด หรือแช่แข็ง เพื่อส่งออกไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ การปลูกหน่อไม้ฝรั่งแบบหน่อเขียวนี้ จะแตกต่างจากการปลูกแบบหน่อขาว เนื่องจากผู้ปลูกต้องควบคุมคุณภาพของหนอให้ได้มาตรฐานคือ ต้องให้หน่อมีความยาวประมาณ 20-30 เซนติเมตร และให้มีความเขียวของหน่อวัดจากปลายยอดลงมาไม่ต่ำกว่า 18 เซนติเมตร นอกจากนี้ปลายของหน่อ ซึ่งมีก้านใบเล็ก ๆ จะต้องไม่บาน หน่อไม่โค้งหรือคดงอ และมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไม่ต่ำกว่า 0.8 เซนติเมตร จึงจะขายได้ราคาดี
- หน่อขาว คือ หน่อไม้ฝรั่งที่มีการใช้ดิน หรืออินทรีย์วัตถุกลบ หรือคลุมโคนต้น เพื่อไม่ให้หน่ออ่อนถูกแสงแดด จึงทำให้หน่อที่ได้เมื่อถอนออกมามีสีขาว หน่อขาวไม่จำเป็นต้องรักษาคุณภาพในเรื่องรูปร่าง และขนาดมากเหมือนกับหน่อเขียว เนื่องจากหน่อขาวจะต้องนำมาลอกเปลือก หรือตัดส่วนที่มีตำหนิออกก่อนที่จะนำไปบรรจุลงในกระป๋อง ดังนั้นหน่อขาวจึงขายได้ราคาถูกกว่าหน่อเขียว

ปัจจุบันนี้ พื้นที่ปลูกหน่อขาว (สุพรรณบุรี กุยบุรี ระยอง) ได้เปลี่ยนมาปลูกหน่อเขียวมากขึ้น เนื่องจากหน่อขาวต้องปลูกเป็นอุตสาหกรรม เพื่อส่งโรงงานบรรจุกระป๋อง โรงงานต้องการผลผลิตในแต่ละวันที่คงที่ และมีปริมาณมาก 1-2 ตันต่อวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 พันธุ์หน่อไม้ฝรั่ง

พันธุ์หน่อไม้ฝรั่งที่เกษตรกรใช้ในการปลูกมี 5 พันธุ์คือ

1. แมรี่วอชิงตัน (Mary Washington) เป็นพันธุ์แรกที่ถูกนำเข้ามาปลูกในประเทศไทย พันธุ์นี้ให้ผลดีพอสมควร เหมาะที่จะปลูกทั้งแบบหน่อขาวและหน่อเขียว แต่ปัจจุบันไม่เป็นที่นิยม เนื่องจากให้ผลผลิตต่ำกว่าพันธุ์อื่น ๆ

2. แคลิฟอร์เนีย 500 (California 500) พันธุ์นี้เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตใกล้เคียงกับพันธุ์แมรี่วอชิงตัน จากรายงานของต่างประเทศ หน่อไม้ฝรั่งพันธุ์นี้มีอายุเก็บเกี่ยวเร็ว สามารถปลูกได้ทั้งแบบหน่อขาว และหน่อเขียว

3. แคลิฟอร์เนีย 309 (California 309) พันธุ์นี้จากการทดสอบของศูนย์วิจัยพืชผักเขตร้อน พบว่าเป็นพันธุ์ที่แข็งแรง มีแนวโน้มในการให้ผลผลิตที่ดีกว่า และขนาดของหน่อใหญ่กว่าสองพันธุ์แรก เล็กน้อยพันธุ์นี้สามารถปลูกได้ทั้งแบบหน่อขาว และหน่อเขียว

4. ไฮบริดอิมพีเรียล (Hybrid Imperial) เป็นพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ให้ผลผลิตค่อนข้างสูงกว่า 3 พันธุ์ที่กล่าวมาพันธุ์นี้สามารถปลูกได้ทั้งแบบหน่อขาวและหน่อเขียว

5. บร็อคอินพรู๊ฟ (Brock's Improved) เป็นพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 ซึ่งให้ผลผลิตสูงกว่า 4 สายพันธุ์ที่กล่าว มาจึงทำให้เมล็ดพันธุ์มีราคาแพงมาก เกษตรกรทั่วไปนิยมใช้พันธุ์นี้ปลูก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกษตรกรในเขตจังหวัดนครปฐม ทั้งนี้เพราะทำให้ได้หน่อไม้ฝรั่งที่มีรูปร่าง และขนาดใหญ่ได้คุณภาพตามมาตรฐาน และให้ผลผลิตสูง เกษตรกรสามารถขายได้ทุนคืนในปีแรก และให้ผลกำไรที่ดีในปีต่อ ๆ มา พันธุ์นี้ปลูกได้ทั้งแบบหน่อขาว และหน่อเขียวเช่นกัน

ในปัจจุบันได้มีการนำหน่อไม้ฝรั่งเข้ามาทดลองปลูกอีกหลายพันธุ์ ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ที่ใช้ปลูกแบบหน่อขาวและหน่อเขียว เช่น เจนลิม แฟรงค์ลิม ยูซี 157 บูนลิม แบคลิม และพันธุ์อื่น ๆ ซึ่งยังอยู่ในช่วงของการทดสอบผลผลิตอยู่

2.1.4. คุณค่าทางอาหารของหน่อไม้ฝรั่ง

ในหน่อไม้ฝรั่งเต็มไปด้วยคุณค่าครบเครื่องเรื่องโภชนาการ จนได้รับการกล่าวขานว่าเป็นผักมีประโยชน์ เป็นแหล่งรวมของวิตามินเค วิตามินบี โฟเลต วิตามินซี และวิตามินเอ อุดมไปด้วยวิตามินบีทั้งบี 1 บี 2 บี 3 และบี 6 มีปริมาณโฟลาซินสูง เต็มไปด้วยแร่ธาตุ เช่น สังกะสี ทองแดง ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม และเซเลเนียมมีกากใยสูง มีโปรตีน ประมาณ 3 กรัมต่อน้ำหนัก 5.3 ออนซ์ ไม่มีไขมันหรือโคเลสเตอรอล มีปริมาณเกลือต่ำมาก แต่ละต้นมีแคลอรีน้อยกว่า 4 แคลอรี่ สารกลูตาไธโอน

ประโยชน์ของหน่อไม้ฝรั่งต่อสุขภาพ เป็นอาหารของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ หน่อไม้ฝรั่งเป็นหนึ่งในผักไม่กี่ชนิดที่ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตชนิดที่ เรียกว่า อินูลิน ซึ่งเป็นสารประเภทฟรุกโตสโอลิโกแซคคาไรด์ มีลักษณะเฉพาะคือมีรสชาติที่หวาน คล้ายน้ำตาล แต่จะไม่ถูกย่อยในทางเดินอาหาร จึงไม่ให้พลังงานและไม่เพิ่มระดับน้ำตาลอินูลินจะไปช่วยให้แบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้เพิ่มจำนวนมากขึ้น พร้อมๆ กับยับยั้งการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียตัวร้ายที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงมีประสิทธิภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการต้านมะเร็งหน่อไม้ฝรั่งเป็นอาหารที่มีกลูต้าไธโอนอยู่มากที่สุด ซึ่งกลูต้าไธโอนเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จึงช่วยชะลอความเสื่อมของร่างกาย ช่วยให้ตับขจัดสารพิษออกจากร่างกาย และนำมาใช้รักษาโรคมะเร็งราก ใช้รักษาโรคเกี่ยวกับปัสสาวะ รักษานิ่วในกระเพาะปัสสาวะและนิ่วในไต แก้เมาค้าง มีการศึกษาระบุว่า กรดอะมิโนและแร่ธาตุในสารสกัดจากหน่อไม้ฝรั่ง สามารถจะช่วยแก้อาการเมาค้างและป้องกันเซลล์ตับจากพิษของแอลกอฮอล์ได้ ใช้เป็นยาบำรุงในการแพทย์อายุรเวช อุดมไปด้วยโฟลาซิน ซึ่งเป็นวิตามินที่ช่วยป้องกันภาวะหลอดประสาทของทารกในครรภ์ปิดไม่สนิท (neural tube defects) ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดความพิการและเสียชีวิตในเด็ก มีสรรพคุณมากมายในทางยา ซึ่งใช้กันมาตั้งแต่สมัยโรมันโบราณ ช่วยลดน้ำหนักได้ เช่นเดียวกับผักส่วนใหญ่ หน่อไม้ฝรั่งมีน้ำตาลน้อยมาก ไม่มีไขมัน มีคาร์โบไฮเดรตตัวดี และมีกากอาหารสูง

บางคนจะรู้สึกว่า ปัสสาวะมีกลิ่นฉุนหลังรับประทานหน่อไม้ฝรั่ง กลิ่นฉุนคล้ายกำมะถันนี้จากกระบวนการย่อยกรดอะมิโนบางชนิดของร่างกายนั่นเองซึ่งบางคนอาจไม่รู้สึกเลย

หน่อไม้ฝรั่งจัดเป็นพืชผักเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากสาเหตุ 3 ประการคือ

1. ประเทศไทยมีภูมิอากาศเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของหน่อไม้ฝรั่ง อุณหภูมิเฉลี่ย 25 30 องศาเซลเซียส หน่อไม้ฝรั่งจะเจริญเติบโตได้ดี ไม่มีการพักตัว แต่ในยุโรป สหรัฐอเมริกา และญี่ปุ่น ในช่วงฤดูหนาว หน่อไม้ฝรั่งจะพักตัว จึงไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ แต่ตลาดโลกมีความต้องการบริโภคหน่อไม้ฝรั่งตลอดทั้งปี สมควรที่ประเทศไทยจะต้องพยายามช่วงชิงตลาดนี้ไว้ให้ได้ เพราะเรามีศักยภาพในการผลิตหน่อไม้ฝรั่งที่มีคุณภาพตามตลาดต้องการ

2. การปลูกหน่อไม้ฝรั่งของประเทศไทยมิได้ทำเป็นแปลงขนาดใหญ่คือ 1,000 - 2,000 ไร่ อย่างในสหรัฐอเมริกา ซึ่งต้องใช้เครื่องทุ่นแรง และเครื่องจักร ในการผลิตก็ใช้แรงงานคนที่มีค่าจ้างแรงงานสูง จะไม่คุ้มต้นทุน เมื่อปลูกเป็นอุตสาหกรรมในพื้นที่ขนาดใหญ่ การเก็บเกี่ยวผลผลิตบางช่วงจะล้นตลาด ทำให้มีปัญหา แต่การปลูกหน่อไม้ฝรั่งในประเทศไทย เกษตรกรแต่ละรายมีพื้นที่ปลูก 25 ไร่ หรือ 10 ไร่ การเริ่มต้นปลูกก็ทำไม่พร้อมกัน ผลผลิตจึงออกสู่ตลาดได้ตลอดปี และปริมาณผลผลิตก็ทยอยออกมา ช่วงที่ประเทศไทยผลิตได้ยากคือ ช่วงที่มีฝนตกชุก และตกติดต่อกันนานหลายวัน ส่วนในฤดูหนาวจะมีผลผลิตออกมาก และมีคุณภาพสูงกว่าช่วงอื่น ๆ ซึ่งในระยะนี้ สหรัฐอเมริกา ยุโรป และญี่ปุ่น หน่อไม้ฝรั่งพักตัวไม่มีผลผลิตออก จึงเป็นโอกาสทองของประเทศไทยที่สินค้าหน่อไม้ฝรั่งหน่อเขียวเป็นที่ต้องการของตลาดโลก

3. หน่อไม้ฝรั่งเป็นพืชที่เกษตรกรปลูกแล้วมีรายได้ดี ไม่ขาดทุน แต่เกษตรกรต้องเป็นผู้ที่ขยันทำงานในแปลงปลูกอย่างสม่ำเสมอ หมั่นหาความรู้และประสบการณ์ด้วยตัวเอง และหาความรู้เพิ่มเติมจากผู้ปลูกแหล่งอื่น ๆ และจากนักวิชาการภาครัฐ เช่น กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน เป็นต้น นอกจากนั้นเกษตรกรต้องเลือกส่งผลผลิตให้พ่อค้าคนกลาง หรือบริษัทผู้ส่งออกที่ซื่อสัตย์ และเลือกคบกับผู้ทำการค้าหน่อไม้ฝรั่งอย่างต่อเนื่อง ก็จะทำให้เกษตรกรผู้ปลูกหน่อไม้ฝรั่ง ประสบความสำเร็จในการปลูก และได้เงินจากการขายหน่อไม้ฝรั่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากหน่อไม้ฝรั่งเป็นพืชค่อนข้างใหม่ เทคโนโลยีการผลิตที่เหมาะสมสำหรับประเทศไทยอยู่ในขั้นกำลังพัฒนา แม้ว่าจะมีการปลูกหน่อไม้ฝรั่งในประเทศไทยมานานแล้วก็ตาม แต่วิธีการปลูก พันธุ์ที่ใช้ปลูก การปฏิบัติดูแลรักษา ตลอดจนเทคนิคต่าง ๆ ในการเพิ่มผลผลิต และวิธีการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อให้ได้หน่อที่มีคุณภาพดีที่สุดเป็นที่ต้องการของตลาด ยังไม่เป็นที่เปิดเผยมากนัก

2.2 การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพร (Extraction of Active Constituents from Medicinal Plant) (รัตนา, 2547)

วัตถุประสงค์ของการสกัดคือ เพื่อสกัดแยกสารสำคัญให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น หลังจากที่ทำการเตรียมตัวอย่างแล้วควรเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมกับชนิดของสารสกัดที่ต้องการสกัด โดยตัวทำละลายควรมีความสามารถในการละลายสารสำคัญมากที่สุดและไม่ละลายหรือละลายองค์ประกอบอื่นได้น้อย (มีความจำเพาะสูง) เนื่องจากสารสำคัญส่วนใหญ่เป็นสารประกอบอินทรีย์ ดังนั้นควรพิจารณาถึงสภาพหรือรูปแบบของสารที่ต้องการสกัดนอกเหนือจากความมีขั้วของสารดังกล่าวในการเลือกตัวทำละลายมีหลักการโดยทั่วไปว่าถ้าสารสำคัญมีคุณสมบัติเป็นสารที่มีขั้วก็ควรเลือกตัวทำละลายที่มีขั้วเช่นเดียวกันในการสกัด อีกทั้งตัวทำละลายที่ใช้จะต้องมีความคงตัวหาง่าย ราคาถูกไม่เป็นพิษต่อร่างกายและไม่ระเหยง่ายเกินไป

2.2.1 น้ำยาสกัดหรือตัวทำละลาย (ภัทราพรและคณะ, 2553)

2.2.1.1 น้ำจัดเป็นตัวทำละลายที่ดี หาง่าย และราคาถูก แต่การใช้อย่างเดียวเป็นตัวทำละลายมีข้อเสียหลายประการคือสามารถละลายองค์ประกอบที่ไม่ต้องการเอาออกมาได้มากเช่นเดียวกับสารที่ต้องการ สารเฉื่อยที่ละลายออกมากับน้ำ เช่น น้ำตาล แป้งล้วน เป็นอาหารที่ดีของเชื้อจุลินทรีย์จึงทำให้เกิดการบูดเสียของสารสกัดเนื่องจากจุลินทรีย์ได้นอกจากนี้น้ำระเหยได้ที่อุณหภูมิสูงถ้าต้องการให้สารสกัดมีความเข้มข้นจะต้องใช้อุณหภูมิสูงในการระเหยน้ำออกไปซึ่งอาจเกิดความเสียหายกับสารสำคัญได้

2.2.1.2 เอทิลแอลกอฮอล์จัดเป็นตัวทำละลายที่ดีมากเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำ เอทิลแอลกอฮอล์มีข้อดีกว่าน้ำคือมีความจำเพาะในการละลามากกว่าน้ำเนื่องจากสามารถละลายองค์ประกอบที่ต้องการออกมาได้มากกว่ามีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และหากต้องการให้สารสกัดเข้มข้นขึ้นจะระเหยได้ง่ายแต่จะมีราคาแพงกว่าน้ำ

2.2.1.3 คลอโรฟอร์ม (chloroform) และอีเทอร์ (ether) จัดเป็นตัวทำละลายที่มีขั้ว (polarity) ปานกลางใช้สกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้ว (non- polar component) ไปจนถึงสารที่มีขั้วปานกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.4 เมทานอล (methanol) จัดเป็นตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารที่มีขั้ว (polarity active constituent) เช่นเดียวกับเอทิลแอลกอฮอล์ แต่นิยมใช้เอทิลแอลกอฮอล์มากกว่าเพราะราคาถูกกว่า และเป็นพิษน้อยกว่า

2.2.2 การเลือกตัวทำละลาย

หลักการของตัวทำละลายคือสารที่มีขั้วเหมือนกันจะสามารถเข้าด้วยกันได้ ดังนั้นการใช้ตัวทำละลายในการสกัดก็เปรียบเสมือนการดึงเอาสารที่มีขั้วเหมือนกับตัวทำละลายออกจากพืชโดยคุณสมบัติของตัวทำละลายที่เหมาะสมและสิ่งที่ควรคำนึงถึงในการเลือกตัวทำละลายมีดังนี้

1) สารที่ใช้ต้องมีความสามารถในกรละลายสารสำคัญออกมาให้มากที่สุดและไม่ละลายสารประกอบอื่นๆหรือละลายได้น้อย
2) มีความคงตัวหาง่ายและราคาถูก
3) ไม่เป็นพิษหรือมีความเป็นพิษต่ำ
4) ไม่ระเหยง่ายเกินไป

2.2.3 การทำสารสกัดให้เข้มข้น (Concentration)

สารสกัดที่สกัดออกมาได้นั้นมีปริมาณและมีความเจือจางสูงทำให้ไม่สามารถนำไปแยกองค์ประกอบของสารได้อย่างสะดวก และเมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพจะไม่มีประสิทธิภาพจึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นก่อนโดยวิธีต่างๆดังนี้

2.2.3.1 การระเหย (free evaporation) เป็นการนำตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (water bath) หรือแผ่นความร้อน (hot plate) วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวหรือเสียสภาพเนื่องจากอุณหภูมิที่ใช้สูงเกินไปดังนั้นการใช้วิธีนี้จึงต้องระมัดระวังในเรื่องอุณหภูมิที่ใช้ให้เหมาะสม

2.2.3.2 การกลั่นในสภาวะสุญญากาศ (Distillation in vacuum) จัดว่าเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุดเป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดหรือสารสกัด โดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำพร้อมทั้งลดความดันให้เกือบสุญญากาศด้วยปั๊มสุญญากาศ (vacuum pump) เครื่องมือที่ใช้เรียกว่า rotary evaporator ประกอบด้วยส่วนต่างๆ 3 ส่วนคือภาชนะบรรจุสารสกัดหยาบที่กลั่น (distillation flask) ส่วนคอนเดนเซอร์หรือตัวควบแน่นไอสารละลาย (condenser) และภาชนะรองรับสารละลายหลังการกลั่น (receiving flask) สารสกัดหยาบที่บรรจุ

ในภาชนะจะแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิได้และหมุนอยู่ตลอดเวลาที่ทำงานเพื่อทำหน้าที่กระจายความร้อนอย่างทั่วถึง ภาชนะบรรจุสารสกัดหยาบนี้จะต่อเข้ากับส่วนที่ควบแน่นซึ่งมีระบบทำความเย็นอยู่ตลอดเวลาโดยทั้งระบบต่อกับระบบสุญญากาศ สารละลายที่ระเหยออกจากภาชนะบรรจุถูกควบแน่นที่บริเวณคอนเดนเซอร์แล้วหยดลงมาในภาชนะรองรับสารละลายกลั่นทั้งนี้สารละลายดังกล่าวสามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์และนำกลับไปใช้ใหม่ได้ ดังรูปที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.5 ลักษณะ rotary evaporator

ที่มา : http://www.merittech.co.th/index.php?lay=show&ac=cat_show_pro_detail&pid=197308 (สืบค้นวันที่ 12/1/60)

2.2.3.3 การทำแห้ง (drying) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดจนแห้งได้ สารสกัดออกมาในสภาพของแข็งหรือกึ่งแข็งมีหลายวิธี เช่น การใช้ความเย็น (Freeze dryer) หรือการ ใช้ความ ร้อน (spray dryer)

2.2.3.4 อัลตราฟิลเตรชัน (Ultrafiltration) เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (membrane)

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ

ในทางเคมี สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือ สารประกอบที่สามารถป้องกันหรือชะลอกระบวนการเกิดออกซิเดชั่น กระบวนการออกซิเดชั่นมีได้หลายรูปแบบ เช่น กระบวนการออกซิเดชั่นที่ทำให้เหล็กกลายเป็นสนิม ทำให้แอปเปิ้ลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือทำให้น้ำมันพืชเหม็นหืน หรือกระบวนการออกซิเดชั่นที่เกิดในร่างกาย เช่น การย่อยสลายโปรตีนและไขมันจากอาหารที่กินเข้าไป มลพิษทางอากาศ การหายใจ ควันบุหรี่ รังสียูวี ล้วยทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายของเราซึ่งสร้างความเสียหายต่อร่างกายได้ ในความเป็นจริงไม่มีสารประกอบสารใดสารหนึ่งสามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นได้ทั้งหมดแต่ละกลไกอาจต้องใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันในการหยุดกระบวนการออกซิเดชั่น

ในอีกทางหนึ่ง กระบวนการออกซิเดชั่นเป็นกระบวนการที่สำคัญต่อร่างกาย เช่น เราใช้ออกซิเจนจากอากาศที่หายใจเข้าไปไปเผาผลาญอาหารที่ร่างกายได้รับให้เป็นพลังงานสำหรับการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำงานของเซลล์ต่างๆ แต่ก็ทำให้เกิดอนุมูลอิสระเป็นผลพลอยได้ อนุมูลอิสระต่างๆ ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่สำคัญในร่างกาย เช่น ไขมัน โปรตีน ดีเอ็นเอ ทำให้เกิดความเสียหายต่อโมเลกุลดังกล่าว ตัวอย่างเช่น เมื่ออนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับแอลดีแอล (LDL : low - density lipoprotein) ซึ่งเป็นโคเลสเตอรอลตัวเลว ทำให้เกิดออกซิไดซ์แอลดีแอล (oxidized LDL) ซึ่งมีหลักฐานยืนยันว่าออกซิไดซ์แอลดีแอล เป็นสาเหตุของการเกิดภาวะหลอดเลือดแดงแข็ง ทำให้เกิดการอุดตันของหลอดเลือดและเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคหัวใจ

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายเนื่องจากมีมูลเหตุจากออกซิเจนจึงมีชื่อเรียกเป็นภาษาอังกฤษว่า reactive oxygen species (ROS) อนุมูลอิสระที่สำคัญ ได้แก่

ซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน (superoxide anion) O2-o

ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide); H2 O2

ไฮดรอกซิลแรดดิเคิล (hydroxyl radical); oOH

2.3.1 บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระ

ทำไมการที่สารต้านอนุมูลอิสระสามารถป้องกันหรือกำจัดอนุมูลอิสระได้จึงมีความสำคัย มีงานวิจัยมากมายบ่งชี้ว่า สารต้านอนุมูลอิสระสามารถลดความเสี่ยงต่อโรคโดยเฉพาะโรคเรื้อรังที่สัมพันธ์กับอาหาร เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคสมอง (เช่น อัลไซเมอร์) เป็นต้น รวมทั้งช่วยชะลอกระบวนการบางขั้นตอนที่ทำให้เกิดความแก่ โดยปกติร่างกายสามารถกำจัดอนุมูลอิสระก่อนที่มันจะทำอันตราย แต่ถ้ามีการสร้างอนุมูลอิสระเร็ว หรือมากเกินกว่าร่างกายจะกำจัดทันอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น จะสร้างความเสียหายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อได้ ซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพ สารต้านอนุมูลอิสระลดความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้ ๒ ทาง คือ

1. ลดการสร้างอนุมูลอิสระในร่างกาย
2. ลดอันตรายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ

แหล่งอาหารที่สำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ

วิตามินซี - ฝรั่ง ส้ม มะขามป้อม มะละกอสุก พริกชี้ฟ้าเขียว บร็อกโคลี ผักคะน้า ยอดสะเดา ใบปอ ผักหวาน ผักกาดเขียว

วิตามินอี - น้ำมันจากจมูกข้าวสาลี น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันดอก คำฝอย เมล็ดทานตะวัน เมล็ดอัลมอนด์ จมูกข้าวสาลี

ซีลีเนียม - อาหารทะเล ปลาทูน่า เนื้อสัตว์และตับ บะหมี่ ไก่ ปลา ขนมปังโฮลวีต

วิตามินเอ - ตับหมู ตับไก่ ไข่โดยเฉพาะไข่แดง* น้ำนม พืชผักที่มีสีเขียวเข้ม ผลไม้ที่มีสี เหลืองส้ม เช่น ผักตำลึง ผักกวางตุ้ง ผักบุ้ง ฟักทอง มะม่วงสุก มะละกอสุก มะเขือเทศ

แคโรทีนอยด์ (บีตาแคโรทีน ลูทีน และไลโคฟีน) - ผักที่มีสีเขียวเข้ม ผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม เช่น ผักตำลึง ผักกว้างตุ้ง ผักบุ้ง ฟักทอง มะม่วงสุก มะละกอสุก มะเขือเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

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

2.3.2.1 แคเทคิน (Catechin) เป็นหนึ่งในสมาชิกของตระกูลพอลิฟีนอล-ฟลาโวนอยด์ มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย กลุ่มสแตฟไฟโลคอกคัส (Staphylococcus) ซึ่งดื้อต่อยาหลายชนิด การติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดอันตรายถึงชีวิตได้ แคเทคินยังช่วยควบคุมระดับคอเลสเตอรอลในเลือดของผู้ที่รับประทานอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง และ ยังช่วยป้องกันฟันผุและโรคเหงือกได้อีกด้วย ยังมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่พบว่า แคเทคินอาจช่วยลดอัตราการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารและมะเร็งปอด ช่วยป้องกันการทำลายของดีเอ็นเอ(DNA) จากอนุมูลอิสระและยังช่วยชะลอการเกิดของโรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว แคเทคินพบมาในชาเขียว องุ่น (น้ำองุ่น, ไวน์องุ่น)

2.3.2.2 เรสเวอราทรอล (Resveratrol) สมาชิกสำคัญอีกหนึ่งจากตระกูลพอลิฟีนอลฟลาโวนอยด์ มีการศึกษาพบว่า มันช่วยลดความเสี่ยงของโรคหัวใจและเส้นเลือดในสมองตีบ โดยการยับยั้งการก่อตัวของลิ่มเลือดและไขมันชนิดแอลดีแอล (LDL) ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี และยังพบว่า มันยังช่วยยับยั้งการสร้างเซลล์มะเร็ง และสามารถเปลี่ยนเซลล์มะเร็งร้ายให้กลับคืนเป็นเซลล์ปกติได้ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เรสเวอราทรอล พบในในผิวและเมล็ดขององุ่น (ไวน์แดง) และถั่วลิสง

2.3.2.3 โปรแอนโทไซยานิดินส์และแอนโทไซยานิดินส์(Proanthocyanidins & Anthocyanidins, PCOs) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า โอลิโกเมอริก โปรแอนโทไซยานิดินส์ (OPCs) ฟลาโวนอยด์เหล่านี้เป็นผู้คุ้มกันผนังหลอดเลือดที่ทรงพลัง และยังโดดเด่นในการเชื่อมโยงและสร้างความแข็งแรงให้เส้นสายโปรตีนคอลลาเจน โดยเฉพาะคอลลาเจนบริเวณเนื้อเยื่ออ่อน เส้นเอ็น และกระดูก ด้วยเหตุผลดังกล่าว OPCs จึงช่วยส่งเสริมการไหลเวียนของเลือดไปหล่อเลี้ยงต่อมและอวัยวะทั่วร่างกาย ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการป้องกันและรักษาโรค ช่วยรักษาเส้นเลือดฝอยที่เปราะแตกง่าย เช่น อาการฟกช้ำ เส้นเลือดขอดบริเวณขา และริดสีดวงทวาร และยังมีส่วนสำคัญในการป้องกันโรคกระดูกพรุน OPCs มีคุณสมบัติการละลายน้ำได้ดี ส่งผลให้ช่วยต่อสู้กับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในของเหลวรอบเนื้อเยื่อต่างๆ ได้เป็นอย่างดี เป็นสารต้านอนุมูลอิสระหนึ่งในไม่กี่ตัวที่สามารถผ่านระบบกั้นระหว่าง

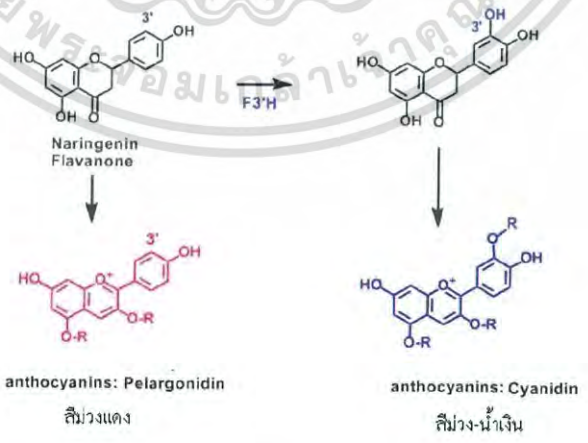
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เส้นเลือดกับสมองได้ ดังนั้น มันจึงสามารถช่วยปกป้องสมองและเนื้อเยื่อประสาทจากการเข้าทำลายของอนุมูลอิสระได้ พบมากใน สารสกัดจากเมล็ดองุ่น และเปลือกสน

สารต้านอนุมูลอิสระจำพวกไบโอฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารที่พบมากในผักและผลไม้ จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง จากการศึกษาวิจัยทางคลินิกแสดงให้เห็นว่า สารอาหารชนิดนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกและเส้นเลือดภายในเนื้องอกได้

2.3.3 แอนโทไซยานิน (anthocyanins)

แอนโทไซยานินมีชื่อย่อมาจากรากศัพท์เดิทของกรีกคือ Anthos แปลวา ดอกไม้แปลว่าสีน้ำเงิน แอนโทไวยานิน จึงหมายถึง ดอกไม้สีน้ำเงิน แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่ละลายนำ (water-soluble pigments) จัดอยู่ในกลุมฟลาวนอยด (flavonoids) สีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไป ตามสภาวะความเปนกรด-ดาง มีสีน้ำเงินเขมในสภาวะที่เปนดาง (pH มากกวา 7) มีสีม่วงเป็นสีปานกลาง (pH 7) และจะเปลี่ยนเป็นสีแดงส้ม สภาวะที่เปนกรด (pH นอยกวา 7) สามารถพบแอนโทไซยานินได้ทั่วไปใน เซลล์เนื้อเยื่อชั้นนอกของดอก ผล ใบ (angiosperms) ยกเว้นในพืช ตะบองเพชร หัวผักกาด ผักจำพวกสาหร่าย บางครั้งปรากฏในส่วนของเนื้อเยื่อพืช (plant tisse) ได้แก่ ราก หัวใตดินของพืช (tber) ลำตน หน่อย่อย (blbil) และพืชเมล็ดเปือย (gymnosperms) ตางๆ เชน เฟรน และ ไบโอไฟต์ (bryophytes) นอกจากแอนโทไซยานินจะทำให้ดอกไม้สีสันสวยงามยังช่วยป้องกันพืชไม่ให ได้รับอันตรายจากสิ่งแวดล้อมและแมลงต่างๆ แอนโทไซยานินจากธรรมชาติสามารถนำมาประยุกตใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มและผลิตภัณฑอื่นๆ ไดหลายชนิด แต่ที่ได้รับความสนใจมากในปัจจุบัน คุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) จึงมีแนวโน้มนำมาประยุกต์ใช้ในด้านสุขภาพและความงาม โดยช่วยลดการเกิดริ้วรอยของผิวจการังสียูวีมลภาะอีกช่วยป้องกันผนังเซลล์ และทำให้เส้นผมเงางามและแข็งแรง



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1103/anthocyanin (วันที่สืบค้น 10/5/1560)

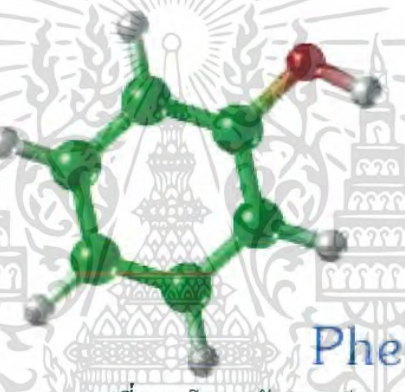
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 สารเคอร์ซีทิน (quercetin)

เป็นสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์มีคุณสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนท์ที่พบในแอปเปิ้ล ผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ และหัวหอม สารเคอร์ซีทินทำหน้าที่เป็น chelating agent ซึ่งจะดักจับไอออนของโลหะเข้าไปในโมเลกุลโดยโครงสร้างของสารเคอร์ซีทินมีตำแหน่ง (binding site) ที่สามารถดักจับไอออนของโลหะเช่น ทองแดงได้ 3 บริเวณคือบริเวณ 3´ , 4´ dihydroxy ของแหวน B บริเวณ 3-hydroxy, 4-keto ของวงแหวน C และบริเวณระหว่างตำแหน่ง 5-hydroxy ของวงแหวน A

2.3.5 ฟีนอล (Phenol)

เป็นสารประกอบอะโรมาติกที่ผลิตได้จากสารประกอบอะโรมาติกชนิดอื่นๆ เช่น เบนซีน โทลูอีน เป็นสารที่ถูกนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตผลิตภัณฑ์เคมีหลายชนิด อาทิ สีย้อม สารเคมีกำจัดวัชพืช และศัตรูพืช ยาในทางการแพทย์ เป็นต้น



รูปที่ 2.7 โครงสร้างของฟีนอล

ที่มา :http://www.siamchemi.com/phenol

(สืบค้นวันที่ 12/1/60)

ฟีนอลมีสูตรเคมี C_6H_5OH เป็นสารสารประกอบที่มีหมู่ hydroxyl (OH) ต่อกับกลุ่มอะโรมาติก มีสถานะเป็นของแข็งสีชมพูอ่อน มวลโมเลกุลเท่ากับ 94.01 กรัม/โมล สามารถละลายได้ดีในแอลกอฮอร์ คาร์บอนเตทตระคลอไรด์ และอะซิติคเอซิด เป็นต้น หากมีหมู่อื่นแทนที่หมู่ OH หรือมาเกาะกับวงแหวนของฟีนอล เช่น CH_3หรือ Cl จะได้เป็นอนุพันธ์ของฟีนอล ซึ่งเรียกแตกต่างกันตามหมู่แทนที่ที่มาเกาะ

2.3.3.1 ประโยชน์ฟีนอล

สารฟีนอลมีการนำมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมหลายประเภท ได้แก่ อุตสาหกรรมปิโตรเคมี, อุตสาหกรรมพลาสติก, สารเคมีในการเกษตร, อุตสาหกรรมผลิตยา, อุตสาหกรรมสารฆ่าเชื้อโรค และน้ำยาทำความสะอาด, อุตสาหกรรมสีย้อม, อุตสาหกรรมสบู่ และกระดาษ เป็นต้น

การใช้ฟีนอล และอนุพันธ์ของฟีนอลในกระบวนการผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สารตั้งต้นพลาสติก
- สารตั้งต้นผลิตยา
- ส่วนผสมของสีย้อม
- สารผสมในการผลิตเส้นใยสังเคราะห์ Nylon 66 และ Nylon 6
- สารผสมสำหรับผลิตเป็นยากำจัดวัชพืช
- สารผสมของน้ำยาฆ่าเชื้อโรค น้ำยาทำความสะอาด ทั้งในด้านครัวเรือน และการเกษตร เนื่องจากฟีนอลมีฤทธิ์ทำลายเชื้อโรคแบคทีเรีย และไวรัสได้
- สารตั้งต้นในการเตรียมสบู่ เช่น O – Cresol, m – Cresol และp – Cresol Hydroquinone และ Pyrogallol ใช้สำหรับล้างฟิล์มถ่ายรูป

ผลกระทบของฟีนอลต่อคนและสัตว์

การปนเปื้อนของฟีนอลสู่สิ่งแวดล้อมมักมีแหล่งกำเนิดมากจากภาคอุตสาหกรรมที่อาจเกิดการแพร่ออกสู่สิ่งแวดล้อมในกระบวนการผลิต กระบวนการจัดเก็บ กระบวนการขนส่ง และกำจัดของเสีย อุตสาหกรรมเหล่านั้น ได้แก่ การผลิตพลาสติก การผลิตยากำจัดศัตรูพืช การฟอกย้อม และสีย้อม อุตสาหกรรมพ่นสีรถยนต์ เป็นต้น หากมีการปนเปื้อนจะทำให้เกิดอันตรายต่อคน สัตว์ ระบบนิเวศ และสิ่งแวดล้อมได้สูง สำหรับความเป็นพิษของฟีนอลแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

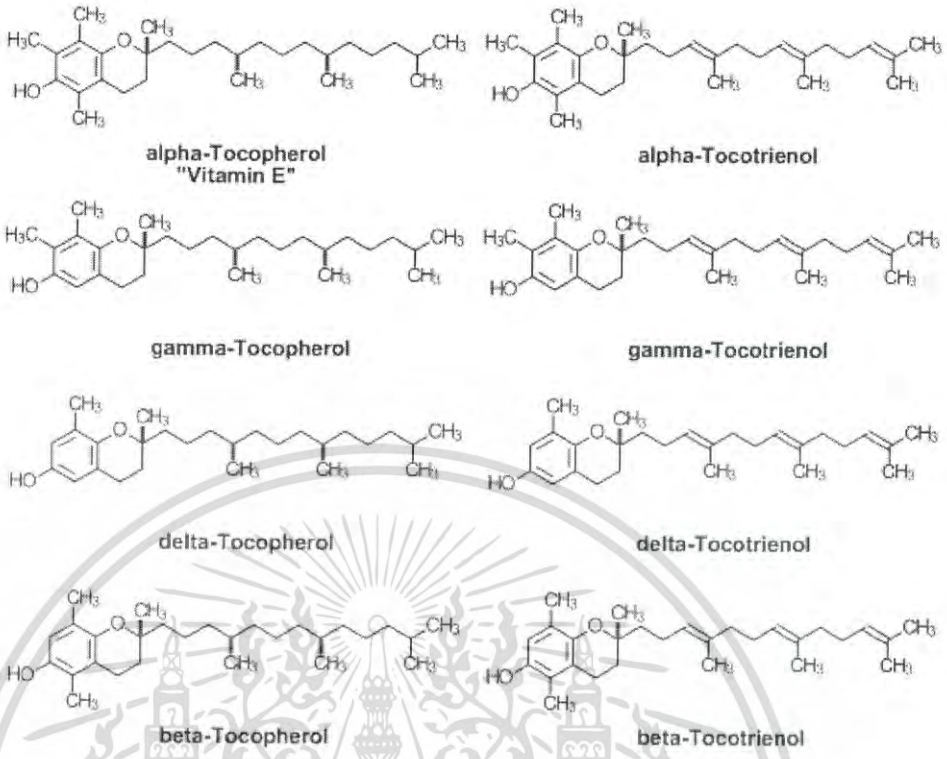
2.3.3.2 การเป็นพิษเฉียบพลัน (acute toxic)อันเกิดจากการสัมผัส จะทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง เยื่อบุตา เยื่อบุระบบทางเดินหายใจ มีอาการวิงเวียนศรีษะ อาเจียน ท้องร่วง และการได้รับสารฟีนอลเข้าทางปากเพียง 4.8 มิลลิกรัม จะทำให้เสียชีวิตได้ภายใน 15 นาที

2.3.3.3 ความเป็นพิษเรื้อรัง (chronic toxic) อันเกิดจากการสัมผัส และได้รับสารฟีนอลเป็นเวลานานจนเกิดการสะสมในร่างกายระยะยาวแล้วเริ่มปรากฏอาการ เช่น ท้องร่วง เบื่ออาหาร ตับวาย และอาจก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้

2.3.5 วิตามินอี (Vitamin E)

เป็นวิตามินที่ละลายได้ดีในไขมัน จากโครงสร้างมีได้หลายไอโซเมอร์ รูปแบบ α-tocopherol เป็นไอโซเมอร์ที่มีฤทธิ์สูงสุดจากบรรดาไอโซเมอร์ทั้งแปด (รูปที่ 2.5) วิตามินอีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญของเมมเบรนซึ่งมีลิพิดเป็นองค์ประกอบ โดยปกป้องไม่ให้เกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 โครงสร้างของวิตามินอี (Vitamin E)

ที่มา : http://www.scimath.org/images/uploads/upload2/vitamin_E.gif (สืบค้นวันที่ 2/2/60)

2.4 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ (จารุวรรณ ,2553)

การทดสอบความไวของเชื้อต่อผลิตภัณฑ์ต้านจุลชีพสามารถทำได้หลายวิธี โดยทั่วไปนิยม 2 วิธีหลักๆ คือ Dilution test และ Diffusion test ซึ่งในการทดสอบจำเป็นต้องคำนึงถึงผลกระทบจากสิ่งต่างๆ เช่น ปริมาณเชื้อเริ่มต้น ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง อุณหภูมิ ตลอดจนเชื้อที่ใช้ในการทดสอบเป็นต้น

2.4.1 Dilution test

เป็นการทดสอบหารปริมาณ เพราะสามารถทราบค่าความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่ทำลายเชื้อได้ นิยมใช้กับเชื้อที่เจริญได้ช้า ใช้ทดสอบยืนยันผลวิธี Dilution test ที่ให้ผลความไวปานกลางหรือดื้อยา เพื่อที่จะสามารถใช้ยานั้นในจำนวนสูงๆได้ และใช้ทดสอบความไวของเชื้อ anaerobe การทดสอบนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.1 Broth dilution method

ทำได้โดยการเจือจางผลิตภัณฑ์ในอาหารเหลวให้ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ลดลงที่ละครึ่งตามลำดับ จนมีความเข้มข้นสุดท้ายที่ต้องการ แล้วเติมเชื้อที่ต้องการทดสอบลงไปเท่ากันทุกหลอด นำไปเพาะเลี้ยงในตู้บ่ม 35-37 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง แล้วนำมาหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration : MIC) โดยดูจากหลอดที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่เชื้อไม่เจริญเมื่อดูด้วยตาเปล่า และนำไปหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถทำลายเชื้อได้ (Minimum Bactericidal Concentration : MBC) โดยนำหลอดเชื้อไม่เจริญทุกหลอดไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ ปริมาณผลิตภัณฑ์ในหลอดที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่มีเชื้อเจริญคือ MBC

การทดสอบด้วยวิธีนี้ค่อนข้างสิ้นเปลืองและใช้เวลามากแต่สามารถอ่านค่าได้ละเอียด ผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อจะมีค่า MIC และ MBC ใกล้เคียงกันส่วนผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อมักมีค่า MIC และ MBC แตกต่างกัน

2.4.1.2 Agar dilution method

ทำได้โดยการเจือจางผลิตภัณฑ์ให้มีความเข้มข้นต่างกัน แล้วผสมกับอาหารวุ้นขณะที่หลอมเหลวที่อุณหภูมิ 45-55 องศาเซลเซียสแล้วเทลงจานแก้ว ให้ผลิตภัณฑ์และวุ้นผสมเข้าด้วยกัน จะสามารถผสมผลิตภัณฑ์กับอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มข้นตามที่ต้องการ เมื่อวุ้นแข็งแล้วนำเชื้อที่ต้องการทดสอบมาแตะเป็นจุดๆให้ห่างกันพอสมควรโดยใช้ loop หรือ multiple inoculators ให้เริ่มเพาะเชื้อจานที่มีความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ต่ำก่อน

ข้อดีของวิธีนี้ คือ สามารถที่จะทำการทดสอบเชื้อหลายชนิดบนจานอาหารเดียวกันได้ถ้ามีเชื้ออื่นๆปนเปื้อนก็สามารถมองเห็นได้ แต่ข้อเสียคือ ไม่สามารถหาค่า MBC ได้

2.4.2 Dilution test

อีกวิธีที่นิยมแพร่หลายคือ Agar well diffusion หากแต่เพียงการทดสอบในเชิงคุณภาพเท่านั้น คือ สามารถบอกได้เพียงว่าเชื้อมีความไวต่อผลิตภัณฑ์ มีความไวปานกลาง หรือไม่ตอบสนองต่อผลิตภัณฑ์

หลักการทั่วไปคือการเจาะหลุมด้วย Cork borer และเติมสารสกัดสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านจุลชีพจากที่หนึ่งซึมไปในอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ได้กระจายเชื้อแบคทีเรียจำนวนที่พอเหมาะไว้แล้วเพาะเลี้ยงเชื้อเจริญเติบโตตรวจวัดผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางฤทธิ์ยับยั้ง (Inhibition zone) ด้วยเวอร์เนียคาร์ลิปเปอร์ (Vernier Caliper)

2.5 ยาต้านจุลชีพ

ยาปฏิชีวนะ

ยาปฏิชีวนะ คือ สารประกอบเคมีที่ได้มาจากธรรมชาติ เช่น จากเชื้อรา หรือจากที่สังเคราะห์ขึ้นมาได้ ซึ่งมีผลต่อต้านหรือทำลายจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ตัวอย่างที่ได้จากธรรมชาติ หรือที่เรียกว่า ยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิชีวนะ ได้แก่ Penicillin G ที่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้นมาได้แก่ยา ซัลฟา และยาต้านจุลินทรีย์กึ่งสังเคราะห์ หรือที่เรียกว่ายาปฏิชีวนะกึ่งสังเคราะห์ได้แก่ Ampicillin

เจนต้าไมซิน (gentamycin) จะออกฤทธิ์ต่อเชื้อแบคทีเรียเหมือนยาในกลุ่ม Aminoglycosides ตัวอื่นๆกล่าวคือ ยาไปยับยั้งการสร้างโปรตีนของเชื้อแบคทีเรียเชื้อที่ไวต่อ ยาเจนตาไมซินได้แก่เชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli, Enterobacter aerogenes Krebsiella pneumonia, Proteus, Pseudomonas aeruginosa , Salmonella, Shigella, Mycoplasma* และ *Paracolobactrum arizonae* เป็นต้น

ซิโปรฟลอกซาซิน (ciprofloxacin) เป็นยากลุ่มฟลูออโรควิโนโลน (fluoroquinolones) ใช้สำหรับรักษาการติดเชื้อตามส่วนต่างๆของร่างกาย ออกฤทธิ์โดยฆ่าเชื้อแบคทีเรียหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามยาเหล่านี้ไม่เหมาะสมสำหรับการรักษาไข้หวัดหรือการติดเชื้อไวรัส อาจใช้ในกรณีอื่นตามดุลยพินิจแพทย์

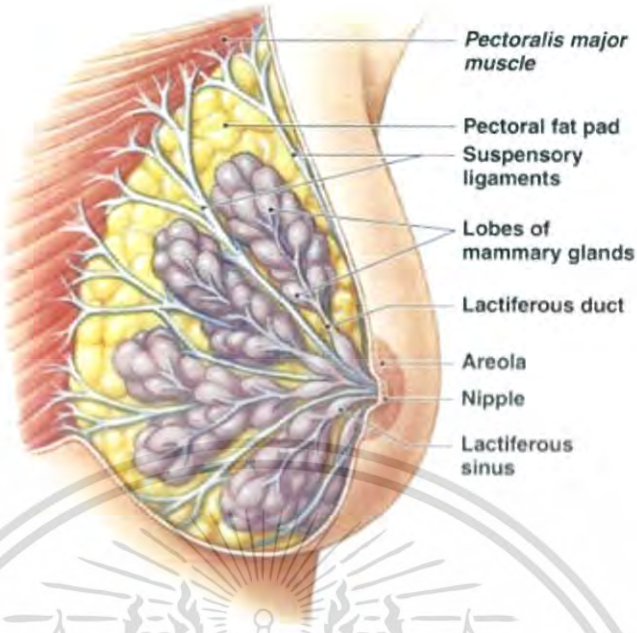
2.6 มะเร็งเต้านม

2.6.1 เต้านม

เต้านมในสตรีเป็นอวัยวะที่มีความสำคัญในการสร้างน้ำนมสำหรับเลี้ยงทารก น้ำนมจากเต้านมของมารดาที่ให้แก่บทารกของตัวเองจะมีคุณสมบัติที่เหนือกว่าน้ำนมจากแหล่งอื่นๆในด้านของสารที่ให้ภูมิคุ้มกันต่อโรค ความสะอาด และความประหยัด

เต้านมแต่ละข้างจะประกอบไปด้วยหน่วยย่อยๆ 15-20 หน่วย เป็นเหมือนพูเล็กๆ เรียงตัวกันเป็นวง กระจายออกจากศูนย์กลาง แต่ละพูจะมีหน่วยขนาดเล็กๆ ย่อยลงไปอีกเป็นกระเปาะสำหรับสร้างน้ำนม โดยแต่ละหน่วยดังกล่าวมีท่อเชื้อโยงถึงกัน และท่อจะเปิดรวมที่บริเวณหัวนม ดังรูปที่ 2.6 ในระหว่างหน่วยต่างๆและท่อน้ำนมดังกล่าวจะมีไขมันแทรกอยู่โดยทั่วไปทั้งหมด ด้านหลังของเต้านมจะเป็นกล้ามเนื้อซึ่งคลุมกระดูกซี่โครงเอาไว้ และกล้ามเนื้อเหล่านี้ถือว่าไม่ใช่ส่วนของเต้านม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.9 โครงสร้างของเต้านม

ที่มา : http://www.breastgossip.com (สืบค้นวันที่ 2/2/2560)

เนื่องจากเต้านมเป็นอวัยวะที่เต็มไปด้วยต่อมและเนื้อเยื่อไขมันมากมายระหว่างชั้นของผิวหนัง และผนังช่องอก ซึ่งเนื้อเยื่อไขมันนี่เองที่เป็นตัวกำหนดขนาด และรูปร่างของทรวงอก ขณะที่มีบุตร ต่อมดังกล่าวจะผลิตน้ำนมส่งผ่านท่อน้ำนมไปยังหัวนม ดังนั้นช่วงที่ให้นมลูก ต่อมน้ำนม และท่อต่างๆ จะมีขนาดใหญ่ขึ้น เต้านมยังประกอบไปด้วบเส้นเลือด และน้ำเหลือง โดยน้ำเหลืองจะนำของเสียที่เต้านมขับออกไปยังเนื้อเยื่อขนาดเล็กเท่าเม็ดถั่วเขียวที่เรียกว่า ต่อมน้ำเหลืองบริเวณรักแร้ ซึ่งต่อมน้ำเหลืองจะทำหน้าที่กรอง และทำความสะอาด

โดยปกติขนาดของเต้านมจะเปลี่ยนแปลงตามอายุ และรอบประจำเดือน การหมั่นคลำเต้านมของตนเองจพทให้ทราบถึงลักษณะปกติของเต้า ลักษณะเต้านมในแต่ละช่วงเวลาของรอบเดือนลักษณะไม่เหมือนกัน ช่วงก่อนมีประจำเดือนเต้านมจะตึงและหลังการมีประจำเดือนมาแล้ว เต้านมจะนิ่มขึ้น สำหรับเต้านมในวัยทองจะเหลวนิ่ม เนื่องมาจากต่อมน้ำนมไม่ทำงานสำหรับผู้ที่ตัดมดลูกโดยที่ไม่ได้ตัดรังไข่ เต้านมจะยังคงมีสภาพเดิม

2.6.2 การเกิดมะเร็งเต้านม

มะเร็งเต้านม (Breast cancer) เป็นโรคมะเร็งที่มีความสัมพันธ์กับการมีระดับเอสโตรเจนในเลือดสูงเป็นเวลานาน โดยเป็นมะเร็งที่พบได้บ่อยเป็นอันดับที่ 1-2 ของโรคมะเร็งที่พบได้ในผู้หญิง จะเริ่มพบได้ตั้งแต่วัยสาวเป็นต้นไป และจะพบได้มากขึ้นตามอายุ ส่วนมากจะพบในหญิงที่มีอายุมากกว่า 40 ปี มะเร็งชนิดนี้เป็นโรคมะเร็งของผู้ใหญ่ เพราะจะพบได้สูงขึ้นตั้งแต่อายุ 50 ปีขึ้นไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และมีเพียงประมาณ 5% เท่านั้นที่พบได้ในอายุต่ำกว่า 40 ปีมะเร็งเต้านมเป็นมะเร็งที่พบได้เป็นอันดับ 2 ของโรคมะเร็งที่พบได้ในผู้หญิง โดยคิดเป็นประมาณ 16% ของโรคมะเร็งในผู้หญิงทั้งหมด อัตราการเกิดโรคมะเร็งเต้านมในผู้หญิงจะแตกต่างกันออกไปในแต่ละเชื้อชาติและภูมิประเทศ โดยมีรายงานว่าในภูมิภาคเอเชียจะพบได้ประมาณ 18-26 คนต่อประชากรหนึ่งแสนคน, ในภูมิภาคแอฟริกาพบได้ประมาณ 22-28 คนต่อประชากรหนึ่งแสนคน, ในอเมริกากลางและอเมริกาใต้พบได้ประมาณ 42 คนต่อประชากรหนึ่งแสนคน, ในทวีปยุโรปพบได้ประมาณ 49-78 คนต่อประชากรหนึ่งแสนคน และในอเมริกาเหนือพบได้ประมาณ 90 คนต่อประชากรหนึ่งแสนคน ส่วนในประเทศจากรายงานเมื่อปี พ.ศ. 2544 – 2546 พบว่าผู้หญิงเป็นโรคมะเร็งเต้านมประมาณ 20.9 คน และในผู้ชายประมาณ 0.3 คนต่อประชากรหนึ่งแสนคน

มะเร็งชนิดนี้จะพบได้ในผู้ชายน้อยกว่าผู้หญิงเป็น 100 เท่า ซึ่งข้อมูลในการรักษามะเร็งเต้านมของผู้ชายนั้นยังมีอยู่น้อยมาก เนื่องจากเป็นโรคที่พบได้น้อย ในทางการแพทย์จึงอนุโลมให้ใช้วิธีการดูแลรักษาเช่นเดียวกับผู้หญิง

2.6.2.1 สาเหตุของมะเร็งเต้านม

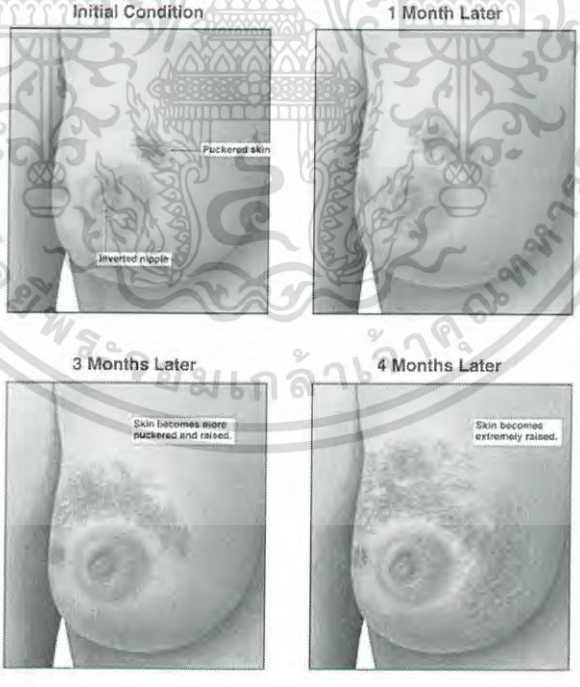
ในปัจจุบันยังไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัดของการเกิดโรคมะเร็งเต้านม (โดยเฉพาะมะเร็งเต้านมในผู้ชาย) โดยพบว่าร้อยละ 5-10 ของผู้ป่วยมีความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ ส่วนปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคนี้ในผู้หญิงมีอยู่หลายปัจจัย ได้แก่ อายุที่มากขึ้น ถือเป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญที่สุดต่อการเป็นมะเร็งเต้านม (สาเหตุรองลงมาคือ ข้อ 2-8 ส่วนข้ออื่น ๆ ถือเป็นปัจจัยที่มีความเสี่ยงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น) โดยจะพบผู้ป่วยเป็นโรคนี้ได้สูงขึ้นตามอายุที่มากขึ้น โดยเฉพาะในผู้หญิงที่มีอายุ 60 ปีขึ้นไปจะยิ่งมีความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านมสูงถึง 50-60% เคยผ่าตัดก้อนเนื้อที่เต้านม และพบว่าเป็นซีสต์เต้านมชนิดที่เริ่มผิดปกติ (Atypia) พันธุกรรม มีประวัติว่าคนในครอบครัวสายตรงเป็นมะเร็งเต้านมหรือมะเร็งรังไข่ (มารดาหรือพี่น้องท้องเดียวกัน) จะมีโอกาสเกิดโรคมะเร็งเต้านมได้สูงกว่า (ถ้ามีญาติเป็นมะเร็งเต้านมก่อนวัยหมดประจำเดือน ยิ่งมากคนก็ยิ่งมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคมะเร็งเต้านมได้มากขึ้น) เชื้อชาติ โดยพบโรคนี้ในคนเชื้อชาติตะวันตกมากกว่าเชื้อชาติเอเชียมีประวัติเคยเป็นมะเร็งเต้านมมาก่อน โดยผู้ป่วยที่เกิดมะเร็งเต้านมขึ้นที่ข้างใดข้างหนึ่งจะมีความเสี่ยงที่จะเกิดมะเร็งเต้านมขึ้นที่อีกข้างหนึ่งเพิ่มขึ้นเป็น 3-4 เท่ามีประวัติการเป็นมะเร็งรังไข่ เนื่องจากมะเร็งรังไข่มีความเกี่ยวข้องกับการสัมผัสฮอร์โมน จึงเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านมได้มีโรคก้อนเนื้อบางชนิดของเต้านม การกลายพันธุ์ของยีน BRCA1 หรือ BRCA2 มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านม การเริ่มมีประจำเดือนครั้งแรกตั้งแต่อายุยังน้อย เนื่องจากพบโรคนี้ได้สูงขึ้นในหญิงที่มีประจำเดือนครั้งแรกก่อนอายุ 12 ปี การมีภาวะหมดประจำเดือนช้า หรือหมดประจำเดือนหลังอายุ 55 ปี การใช้ยาเม็ดคุมกำเนิดตั้งแต่อายุยังน้อยและใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน (เสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านม ก่อนวัยหมดประจำเดือน) การมีลูกคนแรกหลังอายุ 30 ปี การไม่มีลูกหรือมีลูกยาก การใช้ยากลุ่มฮอร์โมนทดแทนหลังวัยหมดประจำเดือนนานเกิน 4 ปี มีภาวะน้ำหนักตัวเกินหรือภาวะอ้วนที่เกิดภายหลังวัยหมดประจำเดือนไปแล้ว เพราะถึงแม้ว่ารังไข่จะหยุดการสร้างฮอร์โมนเอสโตรเจนแล้ว แต่ก็พบว่ายังมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณฮอร์โมนอยู่ในระดับต่ำที่ถูกสร้างจากเนื้อเยื่อไขมันในร่างกาย ดังนั้นถ้าหากมีภาวะอ้วนก็จะทำให้ร่างกายมีระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนสูงขึ้น จึงเป็นการเพิ่มความเสี่ยง ส่วนภาวะอ้วนในผู้หญิงที่ยังมีประจำเดือนนั้นจะไม่ถือเป็นปัจจัยเสี่ยง แต่กลับกันความอ้วนอาจช่วยลดความเสี่ยงจากการเป็นมะเร็งเต้านมในผู้หญิงที่ยังมีประจำเดือนได้อีกด้วยขาด การออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ การรับประทานอาหารที่มีไขมันสูงอย่างต่อเนื่อง การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์จัด การได้รับรังสีในปริมาณสูงตั้งแต่วัยเด็กหรือวัยสาว

2.6.2.2 อาการของมะเร็งเต้านม

ในระยะแรกมักมีอาการไม่ชัดเจน ต่อมาผู้ป่วยจะคลำได้ก้อนที่เต้านม (มักเกิดขึ้นเพียงข้างเดียว ส่วนโอกาสที่จะเกิดทั้งสองข้างมีเพียง 5%) ก้อนที่เป็นมะเร็งเต้านมมักจะมีลักษณะแข็งและขรุขระแต่อาจจะเป็นก้อนเรียบๆก็ได้ ผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งเต้านมส่วนใหญ่จะไม่มีอาการเจ็บหรือปวด แต่จะมีเพียง 10% ของผู้ป่วยเท่านั้นที่มีอาการปวดเต้านม ส่วนอาการอื่น ๆ ที่อาจพบได้แก่ หัวนมบุ๋ม (จากเดิมที่ปกติ) เต้านมใหญ่ขึ้นหรือรูปทรงของเต้านมผิดปกติไปจากเดิม ผิวหนังที่เต้านมบุ๋มลงไปคล้ายลักยิ้ม ผิวหนังที่เต้านมมีผื่น แดง ร้อน และขรุขระคล้ายผิวส้ม อาจมีแผลที่หัวนมและรอบหัวนม หรือมีน้ำเหลืองหรือน้ำเลือดไหลออกจากหัวนม ในบางรายอาจคลำพบก้อนบริเวณรักแร้ และนาน ๆ ครั้งอาจพบมะเร็งเต้านมที่มีอาการบวมแดงคล้ายการอักเสบที่เต้านม ดังรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 ลักษณะเต้านมที่เป็นมะเร็งเต้านม

ที่มา : https://medthai.com (วันที่สืบค้น 2/2/2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2.3 ระยะของโรคมะเร็งเต้านม

โรคมะเร็งเต้านมทั้งในผู้หญิงและผู้ชายจะแบ่งออกเป็น 4 ระยะด้วยกัน เช่นเดียวกันโรคมะเร็งทั่วไป ดังนี้ ดังรูปที่ 2.11 ระยะที่ 0 เป็นระยะที่ก้อนมะเร็งยังมีขนาดเล็กและเซลล์มะเร็งยังอยู่เฉพาะในชั้นผิวของเนื้อเยื่อเต้านม ในระยะนี้หากทำการรักษาอย่างถูกต้องจะมีอัตราการรอดชีวิตเกิน 5 ปี สูงถึง 95-100% (ในระยะนี้ยังไม่จัดว่าเป็นโรคมะเร็งอย่างแท้จริง เพราะโรคยังไม่มีการรุกรานใด ๆ)

ระยะที่ 1 เป็นระยะที่ก้อนมะเร็งที่เต้านมยังมีขนาดเล็กไม่เกิน 2 เซนติเมตร ยังไม่ลุกลามเข้าไปต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ (ระยะที่ 1A – Stage IA) หรือเป็นระยะที่มะเร็งได้ลุกลามเข้าไปต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ (เป็นเซลล์มะเร็งกลุ่มเล็ก ๆ) และยังไม่พบก้อนมะเร็งที่เต้านมหรือพบก้อนมะเร็งที่เต้านม แต่ยังขนาดเล็กไม่เกิน 2 เซนติเมตร (ระยะที่ 1B – Stage IB) ในระยะนี้หากทำการรักษาอย่างถูกต้องจะมีอัตราการรอดชีวิตเกิน 5 ปี สูงถึง 90-100%

ระยะที่ 2 เป็นระยะที่มะเร็งลุกลามเข้าไปต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ 1-3 ต่อม แต่ยังไม่พบก้อนมะเร็งที่เต้านม หรือเป็นระยะที่ก้อนมะเร็งที่เต้านมยังมีขนาดเล็กไม่เกิน 2 เซนติเมตร แต่มะเร็งมีการลุกลามเข้าไปต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ 1-3 ต่อม หรือเป็นระยะที่ก้อนมะเร็งที่เต้านมมีขนาดโตกว่า 2 เซนติเมตร แต่ไม่เกิน 5 เซนติเมตร ที่ยังไม่ลุกลามเข้าไปต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ ในระยะนี้หากทำการรักษาอย่างถูกต้องจะมีอัตราการรอดชีวิตเกิน 5 ปี ประมาณ 85-90%

ระยะที่ 3 ในระยะนี้หากทำการรักษาอย่างถูกต้องจะมีอัตราการรอดชีวิตเกิน 5 ปีอยู่ที่ประมาณ 65-70% โดยจะแบ่งออกเป็น 3 แบบดังนี้

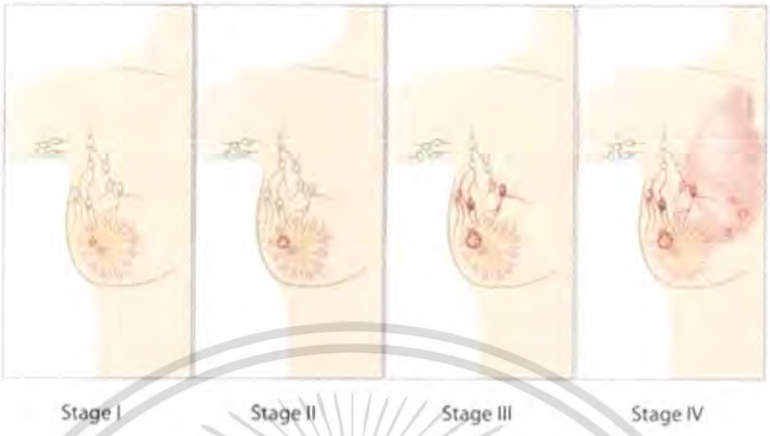
ระยะที่ 3A (Stage IIIA) : เป็นระยะที่ยังไม่พบก้อนมะเร็งที่เต้านมหรือพบก้อนมะเร็งที่เต้านมขนาดใดก็ได้ และมะเร็งได้ลุกลามเข้าไปต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ 4-9 ต่อม หรือพบก้อนมะเร็งที่เต้านมขนาดใหญ่กว่า 5 เซนติเมตร และมะเร็งได้ลุกลามเข้าไปต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ (เป็นเซลล์มะเร็งกลุ่มเล็ก ๆ) หรือลุกลามเข้าไปต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ 1-3 ต่อม

ระยะที่ 3B (Stage IIIB) : เป็นระยะที่พบก้อนมะเร็งที่เต้านมมีขนาดใดก็ได้ และโรคมะเร็งได้ลุกลามไปยังผนังหน้าอกและ/หรือผิวหนังของเต้านมจนก่อให้เกิดอาการบวม และอาจลุกลามเข้าไปต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้หรือต่อมน้ำเหลืองใกล้กับกระดูกหน้าอกจนถึง 9 ต่อม

ระยะที่ 3C (Stage IIIC) : เป็นระยะที่ยังไม่พบก้อนมะเร็งที่เต้านมหรือพบก้อนมะเร็งที่เต้านมขนาดใดก็ได้ และมะเร็งได้ลุกลามเข้าไปต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้มากกว่า 10 ต่อม หรือลุกลามไปต่อมน้ำเหลืองที่ไหปลาร้า หรือลุกลามไปต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้และต่อมน้ำเหลืองที่อยู่ใกล้กับกระดูกหน้าอก

ระยะที่ 4 เป็นระยะที่มะเร็งได้แพร่กระจายเข้าสู่กระแสเลือดและอวัยวะอื่น ๆ ที่พบได้บ่อย คือ ปอด สมอง ตับ กระดูก และไขกระดูก ซึ่งโรคในระยะนี้มักจะไม่หายขาด โดยทั่วไปผู้ป่วยจะมีชีวิตอยู่ได้ประมาณ 1-3 ปี โดยขึ้นอยู่กับอวัยวะที่มีโรคแพร่กระจาย ส่วนอัตราการรอดชีวิตเกิน 5 ปี จะอยู่ที่ประมาณ 0-20%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.11 ลักษณะมะเร็งเต้านมทั้ง 4 ระยะ

ที่มา : http://www.deenews.com/news3966.html (สืบค้นวันที่ 2/2/2560)

2.6.2.4 การรักษามะเร็งเต้านม

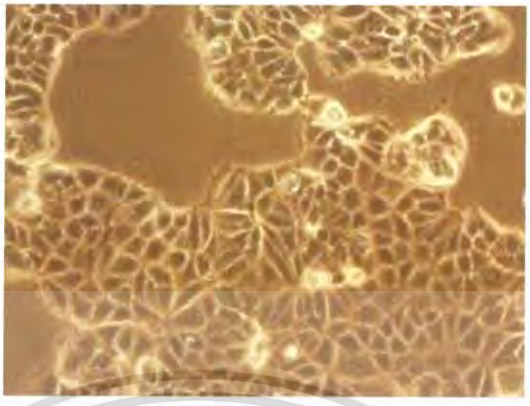
วิธีการรักษามะเร็งเต้านมขึ้นกับระยะของมะเร็งเต้านม มะเร็งบางชนิดอาจจะใช้รักษาโดย การผ่าตัด มะเร็งบางชนิดอาจจะใช้หลายวิธีร่วมกัน วิธีการรักษาประกอบไปด้วย การผ่าตัด การให้รังสีรักษา การให้เคมีบำบัด การให้ฮอร์โมน

2.7 เซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์(Human breast adenocarcinoma: MCF-7)

MCF-7 เป็นตัวย่อมาจาก Michigan Cancer Foundation 7 ซึ่งเป็นเซลล์ไลน์ที่แยกได้ครั้งแรกในปี ค.ศ.1970 จากเนื้อเยื่อบริเวณทรวงอกของหญิงผิวขาวอายุ 69 ปี โดยที่หญิงผู้นี้ได้รับการผ่าตัดเองเอาเต้านมออกถึง 2 ขครั้ง ครั้งแรกเป็นการผ่าตัดเนื้องอกที่ไม่อันตรายออก และในอีก 5 ปีถัดมาเธอได้รับการผ่าตัดอีกครั้งเพื่อจะผ่ามะเร็งเนื้อร้ายที่เกิดขึ้นในเยื่อหุ้มปอด ซึ่งจากครั้งนี้ได้เป็นการผ่าเอาเซลล์ MCF-7 ออกมา

เซลล์ไลน์ MCF-7 มีประโยชน์อย่างมากในการศึกษามะเร็งเต้านมในสภาวะการทดลอง เพราะว่าเซลล์ไลน์เหล่านี้ได้แสดงลักษณะเฉพาะที่เป็นต้นแบบที่ดีสำหรับเซลล์เยื่อบุของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทั้งหลาย รวมไปถึงความสามารถในการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนเอสโตรเจน เพื่อสร้าง estradiol ผ่านตัวรับเอสโตรเจน ในบริเวณไซโตพลาสซึมของเซลล์ นอกจากยังมีความว่องไวต่อไซโตเคราตินเป็นอย่างมาก เมื่อเซลล์ไลน์เหล่านี้เจริญบนภาชนะเลี้ยงที่ใช้ในการทดลอง เซลล์ไลน์เหล่านี้จะมีความสามารถในการสร้างเซลล์ในการสร้างเซลล์ในลักษณะเป็นทรงกลมและมีลักษณะคล้ายเยื่อบุในลักษณะการเจริญแบบ monolayer การเจริญของเซลล์ไลน์เหล่านี้สามารถยับยั้งได้โดยการใช้ tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) หรือการทรีตเซลล์ไลน์ด้วยสาร aniti-estrogen

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.12 ลักษณะเซลล์ไลน์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ MCF-7
ที่มา : http://www.celeromics.com/en/Support/cell-lines/mcf-7.php
(สืบค้นวันที่ 2/2/2560)

2.8 การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์

การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์เป็นวิธีการใช้เซลล์หลายๆชนิดไปทดสอบกับสาร แล้วนำมาวัดความมีชีวิตเพื่อประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ ซึ่งมักจะนำไปประยุกต์ใช้ในงานคัดกรองหาสารที่มีคุณสมบัติออกฤทธิ์ทำลายเซลล์มะเร็งจากสารตัวอย่างหลายๆชนิดหรือประเมินความปลอดภัยของสารที่เป็นองค์ประกอบต่างๆในยา เครื่องสำอาง สารปรุงแต่งอาหาร ยาฆ่าแมลง สารเคมีทางอุตสาหกรรม และสารเคมีที่ปนเปื้อนในสภาพแวดล้อมได้ โดยเริ่มใช้เซลล์สัตว์เป็นแบบจำลองที่เริ่มเป็นที่นิยมใช้มากขึ้นแทนการใช้สัตว์ทดลอง ทำให้การประเมินความเป็นพิษของสารทำได้รวดเร็วและสูญเสียค่าใช้จ่ายในการพัฒนายาหรือผลิตภัณฑ์ลดลง การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์จึงมีการใช้กันมากในการทดสอบการักษาโรคมะเร็งทางเคมี หรือมะเร็งเคมีบำบัดและใช้ในการวิเคราะห์ความปลอดภัยของสารเคมีต่างๆ ต่อเซลล์หรือสารในสภาพแวดล้อม รวมทั้งใช้ในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารเคมีในด้านการเกิดการกลายพันธุ์ (mutagenicity) การเกิดมะเร็ง (carcinogenicity) การเกิดความเป็นพิษเรื้อรัง (chronic toxicity) และการเกิดความเป็นพิษเฉียบพลัน (acute toxicity)

2.9 การตรวจสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยเทคนิค Methyl tetrazolium (MTT)

การวัดการเพิ่มจำนวนของเซลล์(cell suspension) ได้ถูกนำไปใช้ในการศึกษาผลการตอบสนองของเซลล์ที่มีต่อการทดสอบ ซึ่งส่วนใหญ่จะดูความเป็นพิษของสารทดสอบต่อเซลล์ปัจจุบันมีหลากหลายวิธีที่นิยมใช้วัด การเพิ่มจำนวนเซลล์ เช่น การนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต วัดปริมาณดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้น รวมถึงการดูจากกิจกรรมเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ (metabolic activity) ซึ่งสามารถบ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

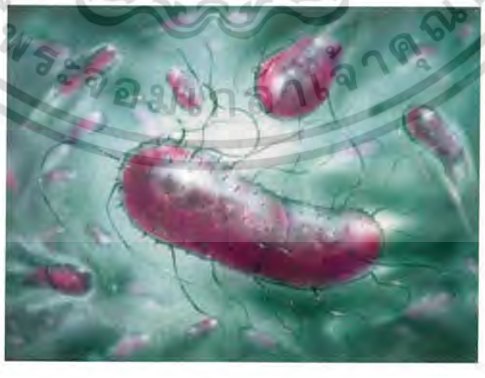
บอกว่าเซลล์ยังมีการใช้พลังงานในการเพิ่มจำนวนอยู่ ในการตรวจสอบการเพิ่มจำนวนด้วยการวัด metabolism มีอยู่หลายวิธีเช่นกัน ยกตัวอย่างเช่น MTT, MTS และ XTT (colorimetric assay)

สาร Methyl tetrazolium (MTT) ที่อยู่ในรูปสารละลายสีเหลืองสามารถเข้าสู่เซลล์ที่มีชีวิตได้ เนื่องจากเซลล์จะนำสาร MTT ไปใช้เสมือนพลังงานของเซลล์ เพราะในทางลักษณะโครงสร้างของสาร MTT ที่มีความคล้ายคลึงกับพลังงานที่เซลล์นำไปใช้ หลักการนี้คือ การวัดสภาวะ reduction environment โดย microchondrial reductase ของไมโตคอนเดรียในเซลล์ โดยสาร MTT เข้าสู่ไมโตคอนเดรียของเซลล์จากนั้นเอนไซม์ succinate dehydrogenase ที่มีอยู่ในไมโตคอนเดรียของเซลล์ที่มีชีวิตจะเปลี่ยนสารละลาย MTT ไปเป็นผลึกฟอร์มาซาน (formazan) ซึ่งมีสีม่วง ดังนั้นจึงสามารถแยกเซลล์ที่มีชีวิตกับเซลล์ที่ตายแล้วออกจากกันได้ โดยเซลลล์ที่มีชีวิตจะมีสีม่วงของผลึกฟอร์มาซาน (formazan) ส่วนเซลล์ที่ตายแล้วนั้นจะมีลักษณะใส ไม่มีสี แต่เนื่องจากผลึกฟอร์มาซานมีความเป็นพิษต่อเซลล์ จึงทำให้เซลล์ตายในที่สุด จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตรด้วยเครื่อง spectrophotometer

2.10 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

2.10.1 เชื้อ *Eschrichia coli*

Escherichia coli เขียนย่อว่า *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) รูปร่างเป็นแท่ง (rod shape) ไม่สร้างสปอร์เป็น facultative anaerobe เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน อยู่ในวงศ์ *Enterobacteriaceae* และเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliform) ประเภท fecal coliform ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น จึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะของอาหารและน้ำ



รูปที่ 2.13 *เชื้อ Eschrichia coli*

ที่มา : http://news-eco.ru/voda/25868-astrahanskaya-obl-v-vodoprovodnoy-vode-obnaruzhena-kishechnaya-palochka.html(online)
(สืบค้นวันที่ 7/3/2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Escherichia coli หรือ *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่น (Normal flora) ที่พบได้ในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น โดยปกติจะไม่ทำอันตรายหรือก่อโรคร้ายแรง เมื่ออยู่ในลำไส้จะช่วยย่อยอาหารที่เรารับประทานเข้าไป แต่หากเชื้อ *E. coli* ลุกฎ้า เข้าสู่ระบบต่างๆ ของร่างกายก็จะทำให้เกิดโรคติดเชื้อรุนแรง เช่น โรคติดเชื้อระบบทางเดินปัสสาวะ โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบ และการติดเชื้อในกระแสเลือด เป็นต้น และมีเชื้อ *E. coli* บางสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคอุจจาระร่วงได้ โดยการปนเปื้อนของเชื้อ ในอาหารหรือฎ้าดื่ม ทั้งนี้เชื้อ *E. coli* ที่สามารถก่อโรคอุจจาระร่วง (Diarrheagenic *E. coli*) จะมีกลไกการก่อโรคและสามารถ สร้างสารพิษได้แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์เช่น เชื้อ Enterotoxigenic *E. coli* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ enterotoxin ทำให้เกิดอาการท้องร่วงแบบเฉียบพลัน ถ่ายเหลวเป็นน้ำ หรือเชื้อ Enterohaemorrhagic *E. coli* ที่สร้างสารพิษ Shiga ทำให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง ถ่ายเป็นมูกเลือด ก่อให้เกิดกลุ่มอาการเม็ดเลือดแดงแตกและไตวายเฉียบพลัน

2.10.2 เชื้อ *Staphylococcus aureus*

Staphyloccus aureus เป็นแบคทีเรียก่อโรค (pathogen) ที่สำคัญในอาหาร แบคทีเรียชนิดนี้ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) มีรูปร่างเป็นทรงกลม (cocus) อยู่รวมกันเป็นพวงคล้ายพวงองุ่น ไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming bacteria ดู bacterial spore ด้วย) ไม่เคลื่อนไหว ส่วนใหญ่ไม่มีแคพซูล ให้ผลบวกในการทดสอบ catalase และในภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะสลายน้ำตาลกลูโคสให้กรดอินทรีย์ จัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobe คือเจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ แต่เจริญได้ดีกว่าในสภาวะที่มีอากาศ*และยัง*สร้างสารพิษ (toxin) ชนิดเอนทีโรทอกซิน (enterotoxin) สารพิษที่สร้างมีสมบัติพิเศษ คือ ทนความร้อน

รูปที่ 2.14 เชื้อ *Staphylococcus aureus*

ที่มา: www.medialabinc.net/reading-gram-stained-smears-cultures.aspx

(สืบค้นวันที่ 7/3/2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Staphylococcus aureus ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ชนิด intoxication ซึ่งเกิดจากบริโภคอาหารที่มีสารพิษ enterotoxin ที่เชื้อสร้างขึ้น ปนเปื้อนในปริมาณน้อยกว่า 1 ไมโครกรัม จะสามารถทำให้เกิดอาการเจ็บป่วยได้ มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน วิงเวียน เป็นตะคริวในช่องท้องและอ่อนเพลีย ผู้ป่วยบางรายอาจมีอาการปวดศีรษะ เป็นตะคริวที่กล้ามเนื้อ และมีการเปลี่ยนแปลงความดันโลหิตเป็นระยะๆ รวมทั้งอาจมีการเต้นของชีพจรผิดปกติ ซึ่งโดยทั่วไปอาการจะดีขึ้นภายใน 2-3 วัน ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับสภาพความต้านทานสารพิษของร่างกาย ปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อในอาหารและปริมาณสารพิษที่สร้างขึ้นในอาหาร รวมทั้งสภาพร่างกายโดยทั่วไปของผู้ที่ได้รับเชื้อด้วย

2.10.3 เชื้อ *Bacillus subtilis*

Bacillus คือ แบคทีเรีย (bacteria) รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) ย้อมติดสีแกรมบวก (Gram positive bacteria) อยู่ในวงศ์ Bacillaceae ซึ่งอยู่ในวงศ์

เดียวกับ Clostridium และ Desulfotomaculum Bacillus เคลื่อนที่ด้วยแฟลกเจลล่า (flaggella) ต้องการออกซิเจนในการเจริญเ (aerobic bacteria) แต่บางชนิดเป็น facultative anaerobe Bacillus เป็นแบคทีเรียที่ทนต่อความร้อน (thermoduric bacteria) ที่สร้างเอนโดสปอร์ (spore forming bacteria) สปอร์แบคทีเรีย (bacterial spore) ของ *Bacillus* จะทนต่อความร้อน ทนต่อความแห้งแล้ง สารเคมี และสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่างๆ ได้ดี *Bacillus* เป็น protiolytic bacteria มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยโปรตีนในอาหารให้เป็นกรดแอมิโน เป็นจุลินทรีย์สาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย (microbial spoilage) และทำให้อาหารที่เน่าเสียเกิดกลิ่นเหม็น

รูปที่ 2.15 เชื้อ *Bacillus subtilis*

ที่มา: http://www.sciencedirect.com/topics/page/Cytopathology

(สืบค้นวันที่ 7/3/2560)

แบคทีเรียในกลุ่ม Bacillus ส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่อุณภูมิปานกลาง (mesophilic bacteria) อุณหภูมิที่เจริญได้ดีอยู่ระหว่าง 30-45 องศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(thermophilic bacteria) ซึ่งเป็นสาเหตุการเสื่อมเสียของอาหารกระป๋อง (canned food spoilage) และยังพบบางสายพันธุ์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ (psychrophilic bacteria) เจริญได้ในค่า pH ช่วงกว้าง ตั้งแต่ 2 ถึง 11 ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ จากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าในสภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญ Bacillus หลายสายพันธุ์ มีระยะเวลาการแบ่งตัว (generation time) ประมาณ 25 นาที

2.10.4 เชื้อ *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis พบเป็นเชื้อประจำถิ่น (normal flora) ที่ผิวหนัง โพรงจมูก รูหูและทางเดินปัสสาวะส่วนปลาย ในอดีตไม่ค่อยเป็นสาเหตุของการติดเชื้อ แต่เนื่องจากมีการใช้ catheters และ prosthesis กันอย่างแพร่หลายมากขึ้น จึงพบว่ามีความสำคัญในการก่อการติดเชื้อในโรงพยาบาลมากขึ้น นอกจากนี้ยากต่อการรักษาเนื่องจา *S. epidermisdis* สามารถสร้างไบโอฟิล์มได้ และมีแบบแผนการดื้อยาไม่แน่นอนและแตกต่างกับ *S. aureus* พบการดื้อยาต่อกลุ่ม penicilinase-resistant penicillin และ cephalosporin มากกว่า *S. aureus* ซึ่งยาทั้งสองกลุ่มนี้ได้ผลดีกับ *S. aureus* การรักษาจึงจำเป็นต้องใช้ผลการทดสอบความไวต่อยาปฏิชีวนะเป็นแนวทาง

รูปที่ 2.16 เชื้อ *Staphylococcus epidermidis*

ที่มา :http://faculty.ccbcmd.edu/courses/bio141/labmanua/lab6/images/ (สืบค้นวันที่ 7/3/2560)

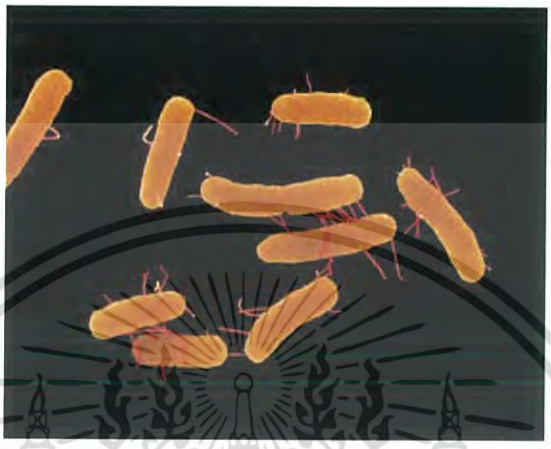
เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม ขนาด 0.5-1.5 ไมโครเมตร อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น ลักษณะโคโลนีขนาดเล็ก สีขาว สามารถเจริญได้ทั้งภาวะที่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย เจริญได้ดีที่อุณหภมิ 37°C

2.10.5 เชื้อ *Salmonella typhimurium*

ซาลโมเนลล่าเป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะรูปท่อนเคลื่อนที่โดยใช้แฟรกเจลลา รอบเซลล์ ต้องการออกซิเจนในการเติบโตอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของเชื้อซาลโมเนลล่าประมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

37 องศาเซลเซียส ช่วง pH ในการเติบโตอยู่ระหว่าง 4.1-9.0 ส่วนค่า Aw (ปริมาณน้ำอิสระในอาหารที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเติบโต) ต่ำที่สุดสำหรับการเติบโตประมาณ 0.93-0.95 เชื้อซาลโมเนลลามีความสามารถในการทนความร้อน



รูปที่ 2.17 เชื้อ *Salmonella typhimurium*
ที่มา: http://mic011-it15.blogspot.com/p/salmonella.html
(สืบค้นวันที่ 8/5/2560)

แหล่งอาศัย/นิเวศวิทยา

เชื้อซาลโมเนลลาสามารถติดต่อจากสัตว์มาสู่คน และสัตว์อื่นๆ เช่น หมูสัตว์ปีก แมลง วัว ควาย สุนัข แมว และม้า เป็นต้น สำหรับการติดเชื้อในคนนั้นส่วนมากจะได้รับเชื้อปะปนมากับน้ำและอาหารและบางครั้งอาจเกิดจากสัตว์เลี้ยงที่อาศัยอยู่ตามอาคารบ้านเรือน ซึ่งเป็นพาหะของเชื้อหรือหากมีผู้ป่วยเป็นโรค Salmonellosis ทำงานที่เกี่ยวข้องกับแปรรูปอาหารแล้วมีสุขลักษณะส่วนบุคคลที่ไม่พอดี เช่นไว้เล็บยาว และหลังจากกลับจากห้องน้ำและมิได้ล้างมือทำให้เชื้อปนเปื้อนไปยังอาหารทำให้เกิดอาการท้องร่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการ

3.1 พืชที่ใช้ในการทดสอบ

ส่วนราก ใบ และลำต้นของต้น (*Asparagus officinalis* L.) หรือต้นหน่อไม้ฝรั่ง จาก จังหวัดสุพรรณบุรี เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนสิงหาคม – กันยายน ปี 2559

ทำการเก็บตัวอย่างโดยการขุดจากไร่แล้วทำการแยกส่วนต่างๆ ได้แก่ ลำต้น ใบ และราก

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

แบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่

Escherichia coli ATCC 25922

Salmonella typhimurium TISTR 5562

แบคทีเรียแกรมบวก

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Bacillus subtilis ATCC 6633

Staphylococcus epidermidis ATCC 1228

3.3 สารเคมี

เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 70 95 และ 99.99

ไดเมทิลวัลฟอกไซด์ (Dimethlyldulfoxide ; DMSO)

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphyl tetrazolium bromide (MTT)

โซเดียมคลอไรด์ (Sodium Chloride; $NaCl_2$)

โพแทสเซียมคลอไรด์ 0.025 M, pH 1.0 (KCL)

โซเดียมอะซิเตท 0.04 M ,pH 4.5 ($CH_3COOHNa$)

เมทานอลร้อยละ 30

ไฮโดรคลอริกร้อยละ 37

สารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ร้อยละ 10 ($AlCl_3$)

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1M (NaOH)

สารละลาย ร้อยละ 5 (Na_2No_2)

สารละลายควอซิติน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดแทนนิก (Tannic acid)

Folin-Denis's reagent

แบเรียมคลอไรด์ร้อยละ 1 (Barium Chloride; $BaCl_2$)

กรดซัลฟลูริกร้อยละ 1 (Sulfuric Acid; H_2SO_2)

สีย้อม Trypan blue

โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate; $NaCO_3$)

วิตามินอี (α-tocopherol)

สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate Buffer; PBS)

Folin-Ciocalteu's reagent

ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาลิน (ciprofloxacin)

ยาปฏิชีวนะเจนต้าไมซิน (gentamicin)

อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Nutrient; NA

อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิด Mueller Hinton Agar; MHA

อาหารเลี้ยงมะเร็งเต้านม RPMI 1640

McFarland No.5

3.4 อุปกรณ์

ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ 37 องศาเซลเซียส

ตู้ปลอดเชื้อชนิดลมเป่า (laminar air flow hood)

หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ (autoclave)

เครื่องอบลมร้อน (hot air oven)

ตู้เย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เครื่องปั่น (Blender)

เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (balance)

ชุดกรองสุญญากาศ

เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (rotary evaporator)

ปากคีบ (forceps)

Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร

ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 10 100 1000 ไมโครลิตร

Multichannel micropipette ขนาด 300 ไมโครลิตร

จานเพาะเลี้ยงเชื้อเซลล์ชนิด 96 หลุม (96-well plate)

ไมโครเพลทรีดเดอร์ (Microplate reader)

หลอดทดลอง (Test tube)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปิเปตแก้วขนาด 1 5 และ 10 มิลลิลิตร

ขวดวัดปริมาตร ขนาด 10 และ 100 มิลลิลิตร (volumetric flask)

ขวด vial

กระบอกตวง ขนาด 1000 มิลลิลิตร

พาสเจอร์ปิเปต

สำลี

เครื่องเขย่าสาร (vortex)

ฮีมาไซโตมิเตอร์ (hemacytometer)

อลูมิเนียมฟลอยด์

กระดาษกรองเบอร์ 5

ไม้พันสำลี

Magnetic Stirrer

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 กระบวนการสกัดสารจากหน่อไม้ฝรั่ง

หน่อไม้ฝรั่งส่วนของ ใบ ลำต้น และราก ชนิดละ 3 กิโลกรัม นำมาผึ่งในที่อากาศถ่ายเทสะดวกไม่มีแสงแดดเป็นเวลา 15 วัน และนำมาอบด้วยตู้อบลมร้อนเพื่อลดความชื้นและหยุดกิจกรรมเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำมาปั่นจนละเอียด และทำการชั่งน้ำหนักของพืชตัวอย่างทุกส่วน จากนั้นนำผงของพืชจากส่วน ใบ ลำต้น ราก มาชนิดละ 100 กรัมใส่ในผ้าขาวบางโดยทำการมัดปลายให้แน่น และใส่ลงในภาชนะโดยใช้เอทานอลเข้มข้น 95 เปอร์เซนต์เป็นสารละลายสกัดเทใส่ลงไปปริมาตร 900 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท แล้วแช่ไว้เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มากรองเพื่อแยกส่วนของตะกอนของพืชตัวอย่างออกจากสารสกัดด้วยกระดาษกรองเบอร์ 2 ด้วยชุดกรองสุญญากาศ จากนั้นนำสารสกัดส่วนใสที่ผ่านการกรองแล้วมาทำให้เข้มข้นขึ้นโดยนำไประเหยเอทานอลออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศและวางใน Water bath อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดหยาบจากหน่อไม่ฝรั่ง ส่วน ใบ ลำต้น และรากที่มีสีเขียวเข้ม สีส้มเข้ม และข้นหนืด จากนั้นเก็บสารสกัดหยาบใส่ในขวดแก้วทำการห่อด้วยอลูมิเนียมฟลอย์และนำไปแช่ตู้เย็นไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจนกว่านำมาใช้ทดสอบ

3.5.2 การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.5.2.1 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทำโดยใช้วิธี Agar Well Diffusion ในการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากพืช นำเชื้อที่ใช้มาทอสอบ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922 *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228*Salmonella typhimurium* *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ทำการทดสอบด้วยวิธีของ Rauha และคณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2000) ดังนี้ ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นโดยถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมไว้ ซึ่งมีความเข้มข้นเซลล์ประมาณ 10^8 CFU/ml โดยปิเปตสารแขวนลอยของเซลล์จุลินทรีย์แต่ละชนิด มาปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton (MHA) จากนั้นนเกลี่ยด้วย ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อให้ทั่วผิวหน้า รอให้ผิวหน้าแห้งแล้วเจาะหลุมด้วยที่เจาะ (Cork-borer) เส้น ผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตรจำนวน 6 หลุมต่อเพลท โดยให้มีระยะห่างเท่ากัน เตรียมสารสกัดจากส่วน ต่างๆของต้นหน่อไม้ฝรั่งเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และใช้ไมโครปิเปต ปิเปตสารสกัดปริมาณ 20 ไมโครลิตรลงในหลุม ส่วนละ 1 หลุมต่อเพลทของเชื้อแต่ละชนิด ปิเปตยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (Gentamicin) ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรลงในหลุมปริมาณ 20 ไมโครลิตรชนิดละหลุม เพื่อใช้เป็นการควบคุมเชิงบวก positive control (+) และปิเปตสารละลาย เอทานอลความเข้มข้น ร้อยละ 95 ลงในหลุมปริมาณ 20 ไมโครลิตร เพื่อใช้เป็นการควบคุมเชิงลบ negative control (-) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยจะทำการทดสอบสารสกัดกับ เชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดทั้ง 5 ซ้ำ ตรวจผลกิจกรรมการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยวัดเส้นผ่าน ศูนย์กลางโซนยับยั้ง (Inhibition zone) ในหน่วยมิลลิเมตร ด้วยเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์

3.5.2.2 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ด้วยวิธีการวิเคราะห์ด้วยสาร DPPH (DPPH reduction scavenging assay) (ปรานอม ,2555) การหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหน่อไม้ฝรั่ง โดยใช้ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ตามวิธีของ Brand-Williams และคณะ(1995) โดยนำสารสกัดมาละลาย ด้วยเอทานอลบริสุทธิ์ร้อยละ 99.9 แล้วปรับความเข้มข้นของสารสกัดหน่อไม้ฝรั่งโดยเจือจางให้ได้ ความเข้มข้นดังนี้ คือ 10,5,2.5,1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรปิเปตสารสกัดแต่ละความเข้มข้นปริมาณ 10 ไมโครลิตร และเติม DPPH ปริมาณ 190 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของจานเพาะเลี้ยงเซลล์ 96 หลุม (96 well plate) โดยใช้ความเข้มข้นละ 5 หลุม จากนั้นนำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้ว นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้วิตามินอี (α-tocopherol) ความ เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และใช้เอทานอล (ethanol)ร้อยละ 99.9 เป็นตัวควบคุม เชิงลบ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ จากสมการดังนี้

$$\%\text{DPPH reduction} = [(A-B)/A]] \times 100$$

A = ค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ (Blank)

B = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.3 การหาปริมาณสารพฤกษเคมี

3.5.3.1 การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่ง

เตรียมสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่งให้มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้เอทานอล 95 เปอร์เซนต์เป็นตัวทำละลาย จากนั้นใส่สารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่งเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลุมของจานเพาะเลี้ยงเซลล์ 96 หลุม (96-well plate) หลังจากนั้นใส่สารละลาย (เตรียมโดยปิเปต Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตไฮดรัสเข้มข้น 75 กรัมต่อลิตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายปริมาตร 80 ไมโครลิตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของสารฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่ง โดยเปรียบเทียบปริมาณเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิคความเข้มข้น 1 0.1 0.01 0.001 และ 0.0001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ (เตรียมโดย 0.01 กรัมปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร)

3.5.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่ง

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่งจะวิเคราะห์ตามวิธีของ Kathirvel และ Sujatha (2012) โดยปิเปตสารสกัดจากหน่อไม้ฝรั่งแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อนละ 30 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตรในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลงไปทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH, Ajax Finechem Pty Ltd., Australia) ให้เข้ากัน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของควอซิตทิน จากนั้นรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด (mg quercetin equivalents (QE/g extract)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของควอซิทิน (Sigma-Aldrich,Switzerland) ที่ระดับความเข้มข้น 10 ถึง 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (1,000, 750,500,250,100,50,25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตรฐานตวอซิติน ที่ความเข้มข้นต่างๆ แทนสารสกัดจากสมุนไพร ส่วนแบลงก์ (blank) ใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อนละ 30 แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระหว่างปริมาณควอซิทินกับค่าการดูดกลืนแสงของควอซิทินจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่มีในตัวอย่างที่วิเคราะห์

3.5.3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่ง

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่ง จะวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Denis (Kathirvel และ Sujatha,2012) ทำได้โดยปิเปตสารสกัดจากหน่อไม้ฝรั่ง แต่ละชนิดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 7.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายโฟลิน-เดนิช (Folin-Denis' reagent, Fluka, Switzerland) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 35 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร พร้อมทั้งผสมให้เข้ากัน จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายให้ได้ 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นแล้วผสมให้เข้ากันอีกครั้ง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรด้วเครื่องสเปกโครโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นั้นมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบแทนนินต่อกรัมของสารสกัด (mg of tannic acid equivalent (TAE/g of extract)

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิก (Sigma-Aldrich, Switzerland) ระดับความเข้มข้น 10 ถึง 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (1,000, 750,500,250,100,50,25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ทำการทดลองตามวิธีการหาปริมาณของสารประกอบแทนนินทั้งหมดด้วยวิธีการเช่นเดียวกับข้างต้น แต่ใช้สารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกที่ความเข้มข้นต่างๆ แทนสารสกัดจากสมุนไพร ส่วนแบลงก์ (blank) ใช้เมทานอลความเข้มข้นร้อนละ 30 แทนสารสกัด เมื่อได้ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารละลายมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแทนนิกกับค่าการดูดกลืนแสงแทนนิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดที่มีในตัวอย่างที่วิเคราะห์

3.5.3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินรวมในสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่ง(ใช้วิธี pH differential)

นำสารละลายของปริมาตร 30 ไมโครลิตร (สกัดชั่ง 40 มิลลิกรัมไปทำการละลายในน้ำ 1000 ไมโครลิตร) เจือจางสารสกัดตัวอย่าง 1 ส่วนใน 9 ส่วยของสารละลายบัฟเฟอร์ โดยวิธี pH differential (Kerio *et al.*, 2012) โดยใช้ระบบ 2 บัฟเฟอร์ คือ 0.025 M potassium chloride (KCl) ที่ pH 1.0 และ 0.4 M sodium acetate (CH_3COONa) ที่ pH 4.5 ปริมาตร 270 ไมโครลิตร ของตัวอย่าง ผสมกับ potassium chloride หรือ sodium acetate 270 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร และ 700 นาโนเมตรด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ ทำการทดลอง 5 ซ้ำ หลัง จากนั้นนำค่าคำนวณความแตกต่างระหว่างค่าการดูดกลืนแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

ปริมาณ anthocyanin (mg/l) = (A x MW x DF x 1000)/(e x 1)

เมื่อ A คือ ความแตกต่างของ Absorbance ที่ pH แตกต่างกัน

MW คือ น้ำหนักโมเลกุลของแอนโทไซยานิน (449.2)

DF คือ dilution factor

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

3.5.4 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากต้นหน่อไม้ฝรั่งที่มีผลต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ด้วยวิธี MTT

3.5.4.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ

ชั่งสารสกัดหยาบแต่ละส่วน 1 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดเซนตริฟิวก์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติม DMSO 1 มิลลิลิตร เพื่อให้สารตัวอย่างละลายได้ดีขึ้น สารละลายที่ได้จะมีความเข้มข้น 100,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางด้วยอาหาร RPMI 1640 ได้ความเข้มข้นดังนี้ 1000,100,10,1 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.5.4.2 การเตรียมเซลล์ไลน์มะเร็งเต้านม (MCF-7)

เพาะเลี้ยงเซลล์ไลน์ MCF-7 ในอาหาร RPMI 1640 โดยปิเปตอาหาร 5 มิลลิลิตร ลงในขวดเลี้ยงเซลล์ขวดเปล่าที่ฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นปิเปตเซลล์ MCF-7 จากขวดเลี้ยงขึ้นลงเพื่อให้เซลล์กระจายตัวและระมัดระวังไม่ให้เกิดฟอง ปิเปตเซลล์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วหยดลงในขวดที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์และ Subculture cell เพื่อเป็นการรักษาเซลล์ (maintain cell) และทำการเตรียม cell suspension ให้ได้เซลล์จำนวน 1×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เพื่อย้อมสีเซลล์ (dry exclusion) โดยดูดเอาอาหารออกและเติมทริปซิน 3 มิลลิลิตร เพื่อย่อยเซลล์ประมาณ 1 นาที ปิเปตทริปซินออก แล้วปิเปตอาหาร (RPMI 1640) ใหม่ลงไปในขวดเซลล์ 4 มิลลิลิตร นำเซลล์มาทำการย้อมสีโดยดูดเซลล์มา 0.4 มิลลิลิตร และดูดสีย้อมทริปแพนบลูความเข้มข้นร้อยละ 0.4 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน และนับจำนวนด้วยการใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Hemacytometer) โดยเซลล์ที่มีชีวิตจะไม่ติดสีย้อมของทริปแพนบลูซึ่งมีสีฟ้าหรือสีน้ำเงิน จำนวนเซลล์ที่นับได้จะนำไปคำนวณหาค่า dilution number เพื่อใช้เป็นข้อมูลการเจือจาง cell suspension ให้ได้ stock suspension จำนวน 100,000 (10^5) เซลล์

ตัวอย่างการคำนวณ

สมมุติให้จำนวนเซลล์เฉลี่ยที่นับได้ = 100 เซลล์ต่อ number
(1 chamber= 5 square)

ปริมาตร 1 ช่องเล็ก = พื้นที่ผิว x ความลึก

$= 1\times1\times0.1\ mm^3$

$= 0.1\times0.1\times0.01\ cm^3$

$= 0.0001\ cm^3$ หรือ $10^{-4}\ cm^3$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากเซลล์ที่นับได้ถูกเจือจางด้วยสีทริปแพนบลูเป็นสองเท่าดังนั้นจำนวนเซลล์ในหนึ่ง chamber

= 100 × 2 เซลล์

เพราะฉะนั้นจำนวนเซลล์ในหนึ่งช่องเล็ก = (100× 2) /5

3.5.4.3 การเตรียมสารละลาย MTT

เจือจางสารละลาย MTT ใน normal saline ความเข้มข้น 0.85 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายจนหมดไม่ให้มีตะกอน (เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลลเซียส)

3.5.4.4 การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7)

ปิเปตเซลล์และอาหารที่เตรียมไว้ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมซึ่งในที่นี้จะเพาะเลี้ยงในจานเพาะเลี้ยงชนิดไมโครเพลทขนาด 96 หลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืนหรือ 24 ชั่วโมง และนำจานเพาะเลี้ยงเซลล์ออกจากตู้บ่มดูดอาหารออกแต่ละคอลัมน์ แล้วเติมสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นต่างๆใส่ลงในหลุมปริมาตร 100 ไมโครลิตรแล้วจึงนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ด้วยวิธี MTT โดยเติมสารละลาย MTT ลงในแต่ละหลุมปริมาตร 10 ไมโครลิตรบ่มในที่มืดอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วดูด MTT ออก ทำการละลายผลึก Formazan ด้วยสารละลาย DMSO ต่อสารละลาย SDS ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาณ 150 ไมโครลิตรต่อ 1 หลุม จะได้สารละลายสีม่วงนำไปบ่มพร้อมกับเขย่าในเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นของแผ่นกรองแสงเท่ากับ 570 นาโนเมตร ตั้งโปรแกรมเขย่า 5 นาที บันทึกค่าการดูดกลืนแสงเพื่อใช้ในการคำนวณหาค่า % Cytotoxicity โดยการทดลองทำทั้งหมด 3 ซ้ำ

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

โดย A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม (หลุมที่มีเซลล์ในอาหารเพาะเลี้ยง)

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่มีเซลล์ในสารสกัดแต่ละความเข้มข้น

โดยค่า A และ B จะต้องนำไปหาค่าการดูดกลืนแสงของแบลงค์ (ในที่นี้คือ หลุมที่เติมสารละลาย DMSO:10% SDS) มาลบออกก่อน จากนั้นจึงนำไปคำนวณจากสูตรข้างต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปราย

4.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่ง

สารสกัดหยาบที่ใช้ในการทดลองได้จากการนำหน่อไม้ฝรั่งมาแยกส่วน ลำต้น ใบ และราก ตากให้แห้งในที่ร่มและบดให้เป็นผงละเอียด แล้วจึงนำมาสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำน้ำหมักที่ได้จากการกรองไประเหยแยกตัวทำละลายเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่งซึ่งมีลักษณะ ดังรูปที่ 4.1 พร้อมกับปริมาณสารสกัดหยาบ ปริมาณของสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่งแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ลักษณะและปริมาณของสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่ง

สารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่ง	ลักษณะของสารสกัดหยาบ	น้ำหนัก (กรัมต่อน้ำหนักแห้ง 200 กรัม)	ร้อยละผลได้
ต้น	สีเหลืองอ่อนข้นมีน้ำมันเล็กน้อย	32	16
ใบ	สีเขียวเหนียวและน้ำมันเล็กน้อย	40.66	20.33
ราก	สีน้ำตาลอ่อนส้มข้นหนืด	44.33	22.17

รูปที่ 4.1 ลักษณะของสารสกัดหยาบจาก ลำต้น (A), ใบ (B),และราก (C) ของหน่อไม้ฝรั่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งของจุลินทรีย์ของสารสกัดจากหน่อไม้ฝรั่ง

4.2.1 การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการแพร่บนวุ้นอาหารเบื้องต้น (Agar well diffusion)

จากการทดลองศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นของสารสกัดจากส่วนต่างๆของต้นหน่อไม้ฝรั่ง 3 ส่วนได้แก่ ลำต้น ใบ และราก ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรโดยทำการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 5 ชนิด ซึ่งอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียสองกลุ่มโดยแบคทีเรียกลุ่มแรกคือ แบคทีเรียแกรมบวกได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 กลุ่มที่สอง คือ แบคทีเรียแกรมลบได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Salmonella typhimurium* TISTR 5562 โดยทำการทดสอบจะนำมาเปรียบเทียบกับตัวเชิงควบคุมเชิงบวก (positive control) คือยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน (Gentamicin) ความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ยกเว้นเชื้อ *S.typhimurium* และ *S.epidermidis* ที่ใช้ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน (Ciprofloxacin) ในความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และตัวควบคุมเชิงลบ คือ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นของสารสกัดจากหน่อไม้ฝรั่งที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)				
	E.coli	*S.aureus*	*S.epidermidis*	*S.typhimurium*	*B.subtilis*
ลำต้น	$6.08^{b}\pm0.04$	$6.51^{bc}\pm0.29$	$6.49^{b}\pm0.32$	$6.00^{b}\pm0.00$	$14.03^{a}\pm0.32$
ใบ	$6.02^{b}\pm0.01$	$7.40^{b}\pm0.25$	$6.00^{b}\pm0.00$	$6.00^{b}\pm0.00$	$13.58^{a}\pm0.16$
ราก	$6.19^{b}\pm0.33$	$6.28^{bc}\pm0.04$	$6.00^{b}\pm0.00$	$6.00^{b}\pm0.00$	$12.19^{a}\pm0.16$
Gentamicin	13.50^{a}	17.64^{a}	-	-	13.72^{a}
Ciprofloxacin	-	-	12.62^{a}	31.15^{a}	-
EtOH 95 %	6.00^{c}	6.00^{c}	6.00^{b}	6.00^{b}	6.00^{b}

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.2 พบว่าสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจากลำต้นของหน่อไม้ฝรั่งมีบริเวณการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ได้มากที่สุด คือ 14.03 มิลลิเมตร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ กับสารสกัดหยาบจากส่วนใบและราก ซึ่งมีบริเวณยับยั้งการเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเชื้อ คือ 13.58, 12.19 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่า สารสกัดหยาบทุกชนิดมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียน้อยกว่าชุด ควบคุมเชิงบวก (ยาปฏิชีวนะ) ยกเว้นสารสกัดหยาบจากลำต้น ใบ และรากในการยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่มากกว่าชุดควบคุมเชิงลบ (เอทานอล 95 %) อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* , *S.aureus, S.epidermidis* และ *S.typhimurium* พบว่าเกิดบริเวณยับยั้งเพียงเล็กน้อย จึงทำการทดสอบต่อโดยเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่งเป็น 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.3 ตารางที่ 4.4 ตารางที่ 4.5 และตารางที่ 4.6 ตามลำดับ ซึ่งผลการทดสอบปรากฏว่า เกิดบริเวณยับยั้งเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922 ของสารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่ง ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง(มิลลิเมตร)		
	ลำต้น	ใบ	ราก
200	$9.29^{b}\pm0.09$	$10.09^{b}\pm0.18$	$8.80^{b}\pm0.24$
150	$9.13^{b}\pm0.43$	$8.77^{c}\pm0.18$	$7.44^{c}\pm0.37$
100	$7.22^{c}\pm0.58$	$7.95^{c}\pm1.00$	$6.74^{cd}\pm0.59$
50	$6.08^{d}\pm0.04$	$6.02^{d}\pm0.01$	$6.19^{d}\pm0.33$
Gentamicin	$13.5^{a}\pm0.07$	$13.14^{a}\pm0.01$	$12.36^{a}\pm0.16$
EtOH 95%	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.3 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดในการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *E.coli* พบว่าบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเพิ่มเติม ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น โดยมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อมากที่สุด เมื่อใช้สารสกัดที่ความเข้มข้นที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดจากใบมีบริเวณยับยั้งมากที่สุดเท่ากับ 10.09 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดจากลำต้นและรากตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ของสารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่ง ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง(มิลลิเมตร)		
	ลำต้น	ใบ	ราก
200	$10.16^{a}\pm0.20$	$13.91^{b}\pm0.37$	$10.82^{b}\pm0.65$
150	$10.63^{a}\pm0.26$	$9.17^{c}\pm0.21$	$7.52^{c}\pm0.15$
100	$7.29^{c}\pm0.26$	$9.53^{c}\pm0.30$	$7.15^{cd}\pm0.1$
50	$6.51^{d}\pm0.29$	$7.4^{d}\pm0.25$	$6.28^{de}\pm0.04$
Gentamicin	$17.17^{a}\pm0.26$	$16.96^{a}\pm0.27$	$17.22^{a}\pm0.55$
EtOH 95 %	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{e}\pm0.00$	$6.00^{e}\pm0.00$

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการศึกษากิจกรรมการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของ Khorasani และคณะ (2010) ทำการทดสอบด้วยวิธี Agar disc diffusion สารสกัดหยาบจากส่วนของเมล็ด เนื้อเยื่อ และแคลลัส ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงหน่อไม้ฝรั่ง ด้วยตัวทำละลายเอทานอล โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบทั้งสามส่วนที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตัวควบคุมเชิงบวกยาปฏิชีวนะ Tetracycline ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าไม่ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E.coli* และเชื้อ *S.aureus* ซึ่งแตกต่างจากผลการทดลองนี้ โดยพบว่าสารสกัดจากทั้งสามส่วน สามารถยับยั้งการเจริญของ *E.coli* และ *S.aureus* ได้ที่ความเข้มข้นระดับเดียวกัน เนื่องจากส่วนของหน่อไม้ฝรั่งและวิธีที่ใช้ทดสอบแตกต่างกัน

จากตารางที่ 4.5 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดในการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S.epidermidis* พบว่าบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเพิ่มเติม ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ยกเว้นสารสกัดจากลำต้นที่ความเข้มข้น 100 และ 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อมากที่สุด เมื่อใช้สารสกัดที่ความเข้มข้นที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดจากรากมีบริเวณยับยั้งมากที่สุดเท่ากับ 10.25 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดจากใบและลำต้นตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 ของสารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่ง ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง(มิลลิเมตร)		
	ลำต้น	ใบ	ราก
200	$9.48^{b}\pm0.87$	$10.18^{b}\pm0.11$	$10.25^{b}\pm0.12$
150	$7.80^{c}\pm0.24$	$9.91^{b}\pm0.21$	$7.26^{c}\pm0.38$
100	$8.19^{c}\pm0.10$	$6.33^{c}\pm0.06$	$6.16^{d}\pm0.03$
50	$6.49^{d}\pm0.32$	$6.00^{c}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$
Ciprofloxacin	$12.45^{a}\pm0.33$	$12.24^{a}\pm0.11$	$12.18^{a}\pm0.08$
EtOH 95 %	$6.00^{d}\pm0.00$	$6.00^{c}\pm0.00$	$6.00^{d}\pm0.00$

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

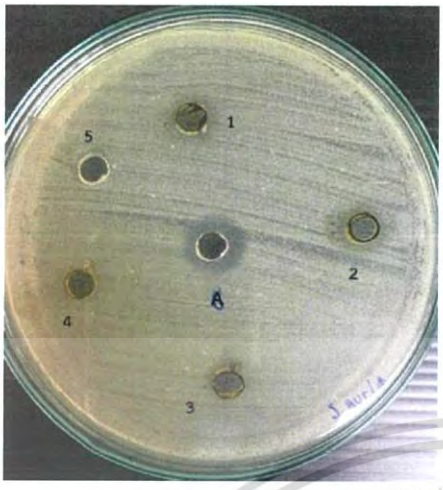
ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Salmonella typhimurium* TISTR 5562 ของสารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่ง ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง(มิลลิเมตร)		
	ลำต้น	ใบ	ราก
200	$8.06^{b}\pm0.26$	$8.95^{b}\pm0.10$	$8.18^{b}\pm0.19$
150	$7.54^{b}\pm0.30$	$6.21^{b}\pm0.15$	$7.22^{b}\pm0.11$
100	$6.63^{b}\pm0.36$	$6.13^{b}\pm0.2$	$6.14^{b}\pm0.09$
50	$6.00^{b}\pm0.00$	$6.00^{b}\pm0.00$	$6.00^{b}\pm0.00$
Ciprofloxacin	$28.08^{a}\pm3.98$	$26.84^{a}\pm3.37$	$27.44^{a}\pm3.78$
EtOH 95 %	$6.00^{b}\pm0.00$	$6.00^{b}\pm0.00$	$6.00^{b}\pm0.00$

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากตารางที่ 4.6 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดในการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S.typhimurium* พบว่าบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อเพิ่มเติม ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น โดยมีบริเวณยับยั้งการเจริญของเชื้อมากที่สุด เมื่อใช้สารสกัดที่ความเข้มข้นที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดจากใบมีบริเวณยับยั้งมากที่สุดเท่ากับ 8.95 มิลลิเมตร รองลงมาคือสารสกัดจากรากและลำต้นตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Staphylococcus aureus

Escherichia coli

Staphylococcus epidermidis

Salmonella typhimurium

รูปที่ 4.2 แสดงฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากลำต้นของหน่อไม้ฝรั่งในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 50,100,150,200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ สารสกัดจากลำต้นหน่อไม้ฝรั่ง

1 : ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2 : ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3 : ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

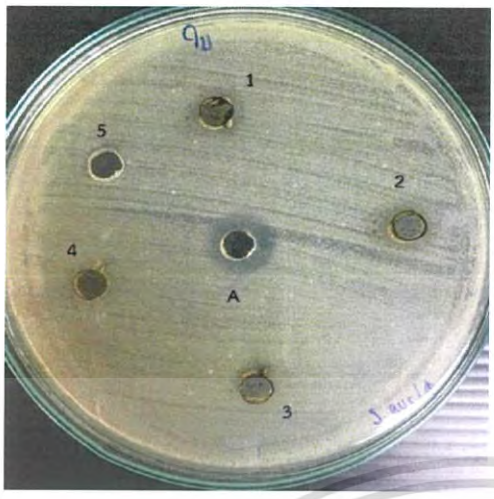
4 : ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5 : เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

A : ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซินความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

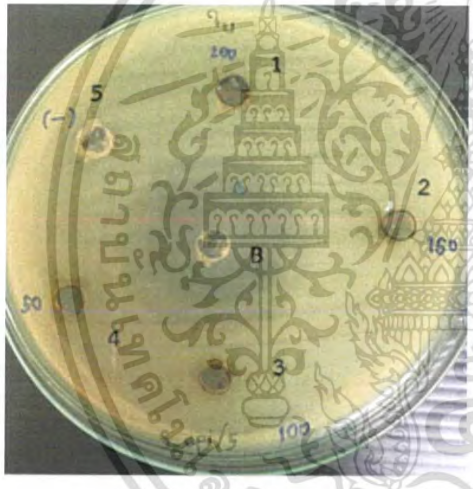
B : ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซินความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Staphylococcus aureus

Escherichia coli



Staphylococcus epidermidis

Salmonella typhimurium

รูปที่ 4.3 แสดงฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากใบของหน่อไม้ฝรั่งในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 50,100,150,200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ

1 : ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2 : ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3 : ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4 : ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

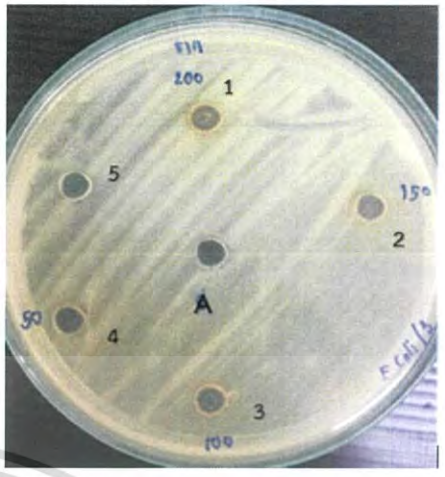
5 : เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

A : ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซินความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

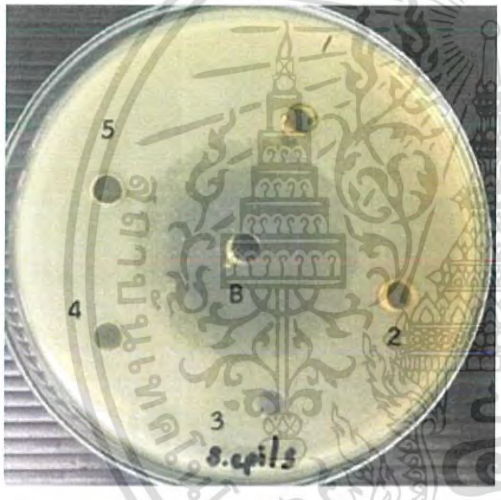
B : ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซินความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้มีเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Staphylococcus aureus



Escherichia coli



Staphylococcus epidermidis

Salmonella typhimurium

รูปที่ 4.4 แสดงฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากรากของหน่อไม้ฝรั่งในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียความเข้มข้น 50,100,150,200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หมายเหตุ

1 : ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2 : ความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3 : ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4 : ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5 : เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

A : ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซินความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

B : ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซินความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดจากหน่อไม้ฝรั่งที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal inhibitory concentration, MIC)

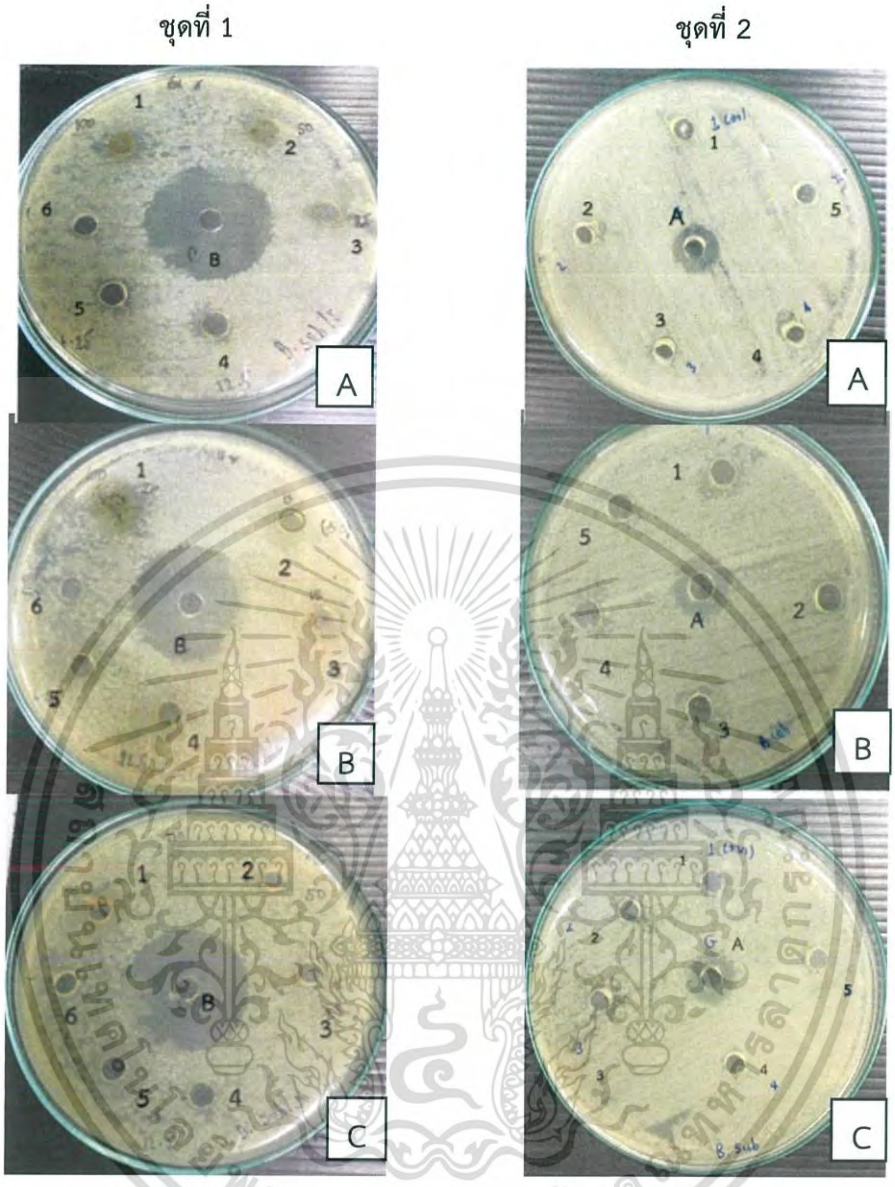
จากการทดลองศึกษาฤทธิ์การยับยั้งกรเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นของสารสกัดยาบจากส่วนต่างๆ ของต้นหน่อไม้ฝรั่ง 3 ส่วนได้แก่ ลำต้น ใบ และราก ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ *B.subtilis* พบว่ามีฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ จึงทำการทดลองหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่งที่มีผลการยับยั้บยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบส่วนต่างๆ ของต้นหน่อไม้ฝรั่งด้วยวิธีการลดความเข้มข้นลงสองเท่า (two-fold dilution) จากความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น 25,12.5,6.25,3.125,1.5625,0.7813 และ 0.3906 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นชุดควบคุมเชิงลบ (negative control) และยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซินเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นชุดควบคุมเชิงบวก (positive control)

ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bacilus subtilis* ATCC 6633 ของสารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่ง ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง(มิลลิเมตร)		
	ลำต้น	ใบ	ราก
100	16.57^{a}±0.38	15.04^{a}±0.04	13.52^{a}±0.09
50	14.03^{b}±0.32	13.58^{b}±0.16	12.19^{b}±0.16
25	12.02^{c}±0.05	12.23^{c}±0.34	11.04^{c}±0.12
12.5	10.74^{d}±0.26	11.46^{d}±0.30	10.23^{d}±0.08
6.25	10.19^{e}±0.1	11.02^{d}±0.01	10.15^{d}±0.03
3.125	10.00^{e}±0.06	11.17^{d}±0.08	10.13^{d}±0.11
1.5625	8.88^{f}±0.08	8.37^{e}±0.25	9.14^{e}±0.09
0.7813	7.24^{g}±0.07	7.34^{f}±0.23	7.35^{f}±0.10
0.3906	6.11^{h}±0.01	6.07^{g}±0.40	6.02^{g}±0.01
Gentamicin	14.05^{b}±0.04	13.85^{b}±0.20	13.38^{a}±0.33
EtOH 95 %	6.00^{h}±0.00	6.00^{g}±0.00	6.00^{g}±0.00

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 แสดงฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากลำต้น (A) ราก (B) และใบ (C) ของหน่อไม้ฝรั่งในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ชุดที่ 1 และชุดที่ 2 (ตามลำดับ)

หมายเหตุ 1: ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 1: ความเข้มข้น 3.125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
2: ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 2: ความเข้มข้น 1.5625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
3: ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 3: ความเข้มข้น 0.7812 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
4: ความเข้มข้น 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 4: ความเข้มข้น 0.3906 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
5: ความเข้มข้น 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร 5: เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์
6: เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์

A และ B : ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซินความเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทำการทดสอบสารสกัดหยาบส่วนลำต้น ใบ และรากของหน่อไม้ฝรั่ง พบว่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B.subtilis* คือ 0.7813 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเท่ากับ 7.24, 7.34, และ 7.35 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติ ดังตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.5

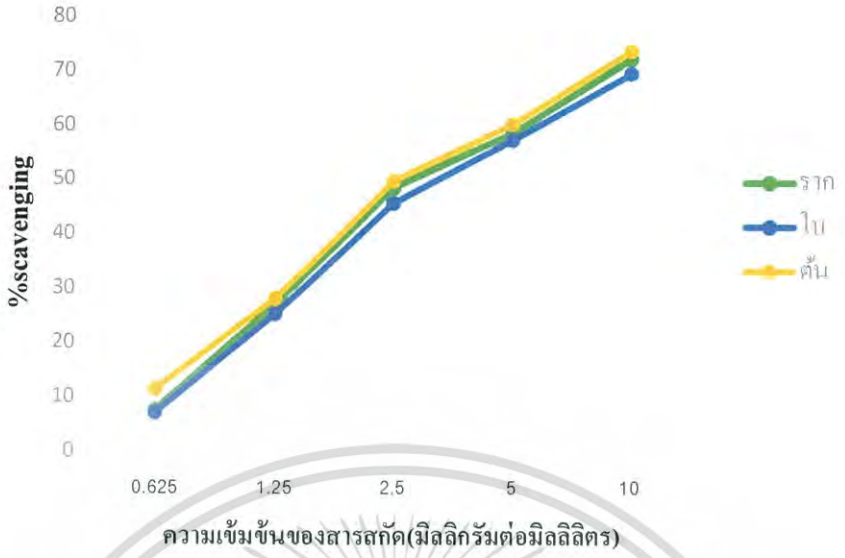
จากผลการทดลองนี้พบว่าสารสกัดจากหน่อไม้ฝรั่งทั้งสามส่วนไม่สามารถยับยั้งเชื้อแกรมลบทั้ง 2 ชนิดได้ แต่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีผนังเซลล์ 2 ชั้น ทั้งไม่มีชั้นไขมัน โดยพบว่าสารสกัดทั้งสามส่วนสามารถยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* ได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวกอีก 2 ชนิด คือ *S.aureus* และ *S.epidermidis* เพราะ *B.subtilis* มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนจึงทำให้สารสกัดเข้าสู่เชื้อได้ง่ายในขณะที่ *S.aureus* และ *S.epidermidis* มีลักษณะรูปร่างเป็นทรงกลมอยู่รวมกันคล้ายพวงองุ่น ทำให้การที่สารสกัดเข้าสู่เชื้อแต่ละเซลล์ได้ยากกว่า โดยเชื้อ *S.epidermidis* สามารถสร้างไบโอฟิล์มได้ทำให้สารสกัดไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้

4.3 การศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากหน่อไม้ฝรั่ง

4.3.1 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity)

เมื่อนำสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่ง ที่ทำการสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ จนได้สารสกัดหยาบมาสำหรับใช้ในการศึกษา จึงนำมาศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่ง 3 ส่วน ได้แก่ ต้น ใบ และราก โดยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical scavenging method) แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ในการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชเป็นสารที่มีความเสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้ ซึ่งสารสกัดหยาบที่ใช้ทดสอบจะกำจัดสารอนุมูลอิสระดังกล่าว โดยการให้ไฮโดรเจน จากการวัดการเปลี่ยนสีของสารละลายจากสีม่วงเป็นสีเหลือง จากตารางที่ 4.8 พบว่าสารสกัดทุกส่วนของหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยสารสกัดจากลำต้นมีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ราก และใบ ตามลำดับ และสรุปได้ว่าเมื่อความเข้มข้นสารสกัดเพิ่มขึ้นจะทำให้ร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 4.6 สำหรับตัวควบคุมเชิงบวกที่ใช้คือ สารละลายมาตรฐานวิตามินอี (α-Tocopheral) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่ง โดยมีค่าร้อยละต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับร้อยละ 90.14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (%scavenging) ระหว่างสารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่งความเข้มข้น 0.625, 1.25, 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.8 แสดงร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนลำต้น ใบและราก

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละของปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ DPPH		
	ลำต้น	ใบ	ราก
10	73.61^{a}±0.44	69.40^{a}±0.10	72.07^{a}±0.04
5	60.23^{b}±0.12	57.23^{b}±0.13	58.58^{b}±0.12
2.5	49.71^{c}±0.08	45.23^{c}±0.10	48.33^{c}±0.12
1.25	28.09^{d}±0.10	25.20^{d}±0.06	27.02^{d}±0.08
0.625	11.38^{e}±0.12	7.02^{e}±0.15	7.48^{e}±0.1

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ค่า IC_{50} คือ ความเข้มข้นของสารสกัดที่ลดความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด ดังนั้นหากสารสกัดหยาบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมาก ค่า IC_{50} จะมีค่าน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด(IC_{50}) ของสารสกัดหยาบจากส่วนลำต้น ใบและรากของหน่อไม้ฝรั่ง

สารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่ง	IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ต้น	3.331
ใบ	3.572
ราก	3.432

โดยจากการศึกษาพบว่า สารสกัดหยาบจากต้นของหน่อไม้ฝรั่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ซึ่งค่า IC_{50} คือ 3.331 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ ราก และ ใบ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.432 และ 3.572 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4.9)

จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ Chen และคณะ (2014) ด้วยวิธี DPPH scavenging activity ใช้หน่อไม้ฝรั่งส่วนหน่อและสกัดหน่อไม้ฝรั่งโดยใช้ตัวทำละลายคือน้ำ พบว่าสารสกัดหน่อไม้ฝรั่งส่วนของหน่อ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 140.29 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่า IC_{50} มากกว่าผลการทดลองที่ได้ แสดงให้เห็นว่ามีฤทธิ์ในการดักจับอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่า เนื่องจากใช้หน่อไม้ฝรั่งในส่วนที่ต่างกัน ใช้ตัวทำละลายคนละชนิด ทำให้ได้ค่า IC_{50} ที่แตกต่างกัน

4.4 การหาปริมาณสารพฤกษเคมี

4.4.1 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

จากการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้วิธี Folin- Ciocalteu ในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่ง 3 ส่วนได้แก่ ลำต้น ใบ และราก ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรโดยการวิเคราะห์ใช้สารมาตรฐานคือกรดแกลลิก และแบลงค์คือเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลททรีดเดอร์ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร และเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (ภาคผนวก ช) พบว่าสารสกัดหยาบจากใบของหน่อไม้ฝรั่งมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนอื่นคือ 2,663.65 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mgGAE/ g สารสกัด) รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากรากและลำต้น มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดคือ 1,861.33 และ 929.29 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ ซึ่งแสดงดังตารางที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่งส่วนลำต้น ใบ และราก

สารสกัดหยาบ	mgGAE/ g สารสกัด	mgGAE/100 กรัม น้ำหนักแห้ง
ลำต้น	929.29^{c}±0.37	14,878.40^{c}±168.14
ใบ	2,663.25^{a}±0.58	54,184.56^{a}±344.53
ราก	1,861.33^{b}±0.88	41,594.17^{b}±230.40

หมายเหตุ: ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากผลการศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของ Chen และคณะ (2014) โดยใช้หน่อไม้ฝรั่งส่วนหน่อและสกัดหน่อไม้ฝรั่งโดยใช้ตัวทำละลายคือน้ำ ด้วยวิธี Folin- Ciocalteu พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเทียบเท่ากับ 298.02 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ในขณะที่จากการทดลองนี้มีพบว่าสารสกัดจากทั้งสามส่วนมีปริมาณฟีนอลิกสูงกว่ามาก เนื่องจากมีการใช้ตัวทำละลายและตัวอย่างของส่วนสารสกัดหยาบที่ต่างกัน

4.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่ง

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจะวิเคราะห์ตามวิธีของ Kathirvel และ Sujatha (2012) พบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์จากสารสกัดหยาบจากใบมากที่สุดเทียบเท่ากับ 5,062.67 มิลลิกรัมควอซิตินต่อกรัมสารสกัด รองลงมาคือ สารสกัดหยาบจากรากและลำต้น มีปริมาณฟลาโวนอยด์เท่ากับ 2,176 และ 1,610.33 มิลลิกรัมควอซิตินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับซึ่งแสดงดังตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 แสดงปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่งส่วนลำต้น ใบ และราก

สารสกัดหยาบ	ปริมาณสารฟลาโวนอยด์	
	mgQE/ g สารสกัด	mgQE/100กรัมน้ำหนักแห้ง
ลำต้น	1,610.33^{c}±16.76	25,864.00^{c}±173.66
ใบ	5,062.67^{a}±12.33	102,794.52^{a}±636.67
ราก	2,176.00^{b}±0.25	47,922.67^{b}±441.38

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาการวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในผลการทดลองข้างต้นสอดคล้องกับการทดลองของ Hamdi และคณะ (2015) ด้วยวิธี aluminum chloride colorimetry ที่สกัดจาก *Asparagus albus* L. ซึ่งเป็นพืชสกุลเดียวกับหน่อไม้ฝรั่งสกัดด้วยตัวทำละลายจากเอทานอล พบว่าสารสกัดหยาบในส่วนของใบ มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 603 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ในขณะที่จากการทดลองนี้มีปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดใบสูงถึง 102,794.52 มิลลิกรัมของควอซิทินต่อ100 กรัมน้ำหนักแห้ง สังเกตได้ว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมาจากส่วนใบเหมือนกัน แต่มีปริมาณแตกต่างกันมาก เนื่องจากวิธีที่ใช้และตัวอย่างสารสกัดจากพืชต่างชนิดกัน

4.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่ง

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่ง จะวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Denis (Kathirvel และ Sujatha,2012) พบปริมาณแทนนินในสารสกัดหยาบในส่วนใบพบมากที่สุดเทียบเท่ากับ 1,643.33 มิลลิกรัมกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาพบปริมาณของสารแทนนินในสารสกัดหยาบส่วนของ ราก และลำต้นคือ 1,029.66 และ 880.66 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ

ตารางที่ 4.12 แสดงปริมาณของสารแทนนินในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่ง

สารสกัดหยาบ	ปริมาณสารแทนนิน	
	mgTAE/ g สารสกัด	mgTAE/100กรัม น้ำหนักแห้ง
ลำต้น	880.66^{c}±13.33	14,090.66^{c}±213.33
ใบ	1,643.33^{a}±12.03	33,408.96^{a}±224.61
ราก	1,029.66^{b}±7.79	22,827.71^{b}±172.83

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการศึกษาหาปริมาณแทนนินโดยแทนนินเป็นสารจำพวกโพลิฟีนอล ที่พบได้ในพืชหลายชนิดมีโมเลกุลใหญ่และโครงสร้างซับซ้อน อยู่แพร่หลายอาณาจักรพืชเกือบจะทุกวงศ์ของพืชมีแทนนินป้องกันพืชให้พ้นจากการทำลายโดยแมลงและรา เพราะมีฤทธิ์เป็นสารยับยั้งเชื้อ และเมื่อเวลาผ่านไป แทนนินจะถูกไปสะสมในเนื้อเยื่อไม้ที่ตาย การใช้ประโยชน์ของแทนนินที่เป็นสมุนไพร คือ ใบชา ใบฝรั่ง จากผลการทดลองนี้พบว่าจากสารสกัดทั้งสามส่วนพบปริมาณแทนนินมากที่สุดในส่วนของใบ

จากงานวิจัยของ Sairri และคณะ (2016) ได้ทำการศึกษาหาปริมาณแทนนินจากหน่อไม้ฝรั่งในส่วนของรากใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอลโดยใช้วิธี Folin-Denis ที่ค่าการดูดกลืนแสง 760 นาโนเมตร มีปริมาณแทนนินจากสารสกัดรากของ *Asparagus racemosus* Wild. คือ 6.16 มิลลิกรัมกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แทนนิกต่อกรัมของสารสกัด เมื่อนำมาเทียบกับผลการทดลองนี้พบว่ามีปริมาณสารแทนนินต่ำกว่ามาก โดยจากการทดลองนี้สารสกัดหยาบจากรากมีปริมาณแทนนินสูงถึง 1,029.66 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสกัด เนื่องจากใช้ค่าการดูดกลืนแสงและตัวอย่างต่างชนิดกันแต่อยู่ในจีนัสเดียวกัน

4.4.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินรวมที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่ง (pH differential)

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินรวมที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบพืชจากส่วนลำต้น ใบ และรากของต้นหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้น 40 มิลลิลิกรัมต่อมิลลิลิตรโดยทำการทดสอบด้วยวิธี pH differential ทำการเจือจางสกัดตัวอย่าง 1 ในส่วน 9 ส่วนของสารละลายบัฟเฟอร์ KCL (0.0025 M, pH 1.0) หรือ CH_3COONa buffer (0.4 M ,pH= 4.5) พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบในส่วนของรากมากที่สุดเทียบเท่ากับ 43.12 มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์/ลิตรสารสกัดและพบปริมาณแอนโทไซยานินจากในส่วนของลำต้น และใบ เทียบเท่ากับ 13.58 และ 6.07 มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์/ลิตรสารสกัด ตามลำดับ

ตารางที่ 4.13 แสดงปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่ง

สารสกัดหยาบ	ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน (มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์/ลิตรสารสกัด)
ลำต้น	13.58^{b}±1.16
ใบ	6.07^{b}±1.49
ราก	43.12^{a}±4.30

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการศึกษาหาปริมาณแอนโทไซยานินพบว่า จากผลการทดลองของ Sakaguchi และคณะ (2008) ที่ทำการหาปริมาณแอนโทไซยานิน โดยใช้เทคนิค NMR พบว่า เปลือกของส่วนยอดหน่อไม้ฝรั่งสีม่วง (*A.officinalis cv. Purple Passion*) มีสารประกอบแอนโทไซยานิน หลายชนิด ได้แก่ 3-[3"-(O-β-D-glucopyranosyl)-6"-(O-α-2rhamnopyranosyl)-O-β-D-glucopyranoside] และ cyanidine-3-rutinoside

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7

จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ของสารสกัดหยาบจาก ลำต้น ใบ และรากของหน่อไม้ฝรั่ง โดยทำการเจือจางความเข้มข้นของสารสกัดหยาบดังกล่าวด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ให้ได้ความเข้มข้น 0.1 1 10 100 1,000 และ 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำสารสกัดทั้ง 3 ชนิดมาทดสอบกับเซลล์มะเร็งทั้งหมด 6 ซ้ำ นำไปบ่มเขย่าในเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (Microplate Reader) และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร เพื่อทำการคำนวณหาค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งและหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 (CC_{50}) จากตารางที่ 4.14 พบว่า สารสกัดทุกส่วนจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์เพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดหยาบจากใบมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) มากที่สุดดังรูปที่ 4.7

ตารางที่ 4.14 ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ของสารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่งส่วนต่างๆ

ความเข้มข้นของสารสกัด (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง		
	ลำต้น	ใบ	ราก
0.1	2.23^{f}±0.31	6.31^{f}±0.33	4.04^{f}±0.15
1	23.23^{e}±1.07	29.25^{e}±0.25	11.47^{e}±0.54
10	29.13^{d}±0.5	34.04^{d}±1.31	19.39^{d}±0.29
100	46.49^{c}±0.15	48.6^{c}±0.11	46.99^{c}±0.29
1,000	60.31^{b}±0.48	65.1^{b}±0.33	64.11^{b}±0.26
10,000	70.99^{a}±1.02	71.20^{a}±0.58	69.39^{a}±0.37

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่ง (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

หมายเหตุ : แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากลำต้นของหน่อไม้ฝรั่ง
แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบของหน่อไม้ฝรั่ง
แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากรากของหน่อไม้ฝรั่ง

ตารางที่ 4.15 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 (CC_{50})

สารสกัดหยาบ	ค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
ลำต้น	216.16
ใบ	124.26
ราก	290.79

ซึ่งค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 ที่ดีที่สุด คือ สารสกัดหยาบจากส่วนของใบ มีค่าเท่ากับ 124.26 ไมโครกรัมมิลลิลิตร รองลงมาคือ สารสกัดหยาบจากส่วนของลำต้นและรากมีค่าเท่ากับ 216.16 , 290.79 ไมโครกรัมมิลลิลิตร ตามลำดับดังตารางที่ 4.15

จากรายงานของ Ji และคณะ (2012) ได้นำหน่อไม้ฝรั่งส่วนยอดมาสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ซึ่งใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 50,000 100,000 และ 200,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับ (HepG2) ด้วยวิธี MTT assay โดยเลี้ยงเซลล์มะเร็งในอาหาร RMPI 1640 มีค่า IC_{50} เท่ากับ 101.15 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับการทดลองนี้ จะเห็นได้ว่ามีค่าความเป็นพิษสูงกว่าสารสกัดจากทั้งสามส่วน แต่ค่า IC_{50} ที่ได้นั้นมีค่าใกล้เคียงกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบของหน่อไม้ฝรั่ง เนื่องจากส่วนของหน่อไม้ฝรั่งที่นำมามาทดลองเป็นคนละส่วนกัน ใช้ตัวทำละลายคนละชนิด และเซลล์ที่ใช้ในการทดสอบแตกต่างกัน

จากงานวิจัยของ Knorzer และคณะ (1999) ได้ทำการศึกษาเรื่องฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่มต้านอนุมูลอิสระนั้น คือ กรดซาลิซิลิก (salicylic acid) ซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ที่เป็นอนุพันธ์ของสารฟีนอล โดยได้ทำการศึกษาในหน่อไม้ฝรั่งพบว่าสาร กรดซาลิซิลิก (salicylic acid) ช่วยให้หน่อไม้ฝรั่งมีปริมาณรวมของสารฟลาโวนอยด์ และสารฟีนอลิกเพิ่มขึ้น อีกทั้งมีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระมีอยู่ในปริมาณมาก ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติใน การต้านการเกิดโรคมะเร็ง และช่วยยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งได้ Wei และคณะ (2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่งส่วนลำต้น ใบ และรากสรุปได้ว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย และมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง โดยจากการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียได้ 5 ชนิดคือ *Escherichia coli* ATCC 25922 ,*Salmonella typhimurium* TISTR 5562, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 และ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228

เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียเบื้องต้นที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดทุกส่วนของหน่อไม้ฝรั่งสามารถยับยั้งเชื้อ *B. subtilis* มีบริเวณยับยั้งมากที่สุดและเมื่อทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งของสารสกัดส่วนของลำต้น ใบ และรากพบว่า สารสกัดหยาบแต่ละส่วนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อ *B.subtilis* คือ 0.7813 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการทดสอบสารสกัดหยาบกับเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* , *S.typhimurium*, *S.aureus*, *S.epidermidis* พบว่าสารสกัดจากทุกส่วนของหน่อไม้ฝรั่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียเมื่อปรับความเข้มข้นสูงสุดขึ้นที่ 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ดีพีพีเอช (DPPH scavenging activity) พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนลำต้นของต้นหน่อไม้ฝรั่ง มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.331 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อทำการวิเคราะห์พฤกษเคมีบางชนิดในสารสกัดจากลำต้น ใบ และรากของหน่อไม้ฝรั่ง พบว่าสารสกัดจากใบมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ และสารประกอบแทนนินสูงที่สุด โดยมีปริมาณเทียบเท่ากับ 2,665.25 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด 5062.67 มิลลิกรัมของเควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด และ 1,643.33 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ พบปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุดเทียบเท่ากับ 43.12 มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์/ลิตรสารสกัด จากสารสกัดหยาบจากราก ส่วนค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 CC_{50} (Cytotoxicity Concentration) ของสารสกัดจากใบของหน่อไม้ฝรั่งมีค่าน้อยที่สุดเท่ากับ 124.26 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่ง อาจเลือกใช้ตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ เพื่อสกัดสาร แล้วนำมาเปรียบเทียบผลการทดลอง

2. ควรศึกษาสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่งกับเซลล์ไลน์ชนิดอื่นๆ เพิ่มเติม เพื่อศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง

3. ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Agar well diffusion ในขั้นตอนของการ swab เชื้อจุลินทรีย์นั้น ควรทำการตวงปริมาตรของเชื้อก่อน เพื่อที่จะ swab เชื้อจุลินทรีย์ ลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อในปริมาณที่เท่ากัน และไม่ให้ผลการทดลองคลาดเคลื่อน

4. เป็นการนำส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่งที่เหลือใช้จากการเกษตรนำมาประยุกต์ใช้ให้ได้ประโยชน์สูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จิราภรณ์ กระแสเทพ, มัณฑนา นครเรียบ. 2555. **การหาปริมาณรวมของสารฟีนอลิก แอนโธไซยานิน และฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระของข้าวเหนียวไทย**. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ฉบับพิเศษ การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยมหาสารคามครั้งที่ 8. 269 – 273.

บังอร วงศ์รักษ์, ศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ , 2549 . **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน** . โครงการ

พิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล พ.ศ.2549

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. การตรวจสอบและแยกสารสกัดสาระสำคัญจากสมุนไพร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์แก่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศนิดา คูนพินิช. 2549, ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันและคุณภาพของสารสกัดจากเปลือกของผลมังคุด Garcinia magostana.2549 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศศมล ผาสุข,ประเสริฐ มีรัตน์, Sasamol Phasuk, Prasert Meeratana.2557.ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมและเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ของสารสกัดหยาบฮว่านง็อก.วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.

อรัญญา พรหมกูล, วรัญญา วงศ์ไชยสิทธิ์, ไอรดา อักษ์เสน และ เกรียงไกร พัทยากร.2558. **การใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในการสกัดแอนโทไซยานินจากกากเม่า.**

อนันต์ สกุลกิม,2551.**อนุมูลอิสระสารอันตรายต่อสุขภาพและร่างกาย**. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์,8(1): 28-33

อุ่นเรือน เพชรลาวัลย์ และสุพัตรา โพธิ์เอี่ยม. 2555. **การเพาะเลี้ยงเซลล์สัตว์**. โครงการตำราคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Amel Hamdi, Sara Jaramillo-Carmona, Raja Srairi Beji, Rabeb Tej, Sonia Zaoui, Rocío Rodríguez-Arcos, Ana Jiménez-Araujo, Mounir Kasri, Mokhtar Lachaal, Najoua Karray Bouraoui, Rafael Guillen-Bejarano.2015. The phytochemical and bioactivity profiles of wild Asparagus albus L. plant.

Arash Khorasani, Wirakarnain Sani, Koshy Philip, Rosna Mat Taha and Arash Rafat,2010. Antioxidant and antibacterial activities of ethanolic extracts of Asparagus

เอกสารนี้มีไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

officinalis cv. Mary Washington: Comparison of in vivo and in vitro grown plant bioactivities

Rauha JP, Remes S, Heinonen M, Hopia A, Kähkonen M, Kujala T,2000. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds.International Journal of **Food microbial Vol.1: 3-1**

Y. Ji phd, C. Ji phd,L. Yue msc, H. Xu msc†.2012. Saponins isolated from Asparagus induce apoptosis in human hepatoma cell line HepG2 through a mitochondrial-mediated pathway.

Saini P, Singh P , and Dubey.2016. Optimization and Characterization of Asparagus racemosus willd. (Shatavari) Root Powder.

[Online].Available : https://www.cbhs.com.au/news/2015/03/12/are-antioxidant-supplements- good-bad-or-completely-unnecessary

[Online].Available : http://www.vegetweb.com

[Online]. Available : http://hkm.hrdi.or.th/ knowledge/detail/85

[Online]. Available : https://medthai.com [Online]. Available : http://zen-hydroponics.blogspot.com/2014/08/asparagus.html

[Online]. Available : http://www.siamchemi.com/phenol

[Online]. Available : http://www.scimath.org/images/uploads/upload2/vitamin_E.gif

[Online]. Available : http://www.breastgossip.com

[Online]. Available : http://www.deenews.com/news3966.html

[Online]. Available : http://www.celeromics.com/en/Support/cell-lines/mcf-7.php

[Online]. Available : http://news-eco.ru/voda/2 5 8 6 8 - astrahanskaya-obl-v-vodoprovodnoy-vode-obnaruzhena-kishechnaya-palochka.html (online)

[Online]. Available : http://www.sciencedirect.com/topics/page/Cytopathology

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรอาหาร Nutrient agar, NA

Beef extract	3.00	กรัม
Peptone	5.00	กรัม
NaCl	15.00	กรัม
Agar	15.00	กรัม
Distilled Water	1000.00	กรัม

วิธีการเตรียม

1. ชั่งสารเตรียมปริมาณอาหารที่ต้องการ
2. ละลายส่วนประกอบต่างๆ ในน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร โดยให้ละลายวุ้นก่อนแล้วจึงใส่ส่วนประกอบอื่นๆคนให้ละลาย แล้วต้มจนกระทั่งส่วนประกอบต่างๆ ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
3. เมื่อเตรียมอาหารเสร็จแล้ว ให้นำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในหม้อ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C นาที 15 นาที

สูตรอาหาร Muller Hinton Agar (MHA)

Muller Hinton Agar (MHA) เป็นอาหารสำเร็จรูป ปริมาตรที่ใช้คือ 38 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ประกอบด้วย

Beef, infusion form	300	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Casein acid hydrolysate	17.5	กรัม
Agar	17	กรัม
Distilled Water	1	กรัม

ปรับ pH 7.3 ± 0.2

เตรียมโดยการทำการชั่งอาหาร 38 กรัม ละลายในน้ำกลั่นโดยปรับปริมาตรที่ใช้คือ 38 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สารละลายมาตรฐาน McFarland No.5 (CLSI,2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.048 M $BaCl_2$	0.5	มิลลิลิตร

0.18 M H_2SO_2 99.5 มิลลิลิตร

สารละลายมาตรฐาน McFarland No.5 สามารถเตรียมได้โดยใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาณ 9.5 มิลลิลิตร ผสมกับแบเรียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1. กรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 1 เตรียมได้โดยการเติมน้ำใส่ขวดปรับปริมาตรเล็กน้อยประมาณ 20-30 มิลลิลิตรปิเปตกรดซัลฟูริกเข้มข้นลงไปปริมาตร 1 มิลลิลิตรปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร
2. แบเรียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 เตรียมโดยชั่งแบเรียมคลอไรด์ 1.00 กรัมละลายในน้ำปริมาตร 20-30 มิลลิลิตร เทลงในขวดปรับปริมาตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
3. จากนั้นค่อยนำสารทั้งสองที่เตรียมไว้มาผสมกันโดยแมคฟาแนนั้นจะต้องเตรียมใส่หลอดแก้ว ฝาเกลียว

หมายเหตุ: เตรียมเสร็จแล้วให้พันหลอดฝาเกลียวด้วยพาราฟิล์ม เก็บให้พ้นแสงหากเก็บ ไว้นานแบเรียมคลอไรด์จะตกตะกอน ให้นำมาวอเท็กซ์ก่อน เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร จะได้เท่ากับ 0.080-0.13 สามารถเก็บไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด (Total Phenolic)

การวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารประกอบฟีนอลิกมาตรฐาน โดยมีหลักการ คือ สารประกอบฟีนอลิกจะทำปฏิกิริยากับ Folin-Cicocalteu reagent เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถติดตามโดยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

1. **สารเคมี**
   - 1.1 Folin-Cicocalteu reagent
   - 1.2 โซเดียมคาร์ยอเนต ($NaCO_3$) ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็น
   - 1.3 สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น
2. **การเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก**
   - 2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้นเริ่มต้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
   - 2.2 นำมาเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1 0.1 0.01 และ 0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ
   - 2.3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆใส่ลงใน well plate ปริมาตร 20 ไมโครลิตร
   - 2.4 เติมสารละลาย Folin-Cicocalteu ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน
   - 2.5 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
   - 2.6 นำมาตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร
   - 2.7 เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดดกลืนแสงกับปริมาณแกลลิกในหน่วยไมโครกรัม
3. **การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก**
   - 3.1 เตรียมสารสกัดหยาบให้ได้ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
   - 3.2 ปิเปตสารสกัดปริมาตร 20 ไมโครกรัมใส่ลงในหลุม well plate
   - 3.3 ปิเปตสารละลายกรดแกลลิก ที่ความเข้มข้น 10 2 2.5 1.25 0.625 และ 0.3125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
   - 3.4 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ความเข้มข้น 75 เปอร์เซ็นต์ ลงในแต่ละหลุม well plate
   - 3.5 เติมสาร Folin-Cicocalteu ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุม well plate
   - 3.6 บ่มเป็นเวลา 30 นาทีและนำมาตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ ข-1 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ DPPH Radical Scavenging Assay

1. **การเตรียมสารละลายตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ DPPH Radical Scavenging Assay**

   1.1 เตรียมสารละลายตัวอย่างในเอทานอล 4 ชนิด ได้แก่ ลำต้น ใบ และรากของต้นหน่อไม้ฝรั่ง

   1.2 เตรียมหลอด eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร จำนวน 10 หลอด โดยเตรียมเอทานอล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จำนวน 1 หลอด ปละปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรในหลอดที่เหลือทั้งหมด 9 มิลลิลิตร

   1.3 ทำการระบุความเข้มข้นของสารละลายสารสกัดหยาบส่วนของต้นหน่อไม้ฝรั่ง และนำมาเจือจางโดยลดความเข้มข้นลงทีละครึ่งหรือวิธี two-fold dilution สารละลายความเข้มข้น 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร

2. **การเตรียมสารละลาย DPPH ใน Absolute Ethanol**

   โดยการชั่ง DPPH 0.039 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายความเข้มข้น DPPH 1000 ไมโครโมล นำมาเจือจางเพื่อลดความเข้มข้นครึ่งหนึ่งโดยใช้ปิเปตดูดสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 1000 ไมโครโมลปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมลงใน Absolute Ethanol ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย จะได้สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 500 ไมโครโมล

หมายเหตุ: 1. เตรียมสารละลาย DPPH ทันทีก่อนนำไปใช้

2.การคำนวณความเข้มข้นของ DPPH (น้ำหนักโมเลกุลของ DPPH= 394.33)

น้ำหนักสาร (กรัม) = 1×10^{-4} โมลต่อลิตร × 394.33 กรัมต่อโมล

= 0.039 กรัมต่อลิตร

3. **การเตรียมสารละลายวิตามินอี (Alpha-tocopherol)**

   เตรียมสารละลายวิตามินอี หรือ Alpha-tocopherol ความเข้มข้น 500 ไมโครโมล โดยทำการชั่งวิตามินอี 0.0043 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ค-1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นหน่อไม้ฝรั่ง

ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละของปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ DPPH		
	ลำต้น	ใบ	ราก
10	$73.61^{a}\pm0.44$	$69.40^{a}\pm0.10$	$72.07^{a}\pm0.04$
5	$60.23^{b}\pm0.12$	$57.23^{b}\pm0.13$	$58.58^{b}\pm0.12$
2.5	$49.71^{c}\pm0.08$	$45.23^{c}\pm0.10$	$48.33^{c}\pm0.12$
1.25	$28.09^{d}\pm0.10$	$25.20^{d}\pm0.06$	$27.02^{d}\pm0.08$
0.625	$11.38^{e}\pm0.12$	$7.02^{e}\pm0.15$	$7.48^{e}\pm0.1$

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยใช้เซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเซลล์ (RPMI 1640) ที่มี $NaHCO_3$

- นำอาหาร RPMI 1640 ที่มี $NaHCO_3$ 5 กรัมต่อลิตร ผสมกับน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 1 ลิตรโดยใช้เครื่อง Magnetic Stirrer ในการกวนอาหารและปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 6.8-7.0
- นำมาทำการฆ่าเชื้อโดยกรองผ่าน membrane filter ขนาด 0.22 ไมครอน เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. การเตรียม Phosphate Buffer Solution (PBS)

ปริมาตรที่เตรียม 1,000 มิลลิลิตร

NaCl	8.0	กรัม
KCl	2.0	กรัม
KH_2HPO_4	0.2	กรัม
Na_2HPO_4	2.9	กรัม
Distilled Water	1,000	มิลลิลิตร

นำสารเคมีที่ทำการเตรียมไว้ใส่ลงบีกเกอร์และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 800 มิลลิลิตร ใช้เครื่อง Magnetic Stirrer ในการกวนอาหารให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรสารละลายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร ปรับค่าพีเอชให้มีเท่ากับ 7.0 นำสารละลายที่เตรียมไปทำการเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. การเตรียมสารละลาย MTT (ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร)

1. ชั่งสารละลาย MTT ปริมาตร 100 มิลลิกรัม
2. สารละลาย MTT ด้วยสารละลาย 1% PBS ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
3. ผสมให้เข้ากัน และเก็บไว้ในขวดสีชา
4. การ inactivate Fetal bovine serum (FBS)

- นำซีรั่มมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนละลาย
- นำซีรั่มมาทำการ inactivate ใน water bath ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยนำขวดซีรั่มใส่ลงใน water bath ตั้งแต่เปิดเครื่องหรืออุณหภูมิห้องจนถึงอุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส จากนั้นเขย่าทุก 5 นาที จนครบเวลา และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

4. การนับเซลล์มีชีวิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้สารละลาย Trypan blue 0.4% และ Heamacytometer ในการนับเซลล์ในแต่ละจานเพาะเลี้ยง การดูดสารละลาย Trypan blue 0.2 มิลลิลิตร และตัวอย่างเซลล์ 0.2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองแล้วผสมโดยการใช้ปิเปตดูดขึ้นลง วางกระจกปิดสไลด์ลงบน Heamacytometer นับจำนวนเซลล์มีชีวิต (ไม่ติดสี) ในช่องขนาด 1 ตารางมิลลิเมตร บริเวณตรงกลาง และช่องที่มุมทั้ง 4 ของตาราง จากนั้นนำไปคำนวณหาจำนวนเซลล์เฉลี่ยต่อช่อง

ปริมาตรของช่อง Heamacytometer = 1 mm x 1mm x 0.1 mm

= 0.1 mm^3 = 10^4

จำนวนเซลล์เฉลี่ย = จำนวนเซลล์ที่นับได้ต่อ 5 ช่อง

= ..... เซลล์ต่อช่อง

จำนวนเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตร = จำนวนเซลล์เฉลี่ยต่อช่อง × ค่าความเจือจาง × 10^4

= ..... เซลล์ต่อมิลลิลิตร

5. การเตรียมเซลล์เพื่อใช้ในการทดสอบ MTT

1. นำเซลล์มานับด้วย Heamacytometer โดยสังเกตเซลล์ที่มีชีวิตจะไม่ติดสี Trypan blue และเซลล์ที่ตายจะติดสีฟ้าของ Trypan blue โดยจะต้องทำการนับเซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ตายไปพร้อมๆกัน และนับทั้ง 5 ช่องใหญ่
2. นำค่าที่นับได้มาคำนวณหาปริมาตรเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตร ได้จากสมการ เซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตร = จำนวนเซลล์มีชีวิตเฉลี่ย × 10^4 × ระดับความเจือจาง
3. หากต้องการปลูกเซลล์ตั้งต้นจากขวดเพาะเลี้ยงเดิมไปยังขวดเพาะเลี้ยงใหม่ให้มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นและปริมาตรตามต้องการ สามารถนำค่าที่ได้มาคำนวณโดยสมการ

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

โดยที่ ; C_1 = จำนวนเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลตรที่ได้

V_1 = จำนวนเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตรที่ต้องการ

C_2 = ปริมาตรที่ต้องใช้

V_2 = ปริมาณที่ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพร

การวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยใช้สารละลายควอซิติน เป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์มาตรฐาน ซึ่งสามารถติดตามโดยการตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

1. สารเคมี

1.1 สารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อนละ 30

1.2 สารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5

1.3 สารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10

1.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 M

2. การเตรียมสารละลายกราฟมาตรฐานควอซิติน

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานควอซิตินเข้มข้นเริ่มต้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2 นำมาเจือจางระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1,000, 750,500,250,100,50,25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานควอซิตินที่ลายในเมทานอลที่ระดับความเข้มข้นต่างๆใส่ลง
หลอดทดลอง ปริมาตร 250 ไมโครลิตร

2.4 เติมน้ำกลั่น 1.25 มิลลิลิตร

2.5 เติม สารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตร
และทำการทิ้งไว้ 5 นาที

2.6 เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150
ไมโครลิตรและทิ้งไว้ 6 นาที

2.7 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 M ปริมาตร 500 ไมโครลิตร
และน้ำกลั่น 275 ไมโครลิตร

2.8 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

2.9 เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณสารละลายควอซิตินในหน่วยไมโครกรัม

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1 ชั่งสารสกัดหยาบ 1 มิลลิกรัมละลายในเมทานอลร้อยละ 30 ให้ได้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2 ปิเปตสารสกัดปริมาตร 250 ไมโครลิตร

3.3 เติมน้ำกลั่น 1.25 มิลลิลิตร

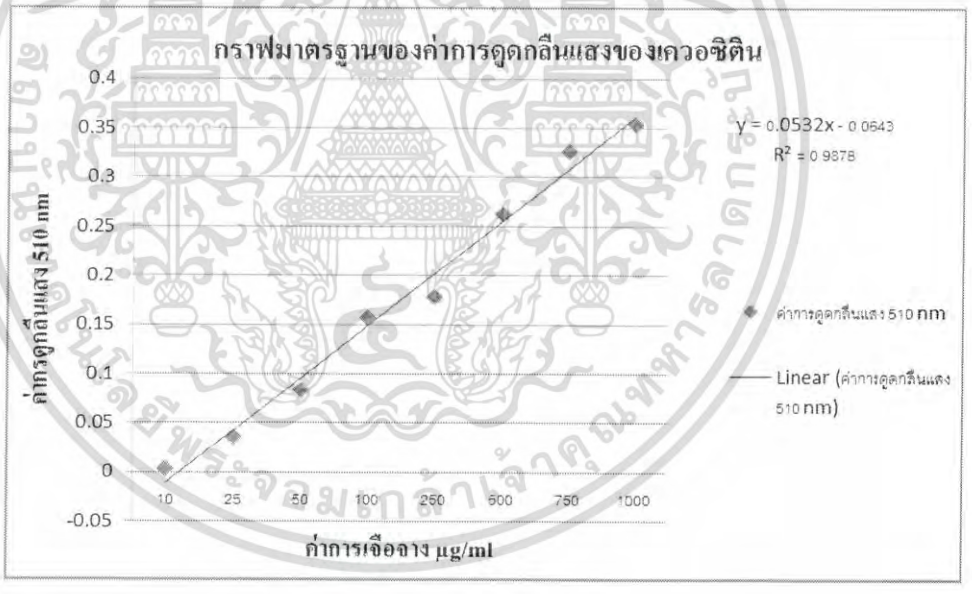
3.4 เติม สารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตรและทำการทิ้งไว้ 5 นาที

3.5 เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตรและทิ้งไว้ 6 นาที

3.6 เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 M ปริมาตร 500 ไมโครลิตรและน้ำกลั่น 275 ไมโครลิตร

3.7 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

3.8 รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด (mg quercetin equivalents (QE/g extract)



รูปภาพที่ จ-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณสารละลายควอซิตินในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพร

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากสมุนไพรไทย จะวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Denis นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโครโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้นั้นมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบแทนนินต่อกรัมของสารสกัด (mg of tannic acid equivalent (TAE/g of extract)

1. สารเคมี
    - 1.1 สารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 30
    - 1.2 สารละลายโฟลิน-เดนิช (Folin-Denis' reagent, Fluka, Switzerland)
    - 1.3 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 35
    - 1.4 สารละลายมาตรฐานของกรดแทนนิก
2. การเตรียมสารละลายกราฟมาตรฐานกรดแทนนิก
    - 2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนิกโดยทำการชั่งมา 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรโดยใช้เมทานอลร้อยละ 30 เป็นตัวทำละลาย
    - 2.6 ทำการเจือจางสารละลายกรดแทนนิกที่ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 1,000, 750,500,250,100,50,25 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
    - 2.2 เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตร 7.5 มิลลิลิตร
    - 2.3 เติมสารละลายโฟลิน-เดนิช (Folin-Denis' reagent, Fluka, Switzerland) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร
    - 2.4 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 35
    - 2.5 ปรับปริมาตรสารละลายให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น
    - 2.6 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร
    - 2.7 สารละลายมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแทนนิกกับค่าการดูดกลืนแสงแทนนิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน
3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแทนนิกทั้งหมด
    - 3.1 เตรียมสารสกัดหยาบโดยทำการชั่งมา 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรโดยใช้เมทานอลร้อยละ 30 เป็นตัวทำละลาย ใช้ 50 ไมโครลิตร
    - 3.2 เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตร 7.5 มิลลิลิตร
    - 3.3 เติมสารละลายโฟลิน-เดนิช (Folin-Denis' reagent, Fluka, Switzerland) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 35

3.5 ปรับปริมาตรสารละลายให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

3.6 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตรนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้สารละลายมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดแทนนิกกับค่าการดูดกลืนแสงแทนนิกจะได้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

รูปภาพที่ ฉ-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณสารละลายกรดแทนนิกในหน่วยไมโครกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ช

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินรวมในสารสกัดหยาบจากสมุนไพร (ใช้วิธี pH differential)

โดยใช้ระบบ 2 บัฟเฟอร์ คือ 0.025 M potassium chloride (KCl) ที่ pH 1.0 และ 0.4 M sodium acetate (CH_3COONa) ที่ pH 4.5

1. สารเคมี

1.1 potassium chloride (KCl) 0.025 M ที่ pH 1.0

1.2 sodium acetate (CH_3COONa) 0.4 M ที่ pH 4.5

1.3 potassium chloride หรือ sodium acetate

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน

2.1 นำสารละลายของปริมาตร 30 ไมโครลิตร (สกัดชั่ง 40 มิลลิกรัมไปทำการละลายในน้ำ 1000 ไมโครลิตร)

2.2 เจือจางสารสกัดตัวอย่าง 1 ส่วนใน 9 ส่วยของสารละลายบัฟเฟอร์ โดยวิธี pH differential โดยใช้ระบบ 2 บัฟเฟอร์ คือ 0.025 M potassium chloride (KCl) ที่ pH 1.0 และ 0.4 M sodium acetate (CH_3COONa) ที่ pH 4.5 ปริมาตร 270 ไมโครลิตร ของตัวอย่าง

2.3 ผสมกับ potassium chloride หรือ sodium acetate 270 ไมโครลิตร

2.4 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร และ 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง ไมโครเพลทรีดเดอร์

จากนั้นนำค่าคำนวณความแตกต่างระหว่างค่าการดูดกลืนแสง

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

ปริมาณ anthocyanin (mg/l) $= (A \times MW \times DF \times 1000)/(e \times 1)$

เมื่อ A คือ ความแตกต่างของ Absorbance ที่ pH แตกต่างกัน

MW คือ น้ำหนักโมเลกุลของแอนโทไซยานิน (449.2)

DF คือ dilution factor

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ช-1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของสารประกอบแอนโทไซยานินของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นหน่อไม้ฝรั่ง

สารสกัดหยาบ	ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน (mg cyanidin-3-glucoside / l สารสกัด)
ลำต้น	13.58^{b}±1.16
ใบ	6.07^{b}±1.49
ราก	43.12^{a}±4.30

หมายเหตุ : ตัวอักษรเดียวกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ซ

ผลการทดลอง

1. **การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดในการต้านเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี Agar well diffusion**

ตารางที่ ซ-1 ผลเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่งเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนยับยั้ง (มิลลิลิตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
E.Coli	ลำต้น	7.00	7.00	7.00	7.00
	ใบ	8.01	8.02	8.03	8.02
	ราก	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน	13.63	13.44	13.43	13.50
S.epidermidis	ลำต้น	9.12	9.23	9.11	9.15
	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ราก	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน	12.66	12.78	12.41	12.62
S.aureus	ลำต้น	9.10	9.22	9.21	9.17
	ใบ	8.21	7.89	8.10	8.06
	ราก	8.33	8.21	8.29	8.27
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน	17.33	17.51	18.02	17.64
B.subtilis	ลำต้น	13.12	13.78	13.03	13.31
	ใบ	15.31	15.32	14.98	15.20
	ราก	11.23	10.99	11.20	11.14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน	13.51	14.00	13.65	13.72
S.typhimurium	ลำต้น	6.00	6.00	6.00	6.00
	ใบ	6.00	6.00	6.00	6.00
	ราก	6.00	6.00	6.00	6.00
	เอทานอล	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน	32.12	30.11	31.23	31.15

ตารางที่ ซ-2 ฤทธิ์ยังยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากต้นหน่อไม้ฝรั่งที่มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบต้นหน่อไม้ฝรั่ง	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (Inhibition zone, มิลลิลิตร)				
	E.Coli	*S.epidermidis*	*S.aureus*	*B.subtilis*	*S.typhimurium*
ลำต้น	7.00	9.15	9.17	13.31	6.00
ใบ	8.02	6.00	8.06	15.20	6.00
ราก	6.00	6.00	8.27	11.14	6.00
ชุดควบคุม					
ยาปฏิชีวนะเจนตร้ามัยซิน	13.50	-	17.64	30.11	31.15
ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน	-	12.62	-	-	-
EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00

หมายเหตุ (-) คือ ไม่ได้ใช้ยาปฏิชีวนะชนิดนี้

ตารางที่ ซ-3 ผลเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบต้นหน่อไม้ฝรั่งความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	โซนยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
S.aureus	ลำต้น	7.77	7.23	6.89	7.29
	ใบ	10.12	9.34	9.12	9.52
	ราก	7.33	7.11	7.00	7.14
	EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนต้ามัยซิน	17.51	17.13	17.33	17.32
E.coli	ลำต้น	8.32	8.55	7.80	8.22
	ใบ	8.11	9.31	8.24	8.55
	ราก	6.11	9.31	8.24	8.11
	EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนต้ามัยซิน	13.10	13.10	13.04	13.11
S.epidermidis	ลำต้น	8.23	8.00	8.35	8.19
	ใบ	6.23	6.32	6.44	6.33
	ราก	6.10	6.21	6.18	6.16
	EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน	12.33	12.13	12.56	12.34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

B.subtilis	ลำต้น	13.24	14.14	13.63	13.67
	ใบ	17.12	18.24	17.63	17.66
	ราก	13.51	13.76	13.90	13.90
	EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน	13.55	13.76	13.11	13.47
S.typhimurium	ลำต้น	7.33	6.12	6.45	6.63
	ใบ	6.12	6.17	6.11	6.13
	ราก	6.10	6.31	6.00	6.13
	EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอซาซิน	27.11	28.01	28.33	28.50

ตารางที่ ช-4 ฤทธิ์ยังยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากต้นหน่อไม้ฝรั่งที่มีความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบต้นหน่อไม้ฝรั่ง	**ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง**				
	E.Coli	*S.epidermidis*	*S.aureus*	*B.subtilis*	*S.typhimurium*
ลำต้น	8.22	8.19	7.29	13.67	6.63
ใบ	8.55	6.33	9.52	17.66	6.13
ราก	8.11	6.16	7.14	13.90	6.13
ชุดควบคุม					
ยาปฏิชีวนะเจนตร้ามัยซิน	13.11	-	17.33	13.47	-
ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน	-	12.34	-	-	28.50
EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00

หมายเหตุ (-) คือ คือ ไม่ได้ใช้ยาปฏิชีวนะชนิดนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ซ-5 ผลเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบต้นหน่อไม้ฝรั่งความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	บริเวณยับยั้ง			เฉลี่ย
		1	2	3	
S.aureus	ลำต้น	10.23	10.55	11.11	10.63
	ใบ	9.5	9.23	8.77	9.16
	ราก	7.32	7.44	7.81	7.52
	EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน	17.55	17.13	17.33	17.33
E.coli	ลำต้น	7.43	8.12	7.33	7.62
	ใบ	8.55	8.65	9.12	8.77
	ราก	6.00	7.21	7.00	6.73
	EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน	13.11	13.31	13.04	13.15
S.epidermidis	ลำต้น	11.23	8.56	8.66	9.48
	ใบ	10.23	10.34	9.98	10.18
	ราก	7.34	6.56	7.88	7.26
	EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน	12.33	12.13	12.56	12.34
S.typhimurium	ลำต้น	7.21	7.56	8.41	7.72
	ใบ	9.10	8.99	8.75	8.94
	ราก	8.12	7.89	8.53	8.18
	EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน	29.21	28.01	28.33	28.52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ซ-6 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากต้นหน่อไม้ฝรั่งที่มีความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบต้นหน่อไม้ฝรั่ง	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (มิลลิลิตร)			
	E.Coli	*S.epidermidis*	*S.aureus*	*S.typhimurium*
ลำต้น	7.62	9.48	10.63	7.72
ใบ	8.77	10.18	9.16	8.94
ราก	6.73	7.26	7.52	8.18
ชุดควบคุม				
ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน	13.15	-	17.33	-
ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน	-	12.34	-	28.52
EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00

หมายเหตุ (-) คือ คือ ไม่ได้ใช้ยาปฏิชีวนะชนิดนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ซ-7 ผลเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในการทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบต้นหน่อไม้ฝรั่งความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เชื้อจุลินทรีย์	การทดสอบ	บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)			เฉลี่ย
		1	2	3	
S.aureus	ลำต้น	10.56	9.91	10	10.15
	ใบ	13.32	14.60	13.81	13.91
	ราก	10.04	10.32	12.11	13.91
	EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนต้ามัยซิน	16.66	16.43	16.23	16.44
E.coli	ลำต้น	9.98	8.86	8.55	9.13
	ใบ	10.44	9.97	9.87	10.09
	ราก	9.11	8.98	8.32	8.80
	EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนต้ามัยซิน	13.12	13.24	13.32	13.22
S.epidermidis	ลำต้น	8.11	7.98	7.32	7.80
	ใบ	10.0	9.51	10.22	9.91
	ราก	10.31	10.33	10.11	10.25
	EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน	13.11	12.45	12.33	12.63
S.typhimurium	ลำต้น	7.33	6.12	6.45	6.63
	ใบ	6.12	6.17	6.11	6.13
	ราก	7.11	7.45	7.11	7.11
	EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ ไซโปรฟลอกซาซิน	20.12	20.11	19.89	20.04

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ซ-8 ฤทธิ์ยังยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากต้นหน่อไม้ฝรั่งที่มีความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัดหยาบต้นหน่อไม้ฝรั่ง	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร)			
	E.coli	*S.epidermidis*	*S.aureus*	*S.typhimurium*
ลำต้น	9.13	7.80	10.63	6.63
ใบ	10.09	9.91	9.16	6.13
ราก	8.80	10.25	7.52	7.11
ชุดควบคุม				
ยาปฏิชีวนะเจนต้ามัยซิน	13.22	-	17.33	-
ยาปฏิชีวนะไซโปรฟลอกซาซิน	-	12.63	-	20.04
EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00

หมายเหตุ (-) คือ คือ ไม่ได้ใช้ยาปฏิชีวนะชนิดนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ซ-9 ผลเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสในการทดสอบเพื่อหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบในส่วนต่างๆของต้นหน่อไม้ฝรั่ง

4.1 *B.subtilis*

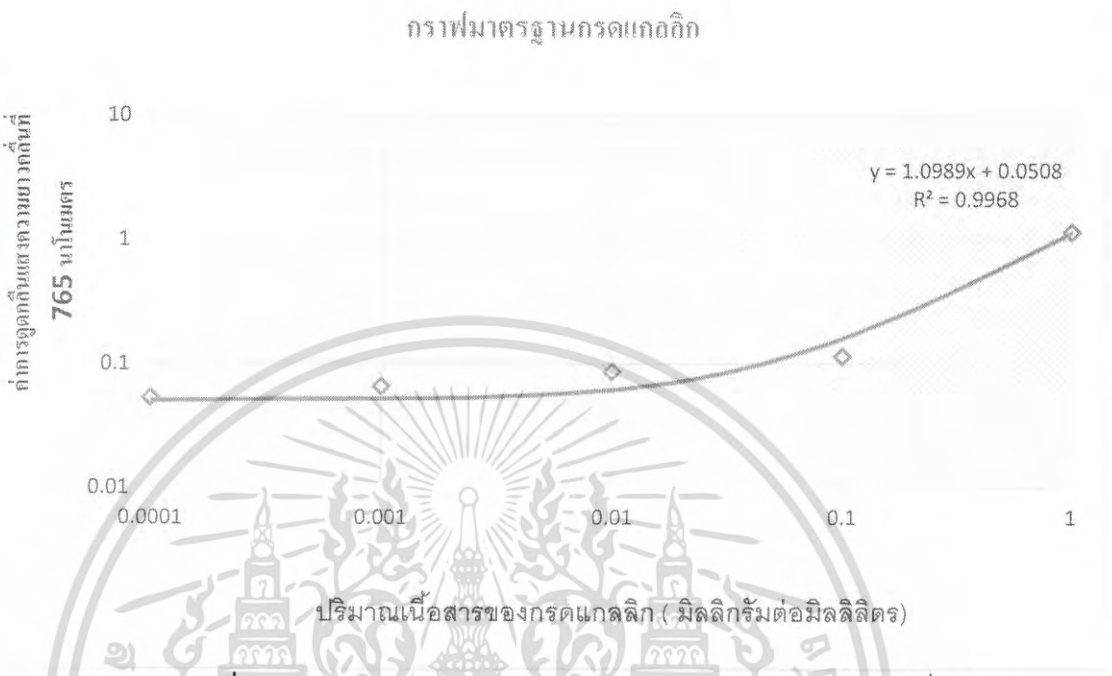
ส่วน	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	บริเวณยับยั้ง			เฉลี่ย
		1	2	3	
ลำต้น	50	14.66	13.65	13.77	14.02
	25	12.11	12.03	11.93	12.02
	12.5	10.67	11.21	10.33	10.73
	6.25	10.34	10.00	10.24	10.19
	3.125	10.12	9.90	10.00	10.00
	1.5625	9.03	8.85	8.77	8.88
	0.7812	7.36	7.24	7.11	7.23
	0.3906	6.10	6.12	6.51	6.24
ใบ	50	13.39	13.90	13.44	13.57
	25	12.31	12.77	11.61	12.23
	12.5	11.00	11.34	12.03	11.45
	6.25	11.00	11.01	11.04	11.01
	3.125	11.10	11.09	11.32	11.17
	1.5625	8.04	8.21	8.86	8.37
	0.7812	7.01	7.21	7.79	7.33
	0.3906	6.12	6.00	6.10	6.07

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ราก	50	12.11	12.5	11.95	12.18
	25	11.10	10.80	11.21	11.03
	12.5	10.39	10.12	10.18	10.23
	6.25	10.20	10.12	10.13	10.15
	3.125	10.19	10.29	9.91	10.13
	1.5625	9.11	9.32	9.00	9.14
	0.7812	7.25	7.24	7.55	7.34
	0.3906	6.03	6.24	6.00	6.09
	EtOH 95 %	6.00	6.00	6.00	6.00
	ยาปฏิชีวนะ เจนต้ามัยซิน	14.33	13.12	14.11	13.85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นหน่อไม้ฝรั่ง



รูปภาคผนวกซ ที่ 1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรกับความเข้มข้นของกรดแกลลิก สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ตารางที่ ซ-10 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

ความเข้มข้นกรดแกลลิก (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร			ค่าการดูดกลืนแสง
	1	2	3	
1	1.151	1.154	1.152	1.153
0.1	0.117	0.114	0.116	0.115
0.01	0.079	0.087	0.096	0.086
0.001	0.068	0.062	0.069	0.066
0.0001	0.053	0.057	0.049	0.053

ตารางที่ ซ-11 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดหยาบจากต้นหน่อไม้ฝรั่งในแต่ละความเข้มข้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบ	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร			ค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ย	ปริมาณฟีนอลิก (mgGAE/100 g dry weight)	ปริมาณฟีนอลิก (mgGAE/g สารสกัด)
	1	2	3			
ลำต้น	0.153	0.151	0.155	0.153	14,874.56	929.66
ใบ	0.346	0.345	0.340	0.343	54,172.74	2,664.67
ราก	0.257	0.259	0.250	0.255	41,258.37	1,861

<u>การคำนวณ</u> หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากลำต้น ใบ และรากของต้นหน่อไม้ฝรั่งคิดโดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ของสารสกัดหยาบจากลำต้น ใบ และรากของต้นหน่อไม้ฝรั่งแทนค่าในสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกดังนี้

เช่น <u>**ซ้ำที่ 1**</u> สารสกัดหยาบจากลำต้นหน่อไม้ฝรั่ง มีค่า $O.D._{765}$ เท่ากับ 0.153

จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานแกลลิก

$$y = 1.0989x + 0.0508$$

เมื่อ x คือ ความเข้มข้นของกรดแกลลิก (มิลลิกรัม)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 690 นาโนเมตร

แทนค่า $0.153 = 1.0989x + 0.0508$

$0.153 - 0.0508 = 1.0989x$

$X = 0.1022 / 1.0989$

$= 0.0930$ มิลลิกรัม

ดังนั้นปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบ 0.1 มิลลิกรัมเทียบเท่ากับปริมาณเนื้อสาร ของกรดแกลลิกเท่ากับ 0.0930 มิลลิกรัม

สารสกัด 1000 มก. จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ $(0.0930 \times 10000)/ 0.1$

เท่ากับ 930 mg

สารสกัด 1 มก. จะมีปริมาณเนื้อสารของกรดแกลลิก เท่ากับ 930 / 1000

เท่ากับ 0.93 mg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพราะฉะนั้น สารสกัดหยาบจากลำต้นของหน่อไม้ฝรั่งมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 930 มิลลิกรัมของกรดแกลิกต่อกรัมของสารสกัด

3.การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของต้นหน่อไม้ฝรั่ง

ตารางที่ ซ-12 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของสารสกัดต้นหน่อไม้ฝรั่งส่วนของ ลำต้น ใบ และรากที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร				
	10	5	2.5	1.25	0.625
ต้น	0.403	0.604	0.767	1.097	1.346
	0.401	0.603	0.766	1.092	1.348
	0.401	0.609	0.763	1.094	1.352
ใบ	0.468	0.655	0.829	1.14	1.411
	0.463	0.649	0.831	1.137	1.415
	0.466	0.649	0.826	1.138	1.419
ราก	0.425	0.627	0.789	1.113	1.405
	0.424	0.631	0.783	1.109	1.409
	0.426	0.633	0.787	1.11	1.41

ตารางที่ ซ-13 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ของหลุมควบคุม (control)

Blank	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร						
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	ซ้ำ5	ซ้ำ6	ซ้ำ7
	1.502	1.519	1.538	1.542	1.505	1.526	1.521
ค่าเฉลี่ย	1.5219						

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ซ-14 ค่าร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของวิตามินอี

วิตามินอี (mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร						
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ซ้ำที่ 5	ซ้ำที่ 6	ซ้ำที่ 7
0.5	89.552	89.355	89.946	89.158	89.552	88.829	89.092
1.25	90.866	91.064	91.129	90.998	90.866	90.932	90.604

ตารางที่ ซ-15 ค่าร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของวิตามินอี

วิตามินอี (mg/ml)	ร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ							ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	ซ้ำ5	ซ้ำ6	ซ้ำ7	
0.5	89.552	89.355	89.946	89.092	89.158	89.552	88.829	89.355
1.25	90.866	91.064	91.129	90.998	90.866	90.932	90.604	90.923

ตารางที่ ซ-16 ค่าร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดหน่อไม้ฝรั่ง ส่วนต้น ใบ ราก ที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด (mg/ml)	ค่าร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ				
	10	5	2.5	1.25	0.625
ต้น	73.520	60.313	49.602	27.919	11.558
	73.651	60.378	49.668	28.248	11.427
	73.651	59.984	49.865	28.116	11.164
ใบ	69.249	56.962	45.529	25.094	7.287
	69.578	57.356	45.397	25.291	7.024
	69.380	57.356	45.726	25.225	6.761
ราก	72.074	58.801	48.157	26.868	7.681
	72.140	58.539	48.551	27.131	7.418
	72.009	58.407	48.288	27.065	7.353

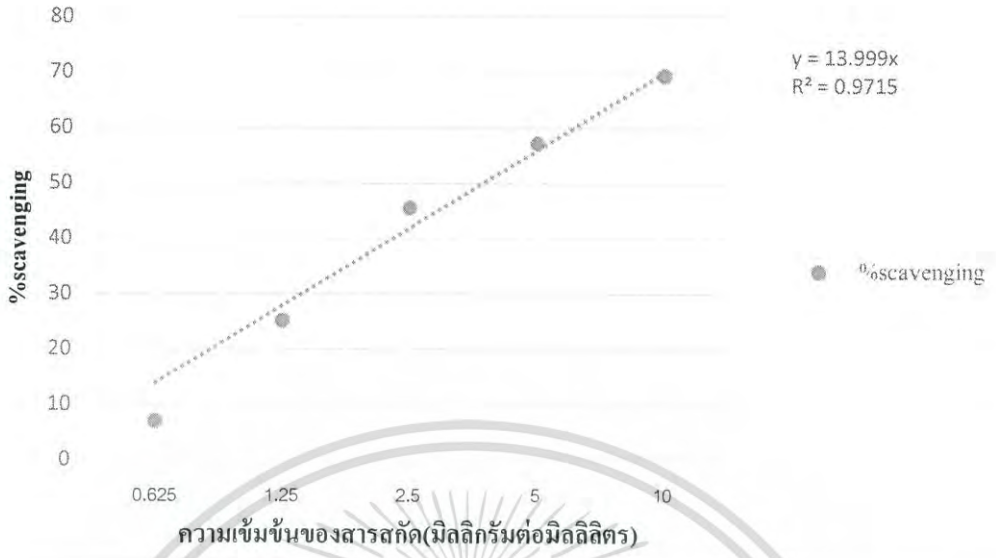
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ซ-17 ค่าเฉลี่ยร้อยละของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของสารสกัดหน่อไม้ฝรั่ง ส่วนต้น ใบ ราก ที่ความเข้มข้นต่างๆ

สารสกัด (mg/ml)	ค่าร้อยละฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ				
	10	5	2.5	1.25	0.625
ต้น	73.608	60.225	49.712	28.094	11.383
ใบ	69.402	57.225	45.551	25.203	7.024
ราก	72.074	58.582	48.332	27.021	7.484

รูปภาคผนวคที่ ซ- 2 กราฟแสดงกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหน่อไม้ฝรั่งส่วนต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวกที่ ซ-3 กราฟแสดงกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหน่อไม้ฝรั่งส่วนใบ

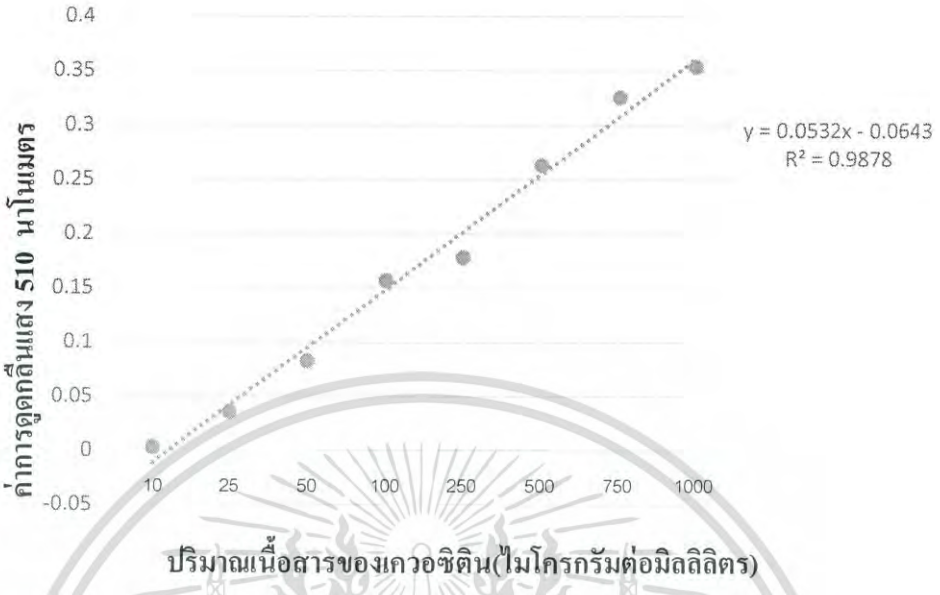
รูปภาคผนวกที่ ซ-4 กราฟแสดงกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหน่อไม้ฝรั่งส่วนราก

ตารางที่ ซ-18 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระครึ่งหนึ่งจากปริมาณทั้งหมด(IC_{50}) ของสารสกัดหยาบจากส่วนต้น ใบ และรากของหน่อไม้ฝรั่ง

สารสกัดหยาบหน่อไม้ฝรั่ง	IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ต้น	3.331
ใบ	3.572
ราก	3.432

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดจากหน่อไม้ฝรั่ง



รูปภาคผนวกที่ ซ-5 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร กับปริมาณเนื้อสารของเควอซิตินในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ตารางที่ ซ-19 ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบลำต้น ใบ และราก ของหน่อไม้ฝรั่ง ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

สารสกัด (1 mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร			
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ค่าเฉลี่ย
ต้น	0.021	0.023	0.022	0.022
ใบ	0.203	0.205	0.207	0.205
ราก	0.054	0.05	0.049	0.051

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ซ-20 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในหน่วยมิลลิกรัมของเควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด (mg of quercetin equivalents (QE)/g of extract) ที่ค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารสกัดหน่อไม้ฝรั่ง ส่วนต้น ใบ ราก ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด (1 mg/ml)	ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมของเควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด)			
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ค่าเฉลี่ย
ต้น	1597.7	1635.3	1616.5	1616.5
ใบ	5018.7	5056.3	5093.9	5056.3
ราก	2218.0	2142.8	2124.0	2161.6

จากสมการกราฟมาตรฐาน

$$y = 0.0532x - 0.064 , R^2 = 0.9878$$

เช่น ต้นซ้ำ 1 ค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.021

$$0.021 = 0.053x - 0.064$$

$$x = 1.5977$$

ในสมการสารสกัดหยาบความเข้นข้น 1 mg/ml มีฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เท่ากับ 1.5977 $mgQE \cdot g^{-1}$

สารสกัดตัวอย่าง 1 mg มีค่า มิลลิกรัมของเควอซิติน 1.5977 mg

สารสกัดตัวอย่าง 1000 mg มีค่ามิลลิกรัมของเควอซิติน เท่ากับ (1.5977mg x 1000mg)/1 mg = 1,597.7 mgQE.g -1

ดังนั้นพบว่า สารสกัดตัวอย่าง 1000 mg มีค่ามิลลิกรัมของเควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด เท่ากับ 1597.7 มิลลิกรัมของเควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด

ตารางที่ ซ-20 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในหน่วยมิลลิกรัมของเควอซิตินต่อกรัมของสารสกัด (mg of quercetin equivalents (QE)/100 g dry wirght) ที่ค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ของสารสกัดหน่อไม้ฝรั่ง ส่วนต้น ใบ ราก ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด (1 mg/ml)	ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (มิลลิกรัมของเควอซิตินต่อ100กรัมน้ำหนักแห้ง)			
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ค่าเฉลี่ย
ต้น	25,563.2	26,164.8	25,864	25,864
ใบ	102,030	102,794.58	103,558.99	102,794.52
ราก	49,173.06	47,505.88	47,089.08	47,922.67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่ง

การวิเคราะห์หารปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมดในสารสกัดหน่อไม้ฝรั่งโดยการวิเคราะห์โดยวิธี Folin-Denis (Kathirvel และ Sujatha,2012) โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้กรดแทนนิก เป็นสารละลายมาตรฐาน โดยรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด(mg of tannic acid equivalent (TAE)/g of extract) ใช้เมทานอลร้อยละ 30 เป็นแบลงค์(blank) จากผลการทดลองจะพบว่า ใบมีปริมาณแทนนินสูงที่สุด เท่ากับ 3,148 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดซึ่งรากกับต้นมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 2,177 และ 1,608 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ

รูปภาคผนวกที่ ซ-6กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร กับปริมาณเนื้อสารของกรดแทนนิกในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแทนนินทั้งหมด

ตารางที่ ซ-21 แสดงผลแทนนิน ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ของสารสกัดหน่อไม้ฝรั่ง ส่วนต้น ใบ ราก ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สารสกัด (1 mg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร			
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ค่าเฉลี่ย
ต้น	0.026	0.026	0.029	0.027
ใบ	0.086	0.083	0.084	0.084
ราก	0.040	0.038	0.039	0.039

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ซ-22 ปริมาณสารแทนนินในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด (mg of tannic acid equivalents (TAE)/g of extract) ที่ค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ของสารสกัดหน่อไม้ฝรั่ง ส่วนต้น ใบ ราก ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจากสมการกราฟมาตรฐาน

สารสกัด (1 mg/ml)	ปริมาณของสารแทนนิน (มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด)			
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ค่าเฉลี่ย
ต้น	854	894	894	880.67
ใบ	1,666	1,625	1,639	1,643.33
ราก	1,016	1,030	1,043	1,029.67

$y = 0.0793x - 0.0371$, $R^2 = 0.9889$

เช่น ต้นซ้ำ 1 ค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.021

$0.026 = 0.0617x - 0.1093$

$x = 2.213$

ในสมการสารสกัดหยาบความเข้มข้น 1 mg/ml มีแทนนินทั้งหมด เท่ากับ 2.213 mgTAE• g^{-1}

สารสกัดตัวอย่าง 1 mg มีค่ามิลลิกรัมของกรดแทนนิก เท่ากับ 2.213 mg

สารสกัดตัวอย่าง 1000 mg มีค่ามิลลิกรัมของกรดแทนนิก เท่ากับ (2.213 mg x 1000mg)/1 mg

= 2,213 mgTAE• g-1

ดังนั้นพบว่า สารสกัดตัวอย่าง 1000 mg มีค่ามิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัดเทียบเท่ากับ 2,213 มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมของสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ซ-22 ปริมาณสารแทนนินในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg of tannic acid equivalents (TAE)/100g dry wight) ที่ค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ของสารสกัดหน่อไม้ฝรั่ง ส่วนต้น ใบ ราก ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจากสมการกราฟมาตรฐาน

สารสกัด (1 mg/ml)	ปริมาณของสารแทนนิน (มิลลิกรัมของกรดแทนนิกต่อ100กรัม น้ำหนักแห้ง)			
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ค่าเฉลี่ย
ต้น	13,664	14,304	14,304	14,090.67
ใบ	33,869.78	33,036.25	33,320.87	33,408.97
ราก	22,524.72	22,835.1	23,123.31	22,827.71

6.การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินรวมในสารสกัดหยาบจากหน่อไม้ฝรั่ง (ใช้วิธี pH differential)

ตารางที่ ซ-23 ค่าการดูดกลืนแสงของ KCl pH 1.0 ความยาวคลื่นที่ 510 นาโนเมตร KCl pH 1.0

สารสกัดหยาบ	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
ต้น	0.229	0.207	0.225	0.220
ใบ	0.322	0.324	0.316	0.321
ราก	0.488	0.492	0.485	0.488

ตารางที่ ซ-24 ค่าการดูดกลืนแสงของ KCl pH 1.0 ความยาวคลื่นที่ 700 นาโนเมตร KCl pH 1.0

สารสกัดหยาบ	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
ต้น	0.102	0.102	0.087	0.097
ใบ	0.243	0.205	0.251	0.233
ราก	0.123	0.191	0.077	0.130

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ซ-25 ค่าการดูดกลืนแสงของ CH_3COONa pH 4.5 ความยาวคลื่นที่ 510 นาโนเมตร

CH_3COONa pH 4.5

สารสกัดหยาบ	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
ต้น	0.125	0.133	0.129	0.129
ใบ	0.306	0.289	0.280	0.291
ราก	0.253	0.210	0.248	0.237

ตารางที่ ซ-26 ค่าการดูดกลืนแสงของ CH_3COONa pH 4.5 ความยาวคลื่นที่ 700 นาโนเมตร

CH_3COONa pH 4.5

สารสกัดหยาบ	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
ต้น	0.099	0.105	0.093	0.099
ใบ	0.279	0.208	0.280	0.256
ราก	0.177	0.116	0.180	0.138

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

ปริมาณ anthocyanin (mg/l) = $(A \times MW \times DF \times 1000)/(e \times 1)$

เมื่อ A คือ ความแตกต่างของ Absorbance ที่ pH แตกต่างกัน

MW คือ น้ำหนักโมเลกุลของแอนโทไซยานิน (449.2)

DF คือ dilution factor

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

ตารางที่ ซ-27 ค่าเฉลี่ยการหาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานิน (mg cyanidin-3-glucosode/l crude extract)

สารสกัดหยาบ	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย
ต้น	15.86	12.86	12.02	13.58
ใบ	8.68	3.51	6.01	6.07
ราก	48.26	34.57	56.77	46.53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7.การศึกษาค่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ของสารสกัดหยาบจากส่วต่างๆของต้นหน่อไม้ฝรั่ง

ตารางที่ ซ-28 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบส่วนลำต้น ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

ระดับความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร			
	ซ้ำที่1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
10,000	0.277	0.254	0.28	0.270
1,000	0.351	0.355	0.364	0.357
100	0.469	0.466	0.47	0.468
10	0.602	0.608	0.616	0.609
1	0.641	0.657	0.671	0.656
0.1	0.823	0.831	0.824	0.826

ตารางที่ ซ-29 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบส่วนใบ ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

ระดับความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร			
	ซ้ำที่1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
10,000	0.265	0.278	0.263	0.269
1,000	0.313	0.322	0.319	0.318
100	0.45	0.453	0.451	0.451
10	0.553	0.589	0.565	0.569
1	0.611	0.608	0.604	0.608
0.1	0.792	0.789	0.798	0.793

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

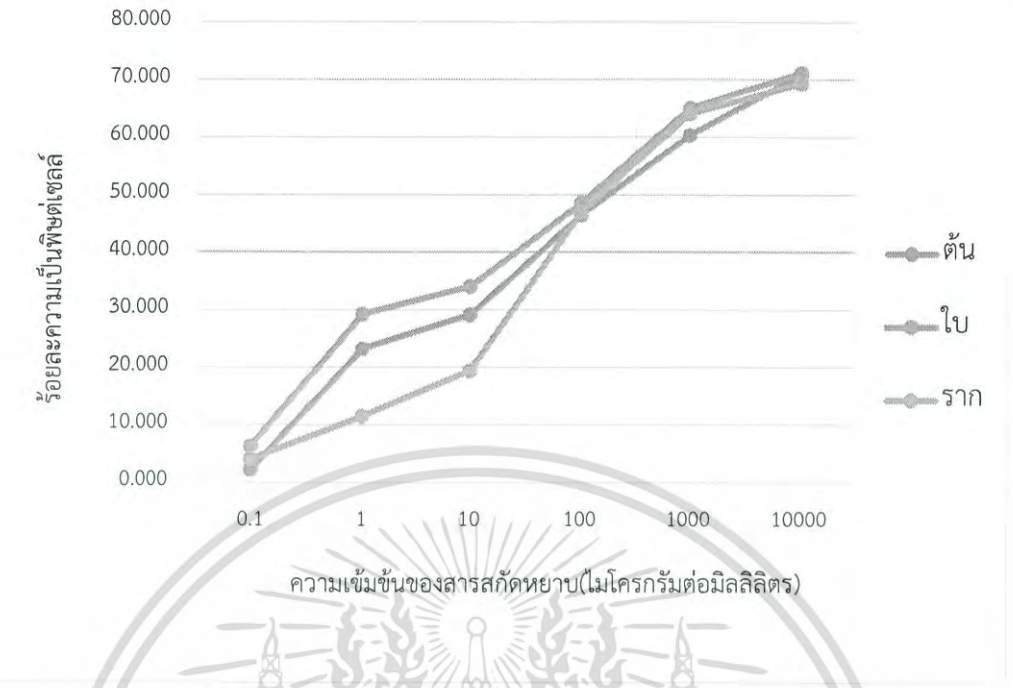
ตารางที่ ซ-30 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดหยาบส่วนราก ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร

ระดับความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร			
	ซ้ำที่1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
10,000	0.289	0.279	0.282	0.283
1,000	0.322	0.327	0.329	0.326
100	0.465	0.468	0.46	0.464
10	0.688	0.691	0.683	0.687
1	0.744	0.759	0.751	0.867
0.1	0.813	0.809	0.812	0.927

ตารางที่ ซ-31 ค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ของสารสกัดหยาบของต้นหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆ

ระดับความเข้มข้น (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7		
	ต้น	ใบ	ราก
10,000	70.998	71.205	69.389
1,000	60.314	65.099	64.109
100	46.493	48.597	46.988
10	29.125	34.035	19.389
1	23.226	29.249	11.469
0.1	2.228	6.312	4.043

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปภาคผนวกที่ ซ-7 แสดงกิจกรรมความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ลำต้น ใบ และรากของหน่อไม้ฝรั่ง

รูปภาคผวกที่ ซ-8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดของลำต้นกับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>คำนวณ CC_{50}</u> ในการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะร็งเต้านม (MCF-7) โดยวิธี MTT

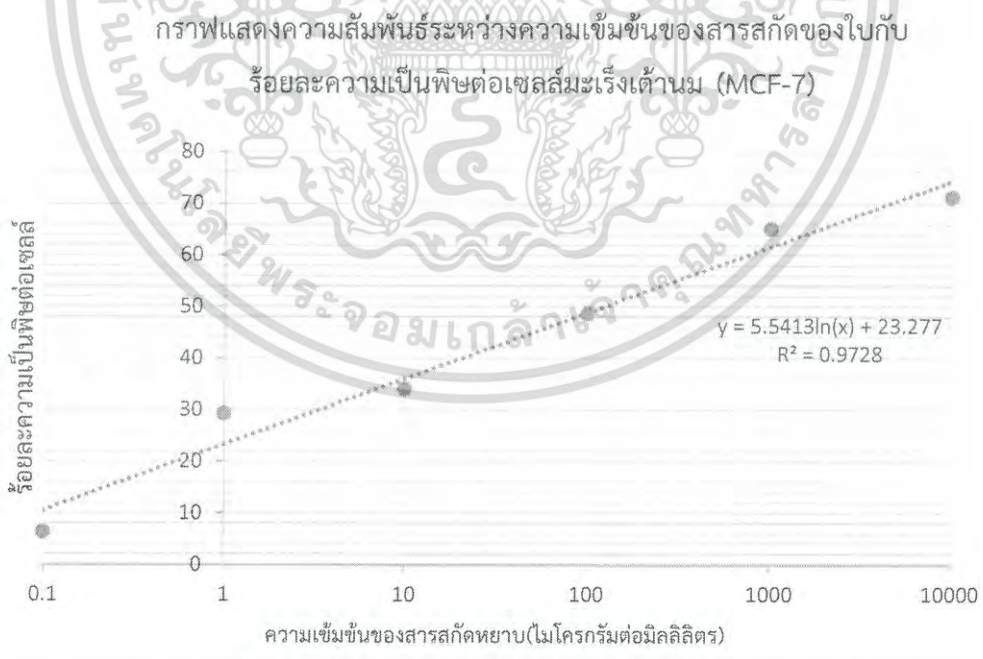
จากการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ของสารสกัดหยาบลำต้น ใบ และรากของต้นหน่อไม้ฝรั่ง เมื่อนำค่าที่ได้จากากาคำนวณหาร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แล้วนั้น มาพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละส่วนของต้นหน่อไม้ฝรั่งกับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เพื่อคำนวณหา CC_{50} ต่อไปดังนี้

จากกราฟจะได้สมการแสดงความสัมพันธ์ คือ $y = 5.8628\ln(x) + 18.481$

จะได้ว่า ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในลำต้นที่ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ร้อยละ 50 จะมีค่าเท่ากับ

$$y = 5.8628\ln(x) + 18.481$$
$$50 = 5.8628\ln(x) + 18.481$$
$$\ln(x) = 5.376$$
$$e^{5.376} = 216.16$$

ดังนั้นที่ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ร้อยละ 50 จะมีระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในลำต้นของหน่อไม้ฝรั่งเท่ากับ 216.16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปภาคผวกที่ ซ-9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดของใบกับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>คำนวณ CC_{50}</u> ในการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะร็งเต้านม (MCF-7) โดยวิธี MTT

จากการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ของสารสกัดหยาบลำต้น ใบ และรากของต้นหน่อไม้ฝรั่ง เมื่อนำค่าที่ได้จากากาคำนวณหาร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แล้วนั้น มาพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละส่วนของต้นหน่อไม้ฝรั่งกับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เพื่อคำนวณหา CC_{50} ต่อไปดังนี้

จากกราฟจะได้สมการแสดงความสัมพันธ์ คือ $y = 5.5413\ln(x) + 23.277$

จะได้ว่า ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในลำต้นที่ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ร้อยละ 50 จะมีค่าเท่ากับ

$$y = 5.5413\ln(x) + 23.277$$
$$50 = 5.5413\ln(x) + 23.277$$
$$\ln(x) = 4.8225$$
$$e^{4.8225} = 124.26$$

ดังนั้นที่ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ร้อยละ 50 จะมีระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในลำต้นของหน่อไม้ฝรั่งเท่ากับ 124.26 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

รูปภาคผวกที่ ช-10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดของรากกับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>คำนวณ CC_{50}</u> ในการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะร็งเต้านม (MCF-7) โดยวิธี MTT

จากการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) ของสารสกัดหยาบลำต้น ใบ และรากของต้นหน่อไม้ฝรั่ง เมื่อนำค่าที่ได้จากากาคำนวณหาร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์แล้วนั้น มาพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดแต่ละส่วนของต้นหน่อไม้ฝรั่งกับร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เพื่อคำนวณหา CC_{50} ต่อไปดังนี้

จากกราฟจะได้สมการแสดงความสัมพันธ์ คือ $y = 6.3562\ln(x) + 13.944$

จะได้ว่า ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในลำต้นที่ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ร้อยละ 50 จะมีค่าเท่ากับ

$$y = 6.3562\ln(x) + 13.944$$
$$50 = 6.3562\ln(x) + 13.944$$
$$\ln(x) = 5.6726$$
$$e^{5.6726} = 290.79$$

ดังนั้นที่ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่ร้อยละ 50 จะมีระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในลำต้นของหน่อไม้ฝรั่งเท่ากับ 290.79 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ ซ-32 เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมร้อยละ 50 (CC_{50}) ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของหน่อไม้ฝรั่ง

สารสกัดหยาบ	ค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่เป็นพิษต่อเซลล์ร้อยละ 50 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
ลำต้น	216.16
ใบ	124.26
ราก	290.79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฌ

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

1.1 การวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบส่วนลำต้น ใบ และรากที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
ต้น	100 mg/ml	3	16.5667	.65615	.37883	14.9367	18.1966	16.12	17.32
	50 mg/ml	3	14.0267	.55175	.31856	12.6560	15.3973	13.65	14.66
	25 mg/ml	3	12.0233	.09018	.05207	11.7993	12.2474	11.93	12.11
	12.5 mg/ml	3	10.7367	.44377	.25621	9.6343	11.8391	10.33	11.21
	6.25 mg/ml	3	10.1933	.17474	.10088	9.7593	10.6274	10.00	10.34
	3.125	3	10.0067	.11015	.06360	9.7330	10.2803	9.90	10.12
	1.5625 mg/ml	3	8.8833	.13317	.07688	8.5525	9.2141	8.77	9.03
	0.78125	3	7.2367	.12503	.07219	6.9261	7.5473	7.11	7.36
	0.390625	3	6.1100	.01000	.00577	6.0852	6.1348	6.10	6.12
	Ciprofloxacin	3	14.0533	.06807	.03930	13.8842	14.2224	14.00	14.13
	ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	33	10.5306	3.32656	.57908	9.3511	11.7102	6.00	17.32
ใบ	100 mg/ml	3	15.0367	.07024	.04055	14.8622	15.2111	14.97	15.11
	50 mg/ml	3	13.5767	.28113	.16231	12.8783	14.2750	13.39	13.90
	25 mg/ml	3	12.2300	.58412	.33724	10.7790	13.6810	11.61	12.77
	12.5 mg/ml	3	11.4567	.52482	.30300	10.1529	12.7604	11.00	12.03
	6.25 mg/ml	3	11.0167	.02082	.01202	10.9650	11.0684	11.00	11.04
	3.125	3	11.1700	.13000	.07506	10.8471	11.4929	11.09	11.32
	1.5625 mg/ml	3	8.3700	.43278	.24987	7.2949	9.4451	8.04	8.86
	0.78125	3	7.3367	.40513	.23390	6.3303	8.3431	7.01	7.79
	0.390625	3	6.0733	.06429	.03712	5.9136	6.2330	6.00	6.12
	Ciprofloxacin	3	13.8533	.35218	.20333	12.9785	14.7282	13.45	14.10
	ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	Total	33	10.5564	3.07818	.53584	9.4649	11.6478	6.00	15.11
ราก	100 mg/ml	3	13.5233	.16197	.09351	13.1210	13.9257	13.42	13.71
	50 mg/ml	3	12.1867	.28290	.16333	11.4839	12.8894	11.95	12.50
	25 mg/ml	3	11.0367	.21221	.12252	10.5095	11.5638	10.80	11.21
	12.5 mg/ml	3	10.2300	.14177	.08185	9.8778	10.5822	10.12	10.39
	6.25 mg/ml	3	10.1500	.04359	.02517	10.0417	10.2583	10.12	10.20
	3.125	3	10.1300	.19698	.11372	9.6407	10.6193	9.91	10.29
	1.5625 mg/ml	3	9.1433	.16258	.09387	8.7395	9.5472	9.00	9.32
	0.78125	3	7.3467	.17616	.10171	6.9091	7.7843	7.24	7.55
	0.390625	3	6.0233	.02082	.01202	5.9716	6.0750	6.00	6.04
	Ciprofloxacin	3	13.3833	.57134	.32987	11.9640	14.8026	13.00	14.04
	ethanol	3	6.0000	.00000	.00000	6.0000	6.0000	6.00	6.00
	Total	33	9.9230	2.55679	.44508	9.0164	10.8296	6.00	14.04

ต้น

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05							
ความเข้มข้น	N	1	2	3	4	5	6	7	8
Ethanol	3	6.0000							
0.390625	3	6.1100							
0.78125	3		7.2367						
1.5625 mg/ml	3			8.8833					
3.125	3				10.0067				
6.25 mg/ml	3				10.1933				
12.5 mg/ml	3					10.7367			
25 mg/ml	3						12.0233		
50 mg/ml	3							14.0267	
Ciprofloxacin	3							14.0533	
100 mg/ml	3								16.5667
Sig.		.663	1.000	1.000	.461	1.000	1.000	.916	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.การวิเคราะห์ค่าการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนลำต้น ใบ และรากของต้นหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆดังต่อไปนี้

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Descriptives

DPPH								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
ลำต้น 10 mg/ml	3	73.6073	.07563	.04367	73.4195	73.7952	73.52	73.65
5 mg/ml	3	60.2227	.21289	.12291	59.6938	60.7515	59.98	60.38
2.5 mg/ml	3	49.7100	.12767	.07371	49.3928	50.0272	49.60	49.85
1.25 mg/ml	3	28.0893	.16995	.09812	27.6672	28.5115	27.91	28.25
0.625 mg/ml	3	11.3830	.20065	.11585	10.8846	11.8814	11.16	11.56
ใบ 10 mg/ml	3	69.4020	.16610	.09590	68.9894	69.8146	69.25	69.58
5 mg/ml	3	57.2247	.22748	.13133	56.6596	57.7897	56.96	57.36
2.5 mg/ml	3	45.5487	.16240	.09376	45.1453	45.9521	45.40	45.72
1.25 mg/ml	3	25.2033	.10027	.05789	24.9542	25.4524	25.09	25.29
0.625 mg/ml	3	7.0240	.26300	.15184	6.3707	7.6773	6.76	7.29
ราก 10 mg/ml	3	72.0747	.06500	.03753	71.9132	72.2361	72.01	72.14
5 mg/ml	3	58.5823	.20054	.11578	58.0842	59.0805	58.41	58.80
2.5 mg/ml	3	48.3320	.20065	.11585	47.8336	48.8304	48.16	48.55
1.25 mg/ml	3	27.0213	.13683	.07900	26.6814	27.3612	26.87	27.13
0.625 mg/ml	3	7.4840	.17367	.10027	7.0526	7.9154	7.35	7.68
Total	45	42.7273	22.8380	3.40449	35.8660	49.5886	6.76	73.65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DPPH																
Duncan[a]																
สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
ใบ 0.625 mg/ml	3	7.02														
ราก 0.625 mg/ml	3		7.48													
ลำต้น 0.625 mg/ml	3			11.38												
ใบ1.25 mg/ml	3				25.20											
ราก 1.25 mg/ml	3					27.02										
ลำต้น 1.25 mg/ml	3						28.09									
ใบ 2.5 mg/ml	3							45.55								
ราก 2.5 mg/ml	3								48.33							
ลำต้น 2.5 mg/ml	3									49.71						
ใบ 5 mg/ml	3										57.22					
ราก 5 mg/ml	3											58.58				
ลำต้น 5 mg/ml	3												60.22			
ใบ 10 mg/ml	3													69.40		
ราก 10 mg/ml	3														72.07	
ลำต้น 10 mg/ml	3															73.61
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	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

Descriptives									
						95% Confidence Interval for Mean			
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
ลำต้น	10 mg/ml	3	73.6073	.07563	.04367	73.4195	73.7952	73.52	73.65
	5 mg/ml	3	60.2250	.21123	.12195	59.7003	60.7497	59.98	60.38
	2.5 mg/ml	3	49.7133	.14012	.08090	49.3653	50.0614	49.60	49.87
	1.25 mg/ml	3	28.0943	.16557	.09559	27.6830	28.5056	27.92	28.25
	0.625 mg/ml	3	11.3830	.20065	.11585	10.8846	11.8814	11.16	11.56
	Total	15	44.6046	23.08808	5.96132	31.8188	57.3904	11.16	73.65
ใบ	10 mg/ml	3	69.4033	.16623	.09597	68.9904	69.8163	69.25	69.58
	5 mg/ml	3	57.2267	.23094	.13333	56.6530	57.8004	56.96	57.36
	2.5 mg/ml	3	45.5507	.16557	.09559	45.1394	45.9620	45.40	45.73
	1.25 mg/ml	3	25.2030	.09983	.05764	24.9550	25.4510	25.09	25.29
	0.625 mg/ml	3	7.0240	.26300	.15184	6.3707	7.6773	6.76	7.29
	Total	15	40.8815	23.12110	5.96984	28.0775	53.6856	6.76	69.58
ราก	10 mg/ml	3	72.0743	.06550	.03782	71.9116	72.2370	72.01	72.14
	5 mg/ml	3	58.5823	.20054	.11578	58.0842	59.0805	58.41	58.80
	2.5 mg/ml	3	48.3320	.20065	.11585	47.8336	48.8304	48.16	48.55
	1.25 mg/ml	3	27.0213	.13683	.07900	26.6814	27.3612	26.87	27.13
	0.625 mg/ml	3	7.4840	.17367	.10027	7.0526	7.9154	7.35	7.68
	Total	15	42.6988	23.75272	6.13293	29.5450	55.8526	7.35	72.14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดหยาบส่วนลำต้น ใบ และรากของต้นหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆดังต่อไปนี้

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ลำต้น	Between Groups	7462.555	4	1865.639	67770.431	.000
	Within Groups	.275	10	.028		
	Total	7462.830	14			
ใบ	Between Groups	7483.819	4	1870.955	49888.134	.000
	Within Groups	.375	10	.038		
	Total	7484.194	14			
ราก	Between Groups	7898.420	4	1974.605	73870.029	.000
	Within Groups	.267	10	.027		
	Total	7898.687	14			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ลำต้น						
Duncan[a]						
ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0.625 mg/ml	3	11.3830				
1.25 mg/ml	3		28.0943			
2.5 mg/ml	3			49.7133		
5 mg/ml	3				60.2250	
10 mg/ml	3					73.6073
Sig.		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

ใบ						
Duncan[a]						
ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0.625 mg/ml	3	7.0240				
1.25 mg/ml	3		25.2030			
2.5 mg/ml	3			45.5507		
5 mg/ml	3				57.2267	
10 mg/ml	3					69.4033
Sig.		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.

ราก						
Duncan[a]						
ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0.625 mg/ml	3	7.4840				
1.25 mg/ml	3		27.0213			
2.5 mg/ml	3			48.3320		
5 mg/ml	3				58.5823	
10 mg/ml	3					72.0743
Sig.		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.การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินของสารสกัดหยาบส่วนลำต้น ใบ และรากของต้นหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆดังต่อไปนี้

Descriptives								
Anthocyanin								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
ลำต้น	3	13.5800	2.01871	1.16550	8.5652	18.5948	12.02	15.86
ใบ	3	6.0667	2.58547	1.49272	-.3560	12.4893	3.51	8.68
ราก	3	43.1200	7.45487	4.30407	24.6011	61.6389	34.57	48.26
Total	9	20.9222	17.44520	5.81507	7.5127	34.3318	3.51	48.26

ANOVA					
Anthocyanin					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2302.011	2	1151.006	52.054	.000
Within Groups	132.670	6	22.112		
Total	2434.681	8			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Anthocyanin			
Duncan[a]			
		Subset for alpha = 0.05	
สารสกัดหยาบ	N	1	2
ใบ	3	6.0667	
ลำต้น	3	13.5800	
ราก	3		43.1200
Sig.		.098	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดหยาบส่วนลำต้น ใบ และรากของต้นหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆดังต่อไปนี้

Descriptives

Flavonoid

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
ลำต้น	3	1610.3333	29.02298	16.75642	1538.2363	1682.4304	1585.00	1642.00
ใบ	3	5062.6667	21.36196	12.33333	5009.6006	5115.7327	5038.00	5075.00
ราก	3	2176.0000	43.30127	25.00000	2068.4337	2283.5663	2151.00	2226.00
Total	9	2949.6667	1603.81483	534.60494	1716.8655	4182.4679	1585.00	5075.00

ANOVA

Flavonoid

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20571428.670	2	10285714.330	9722.868	.000
Within Groups	6347.333	6	1057.889		
Total	20577776.000	8			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Flavonoid

Duncan[a]

สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ลำต้น	3	1610.3333		
ราก	3		2176.0000	
ใบ	3			5062.6667
Sig.		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.การวิเคราะห์หาปริมาณแทนนินของสารสกัดหยาบส่วนลำต้น ใบ และรากของหน่อไม้ฝรั่งที่ความเข้มข้นต่างๆดังต่อไปนี้

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
						Lower Bound	Upper Bound		
Tannin	ลำต้น	3	795.7100	.00000	.00000	795.7100	795.7100	795.71	795.71
	ใบ	3	1531.3133	19.26209	11.12097	1483.4636	1579.1630	1514.50	1552.33
	ราก	3	75.1000	1.00000	.57735	72.6159	77.5841	74.10	76.10
	Total	9	800.7078	630.64375	210.21459	315.9521	1285.4635	74.10	1552.33
100g น้ำหนักแห้ง	ลำต้น	3	9909.2367	4526.30642	2613.26423	-1334.7318	21153.2051	7193.21	15134.40
	ใบ	3	19138.4167	8996.40102	5194.07455	-3209.8824	41486.7157	13805.09	29525.31
	ราก	3	931.5100	447.09787	258.13208	-179.1427	2042.1627	657.94	1447.46
	Total	9	9993.0544	9357.57678	3119.19226	2800.1842	17185.9247	657.94	29525.31

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Tannin	Between Groups	3180948.308	2	1590474.154	12825.431	.000
	Within Groups	744.056	6	124.009		
	Total	3181692.365	8			
100g dw	Between Groups	497268789.900	2	248634395.000	7.340	.024
	Within Groups	203245155.000	6	33874192.510		
	Total	700513945.000	8			

Duncan[a]

สารสกัดหยาบ	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ราก	3	75.1000		
ลำต้น	3		795.7100	
ใบ	3			1531.3133
Sig.		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

7.การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดหยาบต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7

Descriptives									
						95% Confidence Interval for Mean			
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
ลำต้น	10000	3	70.9983	1.76061	1.01649	66.6247	75.3719	69.80	73.02
	1000	3	60.3137	.82411	.47580	58.2665	62.3609	59.41	61.02
	100	3	46.4933	.25757	.14871	45.8535	47.1332	46.29	46.78
	10	3	29.1253	.86895	.50169	26.9667	31.2839	28.22	29.95
	1	3	23.2263	1.85787	1.07264	18.6111	27.8415	21.41	25.12
	0.1	3	2.2277	.53936	.31140	.8878	3.5675	1.61	2.60
	Total	18	38.7308	23.90409	5.63425	26.8436	50.6180	1.61	73.02
ใบ	10000	3	71.2047	1.00763	.58176	68.7016	73.7078	70.05	71.91
	1000	3	65.0990	.56726	.32751	63.6899	66.5081	64.60	65.72
	100	3	48.5973	.18898	.10911	48.1279	49.0668	48.39	48.76
	10	3	34.0347	2.26892	1.30996	28.3984	39.6710	31.56	36.02
	1	3	29.2493	.43448	.25085	28.1700	30.3286	28.84	29.70
	0.1	3	6.3120	.56726	.32751	4.9029	7.7211	5.69	6.81
	Total	18	42.4162	22.75176	5.36264	31.1020	53.7304	5.69	71.91
ราก	10000	3	69.3893	.63521	.36674	67.8114	70.9673	68.69	69.93
	1000	3	64.1090	.44612	.25757	63.0008	65.2172	63.74	64.60
	100	3	46.9887	.50015	.28876	45.7462	48.2311	46.54	47.53
	10	3	19.3897	.50015	.28876	18.1472	20.6321	18.94	19.93
	1	3	11.4687	.92869	.53618	9.1617	13.7757	10.52	12.38
	0.1	3	4.0430	.25773	.14880	3.4028	4.6832	3.84	4.33
	Total	18	35.8981	26.32136	6.20400	22.8088	48.9874	3.84	69.93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ลำต้น	Between Groups	9697.209	5	1939.442	1394.794	.000
	Within Groups	16.686	12	1.390		
	Total	9713.895	17			
ใบ	Between Groups	8785.864	5	1757.173	1499.430	.000
	Within Groups	14.063	12	1.172		
	Total	8799.927	17			
ราก	Between Groups	11773.774	5	2354.755	6954.018	.000
	Within Groups	4.063	12	.339		
	Total	11777.837	17			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

ลำต้น							
Duncan[a]							
		Subset for alpha = 0.05					
ความเข้มข้น	N	1	2	3	4	5	6
0.1	3	2.2277					
1	3		23.2263				
10	3			29.1253			
100	3				46.4933		
1000	3					60.3137	
10000	3						70.9983
Sig.		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

ใบ							
Duncan[a]							
ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0.1	3	6.3120					
1	3		29.2493				
10	3			34.0347			
100	3				48.5973		
1000	3					65.0990	
10000	3						71.2047
Sig.		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.

ราก							
Duncan[a]							
ความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0.1	3	4.0430					
1	3		11.4687				
10	3			19.3897			
100	3				46.9887		
1000	3					64.1090	
10000	3						69.3893
Sig.		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