ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากทุเรียนเทศ

BIOACTIVITY OF *Annona muricata* CRUDE EXTRACTS

นันท์รัฐ คำกลัด
พิมพ์ชญา ชัยนาเคน
วาสิตา เลิศสัตยาทร

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BIOACTIVITY OF *Annona muricata* CRUDE EXTRACTS

NUNTARUD KAMKLAD
PHIMCHAYA CHAINAKEN
WASITA LERTSATTAYATHORN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIRMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากทุเรียนเทศ Bioactivity of *Annona muricata* crude extracts
ชื่อนักศึกษา	นาย นันท์รัฐ คำกลัด รหัสนักศึกษา 56050850 นางสาว พิมพ์ชญา ชัยนาเคน รหัสนักศึกษา 56050878 นางสาว วาสิตา เลิศสัตยาทร รหัสนักศึกษา 56050909
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

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

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ลินจง สุขลำภู ประธานกรรมการ	ลินจง สุขลำภู
ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ กรรมการ	วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์
ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากทุเรียนเทศ

Bioactivity of *Annona muricata* crude extracts

ชื่อนักศึกษา นาย นันท์รัฐ คำกลัด รหัสนักศึกษา 56050850

นางสาว พิมพ์ชญา ชัยนาเคน รหัสนักศึกษา 56050878

นางสาว วาสิตา เลิศสัตยาทร รหัสนักศึกษา 56050909

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2559

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

บทคัดย่อ

จากการศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ โดยการวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมี ฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ และสมบัติความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ของสารสกัดหยาบจากส่วนผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศที่สกัดด้วยเอทานอล พบว่าสารสกัดหยาบส่วนใบของทุเรียนเทศมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดเทียบเท่ากับ 328.00 มิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัดหยาบ ส่วนสารสกัดหยาบจากส่วนของกิ่งของทุเรียนเทศมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์และแอนโธไซยานินสูงสุดเทียบเท่ากับ 160.44 มิลลิกรัมควอซิทินต่อกรัมสารสกัดหยาบ และ 6.41 มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อลิตรสารสกัดหยาบ ในการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนผลของทุเรียนเทศมีร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระได้สูงที่สุดโดยมีค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระเท่ากับ 84.67 และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.97 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* และ*Yersinia enterocolitica* พบว่าที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบจากส่วนของผลทุเรียนเทศมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. cereus* และ *Y. enterocolitica* ส่วนสารสกัดหยาบจากส่วนของกิ่งทุเรียนเทศมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* ในขณะที่สารสกัดจากส่วนใบของทุเรียนเทศไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ และในการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนใบของทุเรียนเทศมีร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง MCF-7 มากที่สุดที่ความเข้มข้น 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เท่ากับ 82.73 โดยมี IC_{50} เท่ากับ 2.74 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

คำสำคัญ : ทุเรียนเทศ, ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์, ความเป็นพิษต่อเซลล์, สารพฤกษเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Bioactivity of *Annona muricata* crude extracts		
Student	Mr.	Nuntarud Kamklad	ID 56050850
	Miss	Phimchaya Chainaken	ID 56050878
	Miss	Wasita Lertsattayathorn	ID 56050909
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)		
Department	Biology		
Factory	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2016		
Advisor	Dr.suttijit Sriwatcharakul		

Abstract

In this study, analysis of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial and cytotoxicity from ethanol crude extract of *Annona muricata* parts such as fruits, leaves and branches. The results showed that leaves crude extract had the highest total phenolic contents with 328.00 mg.GAE/g extract. Branches crude extract had the highest flavonoid compounds with 160.44 mg.QE/g extract. And, moreover, branches crude extract had the highest anthocyanin with 6.41 mg cyanidin-3-glucoside/l extract. Evaluation of antioxidant activities by using DPPH assay exhibited that fruits crude extract had the highest effect of free radical with 84.67% DPPH reduction and 0.97 mg/ml IC_{50}. Then antibacterial property of *Bacillus cereus, Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis* and *Yersinia enterocolitica* were performed. The results showed that fruits crude extract at 50 mg/ml could inhibit growth of *B. cereus and Y. enterocolitica*. Branches crude extract at 50 mg/ml could inhibit growth of *S. typhimurium*. But leaves crude extract could not inhibit growth of all microbial species. At last the results of ethanol crude extract of *A. muricata* were tested for cytotoxicity against MCF-7 by using MTT assay were found that leaves crude extract of *Annona muricata* at 10000 µg/ml had the highest cytotoxic efficiency of 82.73% and IC_{50} 2.74µg/ml

Keywords : *Annona muricata*, Antioxidant, Antimicrobial, Cytotoxicity,Phytochemicals

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้เป็นจัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังเพื่อให้นักศึกษาได้ผ่านการคิดวิเคราะห์และลงมือปฏิบัติ ซึ่งจะสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีโดยการได้รับความอนุเคราะห์และการช่วยเหลือจากผู้ที่เชี่ยวชาญ ผู้ทรงคุณวุฒิทั้งหลายดังนั้นคณะผู้จัดทำจึงขอขอบพระคุณ ดร.สุทธิจิต ศรีวัชรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ และขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบที่ได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำต่างๆ เกี่ยวกับการทำงานตลอดจนการตรวจทาน ตลอดจนชี้แนะข้อบกพร่องต่างๆที่เกิดขึ้น พร้อมทั้งช่วยชี้แนะแนวทางการแก้ไขปัญหา นอกจากนี้ผู้จัดทำยังขอขอบพระคุณ อาจารย์ทุกท่านที่ให้คำแนะนำและอบรมสั่งสอนความรู้และให้กำลังใจและบุคลากรที่เขียนหนังสือ บทความ และวารสารที่ผู้จัดทำได้นำมาประกอบการทำรายงานเล่มนี้ตลอดจน บุคลากรพี่นักวิทยาศาสตร์ แม่บ้านประจำภาควิชาชีววิทยาทุกท่าน และขอขอบคุณทุกกำลังใจ และการสนับสนุนจากทางครอบครัวของคณะผู้จัดทำหากมีข้อผิดพลาดประการใดทางคณะผู้จัดทำต้องขออภัยมา ณ ที่นี้

นันท์รัฐ คำกลัด
พิมพ์ชญา ชัยนาเคน
วาสิตา เลิศสัตยาทร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... ฉ
สารบัญรูป ..... ช
คำย่อ/สัญลักษณ์ ..... ฌ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ 2
1.3 ขอบเขต 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1 ทุเรียนเทศหรือทุเรียนน้ำ 3
2.2 การสกัดสาระสำคัญจากพืช 6
2.3 สารอนุมูลอิสระ 9
2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ 11
2.5 วิตามินอี 13
2.6 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 15
2.7 สารประกอบฟีนอล 16
2.8 ฟลาโวนอยด์ 17
2.9 แอนโทไซยานิน 19
2.10 มะเร็ง 21
2.11 มะเร็งเต้านม 22
2.12 เซลล์มะเร็งเต้านม 32
2.13 ความแตกต่างระหว่างเซลล์มะเร็งกับเซลล์ปกติ 33
2.14 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์โดยวิธี MTT Assay 34
2.15 เชื้อจุลินทรีย์ 35
2.16 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 39
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.1 วัสดุและอุปกรณ์....40
3.2 การเตรียมสารสกัดจากทุเรียนเทศ....42
3.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ....42
3.3.1 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด....42
3.3.2 วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์....43
3.3.3 วิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน....43
3.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ....44
3.5 การศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์....44
3.6 การวิเคราะหความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7....45
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล....48
4.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ
4.1.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด....48
4.1.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์....49
4.1.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน....50
4.2 ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ....51
4.3 ผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์....53
4.4 ผลการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7....58
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ....60
เอกสารอ้างอิง....62
ภาคผนวก ก....64
ภาคผนวก ข....67
ภาคผนวก ค....69
ภาคผนวก ง....72
ภาคผนวก จ....77
ภาคผนวก ฉ....96

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในสารสกัดหยาบของผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศ.....48
4.2 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากส่วนผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศ.....49
4.3 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบของผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศ.....50
4.4 ค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระ (% DPPH Reduction) ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ เมื่อเปรียบเทียบในแต่ละความเข้มข้น.....51
4.5 ค่า IC_{50}ของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ.....53
4.6 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์รอบๆแผ่นทดสอบ.....56
4.7 เปรียบเทียบค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ.....58
4.8 ค่า CC_{50}ของความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ.....59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ **หน้า**

2.1 ผลทุเรียนเทศ....3
2.2 ผล ดอก และใบของทุเรียนเทศ....4
2.3 กลไกของสารอนุมูลอิสระ....10
2.4 กลไกของสารต้านอนุมูลอิสระ....12
2.5 อาหารที่มีวิตามินอี....14
2.6 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอล....16
2.7 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟลาโวนอยด์....19
2.8 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน....20
2.9 ลักษณะของมะเร็งเต้านม....22
2.10 อาการของมะเร็งเต้านม....24
2.11 ลักษณะของเต้าเนื้อที่เต้านม....25
2.12 ระยะที่ 0 และระยะที่ 1 ของมะเร็งเต้านม....25
2.13 ระยะที่ 2 ของมะเร็งเต้านม....26
2.14 ระยะที่ 3A ของมะเร็งเต้านม....26
2.15 ระยะที่ 3B ของมะเร็งเต้านม....27
2.16 ระยะที่ 3C ของมะเร็งเต้านม....27
2.17 ระยะที่ 4 ของมะเร็งเต้านม....28
2.18 วิธีการถ่ายภาพรักสีเต้านม....31
2.19 เซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7....32
2.20 การรีดิวซ์สาร MTT เป็นผลึกฟอร์มาซาน....35
2.21 ลักษณะรูปร่างของ *Bacillus cereus*....35
2.22 ลักษณะรูปร่างของ *Escherichia coli*....36
2.23 ลักษณะรูปร่างของ *Salmonella typhimurium*....36
2.24 ลักษณะรูปร่างของ *Pseudomonas aeruginosa*....37
2.25 ลักษณะรูปร่างของ *Staphylococcus aureus*....37
2.26 ลักษณะรูปร่างของ *Staphylococcus epidermidis*....38
2.27 ลักษณะรูปร่างของ *Yersinia enterocolitica*....38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.1 กราฟแสดงค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ....52
4.2 ลักษณะการเกิดบริเวณที่ยับยั้งเชื้อที่ทดสอบด้วยยาปฏิชีวนะ Gentamicin และสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียน.....54
4.3 ลักษณะการเกิดบริเวณที่ยับยั้งเชื้อที่ทดสอบด้วยยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin และสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียน.....55
4.4 กราฟแสดงค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ.....59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

GAE = Gallic Acid Equivalent

QE = Quercetin

IC_{50} = inhibitory concentration

CC_{50} = cytotoxicity concentration

MCF-7 = Michigan Cancer Foundation-7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

มะเร็งนับเป็นโรคที่ร้ายแรง และเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้มนุษย์เสียชีวิต มาตั้งแต่ศตวรรษที่ 20 ต่อเนื่องมาจนถึงศตวรรษที่ 21 ซึ่งในปัจจุบันมีการคิดค้นแนวทาง และวิธีอื่นในการรักษามากขึ้น

การรักษาผู้ป่วยด้วยโรคมะเร็งตามทฤษฎีการแพทย์แผนตะวันตก มี 2 วิธีหลักที่ปฏิบัติกันแพร่หลาย คือการใช้รังสี และการใช้เคมีบำบัด ซึ่งทั้ง 2 วิธี ใช้หลักการเดียวกันคือทำลายเนื้อร้าย แต่ไม่สามารถเลือกทำลายเฉพาะเนื้อร้ายได้ เซลล์ดีจำนวนมากต้องถูกทำลายไปด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เซลล์ที่มีการแบ่งตัวเร็ว เช่น เซลล์ผม เซลล์ผิวหนัง เซลล์เยื่อบุทางเดินอาหาร และเซลล์เม็ดเลือดในไขกระดูก จึงเกิดผลข้างเคียงตามมา เช่น ผมร่วง แผลในปาก คลื่นไส้ อาเจียน อ่อนเพลีย ปวดเมื่อยตามร่างกาย เบื่ออาหาร โลหิตจาง เม็ดเลือดขาวต่ำเสี่ยงต่อการติดเชื้อ เกล็ดเลือดต่ำทำให้เลือดออกง่าย อีกทั้งผู้ป่วยยังมีโอกาสที่จะกลับมาเป็นอีก จากการกระจายตัวของเซลล์มะเร็ง โดยเหตุนี้จึงมีผู้ป่วยเสียชีวิตด้วยโรคมะเร็งปีละ 50,000 คน

เมื่อทั่วโลกพยายามที่จะนำเอาพืชต่างๆมาใช้ร่วมกับยาแผนปัจจุบัน ในการรักษาและบำบัดโรคต่างๆ เช่น ใช้พืชสมุนไพร มาศึกษาถึงฤทธิ์ทางชีวภาพและความเป็นพิษต่อเซลล์ เพื่อนำไปสู่การผลิตเป็นยาต้านมะเร็ง ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยลดการเสียดุลทางเศรษฐกิจ และเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะทำให้ผู้ป่วยมีชีวิตที่ยืนยาว และมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

ทุเรียนเทศ หรือทุเรียนน้ำ ในอดีตเป็นพืชที่ไม่ค่อยเป็นที่รู้จัก น้อยคนนักที่จะรู้ว่ามีสรรพคุณทางสมุนไพรอยู่ด้วย ต่อมาคนไทยรู้จักทุเรียนเทศเป็นอย่างดี เพราะสามารถรักษามะเร็งได้ และยังมีฤทธิ์ที่ดีกว่าการใช้ยาเคมีบำบัด ซึ่งทุเรียนเทศมีสารแอนโนนาเซียส อะซีโทจีนิน (Annonaceous acetogenins) สามารถต้านทำลายเซลล์มะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งลำไส้ มะเร็งเต้านม มะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งปอด มะเร็งตับอ่อน และมะเร็งต่อมน้ำเหลือง เป็นต้น นอกจากนนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและเชื้อราได้ ซึ่งสารแอนโนนาเซียส อะซีโทจีนิน จะไม่ส่งผลร้ายต่อเซลล์เนื้อเยื่อดีอื่น ๆ ในร่างกายของผู้ป่วยมะเร็ง เป็นการรักษามะเร็งแบบปลอดภัย มีประสิทธิภาพป้องกันระบบภูมิคุ้มกัน ป้องกันการติดเชื้อร้ายแรง และช่วยให้ผู้ป่วยหายจากอาการดื้อยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนใหญ่งานวิจัยต่างๆ จะนิยมใช้ใบทุเรียนเทศมาทำการศึกษา และทดสอบการต้านมะเร็ง แต่ยังไม่มีงานวิจัยใดที่ใช้ส่วนของกิ่ง และผลของทุเรียนเทศมาศึกษาและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพและความเป็นพิษต่อเซลล์ รวมไปถึงการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อทดสอบสารพฤกษเคมีที่มีในสารสกัดจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ โดยการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ , สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด , แอนโทไซยานิน
2) เพื่อทดสอบหาเปอร์เซ็นต์สารต้านอนุมูลอิสระที่มีในสารสกัดจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ
3) เพื่อศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของทุเรียนเทศ
4) เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากส่วนต่างๆทุเรียนเทศที่มีผลต่อการยังยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรีย

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1) การศึกษาครั้งนี้มุ่งเน้นการสกัดสารจากส่วนต่างๆ ของทุเรียนเทศ 3 ส่วน คือ ใบทุเรียนเทศ ผลทุเรียนเทศ และกิ่งทุเรียนเทศ โดยใช้เอทานอล ร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย
2) วิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีต่างๆ (สารประกอบฟลาโวนอยด์, สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสารแอนโทไซยานิน)
3) วิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH Scavenging Assay
4) ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม โดยวิธี MTT Assay
5) ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธี Agar disc diffusion method

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) ได้นำส่วนต่างๆของต้นทุเรียนเทศมาใช้ให้เกิดประโยชน์
2) ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง
3) สารสกัดจากทุเรียนเทศทำให้เกิดอัตราการตายของเซลล์มะเร็งและแบคทีเรียสูง
4) สามารถใช้ประโยชน์สารสกัดจากทุเรียนเทศ ในทางการแพทย์เพื่อช่วยในการเร่งการรักษาโรคต่างๆ และมีความปลอดภัยสูงกว่าการใช้ยาสังเคราะห์
5) ใช้เป็นฐานข้อมูลทางด้านวิทยาศาสตร์ของ *Annona muricata*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทุเรียนเทศหรือทุเรียนน้ำ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Annona muricata* Linn.

วงศ์ : ANNONACEAE

ชื่อสามัญ : Soursop, Prickly custard apple

ชื่อท้องถิ่น : มะทุเรียน (ภาคเหนือ)
หมากเขียบหลด (ภาคอีสาน)
ทุเรียนแขก (ภาคกลาง)
ทุเรียนน้ำ (ภาคใต้)

รูปที่ 2.1 ผลทุเรียนเทศ
ที่มา : https://plus.google.com/communities/108041203925174441399
(สืบค้นเมื่อ 1 เมษายน 2560)

ทุเรียนเทศ เป็นพืชชนิดหนึ่งที่จัดอยู่ในตระกูลเดียวกันกับน้อยหน่า กระดังงา นมแมว และจำปี โดยลักษณะของผลนั้นจะมีรูปร่างคล้ายทุเรียน และมีหนาม เปลือกมีสีเขียว ในส่วนของเนื้อจะมีสีขาวฉ่ำน้ำ รสหวานอมเปรี้ยว ซึ่งพืชชนิดนี้จะปลูกมากในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และในแถบอเมริกากลาง โดยเป็นพืชที่ชอบอากาศที่มีความชื้นสูง

ทุเรียนเทศ เป็นผลไม้ที่ขาดการให้ความสำคัญทางเศรษฐกิจในไทย โดยปกติแล้วจะพบว่ามีการเพาะปลูกมากในภาคใต้ของประเทศไทย รวมไปถึงมาเลเซียและสิงคโปร์พบว่าทุเรียนเทศนี้ได้หายไปจากตลาดท้องถิ่น แต่กลับได้ในรูปของการแปรรูป เช่น น้ำทุเรียนเทศเข้มข้น น้ำทุเรียนเทศบรรจุกล่องพร้อมดื่มในร้านแถวรัฐปีนังของมาเลเซีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทุเรียนเทศเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ลำต้นมีความสูง 5–6 เมตร ใบเป็นใบเดี่ยว ค่อนข้างหนา ใบเรียงสลับกันไปในระนาบเดียวกับกิ่ง ใบมีรูปร่างรี ผิวใบอ่อนเป็นมัน ใบแก่สีเขียวเข้มเมื่อฉีกใบจะได้กลิ่นเหม็นเขียวฉุนจัด

ดอกเป็นดอกเดี่ยวขนาดใหญ่ห้อยลงที่ซอกใบ อยู่รวมกัน 3 - 4 ดอก กลีบเป็นรูปสามเหลี่ยมหนาแข็ง จำนวน 6 กลีบ เรียงเป็น 2 ชั้น ๆ ละ 3 กลีบ มีสีเหลืองแกมเขียว มีกลิ่นหอมอมเปรี้ยวส่งกลิ่นหอมตั้งแต่ช่วงบ่าย และออกดอกตลอดทั้งปี

ผลคล้ายทุเรียนสีเขียวสด รูปกลมรี มีหนามนิ่มและไม่แหลมที่เปลือก ผลจะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 - 20 เซนติเมตร ยาว 15 - 30 เซนติเมตร มีน้ำหนักประมาณ 0.5 – 3.0 กิโลกรัม ภายในมีเนื้อคล้ายน้อยโหน่ง สีขาว ผลสุกมีรสเปรี้ยว รสหวานเล็กน้อย ผลดิบมีรสอมเปรี้ยว และรสมันเล็กน้อย ระหว่างเนื้อในผลมีเมล็ดแทรกอยู่

รูปที่ 2.2 ผล ดอก และใบของทุเรียนเทศ
ที่มา : http://www.bookmuey.com/?page=Soursop_Properties.html
(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

2.1.1 การปลูกทุเรียนเทศ

ใช้วิธีขยายพันธุ์โดยเมล็ดซึ่งเพียงแค่นำเมล็ดมาแช่น้ำทิ้งไว้ 1-2 วัน จากนั้นนำไปเพาะดินผสมปกติ ต้นทุเรียนเทศจะงอกขึ้นมาได้ภายใน 7 วัน แต่ต้นกล้าจะโตช้าและออกดอกเมื่อมีอายุ 3 ปีขึ้นไป และจะติดผลในปีที่ 4 ได้ผลผลิตประมาณปีละ 1.5 - 2 ตัน/ไร่ หรือหากจะใช้วิธีขยายพันธุ์แบบเสียบยอดและทาบกิ่งก็สามารถทำได้โดยต้นทุเรียนเทศนี้จะเจริญเติบโตได้ดีในดินร่วนที่มีความชุ่มชื้นระบายน้ำได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 สรรพคุณทางยาของทุเรียนเทศ

- ผล - แก้โรคเลือดออกตามไรฟัน แก้โรคบิด กระตุ้นการผลิตน้ำนมแม่
- เมล็ด - ใช้สมานแผลห้ามเลือด ใช้ฆ่าแมลง
- ใบ - นำมาขยี้ผสมกับปูนใช้ทาบริเวณท้องแก้ท้องอืด ใช้รักษาโรคผิวหนัง เมื่อนำมาปรุงให้คนที่เป็นไข้นอนจะช่วยลดไข้ แก้ไอ ปวดตามข้อ ลดอาการปวด ลดการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อเรียบในลำไส้ ขยายหลอดเลือดป้องกันความดันสูง กำจัดเซลล์มะเร็ง ฆ่าเชื้อโรค ลดเบาหวาน
- หน่ออ่อน - กำจัดเซลล์มะเร็ง
- ดอก - บำรุงกล้ามเนื้อหัวใจ
- ราก -กำจัดแมลง
- เปลือกไม้ - กำจัดแมลง ฆ่าเชื้อโรค พยาธิ อะมีบา แบคทีเรีย และรักษาโรคกระเพาะ

2.1.3 ข้อมูลโภชนาการของ ทุเรียนเทศต่อ 100 กรัม

- น้ำ 83.2 กรัม
- ให้พลังงาน 59 กิโลแคลลอรี
- ไขมัน 0.2 กรัม
- คาร์โบไฮเดรท 15.1 กรัม
- เส้นใย 0.6 กรัม
- โปรตีน 1.0 กรัม
- แคลเซียม 14 มิลลิกรัม
- เหล็ก 0.5 มิลลิกรัม
- วิตามินบี 1 0.08 มิลลิกรัม
- วิตามินซี 24 มิลลิกรัม

2.1.4 ความเสี่ยง

มีการวิจัยพบว่าในประเทศที่มีการใช้เมล็ดของทุเรียนเทศเป็นยาพื้นเมืองเพื่อฆ่าพยาธิพบว่าคนเป็นโรคพาร์คินสัน จึงควรเลี่ยงการกินเมล็ด โดยในผลทุเรียนเทศสด 1 ผลมีสาร annonacin 15 มิลลิกรัม และน้ำผลไม้ 1 กระป๋องของที่ทำสำเร็จแล้วเพื่อการค้ามี annonacin 36 มิลลิกรัม ซึ่ง annonacin มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดแผลในสมอง ทำให้มีอาการแบบพาร์คินสันจึงควรหลีกเลี่ยงการกินผลทุเรียนเทศมากเกินไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การสกัดสารสำคัญจากพืช

2.2.1 การทำพืชสมุนไพรให้แห้งทำได้โดย

1. Air drying เป็นการทำให้แห้งด้วยอากาศ อาจจะเป็นการทำให้แห้งโดยตากลมในที่ร่ม (shade drying) หรือตากแดด (sun drying)

2. Artificial heat เป็นการทำให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากพลังงานอื่น เช่น ไฟฟ้า ได้แก่ การทำให้แห้งโดยใช้ตู้อบ ซึ่งมีการควบคุมอากาศที่ผ่านเข้าออก และอุณหภูมิ วิธีนี้จะสามารถควบคุมอุณหภูมิได้แน่นอน

2.2.2 การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม

- ตัวทำละลายที่ดีควร มีลักษณะดังนี้

  1. เป็นตัวทำละลายที่ต้องการละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี
  2. ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด และไม่ระเหยง่ายหรือยากเกินไป
  3. ไม่มีพิษ มีจุดเดือดต่ำ และแยกตัวออกจากสารที่ต้องการสกัดได้ง่าย
  4. ถ้าแยกสี ตัวทำละลายต้องไม่มีสี , แยกกลิ่น ตัวทำละลายต้องไม่มีกลิ่น
  5. ราคาพอสมควร ไม่แพงหรือถูกเกินไป

- การเลือกตัวทำละลายต้องอาศัยหลักเกณฑ์ต่อไปนี้

  1. สารละลาย และตัวทำละลายมีคุณสมบัติความมีขั้วคล้ายคลึงกัน
  2. ละลายสารที่ต้องการออกมามากที่สุด และในขณะเดียวกันต้องละลายสารที่ไม่ต้องการออกมาน้อยที่สุด (Selectivity)
  3. แรง (Fore) แรงซึ่งเกี่ยวข้องในการละลายที่สำคัญ คือ

  3.1 Dispersion force เป็นแรงที่เกิดจาก Transient charger induced ในโมเลกุล จำพวกตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วจะประกอบด้วยโมเลกุลซึ่งเรียงตัวไม่เป็นระเบียบ ทำให้พวกสารที่ไม่มีขั้วเข้าไปแทรกตัวอยู่ระหว่างโมเลกุลได้ง่าย

  3.2 Dipole-dipole force เป็นแรงที่พบในตัวทำละลายที่มีขั้วเกิดการเหนี่ยวนำโมเลกุลเกิดเป็นขั้วบวก และขั้วลบ พวกนี้จะทำให้โมเลกุลของตัวทำละลายที่มีขั้วจับกันแน่น พวกสารซึ่งไม่มีขั้วจะแทรกตัวเข้าไปได้ยาก

  3.3 H-bonding สารที่สามารถสร้าง H-bonding กับตัวทำละลายได้ดีก็จะละลายได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 ตัวทำละลายที่นิยมใช้

1. น้ำ จัดเป็นตัวทำละลายที่ดี หาง่าย ราคาถูก แต่การใช้น้ำอย่างเดียวเป็นตัวทำละลายในการสกัดพืชสมุนไพรมีข้อเสียหลายประการ คือสามารถละลายองค์ประกอบที่ไม่ต้องการออกมาได้มาก เช่นเดียวกับสารสำคัญที่ต้องการ สารเฉื่อยที่ละลายออกมากับน้ำ เช่น น้ำตาล และแป้งล้วนเป็นอาหารที่ดีของเชื้อจุลินทรีย์ จึงทำให้เกิดการบูดเสียของสารสกัดเนื่องจากจุลินทรีย์ได้ ถ้าไม่ใส่สารกันบูด (preservative) นอกจากนี้น้ำระเหยได้ที่อุณหภูมิสูงในการไล่น้ำออกไปซึ่งอาจเกิดความเสียหายกับสารสำคัญได้ ดังนั้นจึงไม่นิยมใช้น้ำเป็นตัวทำละลายอย่างเดียวเป็นน้ำยาสกัดแต่ใช้ร่วมกับตัวทำละลายอื่น ๆ เช่น แอลกอฮอล์ หรือกรดหากเติมกรดเล็กน้อยลงไปในน้ำ(acidifiedwater) ใช้สกัดองค์ประกอบสำคัญในพืชสมุนไพรที่มีองค์ประกอบสำคัญเป็นสารประกอบอัลคาลอยด์ ส่วนน้ำที่เติมด่างลงไปเล็กน้อย (alkanised water) จะใช้สกัดพืชสมุนไพรบางชนิด เช่น เปลือกคาสคารา (Cascara bark) เป็นต้น

2. แอลกอฮอล์ จัดเป็นตัวทำละลายที่ดีมากเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำ แอลกอฮอล์มีข้อดีกว่าดังนี้ มีความจำเพาะในการละลายมากกว่าน้ำ , มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ หากต้องการทำสารสกัดให้เข้มข้นจะระเหยได้ง่ายแต่ราคาของแอลกอฮอล์จะแพงกว่าน้ำ

3. น้ำยาผสมแอลกอฮอล์ (hydroalcoholic mixture) เป็นน้ำยาที่สกัดได้อย่างกว้างขวาง เนื่องจากสามารถละลายสารสำคัญในพืชสมุนไพรได้ใกล้เคียงแอลกอฮอล์แต่ราคาถูกกว่า และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้อีกด้วย นอกจากนี้การใช้น้ำยาผสมแอลกอฮอล์ ยังช่วยป้องกันการแยกตัวของสารต่าง ๆ ในสารสกัดเมื่อตั้งทิ้งไว้ ซึ่งเกิดขึ้นในกรณีที่ใช้น้ำอย่างเดียวในการสกัด

2.2.4 วิธีการสกัดสารสำคัญจากพืช

1. Maceration เป็นวิธีการสกัดจากพืช โดยหมักสมุนไพรกับตัวทำละลาย ในภาชนะปิดทิ้งไว้ 7 วัน หรือมากกว่านั้น หมั่นเขย่า และคนบ่อย ๆ เมื่อครบกำหนดค่อยรินสารสกัดออกแล้วนำไปกรอง วิธีนี้มีข้อดี คือ สารไม่ถูกความร้อน แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลาย เนื่องจากต้องสกัดซ้ำหลาย ๆ ครั้ง

2. Percolation เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง โดยนำสมุนไพรหมักกับตัวทำละลายทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่แล้วค่อยบรรจุผงยาที่ละชิ้นลงใน Percolator เติมตัวทำละลายไปให้ระดับตัวทำละลายสูงเหนือสมุนไพรทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วไขสารสกัดออกมาควรเติมตัวทำละลายไม่ให้แห้งนำสารที่สกัดได้ไปกรอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. Soxhlet extraction เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องโดยใช้ตัวทำละลายซึ่งมีจุดเดือดต่ำ การสกัดทำโดยให้ความร้อน จนทำให้ตัวทำละลายระเหยขึ้นไปแล้วกลั่นตัวลงมาใน Thimble ซึ่งบรรจุสมุนไพรไว้ เมื่อสารที่สกัดได้สูงถึงระดับกาลักน้ำ สารสกัดจะไหลลงมาใน Flask วนเวียนเช่นนี้จนการสกัดสมบูรณ์ โดยสามารถสังเกตได้จากสีของตัวทำละลายใน Thimble ที่ใสขึ้น การสกัดด้วยวิธีนี้ใช้ความร้อน จึงอาจทำให้สารสำคัญบางชนิดสลายตัว

4. Liquid - LiquidExtraction เป็นการสกัดจากสารละลายซึ่งเป็นของเหลวลงในตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่งซึ่งไม่รวมตัวเป็นสารเนื้อเดียวกัน แบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ

4.1 Extraction lighter คือ ตัวทำละลายที่ใช้สกัดเบากว่าตัวทำละลายที่ใช้ละลายสาร

4.2 Raffinate light คือ ตัวทำละลายที่ใช้สกัดหนักว่าตัวทำละลายที่ใช้ละลายสาร

2.2.5 การเลือกวิธีการสกัด ที่เหมาะสมขึ้นกับปัจจัยหลาย ๆ อย่าง ได้แก่

1. ธรรมชาติของพืชสมุนไพร โดยพิจารณาจาก

- ลักษณะโครงสร้าง และเนื้อเยื่อ สมุนไพรที่มีลักษณะอ่อนนุ่ม เช่น ดอก ใบ อาจสกัดด้วย วิธีมาเซอเรชัน หากเป็นสมุนไพรที่มีเนื้อเยื่อแข็งแรง และเหนียว เช่น เปลือก ราก เนื้อไม้ ควรใช้วิธีเพอร์โคเลชัน หรือสกัดแบบต่อเนื่อง

- ความสามารถในการละลายของสารสำคัญในน้ำยาสกัด ถ้าละลายได้ง่ายนิยมใช้วิธีดูดซับ แต่ถ้าละลายได้น้อยก็จำเป็นต้องใช้วิธีเพอร์โคเลชัน หรือการสกัดแบบต่อเนื่อง

- ความคงตัวของสารสำคัญในสมุนไพรต่อความร้อน ถ้าเป็นสารที่ไม่ทนต่อความร้อนควรใช้วิธีมาเซอเรชัน หรือเพอร์โคเลชัน

2. คุณค่าของสารสกัด และค่าใช้จ่ายในการสกัด หากต้องการสารสกัดที่ไม่ใช่สารสำคัญและมีคุณค่าทางการรักษาน้อย เช่น สารที่ใช้แต่งสี กลิ่น รส ของยาต่าง ๆ ก็อาจใช้วิธีง่าย ๆ ที่ไม่ยุ่งยาก นอกจากนี้ควรคำนึงถึงค่าใช้จ่ายทั้งหมดเปรียบเทียบกับราคาของสารสกัดที่เตรียมไว้ว่าคุ้มค่ากับการลงทุนหรือไม่

3. ความต้องการที่จะให้ได้การสกัดที่สมบูรณ์ (exhausted extraction) หรือเกือบสมบูรณ์ หากต้องการสารสกัดเจือจาง การใช้วิธีมาเซอเรชันก็เพียงพอแล้ว แต่ถ้าต้องการสารสกัดเข้มข้นก็ควรใช้วิธีเพอร์โคเลชัน หรือการสกัดแบบต่อเนื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.6 การทำสารสกัดให้เข้มข้น

เมื่อสกัดสารจากพืชด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมแล้ว สารสกัดที่ได้มักมีปริมาตรมา หรือเจือจาง ทำให้นำไปแยกส่วนลำบากจึงจำเป็นต้องทำให้เข้มข้นเสียก่อน ซึ่งสามารถทำได้หลาย วิธีเช่น

1. การระเหย (Free Evaporation) เป็นการนำตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดโดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (water bath) หรือแผ่นความร้อน (hot plate) วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารสกัดสลายตัวได้ เนื่องจากอุณหภูมิสูงเกินไป และหากใช้สารละลายอินทรีย์ (organic solvent) ในการสกัดการระเหยโดยให้ความร้อนโดยตรง (direct heat) บนแผ่นความร้อน อาจเกิดอันตรายได้ง่าย นอกจากนี้ควรคำนึงถึงอุณหภูมิที่จะทำให้เกิดการสลายตัวของสาระสำคัญ เมื่อใช้ความร้อน

2. การกลั่นในภาวะสูญญากาศ (distillation in vacuo) จัดเป็นวิธีที่นิยมที่สุด เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดโดยการกลั่นที่อุณหภูมิต่ำ พร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสูญญากาศ (vacuum pump) เครื่องมือนี้เรียกว่า Rotary evaporator

3. การทำให้แห้ง (drying) เป็นการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากน้ำยาสกัดจนแห้ง ได้สารสกัดออกมาในสภาพของแข็ง หรือกึ่งของแข็ง มีหลายวิธี เช่น การใช้ความเย็น (lyophilizer หรือ freeze dryer) หรือการใช้ความร้อน (spray dryer)

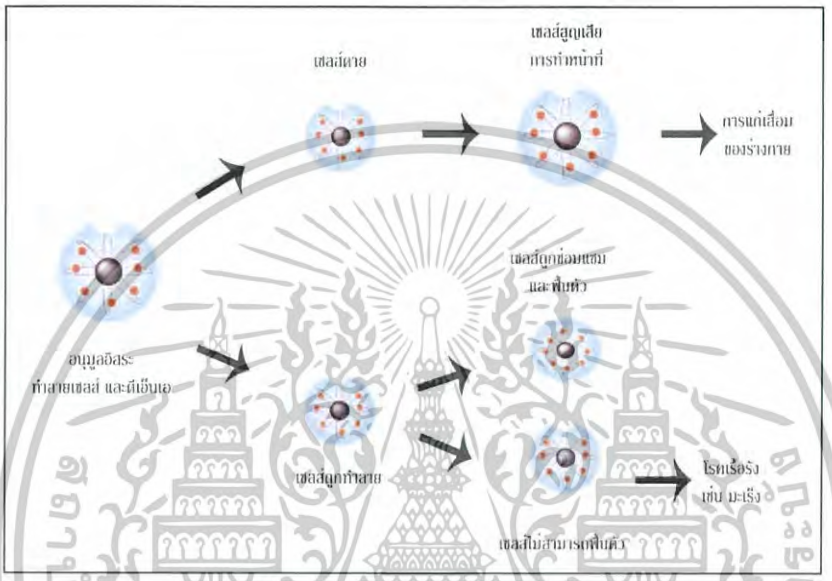
4. อัลตราฟิลเทรชัน (ultrafiltration) เป็นการทำสารสกัดด้วยน้ำให้เข้มข้นโดยใช้แผ่นเมมเบรน (membrane) ใช้กับสารที่มีน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) สูงกว่า 5,000

2.3 สารอนุมูลอิสระ

สารอนุมูลอิสระ (Free radical) หมายถึง สารซึ่งมีอิเล็กตรอนซึ่งไม่มีคู่อยู่ในวงรอบของอะตอม หรือโมเลกุล เราให้ความสำคัญกับสารซึ่งมีออกซิเจนเป็นศูนย์กลาง คือ hydroxyl radical , superoxide, peroxyl, alkoxyl และ oxides ของ nitrogen โดยปกติสารเหล่านี้เกิดขึ้นโดยปฏิกิริยาในร่างกายอยู่แล้ว โดยเฉพาะเวลามีธาตุเหล็ก ทองแดง แมงกานีส โคบอลต์ โครเมียม นิเกิล อยู่เป็นจำนวนน้อยๆ มักเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่และร่างกายก็จะมีระบบของแอนติออกซิแด้นท์ขจัดออกไป แต่ถ้าร่างกายได้รับสารอนุมูลอิสระจากภายนอกมากเกินไป ตัวอย่างเช่น ได้รับจากอาหารบางชนิด จาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขบวนการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่อุณหภูมิสูงๆ มาใช้อีก หรือจากสิ่งแวดล้อม เช่น แสงอาทิตย์ซึ่งมีรังสี ultraviolet การแผ่รังสี (radiation) รังสี x-ray หรือจากมลพิษ เช่น ควันบุหรี่ ก๊าซจากท่อไอเสียรถยนต์ ถ้าสารเหล่านี้มีมากกว่าความสามารถของแอนตี้ออกซิแด้นท์ในร่างกายจะขจัดหมด หรือในภาวะที่จำนวนแอนติออกซิแดนท์ในร่างกายลดลง เช่น ผู้สูงอายุ ก็จะทำให้มีสารอนุมูลอิสระและสารที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ



รูปที่ 2.3 กลไกของสารอนุมูลอิสระ

ที่มา : http://supraantiraticamirnut.blogspot.com/

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

นอกจากนั้นเมื่อคนเราอายุมากขึ้น เซลล์ในร่างกายทุกเซลล์จะผลิตอนุมูลอิสระมากขึ้นและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระก็ลดลง จึงทำให้ร่างกายเสื่อมโทรมอย่างรวดเร็ว ซึ่งแม้ว่าร่างกายจะสร้างเอนไซม์ที่ใช้กำจัดอนุมูลอิสระได้ แต่ก็ยังไม่เพียงพอ ต้องกินอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มเติมด้วย

อนุมูลอิสระที่มากเกินไปจะเป็นอันตรายต่อไขมัน (โดยเฉพาะ low density lipoprotein) โปรตีน หน่วยสารพันธุกรรม DNA และคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจะไม่กล่าวถึงรายละเอียดในที่นี้ ทำให้เพิ่มอัตราการเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลายชนิด โรคที่สำคัญและมีการศึกษากันมาก ได้แก่ โรคหลอดเลือดตีบและแข็งตัว โรคมะเร็งบางชนิด Alzheimer's disease หรือโรคความจำเสื่อม โรคไขข้ออักเสบ โรคความแก่ เป็นต้น เราจึงควรหลีกเลี่ยงการที่จะได้รับสารอนุมูลอิสระเข้าไปในร่างกาย เช่น มลพิษในสิ่งแวดล้อม ก๊าซจากท่อไอเสียรถยนต์ ควันบุหรี่ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 ชนิดของอนุมูลอิสระ สามารถแบ่งได้อย่างง่ายๆ คือ

2.3.1.1 อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย

2.3.1.2. อนุมูลอิสระจากภายนอกร่างกาย เช่น

- การติดเชื้อ ทั้งจากแบคทีเรียและไวรัส
- การอักเสบชนิดไม่ทราบสาเหตุ (autoimmune diseses)
- รังสี และสารเคมี
- มลพิษสิ่งแวดล้อม
- การออกกำลังกายอย่างหักโหม

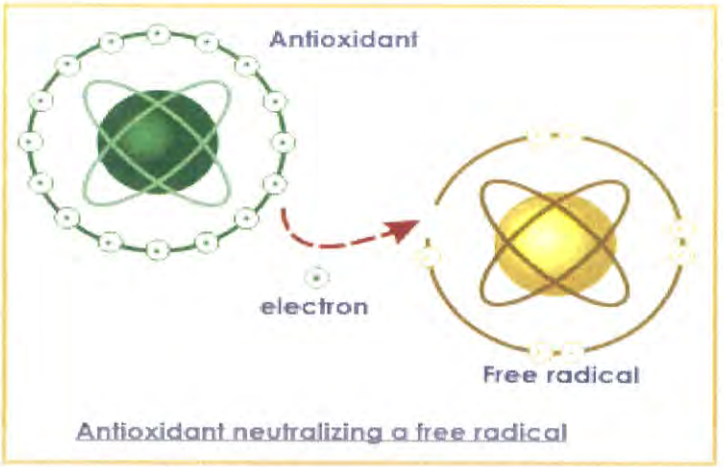
2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) หมายถึงสารที่ช่วยต่อต้านหรือกำจัดอนุมูลอิสระ (Free Radicals) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันภายในร่างกาย จะพบได้จากการย่อยสลายโปรตีนและไขมัน ซึ่งมาจากอาหารที่เรารับประทานเข้าไป การรับเอามลพิษทางอากาศ ควันบุหรี่ เชื้อโรค ฝุ่นละออง การรับเอารังสียูวีจากแสงแดด หรือแม้กระทั่งการหายใจก็ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ กลายเป็นสารอนุมูลอิสระล่องลอยอยู่ภายในร่างกายและสร้างความเสียหายให้กับเซลล์ต่างๆ กลายเป็นอาการเจ็บป่วยและโรคภัยที่เราเผชิญกันอยู่ทุกวันนี้ เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ โรคปอด โรคตับแข็ง และโรคเบาหวาน เป็นต้น

หน้าที่ของสารต้านอนุมูลอิสระ ก็คือการเข้ากำจัดสารอนุมูลอิสระในร่างกาย และยังทำหน้าที่ชะลอความเสื่อมสภาพของเซลล์ต่างๆ ทำหน้าที่คงความอ่อนเยาว์ให้กับผิวและอวัยวะภายใน ดังนั้นบทบาทหลักของสารต้านอนุมูลอิสระ คือทำหน้าที่ลดการสร้างอนุมูลอิสระภายในร่างกาย และลดอันตรายที่เกิดขึ้น

การเข้าไปทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ จะเข้าไปจับกับตัวรับที่สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน สารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยาต่อเนื่องกันเป็นลูกโซ่ เข้าไปทำลายเซลล์ต่างๆของร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระจะตรงเข้าขัดขวางปฏิกิริยาดังกล่าว และเข้าจับสารอนุมูลอิสระ ยับยั้งไม่ให้เกิดการทำลายเซลล์ในปฏิกิริยาออกซิเดชัน และถูกออกซิไดซ์ โดยมีสารต้านอนุมูลอิสระเป็นตัวรีดิวซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.4 กลไกของสารต้านอนุมูลอิสระ

ที่มา : https://ac127.wordpress.com/2012/10/11/%E0%B8%

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

2.4.1 ประโยชน์ของสารต้านอนุมูลอิสระ

- ช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็ง โดยทำหน้าที่ขับสารพิษที่เป็นต่อก่อให้เกิดมะเร็งออกจากร่างกาย
- ชะลอความเสื่อมสภาพของเซลล์ต่างๆ จึงช่วยลดความเสื่อมสภาพของร่างกาย ช่วยคงความอ่อนเยาว์ และมีอายุที่ยืนยาวมากขึ้น
- ยับยั้งการเจริญเติบโตและป้องกันการเกิดเนื้องอกในส่วนต่างๆ ของร่างกาย
- ช่วยป้องกันและลดการเกิดโรคภูมิแพ้ ช่วยให้ผู้ป่วยมีอาการดีขึ้น
- ช่วยสร้างคอลลาเจนใต้ชั้นผิว ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเนื้อเยื่อที่จะทำให้ผิวเต่งตึง ลดรอยตีนกาและความหย่อนคล้อย
- ลดความเสี่ยงต่อโรคอัลไซเมอร์ในผู้สูงอายุ
- ช่วยปกป้องเซลล์ผิวหนังจากแสงแดด ความร้อน และรังสียูวีในอากาศ เปรียบเสมือนเกราะป้องกัน ไม่ให้ผิวเสื่อมสภาพ และยังเข้าไปทำหน้าที่ซ่อมแซมเซลล์ผิวไม่ให้หมองคล้ำอีกด้วย
- ช่วยลดการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคทางสมอง โรคหลอดเลือด โรคหัวใจ โรคความดัน โรคกระดูกพรุน และโรคเรื้อรังที่พบในผู้ใหญ่วัยกลางคนไปจนถึงวัยสูงอายุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 แหล่งอาหารที่สำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ

1. วิตามินซี อาหารที่ให้วิตามินซีสูง เช่น ฝรั่ง ส้ม มะขามป้อม มะละกอสุก พริกชี้ฟ้าเขียว บรอกโคลี ผักคะน้า ยอดสะเดา ใบปอ ผักหวาน ผักกาดเขียว ตำลึง ผักบุ้ง

2. วิตามินอี มีในน้ำมันพืชต่าง ๆ เช่น น้ำมันจากจมูกข้าวสาลี น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันดอกคำฝอย เมล็ดทานตะวัน เมล็ดอัลมอนด์ จมูกข้าวสาลี

3. ซีลีเนียม มีมากในอาหารทะเล ปลาทูน่า เนื้อสัตว์ บะหมี่ ไก่ ปลา ขนมปังโฮลวีต

4. วิตามินเอ มีมากในตับหมู ตับไก่ ไข่ โดยเฉพาะไข่แดง น้ำนม พืชผักที่มีสีเขียวเข้ม ผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม เช่น ผักตำลึง ผักกวางตุ้ง ผักบุ้ง แครอท ฟักทอง มะม่วงสุก มะละกอสุก

5. แคโรทีนอยด์ (เบต้าแคโรทีน ลูทีน และไลโคปีน) มีมากในผักที่มีสีเขียวเข้ม ผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม เช่น ผักตำลึง ผักกวางตุ้ง ผักบุ้ง ฟักทอง มะม่วงสุก มะละกอสุก มะเขือเทศ

2.5 วิตามินอี

วิตามินอี (Vitamin E) หรือ โทโคฟีรอล, โทโคไทรอีนอล เป็นวิตามินที่ละลายในไขมัน ซึ่งจะถูกเก็บสะสมไว้ที่ตับ เนื้อเยื่อ ไขมัน หัวใจ เลือด กล้ามเนื้อ มดลูก อัณฑะ ต่อมหมวกไต ต่อมใต้สมอง มีหน่วยวัดเป็น IU โดย 1 IU = 1 mg. โดยวิตามินอีแบ่งออกออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือโทโคฟีรอลและโทโคไทรอีนอล โดยทั้ง 2 กลุ่มจะแบ่งเป็น 4 รูปแบบ คือ แอลฟา บีตา แกมมา เดลตา ซึ่งในบรรดาสารทั้ง 8 ตัว แอลฟาโทโคฟีรอลจัดได้ว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพ แต่แกมมาโทโคฟีรอลมีประสิทธิภาพมากกว่าในการเพิ่มระดับเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (SOD) ซึ่งมีความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระและป้องกันโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเรื้อรัง ซึ่งรวมไปถึงมะเร็ง โรคหัวใจ โรคข้อ อัลไซเมอร์

วิตามินอีเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระชั้นเยี่ยม ป้องกันการเกิดออกซิเดชันของสารในกลุ่มไขมัน ทำงานเหมือนกับวิตามินเอ วิตามินซี ซีลีเนียม กรดอะมิโนซัลเฟอร์ นอกจากนี้วิตามินอียังสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของวิตามินเอได้ดียิ่งขึ้น และยังทำหน้าที่สำคัญคล้ายเป็นยาขยายหลอดลมและเป็นยาต้านการแข็งตัวของเลือด โดยวิตามินอีจะต่างกับวิตามินที่ละลายในไขมันตัวอื่นคือร่างกายจะเก็บสะสมไว้เพียงชั่วระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น คล้าย ๆ กับวิตามินบีและวิตามินซี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งที่พบวิตามินอีตามธรรมชาติ ได้แก่ ไข่ จมูกข้าวสาลี ขนมปังโฮลวีต ซีเรียลชนิดโฮลเกรน แป้งทำขนมปังแบบเสริมวิตามิน ถั่วเหลือง น้ำมันพืช น้ำมันเมล็ดฝ้าย น้ำมันดอกคำฝอย น้ำมันข้าวโพดถั่ว เมล็ดทานตะวัน เมล็ดมะม่วงหิมพานต์ (วอลนัต พีแคน ถั่วลิสง จะมีแกมมาโทโคฟีรอลมากเป็นพิเศษ) กะหล่ำปลี กะหล่ำดาว ผักใบเขียว ผักขม อะโวคาโด (เฉพาะเนื้อ) ปวยเล้ง

รูปที่ 2.5 อาหารที่มีวิตามินอี

ที่มา : http://www.manager.co.th/QOL/ViewNews.aspx?News

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

โรคจากการขาดวิตามินอีคือ เม็ดเลือดแดงถูกทำลาย กล้ามเนื้อฝ่อ และโรคโลหิตจาง โรคเกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ และศัตรูของวิตามินอี ได้แก่ ความร้อน ออกซิเจน อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง กระบวนการแปรรูปอาหาร ธาตุเหล็ก คลอรีน และน้ำมันแร่ธรรมชาติ เป็นต้น

2.5.1 ประโยชน์ของวิตามินอี

- ช่วยทำให้แลดูอ่อนกว่าวัย โดยชะลอกระบวนการเสื่อมสภาพของเซลล์
- ช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของคอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี
- ช่วยนำออกซิเจนเข้าสู่ร่างกายเพื่อเพิ่มสมรรถภาพความทนทาน
- ช่วยปกป้องปอดจากมลพิษทางอากาศ โดยทำงานร่วมกับวิตามินเอ
- ช่วยป้องกันโรคมะเร็งได้หลายชนิด
- เพิ่มประสิทธิภาพในการต่อสู้กับโรคให้เม็ดเลือดขาวชนิดทีเซลล์
- ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเต้านม
- ช่วยป้องกันและสลายลิ่มเลือด
- ช่วยบรรเทาอาการอ่อนเพลีย
- ลดโอกาสเสี่ยงต่อการเป็นต้อกระจก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสมารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ ในแต่ละประเภทจะมีหลายวิธีด้วยกัน ซึ่งแต่ละวิธีมีความจำเพาะแตกต่างกัน โดยปกติมักใช้หลายวิธีร่วมกันในการตรวจสอบและสรุปผล

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระในที่นี้ก็คืออนุมูลอิสระDPPH ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอล (สารที่ให้อิเล็กตรอน) ดังสมการ จะทำให้สีม่วงจางลง ๆจนเป็นสีเหลือง ซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ทำให้สามารถหาการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

$$DPPH^{\bullet} + AH \text{----------} DPPH\text{-}H + A^{\bullet}$$

$$DPPH^{\bullet} + R^{\bullet} \text{----------} DPPH\text{-}R$$

โดยที่ (AH) คือ antioxidant และ ($R^{\bullet}$) คือ radical species

การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ในสารตัวอย่างนิยมรายงานเป็นค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ซึ่งหมายถึงปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPHลดลง 50% โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับค่าการดูดกลืนแสง แล้วหาค่า EC_{50} จากกราฟแสดงค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ แล้วใช้ค่า EC_{50}ในการเปรียบเทียบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระระหว่างตัวอย่างที่ทดสอบกับสารมาตรฐาน BHT คำนวณ % Radical Scavenging โดยใช้สูตรการคำนวณดังนี้

$$\%\text{Radical Scavenging} = \left[\frac{(A - B)}{A}\right] \times 100$$

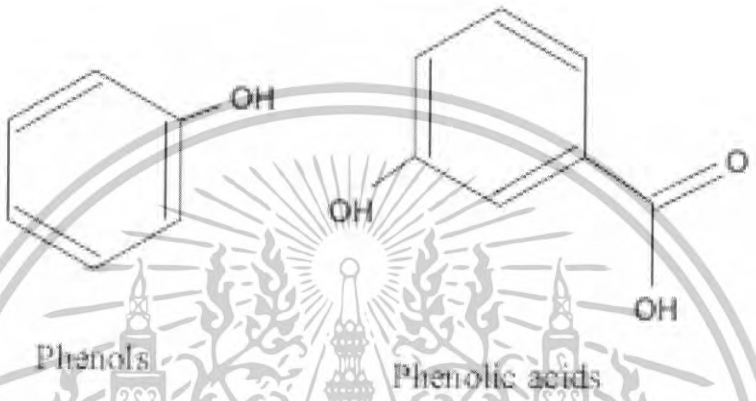
A คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของblank

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรของตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 สารประกอบฟีนอล

สารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) หรือสารประกอบฟีนอล เป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่วเมล็ดแห้ง เมล็ดธัญพืช ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต สารประกอบฟีนอล มีโภชนเภสัช ซึ่งสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพคือ มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลิสระ (antioxidant) สามารถละลายได้ในน้ำ



รูปที่ 2.6 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล
ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/phenolic
(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่ม ที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignin) กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoid) สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) และพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งที่พบสารประกอบฟีนอล พบอยู่ในส่วนของช่องว่างภายในเซลล์ (cell vacuole) ในส่วนต่างๆ ของพืช เป็นสารที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด

- ถั่วเมล็ดแห้ง ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง
- เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าว และ งา
- ผลไม้ ได้แก่ องุ่น ส้ม กระท้อน
- เครื่องเทศ เช่น พริกไทย พริก ขิง กระเทียม หอมแดง หอมหัวใหญ่

สารประกอบฟีนอล ประเภทสารสังเคราะห์ เช่น

- BHT
- BHA
- TBHQ

สรรพคุณของสารประกอบฟีนอล

1.ประโยชน์ต่อสุขภาพ สารประกอบฟีนอลหลายชนิดมีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและเป็นสารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagens) มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ สามารถการป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอล จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ และไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ โดยใช้ตัวเองเป็นตัวรับอนุมูลอิสระ ทำให้ยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ที่มีอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุแต่สารต้านอนุมูลอิสระจะถูกทำลายไปด้วย

2. ใช้เพื่อการถนอมอาหาร โดยใช้เป็นสารกันหืน ป้องกันปฏิกิริยาการออกซิเดชันของลิปิด

2.8 ฟลาโวนอยด์

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟลาโวนอยด์ชนิดต่างๆ ที่พบบางส่วนมีดังนี้

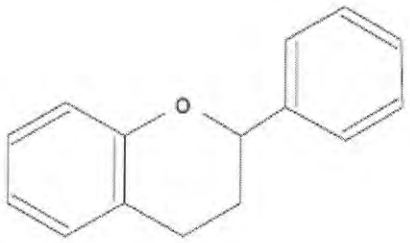
1. แคเทคิน (Catechin) เป็นหนึ่งในสมาชิกของตระกูลพอลิฟีนอล-ฟลาโวนอยด์ มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย กลุ่ม Staphylococcus ซึ่งดื้อต่อยาหลายชนิด การติดเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ทำให้เกิดอันตรายถึงชีวิตได้ แคเทคินยังช่วยควบคุมระดับคอเลสเตอรอลในเลือดของผู้ที่รับประทานอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูง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

2. เรสเวอราทรอล (Resveratrol) ช่วยลดความเสี่ยงของโรคหัวใจและเส้นเลือดในสมองตีบ โดยการยับยั้งการก่อตัวของลิ่มเลือดและไขมันชนิดแอลดีแอล (LDL) ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี และยังพบว่า มันยังช่วยยับยั้งการสร้างเซลล์มะเร็ง และสามารถเปลี่ยนเซลล์มะเร็งร้ายให้กลับคืนเป็นเซลล์ปกติได้ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เรสเวอราทรอล พบในในผิวและเมล็ดขององุ่น (ไวน์แดง) และถั่วลิสง

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

สารต้านอนุมูลอิสระจำพวกไบโอฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารที่พบมากในผักและผลไม้ จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง จากการศึกษาวิจัยทางคลินิกแสดงให้เห็นว่า สารอาหารชนิดนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกและเส้นเลือดภายในเนื้องอกได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Flavonoids

รูปที่ 2.7 โครงสร้างของ Flavonoids

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

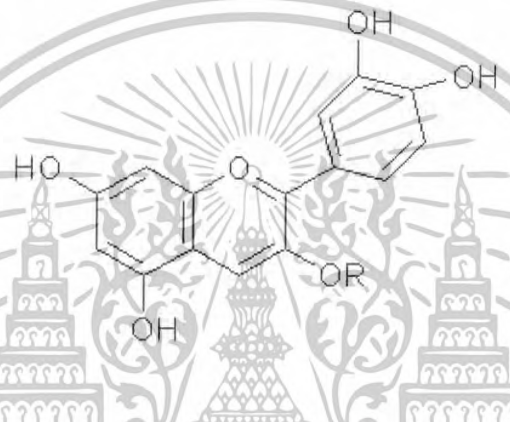
2.9 แอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินเป็นเป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำได้จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์เป็นสารให้สีตามธรรมชาติ โดยสีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-ด่างแอนโทไซยานิน มีโครงสร้างเป็น แบบ C6-C3-C6 ซึ่งเป็นไกลโคไซด์ของ 2-phenylbenzopyryliumหรือ flavylium cation ที่มีด้วยกันหลายชนิด แต่มีอยู่ 6 ชนิดเท่านั้นที่พบบ่อย ได้แก่ pelargonidin, cyanidin, delphinidin, peonidin, petunidin และ malvidinในสารละลายตัวกลางแอนโทไซยานินจะทำหน้าที่เป็นอินดิเคเตอร์วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH indicator) คือ ให้สีแดงที่ pH ต่ำ ให้สีน้ำเงินที่สภาวะเป็นกลางและไม่มีสีที่ pH สูงโดยปัจจัยที่มีผลต่อสีและความเสถียรของ แอนโทไซยานินคือปัจจัยทางเคมีและฟิสิกส์ เช่น โครงสร้าง อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง กรดแอสคอร์บิก น้ำตาล และปัจจัยอื่นๆ แอนโทไซยานินมีคุณสมบัติแตกต่างกันทั้งทางเภสัชวิทยาและชีววิทยา เช่นเป็นสารออก ฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity) ช่วยต้านอนุมูลอิสระ(antioxidant) สามารถลดอาการอักเสบ (anti-inflammatory)ช่วยปกป้องหลอดเลือด ลดคอเลสเตอรอลในเลือดลดความเสี่ยงของโรคมะเร็งและต้านไวรัส แต่คุณสมบัติเด่นที่สุดของแอนโทไซยานินคือ ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระโดยแอนโทไซยานิน มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีและอีถึง 2 เท่าปริมาณของแอนโทไซยานินที่มนุษย์ สามารถบริโภคได้เฉลี่ยสูงสุดคือ 200 มิลลิกรัมต่อวัน

แอนโทไซยานิน (anthocyanins) มีชื่อย่อมาจากรากศัพท์เดิมของกรีกคือ anthos แปลว่า ดอกไม้ และ Kyanos แปลว่า สีน้ำเงิน แอนโทไซยานินจึงหมายถึง ดอกไม้สีน้ำเงิน แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำ ได้ (water-sol..ble pigments) จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไป ตามสภาวะความเป็นกรด-ด่าง โดยมีสีน้ำเงินเข้มในสภาวะที่เป็นด่าง (pH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มากกว่า 7) มีสีม่วงเมื่อเป็นกลาง (pH 7) และจะเปลี่ยนเป็นสีแดงส้มในสภาวะที่เป็นกรด (pH น้อยกว่า 7) สามารถพบแอนโทไซยานินได้ทั่วไปใน แวคิวโอลและเซลล์เนื้อเยื่อชั้นนอกของดอก ผล และใบของพืชดอก(angiosperms)ยกเว้นในพืชพวก ตะบองเพชร ผักกาดหัว ผักโขมและพืชพวกสาหร่าย บางครั้งปรากฏในส่วนเนื้อเยื่อพืช (plant tisse) ได้แก่ ราก หัวใต้ดินของพืช (tber) ลำต้น หน่อย่อย (blbil) และพืชเมล็ดเปลือย (gymnosperms) ต่างๆเช่น เฟิร์นและ ไบโอไฟต์ (bryophytes) นอกจากแอนโทไซยานินจะทำให้ดอกไม้มีสีสันสวยงามแล้วยังช่วยป้องกันพืชไม่ให้ ได้รับอันตรายจากสิ่งแวดล้อมและแมลงต่างๆ แอนโทไซยานินจากธรรมชาติสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเครื่องดื่มและผลิตภัณฑ์อื่นๆ ได้หลายชนิดแต่ที่ได้รับความสนใจมากในปัจจุบัน



รูปที่ 2.8 โครงสร้างของแอนโทไซยานิน

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

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

อาหารที่เป็นแหล่งสำคัญของแอนโทไซยานิน ได้แก่

- ผลไม้ เช่น องุ่น ทับทิม และผลไม้ในกลุ่มเบอร์รี่ เช่น สตรอเบอรี่ ผลหม่อน บลูเบอรี่ แครนเบอรี่ เชอรี่ ราสเบอรี่ เป็นต้น
- ผัก เช่น กะหล่ำปลีสีม่วง และเรดิชสีแดง
- เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าวก่ำ หรือข้าวสีนิล ข้าวโพดสีม่วง เป็นต้น
- ดอกไม้ เช่น กระเจี๊ยบแดง และดอกอัญชัน เป็นต้น
- แหล่งของแอนโทไซยานิน ได้แก่ มันเทศสีม่วง ชมพู่มะเหมี่ยว ชมพู่แดง ลูกหว้า ข้าวแดง ข้าวนิล ข้าวเหนียวดำ ถั่วแดง ถั่วดำ หอมแดง ดอกอัญชัน น้ำว่าน-กาบหอย เผือก หอมหัวใหญ่สีม่วง มะเขือม่วง พริกแดง องุ่นแดง-ม่วง แอปเปิลแดง ลูกไหน ลูกพรุน ลูกเกด ลูกหม่อน (มัลเบอรี่) บลูเบอรี่ แบล็กเบอรี่ ราสเบอรี่ สตรอเบอรี่ เชอรี่ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10 มะเร็ง (Cancer)

มะเร็ง (Cancer) คือ ภาวะที่เซลล์ในร่างกายของเรามีการแบ่งตัวและเจริญขึ้นโดยรวดเร็วอย่างผิดปกติในสารพันธุกรรม (DNA) โดยเริ่มจากเป็นเซลล์เล็กๆ แล้วค่อยๆ ขยายใหญ่ขึ้นตามเวลา นานวันเข้าเซลล์นั้นก็จะขาดเลือดไปหล่อเลี้ยงทำให้เซลล์ในก้อนเนื้อนั้นตาย จนกลายเป็นก้อนเนื้องอกร้ายที่ไปเบียดบังทั้งส่วนที่เกิดและส่วนอื่นๆ ที่อยู่ข้างเคียง จากนั้นก็จะค่อยๆ กระจายไปในส่วนอื่นๆ ของร่างกายโดยผ่านระบบกระแสเลือดหรือน้ำเหลืองของเราเป็นตัวนำเชื้อไป

สาเหตุและปัจจัยเสี่ยงของโรคมะเร็งสำหรับสาเหตุที่ทำให้ผู้คนต่างป่วยด้วยโรคมะเร็งกันมากขึ้นนั้นเกิดได้จากทั้งปัจจัยภายนอกและปัจจัยภายใน คือ

1. ปัจจัยภายนอก

– ผู้ที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี มักเกิดในคนที่ไม่นิยมกินร้อนช้อนกลาง โดยอาจติดจากทางน้ำลายในการรับประทานอาหารร่วมกัน

– การติดเชื้อพยาธิใบไม้ในตับ ในกรณีที่ชอบรับประทานอาหารแบบดิบๆ หรือกึ่งสุกกึ่งดิบ

– ผู้ที่ชอบดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์เป็นชีวิตจิตใจ และผู้ที่สูบบุหรี่เป็นประจำ

– ผู้ได้รับรังสีอัลตราไวโลเลตจากแสงแดดเป็นเวลานาน

– ผู้ที่เคยผ่านการฉายรังสีเอกซเรย์

– สารอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหารและเครื่องดื่มที่เรารับประทานกันทุกวัน โดยเฉพาะในพวกพริกแห้ง ถั่ว ฯลฯ

– สารก่อมะเร็งในอาหารจำพวกปิ้ง ย่าง ทอด โดยเฉพาะเนื้อที่ย่างหรือปิ้งจนไหม้เกรียม หรือเนื้อที่ทอดโดยใช้น้ำมันซ้ำๆ ทุกวัน

– สารไฮโดรคาร์บอน เป็นสารเคมีที่นำมาใช้ในการถนอมอาหารอย่างไนโตรซามิน ซึ่งเป็นสีย้อมผ้าที่นำมาใช้เป็นสีผสมอาหาร

2. ปัจจัยภายใน

– เกิดจากความผิดปกติภายในร่างกาย เช่น เด็กพิการแต่กำเนิด ซึ่งเป็นความผิดปกติทางพันธุกรรม

– ร่างกายมีภูมิคุ้มกันบกพร่องหรือขาดสารอาหารบางอย่าง เช่น พวกวิตามินเอ หรือซี ฯลฯ

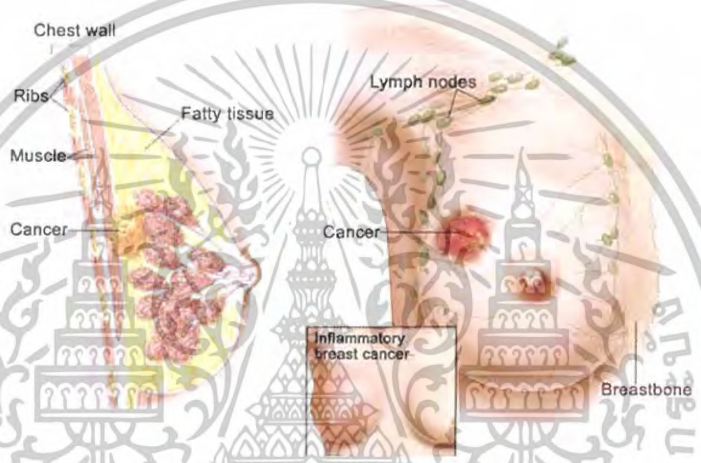
ซึ่งจะเห็นได้ว่ามะเร็งส่วนใหญ่นั้นเกิดจากปัจจัยภายนอกมากกว่าปัจจัยภายใน นั่นหมายความว่าเราสามารถป้องกันการก่อเกิดโรคมะเร็งได้มากพอสมควร ทั้งนี้ ก็ขึ้นอยู่กับพฤติกรรมและระเบียบวินัยการเลือกปฏิบัติของเราเป็นหลัก รวมทั้งความรู้ในเรื่องของสารก่อมะเร็งด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11 มะเร็งเต้านม

มะเร็งเต้านม (อังกฤษ: Breast cancer) เป็นโรคมะเร็งที่พัฒนาจากเนื้อเยื่อเต้านมอาจมีอาการแสดง ได้แก่ มีก้อนในเต้านม มีการเปลี่ยนแปลงรูปทรงของเต้านมผิวหนังมีรอยบุ๋ม มีสารน้ำไหลจากหัวนม หรือมีปื้นผิวหนังมีเกล็ดแดงในผู้ที่มีการแพร่ของโรคไปไกล อาจมีปวดกระดูก ต่อมน้ำเหลืองโต หายใจลำบาก

มะเร็งเต้านมทั่วโลกเป็นมะเร็งที่พบมากที่สุดในหญิง โดยคิดเป็น 25% ของผู้ป่วยมะเร็งทั้งหมด ในปี 2555 โรคนี้มีผู้ป่วย 1.68 ล้านคนและผู้เสียชีวิต 522,000 คน พบมากกว่าในประเทศพัฒนาแล้วและพบในหญิงมากกว่าชาย 100 เท่า



รูปที่ 2.9 ลักษณะของมะเร็งเต้านม
ที่มา : https://medthai.com/%E0%B8%A1%E0%B8%
(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

2.11.1 สาเหตุของมะเร็งเต้านม

สาเหตุของมะเร็งเต้านมในปัจจุบันยังไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัดของการเกิดโรคมะเร็งเต้านม (โดยเฉพาะมะเร็งเต้านมในผู้ชาย) โดยพบว่าร้อยละ 5-10 ของผู้ป่วยมีความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ ส่วนปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคนี้ในผู้หญิงมีอยู่หลายปัจจัย ได้แก่

1. อายุที่มากขึ้น ถือเป็นปัจจัยเสี่ยงสำคัญที่สุดต่อการเป็นมะเร็งเต้านม (สาเหตุรองลงมาคือ ข้อ 2-8 ส่วนข้ออื่น ๆ ถือเป็นปัจจัยที่มีความเสี่ยงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น) โดยจะพบผู้ป่วยเป็นโรคนี้ได้สูงขึ้นตามอายุที่มากขึ้น โดยเฉพาะในผู้หญิงที่มีอายุ 60 ปีขึ้นไปจะยิ่งมีความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านมสูงถึง 50-60%
2. เคยผ่าตัดก้อนเนื้อที่เต้านม และพบว่าเป็นซีสต์เต้านมชนิดที่เริ่มผิดปกติ (Atypia)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

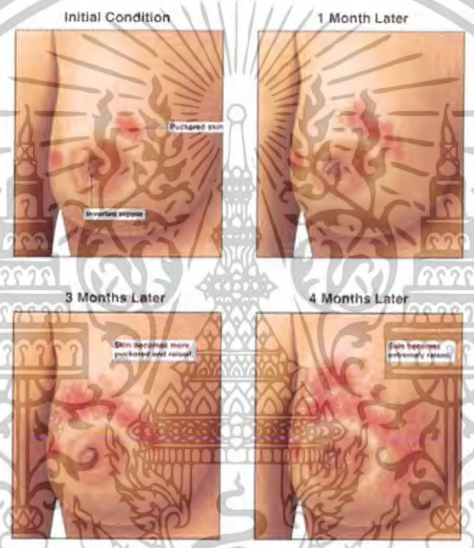
3. พันธุกรรม มีประวัติว่าคนในครอบครัวสายตรงเป็นมะเร็งเต้านมหรือมะเร็งรังไข่ (มารดาหรือพี่น้องท้องเดียวกัน) จะมีโอกาสเกิดโรคมะเร็งเต้านมได้สูงกว่า (ถ้ามีญาติเป็นมะเร็งเต้านมก่อนวัยหมดประจำเดือน ยิ่งมากคนก็ยิ่งมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคมะเร็งเต้านมได้มากขึ้น)
4. เชื้อชาติ โดยพบโรคนี้ในคนเชื้อชาติตะวันตกมากกว่าเชื้อชาติเอเชีย
5. มีประวัติเคยเป็นมะเร็งเต้านมมาก่อน โดยผู้ป่วยที่เกิดมะเร็งเต้านมขึ้นที่ข้างใดข้างหนึ่งจะมีความเสี่ยงที่จะเกิดมะเร็งเต้านมขึ้นที่อีกข้างหนึ่งเพิ่มขึ้นเป็น 3-4 เท่า
6. มีประวัติการเป็นมะเร็งรังไข่ เนื่องจากมะเร็งรังไข่มีความเกี่ยวข้องกับการสัมผัสฮอร์โมน จึงเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านมได้
7. มีโรคก้อนเนื้อบางชนิดของเต้านม
8. การกลายพันธุ์ของยีน BRCA1 หรือ BRCA2 มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งเต้านม
9. การเริ่มมีประจำเดือนครั้งแรกตั้งแต่อายุยังน้อย เนื่องจากพบโรคนี้ได้สูงขึ้นในหญิงที่มีประจำเดือนครั้งแรกก่อนอายุ 12 ปี
10. การมีภาวะหมดประจำเดือนช้า หรือหมดประจำเดือนหลังอายุ 55 ปี
11. การใช้ยาเม็ดคุมกำเนิดตั้งแต่อายุยังน้อยและใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน
12. การมีลูกคนแรกหลังอายุ 30 ปี
13. การไม่มีลูกหรือมีลูกยาก
14. การใช้ยากลุ่มฮอร์โมนทดแทนหลังวัยหมดประจำเดือนนานเกิน 4 ปี
15. มีภาวะน้ำหนักตัวเกินหรือภาวะอ้วนที่เกิดภายหลังวัยหมดประจำเดือนไปแล้วเพราะถึงแม้ว่ารังไข่จะหยุดการสร้างฮอร์โมนเอสโตรเจนแล้ว แต่ก็พบว่ายังมีปริมาณฮอร์โมนอยู่ในระดับต่ำที่ถูกสร้างจากเนื้อเยื่อไขมันในร่างกาย ดังนั้นถ้าหากมีภาวะอ้วนก็จะทำให้ร่างกายมีระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนสูงขึ้น จึงเป็นการเพิ่มความเสี่ยง ส่วนภาวะอ้วนในผู้หญิงที่ยังมีประจำเดือนนั้นจะไม่ถือเป็นปัจจัยเสี่ยง แต่กลับกันความอ้วนอาจช่วยลดความเสี่ยงจากการเป็นมะเร็งเต้านมในผู้หญิงที่ยังมีประจำเดือนได้อีกด้วย
16. ขาดการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ
17. การรับประทานอาหารที่มีไขมันสูงอย่างต่อเนื่อง
18. การสูบบุหรี่
19. การดื่มแอลกอฮอล์จัด
20. การได้รับรังสีในปริมาณสูงตั้งแต่วัยเด็กหรือวัยสาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.2 อาการมะเร็งเต้านม

ในระยะแรกมักมีอาการไม่ชัดเจน ต่อมาผู้ป่วยจะคลำได้ก้อนที่เต้านม (มักเกิดขึ้นเพียงข้างเดียว ส่วนโอกาสที่จะเกิดทั้งสองข้างมีเพียง 5%) ก้อนที่เป็นมะเร็งเต้านมมักจะมีลักษณะแข็งและขรุขระ แต่อาจจะเป็นก้อนเรียบ ๆ ก็ได้ ผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งเต้านมส่วนใหญ่จะไม่มีอาการเจ็บหรือปวด แต่จะมีเพียง 10% ของผู้ป่วยเท่านั้นที่มีอาการปวดเต้านม

ส่วนอาการอื่น ๆ ที่อาจพบได้แก่ หัวนมบุ๋ม (จากเดิมที่ปกติ) เต้านมใหญ่ขึ้นหรือรูปทรงของเต้านมผิดปกติไปจากเดิม ผิวหนังที่เต้านมบุ๋มลงไปคล้ายลักยิ้ม ผิวหนังที่เต้านมมีผื่น แดง ร้อน และขรุขระคล้ายผิวส้ม อาจมีแผลที่หัวนมและรอบหัวนม หรือมีน้ำเหลืองหรือน้ำเลือดไหลออกจากหัวนม ในบางรายอาจคลำพบก้อนบริเวณรักแร้ และนาน ๆ ครั้งอาจพบมะเร็งเต้านมที่มีอาการบวมแดงคล้ายการอักเสบที่



รูปที่ 2.10 อาการของมะเร็งเต้านม

ที่มา : https://medthai.com/%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B9%80%E0%B8%A3%

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

ก้อนที่เต้านมมีอยู่ด้วยกัน 3 กลุ่ม คือ ซีสต์เต้านม, เนื้องอกเต้านม และมะเร็งเต้านม โดยผู้ที่เป็นซีสต์เต้านมมักจะมีอาการเจ็บที่ก้อน ซึ่งผิดกับกลุ่มเนื้องอกหรือมะเร็ง ซึ่งมักจะไม่มีอาการเจ็บหรือปวด จึงทำให้ผู้ป่วยส่วนใหญ่มักเข้าใจผิดคิดว่าก้อนที่ไม่เจ็บคงไม่เป็นอะไร และปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งก้อนมะเร็งนั้นใหญ่โตขึ้นมากแล้วมารู้สึกเจ็บภายหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.11 ลักษณะของก้อนเนื้อที่เต้านม

ที่มา : https://medthai.com/%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B9%80%E0%B8%A3%

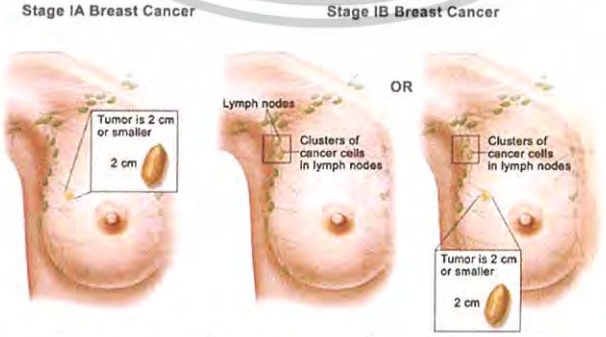
(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

2.11.3 ระยะของโรคมะเร็งเต้านม

มะเร็งเต้านมแบ่งออกเป็น 4 ระยะด้วยกันเช่นเดียวกับโรคมะเร็งทั่วไปดังนี้

ระยะที่ 0 เป็นระยะที่ก้อนมะเร็งมีขนาดเล็กและเซลล์มะเร็งยังอยู่เฉพาะในชั้นผิวของเนื้อเยื่อเต้านม 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%



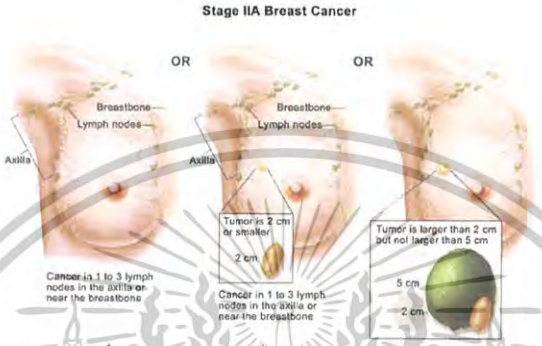
รูปที่ 2.12 ระยะที่ 0 และระยะที่ 1 ของมะเร็งเต้านม

ที่มา : https://medthai.com/%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B9%80%E0%B8%A3%

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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%



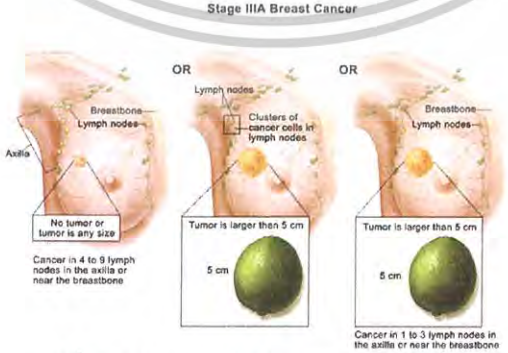
รูปที่ 2.13 ระยะที่ 2ของมะเร็งเต้านม

ที่มา : https://medthai.com/%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B9%80%E0%B8%A3%

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

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



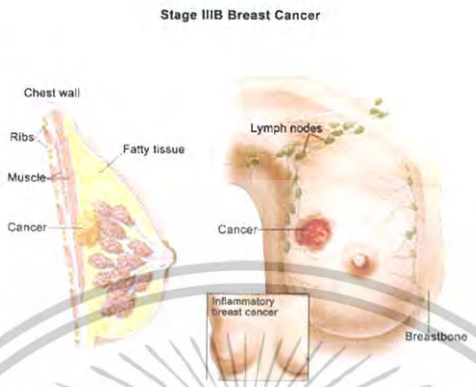
รูปที่ 2.14 ระยะที่ 3A ของมะเร็งเต้านม

ที่มา : https://medthai.com/%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B9%80%E0%B8%A3%

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

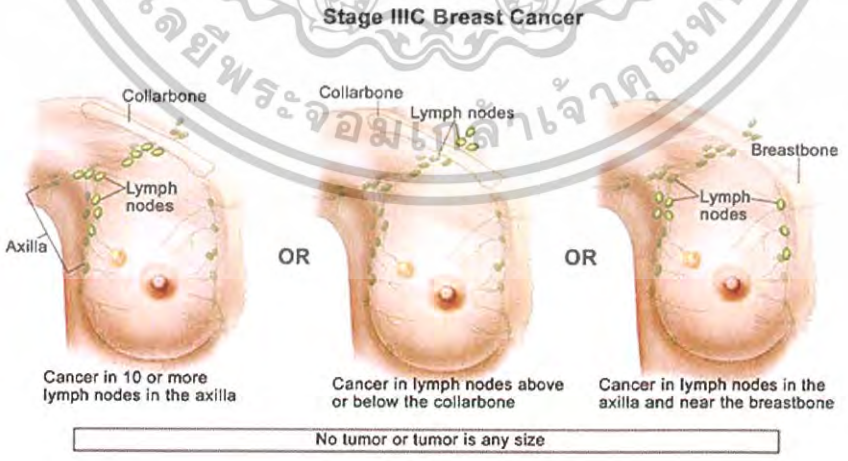


รูปที่ 2.15 ระยะที่ 3B ของมะเร็งเต้านม

ที่มา : https://medthai.com/%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B9%80%E0%B8%A3%

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

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



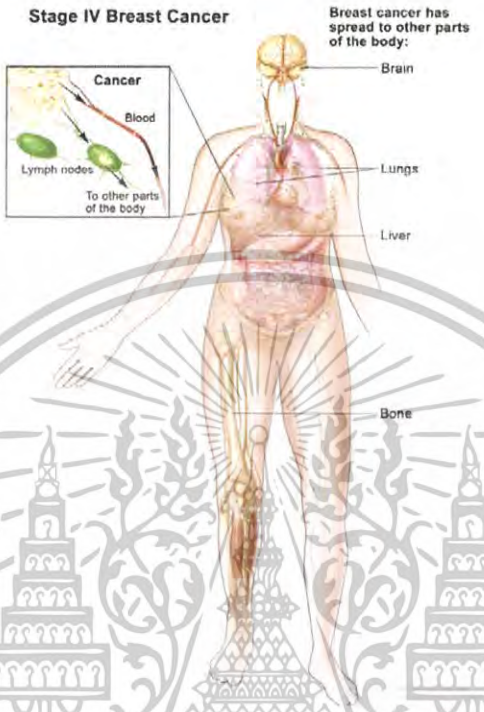
รูปที่ 2.16 ระยะที่ 3C ของมะเร็งเต้านม

ที่มา : https://medthai.com/%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B9%80%E0%B8%A3%

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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



รูปที่ 2.17 ระยะที่ 4 ของมะเร็งเต้านม

ที่มา : https://medthai.com/%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B9%80%E0%B8%A3%

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

2.11.4 การวินิจฉัยมะเร็งเต้านม

แพทย์สามารถวินิจฉัยโรคนี้ทั้งในผู้หญิงและในผู้ชายได้โดยดูจากอาการ ประวัติการเจ็บป่วยของคนในครอบครัว ประวัติการกินยาต่าง ๆ การตรวจร่างกาย การตรวจคลำเต้านม การตรวจภาพรังสีเต้านม (Mammogram – แมมโมแกรม) และอาจร่วมกับการตรวจอัลตราซาวนด์ (Ultrasound) แต่ที่จะให้ผลแน่นอนที่สุดคือ การเจาะ ดูดเซลล์ หรือตัดชิ้นเนื้อไปตรวจทางเซลล์วิทยาหรือทางพยาธิวิทยาถ้าพบว่าเป็นมะเร็งเต้านมแพทย์อาจให้ตรวจพิเศษเพิ่มเติม เพื่อดูการแพร่กระจายของมะเร็งไปยังอวัยวะต่าง ๆ (เช่น ตับ ปอด กระดูก ด้วยการตรวจอัลตราซาวนด์ตับ เอกซเรย์ปอด และตรวจสแกนกระดูก) และเพื่อดูว่ามะเร็งมีการตอบสนองต่อฮอร์โมนหรือไม่ด้วย ซึ่งการตรวจเหล่านี้จะมีความสำคัญอย่างมากต่อการวางแผนการรักษาที่เหมาะสม

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับการตรวจเลือดและยีน (Gene) เพื่อหามะเร็งเต้านมนั้นไม่ค่อยเป็นที่นิยมนัก เพราะการตรวจเลือดเพื่อหามะเร็งเต้านมจะมีความแม่นยำต่ำ ผู้ที่เป็นมะเร็งเต้านมจะพบผลการตรวจเลือดเกี่ยวกับมะเร็ง เช่น CA153, CEA ผิดปกติน้อยกว่า 20% ในขณะเดียวกันผู้ที่มีผลเลือดปกติก็อาจจะเป็นมะเร็งเต้านมอยู่แล้วก็ได้ ส่วนการตรวจยีน เช่น gene BRCA1, BRCA2 ซึ่งจะมีความผิดปกติในมะเร็งเต้านมที่เป็นกันทั้งครอบครัว หากตรวจพบก็ไม่ได้หมายความว่ากำลังเป็นมะเร็งอยู่ เพียงแต่จะทำให้รู้ว่ามีโอกาสเป็นมะเร็งได้มากกว่าคนทั่วไป และยีนดังกล่าวก็พบได้เพียง 5-10% ของผู้ป่วยทั้งหมดที่เป็นมะเร็งเต้านมเท่านั้น เมื่อตรวจแล้วพบว่าปกติก็ยังมีสิทธิ์เป็นมะเร็งเต้านมอยู่ไม่น้อย

2.11.5 วิธีรักษามะเร็งเต้านม

แพทย์จะให้การรักษาด้วยการผ่าตัดเต้านม โดยอาจตัดเต้านมออกเพียงบางส่วนหรือตัดออกทั้งหมด (ขึ้นอยู่กับระยะของโรค ขนาดและตำแหน่งของก้อนเนื้อ ขนาดของเต้านมผู้ป่วย และดุลยพินิจของแพทย์) พร้อมกับเลาะเอาต่อมน้ำเหลืองที่รักแร้ออก นอกจากนี้แพทย์จะให้การรักษาเสริมด้วยรังสีรักษา ยาเคมีบำบัด ยาฮอร์โมนบำบัด (โดยให้กินยาทาม็อกซิเฟน (Tamoxifen) ซึ่งเป็นยาที่มีฤทธิ์ต้านเอสโตรเจนซึ่งเป็นฮอร์โมนที่กระตุ้นการเจริญเติบโตของมะเร็งเต้านม) และยารักษาตรงเป้าหรือยาที่ออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็ง (Targeted therapy) โดยทั้งยาฮอร์โมนและยารักษาตรงเป้านั้นจะใช้รักษาเฉพาะผู้ป่วยที่เซลล์มะเร็งเป็นชนิดตอบสนองต่อยาเท่านั้น ซึ่งแพทย์สามารถทราบได้จากการตัดชิ้นเนื้อจากก้อนมะเร็งไปตรวจทางพยาธิวิทยาการผ่าตัดเต้านมมีทั้งแบบเก็บเต้านมไว้ (มักต้องรักษาร่วมกับรังสีบำบัด) และแบบผ่าตัดเต้านม

แนวทางการรักษาโรคมะเร็งเต้านมมักจะใช้หลาย ๆ วิธีร่วมกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับหลาย ๆ ปัจจัย เช่น ระยะของโรคและการกระจายของมะเร็ง ขนาดและตำแหน่งของก้อนเนื้อ ผลชิ้นเนื้อภายหลังการผ่าตัด อายุและสุขภาพของผู้ป่วย ภาวะก่อนหรือหลังหมดประจำเดือน และดุลยพินิจของแพทย์

ผลการรักษาส่วนใหญ่จะได้ผลดี ถ้าเป็นระยะแรกมักจะมีชีวิตอยู่ได้นานตามปกติหรือหายขาด แต่ถ้าเป็นในระยะแพร่กระจายไปทั่วร่างกายแล้ว ก็มักจะได้ผลไม่สู้ดีนัก ดังนั้นโอกาสในการรักษาให้หายขาดจึงขึ้นอยู่กับระยะของโรคเป็นหลัก และรวมไปถึงการตอบสนองต่อการใช้ยา อายุ และสุขภาพของผู้ป่วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.6 ผลข้างเคียงจากการรักษามะเร็งเต้านม

ผลข้างเคียงจากการผ่าตัด เช่น การเสียเลือด, แผลผ่าตัดติดเชื้อ, การสูญเสียเนื้อเยื่อ และเสี่ยงต่อการดมยาสลบ

ผลข้างเคียงจากการใช้รังสีรักษา คือ ผิวหนังในบริเวณที่ทำการฉายรังสีเกิดเป็นแผลถลอก เป็นแผลเปียกคล้ายแผลถูกไฟไหม้น้ำร้อนลวก แผลมีขนาดใหญ่ และเสี่ยงต่อการติดเชื้อ

ผลข้างเคียงจากการใช้ยาเคมีบำบัด คือ ผมร่วง, เบื่ออาหาร, คลื่นไส้อาเจียน, มือเท้าชา, อ่อนเพลีย, เกิดภาวะซีด, เม็ดเลือดขาวต่ำทำให้ติดเชื้อได้ง่าย, ภาวะเกล็ดเลือดต่ำทำให้มีเลือดออกได้ง่าย, การทำงานของไตลดลง เป็นต้น

ผลข้างเคียงจากการใช้ยาฮอร์โมนบำบัด คือ ตกขาวโดยไม่มีการติดเชื้อ, เลือดออกผิดปกติทางช่องคลอด (พบได้น้อย), ปวดข้อ, เสี่ยงเป็นมะเร็งเยื่อบุมดลูก (พบได้น้อยมากประมาณ 0.2-1.6 คนต่อผู้ใช้ยานี้ 1,000 คน)

ผลข้างเคียงจากการใช้ยารักษาตรงเป้า คือ การเกิดสิวขึ้นทั่วตัวรวมทั้งใบหน้า และยาบางชนิดอาจก่อให้เกิดภาวะเลือดออกได้ง่าย แผลติดยากเมื่อเกิดบาดแผล และอาจเป็นสาเหตุทำให้ผนังลำไส้ทะลุได้

ผลข้างเคียงที่กล่าวมานี้จะสูงและรุนแรงมากขึ้น ในกรณีที่ใช้หลาย ๆ วิธีร่วมกันในการรักษา ผู้ป่วยมีโรคประจำตัวหรือเป็นโรคเรื้อรัง เช่น โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคไขมันในเลือดสูง ผู้ป่วยเป็นผู้สูงอายุ ผู้ป่วยสูบบุหรี่ และดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

2.11.7 วิธีป้องกันมะเร็งเต้านม

1. หมั่นตรวจคัดกรองมะเร็งเต้านม เพื่อให้พบโรคได้ตั้งแต่ยังไม่มีอาการ ซึ่งการตรวจพบมะเร็งเต้านมได้ตั้งแต่ในระยะแรกเริ่มจะมีโอกาสรักษาโรคนี้ให้หายขาดได้ ดังนั้นผู้หญิงทุกคนควรหมั่นตรวจเต้านมด้วยตัวเอง ไปพบแพทย์เพื่อตรวจเต้านมหรือถ่ายภาพรังสีเต้านม ตามเกณฑ์อายุดังนี้
   - อายุ 20 ปีขึ้นไป ให้ตรวจเต้านมด้วยตัวเองอย่างน้อยเดือนละ 1 ครั้ง (ตามวิธีการที่แนะนำไว้ข้างต้น)
   - อายุ 20-40 ปี ควรไปพบแพทย์เพื่อตรวจเต้านมทุก ๆ 3 ปี และอายุตั้งแต่ 40 ปีขึ้นไป ควรไปพบแพทย์เพื่อตรวจเต้านมเป็นประจำทุกปี
   - อายุ 35-40 ปี ควรตรวจหามะเร็งระยะแรกเริ่ม (ก่อนคลำได้ก้อน) ด้วยการถ่ายภาพรังสีเต้านม (Mammography) เป็นครั้งแรกไว้เป็นพื้นฐาน เมื่ออายุ 40-49 ปี ควรตรวจซ้ำทุก 1-2 ปี และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากอายุ 50 ปี ไปแล้ว ควรตรวจซ้ำเป็นประจำทุกปี ส่วนผู้ที่มีความเสี่ยงสูง (เช่น คนในครอบครัวสายตรงมีประวัติเป็นโรคนี้ ฯลฯ) อาจจำเป็นต้องตรวจถี่ขึ้นมากกว่าปกติ

- การตรวจมะเร็งเต้านมด้วยวิธีการถ่ายภาพรังสีเต้านม (Mammography) ถือเป็นวิธีที่ดีที่สุดและได้รับการยอมรับเป็นมาตรฐานทั่วโลก เพราะสามารถตรวจพบมะเร็งในระยะแรกเริ่มที่มีขนาดเล็กมากหรือที่เพิ่งจะเห็นเป็นหินปูนอยู่ในเต้านมได้(ซึ่งเป็นมะเร็งในระยะที่รักษาให้หายขาดได้) โดยจะเป็นการใช้เครื่องเอกซเรย์ชนิดพิเศษที่ใช้รังสีในปริมาณต่ำกว่าเครื่องเอกซเรย์ทั่วไปมาก เพื่อทำการตรวจเต้านมข้างละ 2 ท่า รวม 4 ภาพ โดยจะมีอุปกรณ์ช่วยในการกดเต้านม เพื่อให้เนื้อเต้านมกระจาย และเครื่องจะเอกซเรย์ภายในเวลาไม่กี่วินาที ซึ่งจะไม่เป็นอันตรายใด ๆ แก่เต้านม จึงมีความปลอดภัยมาก แม้ผู้ที่ได้รับการเสริมเต้านมมาแล้วก็สามารถตรวจได้อย่างปลอดภัย ส่วนในผู้ชายนั้นยังไม่มีการแนะนำให้ตรวจคัดกรองมะเร็งเต้านมที่เฉพาะเจาะจง แพทย์เพียงแต่จะแนะนำให้หมั่นสังเกตตัวเอง ถ้าพบว่ามีก้อนเนื้อผิดปกติหรือมีเลือดออกจากหัวนม ก็ควรรีบไปพบแพทย์เพื่อตรวจหาสาเหตุและรับการรักษาอย่างถูกต้อง

รูปที่ 2.18 วิธีการถ่ายภาพรังสีเต้านม (Mammography)
ที่มา : https://medthai.com/%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B9%80%E0%B8%A3%
(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

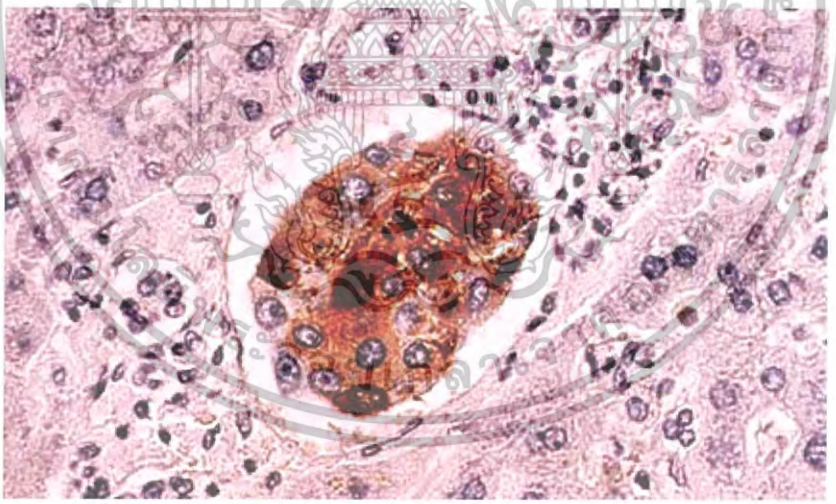
2. หลีกเลี่ยงปัจจัยเสี่ยงที่ควบคุมได้ เช่น การหลีกเลี่ยงการสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์จัด และการใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นเวลานาน
3. ควบคุมน้ำหนักตัวให้อยู่ในเกณฑ์ปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ลดการบริโภคเนื้อแดง อาหารที่มีไขมันสูง
5. รับประทานอาหารที่มีให้ครบทั้ง 5 หมู่ โดยเฉพาะผักและผลไม้ ควรรับประทานให้มาก ๆ
6. หมั่นออกกำลังกายเป็นประจำ
7. ควรเลี้ยงลูกด้วยนมตัวเอง เพราะจากการศึกษาพบว่ามารดาที่ให้ลูกดื่มนมตัวเองนานเกิน 2 ปี จะมีผลช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านมลงได้
8. ผู้ที่มีความเสี่ยงสูง เช่น คนในครอบครัวมีประวัติป่วยเป็นโรคนี้ ฯลฯ ควรปรึกษาแพทย์เพื่อพิจารณาให้กินยาป้องกันเอาไว้ เช่น แอสไพริน (สัปดาห์ละครั้ง) หรือยาต้านเอสโตรเจน เช่น ทาม็อกซิเฟน (Tamoxifen), ราโลซิเฟน (Raloxifene) เป็นต้น
9. ทั้งในผู้หญิงและผู้ชาย ถ้าคลำพบก้อนในเต้านมหรือพบความผิดปกติของเต้านม ควรรีบไปพบแพทย์เพื่อรับการตรวจภายใน 1-2 สัปดาห์

2.12 เซลล์มะเร็งเต้านม

MCF-7 ย่อมาจาก Michigan Cancer Foundation-7 เป็นเซลล์ไลน์ซึ่งแยกที่ได้ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1970 จากเนื้อเยื่อบริเวณทรวงอกของหญิงชราอายุ 69 ปี



รูปที่ 2.19 เซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7

ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/MCF-7

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.13 ความแตกต่างระหว่างเซลล์มะเร็งกับเซลล์ปกติ

เซลล์มะเร็งเป็นเซลล์ที่ไม่สามารถควบคุมการแบ่งตัวได้เหมือนเซลล์ปกติ จึงทำให้การแบ่งตัวเกิดขึ้นอย่างไม่หยุด ทั้งนี้เพราะเซลล์ปกติทั่วไปมีระบบควบคุมด้วยกลไกที่มีการกระตุ้นหรือยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ แต่เซลล์มะเร็งไม่มี จึงทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างเซลล์มะเร็งกับเซลล์ปกติ ซึ่งความแตกต่างอาจเกี่ยวข้องกับ growth factor ความหนาแน่นของเซลล์ การสัมผัสระหว่างเซลล์ พื้นผิวยึดเกาะสำหรับการแบ่งเซลล์ ตลอดจนความแตกต่างในการเกิดกระบวนการ Cell senescence

2.13.1 growth factor

ในเซลล์ปกติ growth factor จะถูกหลั่งออกมานอกเซลล์ แล้วส่งสัญญาณไปกระตุ้นให้เกิดการแบ่งตัวตามความต้องการ ในขณะที่เซลล์มะเร็งบางชนิดสามารถสังเคราะห์ growth factor ขึ้นมากระตุ้นตัวเองได้ ทำให้การแบ่งของเซลล์มะเร็งนั้นอยู่เหนือการควบคุม เรียกว่า autocrine growth stimulation นอกจากนี้เซลล์มะเร็งบางชนิดจะมีความต้องการ growth factor ลดลง เนื่องจากเกิดความผิดปกติของ growth factor receptor ในกรณีเช่นนี้ พบว่าแม้จะไม่มี growth factor มาจับ แต่ growth factor receptor จะอยู่ในรูป active ตลอดเวลา ส่งผลให้มีการกระตุ้นให้เซลล์เกิดการแบ่งตัวอย่างไม่มีที่สิ้นสุด

2.13.2 ความหนาแน่นของเซลล์

จากการทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์ปกติกับเซลล์มะเร็งในอาหารและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม พบว่าเซลล์ปกติจะเกิดการแบ่งตัวอย่างเป็นระเบียบ จนกระทั่งเซลล์เจริญเติบโตครอบคลุมผิวหน้าของภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยง ในลักษณะแผ่เป็นชั้นเดียว (monolayer) แล้วเซลล์จะหยุดการแบ่งตัว แล้วเข้าสู่ระยะ G_0 แต่เซลล์มะเร็งจะแบ่งตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ และมีการทับถมได้หลายๆชั้น (multilayer) จนกระทั่งกลายเป็นก้อนมะเร็ง

2.13.3 การสัมผัสระหว่างเซลล์

จากการศึกษาเซลล์ที่นำมาเพาะเลี้ยงไว้ในภาชนะเพาะเลี้ยงจนเต็มผิวหน้าของภาชนะ พบว่าเมื่อทำการขูดเซลล์ออกจากภาชนะเป็นทาง ถ้าเป็นเซลล์ปกติเซลล์จะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนข้นมาทดแทนเซลล์ที่ถูกขูดออกจนเต็มภาชนะที่เพาะเลี้ยงแล้วจะหยุดการแบ่งตัว เนื่องจากเกิดการสัมผัสระหว่างเซลล์ ในขณะที่เซลล์มะเร็งจะแบ่งเซลล์ทับถมกันไป แม้ว่าจะสัมผัสกับเซลล์ข้างเคียงก็ตาม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการสัมผัสระหว่างเซลล์ข้างเคียงไม่มีผลต่อการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งแต่อย่างใด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.13.4 พื้นผิวยึดเกาะสำหรับการแบ่งเซลล์

เซลล์มะเร็งสามารถแบ่งตัวได้ แม้ว่าไม่มีพื้นผิวสำหรับยึดเกาะเพื่อการเจริญเติบโต ถ้านำเซลล์ไปเลี้ยงโดยการให้ลอยอยู่ในภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยงที่ไม่มีที่ยึดเกาะ เซลล์มะเร็งก็ยังคงแบ่งตัวได้ ในขณะที่เซลล์ปกติยังคงมีชีวิตอยู่ได้แต่จะไม่สามารถแบ่งตัวได้ หรือแบ่งตัวได้เล็กน้อย

2.13.5 Cell senescence

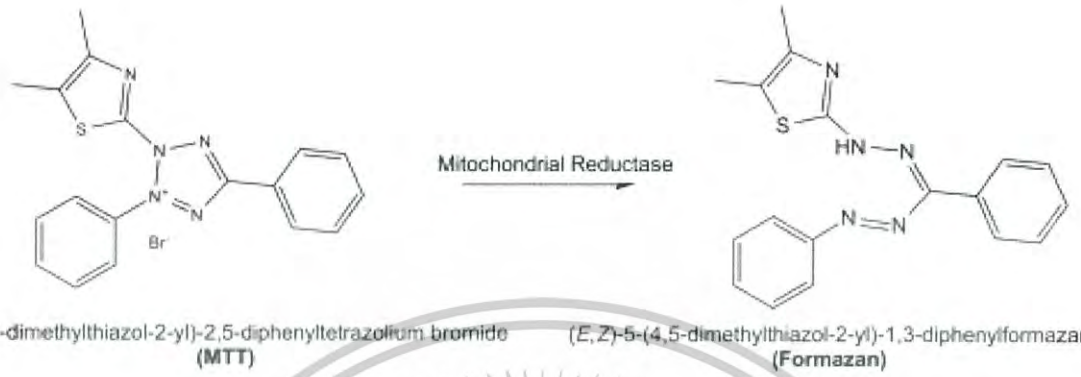
เซลล์ปกติแม้นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารอย่างสมบูรณ์ก็จะไม่สามารถแบ่งตัวอย่างต่อเนื่อง พบว่าเซลล์จะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนไปช่วงเวลาหนึ่งแล้วจะหยุดการแบ่งตัว แล้วจะเข้าสู่ระยะ G_0 นอกจากนั้นยังพบว่าในการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ได้จากบุคคลที่วัยต่างกัน เซลล์จะเกิดการแบ่งเซลล์ได้แตกต่างกัน นั่นคือเซลล์ที่ได้จากคนที่อายุมากๆจะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้น้อยลงตามลำดับ เซลล์ที่มีความสามารถในการแบ่งตัวลดลงเรียกว่า Cell senescence มีทฤษฎีหลายทฤษฎีที่ถูกนำมาใช้อธิบาย Cell senescence เช่น ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ Telomerase มาใช้ในการอธิบาย โดยเอนไซม์ Telomerase เป็นเอนไซม์ที่ควบคุมความยาวของ Telomeres ซึ่งเป็น DNA ที่มีลำดับซ้ำๆกันอยู่ที่ปลายโครโมโซม โดยปกติทั่วไปในขณะที่เซลล์มีการแบ่งตัวจะพบว่า Telomeres จะไม่มีการเพิ่มจำนวนเหมือนกับส่วนอื่นๆ ของโครโมโซม แต่กลับหดสั้นลงทุกครั้งที่มีการแบ่งตัวของเซลล์ จนในที่สุดเซลล์ไม่สามารถแบ่งตัวได้เมื่อ Telomeres หมดไป ซึ่งก็คือทำให้เซลล์แก่ตัว และตายไป อาจกล่าวได้ว่า Cell senescence เกิดจากการที่เซลล์ไม่สามารถคงความยาวของ Telomeres ไว้ได้ แต่ในเซลล์ที่มีการแบ่งตัวอยู่ตลอดเวลาพบว่าเซลล์เหล่านี้มีเอนไซม์ Telomerase ที่ควบคุมไม่ให้ Telomeres หดสั้นลงในขณะที่เซลล์ทำการแบ่งตัว ทำให้เซลล์สามารถแบ่งตัวได้ตลอด และได้พบว่าในที่เซลล์มะเร็งมีเอนไซม์ Telomerase อยู่ถึง 95% ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าทำไมเซลล์มะเร็งจึงมีการแบ่งตัวตลอดเวลา จนเรียกเซลล์มะเร็งว่าเป็นเซลล์อมตะ (immortal cell)

2.14 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยวิธี MTT Assay

MTT assay เป็นวิธีตรวจสอบความเป็นพิษ ต่อเซลล์ในหลอดทดลองจากความสามารถ ในการทำงานของเอนไซม์ Dehydrogenase และ Cofactor ในไมโทคอนเดรียที่จะรีดิวซ์สาร 3-[4,5-Dimethyl thiazol-2-yl]-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT) ที่มีสีเหลืองให้กลายเป็นผลึกฟอร์มาซาน (Formazan) ที่มีสีม่วงได้ ดังนั้นจึงใช้ผลึกฟอร์มาซานแสดงถึงความมีชีวิตของเซลล์ โดยเซลล์ที่ตายนั้นจะมีลักษณะใสไม่มีสี ส่วนเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่จะมีผลึกสีม่วงเกิดขึ้นภายใน เซลล์ ซึ่งเมื่อนำมาละลายในตัวทำละลาย เช่น DMSO จะได้สารละลายสีม่วงน้ำเงินที่สามารถวัดค่าการดูด กลืนแสงได้ด้วยเครื่อง Spectrophotometer นำมา คำนวณเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเซลล์เปรียบเทียบ กับกลุ่มควบคุม ซึ่ง

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นิยมรายงานความเป็นพิษของ สารจากระดับความเข้มข้นที่ทำให้เซลล์ตาย 50% (50% Cytotoxic concentration: CC50)



รูปที่ 2.20 การรีดิวซ์สาร MTT เป็นผลึกฟอร์มาซาน

ที่มา : https://en.wikipedia.org/wiki/MTT_assay

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

2.15 เชื้อแบคทีเรีย

2.15.1 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อน สร้างสปอร์ (spore forming bacteria) เจริญได้ในที่มีอากาศ (aerobic bacteria) สามารถสร้างสารพิษ (toxin) ที่ทนต่อความร้อนได้ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง ในร่างกายมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 28-37 องศาเซลเซียส

รูปที่ 2.21 ลักษณะรูปร่างของ *Bacillus cereus*

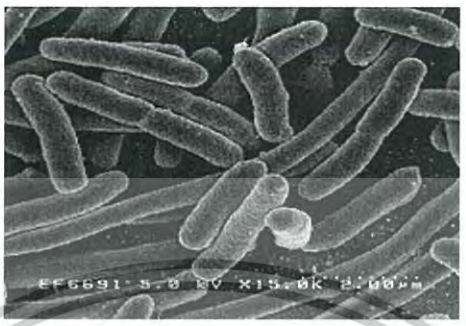
ที่มา : http://www.medschool.lsuhsc.edu/Microbiology/DMIP/dmex17.htm

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.15.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง ไม่สร้างสปอร์ เป็น facultative anaerobe เจริญในที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae และจัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliform) ประเภท fecal



รูปที่ 2.22 ลักษณะรูปร่างของ *Escherichia coli*

ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

2.15.3 *Salmonella typhimurium*

Salmonella อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae ซึ่งก่อให้เกิดโรคที่มีอาหารเป็นสื่อกลาง รูปร่างเป็นท่อน ย้อมติดสีแกรมลบ จัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobe ที่เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ และไม่สร้างสปอร์

รูปที่ 2.23 ลักษณะรูปร่างของ *Salmonella typhimurium*

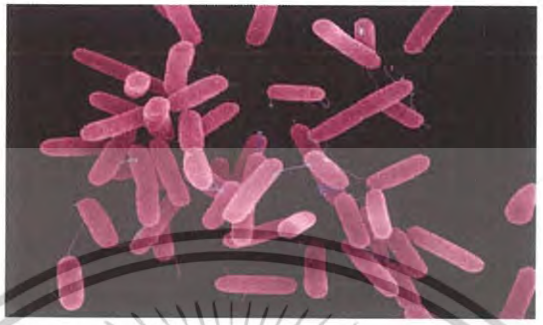
ที่มา : https://biodiversityserene.wikispaces.com/Salmonella+enterica

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.15.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomona saeruginosa เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างแท่ง เคลื่อนที่โดย flagellum ที่ติดอยู่ตรงหัว จะพบกระจายในดิน น้ำ ขยะ หรือในพืช และเป็นnormal flora ในลำไส้คน และสามารถทำให้เกิดโรคในคนได้



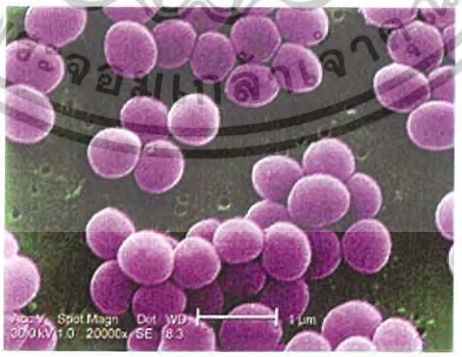
รูปที่ 2.24 ลักษณะรูปร่างของ *Pseudomonas aeruginosa*

ที่มา : https://ehp.niehs.nih.gov/120-a190/

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

2.15.5 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus อยู่ในวงศ์ Micrococcaceae เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในอาหาร ย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างเป็นทรงกลม อยู่รวมกันเป็นพวงคล้ายพวงองุ่น ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนไหว จัดอยู่ในกลุ่ม facultative anaerobe คือเจริญได้ในที่มีอากาศและไม่มีอากาศ และสร้างสารพิษ (toxin) ชนิดเอนทีโรทอกซิน (enterotoxin) ที่ทนความร้อน



รูปที่ 2.25 ลักษณะรูปร่างของ *Staphylococcus aureus*

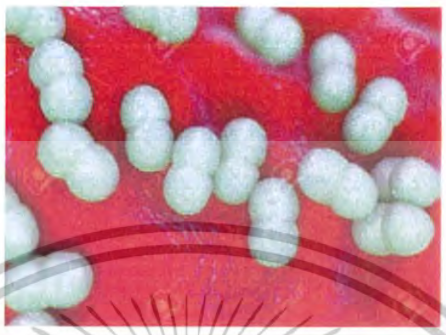
ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus

(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.15.6 *Staphylococcus epidermidis*

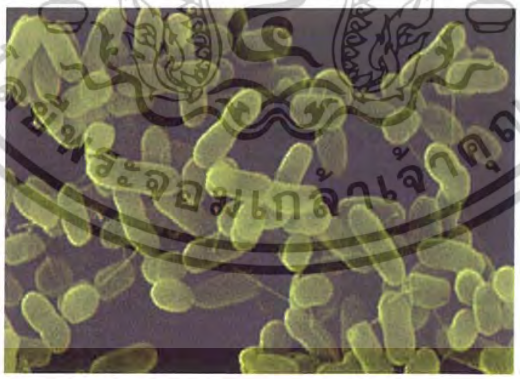
Staphylococcus epidermidis เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว หรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่มคล้ายพวงองุ่น โคโลนีขนาดเล็ก สามารถเจริญได้ทั้งภาวะที่มีออกซิเจน เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ไม่สร้าง coagulase และ α-toxin เป็นเชื้อประจำถิ่นที่ผิวหนัง โพรงจมูก รูหู และทางเดินปัสสาวะส่วนปลาย



รูปที่ 2.26 ลักษณะรูปร่างของ *Staphylococcus epidermidis*
ที่มา : https://www.123rf.com/_staphylococcus-epidermidis-bacteria.html
(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

2.15.7 *Yersinia enterocolitica*

Yersinia enterocolitica เขียนย่อว่า *Y. enterocolitica* เป็นแบคทีเรียก่อโรค (pathogen) ชนิดหนึ่ง อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae ย้อมติดสีแกรมลบ เป็นท่อนสั้น ขนาดเล็ก ขนาดประมาณ 0.5-0.8 ไมโครเมตรไม่สร้างสปอร์



รูปที่ 2.27 ลักษณะรูปร่างของ *Yersinia enterocolitica*
ที่มา : https://johnnyandeve.wordpress.com/2012/05/12/yersinia-enterocolitica/
(สืบค้นเมื่อ 11 เมษายน 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.16 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.16.1 จากงานวิจัยของ ดร.ณัฐธยาน์ ชูสิงห์ ฟาน (2011) ได้ทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดทุเรียนเทศ *Annonamuricata* ต่อเซลล์มะเร็งบางชนิด โดยทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ ต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (MCF-7) เซลล์มะเร็งตับ (HepG2) เซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก (PC-3) เซลล์มะเร็งรังไข่ (SKOV3) ด้วยวิธี MTT assay พบว่าค่า IC_{50} ต่ำสุดเท่ากับ 1.30 µg/ml ได้จากการสกัดเมล็ดด้วย methanol สามารถยับยั้งมะเร็งรังไข่ได้ที่ 6 ชั่วโมง และได้ค่า IC_{50} สูงสุดเท่ากับ 938.78 µg/ml ได้จากการสกัดเมล็ดด้วย methanol สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งเต้านมได้ที่เวลา 18 ชั่วโมง ในส่วนของสารสกัดที่ได้จากผลอ่อนของทุเรียนเทศไม่มีฤทธิ์ต่อเซลล์มะเร็งใดๆ

2.16.2 จากงานวิจัยของ Champy และคณะ (2005) ได้ทำการวิเคราะห์สาร annonacin ที่อยู่ในเนื้อผลของทุเรียนเทศ ชาชง น้ำต้ม และสารสกัดเมทานอลจากใบของทุเรียนเทศ โดยวิธี Reverse phase high pressure liquid chromatography (RP HPLC) ร่วมกับ Matrix-assisted laser desorption-ionization mass spectrometry (MALDI MS) หรือ LC-MSพบว่า สาร annonacin จะถูกสกัดออกมาในรูปแบบของชาชงและน้ำต้ม ได้น้อยกว่าเนื้อผล ประมาณ 100 เท่า และการที่สาร annonacin ถูกสกัดออกมาได้ด้วยน้ำร้อน เนื่องจากสารนี้มีจุดหลอมเหลวต่ำ (ประมาณ 64 องศาเซลเซียส) ซึ่งจากงานวิจัยของ Fidianingaih และคณะ (2014) ได้สนับสนุนว่าชาชงของใบทุเรียนเทศมีฤทธิ์เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมชนิด T47D ได้บ้าง แต่น้อยกว่า tamoxifen 274 เท่า แสดงว่าอาจมีสาร annonaceousacetogenin ละลายออกมาในน้ำร้อนได้เล็กน้อย

2.16.3 งานวิจัยของ Gavamukulya (2014) พบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดใบทุเรียนเทศด้วยน้ำ (ที่อุณหภูมิห้อง) ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งตับชนิด Ehrlich Ascites Carcinoma ในทุกความเข้มข้น (250, 500, 750, 1000 และ 1250 µg/ml) แต่สารสกัดจากใบทุเรียนเทศด้วยแอลกอฮอล์มีฤทธิ์ยับยั้งได้ โดยมีค่า IC_{50} = 335.85 µg/mlซึ่งสารสกัดน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดแอลกอฮอล์ โดยมีค่าIC_{50} = 0.9077mg/ml ส่วนสารสกัดแอลกอฮอล์มีค่า = 2.0456 mg/ml ซึ่งกลุ่มสารที่พบได้ในทั้งสองสารสกัด คือ alkaloids, flavonoids, terpenoids, coumarins, lactones, anthraquinones, tannins, cardiac, glycosides, phenols, phytosterols และ saponins เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Arthur และคณะ (2011) ที่พบว่าน้ำต้มประกอบด้วยสารกลุ่ม saponins, tannins, flavonoids และสาร glycosides อื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

1) ถาดอะลูมิเนียม
2) ขวดรูปชมพู่
3) ขวดดูแลน
4) ทิป
5) ปิเปตแก้ว
6) ออโต้ปิเปต
7) เครื่องดูดจ่ายสารอัตโนมัติ
8) 96 well plate
9) หลอดทดลอง
10) จานเพาะเลี้ยงเชื้อ
11) เอทานอล
12) เมทานอล
13) อาหารเลี้ยงเซลล์ RPMI 1640
14) ทริปซิน
15) PBS
16) ยาปฏิชีวนะ Penstrep
17) FBS 10%
18) ตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ 37 องศาเซลเซียส ที่มี CO_2 5%
19) ตู้อบลมร้อน
20) ตู้ปลอดเชื้อ
21) ตู้บ่ม 37 องศาเซลเซียส
22) เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์
23) เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ
24) เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน
25) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อโดยใช้ความดันไอน้ำ
26) กระบอกตวง
27) จานเพาะเลี้ยงเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

28) บีกเกอร์

29) ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (DMSO)

30) สารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรค์ 0.025 M, ph. 1.0

31) สารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตท 0.4 M, ph. 4.5

32) 3-[4,5-Dimethyl thiazol-2-yl]-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT)

33) Vitamin E หรือ Alpha-tocopherol

34) absolute ethanol

35) folin-ciocalteu's reagent

36) sodium carbonate

37) น้ำกลั่น

38) จุกยาง

39) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

40) คิวเวท

41) เครื่องผสมสาร

42) Paper Disc

43) อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar

44) อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller hinton agar

45) ลวดเขี่ยเชื้อ

46) ตะเกียงแอลกอฮอล์

47) โซเดียมไนไตรท์

48) สารละลายควอซิทิน

49) อะลิเนียมคลอไรด์

50) โซเดียมไฮดรอกไซด์

51) กระดาษกรอง whatman no.1, กระดาษวัด ph

52) ขวดสีชา

53) ช้อนตักสาร

54) เวอร์เนียร์คาลลิปเปอร์

55) สารละลายกรดแกลลิค

56) กล้องจุลทรรศน์แบบอินเวิร์ส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การเตรียมสารสกัดจากทุเรียนเทศ

เก็บใบ กิ่งและผลทุเรียนเทศในช่วงเดือนตุลาคม นำใบ กิ่ง และผลทุเรียนเทศมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นนำไปล้างด้วยน้ำกลั่น และทำให้แห้งโดยการนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำแต่ละส่วนของทุเรียนเทศมาบดเป็นผง แล้วนำไปแช่ในเอทานอลร้อยละ 95 ที่อยู่ใน flask โดยใช้อัตราส่วน 1:9 (ผง : ethanol) เก็บในที่มืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา7 วัน จากนั้นนำสารละลายแต่ละส่วนกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปทำให้เข้มข้นขึ้นโดยใช้เครื่อง Rotator Evaporator แล้วเก็บรักษาสารสกัดหยาบจากแต่ละส่วนของทุเรียนเทศในขวดสีชา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ

3.3.1 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยวิธี Folin-Ciocalteu reagent

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากแต่ละส่วนของทุเรียนเทศจะวิเคราะห์ตามวิธีของตามวิธีของ Chidambara et al. (2002) โดยเตรียมสารสกัดหยาบที่ได้จากแต่ละส่วนของทุเรียนเทศความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียมสารละลายกรดแกลลิคความเข้มข้น 1, 0.1, 0.01, 0.001 และ 0.0001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย ปิเปตสารสกัดหยาบแต่ละส่วน ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และกรดแกลลิคปริมาตร 20 ไมโครลิตร เพื่อเป็น standard และหยอด absolute ethanol ปริมาตร 20 ไมโครลิตร เพื่อเป็นตัวควบคุม ลงในหลุมของ 96-well plate ตามแผนผังที่วางไว้ ปิเปตสารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตรลงใน 96-well plate ทุกหลุม จากนั้นบ่ม 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบ โดยทำการเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ โดยวิธี Aluminum chloride colorimetry

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากทุเรียนเทศ จะวิเคราะห์ตามวิธีของ Kathirvel และSujatha (2012) โดยเตรียมสารสกัดหยาบที่ได้จากแต่ละส่วนของทุเรียนเทศความเข้มข้น 1000, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียมสารละลายควอซิทินความเข้มข้น 1000, 500, 250, 100, 50, 25 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรโดยใช้เมทานอลร้อยละ 30 เป็นตัวทำละลาย ปิเปตสารสกัดจากทุเรียนเทศแต่ละส่วนที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตรและสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 75 ไมโครลิตรในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตรลงไป ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 275 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของควอซิทิน

3.3.3 วิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน โดยวิธี pH differential method

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดหยาบจากทุเรียนเทศจะวิเคราะห์ตามวิธีของ Cabrita, L., Fossen, T. และOvyind, M. A. (2000). โดยเตรียมสารสกัดหยาบจากแต่ละส่วนของทุเรียนเทศที่ความเข้มข้น 40,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยละลายสารสกัดด้วยน้ำกลั่น จากนั้นปิเปตสารสกัดแต่ละส่วนที่เตรียมไว้ 30 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง 2 หลอด โดยที่หลอดที่ 1 ปิเปตสารละลายบัฟเฟอร์โพแทสเซียมคลอไรด์ (0.025 M, pH = 10) ปริมาตร 270 ไมโครลิตร และหลอดที่ 2 ปิเปตสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตท (0.4 M, pH = 4.5) ปริมาตร 270 ไมโครลิตร เขย่าหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 nm และ 700 nm นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH assay

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบจากทุเรียนเทศจะวิเคราะห์ตามวิธีของ Yen & Chen (1995), Oueslati et al. (2012) และ John et al. (2015) โดยเตรียมสารสกัดหยาบแต่ละส่วนที่ได้จากทุเรียนเทศให้ได้ความเข้มข้น 10, 5, 2.5, 1.25 และ0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย จากนั้นปิเปตสารสกัดหยาบที่ได้จากทุเรียนเทศแต่ละส่วนปริมาตร 10 ไมโครลิตร และหยอดวิตามินอีความเข้มข้น 5 และ 1.25 มิลลิโมลาร์ต่อมิลลิลิตรเพื่อเป็น standard ปริมาตร 10 ไมโครลิตร และหยอด absolute ethanol เพื่อเป็นตัวควบคุม ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในหลุมของ 96-well plate ตามแผนผังที่วางไว้ จากนั้นหยอดสารละลาย DPPH ปริมาตร 190 ไมโครลิตร ลงทุกหลุมของ96-well plate บ่มทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.5 การศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธี Disc Diffusion test

การทดสอบการออกฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบได้แก่

- *Bacillus cereus* TISTR 1466
- *Escherichia coli* TISTR 780
- *Salmonella typhimurium* TISTR 292
- *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781
- *Staphylococcus aureus* TISTR 1466
- *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228
- *Yersinia enterocolitica* ATCC 9610

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.1 การเตรียมเชื้อ

เขี่ยเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดจาก stock ลงในอาหาร NA เพื่อกระตุ้นการเจริญของเชื้อ และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อเจริญเพียงพอต่อการทดสอบ เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำเชื้อมาทำการย้อมแกรมเพื่อยืนยันความถูกต้องของเชื้อเบื้องต้น โดยส่องดูลักษณะ รูปร่าง การติดสีย้อมแกรม ด้วยกล้องจุลทรรศน์ จากนั้นนำเชื้อแต่ละชนิดมาเจือจางด้วยน้ำเกลือที่มีความเข้มข้น 0.85% (normal salt saline 0.85%) ปรับความเข้มข้นให้เท่ากับ McFarland standard No.5

3.5.2 การทดสอบ

นำอาหาร MHA ที่เตรียมไว้มาทำให้ผิวหน้าแห้ง (Dry plate) โดยทำในตู้ปลอดเชื้อชนิดลมเป่า จากนั้นปิเปตสารละลายเชื้อมา 0.1 มิลลิลิตร โดยใช้ไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาทำการ swab บนผิวหน้าอาหาร MHA ให้สม่ำเสมอ แล้วทำให้ผิวหน้าของอาหารแห้งอีกครั้ง แล้วเตรียมสารสกัดหยาบแต่ละส่วนให้มีความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียมยาปฏิชีวนะ จากนั้นหยดสารสกัดแต่ละส่วนและยาปฏิชีวนะ ลงไปในแผ่นกระดาษกรอง (filter paper discs) โดยทำในตู้ปลอดเชื้อชนิดลมเป่า ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใช้น้ำเกลือความเข้มข้น 0.85% เป็นตัวควบคุมเชิงลบ และใช้ยาปฏิชีวนะเป็นตัวควบคุมเชิงบวก จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด ตรวจผลโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (clear zone) ในหน่วยมิลลิเมตร แล้วนำไปเปรียบเทียบกับตัวควบคุมเชิงบวกและเชิงลบ หากสารสกัดหยาบส่วนใดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ จะนำสารสกัดนั้นมาลดความเข้มข้นลงทีละครึ่ง เพื่อทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดของการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

3.6 การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 โดยวิธี MTT assay

3.6.1 การเตรียมเซลล์ไลน์ MCF-7

นำเซลล์ MCF-7 ที่เลี้ยงไว้ในขวดเพาะเลี้ยงมาส่องดูปริมาณเซลล์ที่เจริญโดยใช้ กล้องจุลทรรศน์แบบอินเวิร์ส และเพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ และนำมาปิเปตอาหารเก่าออก จากนั้นเติม PBS ลงไป 3 มิลลิลิตร เพื่อล้างซีรัม และทำการปิเปต PBS ออกจนหมด จากนั้นทำการเติมทริปซิน เข้มข้น 0.25% ปริมาณ 1 มิลลิลิตร และนำไปบ่มที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5 นาที ในสภาวะที่มีคาบอนไดออกไซด์ 5% จากนั้นนำมาสังเกตโดยการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบอินเวิร์สจนกว่าเซลล์จะหลุดออกจากพื้นผิวที่เกาะอยู่ จากนั้นหยุดการทำงานของทริปซินด้วยการเติมอาหาร RPMI 1640 ที่เสริมด้วยซีรัม 10% ปริมาตร 4 มิลลิลิตร และทำการดูดพ่นอาหารเพื่อให้เซลล์หลุดออกจากกันจนเซลล์อยู่ในรูปแขวนลอย จากนั้นดูดเซลล์มาทำการย้อมสีด้วย trypan blue แล้วทำการนับจำนวนและคำนวณเซลล์ที่มีชีวิต ใช้สูตรดังนี้

จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต/มิลลิลิตร = จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเฉลี่ย x 10^4 x ค่าความเจือจาง

ค่าความเจือจาง = (ปริมาตรเซลล์ที่ดูดออกมานับ + ปริมาตรสีย้อม)/ปริมาตรเซลล์ที่ดูดออกมานับ

จากนั้นก็ทำการปลูกถ่ายเซลล์จากขวดเพาะเลี้ยงเดิม โดยปลูกถ่ายเซลล์ที่ความเข้มข้น 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 4 มิลลิลิตรต่อ 1 ขวดเพาะเลี้ยง

โดยคำนวณได้จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

และนำไปบ่มในตู้บ่ม 37 องศา ที่สภาวะที่มีคาร์บอน 5% ให้เพียงพอต่อการทดสอบพร้อมใช้งาน

3.6.2 การเตรียม stock

3.6.2.1 เตรียม stock ของสารสกัด นำสารสกัดหยาบแต่ละส่วนที่ใช้ทดสอบมาละลายใน DMSO โดยให้สารสกัดมีความเข้มข้น 1,000,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5-10 มิลลิลิตร (ความเข้มข้นสุดท้ายของ DMSO ไม่ควรเกิน 1%) ทำการกรองแต่ละส่วนด้วยแผ่นกรองที่มีรูพรุนขนาด 0.2 ไมครอน และเก็บส่วนที่กรองได้ใส่ขวด vial ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นหุ้มด้วยแผ่นฟรอยด์ เพื่อป้องกันการทำปฏิกิริยากับแสง แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อรอการใช้งาน

3.6.2.2 เตรียมสารสกัดแต่ละส่วนที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยนำ stock ของสารสกัด มาเจือจางครั้งละ 10 เท่า ด้วยอาหาร DMEM โดยให้ได้ความเข้มข้นเป็น 10,000, 1,000, 100, 10, 1และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่ควรมี DMSO เข้มข้นเกิน 1% ของสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.3 การทดสอบ

โดยทำการปลูกเซลล์ MCF-7 ในจานเพาะเลี้ยงชนิด 96 หลุม หรือ 96-well plate โดยกำหนดให้เซลล์เริ่มต้น มีเซลล์มีชีวิต = $1x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำจานเพาะเลี้ยงเซลล์ออกจากตู้บ่ม ทำการดูดอาหารออกและเติมสารสกัดแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นปิเปตสารละลาย MTT ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ลงไปในแต่ละหลุม ปริมาตร 10 ไมโครลิตรต่อหลุม แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วดูดสารละลาย MTT ทิ้ง เติมสารละลาย DMSO : 10% SDS เพื่อละลายผลึกฟอร์มาซานลงไปปริมาตร 150 ไมโครลิตรต่อหลุม จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ก่อนวัดค่าต้องตั้งโปรแกรมเขย่าเป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้ผลึกฟอร์มาซานละลายทั้งหมด แล้วบันทึกค่าและคำนวณหาค่า % cytotoxicity ของแต่ละความเข้มข้น ดังนี้

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

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม (หลุมที่มีเซลล์ในอาหารเพาะเลี้ยง)

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่มีเซลล์ในสารสกัดหยาบแต่ละความเข้มข้น

โดยทั้งค่า A และ B จะต้องลบด้วยค่าการดูดกลืนแสงของ Blank ก่อนนำไปคำนวณดังสมการข้างต้น

สำหรับการประเมินค่า CC_{50} ของสารสกัดที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ ทำได้โดยการเขียนกราฟระหว่างค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่นำมาทดสอบเทียบกับร้อยละความเป็นพิษของเซลล์ที่ได้จากการคำนวณ จากนั้นจะหาค่า CC_{50} โดยทำการวิเคราะห์จากกราฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีที่มีในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ

4.1.1 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยวิธี Folin-Ciocalteu's reagent

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยวิธี Folin-Ciocalteu's reagent ที่มีในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ คือ ผลทุเรียนเทศ ใบทุเรียนเทศ และกิ่งทุเรียนเทศ ที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และทำการเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค

เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากข้อ 3.3.1 มาเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค และคำนวณหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ได้ผลของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดหยาบของส่วนผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศ ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในสารสกัดหยาบของผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศ

สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE / g Crude extract)
ผลทุเรียนเทศ	$258.25^{b} \pm 19.09$
ใบทุเรียนเทศ	$328.00^{a} \pm 36.23$
กิ่งทุเรียนเทศ	$169.25^{c} \pm 26.96$

หมายเหตุ เมื่ออักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาข้อมูลในตารางที่ 4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ในสารสกัดหยาบจากส่วนผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศที่ใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในแต่ละส่วนของทุเรียนเทศมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยสารสกัดหยาบจากส่วนของใบของทุเรียนเทศมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด เทียบเท่ากับ 328.00 มิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัดหยาบ รองลงมาคือสารสกัดจากส่วนของผล และกิ่งของทุเรียนเทศเทียบเท่ากับ 258.25 และ 169.25 มิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัดหยาบ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gavamukulya และคณะ (2014) ได้วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในใบทุเรียนเทศที่สกัดด้วยน้ำ และสกัดด้วยแอลกอฮอล์ พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมดในใบทุเรียนเทศที่สกัดด้วยน้ำ และสกัดด้วยแอลกอฮอล์ เทียบเท่ากับ 683.69 และ 372.92 มิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัดหยาบ ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดจากใบทุเรียนเทศที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดใกล้เคียง กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่พบในสารสกัดหยาบจากใบทุเรียนเทศที่ได้จากการทดลอง

4.1.2 วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ โดยวิธี Aluminum chloride colorimetry

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ โดยวิธี Aluminum chloride colorimetry ที่มีในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ คือ ผลทุเรียนเทศ ใบทุเรียนเทศ และกิ่งทุเรียนเทศ ที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และทำการเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ที่มีในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศกับกราฟมาตรฐานของควอซิทิน

เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากข้อ 3.3.2 มาเทียบกับกราฟมาตรฐานของควอซิทิน และคำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ทั้งหมด ได้ผลของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ในสารสกัดหยาบของส่วนผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศ ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากส่วนผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศ

สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ	ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (mg QE /g Crude extract)
ผลทุเรียนเทศ	$70.44^{b} \pm 60.62$
ใบทุเรียนเทศ	$63.40^{b} \pm 4.49$
กิ่งทุเรียนเทศ	$160.44^{a} \pm 38.91$

หมายเหตุ เมื่ออักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาข้อมูลในตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ที่มีในสารสกัดหยาบจากส่วนผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศที่ใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย พบว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่มีในผล และใบของทุเรียนเทศมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับสารสกัดในส่วนของกิ่ง โดยสารสกัดหยาบจากส่วนของกิ่งของทุเรียนเทศมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุดเทียบเท่ากับ 160.44 มิลลิกรัมควอซิทินต่อกรัมสารสกัดหยาบ รองลงมาคือสารสกัดจากส่วนของผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และใบของทุเรียนเทศเทียบเท่ากับ 70.44 และ 63.40 มิลลิกรัมควอซิทินต่อกรัมสารสกัดหยาบ ตามลำดับ

วาทินี และคณะ (2559) ได้วิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์เบื้องต้นในสารสกัดจากทุเรียนเทศ โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิดคือ ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตด และเมทานอล พบว่ามีสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดจากเปลือกต้นทุเรียนเทศ ที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศที่ได้จากการทดลอง พบว่าสารสกัดจากส่วนกิ่งของทุเรียนเทศมีสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุดสอดคล้องกับที่พบสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดจากเปลือกต้นทุเรียนเทศที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน

4.1.3 วิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน โดยวิธี pH differential method

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานิน โดยวิธี pH differential method ที่มีในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ คือ ผลทุเรียนเทศ ใบทุเรียนเทศ และกิ่งทุเรียนเทศ ที่มีความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากข้อ 3.3.3 ไปคำนวณหาปริมาณสารแอนโทไซยานิน

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสารสกัดหยาบของผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศ

สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ	ปริมาณสารแอนโทไซยานิน (mg Cyanidin-3-glucoside/l of Crude extract)
ผลทุเรียนเทศ	$2.58^{ab} \pm 2.67$
ใบทุเรียนเทศ	$1.74^{b} \pm 0.80$
กิ่งทุเรียนเทศ	$6.41^{a} \pm 4.17$

หมายเหตุ เมื่ออักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาข้อมูลในตารางที่ 4.3 ปริมาณสารแอนโทไซยานิน ในสารสกัดหยาบจากส่วนผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศที่ใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย พบว่าปริมาณสารแอนโทไซยานินที่มีในส่วนของกิ่ง และใบทุเรียนเทศมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยสารสกัดหยาบจากส่วนของกิ่งของทุเรียนเทศมีปริมาณสารแอนโทไซยานินสูงสุดเทียบเท่ากับ 6.41 มิลลิกรัม Cyanidin-3-glucoside ต่อลิตรสารสกัดหยาบ รองลงมาคือสารสกัดจากส่วนของผล และใบของทุเรียนเทศเทียบเท่ากับ 2.58 และ 1.74 มิลลิกรัม Cyanidin-3-glucoside ต่อลิตรสารสกัดหยาบ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุสรา (2554) ได้วิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินในสารสกัดจากผลน้อยหน่าพันธุ์หนังทอง กำแพงเพชรซึ่งเป็นพืชวงศ์เดียวกับทุเรียนเทศ พบว่ามีปริมาณสารแอนโทไซยานิน 48.45 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัดหยาบ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานินจากสารสกัดจากผลน้อยหน่าพันธุ์หนังทองกำแพงเพชรมีปริมาณสารแอนโทไซยานินแตกต่างจากปริมาณสารแอนโทไซยานินที่พบในสารสกัดหยาบจากผลทุเรียนเทศที่ได้จากการทดลอง เนื่องจากหน่วยที่ใช้วัดปริมาณสารแอนโทไซยานินแตกต่างกัน

4.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH scavenging assay

จากการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH scavenging assay ในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ คือ ผลทุเรียนเทศ ใบทุเรียนเทศ และกิ่งทุเรียนเทศ ที่มีความเข้มข้น 0.625, 1.25, 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้วิตามินอีเป็นสารละลายมาตรฐาน และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากข้อ 3.4 มาคำนวณ % DPPH Reduction ได้ผลดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระ (% DPPH Reduction) ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ เมื่อเปรียบเทียบในแต่ละความเข้มข้น

ระดับความเข้มข้น (mg/ml)	ค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระ (% DPPH Reduction) ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ		
	ผล	ใบ	กิ่ง
0.625	$40.22^{Ad} \pm 3.01$	$25.01^{Bf} \pm 4.27$	$24.82^{Bd} \pm 8.88$
1.25	$50.27^{Ac} \pm 5.32$	$41.45^{Be} \pm 4.31$	$41.91^{Bc} \pm 3.66$
2.5	$74.43^{Ab} \pm 7.99$	$49.88^{Cd} \pm 3.52$	$65.74^{Bb} \pm 1.77$
5	$82.14^{Aa} \pm 1.67$	$59.30^{Cc} \pm 3.80$	$77.83^{Ba} \pm 1.73$
10	$84.67^{Aa} \pm 2.29$	$64.33^{Bb} \pm 1.79$	$82.86^{Aa} \pm 1.21$
Alpha-tocopherol (5mM)	$82.98^{a} \pm 2.77$	$82.98^{a} \pm 2.77$	$82.98^{a} \pm 2.77$

หมายเหตุ เมื่ออักษรที่เหมือนกันแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งตัวอักษร A, B และ C พิจารณาในแถวเดียวกัน และอักษร a, b, c, d, e และ f พิจารณาในคอลัมน์เดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาข้อมูลในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.1 ค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระ (% DPPH Reduction) ในสารสกัดหยาบจากส่วนผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศที่ใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย พบว่าค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระ ในแต่ละส่วนของทุเรียนเทศที่ระดับความเข้มข้น 0.625, 1.25, 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

พบว่าความสามารถในการจับสารอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนผล ใบ และ กิ่งของทุเรียนเทศ มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ โดยที่ร้อยละการจับอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้นเมื่อสารสกัดหยาบมีความเข้มข้นสูงขึ้น โดยที่ค่าร้อยละการจับอนุมูลอิสระของสารสกัดจากแต่ละส่วนของทุเรียนเทศจะสูงสุดที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนของผลทุเรียนเทศมีค่าร้อยละการจับอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ 84.67 รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากส่วนกิ่งของทุเรียนเทศและใบทุเรียนเทศมีค่าร้อยละการจับอนุมูลอิสระ คือ 82.86 และ 64.33 ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของสารสกัดหยาบจากแต่ละส่วนที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน พบว่า ค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบส่วนผลทุเรียนเทศที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มีค่ามากที่สุด ซึ่งแตกต่างจากสารสกัดส่วนอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังตารางที่ 4.4

รูปที่ 4.1 กราฟแสดงค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ค่า IC_{50}ของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ

สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ	ค่า IC_{50} ของการดักจับอนุมูลอิสระ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ผลทุเรียนเทศ	0.97
ใบทุเรียนเทศ	2.90
กิ่งทุเรียนเทศ	1.68

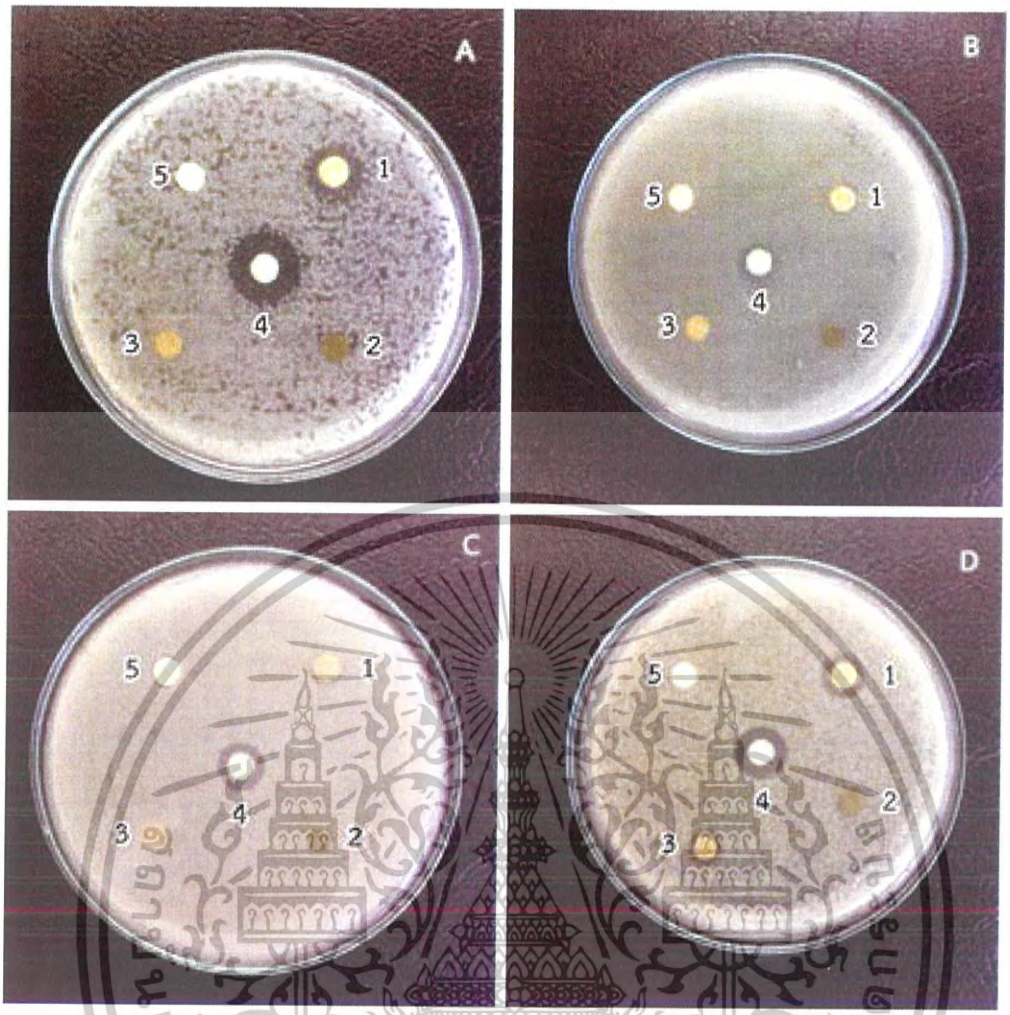
เมื่อนำค่าร้อยละของการดักจับอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากส่วน ผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศมาหาค่า IC_{50} จากกราฟ (รูปที่ 4.1) พบว่าสารสกัดจากส่วนผลทุเรียนเทศให้ค่า IC_{50} ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากใบ และกิ่งของทุเรียนเทศ ตามลำดับ

Gavamukulya และคณะ (2014) ได้ทำการวัดค่าอนุมูลอิสระโดยการวัด IC_{50} ของสารสกัดจากใบทุเรียนเทศที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์และสารสกัดจากใบทุเรียนเทศที่สกัดด้วยน้ำ มีค่าเท่ากับ 2.0456 และ 0.9077 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบค่า IC_{50} จากสารสกัดจากใบทุเรียนเทศที่สกัดด้วยแอลกอฮอล์มีค่าใกล้เคียง กับค่า IC_{50} ของสารสกัดหยาบจากใบทุเรียนเทศที่ได้จากการทดลองที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95

4.3 การทดสอบผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธี Disc Diffusion test

จากการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธี Disc Diffusion test ในการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากส่วนผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศ ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเชื้อที่ใช้ทดสอบได้แก่ *Bacillus cereus* TISTR 1466, *Escherichia coli* TISTR 780, *Salmonella typhimurium* TISTR 292, *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781, *Staphylococcus aureus* TISTR 1466, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228 และ *Yersinia enterocolitica* ATCC 9610 ได้ผลดังรูปที่ 4.2 , รูปที่ 4.3 และตารางที่ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 ลักษณะการเกิด**บริเวณที่ยับยั้งเชื้อ** *B. cereus* (A) , *Ps. aeruginosa* (B) , *S. aureus* (C) และ *Y. Enterocolitica* (D) ที่ทดสอบด้วยสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และยาปฏิชีวนะ Gentamicin

หมายเหตุ หมายเลข 1 : สารสกัดจากส่วนผลทุเรียนเทศ

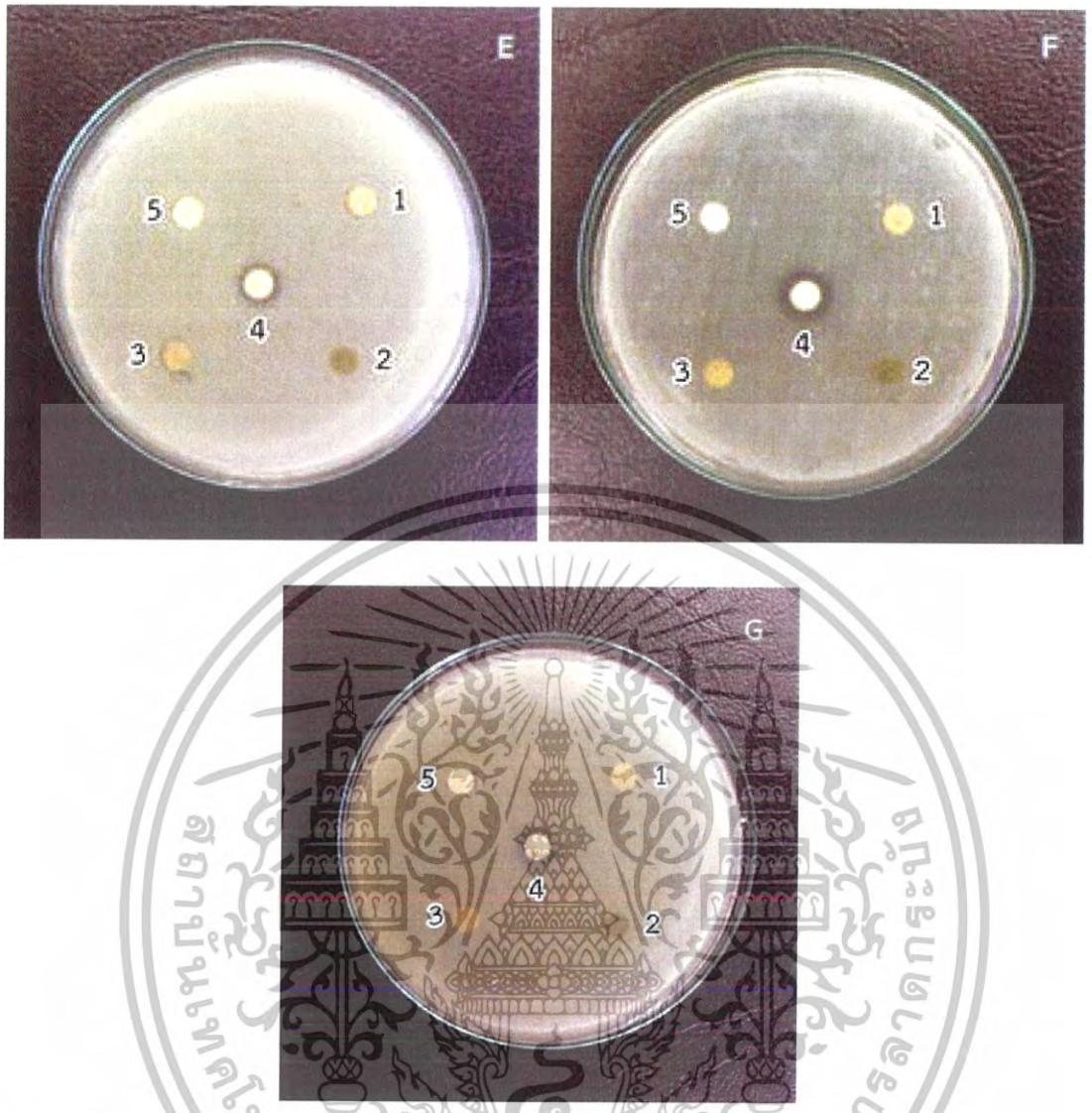
หมายเลข 2 : สารสกัดจากส่วนใบทุเรียนเทศ

หมายเลข 3 : สารสกัดจากส่วนกิ่งทุเรียนเทศ

หมายเลข 4 : ยาปฏิชีวนะ Gentamicin

หมายเลข 5 : เอทานอลร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ลักษณะการเกิดบริเวณที่ยับยั้งเชื้อ *E. coli* (E), *S. typhimurium* (F) และ *S. epidermidis* (G) ที่ทดสอบด้วยสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin

หมายเหตุ หมายเลข 1 : สารสกัดจากส่วนผลทุเรียนเทศ

หมายเลข 2 : สารสกัดจากส่วนใบทุเรียนเทศ

หมายเลข 3 : สารสกัดจากส่วนกิ่งทุเรียนเทศ

หมายเลข 4 : ยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin

หมายเลข 5 : เอทานอลร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์รอบๆ แผ่นทดสอบ

เชื้อจุลินทรีย์	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์รอบๆแผ่นทดสอบ (มิลลิเมตร)					
	Gentamicin	Cyproflox cacin	สารสกัดจากผล	สารสกัดจากใบ	สารสกัดจากกิ่ง	เอทานอลร้อยละ 95
B. cereus	19.64^{a}±0.56	-	14.58^{a}±0.65	6.00^{a}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{a}±0.00
Ps. aeruginosa	7.87^{d}±0.73	-	6.00^{c}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{a}±0.00
S. aureus	10.46^{c}±0.55	-	6.00^{c}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{a}±0.00
Y. enterocolitica	15.00^{b}±0.54	-	13.22^{b} ±0.74	6.00^{a}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{a}±0.00
E. coli	-	7.32^{c}±0.69	6.00^{c}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{a}±0.00
S. epidermidis	-	8.09^{b}±0.15	6.00^{c}±0.00	6.00^{a}±0.00	6.00^{b}±0.00	6.00^{a}±0.00
S. typhimurium	-	11.12^{a}±0.42	6.00^{c} ±0.00	6.00^{a}±0.00	6.82^{a}±0.42	6.00^{a}±0.00

หมายเหตุ เมื่ออักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

* ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.00 มิลลิเมตร คือ ไม่มีการเกิดการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

เมื่อพิจารณาตารางที่ 4.6 พบว่ายาปฏิชีวนะ Gentamicin, Ciprofloxacin และสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศมีผลการยับยั้งหรือการต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยยาปฏิชีวนะ Gentamicin ที่ได้ทำการทดสอบกับเชื้อ *B. cereus, Ps. aeruginosa, S. aureus* และ*Y. enterocolitica* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งเชื้อเท่ากับ 19.64, 7.87, 10.46 และ 15.00 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin ที่ได้ทำการทดสอบกับเชื้อ *E. coli, S. typhimurium* และ *S. epidermidis* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งเชื้อ เท่ากับ 7.32, 8.09 และ 11.12 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดหยาบจากส่วนของผลทุเรียนเทศมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. cereus* และ *Y. enterocolitica* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งเชื้อ เท่ากับ 14.58 และ 13.22 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดหยาบจากส่วนของกิ่งทุเรียนเทศมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ยับยั้งเชื้อเท่ากับ 6.82 มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดหยาบจากส่วนใบของทุเรียนเทศและเอทานอลร้อยละ 95 ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งหรือต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 7 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งเชื้อ พบว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งเชื้อของยาปฏิชีวนะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gentamicin, Ciprofloxacin และสารสกัดหยาบจากส่วนผลทุเรียนเทศ, กิ่งทุเรียนเทศที่ทดสอบกับเชื้อทั้ง 7 ชนิดมีความแตกต่างอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นสารสกัดหยาบจากส่วนของใบทุเรียนเทศและเอทานอลร้อยละ 95 ที่ทดสอบกับเชื้อทั้ง 7 ชนิดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 4.6 พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจาก เชื้อ *B. cereus* และ *Y. enterocolitica* ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดหยาบจากส่วนผลของทุเรียนเทศได้ดีกว่าสารสกัดหยาบจากส่วนอื่นของทุเรียนเทศ และพบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนกิ่งของทุเรียนเทศสามารถยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* ได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ส่วนเชื้อ *S. aureus, S. epidermidis, Ps. aeruginosa* และ *E. coli* ไม่ถูกยับยั้งโดยสารสกัดหยาบจากทุกส่วนของทุเรียนเทศ

จากผลการยับยั้งเชื้อ *B. cereus* และ *Y. enterocolitica* ด้วยสารสกัดหยาบจากส่วนผลของทุเรียนเทศที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นได้ทำการลดความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากส่วนผลของทุเรียนเทศเป็น 25 และ 12.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรแล้วทำการตรวจสอบผล พบว่าไม่มีการยับยั้งของสารสกัด

วาทินี และคณะ (2559) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์การต้านแบคทีเรียของทุเรียนเทศ โดยวิธี Disc Diffusion โดยใช้แบคทีเรียแกรมบวก 2 ชนิด คือ *Staphylococus aureus* และ *Bacillus subtilis* ส่วนแบคทีเรียแกรมลบใช้แบคทีเรีย 2 ชนิด คือ *Escherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* พบว่ามีการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวได้แก่ *Bacillus subtilis* ด้วยสารสกัดจากเปลือกต้นของทุเรียนเทศที่สกัดด้วยเมทานอลเท่านั้น โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งเชื้อ 6.66 มิลลิเมตร เมื่อเทียบกับยาปฏิชีวนะ Chloramphenical เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองพบว่ามีการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *B. cereus* และ *Y. enterocolitica* ด้วยสารสกัดผลของทุเรียนเทศที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งเชื้อ เท่ากับ 14.58 และ 13.22 มิลลิเมตร ตามลำดับ และยังพบว่ามีการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. typhimurium* ด้วยสารสกัดกิ่งของทุเรียนเทศที่สกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งเชื้อ เท่ากับ 6.82 มิลลิเมตร เนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดแตกต่างกัน และส่วนของทุเรียนเทศที่เลือกใช้มีหลายส่วน ซึ่งแต่ละส่วนมีสารพฤกษเคมีต่างกัน ทำให้ฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แตกต่างกัน หรือการเลือกใช้เชื้อจุลินทรีย์ไม่ตรงกับเชื้อที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรค ทำให้ค่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 โดยวิธี MTT assay

จากการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 โดยวิธี MTT assay ในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ คือ ผลทุเรียนเทศ ใบทุเรียนเทศ และกิ่งทุเรียนเทศ ที่มีความเข้มข้น 0.1, 1, 10, 100, 1000 และ 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และทำการละลายผลึกฟอร์มาซานด้วย DMSO จากนั้นนำวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากข้อ 3.6 มาคำนวณค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ MCF-7 ในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของทุเรียนเทศ

ระดับความเข้มข้น (µg/ml)	ค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7		
	สารสกัดหยาบจากผล	สารสกัดหยาบจากใบ	สารสกัดหยาบจากกิ่ง
0.1	8.67^{f} ±3.19	35.78^{f} ±0.72	5.00^{f} ±3.56
1	27.98^{e} ±4.38	45.03^{e} ±5.75	17.85^{e} ±7.98
10	38.86^{d} ±3.52	56.67^{d} ±5.69	26.00^{d} ±3.37
100	47.61^{c} ±2.06	66.21^{c} ±3.53	38.38^{c} ±6.84
1000	58.32^{b} ±2.86	73.73^{b} ±2.28	50.89^{b} ±4.22
10000	70.66^{a} ±2.12	82.73^{a} ±4.09	60.20^{a} ±5.74

หมายเหตุ เมื่ออักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงถึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

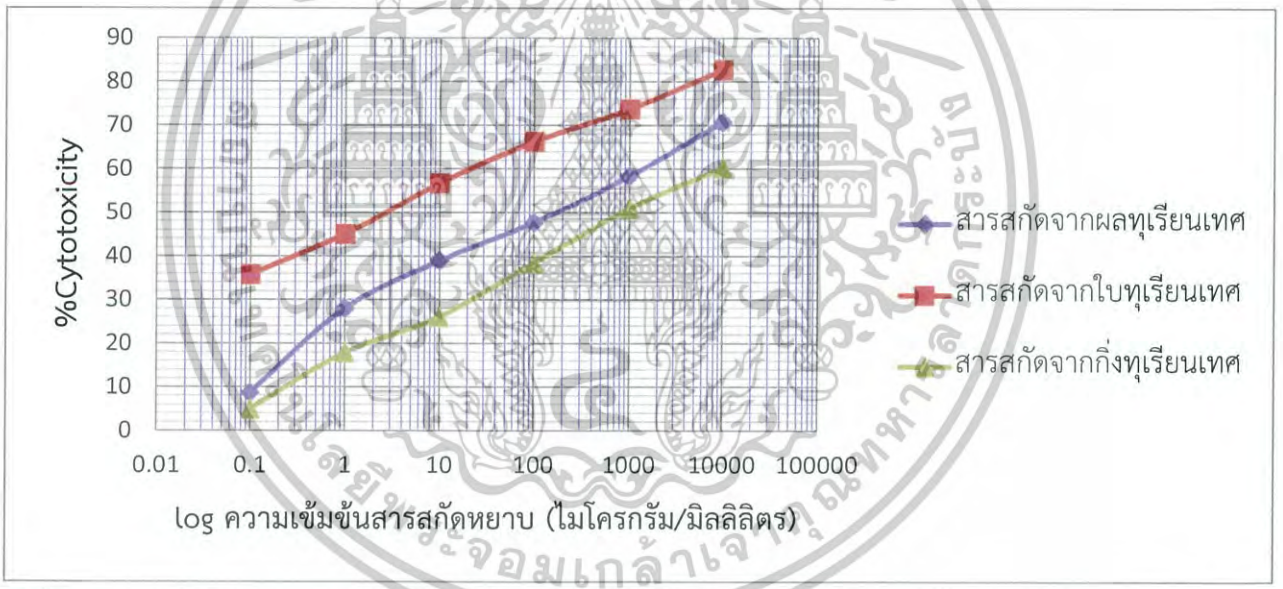
เมื่อพิจารณาตารางที่ 4.7 ค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ (% Cytotoxicity) ในสารสกัดหยาบจากส่วนผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศที่ใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย พบว่าค่าร้อยละของความเป็นพิษต่อเซลล์ ในแต่ละส่วนของทุเรียนเทศที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 1, 10, 100, 1000 และ 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากทุเรียนเทศสัมพันธ์กับค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ และยังพบว่าค่าร้อยละความมีชีวิตรอดของหลุมควบคุม (เซลล์ที่เลี้ยงในอาหาร RPMI 1640) เท่ากับ 97.28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ค่า CC_{50}ของความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของทุเรียนเทศ

สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ	ค่า CC_{50} ของความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ผลทุเรียนเทศ	151.85
ใบทุเรียนเทศ	2.74
กิ่งทุเรียนเทศ	1072.34

เมื่อนำค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ของสารสกัดหยาบจากส่วน ผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศ มาหาค่า CC_{50} จากกราฟ (รูปที่ 4.4) พบว่าค่า CC_{50} ของสารสกัดหยาบจากส่วน ผล ใบ และกิ่งทุเรียนเทศมีค่าดังตารางที่ 4.8 โดยพบว่าสารสกัดจากส่วนใบทุเรียนเทศให้ค่า CC_{50} สูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากผล และกิ่งของทุเรียนเทศ ตามลำดับ



รูปที่ 4.4 กราฟแสดงค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 ของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ

Prasasti และคณะ (2012) ได้ทำการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยใช้เซลล์ T47D ซึ่งเป็นเซลล์มะเร็งเต้านม โดยใช้วิธี MTT assay และใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากใบทุเรียนเทศที่ 6.25, 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า มีค่า CC_{50} เท่ากับ 17.149 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับค่า CC_{50} ของสารสกัดจากใบทุเรียนเทศที่ได้จากการทดลองที่ ซึ่งมีค่า CC_{50} เท่ากับ 2.74 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งค่า CC_{50} ที่ได้จากการทดลองมีความเป็นพิษสูงกว่าเนื่องจากค่า CC_{50} น้อยกว่าค่า CC_{50} จากงานวิจัยของ Prasasti และคณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการวิเคราะห์หาสารพฤกษเคมีที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ เมื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนของใบทุเรียนเทศมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดเทียบเท่ากับ 328.00 มิลลิกรัมเทียบเท่ากับกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัดหยาบ รองลงมาคือสารสกัดจากส่วนของผล และกิ่งของทุเรียนเทศ ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ พบว่าโดยสารสกัดหยาบจากส่วนของกิ่งของทุเรียนเทศมีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุดเทียบเท่ากับ 160.44 มิลลิกรัมควอซิทินต่อกรัมสารสกัดหยาบ รองลงมาคือสารสกัดจากส่วนของผล และใบของทุเรียนเทศ ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานินที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนของกิ่งของทุเรียนเทศมีปริมาณสารแอนโทไซยานินสูงสุดเทียบเท่ากับ 6.41 มิลลิกรัมของCyanindin-3-glucoside ต่อลิตรสารสกัดหยาบ รองลงมาคือสารสกัดจากส่วนของผล และใบของทุเรียนเทศ ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH scavenging assay ที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ พบว่าค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ โดยค่าร้อยละการจับอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดหยาบสูงขึ้น จากการทดลองหาค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระที่มีอยู่สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศที่ความเข้มข้น 0.625, 1.25, 2.5, 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศมีค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระสูงสุดที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสารสกัดหยาบจากผลทุเรียนเทศจะมีค่าร้อยละการดักจับอนุมูลอิสระที่มากสุดและมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.97 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดจากส่วนของกิ่ง และสารสกัดจากส่วนของใบของทุเรียนเทศ ตามลำดับ

จากการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธี Disc Diffusion test ในการทดสอบฤทธิ์เบื้องต้นที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากส่วนผล ใบ และกิ่งของทุเรียนเทศ โดยเชื้อที่ใช้ทดสอบได้แก่ *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* และ *Yersinia enterocolitica* ของสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบจากส่วนของผลทุเรียนเทศมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *B. cereus* และ *Y. enterocolitica* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งเชื้อเท่ากับ 14.58 และ 13.22 มิลลิเมตร ตามลำดับ และสารสกัดหยาบจากส่วนของกิ่งทุเรียนเทศมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่ยับยั้งเชื้อเท่ากับ 6.82 มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดหยาบจากส่วนใบของทุเรียนเทศไม่มีฤทธิ์ยับยั้งหรือต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 7 ชนิดที่ทำการทดสอบ

จากการวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 โดยวิธี MTT assay ที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ พบว่าค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ โดยค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดหยาบสูงขึ้น จากการทดลองหาค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ที่มีอยู่สารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศที่ความเข้มข้น 0.1, 1, 10, 100, 1000 และ 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดหยาบจากทุกส่วนของของทุเรียนเทศมีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์สูงสุดที่ความเข้มข้น 10000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยที่สารสกัดจากส่วนใบของทุเรียนเทศมีค่า CC_{50} เท่ากับ 2.74 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือสารสกัดจากส่วนของผล และกิ่งของทุเรียนเทศ ตามลำดับ

<u>ข้อเสนอแนะ</u>

จากการทดลองการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบจากทุเรียนเทศนี้เป็นการศึกษาแค่ในหลอดทดลอง ที่ทดสอบกับเซลล์ไลน์ที่แยกจากสิ่งมีชีวิตเท่านั้น ยังยืนยันไม่ได้ว่าจะปลอดภัยเมื่อนำศึกษาในคน เพราะกลไกการทำงานในเซลล์แตกต่างจากในร่างกายมนุษย์ จึงควรทำการศึกษาในคนให้ชัดเจน เพื่อลดความเสี่ยงและอันตรายในการใช้สารสกัดจากทุเรียนเทศ

ควรมีการศึกษาทดลองเพิ่มเติมในส่วนอื่นๆของทุเรียนเทศ เช่น ราก ดอก เกสร และเมล็ดของทุเรียนเทศ เป็นต้นควรเลือกใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการทดสอบผลการยับยั้งเชื้อ หลายๆตัว เพื่อยืนยันฤทธิ์การต้านเชื้อตามสรรพคุณของทุเรียนเทศ ควรวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์กับเซลล์มะเร็งอื่นๆ เช่น เซลล์มะเร็งตับ เซลล์มะเร็งปากมดลูก เซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวของคน และควรวิเคราะห์สารพฤกษเคมีอื่นๆเพิ่มเติม เช่น อัลคาลอยด์ สเตียรอยด์ คาร์ดิแอคไกลโคไซด์ เทอพีนอยด์ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

นัยนา บุญทวียุวัฒน์. 2546. **ชีวเคมีทางโภชนาการ.**ซิกม่า ดีไซน์กราฟฟิก จำกัด, กรุงเทพฯ

ยอดแต้ว อักษรา. ทุเรียนเทศผลไม้โบราณที่แทบจะถูกลืมไปแล้ว. **ครัว**. ปีที่ 18 ฉบับที่ 214 เมษายน 2555. หน้า 12.

รัตนา บรรเจิดพงศ์ชัย และประพนธ์ วิไลรัตน์. 2538. Apoptosis: กลไกกับการประยุกต์ทางคลินิค.**วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร 3** (2538): 11-15.

วาทินี เสล่ราษฎร์. 2559. การสกัด การตรวจสอบสารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และต้านเชื้อแบคทีเรียของทุเรียนเทศ

หมออาสาแพทย์แผนไทย(นามแฝง).2556. **ทุเรียนเทศสู้มะเร็ง เจ๋งกว่าคีโม**. สำนักพิมพ์ปัญญาชน, กรุงเทพฯ.

อนันต์ สกุลกิม. 2551. อนุมูลอิสระ สารอันตรายต่อสุขภาพและร่างกาย. **ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์**8(1):28-33.

อนุสรา จบศรี. 2554. การวิเคราะห์สารแอนโธไซยานินจากผลน้อยหน่า 16 พันธุ์.

โอภา วัชระคุปต์. 2549. **สารต้านอนุมูลอิสระ.**พี. เอส. พริ้นท์, กรุงเทพฯ.

Ayoola, G. A., Coker, H. A. B., Adesegun, S. A., Adepoju-Bello, A. A., Obaweya, K., Ezennia, E.C., & Atangbayila, T. O. (2008). Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in southwestern Nigeria Tropical. Journal of Pharmaceutical Research, 7(3), 1019-1024.

Champy P, Melot A, Guerineau V, Gleye C, Fall D, Hoglinger GU, et al. Quantification of acetogenins in Annona muricata linked toatypical parkinsonism in Guadeloupe. Movement Disorders 2005;20(12):1628-33.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Eka Prasasti and U. Okeke. 2014. Chemopreventive effect of Annona muricata on DMBA-induced cell proliferation in the breast tissues of female albino mice. **The Egyptian Journal of Medical Human Genetics. 15: 327–334**

Fidianingsih I, Handayani ES.Annona muricata aqueous extract suppresses T47D Breast cancer cell proliferation. Univ Med 2014;33:19-26.

Gavamukulya Y, Abou-Elella E, Wamunyokoli F, AEl-Shemy H. Phytochemical screening, anti-oxidant activity and in vitro anticancer potential of ethanolic and water leaves extracts of Annona muricata (Graviola). Asian Pac J Trop Biomed 2014;4(1):930-9.

Ginda, H., Niky, P. U., & Erly, S. (2014). Study of the antibacterial activities of soursop (Annona muricata) leaves. International Journal of PharmTech Research, 6(2), 575-581.

H.O. Edeoga, D. E. Okwu and B.O Mbaebie. 2005. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology** Vol. 4 (7) : 685-688.

Jaramillo, M. C., Arango, G. J., Gonzalez, M. C., Robledo, S. M., & Velez, I. D. (2000) Cytotoxicity and antileishmanial activity of Annona muricata pericarp. Fitoterapia, 71(2), 183-189.

นพ.สวีเค่อเฉิง. สารต้านอนุมูลอิสระกับโรคมะเร็ง [ออนไลน์]. เข้าถึงข้อมูลได้จาก : http://www.fudacancerthailand.com

บ้านจอมยุทธ. 2543. สารประกอบทางเคมีในพืช [ออนไลน์]. เข้าถึงข้อมูลได้จาก : http://www.baanjomyut.com

วิกิพีเดีย. ทุเรียนเทศ [ออนไลน์]. เข้าถึงข้อมูลได้จาก : https://th.wikipedia.org/wiki/

วิกิพีเดีย. สารต้านอนุมูลอิสระ [ออนไลน์]. เข้าถึงข้อมูลได้จาก : https://th.wikipedia.org/wiki/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การคำนวณและการเตรียมสารละลายในการทดลอง

การเตรียมสารละลาย DPPH ใน Absolute Ethanol

เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 0.00789 กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

หมายเหตุ 1.) ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนการใช้งาน

2.) คำนวณความเข้มข้นของ DPPH (น้ำหนักโมเลกุลของ DPPH = 394.33 กรัม)

DPPH 1 โมลาร์ มีมวลโมเลกุล 394.33 กรัม

ต้องการ DPPH 0.2 มิลลิโมลาร์ ต้องชั่ง DPPH $\frac{0.2\times10^{-3}\times394.33}{1}$ =0.078 กรัมใน1 ลิตร

เตรียมสารละลาย DPPH 100 มิลลิลิตร จะต้องชั่ง DPPH $\frac{100\times0.078}{1000}$ = 0.0078 กรัม

การเตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามิน อี หรือ Alpha-tocopherol

เตรียมสารละลาย vit E ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง vit E กรัม ละลายใน Absolute Ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

หมายเหตุ 1.) ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนการใช้งาน

2.) คำนวณความเข้มข้นของ vit E (น้ำหนักโมเลกุลของ vit E = 430.71 กรัม)

Vit E 1 โมลาร์ มีมวลโมเลกุล 430.71 กรัม

ต้องการ vit E 5 มิลลิโมลาร์ ต้องชั่ง Vit E $\frac{5\times10^{-3}\times430.71}{1}$ = 2.153 กรัมใน1 ลิตร

เตรียมสารละลาย vit E 100 มิลลิลิตร จะต้องชั่ง vit E $\frac{100\times2.153}{1000}$ = 0.2153 กรัม

การเตรียมสารละลาย Folin-cicolteu's reagent

เจือจาง Folin-cicolteu's reagent ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยขวดปรับปริมาตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารละลาย Sodium carbonate 7.5%

ชั่ง Sodium carbonate 7.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร

การเตรียมยาปฏิชีวนะ Gentamicin

เตรียมยา Gentamicin จาก Stock ที่มีความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$$80\ mg/ml \times V_1 = 1\ mg/ml \times 1\ ml$$

$$V_1 = 0.0125\ ml$$

ปิเปตยา Gentamicin จาก Stock ปริมาตร 0.0125 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 0.9875 มิลลิลิตร จะได้ยาGentamicin ที่มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางให้ได้ความเข้นข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การเตรียมยาปฏิชีวนะ Cyprofloxacin

เตรียมยา Cyprofloxacin จาก Stock ที่มีความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$$200\ mg/ml \times V_1 = 1\ mg/ml \times 1\ ml$$

$$V_1 = 0.005\ ml$$

ปิเปตยา Cyprofloxacin จาก Stock ปริมาตร 0.005 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 0.995 มิลลิลิตร จะได้ยา Cyprofloxacin ที่มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การเตรียมสารละลาย MTT

เตรียมสารละลาย MTT ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการชั่งสาร MTT 50 มิลลิกรัม ละลายใน PBS 10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ KCl

เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ KCl ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ โดยชั่ง KCl 0.1863 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

หมายเหตุ 1.) ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนการใช้งาน

2.) คำนวณความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ KCl (น้ำหนักโมเลกุลของ KCl = 74.55 กรัม)

KCl 1 โมลาร์ มีมวลโมเลกุล 74.55 กรัม

ต้องการ KCl 0.025 โมลาร์ ต้องชั่ง KCl $\frac{0.025 \times 74.55}{1}$ = 1.863 กรัมใน1 ลิตร

เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ KCl 100 มิลลิลิตร จะต้องชั่ง KCl $\frac{100 \times 1.863}{1000}$ = 0.1863 กรัม

การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ CH_3COONa

เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ CH_3COONa ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ โดยชั่ง CH_3COONa 3.2812 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

หมายเหตุ 1.) ควรเตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนการใช้งาน

2.) คำนวณความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ CH_3COONa (น้ำหนักโมเลกุลของ CH_3COONa = 82.033 กรัม)

CH_3COONa 1 โมลาร์ มีมวลโมเลกุล 74.55 กรัม

ต้องการ CH_3COONa 0.025 โมลาร์ต้องชั่งCH_3COONa $\frac{0.4 \times 82.033}{1}$ = 32.812 กรัมใน1 ลิตร

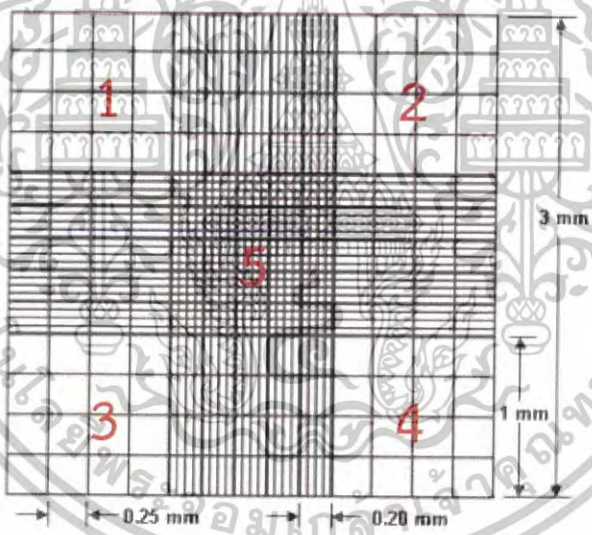
เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์CH_3COONa 100 มิลลิลิตร ต้องชั่ง $\frac{100 \times 32.812}{1000}$ = 3.2812 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การใช้ Hemacytometer

การนับจำนวนเซลล์ที่มีความจำเป็นสำหรับการเพาะเลี้ยงเซลล์ เพราะจะทำให้เราทราบจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้นหรือลดลง ทำให้ทราบจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและจำนวนเซลล์ตายได้ มีประโยชน์ในการศึกษาด้านต่างๆ เช่น ศึกษาการเจริญของเซลล์ การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ การปรับปรุงสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ เป็นต้น การตรวจหาจำนวนเซลล์ในที่นี้ใช้วิธีการย้อมเซลล์ด้วยสี ทริปแพนบลู (Trypan Blue) ซึ่งสีชนิดนี้ไม่สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปภายในเซลล์ที่มีชีวิตได้ แต่ถ้าเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์ที่ตายแล้ว เยื่อหุ้มเซลล์จะขาดคุณสมบัติและยอมให้สารบางอย่างผ่านเข้าออกเซลล์ได้ ดังนั้นจึงทำให้เซลล์ที่ตายจะติดสีฟ้าหรือสีน้ำเงินของสีทริปแพนบลู (Trypan Blue)



รูปลักษณะการแบ่งช่องแต่ละช่องของฮีมาไซโตมิเตอร์

การนับเซลล์จะทำโดยสังเกตเซลล์ที่มีชีวิตที่ไม่ติดสีของสีทริปแพนบลู และเซลล์ตายที่ติดสีน้ำเงินของสีทริปแพนบลู โดยจะต้องนับจำนวนเซลล์มีชีวิตและเซลล์ที่ตายไปพร้อมๆกัน และนับทั้งหมด 5 ช่องใหญ่ คือ 1 2 3 4 และ 5 ตามลำดับ เมื่อทำการนับครบทุกช่องแล้วสามารถนำมาคำนวณหาปริมาณเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตร ได้จากสมการ

จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต/มิลลิลิตร = จำนวนเซลล์มีชีวิตเฉลี่ย $\times 10^4 \times$ ระดับความเจือจาง

ค่าความเจือจาง = (ปริมาตรเซลล์ที่ดูดออกมานับ + ปริมาตรสีย้อม)/ปริมาตรเซลล์ที่ดูดออกมานับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ้าต้องการปลูกเซลล์ตั้งต้นจากขวดเพาะเลี้ยงเดิมไปยังขวดเพาะเลี้ยงใหม่ให้มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นและปริมาตรตามต้องการ สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

โดยที่ ; C_1 คือ จำนวนเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตรที่มี

C_2 คือ จำนวนเซลล์มีชีวิตต่อมิลลิลิตรที่ต้องการ

V_1 คือ ปริมาตรที่ต้องใช้

V_2 คือ ปริมาตรที่ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

อาหารเลี้ยงเชื้อและอาหารเลี้ยงเซลล์

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Mueller Hinton Agar (MHA)

เป็นอาหารสำเร็จรูป ใช้ในปริมาณ 38 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

Beef infusion	300	กรัม
Casamino Acid	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Agar	17	กรัม

2. Nutrient Agar (NA)

เป็นอาหารสำเร็จรูป ใช้ในปริมาณ 13 กรัมต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Agar	15	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรอาหารเลี้ยงเซลล์

RPMI 1640

ส่วนประกอบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	RPMI 1640
$Ca(NO_3).4H_2O$	100.00
KCl	400.00
$MgSO_4$	48.84
NaCl	6,000.00
$NaHCO_3$	2,000.00
$NaH_2PO_4.H_2O$	800.00
D-Glucose	2,000.00
Phenol Red	5.00
Glutathione	1.00
L-Arginine HCl	200.00 (HCl free)
L-Aspartic acid	20.00
L-Asparagine	50.00 (Free base)
L-Cystine 2HCl	65.00
L-Glutamic acid	20.00
L-Glutamine (acid)	300.00
Glycine	10.00
L-Histidine HCl	15.00
L-Hydroxyproline	20.00
L-Isoleucine	50.00
L-Leucine	50.00
L-Lysine	40.00
L-Methionine	15.00
L-Phenylalanine	15.00
L-Proline	20.00
L-Serine	30.00
L-Threonine	20.00
L-Thryptophan	5.00
L-Thyrosine	19.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนประกอบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	RPMI 1640
L-Valine	20.00
Biotin	0.20
D-CaPantothenate	0.25
Choline chloride	3.00
Folic acid	1.00
I-Isonitol	35.00
Niacinamide	1.00
Para-aminobenzoic acid	1.00
Pyridoxal HCl	1.00
Riboflavin	0.20
Thiamin HCl	1.00
Vitamin B12	0.005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ข้อมูลผลการทดลอง

การวิเคราะห์ปริมาณสารพฤกษเคมีในสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศ

1. วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยวิธี Folin-Ciocalteu reagent

ค่า OD 765 nm	ผล	ใบ	กิ่ง
ซ้ำ 1	0.077	0.087	0.054
ซ้ำ 2	0.076	0.097	0.056
ซ้ำ 3	0.079	0.079	0.063
ซ้ำ 4	0.074	0.086	0.065
ซ้ำ 5	0.071	0.088	0.055
ซ้ำ 6	0.080	0.096	0.068
ซ้ำ 7	0.082	0.098	0.057
ซ้ำ 8	0.081	0.098	0.063

2วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ โดยวิธี Aluminum chloride colorimetry

	ผล	ใบ	กิ่ง
ซ้ำ 1	0.753	0.746	0.868
ซ้ำ 2	0.812	0.749	0.844
ซ้ำ 3	0.703	0.754	0.799

3.วิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน โดยวิธี pH differential method

ค่า OD	KCl			CH_3COONa		
510 nm	ผล	ใบ	กิ่ง	ผล	ใบ	กิ่ง
ซ้ำ 1	0.070	0.038	0.071	0.066	0.032	0.053
ซ้ำ 2	0.075	0.037	0.066	0.066	0.032	0.055
ซ้ำ 3	0.073	0.034	0.076	0.070	0.031	0.072
ซ้ำ 4	0.110	0.037	0.129	0.071	0.034	0.075
ซ้ำ 5	0.070	0.035	0.065	0.059	0.032	0.048

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า OD	KCl			CH_3COONa		
700 nm	ผล	ใบ	กิ่ง	ผล	ใบ	กิ่ง
ซ้ำ 1	0.046	0.028	0.042	0.045	0.025	0.036
ซ้ำ 2	0.049	0.026	0.041	0.045	0.025	0.041
ซ้ำ 3	0.049	0.027	0.059	0.046	0.025	0.046
ซ้ำ 4	0.068	0.027	0.067	0.046	0.025	0.046
ซ้ำ 5	0.045	0.026	0.041	0.040	0.026	0.034

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH assay

OD 517 nm	ความเข้มข้น mg/ml	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5
ผล	0.625	0.330	0.314	0.298	0.324	0.294
	1.25	0.287	0.271	0.228	0.235	0.261
	2.5	0.119	0.207	0.103	0.117	0.121
	5	0.098	0.104	0.089	0.081	0.094
	10	0.088	0.091	0.072	0.063	0.086
ใบ	0.625	0.384	0.421	0.400	0.392	0.360
	1.25	0.337	0.309	0.291	0.278	0.313
	2.5	0.279	0.263	0.280	0.246	0.240
	5	0.211	0.219	0.198	0.187	0.232
	10	0.197	0.179	0.200	0.184	0.176
กิ่ง	0.625	0.421	0.376	0.325	0.447	0.393
	1.25	0.316	0.327	0.279	0.303	0.295
	2.5	0.186	0.190	0.167	0.177	0.174
	5	0.104	0.119	0.126	0.121	0.109
	10	0.097	0.080	0.092	0.087	0.091

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธี Disc Diffusion test

ยา/สารสกัด	เชื้อแบคทีเรีย	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5
Gentamicin	*B.cereus*	19.12	19.57	20.43	19.11	19.98
	Ps.aeruginosa	8.77	6.78	8.19	7.90	7.77
	S.aureus	10.78	11.11	9,67	10.21	10.56
	Y.enterocolitica			14.21	15.67	15.12
Cyprofloxacin	*E.coli*			6.99	7.12	6.45
	S.typhimurium	11.14	10.95	15.23	14.78	10.98
	S.epidermidis	8.70	7.59	8.10	7.98	8.22
ผล	*B.cereus*	14.78	15.59	14.22	14.45	13.87
	E.coli	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	S.typhimurium	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	Ps.aeruginosa	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	S.aureus	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	S.epidermidis	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	Y.enterocolitica	13.23	12.67	12.32	13.78	14.12
ใบ	*B.cereus*	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	E.coli	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	S.typhimurium	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	Ps.aeruginosa	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	S.aureus	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	S.epidermidis	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	Y.enterocolitica	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	S.typhimurium	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	Ps.aeruginosa	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยา/สารสกัด	เชื้อแบคทีเรีย	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5
กิ่ง	*B.cereus*	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	E.coli	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	S.typhimurium	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	Ps.aeruginosa	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	S.aureus	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	S.epidermidis	6.00	6.00	6.00	6.00	6.00
	Y.enterocolitica	6.89	7.12	7.21	6.13	6.78

การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 โดยวิธี MTT assay

OD 570 nm	ความเข้มข้น mg/ml	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	ซ้ำ 6
ผล	0.1	0.291	0.282	0.287	0.271	0.252	0.243
	1	0.407	0.413	0.392	0.388	0.369	0.341
	10	0.487	0.499	0.453	0.469	0.499	0.497
	100	0.571	0.592	0.544	0.591	0.582	0.509
	1000	0.607	0.699	0.697	0.681	0.687	0.621
	10000	0.851	0.862	0.879	0.797	0.852	0.822
ใบ	0.1	0.192	0.117	0.112	0.158	0.177	0.201
	1	0.221	0.198	0.172	0.235	0.217	0.109
	10	0.291	0.278	0.321	0.317	0.202	0.370
	100	0.399	0.421	0.417	0.357	0.329	0.479
	1000	0.482	0.521	0.590	0.430	0.527	0.497
	10000	0.597	0.591	0.592	0.601	0.597	0.582

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OD 570 nm	ความเข้มข้น mg/ml	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	ซ้ำ 6
กิ่ง	0.1	0.429	0.321	0.319	0.411	0.319	0.407
	1	0.477	0.420	0.512	0.410	0.434	0.469
	10	0.577	0.630	0.627	0.592	0.521	0.496
	100	0.707	0.681	0.654	0.639	0.709	0.712
	1000	0.877	0.692	0.821	0.709	0.712	0.743
	10000	0.912	0.897	0.873	0.862	0.900	0.822

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ตารางค่าสถิติจากโปรแกรม SPSS

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากทุเรียนเทศ

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	101300.333	2	50650.167	63.189	.000
Within Groups	16833.000	21	801.571		
Total	118133.333	23			

b

Duncan[a]

a	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
กิ่ง	8	169.2500		
ผล	8		258.2500	
ใบ	8			328.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 8.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	24	100.0%	0	0.0%	24	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
ผล	258.2500	8	19.09188
ใบ	328.0000	8	36.23731
กิ่ง	169.2500	8	26.96426
Total	251.8333	24	71.66751

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ ที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากทุเรียนเทศ

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17565.629	2	8782.815	5.057	.052
Within Groups	10419.965	6	1736.661		
Total	27985.594	8			

b

Duncan

a	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ใบ	3	63.4033	
ผล	3	70.4400	
กิ่ง	3		160.4400
Sig.		.843	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	9	100.0%	0	0.0%	9	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
ผล	70.4400	3	60.62363
ใบ	63.4033	3	4.49137
กิ่ง	160.4400	3	38.91767
Total	98.0944	9	59.14558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน ที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบจากทุเรียนเทศ

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	65.450	2	32.725	3.892	.050
Within Groups	100.902	12	8.408		
Total	166.352	14			

b

Duncan

a	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ใบ	5	1.54500	
ผล	5	2.60500	2.60500
กิ่ง	5		6.41000
Sig.		.574	.060

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	15	100.0%	0	0.0%	15	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
ผล	2.60500	5	2.672627
ใบ	1.54500	5	.800273
กิ่ง	6.41000	5	4.176370
Total	3.52000	15	3.447064

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH assay

สารสกัดหยาบจากส่วนผล

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7955.990	4	1988.997	90.828	.000
Within Groups	437.969	20	21.898		
Total	8393.959	24			

b

Duncan

a	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0.625	5	40.2260			
1.25	5		50.2780		
2.5	5			74.4380	
5	5				82.1420
10	5				84.6700
Sig.		1.000	1.000	1.000	.403

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	25	100.0%	0	0.0%	25	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
0.625	40.2260	5	3.01498
1.25	50.2780	5	5.32595
2.5	74.4380	5	7.99651
5	82.1420	5	1.67969
10	84.6700	5	2.29587
Total	66.3508	25	18.70156

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบจากส่วนใบ

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4846.772	4	1211.693	90.499	.000
Within Groups	267.781	20	13.389		
Total	5114.553	24			

b

Duncan

a	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
0.625	5	25.0140				
1.25	5		41.4520			
2.5	5			49.8820		
5	5				59.3040	
10	5					64.3340
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 = 5.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	25	100.0%	0	0.0%	25	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
0.625	25.0140	5	4.27514
1.25	41.4520	5	4.31228
2.5	49.8820	5	3.52249
5	59.3040	5	3.80117
10	64.3340	5	1.79326
Total	47.9972	25	14.59816

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบจากส่วนกิ่ง

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12147.695	4	3036.924	151.727	.000
Within Groups	400.314	20	20.016		
Total	12548.009	24			

b

Duncan[a]

a	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
0.625	5	24.8200			
1.25	5		41.9120		
2.5	5			65.7420	
5	5				77.8360
10	5				82.8680
Sig.		1.000	1.000	1.000	.091

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	25	100.0%	0	0.0%	25	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
0.625	24.8200	5	8.88794
1.25	41.9120	5	3.66752
2.5	65.7420	5	1.77204
5	77.8360	5	1.73489
10	82.8680	5	1.21751
Total	58.6356	25	22.86556

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศที่ความเข้มข้น 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	781.312	2	390.656	11.019	.002
Within Groups	425.450	12	35.454		
Total	1206.762	14			

b

Duncan

a	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
กิ่ง	5	24.8200	
ใบ	5	25.0140	
ผล	5		40.2260
Sig.		.960	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	15	100.0%	0	0.0%	15	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
ผล	40.2260	5	3.01498
ใบ	25.0140	5	4.27514
กิ่ง	24.8200	5	8.88794
Total	30.0200	15	9.28425

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศที่ความเข้มข้น 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	282.417	2	141.209	7.785	.007
Within Groups	217.661	12	18.138		
Total	500.078	14			

b

Duncan

a	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ใบ	5	41.4520	
กิ่ง	5	41.9120	
ผล	5		50.8780
Sig.		.867	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	15	100.0%	0	0.0%	15	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
ผล	50.8780	5	4.72956
ใบ	41.4520	5	4.31228
กิ่ง	41.9120	5	3.66752
Total	44.7473	15	5.97661

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1550.262	2	775.131	29.253	.000
Within Groups	317.969	12	26.497		
Total	1868.231	14			

b

Duncan

a	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ใบ	5	49.8820		
กิ่ง	5		65.7420	
ผล	5			74.4380
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	15	100.0%	0	0.0%	15	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
ผล	74.4380	5	7.99651
ใบ	49.8820	5	3.52249
กิ่ง	65.7420	5	1.77204
Total	63.3540	15	11.55184

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1472.016	2	736.008	108.717	.000
Within Groups	81.239	12	6.770		
Total	1553.256	14			

b

Duncan

a	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
ใบ	5	59.3040		
กิ่ง	5		77.8240	
ผล	5			82.1420
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	15	100.0%	0	0.0%	15	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
ผล	82.1420	5	1.67969
ใบ	59.3040	5	3.80117
กิ่ง	77.8240	5	1.74342
Total	73.0900	15	10.53313

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดจากส่วนต่างๆของทุเรียนเทศที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1292.967	2	646.483	176.250	.000
Within Groups	44.016	12	3.668		
Total	1336.983	14			

b

Duncan

a	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ใบ	5	64.1360	
กิ่ง	5		82.8680
ผล	5		84.6700
Sig.		1.000	.163

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	15	100.0%	0	0.0%	15	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
ผล	84.6700	5	2.29587
ใบ	64.1360	5	2.06171
กิ่ง	82.8680	5	1.21751
Total	77.2247	15	9.77235

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธี Disc Diffusion test

ยาปฏิชีวนะ Gentamicin

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	402.681	3	134.227	366.430	.000
Within Groups	5.861	16	.366		
Total	408.542	19			

b

Duncan

a	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Ps.aeruginosa	5	7.8780			
S.aureus	5		10.4660		
Y.enterocolitica	5			15.0020	
B.cereus	5				19.6420
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	20	100.0%	0	0.0%	20	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
B.cereus	19.6420	5	.56918
Ps.aeruginosa	7.8780	5	.73401
S.aureus	10.4660	5	.55257
Y.enterocolitica	15.0020	5	.54513
Total	13.2470	20	4.63705

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยาปฏิชีวนะ Ciprofloxacin

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	40.220	2	20.110	86.518	.000
Within Groups	2.789	12	.232		
Total	43.009	14			

b

Duncan

a	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
E.coli	5	7.3280		
S.epidermidis	5		8.0980	
S.typhimurium	5			11.1220
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	15	100.0%	0	0.0%	15	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
E.coli	7.3280	5	.69812
S.typhimurium	11.1220	5	.15897
S.epidermidis	8.0980	5	.42973
Total	8.8493	15	1.75273

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบจากส่วนของผลทุเรียนเทศ

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	450.735	6	75.122	532.945	.000
Within Groups	3.947	28	.141		
Total	454.682	34			

b

Duncan

a	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
E.coli	5	6.0000		
S.typhimurium	5	6.0000		
Ps.aeruginosa	5	6.0000		
S.aureus	5	6.0000		
S.epidermidis	5	6.0000		
Y.enterocolitica	5		13.2240	
B.cereus	5			14.5820
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	35	100.0%	0	0.0%	35	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
B.cereus	14.5820	5	.65396
E.coli	6.0000	5	.00000
S.typhimurium	6.0000	5	.00000
Ps.aeruginosa	6.0000	5	.00000
S.aureus	6.0000	5	.00000
S.epidermidis	6.0000	5	.00000
Y.enterocolitica	13.2240	5	.74768
Total	8.2580	35	3.65691

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบจากส่วนของใบทุเรียนเทศ

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	6	.000	.	.
Within Groups	.000	28	.000		
Total	.000	34			

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	35	100.0%	0	0.0%	35	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
B.cereus	6.0000	5	.00000
E.coli	6.0000	5	.00000
S.typhimurium	6.0000	5	.00000
Ps.aeruginosa	6.0000	5	.00000
S.aureus	6.0000	5	.00000
S.epidermidis	6.0000	5	.00000
Y.enterocolitica	6.0000	5	.00000
Total	6.0000	35	.00000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบจากส่วนของกิ่งทุเรียนเทศ

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.924	6	.487	18.834	.000
Within Groups	.725	28	.026		
Total	3.649	34			

b

Duncan

a	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
B.cereus	5	6.0000	
E.coli	5	6.0000	
S.typhimurium	5	6.0000	
Ps.aeruginosa	5	6.0000	
S.aureus	5	6.0000	
S.epidermidis	5	6.0000	
Y.enterocolitica	5		6.8260
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	35	100.0%	0	0.0%	35	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
B.cereus	6.0000	5	.00000
E.coli	6.0000	5	.00000
S.typhimurium	6.0000	5	.00000
Ps.aeruginosa	6.0000	5	.00000
S.aureus	6.0000	5	.00000
S.epidermidis	6.0000	5	.00000
Y.enterocolitica	6.8260	5	.42559
Total	6.1180	35	.32758

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านม MCF-7 โดยวิธี MTT assay

สารสกัดหยาบจากส่วนของผลทุเรียนเทศ

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14621.038	5	2924.208	298.000	.000
Within Groups	294.383	30	9.813		
Total	14915.422	35			

b

Duncan

a	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0.1	6	8.6717					
1	6		27.9883				
10	6			38.8667			
100	6				47.6150		
1000	6					58.3283	
10000	6						70.6667
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 = 6.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	36	100.0%	0	0.0%	36	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
0.1	8.6717	6	3.19258
1	27.9883	6	4.38824
10	38.8667	6	3.52595
100	47.6150	6	2.06192
1000	58.3283	6	2.86992
10000	70.6667	6	2.12301
Total	42.0228	36	20.64352

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือเผยแพร่ต่อ และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบจากส่วนของใบทุเรียนเทศ

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9393.950	5	1878.790	112.098	.000
Within Groups	502.809	30	16.760		
Total	9896.759	35			

b

Duncan

a	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0.1	6	35.7800					
1	6		45.0350				
10	6			56.6700			
100	6				66.2133		
1000	6					73.7333	
10000	6						82.7333
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 = 6.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	36	100.0%	0	0.0%	36	100.0%

Report

b

a	Mean	N	Std. Deviation
0.1	35.7800	6	.72205
1	45.0350	6	5.75553
10	56.6700	6	5.69722
100	66.2133	6	3.53402
1000	73.7333	6	2.28791
10000	82.7333	6	4.09049
Total	60.0275	36	16.81560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสกัดหยาบจากส่วนของกิ่งทุเรียนเทศ

ANOVA

b

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12907.897	5	2581.579	83.488	.000
Within Groups	927.651	30	30.922		
Total	13835.549	35			

b

Duncan

a	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0.1	6	5.0067					
1	6		17.8500				
10	6			26.0050			
100	6				38.3800		
1000	6					50.8967	
10000	6						60.2033
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 = 6.000.

Case Processing Summary

	Cases					
	Included		Excluded		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
b * a	36	100.0%	0	0.0%	36	100.0%

Report

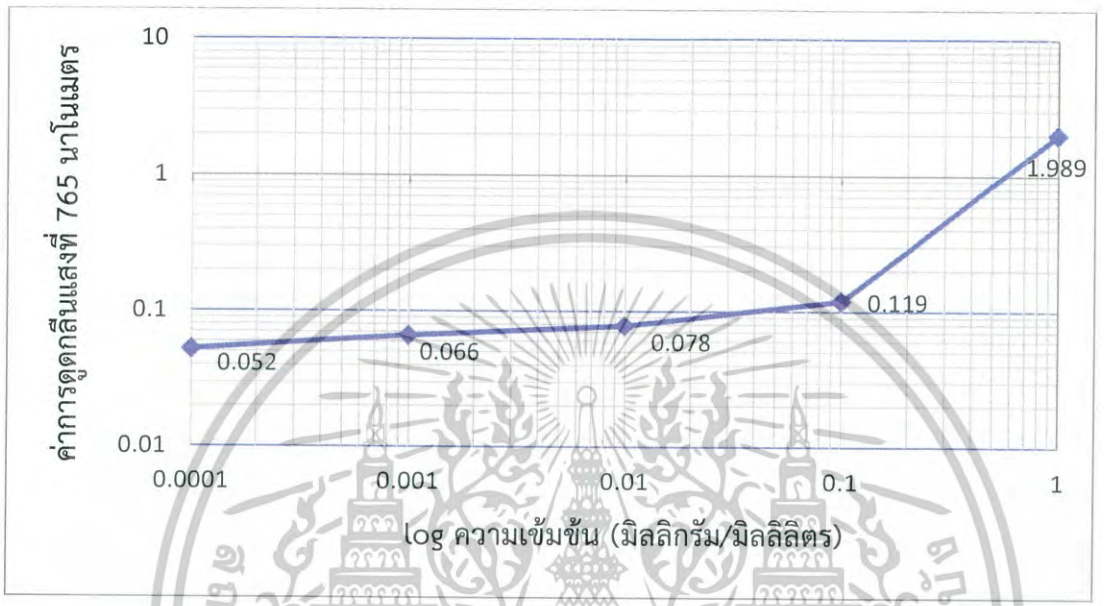
b

a	Mean	N	Std. Deviation
0.1	5.0067	6	3.56116
1	17.8500	6	7.98534
10	26.0050	6	3.37934
100	38.3800	6	6.84232
1000	50.8967	6	4.22288
10000	60.2033	6	5.74567
Total	33.0569	36	19.88219

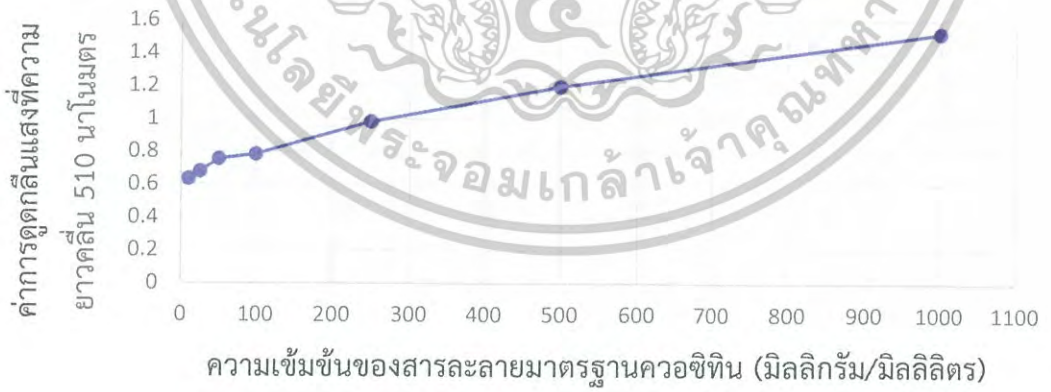
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

กราฟทดลองการทดลอง



กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิคที่ใช้วิเคราะห์เปรียบเทียบสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในสารสกัดหยาบจากส่วนผล ใบและกิ่งของทุเรียนเทศ



กราฟมาตรฐานของควอซิทินที่ใช้วิเคราะห์เปรียบเทียบสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบจากส่วนผล ใบและกิ่งของทุเรียนเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้